

ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ ОКИСНОГО СТРЕСУ В ЩУРІВ ЗА УМОВ ЗАСТОСУВАННЯ ХАРЧОВОГО БАРВНИКА АЗОРУБІНУ

Вступ. Однією з причин погіршення здоров'я населення є нерегламентоване використання харчових добавок різного призначення під час виготовлення харчових продуктів, що збільшує рівень екологічної небезпеки життєдіяльності людини та ступінь екологічного ризику виникнення тих чи інших захворювань. Враховуючи першу і найважливішу вимогу до харчових барвників – нешкідливість у застосовуваних дозах, актуальним залишається питання про неоднозначну оцінку потенційної шкоди їх повсюдного використання, зокрема групи червоних барвників (E120–E129 згідно з прийнятою Міжнародною класифікацією харчових добавок). З десяти барвників цієї групи до застосування у харчовій, косметичній та фармацевтичній промисловості України дозволено чотири, серед них азорубін (E122).

Мета дослідження – дослідити маркери окисного стресу в організмі щурів після застосування різних доз харчового барвника азорубіну.

Методи дослідження. Досліди проведено на білих щурах-самцях, яких поділили на 3 групи (одна з них слугувала контролем, дві інших групи тварин отримували водний розчин азорубіну в дозах 15 та 100 мг/кг маси тіла). Активність процесів ліпопероксидації та окисної модифікації протеїнів, а також показники антиоксидантної системи досліджували на 7-му, 14-ту та 21-шу доби від початку експерименту. Евтаназію щурів проводили під тіопенталовим наркозом.

Результати й обговорення. Введення в організм щурів азорубіну призводило до активації процесів ліпопероксидації, на що вказувало збільшення вмісту ТБК-активних продуктів у сироватці крові (в 6,5 раза при використанні дози 100 мг/кг у кінці експерименту), печінці та серці (в 1,7 раза) тварин. Аналогічно відзначали підвищення вмісту продуктів окисної модифікації протеїнів як нейтрального, так і основного характеру в усіх досліджуваних органах протягом експерименту. Після застосування азорубіну спостерігали порушення функціонування антиоксидантної системи. Вміст відновленого глутатіону зменшувався у сироватці крові, печінці та серці щурів. Каталазна активність знижувалась у печінці та серці тварин протягом експерименту, у сироватці крові – вірогідно підвищувалась ($p < 0,05$).

Висновок. Отримані результати підтверджують гепато- та кардіотоксичність азорубіну, яка більш виражено проявляється при використанні дози 100 мг/кг маси тіла.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: харчові барвники; азорубін; окисний стрес; ліпопероксидація; окисна модифікація протеїнів; антиоксидантна система.

ВСТУП. З розвитком високотехнологічного промислового виробництва з'явилась можливість використовувати речовини, які здатні покращувати смак, аромат та колір харчових продуктів. На особливу увагу заслуговує постійне зростання застосування синтетичних барвників [1] – органічних сполук, що добре розчиняються у воді, більшість із них утворює нерозчинні комплекси (лаки) з іонами металів, і в такій формі їх як пігменти використовують для забарвлення порошкподібних продуктів, драже, таблеток, жувальних гумок.

В Україні офіційно дозволено використовувати у харчовій, косметичній та фармацевтичній

© Г. П. Гаплик, П. Г. Лихацький, В. Д. Фіра, О. І. Качур, 2022.

промисловості близько 20 синтетичних барвників [2, 3], більшість з яких є азосполуками, отриманими синтетичним шляхом, тобто хімічними сполуками, що мають у своїй структурі одну або декілька азогруп ($-N=N-$).

Синтетичні барвники здатні проявляти токсичні й канцерогенні властивості, зумовлені їх взаємодією з харчовими інгредієнтами, різноманітними екологічними чинниками, перевищенням допустимих рівнів використання. Споживання харчових продуктів, до складу яких входять синтетичні барвники, може призвести до негативних наслідків для здоров'я. Наприклад, штучні барвники азорубін і тартразин усе ще є на ринку, хоча повідомлення свідчать про те, що

вони можуть викликати дефіцит уваги та гіперактивність у дітей і підлітків [4, 5].

Одним з найпоширеніших синтетичних барвників є кармуазин (азорубін) E122 (малиновий барвник) [6]. Він належить до похідних кам'яно-вугільної смоли. Барвник E122 поставляється зазвичай у вигляді динатрієвої солі – порошку від червоного до темно-бордового кольору.

Використовують цей барвник при виготовленні безалкогольних напоїв, пресервів із фруктів, кондитерських виробів, морозива, їстівних оболонки сирів, фруктових вин. Крім харчової промисловості, азорубін застосовують у косметології та парфумерії, а також при виготовленні ліків і БАД (в основному для фарбування капсул).

Використання азорубіну в їжу може призвести до алергічних реакцій у вигляді висипу на шкірі. Особливо обережними при споживанні продуктів, що містять барвник E122, повинні бути люди, які страждають від бронхіальної астми та непереносимості протизапальних і жарознижувальних засобів (аспіринова астма) [7]. Цей барвник негативно впливає на шлунково-кишковий тракт, може викликати порушення функцій печінки, нирок, ураження кори надниркових залоз, набряк легень. К. А. Amin та ін. [6] виявили зміни в нирках і порушення функції печінки, а також розвиток окисного стресу після приймання азорубіну в щурів-самців. За їх даними, в цих групах тварин підвищувалась активність аланін-та аспартатамінотрансфераз, загального білка й альбуміну, особливо при його десятикратній концентрації. Крім того, в печінці знижувався рівень глутатіону, супероксиддисмутази і каталази, тоді як вміст малонового діальдегіду підвищувався при застосуванні барвника, тому він, імовірно, індукує окисний стрес [8]. Зростання тканинної концентрації ензимів, що беруть участь в окисних механізмах, вказує на те, що ці харчові барвники можуть втручатися в багатостадійний процес запалення і канцерогенез. Азобарвники підвищують рівень мРНК CYP1A1, яка бере участь у метаболічній активації деяких проканцерогенних речовин у печінці [7]. В. Rarosa та ін. [9] провели дослідження, під час яких встановили, що деякі харчові добавки і барвники (зокрема й азорубін) можуть сприяти, залежно від дози, активації шляхів запалення, викликаючи в подальшому розвиток раку.

Мета дослідження – дослідити маркери окисного стресу в організмі щурів після застосування різних доз харчового барвника азорубіну.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експериментальну частину роботи виконано на базі Центральної науково-дослідної лабораторії Тернопільського національного медичного університету імені

І. Я. Горбачевського МОЗ України. Досліди проведено на білих щурах-самцях, яких утримували на стандартному раціоні віварію університету. Їх поділили на 3 групи: 1-ша – контрольні тварини (6); 2-га – щури (18), які отримували водний розчин азорубіну в дозі 15 мг/кг маси тіла; 3-тя – тварини (18), які одержували азорубін у дозі 100 мг/кг маси тіла. Барвник E122 вводили інтрагастрально щоденно протягом 21 дня. З експерименту тварин виводили на 7-му, 14-ту і 21-шу доби від початку отруєння шляхом евтаназії під тіопенталовим наркозом.

Утримували тварин і проводили експерименти на них відповідно до положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей [10].

Матеріалом дослідження були гомогенат серця, печінки та сироватка крові. Кров забирали із серця тварин і центрифугували при частоті обертання 1100 г упродовж 30 хв. Відібрані органи (250 мг) використовували для отримання гомогенату за допомогою гомогенізатора магнітного "Silent Crusher S" після попередньої перфузії з 2,5 мл фізіологічного розчину.

В отриманому біологічному матеріалі визначали рівень окисних процесів за вмістом продуктів ліпопероксидації (ТБК-активних продуктів – ТБК-АП) [11] та окисної модифікації протеїнів (ОМП) [12], а також оцінювали активність захисної антиоксидантної системи за вмістом відновленого глутатіону (ВГ) [13] й каталазою активністю [14].

Обробку статистичних даних виконували за допомогою пакета програмного забезпечення SPSS-22 [15]. Отримані значення мали параметричний розподіл, тому різницю між групами було проаналізовано відповідно до t-критерію Стьюдента і непараметричного критерію Вілкоксона для зв'язаних вибірок. Критерій χ^2 використали для оцінки різниці між категоріальними даними. Різниця значень імовірності – $p \geq 0,95$ (рівень значимості p). Розбіжності вважали вірогідними при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Харчові добавки відіграють життєво важливу роль у сьогоdnішньому харчуванні. При обробці для поліпшення естетичного вигляду продуктів регулярно додають ряд харчових хімічних барвників [16]. Більшість барвників, які використовують у сучасній харчовій промисловості, має штучне походження. Вони дешевші й довше зберігаються, але, на жаль, не завжди не шкідливі для організму. Серед барвників, що надають харчовим продуктам червоного кольору, значно поширені азобарвники, зокрема азорубін (кармуазин).

У літературі є дослідження, в яких показано, що різні азобарвники генотоксичні не через N-гідроксилування та етерифікацію, що характерно для багатьох ароматичних амінів, а, найімовірніше, через механізм з участю радикалів кисню, а вільний радикал супероксиду утворювався з участю азобарвників лише після відновлення кишковими бактеріями *Enterococcus faecalis* [7, 9].

Універсальним механізмом, що відіграє ключову роль у реалізації дії більшості токсичних агентів, є активація вільнорадикальних процесів та розвиток окисного стресу [17].

У наших експериментах показано, що при використанні обох доз азорубіну в організмі щурів активуються вільнорадикальні процеси, причому з подовженням терміну його застосування відмічають найбільш виражені зміни.

Результати дослідження вмісту ТБК-АП (проміжних продуктів ліпопероксидації) у сироватці крові та печінці тварин наведено в таблиці 1.

Встановлено, що введення в організм щурів азорубіну в обох дозах викликало збільшення у сироватці крові вмісту ТБК-АП, який прогресує підвищувався в часі застосування барвника. При використанні дози харчового барвника 15 мг/кг маси тіла на 7-му добу дослідження цей показник зріс у 2,4 раза, на 14-ту – в 4,7 раза, до кінця експерименту (21-ша доба) він перевищував рівень контрольних тварин у 4,9 раза. Усі зміни були вірогідними ($p < 0,001$).

При дослідженні впливу барвника в дозі 100 мг/кг на продукти ліпопероксидації виявлено аналогічне зростання вмісту ТБК-АП, і з подовженням терміну споживання цієї добавки він збільшився в 6,5 раза (21-ша доба).

У печінці щурів протягом експерименту вміст проміжного продукту пероксидного окиснення ліпідів теж підвищувався, але менш виражено, ніж у сироватці крові. Застосували азорубін у дозі 15 мг/кг маси тіла, ми спостерігали тенденцію до його зростання (вірогідних змін не було),

і тільки на 21-шу добу встановлено вірогідні зміни ($p < 0,05$). У дозі 100 мг/кг барвник призвів до вірогідного збільшення вмісту ТБК-АП протягом усіх термінів дослідження.

Чутливим до азорубіну виявився міокард щурів. Обидві досліджувані дози барвника проявили токсичний вплив на серце тварин. Активність окисних процесів, зокрема ліпопероксидації, вірогідно ($p < 0,05$) зростала при впливі азорубіну (рис. 1).

Отже, введення в організм щурів харчового барвника азорубіну призводить до активації процесів ліпопероксидації, на що вказує підвищення вмісту ТБК-АП у сироватці крові, печінці та міокарді тварин. Це, очевидно, пов'язано з утворенням в ураженому організмі значної кількості активних форм кисню, що мають здатність діяти по місцю подвійних зв'язків у ненасичених жирних кислотах, які входять до складу фосфоліпідів, що у кінцевому результаті супроводжується накопиченням великої кількості токсичних сполук.

Протеїнові молекули також є мішенями для атаки активних форм кисню, що призводить до зміни їх вторинної і третинної структури, агрегації та фрагментації. У літературі є дані про те, що конформаційні зміни у структурі молекул протеїнів, які відбуваються при їх взаємодії з активними формами кисню, збільшують доступність пептидних зв'язків для дії протеїназ [18].

Визначення вмісту продуктів ОМП нейтрального й основного характеру в сироватці крові та органах щурів після застосування азорубіну показало його зростання в усі терміни дослідження.

Результати, отримані в ході дослідження, наведено в таблицях 2 і 3.

На 7-му добу дослідження після введення в організм азорубіну в дозі 15 мг/кг маси тіла вірогідного збільшення вмісту продуктів ОМП нейтрального характеру в сироватці крові, печінці

Таблиця 1 – Вміст ТБК-активних продуктів у сироватці крові (мкмоль/л) та печінці (мкмоль/100 г) щурів, які отримували азорубін ($M \pm m$; $n=42$)

Доза азорубіну, мг/кг	Термін дослідження, доба		
	7-ма	14-та	21-ша
Сироватка крові			
Контрольні тварини	2,34±0,14		
15	5,56±0,19**	10,91±0,47**	11,57±0,46**
100	6,90±0,27**	11,35±0,52**	15,13±0,75**
Печінка			
Контрольні тварини	25,20±1,33		
15	26,71±0,75	30,12±1,48	40,59±2,43*
100	31,30±0,98*	33,97±0,97*	42,83±0,80**

Примітка. Тут і в таблицях 2–5, на рисунках 1, 2: * – вірогідні зміни між контрольними тваринами та щурами, які отримували азорубін ($p < 0,05$); ** – вірогідні зміни між контрольними тваринами та щурами, які одержували азорубін ($p < 0,001$).

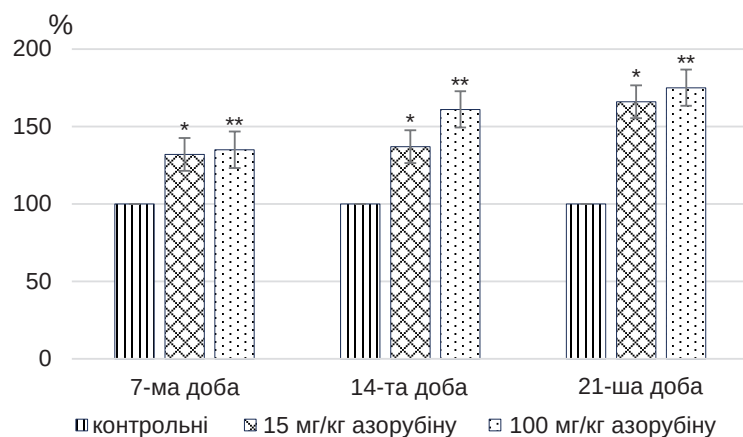


Рис. 1. Вміст ТБК-активних продуктів у серці щурів після застосування азорубіну (%).

Таблиця 2 – Вміст продуктів окисної модифікації протеїнів нейтрального характеру (ОМП₃₇₀) в сироватці крові, печінці та серці щурів (мкмоль/г протеїну) після застосування азорубіну (M±m; n=42)

Доза азорубіну, мг/кг	Термін дослідження, доба		
	7-ма	14-та	21-ша
Сироватка крові			
Контрольні тварини	0,153±0,009		
15	0,191±0,018	0,210±0,009*	0,287±0,008**
100	0,202±0,012*	0,241±0,018*	0,328±0,008**
Печінка			
Контрольні тварини	0,261±0,011		
15	0,288±0,009	0,330±0,007*	0,363±0,008*
100	0,340±0,018*	0,385±0,011*	0,470±0,010**
Серце			
Контрольні тварини	0,213±0,012		
15	0,251±0,009	0,270±0,009*	0,328±0,010*
100	0,267±0,008*	0,341±0,006**	0,375±0,013**

Таблиця 3 – Вміст продуктів окисної модифікації протеїнів основного характеру (ОМП₄₃₀) в сироватці крові, печінці та серці щурів (мкмоль/г протеїну) після застосування азорубіну (M±m; n=42)

Доза азорубіну, мг/кг	Термін дослідження, доба		
	7-ма	14-та	21-ша
Сироватка крові			
Контрольні тварини	0,221±0,018		
15	0,251±0,011	0,280±0,007*	0,311±0,013*
100	0,290±0,007*	0,331±0,003*	0,380±0,008**
Печінка			
Контрольні тварини	0,351±0,013		
15	0,346±0,009	0,380±0,012	0,416±0,011*
100	0,358±0,007	0,421±0,008*	0,467±0,011*
Серце			
Контрольні тварини	0,261±0,011		
15	0,318±0,006*	0,340±0,007*	0,395±0,009*
100	0,321±0,009*	0,427±0,009**	0,487±0,005**

та серці тварин ми не виявили. Зростання цього показника зареєстровано на 14-ту добу експерименту, і максимальний його вміст спостерігали на 21-шу добу (в сироватці крові в 1,9 раза перевищував показник у контрольних тварин, у печінці – в 1,7 раза, в серці – в 1,5 раза). При застосуванні даного барвника в дозі 100 мг/кг вміст ОМП₃₇₀ вірогідно ($p < 0,05$; $p < 0,001$) збіль-

шувався в усі терміни дослідження та в усіх органах.

Вивчення вмісту продуктів ОМП основного характеру показало прогресуюче його збільшення, залежно від терміну дослідження, в усіх органах. Наприкінці експерименту (21-ша доба) цей показник перевищував рівень у сироватці крові контрольних тварин (при дозі барвника

15 мг/кг – в 1,4 раза, при дозі 100 мг/кг – в 1,7 раза). Застосування дози азорубіну 15 мг/кг призвело до зростання вмісту ОМП₄₃₀ у печінці щурів в 1,2 раза через 21 день від початку експерименту, використання дози 100 мг/кг – в 1,3 раза.

Аналогічне зростання вмісту ОМП₄₃₀ заереєстровано і в серці піддослідних тварин, причому доза барвника 100 мг/кг маси тіла була токсичнішою і перевищила рівень контрольних щурів у 1,9 раза (p<0,001).

Отже, при вивченні карбонільних продуктів окиснення протеїнів сироватки крові щурів в їх органах виявлено зростання вмісту альдегідо- і кетодінітрофенілгідразонів нейтрального й основного характеру впродовж усього експерименту. Таким чином, пероксидація протеїнів є важливою ланкою в ланцюгу патобіохімічних механізмів розвитку інтоксикації у щурів.

Вплив різних токсичних чинників призводить до зміщення рівноваги між про- й антиоксидантною системами в прооксидантний бік і розвитку так званого “окисного стресу”. Тобто за таких умов розвивається окисний стрес, який є результатом дисбалансу між надлишковим утворенням активних форм кисню та неспроможністю антиоксидантних систем забезпечити їх знешкодження.

При дослідженні каталазної активності (одного з показників ензимної ланки антиоксидант-

ної системи) у сироватці крові після застосування азорубіну ми відмітили її підвищення, тоді як у печінці та міокарді вона прогресуюче знижувалась (табл. 4).

При потрапленні в організм щурів азорубіну в дозі 15 мг/кг маси тіла каталазна активність у сироватці крові підвищилась у 3,2 раза в кінці дослідження, в дозі 100 мг/кг – у 4,1 раза.

Після застосування дози азорубіну 15 мг/кг каталазна активність у печінці в кінці експерименту була в 1,2 раза нижчою від норми, після використання дози 100 мг/кг – в 1,4 раза меншою від рівня контрольних тварин. Аналогічне зниження відмічали і в серці піддослідних тварин.

У руйнуванні гідропероксидів, що утворюються при пероксидному окисненні ліпідів, основну роль відіграє система глутатіонпероксидаза – глутатіонредуктаза – відновлений глутатіон [19]. Головна функція ВГ полягає в його участі в детоксикації ксенобіотиків. При ураженнях токсикантами концентрація вільних SH-груп і SH-груп протеїнового та непротеїнового походження знижується.

При дослідженні вмісту ВГ, який є компонентом антиоксидантної глутатіонової системи, відмітили його зменшення в усіх органах протягом експерименту (табл. 5, рис. 2).

Вірогідні зміни (p<0,05) у сироватці крові при застосуванні дози барвника 15 мг/кг маси тіла

Таблиця 4 – Каталазна активність у сироватці крові, печінці та серці щурів (мккат/г протеїну) після застосування азорубіну (M±m; n=42)

Доза азорубіну, мг/кг	Термін дослідження, доба		
	7-ма	14-та	21-ша
Сироватка крові			
Контрольні тварини	0,321±0,012		
15	0,871±0,019**	0,956±0,006**	1,041±0,005**
100	1,071±0,022**	1,078±0,035**	1,316±0,048**
Печінка			
Контрольні тварини	0,218±0,011		
15	0,228±0,015	0,217±0,013	0,181±0,005*
100	0,171±0,012*	0,180±0,007*	0,159±0,008*
Серце			
Контрольні тварини	0,122±0,005		
15	0,127±0,009	0,102±0,007	0,088±0,005*
100	0,080±0,002*	0,079±0,004*	0,074±0,006*

Таблиця 5 – Вміст відновленого глутатіону в сироватці крові (ммоль/л) та серці (ммоль/кг) щурів, які отримували азорубін (M±m; n=42)

Доза азорубіну, мг/кг	Термін дослідження, доба		
	7-ма	14-та	21-ша
Сироватка крові			
Контрольні тварини	1,58±0,06		
15	1,58±0,08	1,28±0,06*	1,21±0,06*
100	1,28±0,06*	0,59±0,03**	0,60±0,03**
Серце			
Контрольні тварини	0,58±0,03		
15	0,52±0,02	0,52±0,02	0,49±0,02
100	0,51±0,014	0,46±0,015*	0,43±0,011*

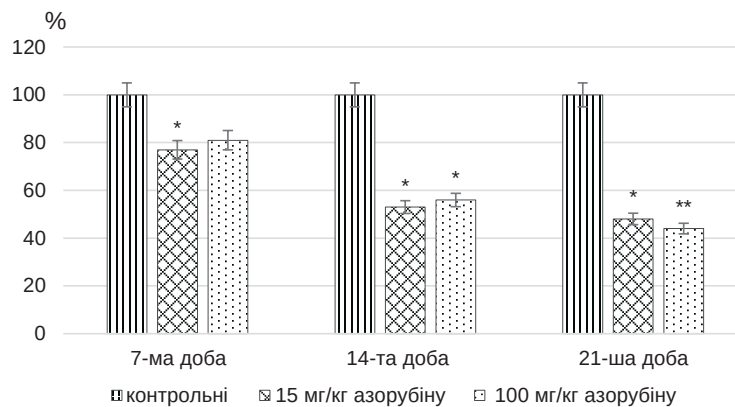


Рис. 2. Вміст відновленого глутатіону в печінці щурів після застосування азорубіну (%).

спостерігали на 14-ту і 21-шу доби експерименту. Доза азорубіну 100 мг/кг призвела до вірогідного зменшення вмісту ВГ протягом усього дослідження, і в останній термін він був у 2,6 раза нижчим від рівня контрольних тварин.

Зниження цього показника спостерігали й у серці піддослідних тварин, що правда воно було менш вираженим.

У печінці щурів, які отримували азорубін в обох дозах, відзначали вірогідне ($p < 0,001$) зниження вмісту ВГ (див. рис. 2).

В останній термін дослідження вміст ВГ зменшився на 52 % після застосування дози барвника 15 мг/кг і на 56 % після використання дози азорубіну 100 мг/кг маси тіла.

Отже, отримані результати свідчать про глибокі порушення в антиоксидантній системі щурів після застосування харчового барвника азорубіну, а також дисбаланс між активністю захисних систем та окисних процесів, направлених у сторону останніх, що вказує на розвиток окисного стресу під дією азорубіну.

ВИСНОВКИ. 1. Харчовий барвник азорубін у дозах 15 і 100 мг/кг маси тіла призводить до активації процесів ліпопероксидації в організмі щурів, що підтверджується збільшенням у сироватці крові вмісту ТБК-активних продуктів у 4,9 та 6,5 раза відповідно на 21-шу добу дослідження. Аналогічне підвищення відзначають у печінці й серці щурів після застосування барвника.

2. Вміст продуктів окисної модифікації протеїнів як нейтрального, так і основного характеру зростає в усіх органах щурів, отруєних барвником, протягом усіх термінів дослідження.

3. На тлі активації окисних процесів спостерігають зміни активності антиоксидантної системи, на що вказує зниження протягом експерименту каталазної активності в печінці й серці тварин, а також вмісту відновленого глутатіону (в печінці в кінці дослідження при застосуванні доз 15 і 100 мг/кг цей показник зменшився на 52 та 56 % відповідно).

4. Отримані результати підтверджують гепато- та кардіотоксичність азорубіну, яка більш виражено проявляється при використанні дози 100 мг/кг маси тіла.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Смоляр В. І. Сучасні проблеми використання харчових добавок / В. І. Смоляр // Проблеми харчування. – 2009. – № 1/2. – С. 5–13.
2. Возіанов О. Ф. Харчування та здоров'я населення України / О. Ф. Возіанов // Журн. Академії медичних наук України. – 2002. – 8, № 4. – С. 645–657.
3. Бабюк О. В. Безпека харчування: сучасні проблеми: посібник-довідник / укл.: А. В. Бабюк, О. В. Макарова, М. С. Рогозинський, Л. В. Романів, О. Є. Федорова. – Чернівці: Книги – XXI, 2005. – 456 с.
4. Bateman B. The effects of a double blind, placebo-controlled, artificial food colourings and benzoate preservative challenge on hyperactivity in a general popu-

lation sample of preschool children / B. Bateman, J. O. Warner, E. Hutchinson [et al.] // Arch. Dis. Child. – 2004. – No. 89. – P. 506–551.

5. European Food Safety Agency [EFSA]: Assessment of the results of the study by McCann et al. (2007) on the effects of some colours and sodium benzoate on children's behaviour. EFSA J. – 2008. – P. 1–53.

6. Amin K. A. Effect of food azo dyes tartrazine and carmoisine on biochemical parameters related to renal, hepatic function and oxidative stress biomarkers in young male rats / K. A. Amin, II. H. Abdel Hameid, A. H. Abd Elstar // Food Chem. Toxicol. – 2010. – No. 48. – P. 2994–2999.

7. Poul M. Lack of genotoxic effect of food dyes amaranth, sunset yellow and tartrazine and their metabolites in the gut micronucleus assay in mice / M. Poul, G. Jarry, M. O. Elhkim, J. M. Poul // *Food Chem. Toxicol.* – 2009. – No. 47. – P. 443–448.

8. DNA damage induced by red food dyes orally administered to pregnant and male mice / S. Tsuda, M. Murakami, N. Matsusaka, K. Kano [et al.] // *Toxicol. Sci.* – 2001. – No. 61. – P. 92–99.

9. Food additives: Sodium benzoate, potassium sorbate, azorubine, and tartrazine modify the expression of NFκB, GADD45α, and MAPK8 genes / B. Raposa, R. Pónusz, G. Gerencsér [et al.] // *Physiology International.* – 2016. – No. 103 (3). – С. 334–343. doi:10.1556/2060.103.201.

10. Gross D. Ethics in animal-based research / D. Gross, R. Tolba // *Eur. Surg. Res.* – 2015. – No. 55 (1–2). – P. 43–57.

11. Луцак В. І. Показники оксидативного стресу. 2. Пероксиди ліпідів / В. І. Луцак, Т. В. Багнюкова, Л. І. Лужна // *Укр. біохім. журн.* – 2006. – № 78 (5). – С. 113–119.

12. Дубініна Є. Є. Окиснювальна модифікація протеїнів, їх роль при патологічних станах / Є. Є. Дубініна, А. В. Пустигіна // *Укр. біохім. журн.* – 2008. – № 80 (6). – С. 5–18.

13. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl groups / G. L. Ellman // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1959. – **82** (1). – P. 70–77.

14. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова // *Лаб. дело.* – 1988. – № 1. – С. 16–19.

15. Okeh U. Statistical problems in medical research / U. Okeh // *East. Afr. J. Public. Health.* – 2009. – No. 6 (1). – P. 1–7.

16. Димань Т. М. Харчування людини / Т. М. Димань, М. М. Барановський, М. С. Ківа ; під ред. Т. М. Димань. – Біла Церква, 2005. – 300 с.

17. El-Demerdash F. M. Xenobiotics, oxidative stress, and antioxidants / F. M. El-Demerdash, E. M. Tousson, J. Kurzepa, S. L. Habib // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* – 2018. – P. 1–2.

18. Birben E. Oxidative Stress and Antioxidant Defense / E. Birben, M. Sahiner, C. Sackesen, S. Erzurum // *World Allergy. Organ J.* – 2012. – No. 5(1). – P. 9–19. DOI: 10.1097/WOX.0b013e3182439613.

19. Антиоксидантна система захисту організму / І. Ф. Беленічев, Е. Л. Левицький, Ю. І. Губський, С. І. Коваленко // *Сучасні проблеми токсикології.* – 2002. – № 3. – С. 15–23.

REFERENCES

1. Smolyar, V.I. (2009). Modern problems in the use of food additives. *Problems of Nutrition*, 1/2, 5-13 [in Ukrainian].

2. Vozyanov, O.F. (2002). Nutrition and health of the population of Ukraine. *Journal of the Academy of Medical Sciences of Ukraine*, 8 (4), 645-657 [in Ukrainian].

3. Babiuk, O.V., Makarova, O.V., Rogozinskyi, M.S., Romaniv, L.V., & Fedorova, O.E. (2005). *Food safety: modern problems: Reference manual*. Chernivtsi: Knyhy 456 [in Ukrainian].

4. Bateman, B. Warner, J.O., Hutchinson, E., Dean, T., & Rowlandson, P., Gant, C., Grundy, J., Fitzgerald, C., Stevenson, J. (2004). The effects of a double blind, placebo-controlled, artificial food colourings and benzoate preservative challenge on hyperactivity in a general population sample of preschool children. *Arch. Dis. Child*, 89, 506-551.

5. European Food Safety Agency [EFSA] (2008). Assessment of the results of the study by McCann et al. (2007) on the effects of some colours and sodium benzoate on children's behaviour. *EFSA J.*, 1-53.

6. Amin, K.A., Abdel Hameid, H.H., & Abd Elstar, A.H. (2010). Effect of food azo dyes tartrazine and carmoisine on biochemical parameters related to renal, hepatic function and oxidative stress biomarkers in young male rats. *Food Chem. Toxicol.*, 48, 2994-2999.

7. Poul, M., Jarry, G., Elhkim, M.O., & Poul, J.M. (2009). Lack of genotoxic effect of food dyes amaranth, sunset yellow and tartrazine and their metabolites in the gut micronucleus assay in mice. *Food Chem. Toxicol.*, 47, 443-448.

8. Tsuda, S., Murakami, M., Matsusaka, N., & Kano, K., Taniguchi, K., Sasaki, Y.F. (2001). DNA damage induced by red food dyes orally administered to pregnant and male mice. *Toxicol. Sci.*, 61, 92-99.

9. Raposa, B., Pónusz, R., Gerencsér, G., Budán, F., & Gyöngyi, Z., Tibold, A., ... Varjas, T. (2016). Food additives: Sodium benzoate, potassium sorbate, azorubine, and tartrazine modify the expression of NFκB, GADD45α, and MAPK8 genes. *Physiology International*, 103 (3), 334-343. DOI:10.1556/2060.103.201.

10. Gross, D., & Tolba, R. (2015). Ethics in animal-based research. *Eur. Surg. Res*, 55 (1-2), 43-57.

11. Lushchak, V.I., Bagnyukova, T.V., & Luzhna L.I. (2006). Indicators of oxidative stress. 2. Lipid peroxides. *Ukr. Biochem. Journal*, 78 (5), 113-119 [in Ukrainian].

12. Dubinina, E.E., & Pustigina, A.V. (2008). Oxidative modification of proteins, their role in pathological conditions. *Ukr. Biochem. Journal*, 80 (6), 5-18 [in Ukrainian].

13. Ellman, G. L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys*, 82 (1), 70-77.

14. Koroлиuk, M.A., Ivanova, L.I., & Mayorova, I.G. (1988). Method for determining catalase activity. *Lab. Business*, 1, 16-19.

15. Okeh, U. (2009). Statistical problems in medical research. *East. Afr. J. Public. Health*, 6 (1), 1-7.

16. Dyman, T.M., Baranovskyi, M.M., & Kiva, M.S. (2005). Human nutrition. *Bila Tserkva*, 300 [in Ukrainian].

17. El-Demerdash, F.M., Tousson, E.M., Kurzepa, J., & Habib, S.L. (2018). Xenobiotics, oxidative stress, and antioxidants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-2.

18. Birben, E. M., Sahiner, M, Sackesen, C., & Erzurum, S. (2012). Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy. Organ J*, 5 (1), 9-19. DOI: 10.1097/WOX.0b013e3182439613.

19. Belenichev, I.F., Levytskyi, E.L., Gubskiy, Yu.I., & Kovalenko, S.I. (2002). Antioxidant system of body protection. *Contemporary Problems of Toxicology*, 3, 15-23 [in Ukrainian].

G. P. Gaplyk, P. H. Lykhatskyi, V. D. Fira, O. I. Kachur
I. HORBACHEVSKY TERNOPIL NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

CHANGES IN INDICATORS OF OXIDATIVE STRESS IN RATS UNDER THE CONDITIONS OF USING AZORUBINE FOOD DYE

Summary

Introduction. One of the reasons for the deterioration of the health of the population is the unregulated use of food additives of various purposes during the manufacture of food products, which increases the level of environmental danger of human life and the degree of environmental risk of certain diseases. Taking into account the first and most important requirement for food dyes – harmlessness in the applied doses, the issue of ambiguous assessment of the potential harm of their widespread use, in particular the group of red dyes (E120-E129 according to the accepted international classification of food additives), remains relevant. Of the ten dyes of this group, four are allowed for use in the food, cosmetic and pharmaceutical industries of Ukraine, among them azorubin (E122).

The aim of the study – to investigate markers of oxidative stress in the body of rats after using different concentrations of the food dye azorubin.

Research Methods. Experiments conducted on white male rats, which were divided into 3 groups, one of them served as a control, the other two received an aqueous solution of azorubin at a dose of 15 mg/kg and 100 mg/kg of body weight. The activity of the processes of lipoperoxidation and oxidative modification of proteins, as well as indicators of the antioxidant system were studied on the 7th, 14th, and 21th days from the beginning of the experiment. Rats euthanized under thiopental anesthesia.

Results and Discussion. The introduction of azorubin into the body of rats leads to the activation of lipoperoxidation processes, as indicated by an increase in the content of TBA-active products in the blood serum (6.5 times at a dose of 100 mg/kg at the end of the experiment), liver and heart (1.7 times) of animals. Similarly, an increase in the content of products of oxidative modification of proteins of both neutral and basic nature noted in all the studied organs. Violations in the functioning of the antioxidant system observed after the use of azorubin. A decrease in the content of reduced glutathione in blood serum, liver and heart of rats noted. Catalase activity decreased in the liver and heart during the experiment, and probably increased in blood serum ($p < 0.05$).

Conclusions. The obtained results confirm the hepatotoxicity and cardiotoxicity of azorubin, which more pronounced when using a dose of 100 mg/kg of body weight.

KEY WORDS: food dyes; azorubin; oxidative stress; lipoperoxidation; oxidative modification of proteins; antioxidant system.

Отримано 21.07.22

Адреса для листування: П. Г. Лихацький, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, майдан Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: luhatsky@tdmu.edu.ua.