

Г. П. Гаплик, В. Д. Фіра, П. Г. Лихацький, О. І. Качур, Г. Г. Шершун
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО
МОЗ УКРАЇНИ

АКТИВНІСТЬ ЦИТОЛІТИЧНИХ ПРОЦЕСІВ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ, ОТРУЄНИХ ХАРЧОВИМ БАРВНИКОМ АЗОРУБІНОМ

Вступ. В Україні офіційно дозволено використання у харчовій, косметичній та фармацевтичній промисловості близько 20 синтетичних барвників, більшість з яких є азосполуками. Синтетичні барвники здатні проявляти токсичні й канцерогенні властивості, зумовлені їх взаємодією з харчовими інгредієнтами, різноманітними екологічними чинниками, перевищенням допустимих рівнів застосування. До найпоширеніших синтетичних барвників належить кармуазин (азорубін) E122 (малиновий барвник). У результаті проведення численних досліджень харчової добавки E122 було виявлено низку можливих негативних впливів на організм людини.

Мета дослідження – дослідити активність мембранодеструктивних процесів і ступінь ендогенної інтоксикації у щурів, отруєних харчовим барвником азорубіном.

Методи дослідження. Досліди виконано на білих щурах-самцях, яких поділили на три групи, одна з них слугувала контролем, тварини двох інших груп отримували водний розчин азорубіну в дозах 15 та 100 мг/кг маси тіла. Евтаназію щурів проводили під тіопенталовим наркозом. В одержаному біологічному матеріалі визначали активність мембранозалежних ензимів – аланінамінотрансферази (АлАТ), аспартат-амінотрансферази (АсАТ), лактатдегідрогенази (ЛДГ), вміст молекул середньої маси (МСМ), а також еритроцитарний індекс інтоксикації на 7-му, 14-ту і 21-шу доби від початку експерименту. Статистичну обробку даних виконували за допомогою пакета програмного забезпечення SPSS-22.

Результати й обговорення. Найвищу активність АлАТ у сироватці крові токсикованих азорубіном щурів (15 мг/кг) зареєстровано на 21-шу добу отруєння. Використання азорубіну в дозі 100 мг/кг призвело до вірогідного зростання активності АлАТ у всі терміни дослідження. Аналогічні зміни характерні й для АсАТ і ЛДГ. У печінці та серці активність цих ензимів вірогідно знижувалася протягом експерименту. Встановлено, що ураження тварин токсичними дозами азорубіну спричинило збільшення проникності еритроцитарних мембран, причому з подовженням терміну дослідження відсоток проникності прогресуюче зростає. Більш виражений вплив на еритроцитарний індекс інтоксикації мала доза 100 мг/кг. Після введення в організм щурів підвищених доз азорубіну поглиблювалася ендогенна інтоксикація, про що свідчило зростання вмісту МСМ обох фракцій у сироватці крові тварин. Доза 100 мг/кг маси тіла виявилася токсичнішою, вміст МСМ був високим протягом усіх термінів дослідження.

Висновки. Обидві дози азорубіну (15 та 100 мг/кг) є токсичними. При цьому доза харчового барвника 15 мг/кг маси тіла не на всі показники має токсичний вплив.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: харчові барвники; азорубін; цитолітичні процеси; мембранозалежні ензими; ендогенна інтоксикація.

ВСТУП. Здоров'я та безпека населення як складові екологічної безпеки значною мірою залежать від харчування, оскільки воно забезпечує ріст і розвиток організму людини, створює умови для адаптації за умов техногенно-хімічного забруднення навколишнього природного та соціального середовища. Слід зазначити, що з продуктами харчування до організму людини потрапляють природні компоненти їжі, які проявляють небезпечну дію, та шкідливі речовини, що надходять із зовнішнього середовища [1]. У

© Г. П. Гаплик, В. Д. Фіра, П. Г. Лихацький, О. І. Качур, Г. Г. Шершун, 2023.

нових технологіях широко застосовують ароматизатори, підсилювачі смаку та аромату, барвники, антиоксиданти, консерванти, поверхнево-активні, технологічно необхідні та інші харчові добавки.

Азорубін (кармуазин, харчова добавка E122) належить до групи азобарвників – синтетичних барвників червоних відтінків; до похідних кам'яновугільних смоли. Барвник E122 поставляється зазвичай у вигляді динатрієвої солі – порошку від червоного до темно-бордового кольору [2, 3]. Добавку E122 можна використовувати для фарбування продуктів, які піддаються термічній

обробці після ферментації, а також у фармацевтичній промисловості [4].

У результаті проведення численних досліджень харчової добавки E122 було виявлено низку можливих негативних впливів на організм людини. Так, вживання кармуазину в їжу може призвести до алергічних реакцій у вигляді кропив'янки та набряку шкіри. Дослідження, які виконували в останні роки, показали, що часте вживання продуктів із вмістом добавки E122 спричиняє підвищення гіперактивності та зниження концентрації уваги в дітей [5].

У деяких країнах добавку E122 відносять до групи канцерогенів – речовин, що підвищують імовірність утворення пухлин, зокрема раку сечового міхура [6].

У літературі є дані, які вказують на те, що вживання всіх харчових барвників з або без смакових добавок викликало у щурів значне зменшення маси тіла, зниження концентрації гемоглобіну та кількості еритроцитів. Крім того, спостерігали значне зниження рівня глутатіону. Водночас відмічали значне підвищення у сироватці крові показників аланінамінотрансферази (АЛАТ), аспартатамінотрансферази (АсАТ), лужної фосфатази, білірубину, сечовини, креатиніну, загального протеїну й альбуміну в щурів, у раціон яких вводили харчові барвники [7].

Проте в доступній нам літературі недостатньо даних про механізми впливу харчового барвника азорубіну на розвиток ендогенної інтоксикації в організмі після отруєння високими дозами E122.

Мета дослідження – дослідити активність мембранодеструктивних процесів і ступінь ендогенної інтоксикації у щурів, отруєних харчовим барвником азорубіном.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проведено на базі Центральної науково-дослідної лабораторії Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України (ТНМУ). В експерименті використовували білих щурів-самців, яких утримували на стандартному раціоні віварію ТНМУ. Тварин поділили на три групи: 1-ша – контроль (6); 2-га – щури (18), яким інтрагастрально вводили водний розчин азорубіну в дозі 15 мг/кг маси тіла; 3-тя – щури (18), які отримували азорубін тим же шляхом у дозі 100 мг/кг маси тіла. Барвник E122 вводили щоденно протягом 21 доби. З експерименту тварин виводили на 7-му, 14-ту і 21-шу доби від початку отруєння шляхом евтаназії під тіопенталовим наркозом.

Утримували тварин та проводили експерименти на них відповідно до положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що

використовуються для дослідних та інших наукових цілей [8].

Для дослідження отримували гомогенат серця, печінки та сироватку крові. Кров забирали із серця тварин, центрифугували її при частоті обертання 1100 g упродовж 30 хв. Відібрані органи (250 мг) використовували для одержання гомогенату за допомогою гомогенізатора магнітного "Silent Crusher S" після попередньої перфузії з 2,5 мл фізіологічного розчину.

В отриманому біологічному матеріалі визначали активність мембранозалежних ензимів – АЛАТ, АсАТ [9] і лактатдегідрогенази (ЛДГ) [9], вміст молекул середньої маси (МСМ) [10], а також еритроцитарний індекс інтоксикації (ЕІІ) [11].

Статистичну обробку даних виконували за допомогою пакета програмного забезпечення SPSS-22 [12]. Отримані значення мали параметричний розподіл, тому різницю між групами було проаналізовано відповідно до t-критерію Стюдента і непараметричного критерію Вілкоксона для зв'язаних вибірок. Критерій χ^2 використали для оцінки різниці між категоріальними даними. Різниця значень імовірності – $p \geq 0,05$ (рівень значимості p). Розбіжності вважали вірогідними при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. На даний час значного поширення у харчовій та фармацевтичній промисловості набули штучні харчові барвники, які є водорозчинними органічними сполуками, що не існують у природі. Вони не мають самостійної харчової, енергетичної чи іншої цінності – їх додають до продуктів харчування, а також до лікарських форм виключно для надання привабливого вигляду та кольорового розмаїття [4]. На жаль, сьогодні негативний вплив барвників із кожним новим дослідженням стає дедалі очевиднішим.

З літератури відомо, що ушкодження клітинних мембран відображається співвідношенням активності внутрішньоклітинних ензимів у клітині та поза її межами, оскільки в нормі лише незначна кількість внутрішньоклітинних ензимів міститься у сироватці крові. Рівень активності ензимів у крові є маркером ушкодження відповідних клітин, що може супроводжуватися зміною їх проникності аж до появи некрозу. Найбільшої уваги заслуговують органоспецифічні ензими, які є специфічними тільки для певного типу тканин [13].

На ушкодження структури мембран клітин за дії токсичних сполук вказує зміна активності у сироватці крові щурів органоспецифічних ензимів – АЛАТ і АсАТ. В організмі тварин після введення різних доз азорубіну зафіксовано характерні зміни активності амінотрансфераз.

Найвищу активність АлАТ у сироватці крові токсикованих азорубіном щурів (15 мг/кг) зареєстровано на 21-шу добу отруєння. Вона в 1,7 раза була більшою від активності ензиму в тварин групи контролю ($p \leq 0,05$). Використання азорубіну в дозі 100 мг/кг призвело до вірогідного зростання активності АлАТ у всі терміни дослідження ($p \leq 0,001$) (табл. 1).

Враховуючи те, що АлАТ є маркерним ензимом печінки, ми дослідили її активність саме в цьому органі. У печінці спостерігали зворотний процес. При отруєнні азорубіном у дозі 15 мг/кг активність АлАТ прогресуюче знижувалась, і найменше значення відмічено в кінці дослідження (21-ша доба від початку отруєння). Використання барвника в дозі 100 мг/кг призвело до вірогідного ($p \leq 0,001$) зниження активності ензиму протягом усіх термінів дослідження, і в кінці експерименту цей показник зменшився в 1,6 раза.

Було досліджено активність АсАТ у сироватці крові, печінці та серці отруєних азорубіном тварин.

Встановлено, що після введення щурам азорубіну в дозі 15 мг/кг активність ензиму в сироватці крові підвищувалась від 112 % у термін на 7-му добу після ураження до 256 % через 21 добу від початку експерименту (рис. 1). Доза 100 мг/кг виявилася значно токсичнішою, оскільки у кінцевий термін дослідження активність АсАТ зросла до 463 %.

У печінці та серці спостерігали прогресуюче зменшення активності АсАТ при використанні обох доз харчового барвника. До кінця експерименту цей показник знизився: до 53 і 33 % – у печінці, до 71 та 54 % – у серці (див. рис. 1).

Отже, після введення в організм щурів підвищених доз азорубіну зростає активність органоспецифічних ензимів у сироватці крові та знижується у відповідних органах, що свідчить про цитоліз клітин і зміну проникності плазматичних мембран гепатоцитів та кардіоцитів.

Одним із мембранозалежних ензимів, органоспецифічних як для печінки, так і для серця, є лактатдегідрогеназа [14]. Результати дослідження

Таблиця 1 – Активність аланінамінотрансферази у сироватці крові (мкмоль/л·год) та печінці (мкмоль/100 г·год) щурів, які отримували азорубін ($M \pm m$, $n=42$)

| Доза азорубіну, мг/кг | Термін дослідження, доби | | |
|-----------------------|--------------------------|-------------|-------------|
| | 7-ма | 14-та | 21-ша |
| Сироватка крові | | | |
| Контрольні щури | 0,56±0,03 | | |
| 15 | 0,59±0,02 | 0,69±0,03* | 0,97±0,05** |
| 100 | 0,81±0,25** | 1,12±0,05** | 1,56±0,04** |
| Печінка | | | |
| Контрольні щури | 6,98±0,10 | | |
| 15 | 6,61±0,02 | 4,96±0,52* | 4,42±0,22** |
| 100 | 4,38±0,27** | 4,12±0,14** | 2,28±0,28** |

Примітка. Тут, у таблицях 2, 3, на рисунках 1, 2: * – вірогідні зміни між тваринами групи контролю і щурами, які отримували азорубін ($p < 0,05$); ** – вірогідні зміни між тваринами групи контролю і щурами, які отримували азорубін ($p < 0,001$).

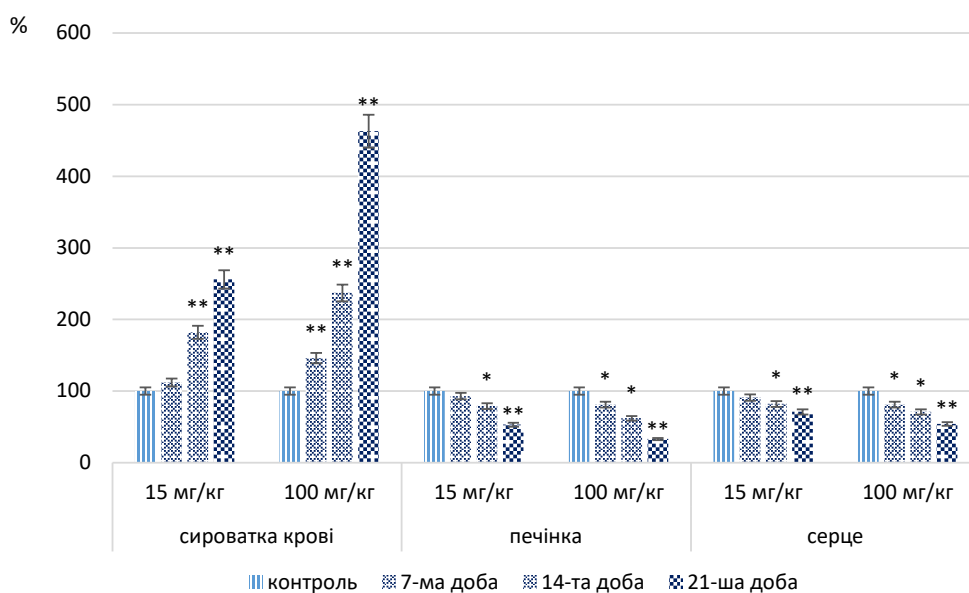


Рис. 1. Активність аспаратамінотрансферази у сироватці крові, печінці та серці тварин після отруєння азорубіном, %.

активності цього ензиму в різних органах наведено в таблиці 2.

Використання азорубіну в обох дозах призвело до вірогідного зростання активності ЛДГ у сироватці крові після їх введення в організм щурів, причому в дозі 100 мг/кг харчовий барвник виявився більш токсичним. До кінця експерименту активність ензиму підвищилась у 3,3 раза при застосуванні цієї дози ($p < 0,001$).

У печінці та серці спостерігали прогресуюче зменшення активності ЛДГ у всі терміни дослідження. При використанні дози 15 мг/кг маси тіла вірогідне зниження цього показника відмічено у кінцеві терміни дослідження як у печінці, так і в серці. У щурів, які отримували азорубін у дозі 100 мг/кг, активність ЛДГ у кінці експерименту зменшилась: у 1,9 раза – в печінці, в 1,8 раза – в серці.

За умов ураження організму токсикантами зазнають змін не тільки мембрани гепатоцитів та кардіоцитів, але й інші клітини організму.

Ми дослідили проникність мембран еритроцитів за умов ураження печінки щурів харчовим барвником азорубіном. Для цього важливим тестом є визначення відсотка їх проникності,

оскільки високий його рівень вказує на деградацію біліпідного шару мембрани, що призводить до зменшення еластичності, збільшення осмотичної крихкості та фрагментації самої мембрани. Внаслідок цього змінюється проникність клітинної мембрани до різних речовин [15].

При дослідженні відсотка проникності еритроцитарної мембрани (ЕІІ) встановлено, що ураження щурів токсичними дозами азорубіну призвело до підвищення її проникності, причому з подовженням терміну дослідження відсоток проникності прогресуюче збільшувався (на 7-му добу експерименту – на 12,1 %, на 14-ту – на 15,1 %, на 21-шу – на 28,25 %) при отруєнні дозою 15 мг/кг (рис. 2). Більш виражений вплив на ЕІІ проявила доза 100 мг/кг. Після її потрапляння в організм щурів ЕІІ підвищився на 55,9 та 61,5 % відповідно в останні терміни дослідження.

Однією з причин зміни проникності клітинних мембран під дією азорубіну може бути токсичний вплив його метаболітів на структурні компоненти саме мембран – як ліпідні, так і протеїнові.

При патологічних процесах, які супроводжуються ендогенною інтоксикацією, в організмі

Таблиця 2 – Активність лактатдегідрогенази у сироватці крові (мккат/л), печінці та серці (мккат/кг) щурів, які отримували азорубін ($M \pm m$, $n=42$)

| Доза азорубіну, мг/кг | Термін дослідження, доби | | |
|-----------------------|--------------------------|--------------|--------------|
| | 7-ма | 14-та | 21-ша |
| Сироватка крові | | | |
| Контрольні щури | 8,00±0,47 | | |
| 15 | 10,31±0,50* | 13,20±0,33** | 16,34±0,42** |
| 100 | 15,76±0,55** | 22,36±0,39** | 26,10±0,85** |
| Печінка | | | |
| Контрольні щури | 12,86±0,41 | | |
| 15 | 11,46±0,53 | 9,90±0,29* | 8,41±0,36** |
| 100 | 9,98±0,35* | 8,25±0,33** | 6,77±0,42** |
| Серце | | | |
| Контрольні щури | 10,23±0,31 | | |
| 15 | 9,74±0,33 | 9,32±0,24 | 7,02±0,42* |
| 100 | 8,58±0,35* | 7,67±0,28* | 5,69±0,38** |

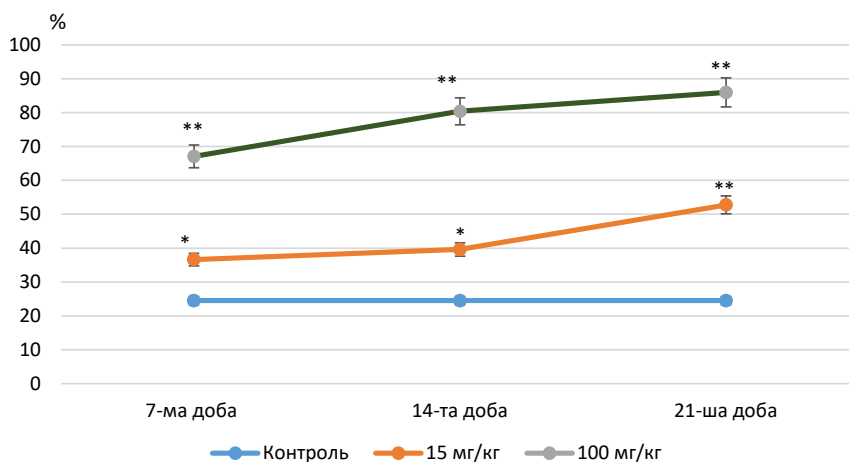


Рис. 2. Еритроцитарний індекс інтоксикації у крові щурів після отруєння азорубіном, %.

накопичується значна кількість продуктів метаболізму, більшість з яких є молекулами середньої маси – від 300 до 5000 Д. Більшу частину МСМ становлять пептиди, глікопептиди, аміноцукри, поліаміни, атерогенно окиснені ліпопротеїни, нуклеотиди, продукти деградації фібриногену, альбуміну, тромбіну, фрагменти колагену, а також похідні ліпідів, фосfolіпідів та ін. Цей показник використовують як маркер ендотоксемії різного генезу для визначення ступеня тяжкості патологічного процесу та можливих ускладнень. Відповідно до вищезазначеного, уніфікованими маркерами інтоксикаційного синдрому можна запропонувати МСМ [16]. Накопичення молекул середньої маси є не тільки маркером ендотоксикації, надалі вони посилюють перебіг патологічного процесу, набуваючи ролі вторинних токсинів, що впливають на життєдіяльність усіх систем і органів [17].

У процесі дослідження ступеня ендогенної інтоксикації в організмі тварин у сироватці крові було визначено вміст МСМ обох фракцій: СМ1

(переважають ланцюгові амінокислоти) та СМ2 (переважають ароматичні амінокислоти) (табл. 3).

При визначенні вмісту СМ1 у сироватці крові щурів, уражених азорубіном у дозі 15 мг/кг, встановлено максимальне його підвищення на 21-шу добу отруєння (збільшення в 1,5 раза порівняно з тваринами групи контролю). Схожа ситуація склалась із показником СМ2, в якому переважають ароматичні амінокислоти. У сироватці крові щурів, уражених азорубіном (15 мг/кг), на 21-шу добу дослідження показник СМ2 підвищився у 2,1 раза (порівняно з тваринами групи контролю).

При застосуванні азорубіну в дозі 100 мг/кг вміст СМ1 вірогідно зростав у всі терміни дослідження ($p < 0,001$) і до кінця експерименту перевищував показник групи контролю у 2,4 раза, тоді як вміст СМ2 у кінцевий термін збільшився в 3,3 раза.

Отже, після введення в організм щурів підвищених доз азорубіну поглиблювалась ендогенна інтоксикація, про що свідчило збільшення у сироватці крові тварин вмісту МСМ обох фракцій.

Таблиця 3 – Вміст молекул середньої маси у сироватці крові (ум. од./л) щурів, які отримували азорубін ($M \pm m$, $n=42$)

| Доза азорубіну, мг/кг | Термін дослідження, доби | | |
|-----------------------|--------------------------|--------------|--------------|
| | 7-ма | 14-та | 21-ша |
| СМ1 | | | |
| Контрольні щури | 18,00±1,03 | | |
| 15 | 19,67±0,95 | 21,67±0,95 | 27,67±0,74* |
| 100 | 32,33±1,31** | 36,67±1,69** | 43,33±2,11** |
| СМ2 | | | |
| Контрольні щури | 13,67±1,20 | | |
| 15 | 14,67±1,33 | 17,67±1,20 | 28,67±1,33** |
| 100 | 24,67±1,52* | 31,33±1,11** | 45,33±1,43** |

ВИСНОВКИ. 1. Ураження щурів харчовим барвником азорубіном призводить до зміни проникності плазматичних мембран гепатоцитів та кардіоцитів, на що вказує підвищення активності амінотрансфераз і лактатдегідрогенази у сироватці крові, а також її зниження у відповідних органах. Максимальні зміни відмічено в кінці дослідження – на 21-шу добу експерименту.

2. Відмічено збільшення вмісту молекул середньої маси у сироватці крові щурів після

ураження азорубіном, що є наслідком утворення значної кількості вторинних ендогенних токсинів, а також зміни проникності еритроцитарних мембран, які призводять до поглиблення ендогенної інтоксикації.

3. Результати досліджень дозволяють зробити висновок про токсичність обох доз азорубіну (15 та 100 мг/кг), при цьому доза харчового барвника 15 мг/кг маси тіла не на всі показники має токсичний вплив.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Дубініна А. А. Забруднення харчових продуктів сполуками металів / А. А. Дубініна, Л. П. Малюк, Г. А. Селютіна // Токсичні речовини у харчових продуктах та методи їх визначення. – К. : Професіонал, 2007. – С. 65–84.

2. Дайнеко П. М. Порівняльна характеристика харчових домішок у продуктах харчування в Україні та країнах Європейського Союзу / П. М. Дайнеко // Магістерські студії. Альманах. – Херсон : ХДУ, 2015. – Вип. 15 (2). – С. 65–66.

3. Мельниченко Т. І. До питання визначення синтетичних барвників в харчових продуктах / Т. І. Мельниченко // *Современные проблемы токсикологии*. – 2000. – № 5. – С. 33–36.

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

5. 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 / B. Bateman, J. O. Warner, E. Hutchinson [et al.] // *Arch. Dis. Child.* – 2004. – No. 89. – P. 506–551.

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 Elsttar // *Food Chem. Toxicol.* – 2010. – No. 48. – P. 2994–2999.

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

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

9. Влізло В. В. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині : довідник / В. В. Влізло, Р. С. Федорук, І. Б. Ратич. – Львів : СПОЛОМ, 2012. – 764 с.

10. Никольская В. А. Биохимический аспект рассмотрения роли молекул средней массы в организме / В. А. Никольская, Ю. Д. Данильченко, З. Н. Меметова // *Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Серия "Биология, химия"*. – 2013. – № 1 (65). – С. 139–145.

11. Тогайбаев А. А. Способ диагностики эндогенной интоксикации / А. А. Тогайбаев, А. В. Кургузкин, И. В. Рикун // *Лаб. дело*. – 1988. – № 9. – С. 22–24.

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

13. Imlay J. A. The mismetallation of enzymes during oxidative stress / J. A. Imlay // *Biol. Chem.* – 2014. – No. 289 (41). – P. 28121–28128.

14. Патологічні зміни серця за умов моделювання судомного синдрому різної етіології / Н. А. Колесова, Л. В. Натрус, Т. С. Брюзгіна [та ін.] // *Фізіол. журн.* – 2016. – **62**, № 4. – С. 23–30.

15. Igbokwe N. A. A review of the factors that influence erythrocyte osmotic fragility / N. A. Igbokwe // *Sokoto J. Vet. Sci.* – 2019. – No. 16 (4). – P. 1–23.

16. Черкасова В. В. Роль молекул середньої маси при експериментальному L-аргінін індукованому панкреатиті та при корекції дексаметазоном / В. В. Черкасова // *Актуальні проблеми транспортної медицини*. – 2017. – № (2). – С. 125–130.

17. Лихацький П. Г. Застосування мілдронату за умов окиснювального стресу у щурів, уражених натрію нітритом, на тлі інтоксикації тютюновим димом / П. Г. Лихацький, Л. С. Фіра // *Світ медицини та біології*. – 2017. – № 13 (3). – С. 128–134.

REFERENCES

1. Dubinina, A.A., Malyuk, L.P. & Selyutina, G.A. (2007). Contamination of food products with metal compounds. *Toxic Substances in Food Products and Methods of Their Determination*. Kyiv: Professional, 65-84 [in Ukrainian].

2. Daineko, P.M. (2015). Comparative characteristics of food additives in food products in Ukraine and the countries of the European Union. *Master's Studies. Almanac*, 15 (2), Kherson. KhSU, 65-66 [in Ukrainian].

3. Melnychenko, T.I. (2000). On the issue of determining synthetic dyes in food products. *Modern Problems of Toxicology*, 5, 33–36 [in Ukrainian].

4. 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.

5. Bateman, B., Warner, J.O., Hutchinson, E., Dean T. & Rowlandson, P. (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.

6. Amin, K.A., Abdel Hameid, II.H., & Abd Elsttar, 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. 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.

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

9. Vlizlo, V.V., Fedoruk, R.S. & Ratyck, I.B. (2012). *Laboratory research methods in biology, animal husbandry and veterinary medicine: a guide*. Lviv: SPOLOM, 764 [in Ukrainian].

10. Nikolskaya, V.A., Danylchenko, Yu.D. & Memetov Z.N. (2013). Biochemical aspect of consideration of the role of medium-mass molecules in the organism in the organism. *Scholarly notes of the Tavricheskogo National University named after V.I. Vernadskyi. Ser.: Biology, Chemistry*, 1 (65), 139-145 [in Ukrainian].

11. Togaibaev, A.A., Kurguzkin, A.V. & Rykun I.V. (1988). Method of diagnosis of endogenous intoxication. *Lab. Case*, 9, 22-24.

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

13. Imlay, J.A. (2014). The mismetallation of enzymes during oxidative stress. *Biol. Chem.*, 289 (41), 28121-28128.

14. Kolesova, N.A., Natrus, L.V., Bryuzgina, T.S., Lytvynenko, V.I., Sukhareva, N.M. & Chukhray, S.M. (2016). Pathological changes of the heart under the

conditions of simulation of convulsive syndrome of various etiologies. *Physiol. Journal*, 62 (4), 23-30 [in Ukrainian].

15. Igbokwe, N.A. (2019). A review of the factors that influence erythrocyte osmotic fragility, *Sokoto J. Vet. Sci.*, 16 (4), 1-23.

16. Cherkasova, V.V. (2017). The role of medium-mass molecules in experimental L-arginine-induced

pancreatitis and correction with dexamethasone. *Actual Problems of Transport Medicine*, 2, 125-130 [in Ukrainian].

17. Lykhatskyi, P.G. & Fira, L.S. (2017). The use of mildronate under conditions of oxidative stress in rats affected by sodium nitrite against the background of tobacco smoke intoxication. *World of Medicine and Biology*, 13(3), 128-134 [in Ukrainian].

Отримано 12.09.2023

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.

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

ACTIVITY OF CYTOLYTIC PROCESSES IN THE BODY OF RATS POISONED WITH THE FOOD DYE AZORUBINE

Summary

Introduction. About 20 synthetic dyes, most of which are azo compounds, are officially allowed to be used in the food, cosmetic and pharmaceutical industries in Ukraine. Synthetic dyes are capable of exhibiting toxic and carcinogenic properties due to their interaction with food ingredients, various environmental factors, and exceeding permissible levels of use. The most common synthetic dyes include carmoisin (azorubin) E122 (raspberry dye). As a result of numerous studies of the food additive E122, a number of possible negative effects on the human body have been revealed.

The aim of the study – to investigate the activity of membrane-destructive processes and the degree of endogenous intoxication in rats poisoned with the food dye azorubin.

Research Methods. Experiments were conducted on white male rats, which were divided into 3 groups, one of them served as a control, the other two groups of animals received an aqueous solution of azorubin at a dose of 15 mg/kg and 100 mg/kg of body weight. Rats were euthanized under thiopental anesthesia. In the obtained biological material, the activity of the membrane-dependent enzymes ALT, AST, and LDH, the content of medium-mass molecules (MSM), and the erythrocyte intoxication index were determined on the 7th, 14th, and 21st days from the beginning of the experiment. Statistical data processing was performed using the SPSS-22 software package.

Results and Discussion. The highest activity of ALT in blood serum of poisoned rats (15 mg/kg of azorubin) was registered on the 21st day of poisoning. Azorubin at a dose of 100 mg/kg led to a probable increase in the activity of ALT in all terms of the study. Similar changes are characteristic for AST and LDH. In the liver and myocardium, the activity of these enzymes probably decreased during the experiment. It was established that damage to rats with toxic doses of azorubin led to an increase in the permeability of erythrocyte membranes, and with the extension of the study period, the percentage of permeability progressively increased. The dose of 100 mg/kg of azorubin showed a more pronounced effect on EII. After the introduction of increased doses of azorubin into the body of rats, endogenous intoxication deepened, which was evidenced by an increase in the content of MSM of both fractions in the blood serum of rats. The dose of 100 mg/kg of body weight was more toxic, the content of MSM was high during all periods of the study.

Conclusions. The research results allow us to draw a conclusion about the toxicity of both doses of azorubin (15 mg/kg and 100 mg/kg), while a dose of food dye of 15 mg/kg of body weight did not have a toxic effect on all parameters.

KEY WORDS: food dyes; azorubin; cytolytic processes; membrane-dependent enzymes; endogenous intoxication.