

Н. Р. Нечай, В. Д. Фіра, О. І. Качур, Л. С. Фіра
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ

ПОКАЗНИКИ ОКИСНЮВАЛЬНОГО СТРЕСУ У ЩУРІВ, ОТРУЄНИХ ПІДВИЩЕНИМИ ДОЗАМИ БЕНЗОАТУ НАТРІЮ

Вступ. У науковій літературі наведені результати досліджень впливу харчового консерванта натрію бензоату на структуру та функціонування біологічних об'єктів, але вони досить суперечливі. За офіційними даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), застосування бензоату натрію в харчовій промисловості обмежено до 0,1 %, а допустима добова норма цього консерванта становить 5 мг/кг на добу. Проте він використовується у значно вищих концентраціях у багатьох харчових продуктах, ліках, косметичних засобах. На популяції аеробних дріжджів доведено потужну проокиснювальну дія бензоату натрію.

Мета дослідження – дослідити вплив підвищених доз бензоату натрію на активність окиснювальних процесів і показники антиоксидантної системи організму щурів.

Методи дослідження. Дослідження проведено на білих щурах-самцях із масою тіла 170–180 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію ТНМУ імені І. Я. Горбачевського. Піддослідних щурів розділили на 3 групи. Першу групу становили інтактні щури, щури другої групи отримували бензоат натрію в дозі 10 мг/кг маси тіла. Третій групі щурів вводили бензоат натрію в дозі 30 мг/кг маси тіла. Консервант щури отримували інтрагастрально щоденно у вищевказаних дозах. Дослідження проводили згідно з вимогами належної лабораторної практики (GLP) та біоетики відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин. Тварин піддавали евтаназії під тіопенталовим знеболенням. Виводили щурів з експерименту через 7, 14, 21 і 28 днів від початку введення натрію бензоату. У сироватці крові та в гомогенаті печінки вивчали вміст ТБК-активних продуктів, окисної модифікації протеїнів, відновленого глутатіону та каталазну активність.

Результати й обговорення. Встановлено, що протягом 28 днів у сироватці крові та печінці тварин прогресуюче підвищується вміст ТБК-АП. До кінця експерименту вміст ТБК-АП у сироватці крові щурів (доза токсиканта – 30 мг/кг маси тіла) у 5 разів перевищив рівень інтактних щурів. Після отруєння щурів бензоатом натрію в дозі 10 мг/кг маси тіла щурів у перший тиждень дослідження підвищення цього показника в печінці не було вірогідним. До кінця експерименту він підвищився на 216 %. У цей же термін за застосування дози токсиканта 30 мг/кг вміст ТБК-АП перевищував норму на 268 %. Встановлено, що вміст продуктів ОМП обох фракцій вірогідно ($p \leq 0,05$) зростав у сироватці крові та печінці токсикованих щурів у всі терміни дослідження за використання обох доз бензоату натрію.

У тварин, токсикованих бензоатом натрію, вміст відновленого глутатіону знижувався у всі терміни дослідження як у сироватці крові, так і в печінці щурів порівняно з нормою. Відмічено зниження каталазної активності як у сироватці крові, так і в печінці уражених тварин протягом усього експерименту. Доза бензоату натрію 30 мг/кг була більш токсичною, після її введення в організм щурів відмічено вірогідне зниження каталазної активності в сироватці крові вже з 14-ї доби дослідження, а в печінці – протягом усього експерименту.

Висновки. Експериментально доведено, що введення тваринам бензоату натрію у підвищених дозах (10 та 30 мг/кг маси тіла тварин) активує процеси ліпопероксидації та окиснювальної модифікації протеїнів, що призводить до розвитку оксидативного стресу. Зареєстровано зниження активності показників антиоксидантної системи захисту організму, що супроводжувалося вірогідним ($p \leq 0,05$) зниженням каталазної активності та вмісту відновленого глутатіону в усі терміни експерименту. Доза бензоату натрію 30 мг/кг маси тіла викликала більш виражені зміни досліджуваних біохімічних показників протягом усього дослідження (28 днів).

КЛЮЧОВІ СЛОВА: бензоат натрію; щури; ліпопероксидація; окиснювальна модифікація протеїнів; окисний стрес; антиоксидантна система.

ВСТУП. Однією з найголовніших потреб людини є харчування. Продукти харчування, які ми споживаємо, постачають енергію для розвитку та життєдіяльності організму, підтримують всі метаболічні процеси

в належному стані, підвищують працездатність людини та її самопочуття. Сучасна харчова промисловість характеризується широким додаванням у продукти харчування найрізноманітніших хімічних домішок, зокрема, як консервант часто використовують Е211 або натрію бензоат [1], який

належить до похідних бензойної кислоти. Він присутній у природі в низькій концентрації у таких продуктах, як чорнослив, журавлина, кориця, гвоздика, яблука, томати та ін. Завдяки своїм властивостям добавка E211 широко використовується в харчовій промисловості як консервант. Незважаючи на твердження різних організацій про «нешкідливість» натрій бензоату, немає жодного факту його позитивного впливу на організм людини [2]. У науковій літературі наведені результати досліджень про вплив натрію бензоату на структуру та функціонування біологічних об'єктів, але вони досить суперечливі. Доведено потужну проокислювальну дію E211 на популяції аеробних дріжджів [3]. Деякі автори вказують, що ця добавка проявляє мутагенний вплив на мітохондріальну ДНК, призводить до пригнічення клітинного дихання та розвитку окисного стресу в клітинах епітелію травного тракту [4].

Натрій бензоат застосовують як консервант не лише в харчових продуктах, але й під час виробництва ліків, косметичних сумішей і шампунів [3; 5]. За офіційними даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) [6], застосування бензоату натрію в харчовій промисловості обмежено до 0,1 %, а допустима добова норма цього консерванта становить 5 мг/кг на добу. Проте він використовується у значно вищих концентраціях у багатьох харчових продуктах [7].

Відомо, що бензойна кислота нетоксична у своїй органічній формі, проте синтетична її форма в хронічній дозі отруйна для живих організмів. Небезпечним вважається взаємодія бензоату натрію з іншими речовинами, що містяться в продуктах харчування, зокрема з аскорбіновою кислотою. Під час їх взаємодії може утворюватися відомий канцероген – бензол [8]. Останній викликає в організмі анемію, важке пригнічення імунної системи, передракові захворювання крові, лейкемію та порушення репродуктивної функції [9; 10]. Бензоат натрію знижує в плазмі крові вміст тестостерону, гонадотропінів, гормонів щитоподібної залози [11].

В організмі метаболізм бензоату натрію відбувається переважно в клітинах печінки, проте механізми його впливу в хронічній дозі на функціональний стан гепатобілярної системи залишаються не повністю дослідженими. Будь-які зміни в печінці можуть призвести до її дисфункцій, як наслідок, до порушення біотрансформації ксенобіотиків, у тому числі лікарських препаратів. Тому розуміння механізмів метаболічних

змін у печінці за умов введення консервантів допоможе попередити не лише захворювання органів гепатобілярної системи, пов'язаних із неправильним і нераціональним харчуванням, але й знизить токсичність лікарських препаратів, які застосовують під час лікування різних патологій [6].

МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ – дослідити вплив підвищених доз бензоату натрію на активність окиснювальних процесів і показники антиоксидантної системи організму щурів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експериментальні дослідження проведено на білих статевозрілих нелінійних щурах-самцях із масою тіла 170–180 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.

Тварин рандомізували методом випадкової вибірки. Піддослідних щурів розділили на 3 групи. Першу групу становили інтактні щури (6 особин), щури другої групи отримували бензоат натрію в дозі 10 мг/кг маси тіла (24 особини). Третій групі щурів (24 особини) вводили бензоат натрію в дозі 30 мг/кг маси тіла. Консервант щури отримували інтрагастрально щоденно у вищевказаних дозах.

Дослідження проводили згідно з вимогами належної лабораторної практики (GLP) та біоетики відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей [12].

Тварин піддавали евтаназії під тіопенталовим знеболенням (60 мг/кг). Забір крові проводився із серця тварин. Центрифугували за 3000 об/хв протягом 30 хв. Отриману сироватку крові (надосадову рідину) використовували для проведення досліджень. Печінку (250 мг) використовували для отримання гомогенату за допомогою магнітного гомогенізатора Silent Crusher S після попередньої перфузії з 2,5 мл фізіологічного розчину.

Виводили щурів з експерименту через 7, 14, 21 і 28 днів від початку введення натрію бензоату.

Вплив консерванта на прооксидантно-антиоксидантні процеси у щурів оцінювали за такими показниками: вмістом ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) [13], продуктів окисної модифікації протеїнів (ОМП) [14], відновленого глутатіону (ВГ) [15] та каталазою активністю (КАТ) [16].

Отримані результати піддавали статистичній обробці за допомогою програми

STATISTICA 13. Для статистичного аналізу результатів використовували параметричні та непараметричні методи оцінки одержаних даних. Для всіх показників розраховували середнє арифметичне вибірки (M) та похибку середнього арифметичного (m). Достовірність різниці значень між незалежними кількісними значеннями визначали за критерієм Манна – Уїтні. Різницю між значеннями вважали ймовірною, якщо $p < 0,05$ [17].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Поняття окисдативного стресу сприймається як негативне явище, оскільки він розвивається за багатьох патологічних станів. Організм використовує кисень переважно для окисного фосфорилування (оксидазний шлях), а також бере участь у пероксидазному, оксигеназному та вільнорадикальному шляхах метаболізму. До 1–3 % кисню, що споживається легенями, перетворюється на активні форми кисню. Утворення вільних радикалів відбувається внаслідок обмінних процесів дихального ланцюга, фагоцитозу, синтезу простагландинів, цитохрому P450 та ін. Вільні радикали також утворюються під впливом зовнішніх джерел, як-от стрес, особливості харчування, куріння, рентгенівське випромінювання, забруднення повітря, пестициди та промислові хімікати [18].

За отруєнь різного генезу можуть активуватися вільнорадикальні реакції, що призводить до окиснювального стресу. Однією з таких причин можуть бути харчові отруєння, зумовлені широким використанням у продуктах консервантів, барвників і стабілізаторів.

Харчовий консервант бензоат натрію вважають відносно безпечним у допустимих дозах, але він майже не виводиться з організму. За перевищення допустимої норми споживання бензоат натрію токсично діє на печінку й нирки, провокує загострення симптомів астми.

Ми дослідили показники вільнорадикальних реакцій, зокрема продуктів

ліпопероксидації, за введення в організм щурів підвищених доз бензоату натрію (10 мг/кг та 30 мг/кг маси тіла). Встановлено, що протягом 28 днів у сироватці крові тварин прогресуюче підвищується вміст ТБК-АП (табл. 1).

Вірогідні зміни відмічено на 14-ту, 21-шу та 28-му добу дослідження після отруєння щурів натрію бензоатом в дозі 10 мг/кг маси тіла. Із застосуванням токсиканта в дозі 30 мг/кг вірогідне підвищення ($p \leq 0,05$) цього показника спостерігалось у всі терміни дослідження, починаючи із 7-ї доби. До кінця експерименту вміст ТБК-АП у сироватці крові щурів (доза токсиканта – 30 мг/кг маси тіла) у 5 разів перевищив рівень інтактних щурів.

Аналогічне підвищення вмісту продуктів ліпопероксидації спостерігалось і в печінці уражених бензоатом натрію щурів (рис. 1). Після отруєння щурів бензоатом натрію в дозі 10 мг/кг маси тіла щурів у перший тиждень дослідження підвищення цього показника не було вірогідним. До кінця експерименту він підвищився на 216 %. У цей же термін за застосування дози токсиканта 30 мг/кг вміст ТБК-АП перевищував норму на 268 %.

Негативна дія ТБК-АП полягає в тому, що вони зшивають молекули ліпідів і знижують щільність, підвищуючи проникність мембрани. Унаслідок цього порушується фагоцитоз, піноцитоз, клітинна міграція та інші процеси, що призводить до функціональної недостатності органів [19].

Ураження тварин токсичними дозами бензоату натрію супроводжувалося не тільки активацією процесів пероксидного окиснення ліпідів, але й окисною модифікацією протеїнів (ОМП). Основними індукторами ОМП насамперед є АФО, збільшення вільного заліза, утворення продуктів перекисного окислення ліпідів зі зниженням антиоксидантного захисту організму.

Встановлено, що вміст продуктів ОМП обох фракцій достовірно зростав у сироватці крові та печінці токсикованих щурів у всі

Таблиця 1 – Вміст ТБК-активних продуктів у сироватці крові (мкмоль/л) щурів, отруєних підвищеними дозами бензоату натрію, $M \pm m$; $n = 54$

Групи тварин, доза токсиканта	Терміни дослідження, доби			
	7	14	21	28
інтактні	$2,74 \pm 0,14$			
10 мг/кг маси тіла	$3,25 \pm 0,19$	$8,82 \pm 0,20^*$	$10,44 \pm 0,19^*$	$10,90 \pm 0,21^*$
30 мг/кг маси тіла	$3,46 \pm 0,13^*$	$11,81 \pm 0,42^*$	$13,46 \pm 0,36^*$	$14,06 \pm 0,31^*$

Примітка: тут і в наступних таблицях * – вірогідні зміни між інтактними тваринами й ураженими бензоатом натрію.

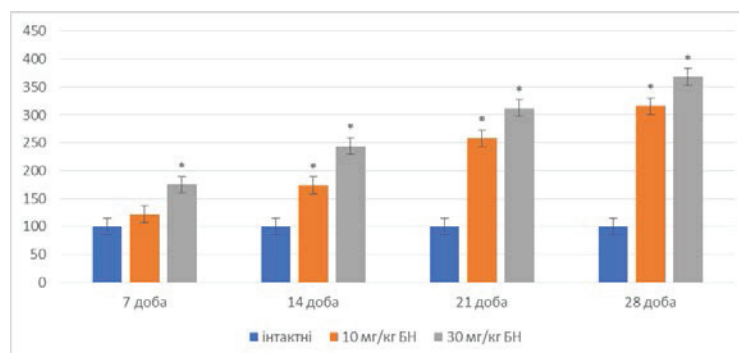


Рис. 1. Вміст ТБК-АП у печінці щурів, уражених підвищеними дозами бензоату натрію, %
Примітка: тут і в наступних рисунках * – вірогідні зміни між інтактними тваринами й ураженими бензоатом натрію.

терміни дослідження з використанням обох доз бензоату натрію. За отруєння токсикантом в дозі 10 мг/кг маси тіла щурів вірогідне підвищення ($p \leq 0,05$) продуктів ОМП нейтрального характеру (2,4-ДНФГ 370) спостерігалось на 14-ту, 21-шу та 28-му добу експерименту. Найбільше зростання цієї фракції відмічено на 28-му добу експерименту за застосування дози бензоату натрію 30 мг/кг. Так, після введення тваринам токсиканта вміст 2,4-ДНФГ 370 у кінцевий термін дослідження зріс у сироватці крові та печінці щурів у 2,3 та 1,8 раза відповідно щодо інтактних тварин (табл. 2).

Вивчення вмісту продуктів ОМП основного характеру (2,4-ДНФГ 430) за отруєння бензоатом натрію в дозі 10 мг/кг показало їх вірогідне збільшення в сироватці крові уражених щурів на 21-шу та 28-му добу дослідження в 1,4 та 1,5 раза відповідно щодо норми (табл. 3).

Доза бензоату натрію 30 мг/кг була токсичною у всі терміни дослідження. У печінці

тварин уражених токсикантом у цій дозі фіксували збільшення вмісту 2,4-ДНФГ(430 нм) у два останні терміни дослідження в 1,5 та 1,6 раза відповідно порівняно з інтактними щурами.

Отже, бензоат натрію у використаних нами дозах призвів до активації вільнорадикальних процесів, зокрема ліпопероксидації та окиснювальної модифікації протеїнів, що зумовлює розвиток окисдативного стресу в організмі щурів. При цьому доза консерванта 30 мг/кг маси тіла проявила більш токсичний вплив на окиснювальні процеси в тканинах тварин.

У нормі утворення вільних радикалів і недоокислених продуктів метаболізму відбувається під час біохімічних реакцій організму безперервно. Баланс підтримується антиоксидантними ензимами, які здатні нейтралізувати молекули з високим окисним потенціалом. Основним внутрішньоклітинним антиоксидантом із потужною детоксикаційною дією є глутатіон [20].

Таблиця 2 – Вміст ОМП (370) у сироватці крові та печінці (мкмоль/г протеїну) щурів, отруєних підвищеними дозами бензоату натрію, $M \pm m$; $n = 54$

Групи тварин, доза токсиканта	Терміни дослідження, доби			
	7	14	21	28
Сироватка крові				
інтактні	0,118 $\pm$ 0,005			
10 мг/кг маси тіла	0,140 $\pm$ 0,009	0,151 $\pm$ 0,008*	0,211 $\pm$ 0,005*	0,232 $\pm$ 0,009*
30 мг/кг маси тіла	0,190 $\pm$ 0,005*	0,217 $\pm$ 0,007*	0,235 $\pm$ 0,006*	0,275 $\pm$ 0,008*
Печінка				
інтактні	0,193 $\pm$ 0,007			
10 мг/кг маси тіла	0,218 $\pm$ 0,008	0,261 $\pm$ 0,016*	0,287 $\pm$ 0,006*	0,313 $\pm$ 0,005*
30 мг/кг маси тіла	0,283 $\pm$ 0,007*	0,310 $\pm$ 0,007*	0,323 $\pm$ 0,007*	0,347 $\pm$ 0,005*

Таблиця 3 – Вміст ОМП (430) у сироватці крові та печінці (мкмоль/г протеїну) щурів, отруєних підвищеними дозами бензоату натрію, $M \pm m$; $n=54$

Групи тварин, доза токсиканта	Терміни дослідження, доби			
	7	14	21	28
Сироватка крові				
інтактні	0,198 $\pm$ 0,010			
10 мг/кг маси тіла	0,212 $\pm$ 0,005	0,230 $\pm$ 0,008	0,282 $\pm$ 0,008*	0,297 $\pm$ 0,007*
30 мг/кг маси тіла	0,250 $\pm$ 0,006*	0,308 $\pm$ 0,010*	0,333 $\pm$ 0,007*	0,380 $\pm$ 0,009*
Печінка				
інтактні	0,253 $\pm$ 0,007			
10 мг/кг маси тіла	0,258 $\pm$ 0,007	0,273 $\pm$ 0,011	0,303 $\pm$ 0,007*	0,313 $\pm$ 0,004*
30 мг/кг маси тіла	0,307 $\pm$ 0,007*	0,348 $\pm$ 0,008*	0,387 $\pm$ 0,007*	0,415 $\pm$ 0,004*

Відновлений глутатіон (ВГ) та комплекс ензимів (глутатіонпероксидаза, глутатіонтрансфераза та глутатіонредуктаза) мають здатність пригнічувати процеси ВРО та інактивувати токсичні для організму речовини [21]. ВГ активно підтримує окислювально-відновний потенціал, регулює процеси детоксикації ксенобіотиків ендо- та екзогенного походження, як безпосередньо, так і як субстрат для цілої низки ензимів.

Результати дослідження вмісту ВГ у сироватці крові щурів після отруєння їх різними дозами бензоату натрію наведені в таблиці 4.

Під час визначення вмісту відновленого глутатіону встановлено, що у тварин, токсикованих бензоатом натрію, цей показник знижувався у всі терміни дослідження як у сироватці крові, так і в печінці щурів відносно інтактних щурів. Це може свідчити про ураження печінки, яка є основним місцем синтезу глутатіону, тому в разі порушення функції печінки завжди спостерігається його дефіцит.

З таблиці 4 видно, що доза бензоату натрію 30 мг/кг маси тіла протягом усього експерименту вірогідно знижувала вміст ВГ у сироватці крові щурів і наприкінці дослідження цей показник у 4,2 раза виявився

нижчим за норму. У цей термін після отруєння токсикантом у дозі 10 мг/кг вміст ВГ знизився лише в 1,4 раза.

Отруєння щурів бензоатом натрію в дозі 30 мг/кг маси тіла призвело до більш вираженого зниження вмісту ВГ у печінці, ніж доза токсиканта 10 мг/кг (рис. 2).

У кінцевий термін експерименту вміст ВГ у печінці після застосування дози БН 30 мг/кг був на 42 % нижчим за такий показник в інтактних тварин, а доза 10 мг/кг маси тіла викликала зниження вмісту ВГ у цей же термін на 29 % порівняно з нормою.

Каталаза – ензим, який бере участь у знешкодженні токсичного для організму гідрогену пероксиду в термінальній стадії вільнорадикального окиснення [22].

Введення бензоату натрію в організм щурів викликало зниження каталазної активності порівняно з нормою як у сироватці крові, так і в печінці піддослідних тварин протягом усього експерименту (табл. 5).

У щурів, які отримували дозу БН 10 мг/кг маси тіла, спостерігалася тенденція до зниження цього показника в сироватці крові, і тільки наприкінці дослідження (28-ма доба) це зниження виявилось вірогідним ($p \leq 0,05$). У печінці зниження каталазної активності за отруєння БН в дозі 10 мг/кг було більш

Таблиця 4 – Вміст відновленого глутатіону в сироватці крові (мкмоль/л) щурів, отруєних підвищеними дозами бензоату натрію, $M \pm m$; $n = 54$

Групи тварин, доза токсиканта	Терміни дослідження, доби			
	7	14	21	28
інтактні	1,48 $\pm$ 0,06			
10 мг/кг маси тіла	1,30 $\pm$ 0,07	1,30 $\pm$ 0,03	0,99 $\pm$ 0,05*	1,06 $\pm$ 0,06*
30 мг/кг маси тіла	1,05 $\pm$ 0,06*	0,82 $\pm$ 0,03*	0,54 $\pm$ 0,03*	0,35 $\pm$ 0,03*

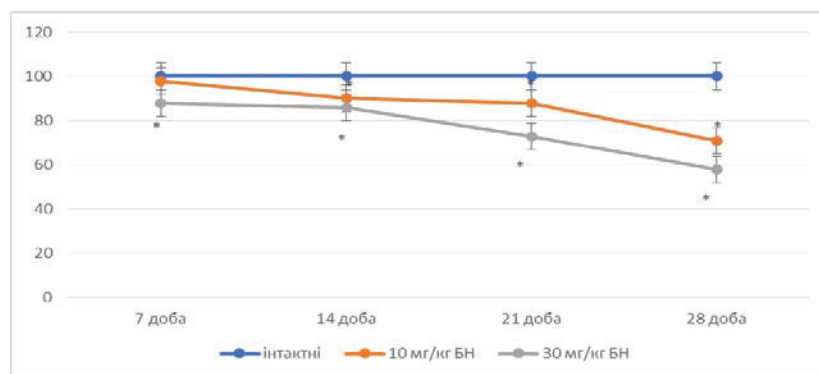


Рис. 2. Вміст відновленого глутатіону в печінці щурів, уражених підвищеними дозами бензоату натрію, %

Таблиця 5 – Каталазна активність у сироватці крові (мккат/л) та печінці (мккат/кг) щурів, отруєних підвищеними дозами бензоату натрію, $M \pm m$; $n = 54$

Групи тварин, доза токсиканта	Терміни дослідження, доби			
	7	14	21	28
Сироватка крові				
інтактні	$1,59 \pm 0,16$			
10 мг/кг маси тіла	$1,45 \pm 0,09$	$1,24 \pm 0,10$	$1,17 \pm 0,10$	$1,01 \pm 0,06^*$
30 мг/кг маси тіла	$1,31 \pm 0,11$	$1,00 \pm 0,06^*$	$0,76 \pm 0,06^*$	$0,78 \pm 0,07^*$
Печінка				
інтактні	$2,40 \pm 0,14$			
10 мг/кг маси тіла	$1,98 \pm 0,16$	$1,67 \pm 0,14^*$	$1,07 \pm 0,09^*$	$0,89 \pm 0,06^*$
30 мг/кг маси тіла	$1,88 \pm 0,10^*$	$1,62 \pm 0,07^*$	$0,90 \pm 0,09^*$	$0,58 \pm 0,05^*$

вираженим – вірогідні зміни відмічались уже із 14-ї доби експерименту.

Доза БН 30 мг/кг була більш токсичною, після її введення в організм щурів відмічено вірогідне зниження каталазної активності в сироватці крові вже із 14-ї доби дослідження, а в печінці – протягом усього експерименту.

Виявлене нами зниження вмісту відновленого глутатіону та каталазної активності в органах щурів вказує на пригнічення антиоксидантної системи захисту організму та порушення протеїнсинтезувальної функції печінки під дією підвищених доз консерванта.

ВИСНОВКИ

1. Експериментально доведено, що введення тваринам бензоату натрію у підвищених дозах (10 та 30 мг/кг маси тіла тварин) активує процеси ліпопероксидації та

окиснювальної модифікації протеїнів, що призводить до розвитку оксидативного стресу. Це підтверджується біохімічними змінами в сироватці крові та печінці щурів: збільшенням у досліджуваних тканинах ТБК-активних продуктів і продуктів ОМП.

2. На тлі ураження щурів бензоатом натрію у підвищених дозах зареєстровано зниження активності антиоксидантної системи захисту організму, що супроводжувалося вірогідним ($p \leq 0,05$) зниженням каталазної активності та вмісту відновленого глутатіону в усі терміни експерименту.

3. Доза бензоату натрію 30 мг/кг маси тіла викликала більш виражені зміни досліджуваних біохімічних показників протягом усього дослідження (28 днів). Це вказує на те, що зі збільшенням дози консерванта та тривалості його застосування підвищується токсичний вплив цієї харчової добавки на організм.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Wibbertmann A. Concise International Chemical Assessment Document 26. Benzoic acid and sodium benzoate. A. Wibbertmann, J. Kielhorn, G. Koennecker. Geneva : World Health Organization. 2010. 48 p.
2. Морозова Л. П. Харчова добавка натрій бензоат (E211): безпека застосування в харчовій промисловості та вплив на організм людини. Огляд літератури. *Продовольчі ресурси*. 2023. Т. 11, № 21. С. 103–111. <https://doi.org/10.31073/foodresources2023-21-10>.
3. Ikarashi Y. Analysis of preservatives used in cosmetic products: salicylic acid, sodium benzoate, sodium dehydroacetate, potassium sorbate, phenoxyethanol, and parabens. Y. Ikarashi, T. Uchino, T. Nishimura *Kokuritsu Iyakuhiin Shokuhin Eisei Kenkyusho Hokoku*. 2010. Vol. 128. P. 85–90.
4. Asejeje F.O. Sodium benzoate induces neurobehavioral deficits and brain oxido-inflammatory stress in male Wistar rats: Ameliorative role of ascorbic acid. F.O. Asejeje, B.O. Ajayi, M.A. Abiola, O. Samuel, G.I. Asejeje, E.O. Ajiboye, A.M. Ajayi. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 2022. Vol. 36(5). P. e23010. DOI: 10.1002/jbt.23010.
5. Бавикіна М. Л. Дослідження антимікробної активності консервантів з метою розробки вагінального гелю. М. Л. Бавикіна, Л. І. Вишневіська, Т. П. Осолоченко, В. Л. Мегалінський. *Управління, економіка та забезпечення якості в фармацевтії*. 2016. № 1. С. 8–13. Режим доступу: <http://nbuv.gov.ua/UJRN/Uezyaf>.
6. Кеца О. В. Біохімічні маркери функціонального стану гепатобіліарної системи у сироватці крові щурів за умов впливу бензоату натрію й аскорбінової кислоти. О. В. Кеца, С. С. Макачук, М. М. Марченко. *Фізіол. журн.* 2022. Т. 68, № 6. С. 73–79.
7. Piper J.D. Benzoate and sorbate salts: a systematic review of the potential hazards of these invaluable preservatives and the expanding spectrum of clinical uses for sodium benzoate. J.D. Piper, P.W. Piper. *Comp. Rev. Food Sci. Food Saf.* 2017. Vol. 16 (5). P. 868–80. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12284>.
8. Femi Francis Oloye. Spectroscopic investigation of the mixture of ascorbic acid and sodium benzoate. *Sci J. Chem.* 2019. Vol. 7 (3). P. 62–66.
9. Noorafshan A. Stereological studies of the effects of sodium benzoate or ascorbic acid on rats' cerebellum. A. Noorafshan, E. Mahboobeh, K. Saied. *Saudi Med. J.* 2014. Vol. 35. P. 1494–500.
10. Khasnavis S. Sodium benzoate, a metabolite of cinnamon and a food additive, upregulates neuroprotective Parkinson disease protein DJ-1 in astrocytes and neurons. S. Khasnavis and K. Pahan. *J. Neuroimmune Pharmacol.* 2012. Vol. 7 (2). P. 424–435. DOI: 10.1007/s11481-011-9286-3.
11. Kehinde O.S. Ascorbic acid and sodium benzoate synergistically aggravates testicular dysfunction in adult Wistar rats. O.S. Kehinde, O.I. Christianah, O.A. Oyetunji *Int. J. Physiol Pathophysiol Pharmacol.* 2018. Vol. 10 (1). P. 39–46.
12. Gross D. Ethics in animal-based research. D. Gross, R. Tolba. *Eur. Surg. Res.* 2015. No. 55 (1–2). P. 43–57. DOI: 10.1159/000377721.
13. Луцзяк В. І. Показники оксидативного стресу. 2. Пероксиди ліпідів. В. І. Луцзяк, Т. В. Багнюкова, Л. І. Лужна. *Укр. біохім. журн.* 2006. № 78 (5). С. 113–119.
14. 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.
15. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups. *Biochem. Biophys.* 1959. Vol. 82 (1). P. 70–77.
16. Короліук М. А. Метод визначення активності каталази. М. А. Короліук, Л. І. Іванова, І. Г. Майорова. *Лаб. справа*. 1988. № 1. С. 16–19.
17. Jannot A.S. Citation bias favoring statistically significant studies was present in medical research. A.S. Jannot, T. Agoritsas, A. Gayet-Ageron. *J. Clin. Epidemiol.* 2013. Vol. 66 (3). P. 296–301. DOI: 10.1016/j.jclinepi.2012.09.015.
18. 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. DOI: 10.1155/2018/9758951.
19. Lushchak V.I. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chem. Biol. Interact.* 2014. Vol. 224. P. 164–75. DOI: 10.1016/j.cbi.2014.10.016.
20. Лихацький П. Г. Дослідження показників ендогенної антиоксидантної системи у щурів, уражених натрію нітритом на тлі тютюнової інтоксикації. *ScienceRise. Biological science*. 2017. № 5. С. 18–23. DOI: 10.15587/2519-8025.2017.113539.
21. Horv6th E. Compensation of mutation in arabidopsis glutathione transferase (AtGSTU) genes under control or salt stress conditions. E. Horv6th, K. Bela, B. Gallй, R. Riyazuddin, G. Csomor, D. Csenki. *Int. J. Mol. Sci.* 2020. Vol. 21 (7). P. 2349. DOI: 10.3390/ijms21072349.
22. Лопушинська І. В. Зміни субциркадіанних ритмів показників системи прооксидантно-антиоксидантного захисту нирок щурів при інтоксикації тетрахлорметаном та корекція мелатоніном. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2018. № 17 (3). С. 63–8. DOI: 10.24061/1727-4338.

REFERENCES

1. Wibbertmann, A., Kielhorn, J., & Koennecker, G. (2010). Concise International Chemical Assessment Document 26. Benzoic acid and sodium benzoate. World Health Organization.
2. Morozova, L.P. (2023). Kharchova dobaivka natrij benzoat (E211): bezpeka zastosuvannya v kharchovij promyslovosti ta vplyv na orhanizm lyudyny. Ohljad literatury [Sodium Benzoate (E211) Food Additive: Safety in Food Industry and Impact on Human Body. Literature Review]. *Food Resources*, 11 (21), 103–111. <https://doi.org/10.31073/foodresources2023-21-10> [in Ukrainian].
3. Ikarashi, Y., Uchino, T., & Nishimura, T. (2010). Analysis of preservatives used in cosmetic products: salicylic acid, sodium benzoate, sodium dehydroacetate, potassium sorbate, phenoxyethanol, and parabens. *Kokuritsu Iyakuhiin Shokuhin Eisei Kenkyusho Hokoku*, 128, 85–90.
4. Asejeje, F.O., Ajayi, B.O., Abiola, M.A., Samuel, O., Asejeje, G.I., Ajiboye, E.O., & Ajayi, A.M. (2022). Sodium benzoate induces neurobehavioral deficits and brain oxido-inflammatory stress in male Wistar rats: Ameliorative role of ascorbic acid. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 36 (5), e23010. <https://doi.org/10.1002/jbt.23010>.
5. Bavykina, M.L., Vyshnevskaya, L.I., Osolodchenko, T.P., & Megalinsky, V.L. (2016). Doslidzhennya antymikrobnoyi aktyvnosti konservativ z metoyu rozrobky vahinalnogo hyelyu [Study of antimicrobial activity of preservatives for the purpose of developing a vaginal gel]. *Upravlinnya, ekonomika ta zabezpechennya yakosti v farmatsiyi*, 1, 8–13. Retrieved from <http://nbuv.gov.ua/UJRN/Uezayf> [in Ukrainian].
6. Ketsa, O.V., Makarchuk, S.S., & Marchenko, M.M. (2022). Biokhimichni markery funktsional'nogo stanu heptobiliarnoyi systemy u syrovatci krovi shchuriv za umov vplyvu benzoatu natriyu i askorbinovoyi kysloty [Biochemical markers of the functional state of the hepatobiliary system in the blood serum of rats exposed to sodium benzoate and ascorbic acid]. *Fiziologichnyy zhurnal*, 68 (6), 73–79 [in Ukrainian].
7. Piper, J.D., & Piper, P.W. (2017). Benzoate and sorbate salts: A systematic review of the potential hazards of these invaluable preservatives and the expanding spectrum of clinical uses for sodium benzoate. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16 (5), 868–880. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12284>.
8. Oloye, F.F. (2019). Spectroscopic investigation of the mixture of ascorbic acid and sodium benzoate. *Scientific Journal of Chemistry*, 7 (3), 62–66.
9. Noorafshan, A., Mahboobeh, E., & Saied, K. (2014). Stereological studies of the effects of sodium benzoate or ascorbic acid on rats' cerebellum. *Saudi Medical Journal*, 35, 1494–1500.
10. Khasnavis, S., & Pahan, K. (2012). Sodium benzoate, a metabolite of cinnamon and a food additive, upregulates neuroprotective Parkinson disease protein DJ-1 in astrocytes and neurons. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 7 (2), 424–435. <https://doi.org/10.1007/s11481-011-9286-3>.
11. Kehinde, O.S., Christianah, O.I., & Oyetunji, O.A. (2018). Ascorbic acid and sodium benzoate synergistically aggravates testicular dysfunction in adult Wistar rats. *International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology*, 10 (1), 39–46.
12. Gross, D., & Tolba, R. (2015). Ethics in animal-based research. *European Surgical Research*, 55 (1–2), 43–57. <https://doi.org/10.1159/000377721>.
13. Lushchak, V.I., Bahniukova, T.V., & Luzhna, L.I. (2006). Pokaznyky oksynyvalnogo stresu. 2. Peroksydy lipidyv [Markers of oxidative stress. 2. Lipid peroxides]. *Ukrainskyj bikhimichnyy zhurnal*, 78 (5), 113–119 [in Ukrainian].
14. Dubynina, Y.Y., & Pustygina, A.V. (2008). Oksynyvalna modifikatsiya protejinyv, yikh rol pry patologichnykh stanakh [Oxidative modification of proteins, their role in pathological conditions]. *Ukrainskyj bikhimichnyy zhurnal*, 80 (6), 5–18 [in Ukrainian].
15. Ellman, G.L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 82 (1), 70–77.
16. Korolyuk, M.A., Ivanova, L.I., & Mayorova, I.H. (1988). Metod vyznachennia aktyvnosti katalazy [Method for determining catalase activity]. *Lab. sprava – Laboratory Work*, 1, 16–19 [in Ukrainian].
17. Jannot, A.S., Agoritsas, T., & Gayet-Ageron, A. (2013). Citation bias favoring statistically significant studies was present in medical research. *Journal of Clinical Epidemiology*, 66 (3), 296–301. <https://doi.org/10.1016/j.jcline>.
18. El-Demerdash, F.M., Tousson, E.M., Kurzepa, J., & Habib, S.L. (2018). Xenobiotics, oxidative stress, and antioxidants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, Article ID 9758951, 1–2. <https://doi.org/10.1155/2018/9758951>.
19. Lushchak, V.I. (2014). Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chemico-Biological Interactions*, 224, 164–175. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2014.10.016>.
20. Lykhatskyi, P.H. (2017). Doslidzhennia pokaznykiv endohennoi antyoksydantnoi systemy u shchuriv, urazhenykh natriuii nitrytom na tli tiutunovoi intoksykatsii [Study of indicators of the endogenous antioxidant system in rats affected by sodium nitrite against the background of tobacco intoxication]. *ScienceRise. Biological Science*, 5, 18–23. <https://doi.org/10.15587/2519-8025.2017.113539> [in Ukrainian].
21. Horv6th, E., Bela, K., Gall6, B., Riyazuddin, R., Csomor, G., & Csenki, D. (2020). Compensation of mutation in arabidopsis glutathione transferase (AtGSTU) genes under control or salt stress conditions. *International Journal of Molecular Sciences*, 21 (7), 2349. <https://doi.org/10.3390/ijms21072349>.
22. Lopushynska, I.V. (2018). Zminy subtsyrkadiannykh rytmiv pokaznykiv systemy prooksydantno-antyoksydantnoho zakhystu nyrok shchuriv pry intoksykatsii tetkhloormetanom ta korektsiia melatoninom [Changes in subcircadian rhythms of the renal prooxidant-antioxidant protection system in rats under tetrachloromethane intoxication and melatonin correction]. *Klinichna ta eksperymentalna patolohiia – Clinical and Experimental Pathology*, 17 (3), 63–68. <https://doi.org/10.24061/1727-4338> [in Ukrainian].

Адреса для листування: yaroshenko@tdmu.edu.ua

INDICATORS OF OXIDATIVE STRESS IN RATS POISONED BY HIGH DOSES OF SODIUM BENZOATE

Summary

Introduction. The scientific literature contains the results of studies on the effect of the food preservative sodium benzoate on the structure and functioning of biological objects, but they are quite contradictory. According to official data from the World Health Organization (WHO), the use of sodium benzoate in the food industry is limited to 0.1%, and the permissible daily intake of this preservative is 5 mg/kg per day. However, it is used in much higher concentrations in many food products, medicines, and cosmetics. The powerful pro-oxidant effect of sodium benzoate has been proven on aerobic yeast populations.

The aim of the study – to investigate the effect of increased doses of sodium benzoate on the activity of oxidative processes and indicators of the antioxidant system of the rat body.

Research methods. The study was conducted on white male rats with a body weight of 170–180 g, which were kept on a standard diet of the vivarium of the I. Ya. Gorbachevsky National Medical University. The experimental rats were divided into 3 groups. The first group consisted of intact rats, the rats of the second group received sodium benzoate at a dose of 10 mg/kg of body weight. The third group of rats was administered sodium benzoate at a dose of 30 mg/kg of body weight. The rats received the preservative intragastrically daily in the above doses. The study was conducted in accordance with the requirements of good laboratory practice (GLP) and bioethics in accordance with the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals. The animals were euthanized under thiopental anesthesia. Rats were removed from the experiment 7, 14, 21 and 28 days after the start of sodium benzoate administration. The content of TBA-active products, oxine modification of proteins, reduced glutathione and catalase activity were studied in blood serum and liver homogenate.

Results and Discussion. It was found that within 28 days the content of TBK-AP progressively increases in the blood serum and liver of animals. By the end of the experiment, the content of TBK-AP in the blood serum of rats (dose of toxicant 30 mg/kg body weight) exceeded the level of intact rats by 5 times. After poisoning rats with sodium benzoate at a dose of 10 mg/kg body weight of rats in the first week of the study, an increase in this indicator in the liver was not probable. By the end of the experiment, it increased by 216%. During the same period, when using a dose of toxicant 30 mg/kg, the content of TBK-AP exceeded the norm by 268%. It was found that the content of OMP products of both fractions significantly ($p \leq 0.05$) increased in the blood serum and liver of poisoned rats at all times of the study when using both doses of sodium benzoate. In animals poisoned with sodium benzoate, the content of reduced glutathione decreased at all times of the study both in the blood serum and in the liver of rats compared to the norm. A decrease in catalase activity was noted both in the blood serum and in the liver of affected animals throughout the experiment. The dose of sodium benzoate 30 mg/kg was more toxic, after its administration to the rat body, a significant decrease in catalase activity was noted in the blood serum from the 14th day of the study, and in the liver throughout the experiment.

Conclusions. It has been experimentally proven that administration of sodium benzoate to animals in increased doses (10 and 30 mg/kg of body weight of animals) activates the processes of lipoperoxidation and oxidative modification of proteins, which leads to the development of oxidative stress. A decrease in the activity of the body's antioxidant defense system was registered, which was accompanied by a significant ($p \leq 0.05$) decrease in catalase activity and the content of reduced glutathione at all times of the experiment. A dose of sodium benzoate of 30 mg/kg of body weight caused more pronounced changes in the studied biochemical parameters throughout the study (28 days).

KEY WORDS: sodium benzoate; rats; lipoperoxidation; oxidative modification of proteins; oxidative stress; antioxidant system.