

Макроэлементный состав проксимального эпифиза большеберцовых костей белых крыс после 60-суточного введения натрия бензоата и возможности его коррекции мексидолом и селенитом натрия

ГУ ЛНР Луганский ГМУ им. Святителя Луки

Резюме

В эксперименте на 245 белых крысах с исходной массой тела 200-210 г исследовали динамику макроэлементного состава проксимального эпифиза большеберцовых костей после внутрижелудочного введения натрия бензоата в дозе 500 и 1000 мг/кг/сутки в течение 60 суток. Для профилактики изменений химического состава использовали одновременное с натрия бензоатом введение мексидола в дозе 50 мг/кг/сутки внутримышечно либо селенита натрия в дозе 40 мкг/кг/сутки внутримышечно. Введение натрия бензоата подопытным животным сопровождалось увеличением содержания воды и снижением содержания минеральных веществ в проксимальном эпифизе большеберцовых костей с пропорциональным дисбалансом макроэлементного состава - снижением содержания кальция и соотношения кальций/фосфор, а также увеличением содержания натрия, калия и магния. Выраженность изменений и темпы их восстановления в период реадaptации зависели от дозы натрия бензоата; при дозе натрия бензоата 1000 мг/кг/сутки на 45 сутки наблюдения все еще регистрировались статистически значимые отличия большинства исследуемых показателей от контроля. Применение мексидола либо селенита натрия сопровождалось сглаживанием негативного влияния условий эксперимента на химический состав проксимального эпифиза большеберцовых костей в период с 3 по 45 сутки наблюдения. По нашим данным применение селенита натрия было эффективнее, чем применение мексидола.

Ключевые слова: натрия бензоат, кость, макроэлементный состав, мексидол, селенит натрия

Введение

В качестве консерванта в пищевой промышленности широко используется натрия бензоат (НБ) (E211), который применяется при производстве широкого ассортимента продуктов, а также при изготовлении косметических средств [9], применяется он и в медицине при лечении шизофрении и печеночной энцефалопатии [12, 14]. Доказана способность НБ вызывать повреждение молекулы митохондриальной ДНК эукариотических клеток и инициировать выработку активных форм кислорода и соответственно свободных радикалов [15]. В предшествующих исследованиях нами было показано, что внутрижелудочное введение НБ в течение 60-ти суток сопровождается замедлением формирования кристаллической решетки и дестабилизацией фазового состава регенерата, образующегося при нанесении дефекта в области проксимального метадиафиза большеберцовых костей (ББК) [11]. Установлено также, что длительное введение НБ сопровождается угнетением темпов роста костей и снижением их прочности [4, 10]. Однако, сведений об изменениях макроэлементного состава проксимального эпифиза ББК после введения НБ, а также обоснования возможностей их коррекции, в доступной литературе нам найти не удалось.

Цель: изучить минеральный и макроэлементный состав губчатого вещества проксимальных эпифизов ББК у половозрелых крыс после 60-суточного употребления в пищу НБ в различной концентрации, а также обосновать возможности коррекции возникающих при этом изменений мексидолом и селенитом натрия.

Материал и методы

Исследование проведено на 245 белых крысах с исходной массой 200-210 г, взятых из вивария ГУ «Луганский государственный медицинский университет». Содержание и манипуляции над лабораторными крысами проводились в соответствии с правилами, установленными «Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986) [13].

Подопытные животные были распределены на 7 групп: 1-ю группу составили контрольные животные, которым в течение 60-ти суток при помощи желудочного зонда вводился 1 мл 0,9% изотонического раствора натрия хлорида (группа К). 2-ю и 3-ю группы составили крысы, которым в течение 60-ти суток при помощи желудочного зонда вводился 1 мл НБ в дозе 500 мг/кг/сутки и 1000 мг/кг/сутки соответственно (производитель RONA DYECHEM PVT LTD) (группы НБ1 и НБ2). 4-я и 5-я группа – животные, которым наряду с НБ в дозе 500 мг/кг/сутки вводили внутримышечно мексидол в дозе 50 мг/кг/сутки (производитель ООО Медицинский центр «Эллара», РФ) (группы Т1М и Т2М) и селенит натрия (селеназа) внутримышечно в дозе 40 мкг/кг/сутки (производитель Биосини Арцнайmittel ГмБГ, Германия). Наконец, в 6-7-й группах мексидол и натрия селенит применяли одновременно с введением НБ в дозе 1500 мг/кг/сут. Расчёт дозировки вводимых препаратов производили с учётом рекомендаций Ю.Р. и Р.С. Рыболовлевых [8].

По истечении сроков эксперимента (3, 10, 15, 24 и 45 суток после окончания введения препаратов) животных декапитировали под эфирным наркозом, выделяли ББК и отделяли проксимальный эпифиз. Химическое исследование состояло в определении содержания воды, органических и минеральных веществ, которые рассчитывали весовым методом, последовательно, после высушивания костей до постоянного веса при температуре 105°C в сухожаровом шкафу и озоления в муфельной печи при температуре 450-500°C в течение 12 часов [6]. Полученную золу растирали в фарфоровой ступке и хранили в герметичных микропробирках. Для дальнейшего исследования 10 мг золы растворяли в 2 мл 0,1 Н химически чистой соляной кислоты, доводили до 25 мл бидистиллированной водой. В полученном растворе определяли содержание натрия, калия, магния и кальция на атомно-абсорбционном фотометре типа "Сатурн"-2 в режиме эмиссии в воздушно-пропановом пламени [1], а также содержание фосфора колориметрически по Бригсу на электрофотоколориметре КФК-3 [7].

Полученные цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики с использованием стандартных прикладных программ [3]. Достоверными считали отличия с уровнем значимости $p < 0,05$.

Результаты

Оценка всех полученных цифровых данных производилась при обязательном сопоставлении с аналогичными показателями соответствующей возрастной контрольной группы; все приведенные в работе цифровые данные являются статистически значимыми ($p \leq 0,05$).

Внутрижелудочное введение НБ подопытным животным в течение 60 суток сопровождалось дисбалансом макроэлементного состава проксимального эпифиза ББК, степень выраженности и темпы восстановления которого зависели от дозы вводимого препарата.

На 3 сутки после окончания введения НБ в дозе 500 мг/кг/сутки содержание воды проксимальном эпифизе ББК было больше значений группы К на 11,91%, а содержание органических и минеральных веществ – меньше на 3,95% и 5,58%. В костной золе эпифиза содержание кальция было меньше значений группы К на 6,33%, а соотношение кальций/фосфор – на 6,41% (рисунок 1). При всем этом содержание натрия, калия и магния превосходило контрольное на 7,17%, 9,16% и 5,03%.

В период реадaptации после воздействия условий группы НБ1 химический состав проксимального эпифиза ББК постепенно восстанавливался и после 24 суток наблюдения достоверные отличия от группы К практически не наблюдались. При этом содержание воды в эпифизе ББК оставалось больше значений группы К на 24 сутки наблюдения на 5,50%, а содержание органических и минеральных веществ оставалось меньше контрольного на 4,17% и 4,11%.

Увеличение дозы вводимого НБ до 1000 мг/кг/сутки сопровождалось усугублением выявленных изменений. У подопытных животных группы НБ2 на 3 сутки наблюдения в проксимальном эпифизе ББК содержание воды, натрия и калия было больше значений группы К на 16,27%, 10,37% и 12,84%. При этом содержание органических и минеральных веществ было меньше контрольных показателей на 5,64% и 7,47%, содержание кальция – на 8,88%, а соотношение кальций/фосфор – на 7,97%.

В период реадaptации после воздействия условий группы НБ2 химический состав проксимального эпифиза ББК восстанавливался медленно, и на 45 сутки наблюдения достоверные отличия от группы К сохранялись для большинства исследуемых показателей. При этом содержание воды, натрия и калия в проксимальном эпифизе ББК на 45 сутки наблюдения оставалось больше контрольного на 11,02%, 6,42% и 9,18%. Также, содержание органических и минеральных веществ оставалось меньше значений группы К на 4,41% и 4,55%, а содержание кальция и соотношение кальций/фосфор – на 5,22% и 3,95%.

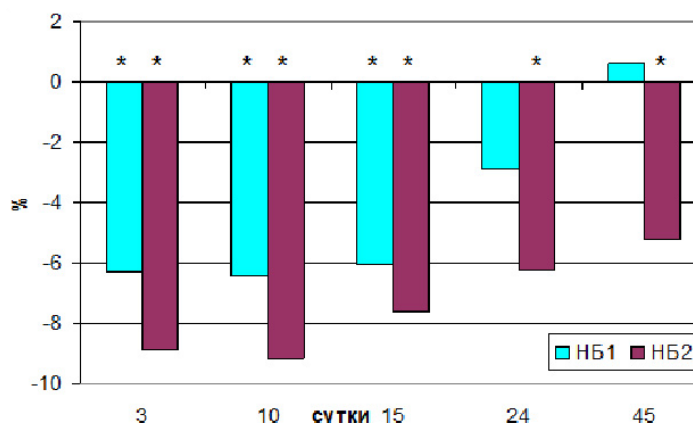


Рисунок 1. Динамика содержания кальция в проксимальном эпифизе ББК у подопытных животных в период реадaptации после введения НБ в зависимости от дозы и сроков наблюдения (в % по отношению к группе К)

Примечание: Здесь и далее * - обозначает статистически значимое отличие от показателей соответствующей контрольной группы ($p \leq 0,05$).

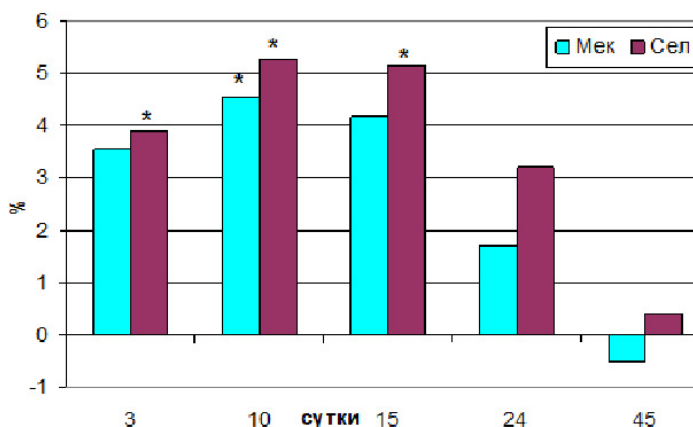


Рисунок 2. Динамика содержания кальция в проксимальном эпифизе ББК у подопытных животных, которые на фоне введения НБ в дозе 500 мг/кг/сутки получали мексидол и селенит натрия (в % по отношению к группе НБ1)

Примечание: здесь и далее Мек обозначает введение мексидола, Сел - введение селенита натрия

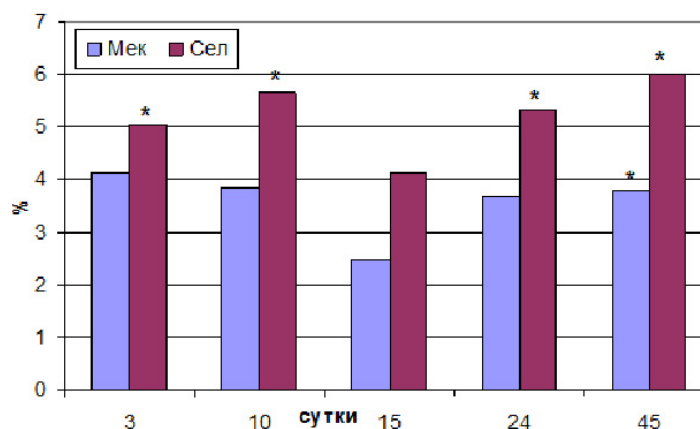


Рисунок 3. Динамика содержания кальция в проксимальном эпифизе ББК у подопытных животных, которые на фоне введения НБ в дозе 1000 мг/кг/сутки получали мексидол и селенит натрия (в % по отношению к группе НБ2)

Выявленные изменения макроэлементного состава проксимального эпифиза ББК после введения НБ требуют поиска путей их профилактики и коррекции. В нашем исследовании в качестве корректоров были использованы мексидол и селеназа (селенит натрия).

Применение мексидола на фоне введения подопытным животным НБ сопровождалось сглаживанием негативного влияния на химический состав проксимального эпифиза ББК.

В том случае, когда мексидол вводился на фоне применения НБ в дозе 500 мг/кг/сутки химический состав проксимального эпифиза ББК достаточно быстро восстанавливался и на 45 сутки наблюдения лишь содержание воды и натрия было меньше аналогичных значений группы НБ1 на 5,14% и 5,19% (рисунок 2).

При применении мексидола на фоне введения НБ в дозе 1000 мг/кг/сутки химический состав проксимального эпифиза ББК также восстанавливался быстрее: на 45 сутки наблюдения содержание воды и натрия было меньше значений группы НБ2 на 6,13% и 5,91%, а содержание кальция было больше контрольного на 3,79% (рисунок 3).

Применение селенита натрия на фоне введения подопытным животным НБ также сопровождалось сглаживанием негативного влияния условий эксперимента на химический состав проксимального эпифиза ББК и было несколько более эффективным, чем применение мексидола.

В том случае, когда селенит натрия вводился на фоне применения НБ в дозе 500 мг/кг/сутки химический состав проксимального эпифиза ББК достаточно быстро восстанавливался и на 45 сутки наблюдения содержание воды и натрия было меньше значений группы НБ1 на 6,64% и 7,13%.

При применении селенита натрия на фоне введения НБ в дозе 1000 мг/кг/сутки химический состав проксимального эпифиза ББК также восстанавливался быстрее: на 45 сутки наблюдения содержание воды, калия и магния было меньше значений группы НБ2 на 6,81%, 6,62% и 3,95%, а содержание минеральных веществ и кальция, а также соотношение кальций/фосфор были больше контрольных на 3,29%, 6,01% и 4,52%.

Обсуждение

Полученные нами экспериментальные результаты можно, предположительно, объяснить следующим образом: в тонкой кишке НБ вступает в реакцию с аскорбиновой кислотой и синтезируется бензол, который вызывает прямое повреждение молекулы ДНК митохондрий, что приводит к нарушению синтеза АТФ в клетках организма и, вероятно, в клетках реактивных отделов скелета – эпифизарных хрящах и надкостнице [15]. Это сопровождается нарушением физиологической регенерации костной ткани, являющейся основным структурным компонентом костей, что, вероятно, и сказывается на их химическом и макроэлементном составе. Корректирующее влияние мексидола в таком случае может объясняться наличием у него мембранопротекторного, антиоксидантного, стресс-протекторного и антигипоксического действия [2]. Несколько более высокая эффективность применения селенита натрия может быть обусловлена тем, что помимо вышеперечисленных свойств он также поддерживает активность глутатионпероксидазы и ферментов, участвующих в дейодировании тиреоидных гормонов [5].

Заключение

Внутрижелудочное введение НБ подопытным животным в течение 60 суток сопровождается увеличением содержания воды и снижением содержания минеральных веществ в проксимальном эпифизе ББК с пропорциональным дисбалансом макроэлементного состава. Выраженность изменений и темпы их восстановления в реадaptационный период прямопропорционально зависят от дозы вводимого НБ. При введении НБ в дозе 500 мг/кг/сутки выявленные отклонения постепенно нивелируются, но и на 24 сутки наблюдения регистрируются статистически значимые отличия от контрольной группы. При увеличении дозы НБ до 1000 мг/кг/сутки изменения сглаживались медленнее и на 45 сутки наблюдения регистрировались статистически значимые отличия большинства исследуемых показателей от группы К. Применение мексидола 50 мг/кг/сутки на фоне введения подопытным животным НБ сопровождается сглаживанием негативного влияния условий эксперимента на химический состав проксимального эпифиза ББК в сравнении с аналогичными группами, где мексидол не вводился. Внутрижелудочное введение селенита натрия в дозе 40 мкг/кг/сутки на фоне введения подопытным животным НБ также сопровождается сглаживанием негативного влияния условий эксперимента на химический состав проксимального эпифиза ББК в сравнении с аналогичными группами, где мексидол не вводился. По нашим данным применение селенита натрия более эффективно, чем внутримышечное введение мексидола.

Литература

1. Брицке Э.М. Атомно-абсорбционный спектральный анализ. – М.: Химия, 1982. 244 с.
2. Воронина Т.А. Мексидол: основные нейрорепаративные эффекты и механизм действия // Фарматека. 2009. № 6. С. 28-31.
3. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. – Киев: Морион, 2000. 320 с.
4. Лукьянцева Г.В., Лузин В.И., Морозов В.Н. Влияние 60-дневного введения бензоата натрия на прочностные характеристики костей скелета белых крыс в период реадaptации // Травма. 2014. 15, № 3. С. 30-32.
5. Магомедов М.М., Магомедова З.А., Нурмагомедова П.М., Рабаданов Ш.Х. Опыт использования препарата селеназа в комплексном лечении гнойно-воспалительных заболеваний органов малого таза осложненных перитонитом // Вестник новых медицинских технологий. 2013. № 4. С. 64-68.
6. Новиков Ю.В., Аксюк А.В., Ленточников А.М. Применение спектрографии для определения минерального состава костной ткани при гигиенических исследованиях // Гигиена и санитария. 1969, №6. С.72-76.
7. Полуэктов Н.С. Методы анализа по фотометрии пламени. – М.: Химия, 1967. 307 с.
8. Рыболовлев Ю.Р., Рыболовлев Р.С. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности // Доклады АН СССР. 1979. 247, № 6. С. 1513-1516.
9. Сарафанова Л.А. Пищевые добавки: энциклопедия. – СПб.: Изд.-во Гиорд, 2004. 808 с.
10. Фастова О.Н., Лузин В.И. Оценка влияния 60-суточного употребления натрия бензоата на фазовый состав регенерата, формирующегося после нанесения дефекта в большеберцовых костях // Украинский морфологический альманах имени профессора В.Г. Ковешникова. 2017. 15, № 3. С. 78-84.
11. Фастова О.Н., Лузин В.И., Приходченко И.С., Мосягина Н.А. Ультраструктура регенерата, формирующегося при нанесении дефекта в большеберцовых костях на фоне 60-суточного употребления натрия бензоата // Актуальные вопросы травматологии и ортопедии : материалы конференции молодых ученых Северо-Западного федерального округа. – СПб.: РНИИ ТО им. Р.Р. Вредена. 2017. С. 122-125.
12. Lane H.Y., Lin C.H., Green M.F., Helleman G., Huang C.C., Chen P.W., Tun R., Chang Y.C., Tsai G.E. Add-on treatment of benzoate for schizophrenia: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial of D-amino acid oxidase inhibitor // JAMA Psychiatry. 2013. 70 (12). P. 1267-1275.
13. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. – Strasbourg, 1986. 52 p.
14. Phongsamran P.V., Kim J.W., Abbott J.C., Rosenblatt A. Pharmacotherapy for hepatic encephalopathy // Drugs. 2010. 70 (9). P. 1131-1148.
15. Production of Benzene from Ascorbic Acid and Sodium Benzoate. A White Paper Produced by AIB International. – Manhattan, Kansas, 2006. – 4 с.