

УДК 519.443:[613.648.4+613.37]  
DOI 10.23648/UMBJ.2018.32.22700

## ВЛИЯНИЕ 60-ДНЕВНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ БЕНЗОАТА НАТРИЯ И ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ КОСТНОГО МИНЕРАЛА НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ КРЫС

И.Г. Степаненко<sup>1</sup>, В.И. Лузин<sup>1</sup>, В.Н. Морозов<sup>2</sup>, Е.Н. Морозова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет им. Святителя Луки», г. Луганск, Украина;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», г. Белгород, Россия

e-mail: vlad\_luzin@i.ua

*Цель исследования – изучить ультраструктуру костного минерала ветви нижней челюсти крыс после 60-дневного введения бензоата натрия и воздействия ионизирующего излучения как в качестве отдельных факторов эксперимента, так и в комбинации, а также установить возможность применения облепихового масла как потенциального корректора.*

*Материалы и методы. Обследовано 240 белых половозрелых крыс-самцов, распределенных на 8 групп: 1-я группа – контрольные животные; 2-я – животные, получавшие внутрижелудочно бензоат натрия 60 дней; 3-я – крысы, получавшие воздействие ионизирующего излучения в суммарной дозе 4 Гр, 4-я – животные, подвергающиеся воздействию обоих факторов эксперимента; 5-я – крысы, получавшие облепиховое масло в дозе 300 мг/сут/кг массы тела, 6–8-я группы – животные, которым на фоне изолированного и комбинированного воздействия данных факторов эксперимента вводилось облепиховое масло в дозе 300 мг/сут/кг массы тела. Ультраструктуру костного минерала нижней челюсти изучали методом рентгеноструктурного анализа.*

*Результаты. В 2-й группе выявлено увеличение размеров элементарных ячеек вдоль осей а и с на 0,11, 0,11, 0,10 и 0,14, 0,16, 0,14 % соответственно, размеров кристаллитов – на 3,56, 3,50 и 4,02 % с 1-х по 15-е сут периода реадaptации и уменьшение коэффициента микротекстурирования на 4,74, 4,81, 4,28 и 3,84 % с 1-х по 30-е сут, что указывает на признаки дестабилизации кристаллической решетки костного минерала. В 3-й и 4-й группах аналогичная динамика изменений размеров элементарных ячеек, кристаллитов и коэффициента микротекстурирования костного минерала сохранялась, однако амплитуда изменений показателей была выше, и они сохранялись дольше в ходе периода реадaptации. Это указывает на более грубые нарушения структуры кристаллической решетки биоминерала. Использование в качестве корректора облепихового масла сопровождалось уменьшением неблагоприятного влияния условий эксперимента на исследуемые параметры ультраструктуры костного минерала ветви нижней челюсти. Восстановление кристаллической решетки биоминерала происходило быстрее в течение всего периода реадaptации, особенно с 7-х по 30-е сут, что в первую очередь было связано с повышением степени упорядоченности кристаллической решетки.*

**Ключевые слова:** крыса, бензоат натрия, ионизирующее излучение, облепиховое масло, нижняя челюсть, костный минерал, ультраструктура

**Введение.** В настоящее время производство продуктов питания нельзя представить без пищевых добавок. В одних случаях они применяются с целью улучшения вкуса, аромата, внешнего вида изготавливаемого продукта, в других – для увеличения сроков хранения [1, 2]. Одной из пищевых добавок, способствующих более длительному хранению

продуктов, является бензоат натрия (Е 211), имеющий высокие консервирующие свойства. Механизм данного свойства заключается в подавлении активности некоторых ферментов микроорганизмов, отвечающих за расщепление жиров и углеводов, а также в угнетении деятельности дрожжевых культур и плесневых грибов [2]. Благодаря антибак-

териальным свойствам бензоат натрия используется при изготовлении гигиенических средств, например гелей, шампуней, зубных паст. Также он широко применяется в табачной промышленности для предотвращения плесневения табака [3]. В составе комбинированных препаратов бензоат натрия используется в медицине в качестве отхаркивающего средства [4].

У отечественных и зарубежных ученых сложились неоднозначные и противоречивые мнения относительно влияния данной пищевой добавки на организм человека [5]. Имеются данные, что у детей, употребляющих продукты питания, содержащие бензоат натрия, наблюдаются нарушения психического развития, отмечается гиперактивность, развивается дефицит внимания, а также происходит снижение интеллекта, что обуславливается генотоксическим и мутагенным действием E 211 [6, 7]. Кроме того, установлено, что использование бензоата натрия приводит к задержке внутриутробного развития плода и плаценты [8, 9], к сенсibilизации организма и развитию аллергических реакций, а также изменению биохимических показателей и форменных элементов крови [10, 11]. В то же время Международная программа по химической безопасности не выявила негативных влияний данного вещества на здоровье человека [12].

В связи с этим дальнейшее изучение воздействия бензоата натрия на организм человека является актуальным и позволит провести его всестороннюю экспериментальную и клиническую оценку в плане его безопасности как пищевой добавки.

В настоящее время организм человека ежедневно подвергается воздействию ионизирующего излучения. Оно по своей природе может быть естественным (наземное и космическое) и искусственным, основными источниками которого являются предприятия атомной энергетики, а также устройства медицинского назначения, использующиеся для диагностики и лечения заболеваний [13].

Нижняя челюсть является единственной подвижной костью черепа. По сравнению с другими костями скелета она характеризуется

особым развитием, макро- и микроскопическим строением, биомеханическими условиями расположения [14]. Отсутствие в доступной литературе данных о морфогенезе нижней челюсти при использовании бензоата натрия и ионизирующего излучения как в качестве отдельных экспериментальных воздействий, так и в сочетании определило выбор данной анатомической структуры в качестве объекта нашего исследования. Общеизвестно, что наиболее ранние структурно-функциональные изменения в органе выявляются на ультрамикроскопическом уровне, поэтому изменения костного минерала нижней челюсти было решено регистрировать именно на этом уровне организации методом рентгеноструктурного анализа. Далее, костная ткань нижней челюсти в половозрелом периоде онтогенеза представляет собой динамическую систему, в которой активно происходят процессы перестройки (ремоделирования) с участием клеток костного дифферона. По мнению авторов, действие факторов эксперимента, в частности мутагенное и генотоксическое, а также инициирование оксидативного стресса могут быть причиной структурно-функциональных изменений клеток – участников процесса ремоделирования и, как следствие, объекта исследования. Выбор второго экспериментального воздействия – ионизирующего излучения – обусловлен тем, что его действие на организм является практически постоянным ввиду естественных и техногенных причин, и вызывает интерес его совместное воздействие с бензоатом натрия.

**Цель исследования.** Изучить ультраструктуру костного минерала ветви нижней челюсти крыс после 60-дневного введения бензоата натрия и воздействия ионизирующего излучения как в качестве отдельных факторов эксперимента, так и в комбинации, а также установить возможность применения облепихового масла как потенциального корректора.

**Материалы и методы.** Для исследования было отобрано 240 белых половозрелых крыс линии Вистар массой тела 180–200 г. Животные были распределены на 8 групп (табл. 1).

Таблица 1

## Распределение экспериментальных животных по группам и срокам исследования, п

№ группы	Название группы	Сроки эксперимента				
		1-е сут	7-е сут	15-е сут	30-е сут	60-е сут
1	Контрольные животные	6	6	6	6	6
2	Группа БН – введение бензоата натрия внутривентрикулярно в дозе 1500 мг/кг (60 дней)	6	6	6	6	6
3	Группа ИИ – воздействие ионизирующего излучения (4 процедуры, суммарная доза – 4 Гр)	6	6	6	6	6
4	Группа БН+ИИ – сочетанное воздействие бензоата натрия и ионизирующего излучения в аналогичных дозах и сроках	6	6	6	6	6
5	Группа ОМ – внутривентрикулярное введение облепихового масла в дозе 300 мг/сут/кг массы тела крысы	6	6	6	6	6
6	Группа БН+ОМ	6	6	6	6	6
7	Группа ИИ+ОМ	6	6	6	6	6
8	Группа БН+ИИ+ОМ	6	6	6	6	6

Дозы вводимых препаратов для крыс рассчитывались с обязательным учетом константы биологической активности [15].

Содержание и манипуляции с животными проводились согласно общепринятым рекомендациям [16].

После завершения воздействия факторов эксперимента лабораторные животные выводились из эксперимента методом декапитации под эфирным наркозом, выделялись и скелетировались нижние челюсти, отделялась ветвь нижней челюсти и исследовались кристаллографические характеристики биоминерала методом рентгеноструктурного анализа.

Исследование костного порошка, полученного в агатовой ступке, проводилось на аппарате ДРОН-2,0 с гониометрической приставкой ГУР-5. Использовалось К $\alpha$ -излучение меди с длиной волны 0,1542 нм; напряжение и сила анодного тока составляли соответственно 30 кВ и 20 А. Дифрагированные рентгеновские лучи регистрировались в угловом диапазоне от 2 до 37° со скоростью записи 1° в 1 мин [17].

На полученных дифрактограммах исследовались наиболее выраженные дифракцион-

ные пики костного биоминерала, по угловому положению которых рассчитывались размеры блоков когерентного рассеивания (кристаллитов) по уравнению Селякова–Шерера, размеры элементарных ячеек костного минерала и коэффициент микротекстурирования по методу соотношения рефлексов [18].

Для обработки данных рентгеноструктурного анализа использовались лицензионные программы Microsoft Office Excel и STATISTICA 5.11 [19, 20]. Вычислялись среднее арифметическое отклонение, ошибка средней и коэффициент вариации, величина отклонения параметра от контроля в процентах. Для определения соответствия полученных данных нормальному закону распределения использовался критерий Колмогорова–Смирнова [21]. При условии нормального распределения достоверность отклонений полученных результатов от контрольных оценивалась с помощью критерия Стьюдента, в случае ненормального распределения – критерия Манна–Уитни. Достоверными считались отличия при вероятности ошибки 5 % [19].

**Результаты и обсуждение.** В контрольной группе размеры элементарных ячеек вдоль осей *a* и *c* увеличивались с

$(9,378 \pm 0,003) \cdot 10^{-10}$  до  $(9,389 \pm 0,003) \cdot 10^{-10}$  М и  $(6,834 \pm 0,003) \cdot 10^{-10}$  до  $(6,843 \pm 0,003) \cdot 10^{-10}$  М с 1-х по 60-е сут наблюдения, а соотношение  $c/a$  находилось в пределах 72,86–72,88 у.е. Размеры блоков когерентного рассеивания костного минерала ветви нижней челюсти возрастали с  $40,96 \pm 0,44$  до  $43,06 \pm 0,44$  нМ, а коэффициент микротекстурирования – с  $0,4074 \pm 0,0049$  до  $0,4154 \pm 0,0039$  у.е.

Полученные результаты подтверждают уже имеющиеся в литературе данные о том, что у половозрелых крыс продолжают процессы роста кристаллитов и формирования кристаллической решетки биоминерала и относительно сбалансированы процессы нуклеации и резорбции [22].

В группе БН на 1-е сут после завершения воздействия размеры элементарных ячеек вдоль осей  $a$  и  $c$  были больше значений контрольной группы на 0,11 и 0,14 %, размеры блоков когерентного рассеивания – на 3,56 %, а коэффициент микротекстурирования – меньше на 4,74 %, что указывает на наличие признаков дестабилизации кристаллической решетки костного минерала.

В ходе периода реадaptации размеры элементарных ячеек биоминерала ветви нижней челюсти вдоль осей  $a$  и  $c$  сохранялись выше значений 1-й группы на 7-е и 15-е сут эксперимента на 0,11 и 0,10 % и на 0,16 и 0,14 % соответственно, а размеры кристаллитов – на 3,50 и 4,02 %. При этом коэффициент микротекстурирования костного биоминерала оставался меньше контрольного с 7-х по 30-е сут наблюдения соответственно на 4,81, 4,28 и 3,84 %. На 60-е сут периода реадaptации достоверные отличия от показателей 1-й группы не регистрировались, что свидетельствует о развивающейся адаптации к данному фактору эксперимента.

В группе ИИ на 1-е сут после завершения воздействия размеры элементарных ячеек костного минерала ветви нижней челюсти вдоль осей  $a$  и  $c$  увеличивались по сравнению с аналогичными показателями контрольной группы на 0,14 и 0,17 %, размеры кристаллитов – на 4,14 %, а коэффициент микротекстурирования, напротив, уменьшался на 5,14 %.

Аналогичная динамика изменений костного минерала ветви нижней челюсти в груп-

пе ИИ сохранялась до 30-х сут эксперимента. Так, размеры элементарных ячеек вдоль осей  $a$  и  $c$  были больше значений 1-й группы с 7-х по 30-е сут на 0,15, 0,16 и 0,14 % и на 0,20, 0,20 и 0,17 % соответственно, а размеры кристаллитов с 7-х по 60-е сут – на 4,55, 4,45, 4,16 и 3,58 %. Коэффициент микротекстурирования был меньше значений 1-й группы в аналогичные сроки на 5,34, 5,70, 3,81 и 3,67 %.

Большая амплитуда отклонений значений изучаемых параметров в группе ИИ по сравнению с группой БН указывает на более грубые структурные изменения кристаллической решетки костного минерала ветви нижней челюсти в данной группе.

В группе БН+ИИ изменения ультраструктуры биоминерала еще более усугублялись. По данным рентгеноструктурного анализа, с 1-х по 60-е сут периода реадaptации признаки восстановления кристаллической решетки практически не выявлялись. Так, размеры элементарных ячеек вдоль осей  $a$  и  $c$ , а также размеры кристаллитов были больше значений 2-й группы на 0,10, 0,13 и 3,33 %, а коэффициент микротекстурирования – меньше на 6,18 % на 1-е сут после окончания воздействий. Далее размеры элементарных ячеек вдоль осей  $a$  и  $c$ , а также размеры кристаллитов увеличивались по сравнению с данными 2-й группы на 0,10, 0,13, 0,12 и 0,12 %, на 0,12, 0,17, 0,18 и 0,19 % и на 5,31, 5,21, 4,76 и 4,57 % с 7-х по 60-е сут эксперимента. Коэффициент микротекстурирования уменьшался в эти же сроки на 6,10, 5,51, 8,01 и 4,74 % (рис. 1).

Следующие группы данного исследования были выделены для изучения возможностей фармакологической коррекции нарушений ультраструктуры костного минерала ветви нижней челюсти, выявленных в предыдущих группах, при помощи растительного препарата – облепихового масла.

В группе ОМ по данным рентгеноструктурного анализа определена тенденция к восстановлению кристаллографических параметров кристаллической решетки биоминерала ветви нижней челюсти. Размеры кристаллитов были меньше аналогичных значений 1-й группы на 5,18 %, а размеры элемен-

тарных ячеек вдоль оси *c* – на 0,14 % на 1-е сут после завершения воздействия. Аналогичная динамика сохранялась до 30-х сут эксперимента. Так, размеры элементарных ячеек вдоль оси *c* и размеры кристаллитов уменьшались по сравнению с параметрами 1-й группы на 0,10, 0,12 и 0,10 % и на 4,65, 4,11 и 4,73 % с 7-х по 30-е сут, а размеры элементарных ячеек вдоль оси *c* на 7-е и 15-е сут – на 0,14 и 0,14 %. При этом коэффициент микротекстурирования возрастал на 3,48 % на 7-е сут эксперимента.

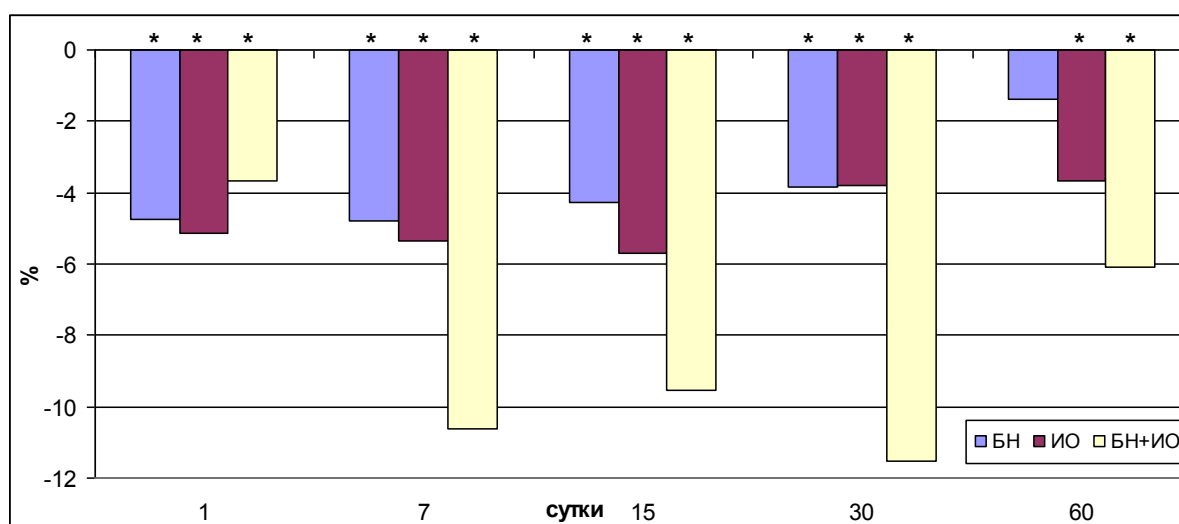
В группе БН+ОМ коэффициент микротекстурирования был больше значений группы БН на 3,96, 3,74, 3,87 и 3,99 %, а размеры кристаллитов – меньше на 3,85, 4,21, 3,98 и 3,08 % с 7-х по 60-е сут эксперимента. Размеры элементарных ячеек костного минерала ветви нижней челюсти вдоль оси *a* были меньше значений 2-й группы на 0,11 и 0,10 % на 7-е и 15-е сут, а размеры элементарных ячеек вдоль оси *c* – на 0,14 % на 7-е сут.

В группе ИИ+ОМ размеры элементарных ячеек вдоль оси *a* были меньше значений группы ИИ с 1-х по 30-е сут эксперимента на 0,09, 0,11, 0,13 и 0,10 %, вдоль оси *c* с 7-х по

30-е сут – на 0,13, 0,11 и 0,12 %, а размеры кристаллитов с 7-х по 60-е сут – на 3,67, 3,29, 3,54 и 3,50 %. Коэффициент микротекстурирования костного биоминерала ветви нижней челюсти был больше значений 3-й группы на 4,48, 3,04 и 3,32 % с 15-х по 60-е сут эксперимента.

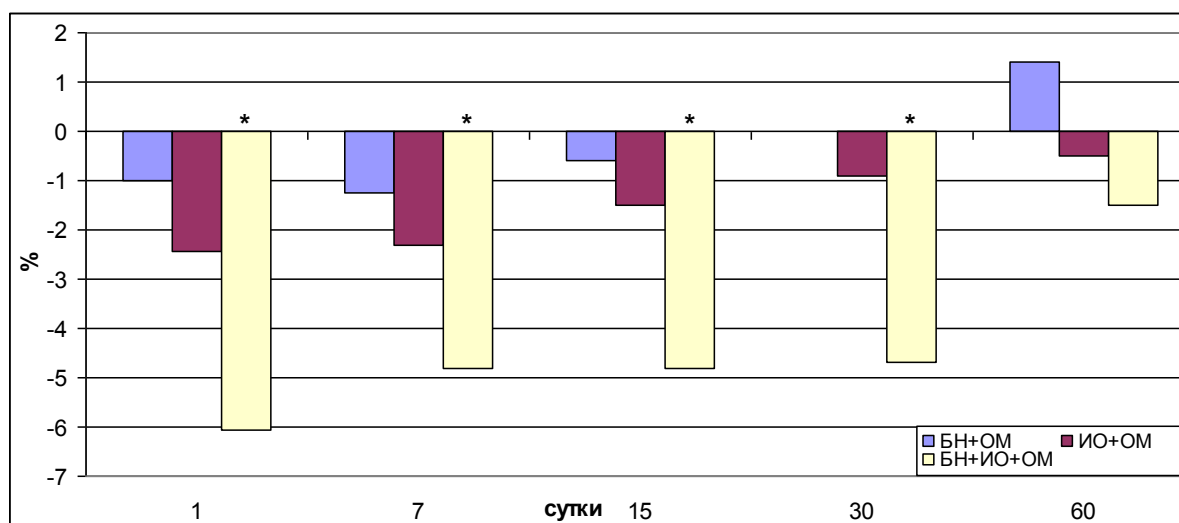
Наконец, в группе БН+ИИ+ОМ на 1-е сут после прекращения воздействия размеры элементарных ячеек вдоль осей *c* и *a*, а также размеры кристаллитов были меньше значений группы БН+ИИ на 0,10, 0,14 и 4,16 % соответственно, а коэффициент микротекстурирования – больше на 5,12 %.

В ходе периода реадaptации коэффициент микротекстурирования увеличивался по сравнению с данными 4-й группы на 6,48, 5,24, 7,73 и 4,93 % с 7-х по 60-е сут эксперимента (рис. 2). Размеры элементарных ячеек вдоль оси *a* были меньше значений 4-й группы на 0,11, 0,12, 0,12 и 0,11 %, размеры элементарных ячеек вдоль оси *c* – на 0,15, 0,15, 0,14 и 0,11 %, а размеры блоков когерентного рассеивания – на 6,04, 5,69, 4,85 и 4,47 % соответственно в аналогичные сроки эксперимента.



**Рис. 1.** Динамика изменений коэффициента микротекстурирования биоминерала ветви нижней челюсти половозрелых крыс групп БН, ИИ и БН+ИИ (\* – достоверное отличие от группы одновозрастного контроля).

**Примечание.** Здесь и на рис. 2 ионизирующее излучение обозначено как ИО



**Рис. 2.** Динамика изменений коэффициента микротекстурирования биоминерала ветви нижней челюсти половозрелых крыс групп БН+ОМ, ИИ+ОМ и БН+ИИ+ОМ (\* – достоверное отличие от группы одновозрастного контроля)

Основываясь на вышеизложенном, можно сделать заключение, что использование в качестве корректора облепихового масла способствует сглаживанию изменений ультраструктуры костного минерала ветви нижней челюсти во все сроки периода адаптации, максимально выраженному с 7-х по 30-е сут эксперимента. Это проявляется в повышении упорядоченности строения кристаллической решетки биоминерала и уменьшении признаков ее дестабилизации. Корректирующие свойства, по-видимому, связаны с особенностями состава данного препарата. Облепиховое масло содержит множество флавоноидов (кверцетин, рутин, кемпферол и др.), витаминов (В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, С, Е и др.), макро- и микроэлементов (Fe, Ca, Mn, Cu и др.), а также аминокислоты и полиненасыщенные жирные кислоты [23–27]. Витамины и микроэлементы, как известно, являются важными кофакторами многих ферментных систем, а флавоноиды обладают антиоксидантными свойствами, чем и можно объяснить уменьшение проявлений оксидативного стресса [28], индуцированного введением бензоата натрия и воздействием ионизирующего излучения, и более быстрое восстановление изучаемых параметров ультраструктуры биоминерала ветви нижней челюсти крыс, которым вводилось облепиховое масло.

#### Выводы:

1. Шестидневное внутрижелудочное введение бензоата натрия белым половозрелым крысам сопровождалось дестабилизацией кристаллической решетки биоминерала ветви нижней челюсти. В период реадaptации ультраструктура биоминерала нижней челюсти постепенно восстанавливалась к 60-м сут эксперимента.

2. Четырехкратное воздействие ионизирующего излучения в суммарной дозе 4 Гр приводило к аналогичным по характеру изменениям ультраструктуры биоминерала, однако процессы восстановления по времени протекали медленнее, и достоверные изменения ультраструктуры регистрировались и на 60-е сут периода реадaptации.

3. Сочетанное 60-дневное воздействие бензоата натрия и ионизирующего излучения приводило к более грубым нарушениям ультраструктуры костного минерала ветви нижней челюсти, а восстановление ультраструктуры в период реадaptации практически не регистрировалось.

4. Использование в качестве корректора облепихового масла сопровождалось уменьшением неблагоприятного влияния условий эксперимента на исследуемые параметры ультраструктуры костного минерала ветви нижней челюсти. Восстановление кристал-

лической решетки биоминерала происходило быстрее в течение всего периода адаптации, особенно с 7-х по 30-е сут, что

в первую очередь выражалось в повышении степени упорядоченности кристаллической решетки.

### Литература

1. *Сарафанова Л.А.* Пищевые добавки: энциклопедия. СПб.: ГИОРД; 2004. 808.
2. *Linke B.G.O., Casagrande T.A.C., Cardoso L.A.C.* Food additives and their health effects: A review on preservative sodium benzoate. *African Journal of Biotechnology*. 2018; 17 (10): 306–310.
3. *Ikarashi Y., Uchino T., Nishimura T.* Analysis of preservatives used in cosmetic products: salicylic acid, sodium benzoate, sodium dehydroacetate, potassium sorbate, phenoxyethanol, and parabens. *Kokuritsu Iyakuhin Shokuhin Eisei Kenkyusho Hokoku*. 2010; 128: 85–90.
4. *Мартов В.Ю., Окорочков А.Н.* Лекарственные средства в практике врача. 2-е изд. М.: Медицинская литература; 2010. 1008.
5. *Shahmohammadi M., Javadi M., Nassiri-Asl M.* An Overview on the Effects of Sodium Benzoate as a Preservative in Food Products. *Biotechnology and Health Sciences*. 2016; 3 (3): e35084.
6. *Pongsavee M.* Effect of Sodium Benzoate Preservative on Micronucleus Induction, Chromosome Break, and Ala40Thr Superoxide Dismutase Gene Mutation in Lymphocytes. *BioMed. Research International*. 2015: 1–5.
7. *Khoshnoud M.J., Siavashpour A., Bakhshizadeh M., Rashedinia M.* Effects of sodium benzoate, a commonly used food preservative, on learning, memory, and oxidative stress in brain of mice. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 2018; 32: e22022.
8. *Afshar M., Moallem S.A., Taheri M.H., Shahsavani M., Sukhtanloo F., Salehi F.* Effect of long term consumption of sodium benzoate before and during pregnancy on growth indexes of fetal balb/c mice. *Mod. Care J.* 2013; 9 (3): 173–180.
9. *Saatci C., Erdem Y., Bayramov R., Akalin H., Tascioglu N., Ozkul Y.* Effect of sodium benzoate on DNA breakage, micronucleus formation and mitotic index in peripheral blood of pregnant rats and their newborns. *Biotechnology and biotechnological equipment*. 2016; 30 (6): 1179–1183.
10. *Monanu M.O., Uwakwe A.A., Onwubiko D.* In vitro effects of sodium benzoate on the activities of aspartate and alanine amino transferases, and alkaline phosphatase from human erythrocytes of different genotypes. *Biokemistri*. 2005; 17 (1): 33–38.
11. *Piper J.D., Piper P.W.* 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*. 2017; 16 (5).
12. International Programme on Chemical Safety. Concise international chemical assessment document № 26. Benzoic acid and sodium benzoate. Geneva; 2000.
13. *Little M.P.* Risks associated with ionizing radiation: Environmental pollution and health. *British Medical Bulletin*. 2003; 68 (1): 259–275.
14. *Лузин В.И., Морозов В.Н.* Современные представления о морфофункциональной организации нижней челюсти крыс. *Український морфологічний альманах*. 2011; 9 (4): 161–166.
15. *Рыболовлев Ю.Р., Рыболовлев Р.С.* Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности. *Доклады АН СССР*. 1979; 247 (6): 1513–1516.
16. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. Strasbourg; 1986. 52.
17. *Миркин Л.И.* Рентгеноструктурный анализ. Индексирование рентгенограмм: справочное руководство. М.: Наука; 1981. 496.
18. *Михеев В.И.* Рентгенометрический определитель минералов. М.: Госгеолтехиздат; 1957. 868.
19. *Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н.* Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. Киев: Морион; 2000. 320.
20. *Трухачева Н.В.* Математическая статистика в медико-биологических исследованиях с применением пакета Statistica. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2012. 379.
21. *Justel A., Pena D., Zamar R.* A multivariate Kolmogorov-Smirnov test of goodness of fit. *Statistics and probability letters*. 1997; 35 (3): 251–259.
22. *Лузин В.И., Кочубей А.А.* Возрастные особенности ультраструктуры биоминералов нижней челюсти белых крыс в условиях тимэктомии. *Український морфологічний альманах*. 2011; 9 (3): 168–170.

23. Горемыкина Н.В., Верещагин А.Л., Кошелев Ю.А. Свойства облепихового масла, полученного ферментативным гидролизом. Ползуновский вестник. 2013; 1: 248–249.
24. Изтлеуов М.К., Изтлеуов Е.М., Исмаилова И.В. Влияние облепихового масла и липоевой кислоты на морфофункциональные показатели репродуктивной системы крыс самцов при хром-индуцированном микроэлементозе. Астраханский медицинский журнал. 2012; 7 (4): 124–126.
25. Olas B., Skalski B., Ulanowska K. The Anticancer Activity of Sea Buckthorn (*Elaeagnus rhamnoides* (L.) A. Nelson). *Frontiers in Pharmacology*. 2018; 9: art. 232.
26. Olas B. The beneficial health aspects of sea buckthorn (*Elaeagnus rhamnoides* (L.) A. Nelson) oil. *Journal of Ethnopharmacology*. 2018; 213: 183–190.
27. Zielińska A., Nowak I. Abundance of active ingredients in sea-buckthorn oil. *Lipids Health Dis*. 2017; 16 (1): 95.
28. Zeb A., Ullah S. Sea buckthorn seed oil protects against the oxidative stress produced by thermally oxidized lipids. *Food Chem*. 2015; 186: 6–12.

## EFFECT OF 60-DAY SODIUM BENZOATE AND IONIZING RADIATION ON ULTRASTRUCTURE OF MANDIBULAR BONE MINERAL IN RAT

I.G. Stepanenko<sup>1</sup>, V.I. Luzin<sup>1</sup>, V.N. Morozov<sup>2</sup>, E.N. Morozova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Lugansk State Medical University named after St. Luka, Lugansk, Ukraine;

<sup>2</sup>National Research University "Belgorod State University", Belgorod, Russia

e-mail: vlad\_luzin@i.ua

*The aim of the paper was to study the ultrastructure of the mandibular bone mineral in rats after 60 days of sodium benzoate injection and ionizing radiation, both as individual experimental factors and in combination, and also to examine the effects sea-buckthorn oil as a potential corrector.*

*Materials and Methods.* The authors examined 240 white adult male rats, which were divided into 8 groups: Group 1 – control animals; Group 2 – animals exposed to intragastric sodium benzoate (60 days); Group 3 – rats exposed to ionizing radiation (total dose 4 Gy), Group 4 – animals exposed to both experimental factors; Group 5 – rats treated with sea buckthorn oil (300 mg/day/kg); Groups 6–8 – animals who received sea buckthorn oil (300 mg/day/kg) on the background of isolated and combined experimental effects. The ultrastructure of the mandibular bone mineral was studied by X-ray diffraction method.

*Results.* In Group 2, the authors revealed an increase in the size of the unit cells along the axes *a* and *c* by 0.11, 0.11, 0.10 and 0.14, 0.16, 0.14 %, respectively, an increase of crystallite sizes by 3.56, 3.50 and 4.02 % (1–15 days of the readaptation period) and a decrease in the microtexturing coefficient by 4.74, 4.81, 4.28 and 3.84 % (1–30 days). These factors indicate destabilization of bone mineral crystal lattice. Groups 3 and 4 revealed the same dynamics of changes in unit cell size, crystallites, and microtexturing coefficient of the bone mineral. However, the amplitude of indicator changes was higher, and the effect was longer during the readaptation period. This indicates stronger structural damage of the biomineral crystal lattice. The use of sea buckthorn oil as a corrector resulted in decrease of adverse experimental effects on the ultrastructure of mandibular bone mineral. The recovery of the biomineral crystal lattice was faster during the entire period of readaptation, especially during 7–30 days, which was primarily associated with an increase in the order of the crystal lattice.

**Keywords:** rat, sodium benzoate, ionizing radiation, sea buckthorn oil, mandible, bone mineral, ultrastructure.

### References

1. Sarafanova L.A. *Pishchevye dobavki: entsiklopediya* [Food supplements: Encyclopedia]. St. Petersburg: GIORD; 2004. 808 (in Russian).
2. Linke B.G.O., Casagrande T.A.C., Cardoso L.A.C. Food additives and their health effects: A review on preservative sodium benzoate. *African Journal of Biotechnology*. 2018; 17 (10): 306–310.
3. Ikarashi Y., Uchino T., Nishimura T. Analysis of preservatives used in cosmetic products: salicylic acid, sodium benzoate, sodium dehydroacetate, potassium sorbate, phenoxyethanol, and parabens. *Kokuritsu Iyakuhin Shokuhin Eisei Kenkyusho Hokoku*. 2010; 128: 85–90.



4. Martov V.Yu., Okorokov A.N. *Lekarstvennyye sredstva v praktike vracha* [Pharmaceuticals in doctor's practice]. 2-e izd. Moscow: Meditsinskaya literatura; 2010. 1008 (in Russian).
5. Shahmohammadi M., Javadi M., Nassiri-Asl M. An Overview on the Effects of Sodium Benzoate as a Preservative in Food Products. *Biotechnology and Health Sciences*. 2016; 3 (3): e35084.
6. Pongsavee M. *Effect of Sodium Benzoate Preservative on Micronucleus Induction, Chromosome Break, and Ala40Thr Superoxide Dismutase Gene Mutation in Lymphocytes*. *BioMed. Research International*. 2015: 1–5.
7. Khoshnoud M.J., Siavashpour A., Bakhshizadeh M., Rashedinia M. Effects of sodium benzoate, a commonly used food preservative, on learning, memory, and oxidative stress in brain of mice. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 2018; 32: e22022.
8. Afshar M., Moallem S.A., Taheri M.H., Shahsavan M., Sukhtanloo F., Salehi F. Effect of long term consumption of sodium benzoate before and during pregnancy on growth indexes of fetal balb/c mice. *Mod. Care J.* 2013; 9 (3): 173–180.
9. Saatci C., Erdem Y., Bayramov R., Akalın H., Tascioglu N., Ozkul Y. Effect of sodium benzoate on DNA breakage, micronucleus formation and mitotic index in peripheral blood of pregnant rats and their newborns. *Biotechnology and biotechnological equipment*. 2016; 30 (6): 1179–1183.
10. Monanu M.O., Uwakwe A.A., Onwubiko D. In vitro effects of sodium benzoate on the activities of aspartate and alanine amino transferases, and alkaline phosphatase from human erythrocytes of different genotypes. *Biokemistri*. 2005; 17 (1): 33–38.
11. Piper J.D., Piper P.W. 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*. 2017; 16 (5).
12. *International Programme on Chemical Safety. Concise international chemical assessment document № 26. Benzoic acid and sodium benzoate*. Geneva; 2000.
13. Little M.P. Risks associated with ionizing radiation: Environmental pollution and health. *British Medical Bulletin*. 2003; 68 (1): 259–275.
14. Luzin V.I., Morozov V.N. Sovremennyye predstavleniya o morfofunktsional'noy organizatsii nizhney chelyusti krysa [Modern ideas about the morphofunctional organization of the rats' mandible]. *Ukrains'kiy morfologichniy al'manakh*. 2011; 9 (4): 161–166 (in Russian).
15. Rybolovlev Yu.R., Rybolovlev R.S. Dozirovanie veshchestv dlya mlekoopitayushchikh po konstante biologicheskoy aktivnosti [Substances dosing for mammals according to the biological activity constant]. *Doklady AN SSSR*. 1979; 247 (6): 1513–1516 (in Russian).
16. *European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose*: Council of Europe 18.03.1986. Strasbourg; 1986. 52.
17. Mirkin L.I. *Rentgenostrukturnyy analiz. Inditsirovanie rentgenogramm: spravochnoe rukovodstvo* [X-ray analysis. Radiograph Indication: Reference Guide]. Moscow: Nauka; 1981. 496 (in Russian).
18. Mikheev V.I. *Rentgenometricheskii opredelitel' mineralov* [X-ray mineral determinant]. Moscow: Gosgeoltekhizdat; 1957. 868 (in Russian).
19. Lapach S.N., Chubenko A.V., Babich P.N. *Statisticheskie metody v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh s ispol'zovaniem Exsel* [Statistical methods in biomedical research using Excel]. Kiev: Morion; 2000. 320 (in Russian).
20. Trukhacheva N.V. *Matematicheskaya statistika v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh s primeneniem paketa Statistica* [Mathematical statistics in biomedical research using Statistica software]. Moscow: GEOTAR-Media; 2012. 379 (in Russian).
21. Justel A., Pena D., Zamar R. A multivariate Kolmogorov-Smirnov test of goodness of fit. *Statistics and probability letters*. 1997; 35 (3): 251–259.
22. Luzin V.I., Kochubey A.A. Vozrastnye osobennosti ul'trastrukturny biomaterialov nizhney chelyusti belykh krysov v usloviyakh timektomii [Age-specific ultrastructure of mandibular bio-minerals in white rats under thymectomy]. *Ukrains'kiy morfologichniy al'manakh*. 2011; 9 (3): 168–170 (in Russian).
23. Goremykina N.V., Vereshchagin A.L., Koshelev Yu.A. Svoystva oblepikhovogo masla, poluchennogo fermentativnym gidrolizom [Qualities of sea buckthorn oil obtained by enzymatic hydrolysis]. *Polzovniy vestnik*. 2013; 1: 248–249 (in Russian).

24. Iztleuov M.K., Iztleuov E.M., Ismailova I.V. Vliyanie oblepikhovogo masla i lipoevoy kisloty na morfofunktsional'nye pokazateli reproduktivnoy sistemy krysov pri khrom-indutsirovannom mikroelementoze [Influence of sea buckthorn oil and lipoic acid on morphofunctional indicators of reproductive system of male rats with chromium-induced microelementosis]. *Astrakhanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2012; 7 (4): 124–126 (in Russian).
25. Olas B., Skalski B., Ulanowska K. The Anticancer Activity of Sea Buckthorn (*Elaeagnus rhamnoides* (L.) A. Nelson). *Frontiers in Pharmacology*. 2018; 9: art. 232.
26. Olas B. The beneficial health aspects of sea buckthorn (*Elaeagnus rhamnoides* (L.) A. Nelson) oil. *Journal of Ethnopharmacology*. 2018; 213: 183–190.
27. Zielińska A., Nowak I. Abundance of active ingredients in sea-buckthorn oil. *Lipids Health Dis*. 2017; 16 (1): 95.
28. Zeb A., Ullah S. Sea buckthorn seed oil protects against the oxidative stress produced by thermally oxidized lipids. *Food Chem*. 2015; 186: 6–12.