

УДК 612.014.463:615.076.9

DOI: 10.34215/1609-1175-2024-3-24-28



Влияние натрия бензоата на ультраструктуру биоминерала дентина нижнего резца крыс и возможности его коррекции

В.В. Бибик

Луганский государственный медицинский университет имени Святителю Луки, Луганск, ЛНР, Россия

Цель: установить изменения ультраструктуры биоминерала дентина нижнего резца белых крыс после 60-суточного введения натрия бензоата (sodium benzoate, SB) и обосновать возможности их коррекции мексидолом (МД) либо тиотриазолином (ТТЗ). **Материалы и методы.** Использовано 140 крыс-самцов массой 200–210 г, которые внутривенно получали SB в дозе 100 мг/кг/сутки, а также внутривенно МД (50 мг/кг/сутки) и ТТЗ (117,4 мг/кг/сутки). Ультраструктуру биоминерала дентина нижнего резца изучали методом рентгеноструктурного анализа. **Результаты.** После 60-суточного введения SB расчет размеров блоков когерентного рассеивания кристаллитов (РБКР) были больше контроля с 3-х по 24-е сутки реадaptации на 6,06, 7,88, 6,58 и 4,08%, а коэффициент микротекстурирования (КМТ) с 3-х по 45-е сутки – меньше на 8,23, 6,53, 8,12, 6,77 и 4,90%. При введении МД КМТ дентина с 10-х по 45-е сутки превышал значения группы без коррекции на 2,75, 3,31, 3,64 и 3,31%. При введении ТТЗ РБКР с 3-х по 15-е сутки уменьшались на 3,87, 5,23 и 4,80%, а КМ с 3-х по 45-е сутки возрастал на 2,76, 3,43, 3,83, 4,09 и 3,33%. **Заключение.** Энтеральное введение SB сопровождается дестабилизацией биоминерала дентина нижних резцов крыс. Введение МД и ТТЗ сглаживает изменения ультраструктуры биоминерала дентина. Применение ТТЗ является более эффективным.

Ключевые слова: крысы, бензоат натрия, дентин нижнего резца, биоминерал, ультраструктура, мексидол, тиотриазолин

Поступила в редакцию: 11.06.2024. Получена после доработки 27.06.2024. Принята к публикации: 10.07.2024

Для цитирования: Бибик В.В. Влияние натрия бензоата на ультраструктуру биоминерала дентина нижнего резца крыс и возможности его коррекции. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2024;3:24–28. doi: 10.34215/1609-1175-2024-3-24-28

Для корреспонденции: Бибик Валерий Васильевич – канд. мед. наук, доцент, заведующий кафедрой общей врачебной практики и медицинской реабилитации Луганского государственного медицинского университета имени Святителю Луки (91045, РФ, ЛНР, г. Луганск, кв. 50 лет Обороны Луганска, 1г); ORCID: 0009-0006-0490-6063; тел. +7 (959) 107-14-71; e-mail: jnica@mail.ru

Effect of sodium benzoate injections on the dentin biomineral ultrastructure of the lower incisor in white rats and its correction possibilities

V.V. Bibik

Saint Luka Lugansk State Medical University, Lugansk, LPRpublic, Russian

Objective. To establish changes in the dentin biomineral ultrastructure of the lower incisor of white rats after a 60-day period of sodium benzoate (SB) injections and to substantiate the possibility of their correction with mexidol (MD) or thiotriazoline (TTZ). **Materials and methods.** 175 male rats weighing 200–210 g were used. SB was injected at a dose of 100 mg/kg/day, MD at a dose of 50 mg/kg/day, and TTZ at a dose of 117.4 mg/kg/day. The dentin biomineral ultrastructure of the lower incisor was studied by XRD analysis. **Results.** After a 60-day administration of SB, the crystallite sizes were larger than those in the control group from days 3 to 24 of readaptation by 6.06%, 7.88%, 6.58%, and 4.08%; the microtexturing coefficient (MC) from days 3 to 45 was lower by 8.23%, 6.53%, 8.12%, 6.77% and 4.90%. With the introduction of MD, dentin MC from days 10 to 45 exceeded the values of the control group by 2.75%, 3.31%, 3.64%, and 3.31%. With the introduction of TTZ, crystallite sizes from 3 to 15 days decreased by 3.87%, 5.23%, and 4.80%, and MC from 3 to 45 days increased by 2.76%, 3.43%, 3.83%, 4.09%, and 3.33%. **Conclusion.** SB injections to experimental animals is accompanied by destabilization of the dentin biomineral of the lower incisors. The introduction of MD or TTZ mitigates changes in the dentin biomineral ultrastructure. The use of TTZ was shown to be more effective.

Keywords: rats, sodium benzoate, lower incisor dentin, biomineral, ultrastructure, mexidol, thiotriazoline

Received 11 June 2024; Revised 27 June 2024; Accepted 10 July 2024

For citation: Bibik V.V. Effect of sodium benzoate injections on the dentin biomineral ultrastructure of the lower incisor in white rats and its correction possibilities. *Pacific Medical Journal*. 2024;3:24–28. doi: 10.34215/1609-1175-2024-3-24-28

Corresponding author: Valery V. Bibik, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Head of the Department of General Medical Practice and Medical Rehabilitation Saint Luka Lugansk State Medical University (1g, 50-letiya Oborony of Lugansk Street, Lugansk, 91045, Russia); ORCID: 0009-0006-0490-6063; tel. +7 (959) 107-14-71; e-mail: jnica@mail.ru

Натрия бензоат (sodium benzoate, SB) (по международной номенклатуре – E211) обладает антибактериальными и противогрибковыми свойствами и поэтому применяется как консервант для пищевых продуктов

[1]. Допустимой границей его потребления считается 0–5 мг/кг массы тела [2].

Как правило, SB используется для хранения продуктов с кислым pH и добавляется в газированные напитки,

соусы, майонез, маргарин, томатную пасту и фруктовые консервы. В натуральном виде он также содержится в корице, грибах, клюкве, чернике и гвоздике [3].

В последние годы появляются сведения о его токсическом и аллергенном влиянии на организм человека [1, 2, 4]. Помимо этого, доказаны мутагенные и генотоксические эффекты SB [5, 6].

Длительное употребление SB в высоких дозировках сопровождается структурно-функциональным нарушением костей, суставов и органов эндокринной системы. Имеются также данные о нарушении прочности комплекса нижняя челюсть/нижний резец [7–11]. Однако сведения об изменении ультраструктуры минерализованных тканей зуба после длительного применения SB в открытом доступе не найдены.

Цель исследования – установить изменения биоминерала дентина нижнего резца (БМДНР) на кристаллическом уровне структурной организации после 60-суточного введения SB и обосновать возможности применения мексидола (МД) либо тиотриазолина (ТТЗ) для их коррекции.

Материалы и методы

В эксперименте использовано 140 самцов белых крыс с начальной массой тела 200–210 г. Животных распределяли на несколько групп. Группу SB 1000 составили крысы, которым внутрижелудочно вводили 1 мл SB в дозе 1000 мг/кг/сутки; группы SB 1000М и SB 1000Т – крысы, которым одновременно с введением SB внутрибрюшинно вводили МД в дозе 50 мг/кг/сутки либо ТТЗ в дозе 117,4 мг/кг/сутки. Контроль составляли интактные животные. В исследовании использовали SB (Eastman Chemical BV, Нидерланды); МД (ООО Медицинский центр «Эллара», Российская Федерация, № UA/1348/02/01; ТТЗ (ООО «Озон», Российская Федерация, № ЛП-006907-070421).

Дозы использованных препаратов рассчитывали с учетом видовой чувствительности по рекомендациям Ю.Р. и Р.С. Рыболовлевых [12].

Животные содержались в виварии Луганского государственного медицинского университета имени Святителя Луки в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации 1975 года и редакции 1983 года, а также приказа Министерства здравоохранения Российской Федерации от 2010-8-23.708-н «О лабораторном регулировании». Протокол исследования был утвержден на заседании местного независимого этического комитета ГБОУ ВО ЛГМУ им. Свт. Луки Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 4 от 18.12.2023 г.).

В конце каждого срока по 7 животных из группы выводили из эксперимента под эфирным наркозом, сепарировали нижние резцы, с помощью бормашины с их поверхности удаляли эмаль и цемент и исследовали на установке ДРОН-2,0 с гониометрической приставкой ГУР-5. Применяли рентгеновскую трубку с $K\alpha$ излучением меди с длиной волны 0,1542 Нм,

а также напряжением и силой анодного тока 30 кВ и 20 А. В угловом промежутке с 2 до 37° при скорости записи 1° в 1 минуту записывали дифрагированные рентгеновские лучи. Измеряли наиболее выраженные пики дифракции биоминерала дентина и по их характеристикам вычисляли размеры блоков когерентного рассеивания (РБКР), размеры элементарных ячеек (РЭЯ) БМДНР и коэффициента микротекстурирования (КМТ) с использованием метода соотношения рефлексов [13].

Статистическую обработку проводили с помощью программы «Statistica 10.0» (Statsoft, USA) с вычислением средних величин (M), оценкой вероятности расхождений (m), оценкой достоверности изменений с использованием t -критерия Стьюдента. За достоверную принималась разность средних значений при $p < 0,05$.

Результаты исследования

Введение SB в дозе 1000 мг/кг/сут в течение 60 суток внутрижелудочно экспериментальным животным сопровождалось нарушением ультраструктуры БМДНР (табл. 1).

В группе SB 1000 РЭЯ БМДНР вдоль оси a с 3-х по 45-е сутки периода реадaptации были больше значений группы контроля на 0,19, 0,19, 0,17, 0,23 и 0,15%, а размеры вдоль оси c с 3-х по 24-е сутки – на 0,22, 0,25, 0,21 и 0,21%. РБКР БМДНР также превышали значения группы контроля с 3-х по 24-е сутки периода реадaptации на 6,06, 7,88, 6,58 и 4,08%. Наконец, КМТ БМДНР с 3-х по 45-е сутки периода реадaptации был меньше значений контрольной группы на 8,23, 6,53, 8,12, 6,77 и 4,90% (табл. 1).

Внутрибрюшинное введение МД в дозе 50 мг/кг/сутки либо ТТЗ в дозе 117,4 мг/кг/сутки одновременно с 60-суточной заправкой SB сопровождалось тенденцией к восстановлению ультраструктуры БМДНР.

В сравнении с группой SB 1000 у животных группы SB 1000М статистически значимые изменения ультраструктуры БМДНР определялись во все сроки периода реадaptации (табл. 1).

РЭЯ БМДНР вдоль оси a к 10-м и 24-м суткам периода реадaptации были меньше значений группы SB 1000 на 0,13 и 0,14%, а размеры вдоль оси c к 3-м суткам – на 0,11%. КМТ от 10-х до 45-х суток периода реадaptации превышал значения группы SB 1000 на 2,75, 3,31, 3,64 и 3,31%.

В сравнении с группой SB 1000 в группе SB 1000Т статистически значимые отличия показателей ультраструктуры БМДНР выявлены от 3-х до 45-х суток периода реадaptации.

РЭЯ БМДНР вдоль оси c к 3-м и 10-м суткам периода реадaptации были меньше значений группы SB 1000 на 0,16 и 0,15%, а РЭЯ вдоль оси a к 10, 24 и 45-м суткам – на 0,13, 0,16 и 0,11%. РБКР БМДНР также с 3-х по 15-е сутки периода реадaptации были меньше значений группы SB 1000 на 3,87, 5,23 и 4,80%. Наконец,

Таблица 1

Размеры элементарных ячеек биоминерала дентина нижнего резца (РЭЯ БМДНР) крыс после 60-суточной затравки SB ($X \pm Sx$)

Группа	Сроки, сутки	РЭЯ БМДНР	
		вдоль оси а, 10^{-10} М	вдоль оси с, 10^{-10} М
Контроль	3	$9,362 \pm 0,002$	$6,821 \pm 0,003$
	10	$9,364 \pm 0,003$	$6,822 \pm 0,003$
	15	$9,366 \pm 0,003$	$6,823 \pm 0,003$
	24	$9,366 \pm 0,002$	$6,825 \pm 0,003$
	45	$9,368 \pm 0,003$	$6,827 \pm 0,002$
SB 1000	3	$9,3809 \pm 0,004^{\wedge}$	$6,836 \pm 0,003^{\wedge}$
	10	$9,382 \pm 0,003^{\wedge}$	$6,839 \pm 0,003^{\wedge}$
	15	$9,381 \pm 0,003^{\wedge}$	$6,837 \pm 0,003^{\wedge}$
	24	$9,388 \pm 0,002^{\wedge}$	$6,839 \pm 0,003^{\wedge}$
	45	$9,382 \pm 0,004^{\wedge}$	$6,836 \pm 0,003$
SB 1000M	3	$9,373 \pm 0,004^{\wedge}$	$6,828 \pm 0,002^*$
	10	$9,370 \pm 0,002^*$	$6,830 \pm 0,003$
	15	$9,374 \pm 0,003^{\wedge}$	$6,832 \pm 0,003$
	24	$9,375 \pm 0,003^*^{\wedge}$	$6,834 \pm 0,002^{\wedge}$
	45	$9,373 \pm 0,003$	$6,833 \pm 0,004$
SB 1000T	3	$9,371 \pm 0,003$	$6,825 \pm 0,003^*$
	10	$9,370 \pm 0,002^*$	$6,829 \pm 0,003^*$
	15	$9,373 \pm 0,003$	$6,829 \pm 0,003$
	24	$9,373 \pm 0,002^*^{\wedge}$	$6,830 \pm 0,003$
		$9,372 \pm 0,002^*$	$6,828 \pm 0,004$

Примечание: * – достоверное отличие от группы контрольных животных ($p < 0,05$); $\wedge$ – достоверное отличие от аналогичной группы, получавшей пищевые добавки без применения корректоров ($p < 0,05$).

КМТ от 3-х до 45-х суток периода реадaptации превышал значения группы SB 1000 на 2,76, 3,43, 3,83, 4,09 и 3,33% (табл. 2).

Обсуждение полученных результатов

Данные нашего исследования показывают, что внутрижелудочное введение экспериментальным животным SB в дозе 1000 мг/кг/сут в течение 60 суток приводит к дестабилизации ультраструктуры БМДНР. Это проявляется в увеличении РБКР и РЭЯ, а также снижении КМТ БМДНР. Эти признаки максимально выражены к 3–10-м суткам после окончания затравки, а затем восстанавливаются. Однако и к 45-м суткам сохраняются статистически значимые отличия от значений в контрольной группе.

SB, поступая в организм, индуцирует проявления окислительного стресса и нарушает внутриклеточный синтез АТФ [14], вероятно, и в одонтоблaстах нижнего резца, что приводит к нарушению процесса минерализации и изменению в ультраструктуре биологических минералов дентина. После прекращения затравки SB ультраструктура БМДНР постепенно восстанавливается.

В этом случае профилактическое корректирующее воздействие МД на ультраструктуру БМДНР объясняется антиоксидантными, мембранопротекторными и антигипоксическими свойствами [7]. Для ТТЗ его аналогичные свойства выражены сильнее, чем и объясняется более эффективный корректирующий эффект [8].

Заключение

Внутрижелудочное введение лабораторным животным SB в дозе 1000 мг/кг/сут на протяжении 60 суток сопровождается дестабилизацией ультраструктуры БМДНР, которая максимально выражена к 3–10-м суткам после окончания затравки, после чего она постепенно восстанавливается.

Внутрибрюшинное введение МД в дозе 50 мг/кг/сутки на фоне введения SB сопровождается признаками восстановления ультраструктуры БМДНР, которые выражены от 3-х до 45 суток периода реадaptации.

Введение ТТЗ в дозе 117,4 мг/кг/сутки одновременно с SB также сопровождается восстановлением ультраструктуры БМДНР, которое проявляется от 3-х до 45 суток периода реадaptации и выражено в большей степени, чем при использовании МД.

Таблица 2

Кристаллографические параметры биоминерала дентина нижнего резца крыс после 60-суточной введения SB ($X \pm Sx$)

Группа	Сроки, сутки	РБКР, нМ	КМТ, у. е.
Контроль	3	29,13 $\pm$ 0,35	0,5553 $\pm$ 0,0040
	10	29,16 $\pm$ 0,38	0,5495 $\pm$ 0,0084
	15	29,57 $\pm$ 0,31	0,5604 $\pm$ 0,0042
	24	29,90 $\pm$ 0,32	0,5622 $\pm$ 0,0048
	45	30,17 $\pm$ 0,32	0,5657 $\pm$ 0,0044
SB 1000	3	30,90 $\pm$ 0,43 [^]	0,5096 $\pm$ 0,0043*
	10	31,46 $\pm$ 0,43 [^]	0,5137 $\pm$ 0,0041*
	15	31,52 $\pm$ 0,39 [^]	0,5149 $\pm$ 0,0034*
	24	31,12 $\pm$ 0,43 [^]	0,5241 $\pm$ 0,0040*
	45	31,16 $\pm$ 0,47	0,5380 $\pm$ 0,0042*
SB 1000M	3	29,91 $\pm$ 0,37	0,5206 $\pm$ 0,0053*
	10	30,25 $\pm$ 0,37	0,5278 $\pm$ 0,0037* [^]
	15	30,47 $\pm$ 0,34	0,5319 $\pm$ 0,0045* [^]
	24	30,80 $\pm$ 0,36	0,5432 $\pm$ 0,0037* [^]
	45	31,11 $\pm$ 0,41	0,5558 $\pm$ 0,0043 [^]
SB 1000T	3	29,70 $\pm$ 0,28*	0,5236 $\pm$ 0,0044*
	10	29,81 $\pm$ 0,25*	0,5313 $\pm$ 0,0039 [^]
	15	30,00 $\pm$ 0,33*	0,5346 $\pm$ 0,0040* [^]
	24	30,22 $\pm$ 0,39	0,5456 $\pm$ 0,0040* [^]
	45	31,26 $\pm$ 0,29 [^]	0,5560 $\pm$ 0,0040 [^]

Примечание: РБКР – размеры блоков когерентного рассеивания, КМТ – коэффициента микротекстурирования.

* – здесь и далее обозначает достоверное отличие от группы контрольных животных ($p < 0,05$); [^] – здесь и далее – достоверное отличие от аналогичной группы, получавшей пищевые добавки без применения корректоров ($p < 0,05$).

Конфликт интересов: автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источники финансирования: авторы заявляют о финансировании проведенного исследования из собственных средств.

Литература / References

1. Walczak-Nowicka ŁJ, Herbet M. Sodium Benzoate—Harmfulness and Potential Use in Therapies for Disorders Related to the Nervous System: A Review. *Nutrients*. 2022; 14(7): 1497. doi: 10.3390/nu14071497
2. Lennerz B, Vafai SB, Delaney NF, Clish CB, Deik AA, Pierce KA, Ludwig DS, Mootha VK. Effects of Sodium Benzoate, a Widely Used Food Preservative, on Glucose Homeostasis and Metabolic Profiles in Humans. *Mol. Genet. Metab*. 2015;114:73–9. doi: 10.1016/j.yimgme.2014.11.010
3. Shahmohammadi M, Javadi M, Nassiri-Asl M. An Overview on the Effects of Sodium Benzoate as a Preservative in Food Products. *Biotechnol. Health Sci*. 2016;3:7–11. doi: 10.17795/bhs-35084
4. Zhao K, Chen Y, Hong S, Yang Y, Xu J, Yang H, Zhu L, Liu M, Xie Q, Tang X. Characteristics of β -Oxidative and Reductive Metabolism on the Acyl Side Chain of Cinnamic Acid and Its Analogues in Rats. *Acta Pharmacol. Sin*. 2019;40:1106–18. doi: 10.1038/s41401-019-0218-8
5. Zengin N, Yüzbaşıoğlu D, Unal F, Yılmaz S, Aksoy H. The Evaluation of the Genotoxicity of Two Food Preservatives: Sodium Benzoate and Potassium Benzoate. *Food Chem. Toxicol*. 2011;49:763–9. doi: 10.1016/j.fct.2010.11.040
6. Pongsavee M. Effect of Sodium Benzoate Preservative on Micronucleus Induction, Chromosome Break, and Ala40Thr Superoxide Dismutase Gene Mutation in Lymphocytes. *BioMed Res. Int*. 2015;2015:103512. doi: 10.1155/2015/103512
7. Бибик В.В. Рост и формообразование нижней челюсти у белых крыс при нанесении дефекта в большеберцовой кости после 60-суточного введения натрия бензоата либо тартразина. *Морфологический альманах имени В.Г. Ковешникова*. 2022;20(3):90–4. [Bibik VV. Growth and formation of the mandible when causing a tibial defect in white rats after a defect in the tibia after a 60-day administration of sodium benzoate or tartrazine. *Morfologicheskii Al'manakh Imeni V.G. Koveshnikova*. 2022;20(3):90–4. (In Russ.)]
8. Бибик В.В. Структура мышечного хряща нижней челюсти белых крыс после 60-суточного введения натрия бензоата либо тартразина. *Морфологический альманах имени В.Г. Ковешникова*. 2023;21(2):102–7. [Bibik VV. Structure of the condylar cartilage of the mandible in white rats after 60 days of administration of sodium benzoate or tartrazine. *Morfologicheskii Al'manakh Imeni V.G. Koveshnikova*. 2023;21(2):102–7. (In Russ.)]
9. Бибик В.В., Лузин В.И. Влияние нанесения дефекта в большеберцовой кости после 60-суточного введения бензоата натрия на прочность комплекса нижний резец/нижняя челюсть у белых крыс. *Университетская клиника*. 2023;2(47):14–9. [Bibik VV, Luzin VI. The effects of a defect in the tibia after 60-day sodium benzoate intake on strength of incisor/mandible complex in rats. *University Clinic*. 2023;2 (47):14–9. (In Russ.)]
10. Лукьянцева Г.В., Лузин В.И., Морозов В.Н. Влияние 60-дневного введения бензоата натрия на прочностные харак-

- теристики костей скелета белых крыс в период реадaptации. *Травма*. 2014;15(3):30-2. [Lukyantseva GV, Luzin VI, Morozov VN. Effect of 60-day administration of sodium benzoate on strength properties of skeletal bones of albino rats during readaptation. *Trauma*. 2014;15(3):30-2. (In Russ.)]
11. Морозов В.Н., Морозова Е.Н., Тверской А.В., Заболотная С.В., Тверская А.В. Ультрамикроскопические особенности строения тироцитов щитовидной железы крыс после 60-дневной интоксикации бензоатом натрия. *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета*. 2022;19(1):162-6. [Morozov VN, Morozova EN, Tverskoi AV, Zabolotnaya SV, Tverskaya AV. Ultramicroscopic features of thyrocytes structure of rat's thyroid gland after 60-days sodium benzoate administration. *Bulletin of Volgograd State Medical University*. 2022;19(1):162-6. (In Russ.)]
12. Рыболовлев Ю.Р., Рыболовлев Р.С. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности. *Доклады АН СССР*. 1979;247(6):1513-6. [Rybolovlev YuR, Rybolovlev RS. Dosing of substances for mammals according to the constant of biological activity. Reports of the USSR Academy of Sciences. 1979;247(6):1513-6. (In Russ.)]
13. Астраханцев Д.А., Лузин В.И. Оценка влияния концентрации марганца в материале ок-015, имплантированном в большеберцовую кость, на изменение показателей ультраструктуры биоминералов нижней челюсти и нижнего резца. *Морфологический альманах имени В.Г. Ковешникова*. 2019;17(4):91-4. [Astrakhansev DA, Luzin VI. Assessment of the effect of the concentration of manganese in the material ok-015 implanted in the tibia on the change in the ultrastructure of the biomineral materials of the lower jaw and lower incisor. *V.G. Koveshnikov Morphological Almanac*. 2019;17(4):91-4. (In Russ.)]
14. Piper JD, Piper PW. 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. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 2017;16:868-80. doi: 10.1111/1541-4337.12284