

УДК 615.9:616-001-092.9:611.018

## ВЛИЯНИЕ ПИЩЕВЫХ КОНСЕРВАНТОВ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПОЧЕК НА ФОНЕ ДЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

<sup>1</sup>Хмель А.О., <sup>1</sup>Хуснутдинова Н.Ю., <sup>1</sup>Гизатуллина А.А., <sup>1</sup>Валова Я.В.,  
<sup>1</sup>Ахмадеев А.Р., <sup>1</sup>Якупова Т.Г., <sup>1,2</sup>Каримов Д.О., <sup>1</sup>Репина Э.Ф.

<sup>1</sup>ФБУН «Уфимский научно-исследовательский институт медицины труда  
и экологии человека», Уфа, e-mail: fbun@uniimtech.ru;

<sup>2</sup>ФГБНУ «Национальный научно-исследовательский институт общественного здоровья  
имени Н.А. Семашко», Москва, e-mail: info@nriph.ru

Цель исследования – изучить сочетанное влияние пищевых консервантов и стресс-факторов на морфофункциональное состояние почек. Исследование проведено в течение 28 дней на 24 белых аутбредных крысах-самцах весом 190–210 г. Животные были разделены на 4 группы по 6 особей: группа отрицательного контроля (К-); группа, где животных подвергли воздействию стресс-факторов (Стресс); группа животных, получавшая консерванты (Консерванты); комбинированная группа с воздействием стресс-факторов и консервантов (Консерванты + стресс). Группам 1 и 2 вводили дистиллированную воду, группам 3 и 4 вводили сорбиновую (500 мг/кг) и бензойную (100 мг/кг) кислоты. В конце эксперимента проведены биохимические и морфологические исследования. В результате проведенных исследований установлено повышенное содержание мочевой кислоты в сыворотке крови крыс под воздействием стресс-факторов и консервантов, которое может быть связано с негативным воздействием на функции почек. Пониженное содержание мочевины в сыворотке крови крыс под воздействием изучаемых факторов может свидетельствовать об их негативном влиянии на функциональное состояние печени. Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии значимых изменений между группами в уровне креатинина. По итогу биохимических и гистологических исследований выявлено, что длительное воздействие стресса и консервантов оказывает влияние на биохимические показатели сыворотки крови, но не вызывает значительных структурных изменений в почках. Таким образом, изолированное и сочетанное воздействие пищевых консервантов и стрессовых факторов на почки крыс не оказывает существенного влияния на функциональное состояние почек и не вызывает видимых структурных изменений в их тканях. Для уточнения полученных результатов необходимо продолжение исследований на более длительных сроках воздействия при разных уровнях доз.

**Ключевые слова:** консерванты, стресс-факторы, эксперимент, крысы, биохимические исследования, почки, гистология

## THE INFLUENCE OF FOOD PRESERVATIVES ON THE MORPHOFUNCTIONAL STATE OF THE KIDNEYS AGAINST THE BACKGROUND OF LONG-TERM STRESS

<sup>1</sup>Khmel A.O., <sup>1</sup>Khusnutdinova N.Yu., <sup>1</sup>Gizatullina A.A., <sup>1</sup>Valova Ya.V.,  
<sup>1</sup>Akhmadeev A.R., <sup>1</sup>Yakupova T.G., <sup>1,2</sup>Karimov D.O., <sup>1</sup>Repina E.F.

<sup>1</sup>Ufa research institute of occupational health and human ecology, Ufa,  
e-mail: fbun@uniimtech.ru;

<sup>2</sup>N.A. Semashko National Research Institute of Public Health, Moscow,  
e-mail: info@nriph.ru

The aim of the study is to study the combined effect of food preservatives and stress factors on the morpho-functional state of the kidneys. The study was conducted over 28 days on 24 white outbred male rats weighing 190–210 g. The animals were divided into 4 groups of 6 animals: a negative control group (K-); a group where animals were exposed to stress factors (Stress); a group of animals receiving preservatives (Preservatives); a combined group with exposure to stress factors and preservatives (Preservatives + Stress). Groups 1 and 2 were given distilled water, groups 3 and 4 were given sorbic (500 mg/kg) and benzoic (100 mg/kg) acids. At the end of the experiment, biochemical and morphological studies were carried out. The conducted studies revealed an increased uric acid content in the blood serum of rats under the influence of stress factors and preservatives, which may be associated with a negative impact on kidney function. A decreased urea content in the blood serum of rats under the influence of the studied factors may indicate their negative impact on the functional state of the liver. The results indicate the absence of significant changes between the groups in the creatinine level. Based on the results of biochemical and histological studies, it was found that long-term exposure to stress and preservatives affects the biochemical parameters of blood serum, but does not cause significant structural changes in the kidneys. Thus, isolated and combined exposure to food preservatives and stress factors on the kidneys of rats does not significantly affect the functional state of the kidneys and does not cause visible structural changes in their tissues. To clarify the obtained results, it is necessary to continue studies over longer periods of exposure at different dose levels.

**Keywords:** preservatives, stress factors, experiment, rats, biochemical studies, histology, kidneys

### Введение

Научно-технический прогресс в пищевой промышленности, сопровождающийся расширением использования пищевых добавок, актуализирует проблему оценки их безопасности для здоровья человека [1]. Бензойная и сорбиновая кислоты являются широко используемыми пищевыми добавками, предназначенными для продления срока годности продуктов за счет ингибирования роста микроорганизмов [2]. Однако, несмотря на их общепризнанную безопасность в рамках рекомендованных доз, исследования указывают на возможные негативные эффекты этих соединений при длительном или избыточном потреблении [3].

Имеются экспериментальные данные, свидетельствующие о способности упомянутых консервантов вызывать негативные биохимические и физиологические эффекты в организме лабораторных животных, в том числе связанные с нарушением липидного обмена и окислительно-восстановительного баланса в клетках. Результаты гистопатологических исследований печени и почек также свидетельствуют о наличии повреждающего действия на них пищевых добавок [4]. Экспериментально доказано, что субхроническое пероральное поступление бензойных кислот приводит в первую очередь к нарушению деятельности гепаторенальной системы в организме животных [5]. С учетом имеющихся сведений о биологической активности пищевых добавок в научной литературе активно обсуждается вопрос о необходимости проведения дальнейших исследований в этом направлении с целью возможного пересмотра норм их содержания в продуктах питания [6].

В условиях современной жизни человек регулярно подвергается воздействию различных стрессогенных факторов, которые могут существенно влиять на состояние здоровья. Состояние хронического стресса может привести к нарушению гормонального баланса, иммунной функции и метаболических процессов, что, в свою очередь, увеличивает риск развития различных заболеваний, включая болезни почек [7]. Почки играют ключевую роль в поддержании гомеостаза организма, регулируя электролитный баланс, выведение токсинов и производство гормонов. Под воздействием стрессовых факторов может происходить изменение морфологии почечной ткани, а также нарушение функциональных показателей органа [8]. В частности, хронический стресс способен активировать

гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему (ГГНС), что приводит к повышенной секреции кортизола и других глюкокортикоидов. Эти вещества при длительном воздействии могут индуцировать воспалительные процессы и окислительный стресс в клетках почек, что потенциально ведет к развитию фиброза и снижению их функциональной способности [9].

На фоне этого стоит учитывать дополнительное воздействие экзогенных факторов, таких как пищевые консерванты.

Сочетанное воздействие хронического стресса и пищевых консервантов представляет собой сложный патогенетический механизм. Известно, что стрессовые условия могут усиливать токсическое действие некоторых химических веществ, создавая синергетический эффект [10]. Такое сочетание факторов может значительно увеличивать нагрузку на почки, что проявляется изменениями в их морфологии и функциональных показателях. Нарушения в работе почек отражаются на биохимических параметрах крови, таких как уровень креатинина, мочевины, электролитов и белков, что позволяет использовать эти маркеры для оценки степени повреждения органа [11].

**Цель исследования** – изучить сочетанное влияние пищевых консервантов и стресс-факторов на морфофункциональное состояние почек.

### Материалы и методы исследования

Исследование проведено в течение 28 дней на 24 белых аутбредных крысах-самцах с массой тела 190–210 г, которые содержались в стандартных условиях вивария. Перед началом эксперимента животные были случайным образом разделены на 4 группы, в каждой из которых находилось по 6 животных: группа отрицательного контроля (К-); группа, где животных подвергали воздействию стресс-факторов (Стресс); группа животных, получавшая консерванты (Консерванты); комбинированная группа с воздействием стресс-факторов и консервантов (Консерванты + стресс). Воздействие стресс-факторов моделировали у крыс на основе методов, изложенных в литературе [12]. Стрессогенные воздействия применялись ежедневно по установленному графику и включали: социальную изоляцию, шумовое воздействие, иммобилизацию, содержание в помещении с искусственным освещением в ночное время, а также лишение пищи и воды на срок до 24 ч. Животным 1 и 2 групп ежедневно в рабочие дни внутрижелудочно с помощью зонда вводили эквивалентный

объем дистиллированной воды без примесей. Животным из 3 и 4 групп в те же сроки вводили водный раствор консервантов: сорбиновую кислоту в дозе 500 мг/кг массы тела и бензойную кислоту в дозе 100 мг/кг массы тела. Дозы консервантов составляли десятикратный размер допустимого суточного поступления в организм взрослого человека, установленного на основании перечня пищевых продуктов, утвержденного Р 2.1.10.3968-23 (Москва, 2023) и ТР ТС 029/2012 (принят решением Совета Евразийской экономической комиссии № 58 от 20.07.2012).

Забор образцов крови для биохимического анализа проводился после умерщвления животных путем декапитации. Для оценки функционального состояния почек крыс определяли содержание мочевой кислоты, мочевины и креатинина в сыворотке крови. Исследования проведены на анализаторе «Stat Fax 3300» (фирма «Awareness Technology», США) с использованием наборов реагентов «Вектор-Бест» (Новосибирск, Россия) в соответствии с инструкциями производителя.

Ткани почек для гистологического исследования фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине на фосфатном буфере и подвергали стандартной процедуре гистологической проводки (в изопропанол) и дальнейшей заливки в парафин. Срезы толщиной 5–7 мкм, сделанные на микротоме Leica, окрашивали гематоксилин-эозином. Микроскопическое исследование производили с помощью имиджинговой системы Celena X на увеличении  $\times 200$ .

Статистический анализ данных проводили с использованием метода Bootstrap, основанного на многократной генерации выборок методом Монте-Карло. Анализ выполнялся в среде Jupyter Notebook с использованием языка программирования Python версии 3.11. Для учета множествен-

ных сравнений и контроля уровня ошибок первого рода применялась поправка Холма – Бонферрони. Результаты анализа представлены как средние значения, стандартные отклонения, а также скорректированные показатели статистической значимости ( $p$ -adj) после применения поправки Холма – Бонферрони. Статистически значимыми считались результаты с уровнем значимости  $p < 0,05$ .

### Результаты исследования и их обсуждение

Проведение биохимических исследований сыворотки крови у экспериментальных животных выявило изменения уровня мочевой кислоты в зависимости от условий эксперимента. В группе отрицательного контроля наблюдался наиболее низкий показатель анализа (рис. 1). У животных, подвергавшихся сочетанному воздействию стресса и консервантов, содержание мочевой кислоты оказалось повышенным. Статистический анализ подтвердил значимые различия между группой отрицательного контроля и другими группами ( $p = 0,001$ ). Наибольшее увеличение уровня мочевой кислоты было зафиксировано в группе «Консерванты» ( $p = 0,005$ ).

Таким образом, во всех экспериментальных группах (2–4) наблюдалось статистически значимое, по сравнению с группой 1, повышение уровня мочевой кислоты в сыворотке крови крыс. Известно, что мочевая кислота образуется в печени вследствие распада пуринов и нуклеинов. Вследствие того, что мочевая кислота утилизируется из организма преимущественно с мочой, повышение ее уровня может свидетельствовать о повреждении почек [13]. Следовательно, можно предположить, что воздействие как стресс-факторов, так и консервантов негативно отражается на функции почек.

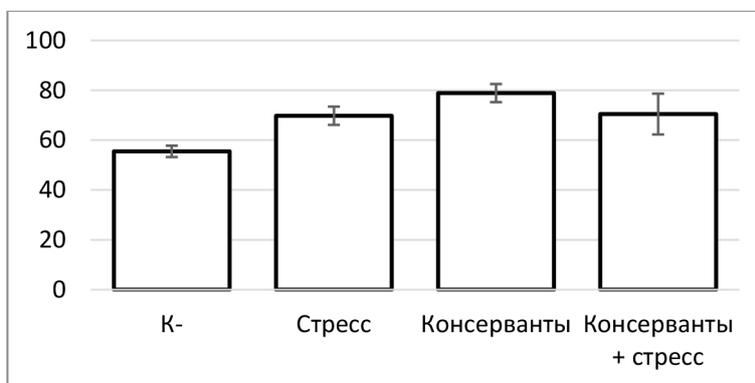


Рис. 1. Содержание мочевой кислоты в сыворотке крови крыс по группам

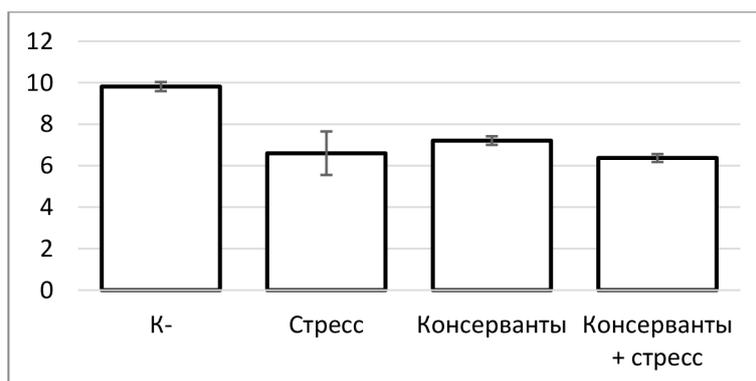


Рис. 2. Содержание мочевины в сыворотке крови крыс по группам

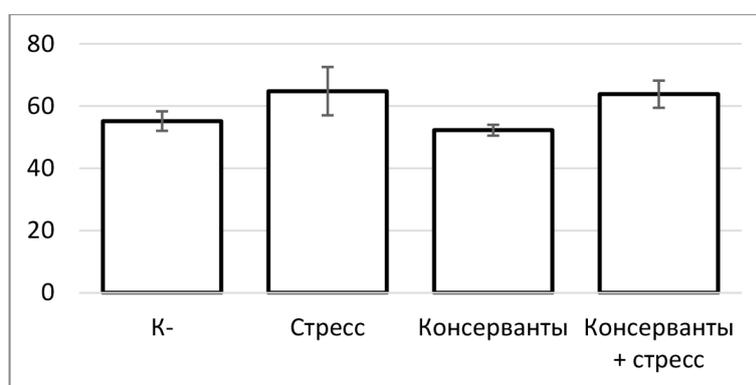


Рис. 3. Содержание креатинина в сыворотке крови крыс по группам

Наибольший уровень мочевины был отмечен в сыворотке крови крыс из группы отрицательного контроля (рис. 2). В остальных трех экспериментальных группах этот показатель оказался статистически значимо ниже ( $p = 0,009$ ). В группе, подвергнутой воздействию стресса, уровень мочевины был снижен по сравнению с контрольной группой. Аналогичная тенденция наблюдалась в группе, получавшей консерванты. При этом в последней группе уровень мочевины был статистически значимо ниже, чем в группе, получавшей только консерванты ( $p = 0,012$ ).

Мочевина – основной продукт распада белков, который удаляет из организма с мочой более токсичный азот. Пониженное содержание мочевины в сыворотке крови крыс под воздействием консервантов и стресс-факторов может свидетельствовать об их негативном влиянии на функциональное состояние печени, а не почек [14].

При анализе содержания креатинина в сыворотке крови крыс не было выявлено статистически значимых различий между группами. Минимальное значение наблюдалось в группе, получавшей только консер-

ванты, что статистически значимо не отличалось от уровня креатинина в контрольной группе ( $p > 0,05$ ). Максимальное значение показателя зафиксировано в группе, подвергнутой воздействию хронического стресса. В группе с сочетанным воздействием консервантов и стресса уровень креатинина был сопоставим с показателями группы, получавшей только консерванты ( $p > 0,05$ ). Отсутствие значимых изменений между группами в уровне креатинина в сыворотке крови крыс, вероятно, связано с незначительным повреждением печени и почек под воздействием изучаемых факторов [15].

Анализ результатов биохимических исследований не выявил значимых различий в отношении влияния на функциональное состояние почек стресс-факторов, пищевых консервантов, а также их сочетанного действия.

При проведении визуального осмотра почек животных группы 1 наблюдалась их типичная анатомическая форма, размеры и расположение в брюшной полости. Органы имели характерную бобовидную форму, гладкую блестящую поверхность красновато-коричневого цвета и упругую консистен-

цию. На верхнем полюсе каждой почки располагались надпочечники без видимых патологий. При разрезе капсулы почки ее края сходились, что указывало на сохранение нормального размера органа. Макроскопическое исследование почек животных экспериментальных групп также не выявило явных патологических изменений.

Гистологический анализ почечных срезов крыс группы К- продемонстрировал нормальную структуру тканей. Границы между корковым и мозговым веществом были хорошо различимы: структурные компоненты коркового вещества углублялись в мозговое вещество в виде колонок. Нефрон представлял собой эпителиальную трубочку, начинающуюся с капсулы почечного тельца и продолжающуюся в канальцы различного диаметра. В корковом слое были выявлены почечные тельца, проксимальные и дистальные канальцы (рис. 4, А). В тканях почек контрольной группы не было обнаружено нарушений реологии крови, дефектов ткани, кровоизлияний, воспалительных инфильтратов или очагов разрастания атипичной ткани.

При изучении срезов почек животных, подвергшихся стрессовым факторам, об-

щая структура органа оставалась без изменений и включала корковое и мозговое вещество. Строение сосудистых клубочков также соответствовало норме (рис. 4, В). В эпителии почечных канальцев были расположены клетки с эозинофильно окрашенной цитоплазмой и округлыми синими ядрами, при этом патологических изменений в ядрах не наблюдалось. Сосудистый клубочек имел округлую форму с умеренной степенью кровенаполнения, эндотелиальные клетки не показывали признаков отека или гиперплазии. Мезангий визуально не был утолщен, изменений в межклеточном веществе не было выявлено. Нарушений реологических свойств крови зафиксировано также не было.

У животных, получавших консерванты, почки также сохраняли общую структуру органа. Кровенаполнение обоих слоев было умеренным. Проксимальные и дистальные канальцы не демонстрировали признаков атрофии, их просветы были свободны от содержимого. Сосудистые клубочки имели округлую форму и умеренную степень кровенаполнения (рис. 4, С). Нарушений реологических свойств крови также не было зафиксировано.

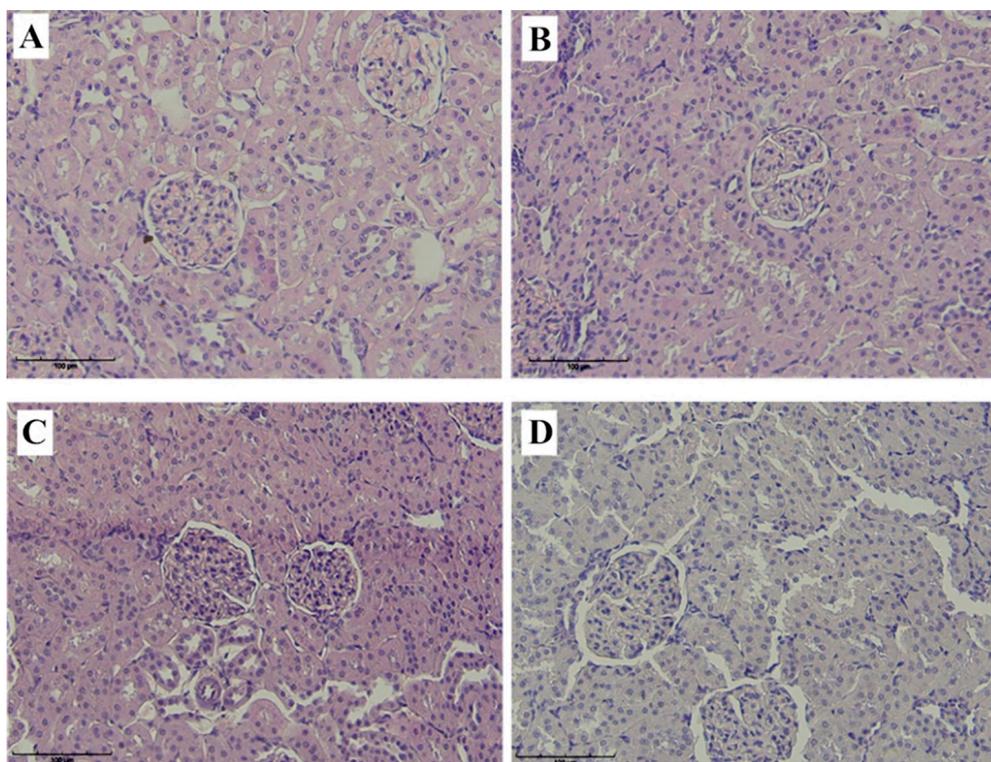


Рис. 4. Гистологические срезы почек крыс: А – группы отрицательного контроля; В – группы, подвергнутой влиянию стресса; С – группы, подвергнутой воздействию консервантов; D – группы, подвергнутой воздействию стресса и консервантов. Окраска гематоксилин-эозин. Увеличение  $\times 200$

В группе животных, подвергшихся воздействию консервантов на фоне стресса, почки также сохраняли общую структуру. Кровоснабжение коркового и мозгового слоев было умеренным. Корковое вещество почки включало многочисленные почечные тельца, большинство из которых имело ровную округлую форму, хотя были отмечены единичные случаи небольшой деформации и повышенной клеточности. Сосудистый клубочек демонстрировал умеренное кровенаполнение (рис. 4, D). Атрофии или дистрофии канальцев не выявлено, в их просветах отсутствовало содержимое.

Таким образом, проведенные биохимические и гистологические исследования показали, что длительное воздействие стресса и консервантов оказывает влияние на биохимические показатели сыворотки крови, но не вызывает значительных структурных изменений в почках. Уровень мочевой кислоты был статистически значимо повышен во всех экспериментальных группах по сравнению с контролем, что может указывать на потенциальное негативное влияние на функцию почек. При этом уровень мочевины, напротив, был снижен в экспериментальных группах, что может свидетельствовать о воздействии на печень. Гистологический анализ не выявил существенных патологических изменений в тканях почек, что позволяет предположить, что наблюдаемые биохимические сдвиги могут быть компенсированы на тканевом уровне. Однако для уточнения механизмов воздействия и возможных долгосрочных последствий необходимы дополнительные исследования, включающие углубленную морфометрию и анализ на разных уровнях доз при более длительных сроках воздействия.

### Заключение

Изолированное и сочетанное воздействие пищевых консервантов и стрессовых факторов на почки крыс не оказывает существенного влияния на функциональное состояние почек и не вызывает видимых структурных изменений в их тканях. Для уточнения полученных результатов необходимо продолжение исследований на более длительных сроках воздействия при разных уровнях доз.

### Список литературы

1. Широченко К.А. Пищевые добавки и их влияние на организм // Актуальные проблемы безопасности жизнедеятельности и здоровьесбережения: сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции (Комсомольск-на-Амуре, 25 ноября 2022 г.) / Под ред. А.Л. Марченко. Комсомольск-на-Амуре: Амурский гуманитарно-педагогический государственный университет, 2022. С. 83–85.
2. Jang W., Choi J., Yu H., Kim S., Ha S., Lee J. Determination of Naturally Derived Propionic, Benzoic, and Sorbic Acids in Seafood, Meats, and Fruits During Storage // Journal of Food Composition and Analysis. 2024. Vol. 137, Is. 8. P. 106897–106927.
3. Vojvodić S., Srdjenović Čonić B., Torović L. Benzoates and *in situ* formed benzene in food supplements and risk assessment // Food Additives & Contaminants: Part B. 2023. Vol. 16, Is. 4. P. 321–331.
4. Самойлов А.В., Сураева Н.М., Зайцева М.В., Петров А.Н. Оценка последствий токсических эффектов пищевых консервантов методом биотестирования // Российские сельскохозяйственные науки. 2021. № 4. С. 71–75.
5. Горохова Л.Г., Михайлова Н.Н., Уланова Е.В., Ядыкина Т.К. Оценка токсичности производных бензойной кислоты при внутрижелудочном поступлении в организм // Гигиена и санитария. 2020. Т. 99, № 7. С. 755–760. DOI: 10.47470/0016-9900-2020-99-7-755-760.
6. Deep P., Riddhi R. A review on *in vitro* genotoxic effects of food preservatives on human lymphocytes // Int. Res. J. Biological Sci. 2017. Vol. 6, Is. 7. P. 15–18.
7. Bruce M.A., Griffith D.M., Thorpe R.J. Jr. Stress and the kidney // Adv. Chronic Kidney Dis. 2015. Vol. 22, Is. 1. P. 46–53. PMID: PMC4871619.
8. Ozbek E. Induction of oxidative stress in kidney // Int J Nephrol. 2012. Vol. 2012, Is. 1. P. 465897. DOI: 10.1155/2012/465897.
9. Meuwese C.L., Carrero J.J. Chronic kidney disease and hypothalamic-pituitary axis dysfunction: the chicken or the egg? // Arch Med Res. 2013. Vol. 44, Is. 8. P. 591–600. DOI: 10.1016/j.arcmed.2013.10.009.
10. Jandric Z., Gregori C., Klopff E., Radolf M., Schüller C. Sorbic acid stress activates the *Candida glabrata* high osmolarity glycerol MAP kinase pathway // Front Microbiol. 2013. Vol. 26, Is. 4. P. 350. DOI: 10.3389/fmicb.2013.00350.
11. Kucukler S., Benzer F., Yildirim S., Gur C., Kandemir F.M., Bengu A.S., Ayna A., Caglayan C., Dortbudak M.B. Protective Effects of Chrysin Against Oxidative Stress and Inflammation Induced by Lead Acetate in Rat Kidneys: a Biochemical and Histopathological Approach // Biol Trace Elem Res. 2021. Vol. 199, Is. 4. P. 1501–1514. DOI: 10.1007/s12011-020-02268-8.
12. Matisz C.E., Badenhorst C.A., Gruber A.J. Chronic unpredictable stress shifts rat behavior from exploration to exploitation // Stress. 2021. Vol. 24, Is. 5. P. 635–644. DOI: 10.1080/10253890.2021.1947235.
13. Пятницкая П.И., Оттева Э.Н. Роль мочевой кислоты в развитии хронической болезни почек // Дальневосточный медицинский журнал. 2024. № 1. С. 61–71.
14. Савилов П.Н. Особенности кинетики мочевины в организме при хроническом воспалительном поражении печени // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2022. Т. 66, № 4. С. 122–131.
15. Slack A., Yeoman A. & Wendon J. Renal dysfunction in chronic liver disease // Crit Care. 2010. Is. 14. P. 214. DOI: 10.1186/cc8855.