



## ВЛИЯНИЕ 60-ТИ ДНЕВНОГО ВВЕДЕНИЯ БЕНЗОАТА НАТРИЯ НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ ЭНДОКРИНОЦИТОВ КОРКОВОГО ВЕЩЕСТВА НАДПОЧЕЧНЫХ ЖЕЛЕЗ КРЫС

В.Н. МОРОЗОВ, Е.Н. МОРОЗОВА

ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»,  
ул. Победы, д. 85, г. Белгород, 308015, Россия

**Аннотация. Цель исследования** – изучить влияние 60-ти дневного введения бензоата натрия на ультраструктуру эндокриноцитов коркового вещества надпочечных желез крыс. **Материалы и методы исследования.** В эксперименте участвовало 12 белых крыс самцов, разделенных на 2 группы: 1-я группа получала ежедневно внутривентриально 60 дней бензоат натрия из расчета 1000 мг/кг массы тела, а вторая – в аналогичных условиях 0,9% изотонический раствор натрия хлорида. Обработку образцов надпочечных желез проводили в соответствии с стандартным протоколом электронно-микроскопического исследования. **Результаты исследования.** У крыс экспериментальной группы выявлено диффузное расположение гетерохроматина в ядре эндокриноцитов всех зон коркового вещества, наличие электронно-плотных скоплений в митохондриях, слабое развитие агранулярной эндоплазматической сети, неровные контуры ядра, различимое перинуклеарное пространство (клубочковая и пучковая зоны), а также извилистые границы митохондрий (сетчатая зона). **Заключение.** 60-ти дневное введение бензоата натрия крысам оказывает влияние на ультраструктуру эндокриноцитов коркового вещества надпочечников в направлении угнетения их функционального состояния, что может быть результатом воздействия данной пищевой добавки на генетический материал клетки и, как следствие, на биосинтез белка.

**Ключевые слова:** надпочечные железы, ультраструктура, бензоат натрия.

## INFLUENCE OF 60-DAY ADMINISTRATION OF SODIUM BENZOATE ON THE ULTRASTRUCTURE OF ENDOCRINOCYTES OF THE RAT'S ADRENAL CORTEX

V.N. MOROZOV, E.N. MOROZOVA

FSAEI HI «Belgorod State National Research University», Pobedy street, 85, Belgorod, 308015, Russia

**Abstract. Aim of the research:** to study the effect of a 60-day administration of sodium benzoate on the ultrastructure of endocrinocytes of the rat's adrenal cortex. **Materials and methods of research:** The experiment involved 12 male white rats, divided into 2 groups: the group I received sodium benzoate intragastrically for 60 days at a dose of 1000 mg/kg of body weight; the group II received 0.9% saline solution under similar conditions. Adrenal gland samples were processed according to the standard protocol for electron microscopy. **Results:** In rats of the experimental group, a diffuse location of heterochromatin in the nucleus of endocrinocytes of all zones of the cortex, the presence of electron-dense clusters in mitochondria, poor development of the smooth endoplasmic reticulum, uneven contours of the nucleus, distinguishable perinuclear space (zona glomerulosa and zona fasciculata), and also winding borders of mitochondria (zona reticularis) are observed. **Conclusion:** 60-day administration of sodium benzoate to rats affects the ultrastructure of endocrinocytes of the adrenal cortex in the direction of inhibiting their functional state, which may be the result of the effect of this food additive on the genetic material of the cell and, as a result, on protein biosynthesis

**Key words:** adrenal glands, ultrastructure, sodium benzoate.

**Введение.** Надпочечники являются одним из эндокринных органов, подверженным химически-индуцированными воздействиями. В корковом веществе надпочечников поражения более часто выявляются в пучковой и сетчатой зонах, чем в клубочковой зоне [13].

*Бензоат натрия (E211)* является пищевой добавкой-консервантом, находящей широкое применение в пищевой и фармацевтической промышленности в связи со своим антибактериальным и противогрибковым действиями. Остается открытым вопрос о безопасности бензоата натрия в отношении здоровья человека – по одним данным он оказывает неблагоприятное влияние на функциональные показатели печени и почек, имеет мутагенное действие, вызывает аллергические реакции, нарушает память и внимание у детей, а по другим – используется в комплексной терапии ряда заболеваний, таких как шизофрения, болезнь Альцгеймера и печеночная энцефалопатия [15].

В связи с вышеизложенным актуальным является продолжение изучения влияния данной пищевой добавки на организм. В литературе отсутствуют сведения о электронно-микроскопических особенностях зон коркового вещества надпочечников на фоне длительного введения бензоата натрия.

**Цель исследования** – установить в эксперименте влияет ли 60-ти дневное введение бензоата натрия крысам на ультраструктуру эндокриноцитов зон коркового вещества надпочечников.

**Материалы и методы исследования.** Для достижения цели исследования были использованы белые половозрелые крысы самцы массой 200-250 г. Первая группа животных, состоящая из 6 особей внутрижелудочно ежедневно продолжительностью 60 дней получала 1 мл раствора бензоата натрия из расчета 1000 мг/кг массы тела (бензоат натрия, производитель *EastmanChemical B.V.*). Вторая группа (также 6 особей) служила контролем, где вместо бензоата натрия вводился 1 мл 0,9%-го изотонического раствора натрия хлорида. Содержание и манипуляции над животными проводились в соответствии с правилами содержания экспериментальных животных, установленной Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза. Протокол исследования утвержден на заседании комиссии по биоэтике ГУ «Луганский государственный медицинский университет им. Святителя Луки», протокол №2 от 25.03.2022 г. После завершения 60-ти дневного введения бензоата натрия животных вывели из исследования методом декапитации. Выделяли надпочечные железы, измельчали их на мелкие кусочки и далее подвергали обработке по стандартному протоколу для электронно-микроскопического исследования [12]. Полученные срезы подвергались фотографированию и последующему анализу.

**Результаты и их обсуждение.** Ультрамикроскопическое исследование надпочечных желез контрольной группы животных показало, что корковые эндокриноциты клубочковой зоны содержат ядро овальной или округлой формы с ровными контурами кариолемы. В кариоплазме выявляются одно или два ядрышка, эухроматин занимает большую часть ядра. Перинуклеарное пространство не выражено. Цитоплазма мелкозернистая, т.к. имеются рибосомы, расположенные между канальцами *агранулярной эндоплазматической сети* (АЭПС). Липидные включения единичные. Митохондрии располагаются по одиночке или группами, имеют на срезе трубчатые или сферические кристы.

У животных экспериментальной группы на электроннограммах корковые эндокриноциты клубочковой зоны содержат ядро округлой, реже овальной формы с неровными контурами. В кариоплазме выявляются одно или два ядрышка. Выявляются ядрышки, имеющие мелкоячеистое строение, гетерохроматин занимает большую часть ядра. Визуализируется перинуклеарное пространство. Цитоплазма наполнена округлой формы митохондриями, содержащими кристы в виде пузырьков. Ряд митондрий заполнен кристами, имеющим вид электронно-плотных глыбок или тяжей. Между митохондриями имеются единичные или расположенные группами небольшое количество липидных включений, АЭПС слабо визуализируются (рис. 1).

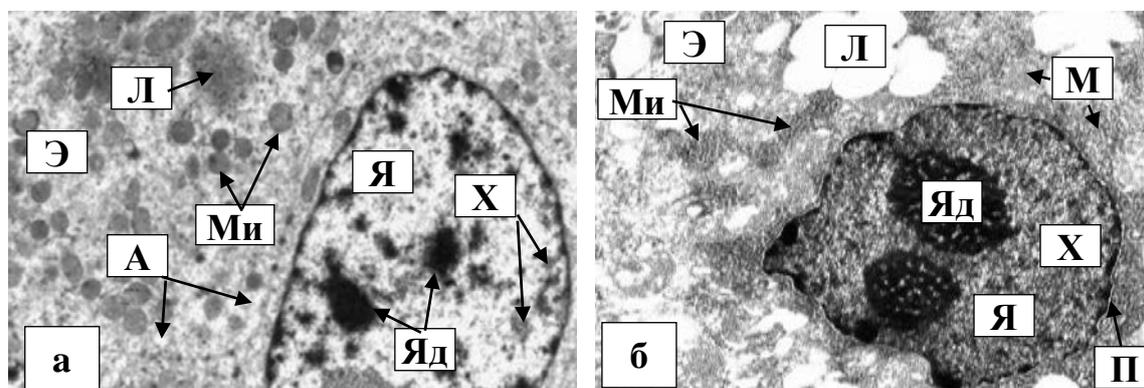


Рис. 1. Электронные микрофотографии эндокриноцитов клубочковой зоны коркового вещества надпочечных желез половозрелых крыс (а – контрольная группа, б – экспериментальная группа): Э – эндокриноцит, Я – ядро, Х – гетерохроматин, Яд – ядрышко, П – перинуклеарное пространство, М – митохондрии с везикулярными кристами, Ми – митохондрии с измененными кристами, Л – липидные включения, А – агранулярная эндоплазматическая сеть. Увеличение  $\times 8000$

В корковых эндокриноцитах пучковой зоны ядро круглой или овальной формы. В кариоплазме располагается преимущественно одно ядрышко, глыбки гетерохроматина, преимущественно, расположены под кариолемой, имеющей незначительный рельеф. В цитоплазме диффузно расположены округлой формы, разного диаметра митохондрии с округлыми кристами в сечении. Последние разделены канальцами АЭПС, что придает мелкоячеистый вид цитоплазме. В последней диффузно располагается умеренное количество липидных включений разного диаметра. Клетки могут быть с электронно-светлой и электронно-темной цитоплазмой.

У крыс экспериментальной группы на электроннограммах эндокриноциты пучковой зоны имеют ядро овальной или круглой формы с неровными границами. В нем выявляются одно или несколько ядрышек, некоторые из которых имеют мелкоячеистое строение. Конденсированный хроматин занимает большую часть ядра. На электроннограммах различимо пространство между наружной и внутренней мембранами ядра. В цитоплазме выявляются круглой формы митохондрии с везикулярными кристами или в ряде случаев с кристами, имеющим вид электронно-плотных глыбок или тяжей, единичные или в виде групп липидные включения. АЭПС слабо развита (рис. 2).

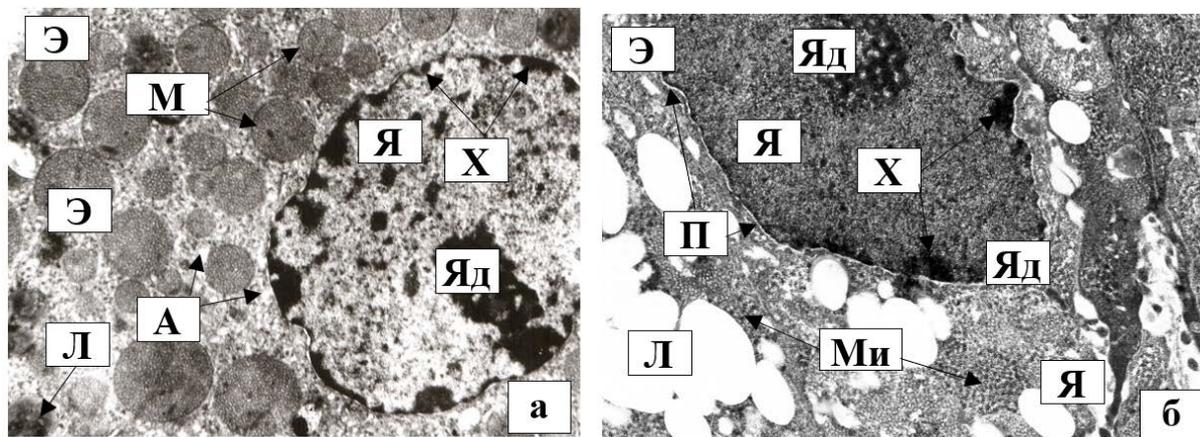


Рис. 2. Электронные микрофотографии эндокриноцитов пучковой зоны коркового вещества надпочечных желез половозрелых крыс (а – контрольная группа, б – экспериментальная группа): Э – эндокриноцит, Я – ядро, Х – гетерохроматин, Яд – ядрышко, П – перинуклеарное пространство, М – митохондрии с везикулярными кристами, Ми – митохондрии с измененными кристами, Л – липидные включения, А – агранулярная эндоплазматическая сеть. Увеличение  $\times 8000$

В сетчатой зоне адренокортикоциты имеют, преимущественно, округлое ядро, реже овальное с одним или двумя ядрышками. Глыбки гетерохроматина расположены под кариолеммой. В кариоплазме преобладает эухроматин. В цитоплазме визуализируется умеренное количество крупного размера митохондрий, расположенных группами или поодиночке, округлой формы с трубчатыми или в виде пузырьков в сечении кристами. Встречаются свободные рибосомы, а также единичные липидные включения. Умеренно развита АЭПС.

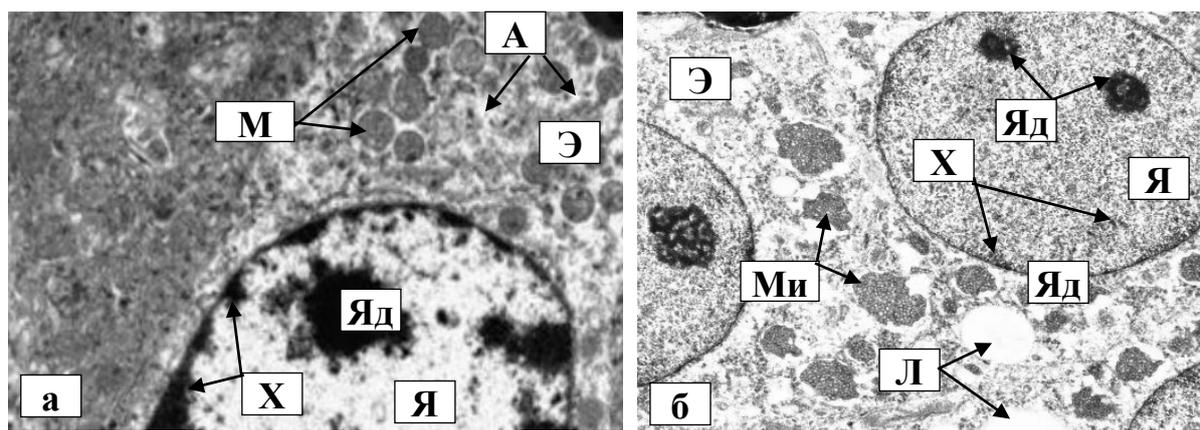


Рис. 3. Электронные микрофотографии эндокриноцитов сетчатой зоны коркового вещества надпочечных желез половозрелых крыс (а – контрольная группа, б – экспериментальная группа): Э – эндокриноцит, Я – ядро, Х – гетерохроматин, Яд – ядрышко, М – митохондрии с везикулярными кристами, Ми – митохондрии с неровными контурами, Л – липидные включения, А – агранулярная эндоплазматическая сеть. Увеличение  $\times 8000$

На электроннограммах крыс экспериментальной группы корковые эндокриноциты сетчатой зоны содержат ядро, преимущественно, округлой формы, в котором выявляется одно или два ядрышка (некоторые имеют мелкоячеистое строение). Гетерохроматин равномерно распределяется в кариоплазме. Ци-

топлазма содержит округлой или овальной формы с неровными контурами митохондрии, расположенные поодиночке на расстоянии друг от друга и содержащие кристы в виде пузырьков. Ряд митохондрий заполнен кристами, имеющим вид электронно-плотных глыбок. Между митохондриями имеются единичные липидные включения, а также слабо выраженные цистерны АЭПС (рис. 3).

Корковые эндокриноциты надпочечных желез крыс контрольной группы имеют типичное строение и соотносятся с результатами, полученными *S. Amany* (2019) and *S. Baimai* и др. (2021) [2, 4].

Согласно исследованиям *N. Hattangady* и др. (2012) синтез гормонов коры надпочечников осуществляется на основе холестерина (запас находится в липидных каплях или поступает извне). Процессы стероидогенеза осуществляют ферменты, расположенные в митохондриях и АЭПС [6].

Анализ литературы показал, что при введении повышенных доз натрия бензоата, по данным *J. Piper* и др. (2017) и *C. Saatci* и др. (2016) возникает повреждение генетического материала не только ядер эпителиоцитов печени животных, но и митохондрий [11, 14]. По данным *B. Elvan* и др. (2014), нарушения могут затрагивать и кристы митохондрий [5]. Это объясняет наличие в эпителиоцитах клубочковой и пучковой зон митохондрий с измененными кристами в виде электронно-плотных глыбок или тяжей на электроннограммах надпочечных желез экспериментальных крыс.

При этом, согласно работе *C. Molinaro* и др. (2021), мутации генетического материала могут нарушать синтез белка [10]. В свою очередь, исходя из материалов исследований *M. Atsushi* и др. (2022) и *T.J. Kirby* и др. (2018) белки цитоскелета и ядерного скелета, участвуя в механотрансдукции, воздействуют на перинуклеарное пространство и форму ядра, обеспечивают динамичность генетического материала. Так, гетерохроматин располагается на периферии, а эухроматин в центральных участках карิโอплазмы. Изменение в расположении хроматина влияет на транскрипцию и еще больше воздействует на биосинтез белка [3, 9]. Исследования *A.I. Gaziev* и др. (2014) указывают на то, что ДНК ядра отвечает за синтез белков как цитоплазмы, так и белков митохондрий, а ДНК митохондрий синтезирует белки окислительного фосфорилирования [7]. Данные исследования позволяют предположить, что ядро и митохондрии с неровными контурами, преобладание гетерохроматина в карิโอплазме (эндокриноциты коркового вещества), наличие различного перинуклеарного пространства (эндокриноциты клубочковой и пучковой зон), связано с нарушениями в биосинтезе белка секреторными клетками коркового вещества надпочечных желез экспериментальных животных.

*S.E. Ibekwe* и др. (2007) в своих исследованиях показывает, что воздействие бензоата натрия на крыс, повышается уровень  $Na^+$  в крови [8]. Увеличение  $Na^+$  в крови, согласно данным *N. Hattangady* и др. (2012) тормозит ренин-ангиотензин-альдостероновую систему и уменьшает количество субкапсулярных клеток надпочечников, экспрессирующих *CYP11B2*, снижая синтез альдостерона эпителиоцитами клубочковой зоны [6]. Также полученные ранее авторами данной статьи результаты свидетельствуют о снижении синтеза тироксина клетками щитовидной железы [1]. *F.E. Wondisford* (2015) в свою очередь указывает на прямую зависимость изменения уровня гормонов щитовидной железы и надпочечников [16]. Исходя из вышеизложенного наличие слабо развитой АЭПС и липидных включений, расположенных поодиночке или группами (депо накопления холестерина) в цитоплазме эндокриноцитов коркового вещества надпочечников могут косвенно свидетельствовать об уменьшении синтеза минералокортикоидов, глюкокортикоидов и андрогенов у экспериментальных животных.

**Заключение.** 60-ти дневное введение бензоата натрия крысам оказывает влияние на ультраструктуру эндокриноцитов коркового вещества надпочечников в направлении угнетения их функционального состояния, что может быть результатом воздействия данной пищевой добавки на генетический материал клетки и, как следствие, на биосинтез белка.

### Литература

1. 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. Т. 19, №1. С. 162–166. DOI: 10.19163/1994-9480-2022-19-1-162-166.
2. Amany S. Histological study of the effect of tributyltin on the adrenal cortical cells of adult male albino rats // Egyptian Journal of Histology. 2019. DOI: 10.21608/ejh.2019.13126.1127.
3. Atsushi M., Mohammad R.K.M. On the nuclear pore complex and its emerging role in cellular mechanotransduction // APL Bioengineering. 2022. Vol. 6. P. 011504. DOI: 10.1063/5.0080480.
4. Baimai S., Bhanichkul P., Lanlua P., Niyomchan A. Modifications of adrenal gland ultrastructure in streptozotocin-induced diabetic model rats // Int. J. Morphol. 2021. Vol. 39, N1. P. 109–115.
5. Elvan B., Tülin A. Effects of Sodium Benzoate and Citric Acid on Serum, Liver and Kidney Tissue Total Sialic Acid Levels: An Ultrastructural Study // Journal of Applied Biological Sciences. 2014. Vol. 8, N2. P. 9–15.

6. Hattangady N., Olala L., Bollag W.B., Rainey W.E. Acute and Chronic Regulation of Aldosterone Production // *Mol Cell Endocrinol.* 2012. Vol. 350, N2. P. 151–162.
7. Gaziev A.I., Abdullaev S., Podlutsky A. Mitochondrial function and mitochondrial DNA maintenance with advancing age // *Biogerontology.* 2014. Vol. 15. P. 417–438. DOI: 10.1007/s10522-014-9515-2.
8. Ibekwe S.E., Uwakwe A.A., Monanu M.O. Effect of oral intake of sodium benzoate on some haematological parameters of wistar albino rats // *Scientific Research and Essay.* 2007. Vol. 2, N1. P. 006–009.
9. Kirby T.J., Lammerding J. Emerging views of the nucleus as a cellular Mechanosensor // *Nature Cell Biology.* 2018. Vol. 20. P. 373–381. DOI: 10.1038/s41556-018-0038-y.
10. Molinaro C., Martoriati A., Cailliau K. Proteins from the DNA Damage Response: Regulation, Dysfunction, and Anticancer Strategies // *Cancers (Basel).* 2021. Vol. 13, N15. P. 3819. DOI: 10.3390/cancers13153819.
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. Vol. 16, N5. P. 868–880. DOI: 10.1111/1541-4337.12284.
12. Reynolds E.S. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy // *Journal of cell biology.* 1963. Vol. 17. P. 208–212.
13. Rosol T.J., Yarrington J.T., Latendresse J., Capen C.C. Adrenal gland: structure, function, and mechanisms of toxicity // *Toxicol Pathol.* 2001. Vol. 29, N1. P. 41–48. DOI: 10.1080/019262301301418847.
14. Saatcia C., Erdemb Y., Bayramova R., Akalın H., Taşçıoğlu 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. Vol. 30, N6. P. 1179–1183. DOI: 10.1080/13102818.2016.1224979.
15. Walczak-Nowicka L.J., Herbet M. Sodium Benzoate-Harmfulness and Potential Use in Therapies for Disorders Related to the Nervous System: A Review // *Nutrients.* 2022. Vol. 14, N7. P. 1497. DOI: 10.3390/nu14071497.
16. Wondisford F.E. A direct role for thyroid hormone in development of the adrenal cortex // *Endocrinology.* 2015. Vol. 156, N6. P. 1939–1940. DOI: 10.1210/en.2015-1351.

### References

1. Morozov VN, Morozova EN. Tverskoy AV, Zabolotnaya SV, Tverskaya AV. Ul'tramikroskopicheskie osobennosti stroeniya tirotsitov shchitovidnoy zhelezy krysa posle 60-dnevnoy intoksikatsii benzoatom natriya [Ultramicroscopic features of the structure of thyroid thyrocytes of rats after 60-day intoxication with sodium benzoate]. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta.* 2022;19(1):162-6. DOI: 10.19163/1994-9480-2022-19-1-162-166. Russian.
2. Amany S. Histological study of the effect of tributyltin on the adrenal cortical cells of adult male albino rats. *Egyptian Journal of Histology.* 2019. DOI: 10.21608/ejh.2019.13126.1127.
3. Atsushi M, Mohammad RKM. On the nuclear pore complex and its emerging role in cellular mechanotransduction. *APL Bioengineering.* 2022;6:011504. DOI: 10.1063/5.0080480.
4. Baimai S, Bhanichkul P, Lanlua P, Niyomchan A. Modifications of adrenal gland ultrastructure in streptozotocin-induced diabetic model rats. *Int. J. Morphol.* 2021;39(1):109-15.
5. Elvan B, Tülin A. Effects of Sodium Benzoate and Citric Acid on Serum, Liver and Kidney Tissue Total Sialic Acid Levels: An Ultrastructural Study. *Journal of Applied Biological Sciences.* 2014;8(2):9-15.
6. Hattangady N, Olala L, Bollag WB, Rainey WE. Acute and Chronic Regulation of Aldosterone Production. *Mol Cell Endocrinol.* 2012;350(2):151-62.
7. Gaziev AI, Abdullaev S, Podlutsky A. Mitochondrial function and mitochondrial DNA maintenance with advancing age. *Biogerontology.* 2014;15:417-38. DOI: 10.1007/s10522-014-9515-2.
8. Ibekwe SE, Uwakwe AA, Monanu MO. Effect of oral intake of sodium benzoate on some haematological parameters of wistar albino rats. *Scientific Research and Essay.* 2007;2(1):006-9.
9. Kirby TJ, Lammerding J. Emerging views of the nucleus as a cellular Mechanosensor. *Nature Cell Biology.* 2018;20:373-81. DOI: 10.1038/s41556-018-0038-y.
10. Molinaro C, Martoriati A, Cailliau K. Proteins from the DNA Damage Response: Regulation, Dysfunction, and Anticancer Strategies. *Cancers (Basel).* 2021;13(15):3819. DOI: 10.3390/cancers13153819.
11. 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. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.* 2017;16(5):868-80. DOI: 10.1111/1541-4337.12284.
12. Reynolds ES. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *Journal of cell biology.* 1963;17:208-12.

13. Rosol TJ, Yarrington JT, Latendresse J, Capen CC. Adrenal gland: structure, function, and mechanisms of toxicity. *Toxicol Pathol.* 2001;29(1):41-8. DOI: 10.1080/019262301301418847.

14. Saatcia C, Erdemb Y, Bayramova R, Akalin H, Taşçıoğlu 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):1179-83. DOI: 10.1080/13102818.2016.1224979.

15. Walczak-Nowicka LJ, 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.

16. Wondisford FE. A direct role for thyroid hormone in development of the adrenal cortex. *Endocrinology.* 2015;156(6):1939-40. DOI: 10.1210/en.2015-1351.

---

**Библиографическая ссылка:**

Морозов В.Н., Морозова Е.Н. Влияние 60-ти дневного введения бензоата натрия на ультраструктуру эндокриноцитов коркового вещества надпочечных желез крыс // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2023. №1. Публикация 3-11. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2023-1/3-11.pdf> (дата обращения: 17.02.2023). DOI: 10.24412/2075-4094-2023-1-3-11. EDN UREPYV\*

**Bibliographic reference:**

Morozov VN, Morozova EN. Vliyanie 60-ti dnevnogo vvedeniya benzoata natriya na ul'trastrukturu endokrinotsitov korkovogo veshchestva nadpochechnykh zhelez krys [Influence of 60-day administration of sodium benzoate on the ultrastructure of endocrinocytes of the rat's adrenal cortex]. *Journal of New Medical Technologies, e-edition.* 2023 [cited 2023 Feb 17];1 [about 6 p.]. Russian. Available from: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2023-1/3-11.pdf>. DOI: 10.24412/2075-4094-2023-1-3-11. EDN UREPYV

\* номера страниц смотреть после выхода полной версии журнала: URL: <http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2023-1/e2023-1.pdf>

\*\*идентификатор для научных публикаций EDN (eLIBRARY Document Number) будет активен после загрузки полной версии журнала в eLIBRARY