

**ВПЛИВ КОНСЕРВАНТІВ ТА АЗОБАРВНИКІВ  
НА ОРГАНИ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ**

Полтавський державний медичний університет (м. Полтава, Україна)

yachmen.anastasiya@gmail.com

*Нітрати та азобарвники широко використовуються у харчовій промисловості і є типовими ксенобіотиками, що залучаються мікрофлорою людини і тварин у метаболічні процеси. Основним місцем утворення реактивних сполук є шлунково-кишковий тракт – центральний орган певних аспектів хімічної біології і фізіології харчових добавок.*

*Метою роботи було встановити біологічні ефекти нітриту натрію та Ронсеау 4R на органи шлунково-кишкового тракту.*

*Проведений аналіз літературних джерел стосовно шкідливої дії нітриту натрію на шлунково-кишковий тракт дозволив виділити такі фактори їх несприятливої дії – зниження активності ферментів і загальної АТФ-ази, що знижує всмоктування поживних речовин, особливо цукрів і амінокислот, епітеліальними клітинами у тонкому кишечнику. Це зменшує запас основних будівельних блоків тіла, що, в свою чергу, сильно ускладнює вироблення енергії. Зміни активності ферментів вуглеводного обміну впливають на утилізацію глюкози ентероцитами і порушують глікогеногенез в кишечнику, який грає ключову роль в енергетичному гомеостазі. Зниження антиоксидантної здатності ентероцитів через порушення його ферментативних і неферментативних компонентів збільшує сприйнятливність до окислювальної дії. Ураження ДНК різної природи можуть викликати генотоксичні і мутагенні ефекти, що може привести до розвитку раку. Синтетичні барвники, зокрема Ронсеау 4R, небезпечний для здоров'я як тварин, так і людини при споживанні у великій кількості або протягом тривалого періоду.*

**Ключові слова:** нітрит натрію, Ронсеау 4R, органи шлунково-кишкового тракту.

**Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.** Робота є фрагментом науково-дослідної роботи «Закономірності морфогенезу органів, тканин та судинно-нервових утворень в нормі, при патології та під впливом зовнішніх факторів», № державної реєстрації 0118U004457.

**Вступ.** Нітрати, будучи типовими ксенобіотиками, залучаються мікрофлорою людини і тварин в метаболічні процеси, в ході яких відновлюються спочатку до нітриту, а потім до катіона амонію, через освіту ряду проміжних продуктів [1]. Нітрати і нітрити (NOS) при хронічному надходженні в великих кількостях призводять до утворення метгемоглобіну, в результаті чого може розвинутися хронічна аліментарна нітратно-нітритна метгемоглобінемія [2]. Таким чином, основним місцем утворення реактивних сполук є шлунково-кишковий тракт (ШКТ) – центральний орган певних аспектів хімічної біології і фізіології цих сполук [3].

Ponceau 4R (E124) (синоніми: Acid Red 18, New Coccine) – це сульфований моноазобарвник, що включає переважно тринатрієвий 2-гідрокси-1-(4-сульфонато-1-нафтилазо) нафталін-6,8-дисульфонат (хімічна формула C<sub>20</sub>H<sub>11</sub>N<sub>2</sub>Na<sub>3</sub>O<sub>10</sub>S<sub>3</sub>, номер CAS 2611-82-7, молекулярна маса 604,48). Ронсеау 4R виготовляється шляхом з'єднання діазотованої нафтіонової кислоти з кислотою G (2-нафтол-6,8-дисульфонової кислоти) і перетворення продукту сполучення в тринатрієву сіль і випускається у вигляді водорозчинного червоного порошку або гранул [4].

В даний час Ронсеау 4R дозволений як харчова добавка в Європейському Союзі (ЄС) відповідно до Додатку II та Додатку III до Регламенту (ЄС) №1333/2008 «Про харчові добавки та специфічні критерії чистоти», а також визначені в Регламенті Комісії (ЄС) №231/2012.5. максимально дозволені рівні використання для Ронсеау 4R наведені для 26 категорій продуктів харчування (діапазон 1–200 мг/кг). Також Європейським агентством з безпеки продуктів харчування прийнято постанову про зниження допустимого доbowого надходження для барвника E124 (яскраво-червоний 4R) від 4 мг/кг до 0,7 мг/кг маси тіла на добу [5]. Однак необхідно розробити надійний і швидкий аналітичний метод для моніторингу Ронсеау 4R через загрозу його потенційно шкідливого ризику [6, 7].

**Метою** роботи було встановити біологічні ефекти нітриту натрію та Ронсеау 4R на органи шлунково-кишкового тракту.

NOS містяться у великій кількості в тканинах кишечника. NO утворюється також в просвіті кишечника і на поверхні слизової оболонки [8]. Шлях нітрат-нітрит-NO стає важливим посередником регуляції кровотоку, сигналізації клітин, енергетики та реакції тканин на гіпоксію [9].

Нітрати мають істотний вплив на обмін натрію, калію і води в шлунково-кишковому тракті організму людини і тварин, який одним з перших пошкоджується при дії нітратної інтоксикації [10]. Нітрити, взаємодіючи з гемоглобіном, утворюють метгемоглобін, нездатний переносити кисень. В результаті зменшується киснева ємність крові і розвивається гіпоксія. Для утворення 2000 мг метгемоглобіну достатньо 1 мг нітриту натрію. У нормальному стані у людини міститься в крові близько 2% метгемоглобіну. Якщо вміст метгемоглобіну зростає до 30%, то з'являються симптоми гострого отруєння (задишка, тахікардія, ціаноз, слабкість, головний біль), при 50% метгемоглобіну може настати смерть. Дослідниками США, Німеччини, Чехословаччини, Росії встановлено, що нітрати і нітрити крім метгемоглобінемії також метаболічні порушення, рак шлунка, негативно впливають на нервову і серцево-судинну системи, на розвиток ембріонів [11-13]. Надходячи в шлунок, нітрати взаємодіють з

білками їжі, відбувається утворення нітрозамінів, що володіють вираженими канцерогенними властивостями. Тому, якщо до 60-х років ХХ століття головною небезпекою непомірного використання нітратних добрив вважалася метгемоглобінемія, то зараз більшість дослідників вважають головною небезпекою рак, в першу чергу рак шлунково-кишкового тракту. У присутності нітритів канцерогенні нітрозаміди і нітрозаміни можуть синтезуватися практично з будь-яких продуктів як у шлунку, так і в кишечнику. В ході епідеміологічних досліджень було кілька доказів зв'язку (I) дієтичного нітриту та раку шлунка та (II) поєднання нітриту та нітрату з обробленого м'яса та раку прямої кишки. Існують докази, що пов'язують попередньо сформований NDMA та колоректальний рак [14, 15].

Існує гіпотеза про виникнення раку шлунку. За цією гіпотезою, в перші десятиліття життя хімічний канцероген, ймовірно нітросполуки, проникає в клітини верхньої частини травного тракту через пошкодження захисної слизової оболонки і викликає мутацію клітин. Мутовані клітини виробляють слиз іншого складу, рН підвищується, у верхню частину шлунково-кишкового тракту проникають мікроорганізми, що відновлюють нітрати в нітрити, утворюються додаткові нітрозоз'єднання. Атрофія і метаплазія слизової шлунка наростає протягом 30-50 років, поки у деяких людей з даною патологією не виникають злаякісні пухлини. У Колумбії виявлено прямий взаємозв'язок між частотою захворювання на рак шлунка, атрофічним гастритом і високим вмістом нітратів у воді колодязів та сечі жителів. У різних областях Чилі та Угорщини виявлений зв'язок між кількістю застосовуваних азотних добрив і смертністю від раку шлунка. В Англії (м. Уорксоп) лікарі вважають причиною високої захворюваності на рак велику кількість нітратів у питній воді – 90 мг в літрі [13].

Процес утилізації нітратів організмом людини і тварин ще вкрай недостатньо вивчені. Загальноприйнято, що організм тварини не здатний відновлювати нітрати, оскільки тканини тварин не містять нітрат-і нітрит відновлюючих ферментів. Це справедливо лише відносно організму тварини в чистому вигляді. Реально ж організм людини і будь-якої тварини слід розглядати як комплексну систему «макроорганізм + мікроорганізми, які населяють організм господаря» [16].

Встановлено, що введення нітриту натрію пригнічує активність ферментів антиоксидантного захисту щурів – рівень каталази і СОД, знижує рівень АТФ і істотно підвищує кількість ДК в еритроцитах [17, 18].

У крові отруєних щурів виявляється підвищена активність УРН, АлАТ, АсАТ і ЛФ, в тканинах печінки підвищується вміст ДК і ОШ на тлі зниження активності каталази. У головному мозку отруєних щурів знижується активність МАО, СДГ і каталази, збільшується кількість ДК [19].

Привертає увагу вчених дослідження динаміки активності вільнорадикальних процесів в органах щурів різних вікових груп після інтоксикації нітритом натрію [20].

Введення нітриту натрію дозозалежним чином здатне викликати клітинну і генетичну токсичність і викликати порушення біохімічного аналізу, окисного і антиоксидантного балансу і метгемоглобінемії [21].

Так, у одній роботі вивчався ефект введення одноразової гострої пероральної дози  $\text{NaNO}_2$  на кишечник

щурів. Тварин випадковим чином розподіляли на чотири групи і вводили одноразові дози 20, 40, 60 та 75 мг  $\text{NaNO}_2$  / кг маси тіла. У всіх оброблених групах спостерігалось дозозалежне зниження активності ферментів мембранних мембран кисти, збільшення перекисного окислення ліпідів, окислення білків, рівня пероксиду водню та зниження вмісту тіолу. Також була змінена активність різних метаболічних та антиоксидантних захисних ферментів.  $\text{NaNO}_2$  викликав дозозалежне збільшення пошкодження ДНК та зшивання ДНК-білка. Гістопатологічні дослідження показали помітне морфологічне пошкодження клітин кишечника, яке може бути обумовлене окислювальним стресом, спричиненим нітритами, безпосередньо дією нітрит-аніону або хімічною модифікацією проміжними речовинами реакції [22]. Що в подальшому підтверджено іншими дослідженнями [23, 24].

Надходження нітратів в організм людини зв'язується з небезпекою їх біотрансформації. Нітрати за участю нормальної мікрофлори кишечника і ферментів відновлюються до нітритів. Надходження нітриту пероральним шляхом призводить до його швидкої абсорбції через шлунково-кишковий тракт і потрапляння в кровотік, звідки він стає доступним для інших тканин. Потрапивши всередину клітини, він легко перетворюється в нітрати і / або NO в результаті процесів клітинного окислення / відновлення [25]. Активні форми кисню (АФК), які генеруються внутрішньоклітинними окислювально-відновними реакціями, разом з утворенням шкідливих сполук, таких як нітрилхлорид, призводять до цитотоксичності і пошкодження тканин. Спостерігалось підвищення окислення білка в слизовій оболонці шлунка тварин, які отримували  $\text{NaNO}_2$ . Також сам нітрит-аніон може безпосередньо взаємодіяти з ферментами, що призводить до їх пригнічення. Ця ймовірність була виведена з експериментів *in vitro*, проведених з ферментами [22]. Клітини епітелію кишечника постійно піддаються дії ксенобіотиків, що робить їх сприйнятливими до окислювальної дії та пошкодження. Як захист ентероцити добре оснащені міцними ферментативними та неферментативними антиоксидантними захисними речовинами, які важливі для їх нормального функціонування [26]. Доведено, що тіоловий статус слизової оболонки кишечника має залежність від введення  $\text{NaNO}_2$ . Встановлено, що активність усіх основних антиоксидантних захисних ферментів знижується залежно від дози у всіх групах, які отримували  $\text{NaNO}_2$ , порівняно з контролем [22]. Це підтверджено іншим дослідженням, згідно якого введення  $\text{NaNO}_2$  призвело до дозозалежного збільшення рівня  $\text{H}_2\text{O}_2$ , нерадикальної АФК.  $\text{H}_2\text{O}_2$  може генерувати значно більш руйнуючий гідроксильний радикал при реакції з перекисними металами, такими як залізо. Збільшення перекисного окислення ліпідів можна пояснити збільшенням рівнів супероксидного радикала та  $\text{H}_2\text{O}_2$ , оскільки активність ферментів, які використовують їх як субстрати, СОД та КАТ, була знижена. У групі з найвищою дозою  $\text{NaNO}_2$  спостерігалось дворазове збільшення вмісту білка карбонілу. Раніше повідомлялося про окислення та нітрування білка, викликане  $\text{NaNO}_2$  [27]. Інші автори теж зазначають, що зниження вмісту GSH та пригнічення антиоксидантних ферментів можуть погіршити антиоксидантну силу клітин. Дозозалежне зниження антиоксидантної здатності спо-

стерігалось у всіх групах, які отримували  $\text{NaNO}_2$ . Це настійно свідчить про окислювальну шкоду  $\text{NaNO}_2$  та пригнічення ендогенної системи захисту клітини. Знижена антиоксидантна здатність зробить клітини більш сприйнятливими до окислювального ураження АФК, оскільки здатність гасіння АФК буде сильно порушена. Морфологічні зміни епітеліальних клітин кишечника вивчали шляхом мікроскопічного дослідження забарвлених зрізів дванадцятипалої кишки контрольної групи і груп, оброблених  $\text{NaNO}_2$ . У групах з більш високими дозами помітні зміни були очевидні, включаючи лімфоцитарну інфільтрацію і застій у власній пластинці і вогнищевий некроз ентероцитів, розташованих в апікальній області ворсинок [28].

Стан оксидативного стресу вважається основним етіологічним фактором ряду кишкових захворювань. Автори доводять, що введення нітриту викликає помітні зміни різних біохімічних показників і морфології клітин кишечника щурів, що, в свою чергу, може вплинути на загальну фізіологію об'єктів [29]. Огляд шкідливого впливу  $\text{NaNO}_2$  на клітини шлунково-кишкового тракту, представлений в літературних джерелах, допомагає більш детально розшифрувати механізм токсичності нітриту, зрозуміти роль, яку нітрит грає в розвитку раку та інших патологій, а також у виборі захисних / терапевтичних агентів для протидії його згубним ефектам [30].

Ponceau 4R попередньо оцінювався Спільним комітетом експертів FAO / WHO з харчових добавок (JECFA) у 1983 році та Науковим комітетом ЄС з питань продовольства (SCF) у 1984 році. У 2009 році група EFSA з харчових добавок та поживних джерел, доданих до їжі (ANS), прийняла висновок щодо повторної оцінки Ponceau 4R як харчової добавки (EFSA ANS Panel, 2009) [31].

Панель EFSA щодо переоцінки Ponceau 4R (E 124) як харчової добавки на запит Європейської Комісії включала дослідження, в якому повідомлялось про вплив на міграцію ядерної ДНК у миші *in vivo*. Хоча, за його визначенням, споживання Ponceau 4R в щоденному раціоні набагато нижче рекомендованого безпечного значення (SSV), який становить приблизно 205 мг / кг маси тіла / день [32]. Негативні результати паралельних досліджень генотоксичності Ponceau 4R (опубліковані окремо) узгоджуються з відсутністю генотоксичності даного азобарвника, що використовується як харчовий барвник [33].

Інше дослідження щодо нейро-поведінкових ефектів доводить, що вплив суміші, що включає Ponceau 4R, призводить до посилення гіперактивності у 3-річних дітей [34]. Ґрунтуючись на цих дослідженнях Група дійшла висновку, що при максимальному рівні оцінки споживання для дорослих з високим процентилем (97,5) та для дітей від 1 до 10 років у середньому та високими процентиллями (95/97,5) зазвичай перевищують ADI навіть у уточнених оцінках споживання, що було підтверджено також іншими дослідженнями, в яких підкреслювався згубний вплив сумішей барвників на поведінку дітей, зокрема пов'язаний з етіологією певної дитячої гіперактивності і труднощів з навчанням [35]. Більше того, результати показують, що пренатальний вплив AFCA може призводити до залежних від статі змін в передачі глутаматергічних сигналів, які можуть тривати і в підлітковому віці [36]. В подальших дослідженнях Панель FEEDAP зазначає,

що деякі чутливі особи можуть мати побічні реакції на пероральні дози Ponceau 4R навіть у межах ADI 0,7 мг / кг маси тіла [37-39].

Нами також доведений негативний вплив Ponceau 4R на адаптивні реакції щурів у вигляді наростаючої тривоги, приступів паніки; спостерігається притуплення адаптивних реакцій, зниження активності та порушення емоційного стану [40].

Зазначають, що Ponceau 4R збільшує утворення F2-ізопространів з нейтрофілів крові при всіх досліджуваних концентраціях, таким чином провокуючи високу здатність викликати прозапальні реакції *in vitro*, що свідчить про потенційний ризик для здоров'я [41].

Інше дослідження базується на ілюстрації ефектів впливу Ponceau 4R на деякі біохімічні та гістопатологічні параметри у щурів. Результати показали значне збільшення ( $P < 0,05$ ) концентрації сечовини в сироватці (мг/дл) в SG і PG в порівнянні з CG, а також значне збільшення AST і ALT в порівнянні з CG. Гістологічне дослідження показало жирову дегенерацію печінки (SG), (PG) показала дегенерацію вакуолей з застоєм в центральній вені печінки, в той час як нирки показали дегенерацію каналців (нефрит) [42]. Інші автори, спираючись на наукові дослідження зазначають, що існує зв'язок між E124 і виникненням пухлин [43].

Вивчався вплив Ponceau 4R на дихальну систему. Аналіз розподілу за розміром частинок трьох партій Ponceau 4R показав велику частку частинок, що вдихаються (до 30% (об/об)  $\leq 10$  мкм). Таким чином потрапляння Ponceau 4R при вдиху вважається небезпечним [44]. Подальша інформація про інгаляційну токсичність Ponceau 4R підтверджує небезпечність такого впливу [45]. За відсутності даних не можна зробити висновок щодо потенціалу подразнення Ponceau 4R для шкіри чи очей. Як немає переконливих доказів того, що вплив Ponceau 4R перорально або через шкіру викликає сенсibiliзацію у людей, хоча його вживання може погіршити попередні алергічні стани у деяких осіб, особливо у дітей [45], а також у осіб групи ризику (31%), та у осіб з atopією 38% [46].

Слід зауважити, що в ході аналізу сучасної літератури не було виявлено досліджень що до впливу харчового барвника Ponceau 4R на шлунок щурів. В попередніх дослідженнях повідомлялось, що азобарвники, які використовуються як харчові добавки, спричиняють специфічне пошкодження ДНК товстої кишки у мишей. Однак у щурів жоден з барвників не пошкодив ДНК. Азобарвники зазнають метаболічного скорочення в товстій кишці, яка аддуктована до ДНК. Беручи до уваги широкий діапазон доз та час відбору проб, які добре покривають час проходження до товстої кишки, щури можуть бути нечутливими до цих пошкоджень ДНК, викликаних азобарвником [47].

Ponceau 4R знижується *in vitro* вмістом сліпої кишки щура. Згідно досліджень, щури виділяють 30-45% внутрішньовенної дози в незміненому вигляді з жовцю протягом шести годин [48]. У дослідженнях абсорбції з ізольованих петель тонкої кишки у щурів, що містять 50, 500 або 5000 ppm Ponceau 4R, не було виявлено значної абсорбції [49]. В ході тестування на цитотоксичність, Ponceau 4R був оцінений як помірно токсичний [50].

**Висновки.** Аналізуючи дані літератури стосовно шкідливої дії нітриту натрію на шлунково-кишковий тракт, можна виділити такі фактори: зниження ак-

тивності ферментів ВВМ і загальної АТФ-ази знижує всмоктування поживних речовин, особливо цукрів і амінокислот, епітеліальними клітинами тонкого кишечника. Це зменшує запас основних будівельних блоків тіла, що, в свою чергу, сильно ускладнює вироблення енергії. Зміни активності ферментів вуглеводного обміну впливають на утилізацію глюкози ентероцитами і порушують глюконеогенез в кишечнику, який грає ключову роль в енергетичному гомеостазі. Зниження антиоксидантної здатності ентероцитів через порушення його ферментативних і нефермен-

тативних компонентів збільшує сприйнятливості до окислювальної дії. Ураження ДНК різної природи можуть викликати генотоксичні і / або мутагенні ефекти, що може привести до розвитку раку. Синтетичні барвники, зокрема Ронсеау 4R, небезпечний для здоров'я як тварин, так і людини при споживанні у великій кількості або протягом тривалого періоду.

**Перспективи подальших досліджень.** В подальшому планується встановити основні структурні зміни у стінці шлунка щурів під впливом комплексу харчових добавок.

### Література

- Proidenko IV. Metabolizm nitrativ ta nitrytiv. Zbirnyk naukovykh prats z aktualnykh problem ekonomichnykh nauk Naukovi doslidzhennia, vidkryttia ta rozvytok tekhnologii v suchasni nautsi; 2019 Kvit 19-20; Rivne; 2019 s. 31-33. [in Ukrainian].
- Ma L, Hu L, Feng X, Wang S. Nitrate and Nitrite in Health and Disease. *Aging Dis.* 2018 Oct;9(5):938-945. DOI: 10.14336/AD.2017.1207.
- Lundberg JO, Gladwin MT, Ahluwalia A, Benjamin N, Bryan NS, Butler A, et al. Nitrate and nitrite in biology, nutrition and therapeutic. *Nat Chem Biol.* 2009 Dec;5(12):865-9. DOI: 10.1038/nchembio.260.
- Motarjemi Y, Moy G, Todd E. *Encyclopedia of Food Safety.* 1st Edition. Elsevier Inc: Academic Press; 2013. 2304 p.
- European Food Safety Authority. Refined exposure assessment for Ponceau 4R (E 124). *EFSA Journal.* 2015 Apr 21;13(4):4073. DOI: 10.2903/j.efsa.2015.4073.
- Dong Y, Zhang J, Xing Y, Song Z, Wang Y, Meng M, et al. Quantification of Ponceau 4R in Foods by Indirect Competitive Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (icELISA). *J Agric Food Chem.* 2015 Jul 22;63(28):6338-45.
- Yamjala K, Nainar MS, Ramiseti NR. Methods for the analysis of azo dyes employed in food industry – A review. *Food Chem.* 2016 Feb 1;192:813-24.
- Lutsenko BO. Zminy protsesiv produktsii superoksydnoho anion-radikalu u tkanynakh slyzovoi obolonky shlunka bilykh shchuriv pry vidtvorenni peptychnoi vyrazky za umov khronichnoi intoksykatsii nitratom natriiu. *Visn. probl. biologii i medytsyny.* 2007;2:50-52. [in Ukrainian].
- Tkach SM, Puchkov KS, Kuzenko YuH. Byolohycheskye efekty oksydov azota v zheludochno-kyshechnom trakte. *Suchasna hastroenterologhiia.* 2013;4(72):118-128. [in Ukrainian].
- Bryan NS, Loscalzo J, editors. Nitrite and nitrate in human health and disease [Internet]. Totowa, NJ: Humana Press; 2011. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-1-60761-616-0>.
- Lykhatskyi PH, Fira LS, Herasymets II. Metabolichni porushennia v orhanizmi shchuriv za umov urazhennia nitrytom natriiu. *Ukrainskyi biofarmatsevtichnyi zhurnal.* 2013;4:98-103. [in Ukrainian].
- Rosenbaek JB, Pedersen EB, Bech JN. The effect of sodium nitrite infusion on renal function, brachial and central blood pressure during enzyme inhibition by allopurinol, enalapril or acetazolamide in healthy subjects: a randomized, double-blinded, placebo-controlled, crossover study. *BMC Nephrology.* 2018;19(1):244.
- Karelyn AO, Davydova MP, Babalian AV, Kosyreva YV, Abramian AA, Demycheva AS. Analiz statystyk raznykh stran po sodержaniyu nytratov v ovoshchakh, fruktakh v vesennyi y osennyi peryody. *Novye Sankt-Peterburhskye vrachebnye vedomosti.* 2018;2:53-7. [in Russian].
- EFSA. EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS) [Internet]. Available from: <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/food-additives>.
- Mortensen A, Aguilar F, Crebelli R, Di Domenico A, Dusemund B, Frutos MJ, et al. Re-evaluation of potassium nitrite (E 249) and sodium nitrite (E 250) as food additives. *EFSA J.* 2017;15(6):e04786. DOI: 10.2903/j.efsa.2017.4786.
- Karymov AY. Fyzyoloho-byokhymycheskye osobennosti vliyaniya nytratov na orhanizm zhivotnykh [dysertatsiya]. Dushanbe; 2010. 186 s. [in Russian].
- Salyha NO. Pokaznyky antyoksydantnoi systemy shchuriv, urazhenykh nitrytom natriiu ta yikh korektsiia L-hlutaminovoiu kyslotoiu. *Svit medytsyny ta biologii.* 2016;2(56):145-148. [in Ukrainian].
- Kulitska MI, Chorna MV, Honskyi YaI. Vplyv nitrytu natriiu na pokaznyky antyoksydantnoi systemy ta peroksydnoho oksyennia lipidiv v orhanizmi shchuriv Zdobutky klinichnoi i eksperimentalnoi medytsyny. 2008;2:130-131. [in Ukrainian].
- Mishkyn VA, Enykeev DA, Habdrakhmanova YD, Enykeev OA, Srublyyn DV, Hymadyeva AR. Tserebro-hepatoprotektsiia aktyvnost kompleksnoho soedyneniya yantarnoi kysloty s 1.3.6-trymetyl-5-gidroksyuratsylom pry eksperimentalnoi yntoksykatsyyi natryia nitrytom. *Patolohycheskaia fyziolohiia y eksperimentalnaia terapiia.* 2018;4:163-7. [in Russian].
- Lykhatskyi PH, Fira LS, Pidhirnyi VV. Dynamika aktyvnosti vilnoradykalnykh protsesiv v orhanakh shchuriv riznykh vikovykh hrup pislia intoksykatsii nitrytom natriiu. Aktualni problemy transportnoi medytsyny: navkolyshnie seredovyshe; profesiine zdorovia; patolohiia. 2014;3:139-145. [in Ukrainian].
- El-Nabarawy NA, Gouda AS, Khattab MA, Rashed LA. Effects of nitrite graded doses on hepatotoxicity and nephrotoxicity, histopathological alterations, and activation of apoptosis in adult rats. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2020;27(12):14019-14032. DOI: 10.1007/s11356-020-07901-6.
- Ansari FA, Ali SN, Arif H, Khan AA, Mahmood R. Acute oral dose of sodium nitrite induces redox imbalance, DNA damage, metabolic and histological changes in rat intestine. *PLoS One.* 2017;12(4):e0175196. DOI: 10.1371/journal.pone.0175196.
- Pryshliak AM, Yavorska SI, Holovata TK, Reminetskyi BlA. Vplyv chotyrykhlorystoho u uhletsiiu na stan vilnoradykalnykh protsesiv orhanizmu shchuriv ta morfologichni zminy u tovstii kyshtsi. *Medychna ta klinichna khimiia.* 2017;19(2):78-82. [in Ukrainian].
- Ansari FA, Ali SN, Khan AA, Mahmood R. Acute oral dose of sodium nitrite causes redox imbalance and DNA damage in rat kidney. *J Cell Biochem.* 2018;119(4):3744-3754. DOI: 10.1002/jcb.26611.
- Lundberg JO, Weitzberg E, Gladwin MT. The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. *Nat Rev Drug Discov.* 2008;7:156-167. DOI: 10.1038/nrd2466.
- Circu ML, Aw TY. Redox biology of the intestine. *Free Radic Res.* 2011;45:1245-1266. DOI: 10.3109/10715762.2011.611509.
- Vossen E, De Smet S. Protein oxidation and protein nitration influenced by sodium nitrite in two different meat model systems. *J Agric Food Chem.* 2015;63:2550-2556. DOI: 10.1021/jf505775u.
- Mithieux G, Gautier-Stein A. Intestinal glucose metabolism revisited. *Diabetes Res Clin Pract.* 2014;105:295-301. DOI: 10.1016/j.diabetes.2014.04.008.
- Moura FA, de Andrade KQ, dos Santos JCF, Araújo ORP, Goulart MOF. Antioxidant therapy for treatment of inflammatory bowel disease: Does it work? *Redox Biol.* 2015;6:617-639.
- Pryshliak AM, Yavorska SI, Holovata TK, Reminetskyi BlA. Vplyv chotyrykhlorystoho u uhletsiiu na stan vilnoradykalnykh protsesiv orhanizmu shchuriv ta morfologichni zminy u tovstii kyshtsi. *Medychna ta klinichna khimiia.* 2017;19(2):78-82. [in Ukrainian].
- Tanaka T. Reproductive and neurobehavioural toxicity study of Ponceau 4R administered to mice in the diet. *Food and Chemical Toxicology.* 2006;44:1651-1658.

32. Bastaki M, Farrell T, Bhusari S, Pant K, Kulkarni R. Lack of genotoxicity in vivo for food color additive Allura Red AC. *Food Chem Toxicol.* 2017;105:308-314.
33. McCann D, Barrett A, Cooper A, Crumpler D, Dalen L, Grimshaw K, et al. Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial. *Lancet.* 2007;370(9598):1560-7.
34. Amchova P, Kotelova H, Ruda-Kucerova J. Health safety issues of synthetic food colorants. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2015;73(3):914-22.
35. Doguc DK, Deniz F, Ilhan I, Ergonul E, Gultekin F. Prenatal exposure to artificial food colorings alters NMDA receptor subunit concentrations in rat hippocampus. *Nutr Neurosci.* 2019;4:1-11.
36. FSA FEEDAP Panel (EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed). Guidance for the preparation of dossiers for sensory additives. *EFSA Journal* 2012;10(1):2534. DOI: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2534>.
37. EFSA FEEDAP Panel (EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed). Guidance for the preparation of dossiers for additives already authorised for use in food. *EFSA Journal.* 2012;10(1):2538-2541. DOI: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2538>.
38. EFSA FEEDAP Panel (EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed). Guidance on studies concerning the safety of use of the additive for users/workers. *EFSA Journal.* 2012;10(1):2539-2543. DOI: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2539>.
39. Yachmin AI, Kononov BS, Yeroshenko GA, Bilash SM, Bilash VP. A measure of the effect of complex food additives on rats' adaptive responses. *World of Medicine and Biology.* 2020;1(71):232-235.
40. Leo L, Loong C, Ho XL, Raman MFB, Suan MYT, Loke WM. Occurrence of azo food dyes and their effects on cellular inflammatory responses. *Nutrition.* 2018 Feb;46:36-40.
41. Al-Dahhan MAH, Al-Kaisei BI, Al-Samawi ERM., Jarad AS. Effect of synthetic colorants (Sunset yellow and Ponceau 4R) in some biochemical and histopathological parameters of albino rats. *AL-Qadisiya Journal of Vet. Med. Sci.* 2014;13(1):80-84.
42. Donchenko SV, Bilash SM., Severyn YuM. Vplyv naiposhyrenishykh kharchovykh dobavok na zdorovia liudyny. V: Pylpenko SV, redactor. *Materialy mizhnar. nauk.-prakt. konf Biolohichni, medychni ta naukovo-pedahohichni aspekty zdorovia liudyny;* 2020; Poltava. Poltava: Astraia; 2020. s. 23-25. [in Ukrainian].
43. EFSA ANS Panel (EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources Added to Food). Statement on Allura Red AC and other sulphonated mono azo dyes authorised as food and feed additives. *EFSA Journal.* 2013;11(6):3234. DOI: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2013.3234>.
44. EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP), Rychen G, Azimonti G, Bampidis V, de Lourdes Bastos M, Bories G, et al. Safety and efficacy of ponceau 4R for cats, dogs and ornamental fish. *EFSA J.* 2018 Mar 29;16(3):e05222.
45. Feketea G, Tsabouri S. Common food colorants and allergic reactions in children: Myth or reality? *Food Chem.* 2017 Sep 1;230:578-588.
46. Matsko E.F. Viiavlenye hyperchuvstvytelnosti k pyshevym krasyteliyam transbukkalnim metodom. *Smolenskiy medytsynskiy almanakh.* 2016;1:148-151. [in Ukrainian].
47. Shimada C, Kano K, Sasaki YF, Sato I, Tsudua S. Differential colon DNA damage induced by azo food additives between rats and mice. *J Toxicol Sci.* 2010 Aug;35(4):547-54.
48. Gaunt IF, Farmer M, Grasso P, Gangolli SD. Acute (mouse and rat) and short-term (rat) toxicity studies on Ponceau 4R. *Food Cosmet Toxicol.* 1967 Apr;5(2):187-94.
49. Phillips JC, Bex CS, Gaunt IF. The metabolic disposition of 14C-labelled Ponceau 4R in the rat, mouse and guinea-pig, *Food Chem Toxicol.* 1982 Oct;20(5):499-505.
50. WHO. International Programme on Chemical Safety (IPCS). 565. Ponceau 4R. WHO Food Additives Series 18: [inchem.org](http://www.inchem.org); 2020 [cited 2020 Nov 30]. Available from: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v18je12.htm>.

### ВПЛИВ КОНСЕРВАНТІВ ТА АЗОБАРВНИКІВ НА ОРГАНИ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ

**Ячмінь А. І., Єрошенко Г. А., Білаш С. М., Шевченко К. В., Лисаченко О. Д., Ваценко А. В., Передерій Н. О.**

**Резюме.** Нітрати, будучи типовими ксенобіотиками, залучаються мікрофлорою людини і тварин в метаболічні процеси, в ході яких відновлюються спочатку до нітриту, а потім до катіона амонію, через освіту ряду проміжних продуктів. Нітрати і нітрити (NOS) при хронічному надходженні в великих кількостях призводять до утворення метгемоглобіну, в результаті чого може розвинути хронічна аліментарна нітратно-нітритна метгемоглобінемія. Таким чином, основним місцем утворення реактивних сполук є шлунково-кишковий тракт (ШКТ) – центральний орган певних аспектів хімічної біології і фізіології цих сполук.

Ponceau 4R (E 124) (синоніми: Acid Red 18, New Coccine) – це сульфований моноазобарвник, що включає переважно тринатрієвий 2-гідрокси-1- (4-сульфонато-1-нафтилазо) нафталін-6,8-дисульфонат (хімічна формула C<sub>20</sub>H<sub>11</sub>N<sub>2</sub>Na<sub>3</sub>O<sub>10</sub>S<sub>3</sub>, номер CAS 2611-82-7, молекулярна маса 604,48). Ponceau 4R виготовляється шляхом з'єднання діазотованої нафтіонової кислоти з кислотою G (2-нафтол-6,8-дисульфонової кислоти) і перетворення продукту сполучення в тринатрієву сіль і випускається у вигляді водорозчинного червоного порошку або гранул.

В даний час Ponceau 4R дозволений як харчова добавка в Європейському Союзі (ЄС) відповідно до Додатку II та Додатку III до Регламенту (ЄС) №1333/2008 «Про харчові добавки та специфічні критерії чистоти», а також визначені в Регламенті Комісії (ЄС) №231/2012.5. максимально дозволений рівні використання для Ponceau 4R наведені для 26 категорій продуктів харчування (діапазон 1-200 мг/кг). Також Європейським агентством з безпеки продуктів харчування прийнято постанову про зниження допустимого добового надходження для барвника E124 (яскраво-червоний 4R) від 4 мг/кг до 0,7 мг/кг маси тіла на добу. Однак необхідно розробити надійний і швидкий аналітичний метод для моніторингу Ponceau 4R через загрозу його потенційно шкідливого ризику.

Метою роботи було встановити біологічні ефекти нітриту натрію та Ponceau 4R на органи шлунково-кишкового тракту.

Аналізуючи дані літератури стосовно шкідливої дії нітриту натрію на шлунково-кишковий тракт, можна виділити такі фактори: зниження активності ферментів BBM і загальної АТФ-ази знижує всмоктування поживних речовин, особливо цукрів і амінокислот, епітеліальними клітинами тонкого кишечника. Це зменшує запас основних будівельних блоків тіла, що, в свою чергу, сильно ускладнює вироблення енергії. Зміни активності ферментів вуглеводного обміну впливають на утилізацію глюкози ентероцитами і порушують глюконеогенез в кишечнику, який грає ключову роль в енергетичному гомеостазі. Зниження антиоксидантної здатності ентероцитів через порушення його ферментативних і неферментативних компонентів збільшує сприйнятливості до окислювальної дії.

Ураження ДНК різної природи можуть викликати генотоксичні і / або мутагенні ефекти, що може привести до розвитку раку. Синтетичні барвники, зокрема Ронсеау 4R, небезпечний для здоров'я як тварин, так і людини при споживанні у великій кількості або протягом тривалого періоду.

**Ключові слова:** нітрит натрію, Ронсеау 4R, органи шлунково-кишкового тракту.

### EFFECT OF PRESERVATIVES AND AZO-DYES ON THE ORGANS OF THE GASTROINTESTINAL TRACT

**Yachmin A. I., Yeroshenko G. A., Bilash S. M., Shevchenko K. V., Lisachenko O. D., Vatsenko A. V., Perederii N. A.**

**Abstract.** Nitrates, being typical xenobiotics, are involved by human and animal microflora in metabolic processes, during which they are reduced first to nitrite and then to ammonium cation, through the formation of a number of intermediates. Nitrates and nitrites (NOS) in chronic intake in large quantities lead to the formation of methemoglobin, which may result in the development of chronic alimentary nitrate-nitrite methemoglobinemia. Thus, the main site of formation of reactive compounds is the gastrointestinal tract (GI tract) – the central organ of certain aspects of chemical biology and physiology of these compounds.

Ponceau 4R (E 124) (synonyms: Acid Red 18, New Coccine) is a sulfonated monoazo dye comprising predominantly trisodium 2-hydroxy-1-(4-sulfonate-1-naphthylazo) naphthalene-6,8-disulfonate (chemical formula C<sub>20</sub>H<sub>11</sub>N<sub>2</sub>Na<sub>3</sub>O<sub>10</sub>S<sub>3</sub>, CAS number 2611-82-7, molecular weight 604.48). Ponceau 4R is made by combining diazotized naphthionic acid with acid G (2-naphthol-6,8-disulfonic acid) and converting the coupling product into the trisodium salt and is available as a water-soluble red powder or granules.

Currently, Ponceau 4R is authorized as a food additive in the European Union (EU) in accordance with Annex II and Annex III to Regulation (EC) №1333 / 2008 «On food additives and specific purity criteria», as defined in Commission Regulation (EU) №231 / 2012.5. The maximum permitted levels of use for Ponceau 4R are given for 26 food categories (range 1-200 mg/kg). The European Food Safety Authority has also decided to reduce the allowable daily allowance for the dye E124 (bright red 4R) from 4 mg/kg to 0.7 mg/kg of body weight per day. However, it is necessary to develop a reliable and rapid analytical method for monitoring Ponceau 4R due to the threat of its potentially harmful risk.

The purpose of the study was to establish the biological effects of sodium nitrite and Ponceau 4R on the organs of the gastrointestinal tract.

Analyzing the literature data on the harmful effects of sodium nitrite on the gastrointestinal tract, we can identify the following factors: decreased activity of BBM enzymes and total ATPase reduces the absorption of nutrients, especially sugars and amino acids, by epithelial cells of the small intestine. This reduces the stock of the main building blocks of the body, which, in turn, greatly complicates energy production. Changes in the activity of carbohydrate metabolism enzymes affect the utilization of glucose by enterocytes and disrupt gluconeogenesis in the intestine, which plays a key role in energy homeostasis. Decreased antioxidant capacity of enterocytes due to disruption of its enzymatic and non-enzymatic components increases susceptibility to oxidative action. DNA damage of various natures can cause genotoxic and / or mutagenic effects, which can lead to cancer. Synthetic dyes, in particular Ponceau 4R, are hazardous to both animal and human health when consumed in large quantities or over a long period of time.

**Key words:** sodium nitrite, Ponceau 4R, organs of the gastrointestinal tract.

#### ORCID кожного автора та їх внесок до статті:

Yachmin A. I.: 0000-0002-1829-7610 <sup>BD</sup>

Yeroshenko G. A.: 0000-0003-4279-485X <sup>F</sup>

Bilash S. M.: 0000-0002-8351-6090 <sup>A</sup>

Shevchenko K. V.: 0000-0003-1665-3236 <sup>B</sup>

Lisachenko O. D.: 0000-0002-7351-9335 <sup>E</sup>

Vatsenko A. V.: 0000-0001-5989-9493 <sup>B</sup>

Perederii N. A.: 0000-0002-3856-3875 <sup>E</sup>

#### Конфлікт інтересів:

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

---

Адреса для кореспонденції

Ячмін Анастасія Ігорівна

Полтавський державний медичний університет,

Адреса: Україна, 36000, м. Полтава, вул. Шевченка, 23

Тел.: 0502477523

E-mail: yachmen.anastasiya@gmail.com

---

**A** – концепція роботи та дизайн, **B** – збір та аналіз даних, **C** – відповідальність за статичний аналіз, **D** – написання статті, **E** – критичний огляд, **F** – остаточне затвердження статті.

*Рецензент – проф. Проніна О. М.*

Стаття надійшла 19.08.2021 року

Стаття прийнята до друку 14.02.2022 року