

Министерство здравоохранения Российской Федерации
Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
ФГБНУ «НИИ питания»

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ВОПРОСЫ ПИТАНИЯ

VOПРОSY PITANIЯ
(PROBLEMS OF NUTRITION)

Основан в 1932 г.

ТОМ 85

№ 1, 2016

Журнал входит в Перечень российских рецензируемых научных журналов, которые рекомендованы Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации (ВАК) для публикации результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук

Журнал представлен в следующих информационно-справочных изданиях и библиографических базах данных: Реферативный журнал ВИНТИ, Pubmed, Biological, MedART, eLibrary.ru, The National Agricultural Library (NAL), Nutrition and Food Database, FSTA, EBSCOhost, Health Index, Scopus, Web of Knowledge, Social Sciences Citation Index, Russian Periodical Catalog



ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ГРУППА
«ГЭОТАР-Медиа»

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Тутельян Виктор Александрович (г. Москва)

главный редактор, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, научный руководитель ФГБНУ «НИИ питания»

Ханферьян Роман Авакович (г. Москва)

заместитель главного редактора, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией спортивного питания с группой алиментарной патологии ФГБНУ «НИИ питания»

Вржесинская Оксана Александровна (г. Москва)

ответственный секретарь редакции, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории витаминов и минеральных веществ ФГБНУ «НИИ питания»

Арчаков Александр Иванович (г. Москва)

академик РАН, директор ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича»

Батурич Александр Константинович (г. Москва)

доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией эпидемиологии питания и генодиагностики алиментарно-зависимых заболеваний ФГБНУ «НИИ питания»

Бойцов Сергей Анатольевич (г. Москва)

доктор медицинских наук, профессор, директор ГНИЦ профилактической медицины Минздрава России

Валента Рудольф – Rudolf Valenta (Австрия)

профессор, руководитель Департамента иммунопатологии, кафедра патофизиологии и аллергии Медицинского университета г. Вены

Видаль Сесилио – Cecilio Vidal (Испания)

профессор, руководитель департамента биохимии Университета г. Мурсия

Гаппаров Минкаил Магомед Гаджиевич (г. Москва)

член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории клинической биохимии, иммунологии и аллергологии ФГБНУ «НИИ питания»

Георгиев Павел Георгиевич (г. Москва)

академик РАН, доктор биологических наук, профессор, директор ФГБНУ «Институт биологии гена» РАН

Голухова Елена Зеликовна (г. Москва)

член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделением неинвазивной аритмологии Института кардиохирургии им. В.И. Бураковского ФГБНУ «Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева» РАН

Григорьев Анатолий Иванович (г. Москва)

академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, вице-президент РАН

Дил Фридрих – Friedhelm Diel (ФРГ)

профессор, директор Института охраны окружающей среды и здоровья г. Фальда

Зайцева Нина Владимировна (г. Пермь)

академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, директор ФБНУ «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора

Исаков Василий Андреевич (г. Москва)

доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением гастроэнтерологии и гепатологии ФГБНУ «НИИ питания»

Кочеткова Алла Алексеевна (г. Москва)

доктор технических наук, профессор, заведующая лабораторией пищевых биотехнологий и специализированных продуктов ФГБНУ «НИИ питания»

Лисицын Андрей Борисович (г. Москва)

академик РАН, доктор технических наук, профессор, директор ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт мясной промышленности им. В.М. Горбатова»

Медведева Ирина Васильевна (г. Тюмень)

член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, проректор ГБОУ ВПО «Тюменская государственная медицинская академия» Минздрава России

Нареш Маган – Magan Naresh (Великобритания)

профессор факультета изучения окружающей среды и технологии Кренфильдского университета, г. Лондон

Никитюк Дмитрий Борисович (г. Москва)

доктор медицинских наук, профессор, врио директора ФГБНУ «НИИ питания»

Онищенко Геннадий Григорьевич (г. Москва)

академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, помощник Председателя Правительства Российской Федерации

Попова Анна Юрьевна (г. Москва)

доктор медицинских наук, профессор, руководитель Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Попова Тамара Сергеевна (г. Москва)

доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией экспериментальной патологии ГБУЗ «НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского» Департамента здравоохранения города Москвы

Савенкова Татьяна Валентиновна (г. Москва)

доктор технических наук, профессор, заместитель директора ГНУ «НИИ кондитерской промышленности»

Суханов Борис Петрович (г. Москва)

доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры гигиены питания и токсикологии ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России

Хотимченко Сергей Анатольевич (г. Москва)

доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий, врио заместителя директора по научной работе ФГБНУ «НИИ питания»

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Бакиров А.Б. (Уфа, Россия)

Бессонов В.В. (Москва, Россия)

Боровик Т.Э. (Москва, Россия)

Бранка Ф. (Швейцария, ВОЗ)

Быков И.М. (Краснодар, Россия)

Васильев А.В. (Москва, Россия)

Доценко В.А. (Санкт-Петербург, Россия)

Застенская И.А. (Германия)

Коденцова В.М. (Москва, Россия)

Конь И.Я. (Москва, Россия)

Корешков В.Н. (Москва, Россия)

Кузьмин С.В. (Екатеринбург, Россия)

Мазо В.К. (Москва, Россия)

Макаров В.Н. (Мичуринск, Россия)

Маскелюнас И. (Литва)

Погожева А.В. (Москва, Россия)

Проданчук Н.Г. (Украина)

Скрябин К.Г. (Москва, Россия)

Спиричев В.Б. (Москва, Россия)

Сычик С.И. (Республика Беларусь)

Хенсел А. (Германия)

Шабров А.В. (Санкт-Петербург, Россия)

Шарманов Ш. (Казахстан)

Шевелева С.А. (Москва, Россия)

Шевырева М.П. (Москва, Россия)

Эллер К.И. (Москва, Россия)

Научно-практический журнал «Вопросы питания» № 1, 2016

Выходит 6 раз в год.
Основан в 1932 г.

«Voprosy Pitania»
(Problems of Nutrition) is published
6 times a year.
Founded in 1932.

Свидетельство о регистрации средства
массовой информации ПИ № 77-14119
от 11.12.2002.

Все права защищены.

Никакая часть издания
не может быть воспроизведена
без согласия редакции.

При перепечатке публикаций
с согласия редакции ссылка
на журнал «Вопросы питания»
обязательна.

Ответственность за содержание
рекламных материалов
несут рекламодатели.

Адрес редакции

109240, г. Москва,
Устьинский проезд, д. 2/14,
ФГБНУ «НИИ питания»,
редакция журнала «Вопросы питания»
Телефон: (495) 698-53-60, 698-53-46
Факс: (495) 698-53-79

Научный редактор

Вржесинская О.А.: (495) 698-53-47,
red@ion.ru

Подписные индексы

(каталог агентства «Роспечать»):
71422 – для индивидуальных подписчиков,
71423 – для организаций и предприятий

Сайт журнала: <http://vp.geotar.ru>

Издатель

ООО Издательская группа
«ГЭОТАР-Медиа»
115035, г. Москва,
ул. Садовническая, д. 9, стр. 4
Телефон: (495) 921-39-07
www.geotar.ru

Выпускающий редактор:

Красникова Ольга, krasnikova@geotar.ru

Корректор: Макеева Елена

Верстка: Килимник Арина

Отдел подписки:

Хабибулина Зульфия, habibulina@geotar.ru

Тираж 3000 экземпляров.

Формат 60x90 1/8.

Печать офсетная.

Печ. л. 17.

Отпечатано в типографии

ЗАО «Новые печатные технологии»:

115201, г. Москва, 2-й Котляковский пер.,

вл. 18.

Заказ № 219.

© ООО Издательская группа
«ГЭОТАР-Медиа», 2016

ОБЗОРЫ

- Медведев О.С., Медведева Н.А.**
Современные представления о возможном влиянии пальмового масла на здоровье человека
- Коротько Г.Ф.**
Типы пищеварения при грудном вскармливании детей: возвращение к проблеме

ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ ПИТАНИЯ

- Медведев Д.В., Звягина В.И.**
Изучение биохимических механизмов развития дисфункции митохондрий гепатоцитов при экспериментальной гипергомоцистеинемии у крыс
- Рылова Н.В., Биктимирова А.А., Середа А.П., Самойлов А.С.**
Изучение взаимосвязи между показателями карнитинового обмена и содержанием жировой массы у юных пловцов
- Медведев И.Н.**
Динамика нарушений внутрисосудистой активности тромбоцитов у крыс в ходе формирования метаболического синдрома с помощью фруктозной модели

ГИГИЕНА ПИТАНИЯ

- Зайцева Н.В., Землянова М.А., Звездин В.Н., Довбыш А.А., Гмошинский И.В., Хотимченко С.А., Акафьева Т.И.**
Токсикологическая оценка наноразмерного коллоидного серебра, стабилизированного поливинилпирролидоном, в 92-дневном эксперименте на крысах. II. Морфология внутренних органов
- Мартинчик А.Н., Батуринов А.К., Пескова Е.В., Кешабянц Э.Э., Михайлов Н.А.**
Потребление йогурта и снижение риска избыточной массы тела и ожирения среди взрослого населения
- Ефимочкина Н.Р., Быкова И.Б., Маркова Ю.М., Короткевич Ю.В., Шевелева С.А.**
Влияние технологических стрессовых факторов на экспрессию генов патогенности возбудителей пищевого кампилобактериоза *Campylobacter jejuni*

ЛЕЧЕБНОЕ ПИТАНИЕ

- Ревякина В.А., Ларькова И.А., Кувшинова Е.Д., Шавкина М.И., Мухортык В.А.**
Фенотипы пищевой аллергии у детей

МИКРОНУТРИЕНТЫ В ПИТАНИИ

- Зорин С.Н., Сидорова Ю.С., Плетень А.П., Мазо В.К.**
Комплексы меди, марганца и хрома с ферментативным гидролизатом селезенки свиньи: исследование *in vitro*
- Блинникова О.М., Елисеева Л.Г.**
Обогащение ягод и плодов селеном и перспективы их использования в профилактическом питании
- Табакаева О.В., Табакаев А.В.**
Микронутриентный состав пищевых частей промыслового двустворчатого моллюска *Anadara broughtoni*
- Авидзба А.М., Кубышкин А.В., Гугучкина Т.И., Маркосов В.А., Кацев А.М., Наумова Н.В., Шрамко Ю.И., Зайцев Г.П., Черноусова И.В., Огай Ю.А., Фомочкина И.И.**
Антиоксидантная активность продуктов переработки красных сортов винограда «Каберне-Совиньон», «Мерло», «Саперави»

REVIEW

- 5 **Medvedev O.S., Medvedeva N.A.** 5
Modern conceptions about the possible impact of palm oil on human health
- 19 **Korot'ko G.F.** 19
Types of digestion in breast feeding: returning to the problem

PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY NUTRITION

- 29 **Medvedev D.V., Zvyagina V.I.** 29
The study of biochemical mechanisms of mitochondrial dysfunction in rats' hepatocytes during experimental hyperhomocysteinemia
- 36 **Rylova N.V., Biktimirova A.A., Sereda A.P., Samoylov A.S.** 36
The study of the relationship between rates of carnitine exchange and fat mass in young swimmers
- 42 **Medvedev I.N.** 42
Dynamics of violations of intravascular platelet activity in rats during the formation of metabolic syndrome using fructose models

HYGIENE OF NUTRITION

- 47 **Zaytseva N.V., Zemlyanova M.A., Zvezdin V.N., Dovbysh A.A., Gmshinsky I.V., Khotimchenko S.A., Akafieva T.I.** 47
Toxicological evaluation of nanosized colloidal silver, stabilized with polyvinylpyrrolidone, in 92-day experiment on rats. II. Internal organs morphology
- 56 **Martinchik A.N., Baturin A.K., Peskova E.V., Keshabyants E.E., Mikhaylov N.A.** 56
Yogurt consumption and reduced risk of overweight and obesity in adults
- 66 **Efimochkina N.R., Bykova I.B., Markova Yu.M., Korotkevich Yu.V., Sheveleva S.A.** 66
The study of influence of stresses on virulence genes expression in foodborne pathogens *Campylobacter jejuni*

DIET TREATMENT

- 75 **Revyakina V.A., Larkova I.A., Kuvshinova E.D., Shavkina M.I., Mukhortykh V.A.** 75
Phenotypes of food allergy in children

MICRONUTRIENTS IN NUTRITION

- 81 **Zorin S.N., Sidorova Yu.S., Pleten A.P., Mazo V.K.** 81
The complexes of copper, manganese and chromium with enzymatic hydrolysate of pig spleen: research *in vitro*
- 85 **Blinnikova O.M., Eliseeva L.G.** 85
Enrichment of fruits and berries with selenium and prospects for their using in the preventive nutrition
- 92 **Tabakaeva O.V., Tabakaev A.V.** 92
Micronutrient structure of food parts of a trade bivalve mollusc of *Anadara broughtoni*
- 99 **Avidzba A.M., Kubyshkin A.V., Guguchkina T.I., Markosov V.A., Katsev A.M., Naumova N.V., Shramko Yu.I., Zaytsev G.P., Chernousova I.V., Ogay Yu.A., Fomochkina I.I.** 99
The antioxidant activity of the products of processing of red grape of Cabernet Sauvignon, Merlot, Saperavi

МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА И БЕЗОПАСНОСТИ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ**Арнаутов О.В.**

О совершенствовании механизмов установления и изменения показателей качества и безопасности пищевой продукции в нормативных и правовых актах Евразийского экономического союза

САНИТАРНОЕ ПРОСВЕЩЕНИЕ**Кулакова Е.Н., Настаушева Т.Л., Усачева Е.А.**

Здоровое питание: внедрение практико-ориентированной программы обучения

Попова А.Ю., Гуськов А.С., Иванов Г.Е., Чикина Л.В., Клиндухов В.П., Николаевич П.Н., Гречаная Т.В., Балаева М.И., Вечерняя Л.С., Вечерняя Е.А., Божко И.И., Чаплыгина Т.Г., Пархоменко В.В., Куличенко О.А., Тушина О.В., Манин Е.А., Таран Т.В.

Организация питания клиентских групп в период проведения XXII Олимпийских зимних игр и XI Паралимпийских зимних игр 2014 г. в городе-курорте Сочи

КРАТКОЕ СООБЩЕНИЕ**Агеева Н.М., Маркосов В.А., Авидзба А.М., Огай Ю.А.**

Антиоксидантная активность красных виноградных вин различных типов

ИНФОРМАЦИЯ**METHODS OF FOOD QUALITY AND SAFETY CONTROL****110 Arnautov O.V.**

On improvement of the mechanism for establishing and changing indicators of quality and food safety in the regulatory and legal acts of the Eurasian Economical Union

110**HEALTH EDUCATION****117 Kulakova E.N., Nastausheva T.L., Usacheva E.A.**

Healthy eating: implementation of a practice-oriented training program

117

125 Popova A.Yu., Gus'kov A.S., Ivanov G.E., Chikina L.V., Klindukhov V.P., Nikolaevich P.N., Grechanaya T.V., Balaeva M.I., Vechernyaya L.S., Vechernyaya E.A., Bozhko I.I., Chaplygina T.G., Parkhomenko V.V., Kulichenko O.A., Tushina O.V., Manin E.A., Taran T.V.

Catering for client groups during the XXII Olympic winter games and XI Paralympic winter games of 2014 in Sochi

125**SHORT MESSAGE****133 Ageeva N.M., Markosov V.A., Avidzba A.M., Ogay Yu.A.**

Antioxidant activity of different types of red grape wines

133**136 INFORMATION****136**

Для корреспонденции

Медведев Олег Стефанович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии факультета фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»
Адрес: 119192, г. Москва, Ломоносовский пр-т, д. 31, корп. 5
Телефон: (495) 932-98-32
E-mail: oleg.omedvedev@gmail.com

О.С. Медведев, Н.А. Медведева

Современные представления о возможном влиянии пальмового масла на здоровье человека

Modern conceptions about the possible impact of palm oil on human health

O.S. Medvedev, N.A. Medvedeva

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»
Lomonosov Moscow State University

Обзор литературы посвящен анализу научных публикаций о наличии доказательств возможного негативного влияния пальмового масла (ПМ) и его компонентов на здоровье человека, а именно на регуляцию липидного обмена, риски развития сердечно-сосудистых и других заболеваний. ПМ способно оставаться в твердом и полутвердом состоянии при комнатной температуре, что позволяет рассматривать его как естественный заменитель частично гидрогенизированных растительных масел, содержащих трансизомеры жирных кислот (ТЖК), вредные для здоровья человека. ПМ содержит как насыщенные, так и ненасыщенные жирные кислоты, а также вещества с выраженной антиоксидантной активностью. Учитывая «липидную теорию» патогенеза атеросклероза, сравнительные исследования ПМ с другими растительными маслами (соевое, оливковое, подсолнечное) не выявили существенных различий в содержании общего холестерина, липопротеинов низкой и высокой плотности в крови человека. Атерогенный индекс обычно несколько повышался за счет более высокого содержания насыщенных жирных кислот в ПМ. Сравнение воздействия диет с ПМ и ТЖК на липидный профиль обследованных свидетельствует о значительном улучшении липидного профиля в случае использования диет с ПМ, что служит основанием для замены ТЖК в пище ПМ и его фракциями. В дополнение к жирным кислотам ПМ содержит фитонутриенты, включающие 4 вида токоферолов и токотриенолов, каротиноиды, стеролы и ряд других. Большинство этих веществ положительно влияет на здоровье человека, что связывают с их антиоксидантной активностью. Делается вывод о безопасности использования ПМ в пищевых продуктах при одновременном учете повышенного содержания в нем насыщенных жирных кислот.

Ключевые слова: пальмовое масло, липопротеины низкой плотности, липопротеины высокой плотности, растительные масла, трансизомеры жирных кислот, витамин Е, токотриенолы, риск сердечно-сосудистых заболеваний

Review of the scientific literature on the evidence of the relationship between palm oil (PO) and its components and adverse effects on human health, on the mechanisms of cholesterol control and risks for development of cardiovascular diseases. PO is solid or semisolid at room temperature and often is used as a natural substitute for partially hydrogenated vegetable oils containing trans fatty acids which increase risks of hypercholesteremia. PO contains both saturated and unsaturated fats as well as substances with antioxidant activity. Taking into account the lipid theory of atherosclerosis pathogenesis, and sn-2 hypothesis, PO was compared with other vegetable oils, like olive, sunflower or soybean oils, and did not show great differences in changes of LDL, HDL or total cholesterol levels. Comparison of diets rich in PO with diets rich in trans fatty acids shows improvement of lipid profiles in groups with PO, and serves as a basis for replacement of trans fatty acids in food with PO and its fractions. In addition to fatty acids content, PO contains several phytonutrients including 4 forms of tocopherols and tocotrienols, carotenoids, sterols, and some others. Most of these compounds are considered beneficial for human health, mainly on account of their antioxidant activity. It is concluded that PO is safe component of food, when we pay attention to the rather high content of saturated fats in it.

Keywords: palm oil, LDL, HDL, vegetable oils, trans fatty acids, vitamin E, tocotrienols, risk of cardiovascular diseases

Пальмовое дерево (*Elaeis guineensis*), первоначально произраставшее в Западной Африке, затем распространилось на Тропическую Америку и Юго-Восточную Азию. Больше всего площадей оно занимает в Индонезии и Малайзии – эти страны производят и экспортируют 54 и 31% от всего мирового производства пальмового масла (ПМ) соответственно. Продуктивность выращивания пальмового дерева очень высока: определяемая в тоннах производимого масла с гектара занятой площади в год, она в среднем составляет 4,6 т масла, что в 11, 10 и 7 раз выше, чем при производстве соевого, подсолнечного и рапсового масел [1]. Оно является источником растительного ПМ, широко используемого в пищевой и других областях промышленности.

Из плодов пальмового дерева получают два вида масел. Из ядра пальмового ореха получают пальмоядровое масло, которое, так же как и кокосовое, принадлежит к лауриновой группе масел, поскольку в его жирнокислотном составе лауриновая кислота доминирует. Содержание каприловой (8:0) и каприновой (10:0) кислот (не представлены в таблице) изменяется от 0 в пальмовом олеине (<0,005%) до 7% в пальмоядровом масле и пальмоядровом олеине. В странах Южной и Центральной Америки произрастает близкая разновидность масличной пальмы – *Elaeis oleifera*, которая отличается большей устойчивостью к вредителям и болезням, характерным для пальмы *Elaeis guineensis*. Состав масла из южноамериканской пальмы отличается меньшим содержанием насыщенных жиров и большим – количеством мононенасыщенных жирных кислот (МНЖК) [2]. Основным недостат-

ком южноамериканской пальмы является низкая производительность масла, которая в 3–4 раза ниже, чем у пальмы *Elaeis guineensis* [3]. В последние годы были предприняты попытки скрещивания двух видов пальм с целью получения гибрида O × G с большей продуктивностью по маслу и сохранением выгодного спектра жирных кислот, свойственного южноамериканской пальме *Elaeis oleifera*. Результаты исследований подтверждают успешность такого подхода, так как у O × G гибридов увеличивается удельное содержание масла (с 13,6% к массе мякоти плода у *Elaeis oleifera* до 47% у гибрида), возрастает доля ненасыщенных жирных кислот, определяемая по йодному числу, и снижается активность липазы по сравнению с маслом из *Elaeis guineensis* [3]. Проводятся интенсивные генетические исследования, направленные на установление роли отдельных генов, ответственных как за продуктивность, так и за жирнокислотный состав ПМ [2]. Таким образом, в ближайшие годы можно ожидать появления на рынке ПМ с более высокими потребительскими свойствами.

Из мякоти плода пальмового дерева, его мезокарпа, получают ПМ, которое широко используется в пищевой промышленности как нашей страны, так и за рубежом. Это связано с его уникальными физико-химическими свойствами, обеспечивающими способность оставаться в твердом и полутвердом состоянии при комнатной температуре, в отличие от большинства масел растительного происхождения. Эти свойства ПМ позволили рассматривать его как естественный заменитель частично гидрогенизированных растительных масел, содержащих высокие уровни трансизомеров жир-

ных кислот (ТЖК), которые, как показывают многочисленные исследования, вызывают неблагоприятные последствия для здоровья, связанные в том числе с повышенным риском развития ишемической болезни сердца [4], увеличением системного воспаления [5, 6] и нарушением функции эндотелиальных клеток [7]. За последнее десятилетие производство ПМ выросло настолько, что оно стало самым потребляемым в мире, и это сделало необходимым проведение клинических исследований при его употреблении. Ниже приведено обобщение данных литературы о возможном влиянии ПМ на здоровье человека.

Структура и свойства пальмового масла

ПМ содержит насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты в отношении примерно 1:1, их состав приведен в таблице.

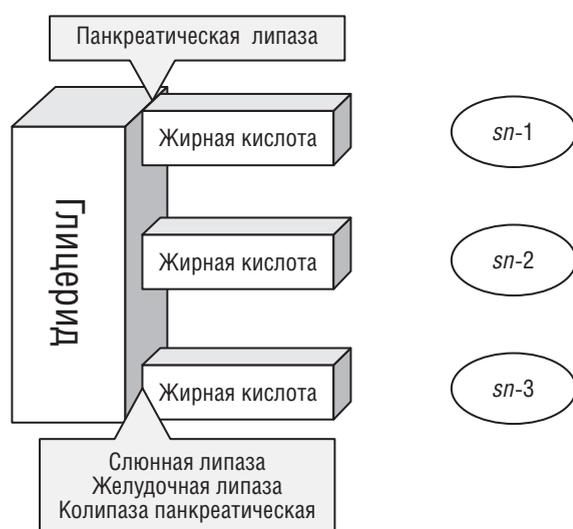
ПМ относительно богато насыщенными жирными кислотами (НЖК), которые составляют примерно половину общего содержания жира. МНЖК и полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) составляют соответственно около 40 и 10% (см. таблицу). Основной НЖК пальмового масла является пальмитиновая кислота, название которой происходит от названия дерева. Это основная жирная кислота, в природе встречающаяся в продуктах животного происхождения и овощах, также она является ос-

новым компонентом жиров грудного молока [9]. В животных организмах пальмитиновая кислота – конечный продукт синтеза жирных кислот из ацетил-КоА. ПМ наиболее богато пальмитиновой кислотой, за ней следуют олеиновая (МНЖК) и линолевая (ПНЖК) кислоты (см. таблицу).

В последние годы была предложена так называемая sn-2 гипотеза [10], которая связывает особенности действия различных жиров не столько с суммарным количеством НЖК, МНЖК и ПНЖК в их составе, сколько с особенностями структуры триацилглицеридов (ТГ) у разных жиров и механизмами их всасывания в желудочно-кишечном тракте. Схематично строение ТГ представлено на рисунке. В молекуле ТГ отдельные жирные кислоты связаны с молекулой глицерина эфирными связями, и их положения обозначаются как sn-1, sn-2 и sn-3. Свойства жира/масла в значительной степени зависят от того, какая жирная кислота и в каком положении связана эфирной связью с молекулой глицерина [11]. Всасывание жиров происходит при участии липаз и солей желчных кислот. Слюнная липаза (в ротовой полости), желудочная липаза (в желудке) и копанкреатическая липаза (в тонком кишечнике) преимущественно разрушают эфирную связь между глицерином и жирной кислотой в положении sn-3, тогда как панкреатическая липаза отщепляет жирную кислоту, находящуюся в положении sn-1 ТГ (см. рисунок). Коротко- (C4–C6) и среднецепочечные (C8–C10) жирные кислоты всасываются в тонкой кишке, тогда как

Жирнокислотный состав пальмового масла и его фракций (модифицировано по данным Л.Г. Ипатовой и соавт., 2009 [8])

Основные жирные кислоты	Обозначение	Содержание, % к сумме жирных кислот				
		пальмоядровое масло	пальмовое масло	пальмовый олеин	пальмовый суперолеин	пальмовый стеарин
Додекановая (лауриновая)	12:0	41,0–55,0	Не более 0,5	0,1–0,5	0,1–0,5	0,1–0,5
Тетрадекановая (миристиновая)	14:0	14,0–18,6	0,5–2,0	0,5–1,5	0,5–1,5	1,0–2,0
Гексадекановая (пальмитиновая)	16:0	6,5–10,0	39,3–47,5	38,0–43,5	30,0–39,0	48,0–74,0
Гексадеценовая (пальмитолеиновая)	16:1	До 1,0	Не более 0,6	Не более 0,6	Не более 0,5	Не более 0,2
Октадекановая (стеариновая)	18:0	1,0–3,5	3,5–6,0	3,5–5,0	2,8–4,5	3,9–6,0
Октадеценовая (олеиновая)	18:1	12,0–19,0	36,0–44,0	39,8–46,0	43,0–49,5	15,5–36,0
Октадекадиеновая (линолевая)	18:2	0,8–3,0	9,0–12,0	10,0–13,5	10,5–15,0	3,0–10,0
Октадекатриеновая (линоленовая)	18:3	До 1,0	Не более 0,5	Не более 0,6	0,2–1,0	Не более 0,5
Эйкозановая (арахиновая)	20:0	До 1,0	Не более 1,0	Не более 0,6	Не более 0,4	Не более 1,0
Эйкозеновая (гондоиновая)	20:1	0,2	Не более 0,4	Не более 0,4	Не более 0,2	Не более 0,4
Докозановая (бегеновая)	22:0	Не более 0,2	Не более 0,2	Не более 0,2	Не более 0,2	Не более 0,2



Структура триацилглицерида и локализация действия основных липаз (модификация рисунка из [10])

длинноцепочечные НЖК и ПНЖК всасываются медленнее, поскольку требуют для этого включения в молекулу 2-моноацилглицерида. Кроме того, известно, что свободные длинноцепочечные жирные кислоты (C16:0 и более), освобожденные в кишечнике из связи с глицерином в положениях sn-1 и sn-3, могут образовывать нерастворимые соединения с кальцием, после чего выводятся из организма. Молекула 2-моноацилглицерида всасывается в тонкой кишке и подвергается дальнейшим превращениям в энтероцитах тонкой кишки, заново образуя ТГ, входящие в состав хиломикрон [10]. Важно отметить, что в ТГ ПМ только 7–11% пальмитиновой кислоты находится в sn-2 положении, тогда как в 87% случаев в этом положении находятся ненасыщенные жирные кислоты – олеиновая и линолевая. В отличие от ПМ, в свином жире в sn-2 положении ТГ в 70% случаев обнаруживается пальмитиновая кислота. Именно поэтому ПМ, несмотря на наличие 50% НЖК в его составе, по свойствам приближается к преимущественно мононенасыщенным растительным маслам [10].

Помимо жирных кислот, ПМ также содержит ряд фитонутриентов, включая α -, β -, γ - и δ -токотриенолы, α -, β -, γ - и δ -токоферолы (витамин Е), каротиноиды (предшественники витамина А), фосфолипиды, гликолипиды и сквален. Содержание витамина Е в нерафинированном ПМ выше, чем в остальных растительных маслах. Большинство этих соединений считаются полезными для здоровья человека, в основном за счет своей антиоксидантной активности [12, 13]. Токоферолы и токотриенолы являются природными антиоксидантами, которые защищают ПМ от окисления. В основном они встречаются в нерафинирован-

ном ПМ, например в красном ПМ, но в небольших количествах остаются и в рафинированном продукте [14]. Эти соединения защищают клетки от окислительного стресса и могут играть важную роль в предупреждении клеточного старения и атеросклероза. Кроме витамина Е нерафинированное ПМ содержит большое количество каротиноидов – другого класса соединений, обладающих антиоксидантной активностью. В частности красное ПМ – богатейший природный источник α - и β -каротина, а последний является наиболее важным предшественником витамина А в питании человека. По этой причине рекомендуется использование ПМ в программах дополнительного питания для развивающихся стран, где по-прежнему широко распространен дефицит витамина А [14].

В последние десятилетия выявились разногласия между результатами исследований и существующими представлениями о способности ПМ усиливать гиперхолестеринемию. Вопрос о том, является ли ПМ потенциально нездоровым продуктом, стал весьма актуальным. Главная причина, вероятно, заключается в высоком содержании НЖК в ПМ, особенно пальмитиновой кислоты. Ранее были выявлены положительные корреляции между потреблением продуктов с высоким содержанием пальмитиновой кислоты и высоким уровнем сывороточного холестерина и, как следствие, увеличением риска сердечно-сосудистых заболеваний [15]. В докладе ВОЗ (2003) утверждалось, что существуют убедительные доказательства того, что миристиновая и пальмитиновая кислоты повышают риск сердечно-сосудистых заболеваний. Однако результаты исследований последних лет противоречат этим выводам [12, 13, 16–18]. Позднее в заключении экспертов по роли жиров и жирных кислот в питании человека [19] отмечалось, что «данные о повышении уровня общего холестерина и ЛПНП под влиянием пальмитиновой кислоты менее характерны для растительных жиров по сравнению с животными жирами, что связано с преимущественным наличием пальмитиновой кислоты в положениях sn-1 и sn-3 в растительных жирах и в положении sn-2 в животных жирах, типа свиного жира».

Пальмовое масло и сердечно-сосудистые заболевания

Связь между НЖК и риском сердечно-сосудистых заболеваний была выявлена уже в первом исследовании Анселя Кейса, известном как исследование семи стран, которое началось в 1950-х гг. и продолжалось более 20 лет [20–22]. Результаты выявили большие различия по уровню смертности от ишемической болезни сердца и общей смертности между разными странами.

Повышения сывороточного холестерина были связаны с различными последствиями в разных возрастных группах. Повышения доли насыщенных жиров были самыми значимыми показателями для возможного возникновения болезней сердца, в то время как МНЖК, ПНЖК и углеводы выполняли защитные функции [22]. Холестерин был наиболее важным физиологическим показателем, и работы Кейса демонстрировали, что в среднем уровень холестерина в сыворотке крови отдельных индивидуумов можно предсказать по потреблению насыщенных жиров в используемой ими диете.

В. Фершурен [23] впоследствии выявил линейную связь между уровнями холестерина и смертностью от сердечно-сосудистых заболеваний: при увеличении общего холестерина на 20 мг/дл риск повышается на 12%. Эти исследования привели к «липидной теории», согласно которой рацион с высоким содержанием НЖК влечет за собой увеличение сывороточного холестерина, который повышает риск сердечно-сосудистых заболеваний. Впоследствии 2 систематических обзора с использованием метаанализа рандомизированных контролируемых исследований [24, 25], в которых определяли липопротеины низкой плотности (холестерин ЛПНП) и липопротеины высокой плотности (холестерин ЛПВП), показали, что наиболее благоприятный липопротеиновый профиль для сохранения здоровья достигается, когда НЖК заменяются ненасыщенными жирными кислотами.

В большинстве упомянутых исследований воздействия жиров на сердечно-сосудистые заболевания НЖК рассматривались как единая группа – предполагалось, что основные НЖК в рационе человека (лауриновая, пальмитиновая и миристиновая кислоты) имеют схожее действие. Однако в последние два десятилетия несколько групп исследователей сравнили воздействие отдельных жирных кислот на различные биомаркеры риска сердечно-сосудистых заболеваний [т.е. общий холестерин, холестерин ЛПНП и ЛПВП, соотношение ЛПНП/ЛПВП, аполипопротеины (Аpo A-I, A-II, B), липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП) и гиперлипидемия после приема пищи] и доказали, что не все НЖК оказывают одинаковое воздействие.

Резюмируя исследования, проведенные в последние 20 лет и посвященные изучению воздействия пальмитиновой кислоты/ПМ, употребляемых в рационе как заменители других жиров с сохранением энергетического баланса, на липидный обмен, были получены следующие результаты:

1. При сравнении ПМ с соевым (растительным маслом с большим содержанием ПНЖК и меньшим содержанием НЖК по сравнению с ПМ) большинство исследований не выявило существенных различий в липидном профиле сыворотки крови

обследованных людей, кроме повышенного уровня холестерина ЛПВП в группах, употреблявших ПМ [24, 26–33].

2. Сравнение с оливковым маслом в некоторых исследованиях показало в основном нейтральный эффект [3, 34, 35], однако другие исследования выявили повышение общего холестерина и холестерина ЛПНП в сыворотке крови групп обследованных, употреблявших ПМ [36, 37].

3. Исследования, сравнившие эффект ПМ и подсолнечного (богатого олеиновой кислотой и ПНЖК), показали увеличение сывороточного холестерина (общего холестерина, холестерина ЛПНП и ЛПВП) в группах, употреблявших ПМ [35, 38–41], но не выявили различий в соотношении общего холестерина/холестерина ЛПВП [35, 38]. По данным последнего рандомизированного клинического исследования 2014 г. [42], не обнаружено различий по содержанию общего холестерина, холестерина ЛПНП и ЛПВП между группами обследованных, однако получены достоверно более высокие значения для соотношений ЛПНП/ЛПВП и общий холестерин/холестерин ЛПВП в группе, получавшей продукты с высоким содержанием ПМ. Достаточно высокое содержание НЖК в потребляемом ПМ у крыс может сопровождаться повышением содержания липидов в печени, чего не возникает при 22-дневном кормлении эквивалентным кормом, содержащим подсолнечное масло. Атерогенный индекс в группе, получавшей ПМ, снизился, чего не произошло в группе животных, находившихся на рационе с подсолнечным маслом [43].

Исследования, сравнившие ПМ и рапсовое масло канолы (богатое МНЖК и с низким содержанием НЖК), также показали, что потребление ПМ повысило уровень холестерина в плазме (холестерина ЛПНП и ЛПВП), но соотношение общего холестерина/холестерина ЛПВП не изменилось [31, 32, 35].

4. Исследования, сравнившие эффекты ПМ/пальмитиновой кислоты с другими НЖК, в целом показали более низкий уровень холестерина (общего, ЛПНП и ЛПВП) в сыворотке крови у обследованных, получавших ПМ, чем у получавших пищу с большим содержанием миристиновой или лауриновой кислот или их комбинациями [34, 41, 44–47]. При использовании синтетических триглицеридов с повышенным содержанием миристиновой кислоты результаты исследования были другими: отмечены менее выраженные атерогенные изменения липидного профиля по сравнению с диетой, богатой ПМ [44].

5. Сравнительные исследования роли стеариновой кислоты, как правило, демонстрируют более благоприятный липопротеиновый профиль сыворотки у обследованных, потреблявших диету со стеариновой кислотой [39, 44], хотя рандомизи-

рованное перекрестное интервенционное исследование 2002 г. не выявило ни одного существенного различия в липидах плазмы, агрегации или активации тромбоцитов у обследованных на рационах, обогащенных пальмитиновой или стеариновой кислотами [48].

Большинство исследований, приведенных выше, не подтверждают существующее представление о пагубном воздействии пальмитиновой кислоты в отношении сердечно-сосудистых заболеваний, в частности в нормохолестеринемических вопросах [49, 50]. Пальмитиновая кислота незначительно увеличивает холестерин ЛПНП и ЛПВП и таким образом оказывает относительно нейтральное влияние на соотношение ЛПВП/ЛПНП – ценный прогностический фактор риска сердечно-сосудистых заболеваний.

Кроме того, влияние отдельных жирных кислот может отличаться от воздействия всего жира, содержащего их, даже если это главный компонент. Например, результаты, показывающие отсутствие существенных различий в холестерине ЛПНП после потребления оливкового масла с высоким содержанием олеиновой кислоты по сравнению с ПМ, в отличие от рапсового и подсолнечного масел с высоким содержанием олеиновой кислоты, были объяснены присутствием большого количества фитостероидов, понижающих уровень холестерина в плазме крови обследованных, получавших ПМ, и сквалена, повышающего уровень холестерина, в группе получавших оливковое масло [35]. Тем не менее выводы, сделанные в недавней редакционной статье на эту тему [51], поддерживают идею, что в целом пальмитиновая кислота в ПМ повышает уровень холестерина ЛПНП, однако подчеркивают широкую изменчивость соотношения «доза–эффект» в зависимости от возраста обследованных, их пищевых привычек, а также указывают на значительное число отрицательных результатов.

Особый интерес вызывают работы, где проводилось сравнительное изучение влияния диет с ПМ и содержащих ТЖК на липидный профиль обследованных. Это связано с тем, что ПМ в пищевой промышленности используется в качестве замены масел, содержащих ТЖК. Многочисленные исследования выявили неблагоприятные последствия для здоровья при употреблении продуктов, содержащих ТЖК [8, 14, 52–58]. Трансизомеры ненасыщенных жирных кислот редко встречаются в природе в больших количествах – их синтезируют искусственно путем частичного гидрирования растительных масел с целью получения полутвердых жиров, более подходящих для применения в пищевой промышленности. Эти жиры выпускались многими производителями пищевых продуктов, чтобы заменить считавшиеся в то время вредными животные жиры на более полезные растительные

масла. В настоящее время общепризнано, что ТЖК приносят человеку гораздо больший вред, чем НЖК. Метаанализ 4 когортных перспективных исследований с участием почти 140 000 человек выявил, что увеличение потребления энергии из ТЖК на 2% было связано с 23-процентным ростом заболеваемости ишемической болезнью сердца [6].

В большом обзоре итальянских исследователей 2014 г. [59] проведен систематический обзор и метаанализ 51 статьи, опубликованной до 30 мая 2013 г., найденной в базах данных сайтов PubMed/MEDLINE (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>), Embase (<http://embase.com>) и Cochrane Library (<http://www.thecochranelibrary.com/>). Выбранные статьи включали исходные данные, сравнивающие богатую ПМ диету с другими диетами, богатыми жирами, и анализировали по крайней мере один из следующих биомаркеров ишемической болезни сердца/сердечно-сосудистых заболеваний: общий холестерин, холестерин ЛПНП, холестерин ЛПВП, общий холестерин/холестерин ЛПН, ЛПНП/холестерин ЛПВП, ТГ, аполипопротеин А-I и В, холестерин ЛПОНП и липопротеин (а).

Особенно интересен анализ данных по сравнению влияния диет с ПМ и трансжирами на липидный профиль в крови обследованных [59]. Метаанализ 11 исследований показал, что, когда ПМ заменяли ТЖК, отмечалось более выраженное повышение концентрации холестерина ЛПВП (на 5 мг/дл), чем ЛПНП (на 1 мг/дл), что приводило к снижению индекса атерогенности плазмы ЛПНП/ЛПВП на 0,28 ($p < 0,001$). Уровень аполипопротеина А-I в плазме крови повышался на 104 мг/л, тогда как концентрация аполипопротеина В снижалась на 58 мг/л. Авторы обзора пришли к заключению, что все наблюдаемые изменения в липидном профиле обследованных улучшаются при замене ТЖК на ПМ [59], что потенциально уменьшает риск возникновения заболеваний сердечно-сосудистой системы. Что касается замены трансжиров в продуктах пищевой промышленности на ПМ, то полученные результаты, безусловно, свидетельствуют в пользу такой замены, так как это будет способствовать сохранению здоровья потребителей.

Влияние пальмового масла на риск развития сахарного диабета 2 типа и ожирения

Изучение возможного влияния ПМ на развитие сахарного диабета (СД) пока не дало однозначного ответа. По результатам работы 2002 г. употребление в пищу ПМ 30 пациентами с СД 2 типа не сопровождалось изменением у них уровня глюкозы в плазме крови [60].

Интересные результаты были получены шведскими исследователями. В их рандомизированном

контролируемом двойном слепом исследовании здоровым молодым людям к обычному рациону добавляли кексы, выпеченные в метаболической лаборатории с использованием ПМ или подсолнечного масла, для повышения массы тела в каждой группе на 3% (1,6 кг) в течение 7 нед [61]. Повышение суточной калорийности составляло 750 ккал. В конце 7-й недели авторы исследования не обнаружили достоверных различий между группами в уровне глюкозы и инсулина крови натощак, в показателях инсулинорезистентности. Несмотря на одинаковое возрастание массы тела в каждой группе, характер отложения жира был различен. В группе, получавшей кексы на основе ПМ, больше жира появлялось в печени и других висцеральных органах по сравнению с группой, употреблявшей кексы на подсолнечном масле.

Попытка выявить корреляцию между содержанием различных жирных кислот в составе фосфолипидов плазмы крови и заболеваемостью СД 2 типа была выполнена в EPIC-InterAct – многоцентровом европейском исследовании с участием 28 557 человек, у 12 403 из которых развился СД [62]. Было показано, что содержание НЖК с четным количеством атомов углерода в плазме крови (14:0, 16:0 и 18:0) положительно коррелировало с развитием СД, тогда как содержание НЖК с нечетным количеством атомов углерода (15:0, 17:0) негативно коррелировало с развитием СД. Можно было предположить, что подобные результаты косвенно говорят о возможной отрицательной роли ПМ в повышении риска возникновения СД в связи со значительным количеством пальмитиновой кислоты в его составе. Однако подобные заключения неправомерны, по мнению авторов исследования, так как за счет усиленного *de novo* липогенеза при СД ускоренно образуется пальмитиновая кислота из МНЖК (16:1n7) за счет повышенной концентрации углеводов в крови. С подобным положением согласны и авторы последнего обзора о влиянии ПМ на здоровье [60].

Важно подчеркнуть, что повышение содержания пальмитиновой кислоты в сыворотке крови человека отмечено и при диете с повышенным содержанием НЖК за счет включения в диету больших количеств сливочного масла. В 10-недельном исследовании с участием 67 пациентов с абдоминальной формой ожирения одна группа получала булочки, приготовленные на подсолнечном масле (богатом ПНЖК), тогда как другая – булочки, приготовленные на сливочном масле (богатом НЖК). Авторы показали, что при изокалорийных диетах, обогащенных НЖК или ПНЖК, содержание пальмитиновой кислоты в сыворотке крови было достоверно выше на 0,9% ($p < 0,001$) в группе, получавшей булочки на сливочном масле. Отмечена положительная корреляция между содержанием

НЖК в сыворотке крови и накоплением липидов в печени в группе с повышенным потреблением НЖК, но не ПНЖК [63].

В работе А. Filippou и соавт. [64] изучали влияние переэтерификации пальмового олеина, при котором происходит включение пальмитиновой кислоты в sn-2 положение в молекуле ТГ, на показатели углеводного обмена у человека. Авторы не обнаружили негативных изменений в секреции инсулина или регуляции глюкозы у здоровых обследованных.

В полном соответствии с полученными результатами научных исследований в современных видах маргаринов используется от 30 до 40% ПМ и его компонентов [65].

Замена частично гидрогенизированных растительных масел, содержащих значительное количество трансизомеров жирных кислот, полутвердыми растительными жирами на основе тропических масел – пальмового и кокосового – обоснована с медицинской точки зрения, но требует изменения технологий в пищевой промышленности и соответствующего финансирования.

Пальмовое масло в продуктах для питания младенцев

Переваривание и всасывание жиров у новорожденных отличается от таковых у взрослых. После рождения ребенок должен адаптироваться к высокому содержанию жира в грудном молоке, так как во внутриутробном состоянии главным источником для энергетического метаболизма была глюкоза. В этот период секреция панкреатической липазы еще низка, а недостаточно развитая печень не способна продуцировать адекватное количество желчных кислот для сольubilизации жиров. В связи с этим всасывание жира у новорожденных в первые недели жизни менее эффективно, чем у взрослых. Однако грудное молоко содержит липопротеинлипазу и липазу, активируемую желчными кислотами печени, что помогает во всасывании жиров. Кроме того, организм новорожденных синтезирует ТГ-липазу в ротовой полости и в желудке. В дополнение к этому только у детей синтезируется молочная липаза, которая в кишечнике гидролизует 2-моноацилглицерин, освобождая свободную жирную кислоту, что ускоряет их всасывание. Если в заменителе грудного молока длинноцепочечные НЖК находятся в положениях sn-1 и sn-3 молекулы ТГ, то всасывание жиров замедляется, так как молочная липаза расщепляет связь и освобождает свободную жирную кислоту только в положение sn-2. В связи с этим длинноцепочечные НЖК типа пальмитиновой связывают кальций, уменьшая его поступление в организм и вызывая запоры [10].

Вопрос об использовании ПМ при производстве продуктов для детского питания возник в связи

с тем, что основная НЖК, содержащаяся в ПМ (40%) (пальмитиновая кислота), входит в состав грудного молока всех млекопитающих, в том числе человека. Основное отличие грудного молока от ПМ состоит в том, что в грудном молоке пальмитиновая кислота (16:0) содержится в основном во втором положении (sn-2), а в ПМ – в sn-1 и sn-3 положениях в молекуле триглицерида. Поэтому для производства продуктов для детского питания ПМ переэтерифицируют из естественного положения пальмитиновой кислоты sn-1 и sn-3 в положение sn-2, создавая структуру молочного ТГ, более похожую на таковую человеческого молока. Влияние этого измененного, переэтерифицированного пальмового масла (ПЭПМ) в составе продуктов детского питания было изначально протестировано в экспериментах на поросятах [66]. Было показано, что при использовании переэтерифицированной во втором положении пальмитиновой кислоты наблюдалось пропорциональное повышение как ЛПНП, так и ЛПВП по сравнению с уровнем при использовании пальмитиновой кислоты в sn-1 и sn-3 положении в составе ПМ. Позже в исследовании с участием детей [67] сравнивали липидный профиль сыворотки крови в трех группах: группа, получавшая ПЭПМ, группа с природным ПМ и группа, получавшая грудное молоко. Жировой состав всех диет соответствовал 46% энергетической ценности всех диет – так, как это наблюдается в грудном молоке. Результаты были схожи с данными, полученными на поросятах. Уровень ЛПНП увеличился в 1,5 раза, а ЛПВП снизился на 24% в группе, получавшей ПЭПМ, по сравнению с детьми, получавшими диету на основе ПМ, т.е. отношение ЛПНП/ЛПВП повысилось в 2 раза, что похоже на реакцию у взрослых при потреблении трансжиров. Потребление грудного молока приводило к значительному повышению холестерина в сыворотке крови по сравнению с детьми, получавшими детское питание. Это повышение, вероятно, отражает природный способ гарантировать высокий уровень холестерина, который необходим для быстрого роста мембран клеток при развитии органов и мозга ребенка, что нежелательно у взрослых людей [68].

Приведенные исследования свидетельствуют о том, что детский организм отличается повышенной чувствительностью к переэтерифицированному жиру, так как молодые организмы не имеют запаса незаменимых жирных кислот, недостаток которых усиливает эффект пищевых НЖК. Быстрый рост требует пищевых незаменимых жирных кислот для формирования фосфолипидов, так же как и более сложных молекул, содержащих жирные кислоты (как сфинголипиды), необходимых для формирования нервной системы и метаболизма [68]. Кроме того, сравнение диет, содержащих ПМ, с грудным молоком продемонстрировало близкий профиль отношения ЛПНП/ЛПВП, что указывает

на безопасность его применения в детском питании. Необходимо отметить, что основное отличие между диетой с ПМ и грудным молоком заключалось в более низком уровне общего холестерина в группе детей, потреблявших питание с ПМ, что, по-видимому, необходимо учитывать при создании смесей для детского питания.

Способность свободной пальмитиновой кислоты связывать кальций в просвете тонкой кишки и уменьшать его всасывание потребовала дополнительных исследований. Было показано, что использование ПМ и его отдельных фракций, богатых пальмитиновой кислотой, в детском питании может сопровождаться угнетением всасывания кальция и жира, что влияет на функции желудочно-кишечного тракта у детей [69]. Следствием этого может быть снижение минерализации костей у детей, находившихся в течение первых 6 мес жизни на искусственном вскармливании с использованием продуктов детского питания, содержащих ПМ [70].

Токотриенолы пальмового масла

Кроме уникального липидного профиля ПМ, ученых заинтересовала мембраносвязанная липофильная фракция, содержащая семейство соединений, обозначаемых как витамин Е. Несмотря на то что эта фракция составляет менее 1% от общей массы ПМ, она играет важную роль как для предупреждения окисления самого масла, так и для реализации антиоксидантного действия при его потреблении. Основные антиоксидантные свойства ПМ обусловлены разными фракциями витамина Е, причем основными из них являются α - и γ -токоферолы, а также наличием токотриенолов. Первые 2 соединения кроме антиоксидантной активности проявляют противовоспалительные, антиканцерогенные и натрийуретические свойства [71]. Токотриенолы в микромолярных количествах (именно в таких количествах они могут поступать в организм человека при потреблении ПМ) ингибируют активность фермента печени, отвечающего за синтез холестерина, т.е. проявляют гиполипемическую активность [72, 73]. Кроме того, показано, что именно токотриенолы, а не токоферолы, могут замедлять развитие рака груди [74]. Показано, что в наномолярных концентрациях (количествах, которые могут поступать с едой при употреблении ПМ) токотриенолы способны предупреждать апоптоз нервных клеток, предупреждая нейродегенерацию [75]. При использовании фракции ПМ, богатой токотриенолами, было показано защитное действие на ДНК сперматозоидов у крыс, подвергшихся воздействию фосфорорганического инсектицида фенитроина [76]. Таким образом, содержание в ПМ биологически активных соединений, входящих в семейство витамина Е, в физиологических

количествах обеспечивает не только участие ПМ в антиоксидантной регуляции организма человека при его потреблении, но и нормализацию липидного обмена и нейропротекторное действие [77].

Подводя итог всему вышеизложенному, можно сказать, что диета с ПМ по сравнению с диетами, содержащими растительные масла с эквивалентным или более низким количеством других НЖК или сочетания МНЖК и ПНЖК, не вызывает ухудшения липидного профиля организма обследованных. По сравнению с диетами, содержащими ТЖК, диета на основе ПМ демонстрирует значительное улучшение состава липидов плазмы крови, что свидетельствует в пользу использования ПМ вместо ТЖК в пищевой промышленности, учитывая его способность оставаться в полутвердом состоянии при комнатной температуре. Перечисленные выше свойства и наличие в структуре ПМ биологически активных соединений, демонстрирующих положительное действие на здоровье человека, могут быть одним из аргументов в пользу более широкого использования ПМ в пищевой промышленности в ряду с такими жировыми продуктами, как сливочное и топленое масло, сливки и сливочные сыры, жирной свининой и салом, при учете установленных ВОЗ норм потребления: 20–35% для общего жира, из которых: 10% для НЖК, до 15–20% для МНЖК и 6–11% ПНЖК относительно общего потребления энергии (ФАО ВОЗ 2010 г.).

Необходимо заметить, что для сохранения основных свойств и состава ПМ, используемого в пищевой промышленности, необходимо учитывать условия его хранения и транспортировки [78]. Интересные результаты были получены группой исследователей из университета Неаполя [79]. Авторы сравнили свойства пальмового суперолеина и оливкового масла, используемых для жарки картофеля фри. Обычно для длительного использования масла для жарки выбирают масла с низким содержанием линоленовой кислоты (<3%), содержанием олеиновой кислоты >40% и содержанием линолевой кислоты <50%. Близкий состав был у пальмового олеина (олеиновой кислоты >40%, линолевой кислоты – 12,5% и линоленовой кислоты – 0,2%). По ряду показателей пальмовый

суперолеин уступал оливковому маслу, так как быстрее увеличивалась концентрация свободных жирных кислот и общее количество полярных веществ, однако по другим показателям суперолеин превосходил оливковое масло: образовывалось меньше короткоцепочечных жирных кислот (С8:0) и было ниже перекисное число. Результаты авторов подтверждают большую устойчивость пальмового суперолеина при длительном нагреве по сравнению с оливковым маслом. Несмотря на высокую устойчивость ПМ к длительному нагреву, ряд авторов не рекомендуют использовать одну и ту же порцию ПМ очень длительно или подвергать нескольким циклам нагревания. В опытах на крысах было показано, что при кормлении их ПМ после его нагрева 5 или 10 раз (цикл нагрева до 180 °С в течение 10 мин) достоверно возрастает толщина интимы аорты, тогда как при кормлении ПМ, не подвергавшимся нагреванию, такого эффекта не обнаружено [80].

В заключение можно подчеркнуть, что ПМ является типичным растительным маслом с большей долей НЖК и с характерным для растительных масел распределением отдельных жирных кислот в молекуле ТГ, что определяет большинство вызываемых им эффектов в отношении механизмов регуляции липидного и углеводного обмена. Высокое содержание токотриенолов и токоферолов придает ПМ дополнительные полезные свойства, связанные, в основном, с их антиоксидантной активностью, что частично нивелирует эффекты НЖК. При эквивалентной замене ТЖК на ПМ и его фракции все эффекты ПМ на здоровье положительные. Показано, что замена частично гидрированных растительных масел, содержащих ТЖК, на коровье масло позволяет уменьшить риск развития сердечно-сосудистых заболеваний на 10%, а замена на ПМ – на 20 % [52].

Однако требуются дополнительные исследования технологов, диетологов и врачей для разработки более совершенных технологий применения ПМ и фракций в качестве заменителей ТЖК в пищевой промышленности.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 15-29-01313).

Сведения об авторах

Медведев Олег Стефанович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии факультета фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», учредитель АНО «Национальный исследовательский центр «Здоровое питание»

E-mail: oleg.omedvedev@gmail.com

Медведева Наталия Александровна – доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник кафедры физиологии человека и животных биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»
E-mail: namedved@gmail.com

Литература

- Khosla P., Sundram K. A supplement on palm oil – why? // *J. Am. Coll. Nutr.* 2010. Vol. 29. P. 237–239.
- Montoya C., Cochard B., Flori A. et al. Genetic architecture of palm oil fatty acid composition in cultivated oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) compared to its wild relative *E. oleifera* (H.B.K) cortes // *PLoS ONE*. 2014. Vol. 9, N 5. Article ID e95412. doi: 10.1371/journal.pone.0095412
- Cadena T., Prada F., Perea A., Romero H.M. Lipase activity, mesocarp oil content, and iodine value in oil palm fruits of *Elaeis guineensis*, *Elaeis oleifera*, and the interspecific hybrid O×G (*E. oleifera* × *E. guineensis*) // *J. Sci. Food Agric.* 2013 Feb. Vol. 93, N 3. P. 674–680.
- Ascherio A., Katan M.B., Zock P.L., Stampfer M.J. et al. Trans fatty acids and coronary heart disease // *N. Engl. J. Med.* 1999. Vol. 340. P. 1994–1998.
- Mozaffarian D., Rimm E.B., King I.B., Lawler R.L. et al. Trans fatty acids and systemic inflammation in heart failure // *Am. J. Clin. Nutr.* 2004a. Vol. 80. P. 1521–1525.
- Mozaffarian D., Katan M.B., Ascherio A., Stampfer M.J. et al. Trans fatty acids and cardiovascular disease // *N. Engl. J. Med.* 2006. Vol. 354. P. 1601–1613.
- de Roos N.M., Bots M.L., Katan M.B. Replacement of dietary saturated fatty acids by trans fatty acids lowers serum HDL cholesterol and impairs endothelial function in healthy men and women // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2001. Vol. 21. P. 1233–1237.
- Ипатова Л.Г., Кочеткова А.А., Нечаев А.П., Тутельян В.А. Жировые продукты для здорового питания. Современный взгляд. М.: Дели Принт, 2009. 396 с.
- Read W.W., Sarrif A. Human milk lipids. Changes in fatty acid composition of early colostrum // *Am. J. Clin. Nutr.* 1965 Sept. Vol. 17, N 3. P. 177–179.
- May C.Y., Nesaratnam K. Research advancements in palm oil nutrition // *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 2014. Vol. 116. P. 1301–1315.
- Goh S.H. Oils and fats in nutrition and health: 2. Chemistry, digestion and metabolism // *Malays. Oil Sci. Technol.* 2006. Vol. 15. P. 43–63.
- Oguntibeju O.O., Esterhuysen A.J., Truter E.J. Red palm oil: nutritional, physiological and therapeutic roles in improving human wellbeing and quality of life // *Br. J. Biomed. Sci.* 2009. Vol. 66. P. 216–222.
- Ong A.S., Goh S.H. Palm oil: a healthful and cost-effective dietary component // *Food Nutr. Bull.* 2002. Vol. 23. P. 11–22.
- Sundram K., Sambanthamurthi R., Tan Y.A. Palm fruit chemistry and nutrition // *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 2003. Vol. 12. P. 355–362.
- Fattore E., Fanelli R. Palm oil and palmitic acid: a review on cardiovascular effects and carcinogenicity // *Int. J. Food Sci. Nutr.* 2013. Vol. 64, N 5. P. 648–659.
- Edem D.O. Palm oil: biochemical, physiological, nutritional, hematological, and toxicological aspects: a review // *Plant Foods Hum. Nutr.* 2002. Vol. 57. P. 319–341.
- McNamara D.J. Palm oil and health: a case of manipulated perception and misuse of science // *J. Am. Coll. Nutr.* 2010. Vol. 29. P. 240S–244S.
- Mukherjee S., Mitra A. Health effects of palm oil // *J. Hum. Ecol.* 2009. Vol. 26. P. 197–203.
- Interim Summary of Conclusions and Dietary Recommendations on Total Fat & Fatty Acids. Joint FAO/WHO Expert Consultation on Fats and Fatty Acids in Human Nutrition, November 10–14, 2008. Geneva: WHO HQ, 2008. URL: <http://www.fao.org/ag/agn/nutrition/docs/Fats%20and%20Fatty%20Acids%20Summaryfin.pdf>
- Keys A., Menotti A., Aravanis C., Blackburn H. et al. The seven countries study: 2,289 deaths in 15 years // *Prev. Med.* 1984. Vol. 13. P. 141–154.
- Kromhout D., Keys A., Aravanis C., Buzina R. et al. Food consumption patterns in the 1960s in seven countries // *Am. J. Clin. Nutr.* 1989. Vol. 49. P. 889–894.
- Menotti A., Keys A., Aravanis C., Blackburn H. et al. Seven countries study. First 20-year mortality data in 12 cohorts of six countries // *Ann. Med.* 1989. Vol. 21. P. 175–179.
- Verschuren W.M., Jacobs D.R., Bloemberg B.P., Kromhout D. et al. Serum total cholesterol and long-term coronary heart disease mortality in different cultures. Twenty-five-year follow-up of the seven countries study // *JAMA*. 1995. Vol. 274. P. 131–136.
- Mensink R.P., Zock P.L., Kester A.D., Katan M.B. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials // *Am. J. Clin. Nutr.* 2003. Vol. 77. P. 1146–1155.
- Mensink R.P., Katan M.B. Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins. A meta-analysis of 27 trials // *Arterioscler. Thromb.* 1992. Vol. 12. P. 911–919.
- Al-Shahib W., Marshall R.J. The fruit of the date palm: its possible use as the best food for the future? // *Int. J. Food Sci. Nutr.* 2003. Vol. 54. P. 247–259.
- Edionwe A.O., Kies C. Comparison of palm and mixtures of refined palm and soybean oils on serum lipids and fecal fat and fatty acid excretions of adult humans // *Plant Foods Hum. Nutr.* 2001. Vol. 56. P. 157–165.
- Muller H., Jordal O., Kierulf P., Kirkhus B. et al. Replacement of partially hydrogenated soybean oil by palm oil in margarine without unfavorable effects on serum lipoproteins // *Lipids*. 1998. Vol. 33. P. 879–887.
- Pedersen J.I., Muller H., Seljeflot I., Kirkhus B. Palm oil versus hydrogenated soybean oil: effects on serum lipids and plasma haemostatic variables // *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 2005. Vol. 14. P. 348–357.
- Utarwuthipong T., Komindr S., Pakpeankitvatana V., Songchitsomboon S. et al. Small dense low-density lipoprotein concentration and oxidative susceptibility changes after consumption of soybean oil, rice bran oil, palm oil and mixed rice bran/palm oil in hypercholesterolaemic women // *J. Int. Med. Res.* 2009. Vol. 37. P. 96–104.
- Vega-Lopez S., Ausman L.M., Jalbert S.M., Erkkila A.T. et al. Palm and partially hydrogenated soybean oils adversely alter lipoprotein profiles compared with soybean and canola oils in moderately hyperlipidemic subjects // *Am. J. Clin. Nutr.* 2006. Vol. 84. P. 54–62.
- Zhang J., Ping W., Chunrong W., Shou C.X. et al. Nonhypercholesterolemic effects of a palm oil diet in Chinese adults // *J. Nutr.* 1997. Vol. 127. P. 509S–513S.
- Zhang J., Wang C.R., Xue A.N., Ge K.Y. Effects of red palm oil on serum lipids and plasma carotenoids level in Chinese male adults // *Biomed. Environ. Sci.* 2003. Vol. 16. P. 348–354.
- Ng T.K., Hayes K.C., DeWitt G.F., Jegathesan M. et al. Dietary palmitic and oleic acids exert similar effects on serum cholesterol and lipoprotein profiles in normocholesterolemic men and women // *J. Am. Coll. Nutr.* 1992. Vol. 11. P. 383–390.
- Truswell A.S. Comparing palmolein with different predominantly monounsaturated oils: effect on plasma lipids // *Int. J. Food Sci. Nutr.* 2000. Vol. 51, suppl. P. S73–S77.
- Bonanome A., Grundy S.M. Effect of dietary stearic acid on plasma cholesterol and lipoprotein levels // *N. Engl. J. Med.* 1988. Vol. 318. P. 1244–1248.
- Tholstrup T., Hjerpsted J., Raff M. Palm olein increases plasma cholesterol moderately compared with olive oil in healthy individuals // *Am. J. Clin. Nutr.* 2011. Vol. 94. P. 1426–1432.

38. Cuesta C., Rodenas S., Merinero M.C., Rodriguez-Gil S. et al. Lipoprotein profiles and serum peroxide levels of aged women consuming palmolein or oleic acid-rich sunflower oil diets // *Eur. J. Clin. Nutr.* 1998. Vol. 52. P. 675–683.
39. Sanchez-Muniz F.J., Merinero M.C., Rodriguez-Gil S., Ordovas J.M. et al. Dietary fat saturation affects apolipoprotein AII levels and HDL composition in postmenopausal women // *J. Nutr.* 2002. Vol. 132. P. 50–54.
40. Scholtz S.C., Pieters M., Oosthuizen W., Jerling J.C. et al. The effect of red palm olein and refined palm olein on lipids and haemostatic factors in hyperfibrinogenemic subjects // *Thromb. Res.* 2004. Vol. 113. P. 13–25.
41. Schwab U.S., Niskanen L.K., Maliranta H.M., Savolainen M.J. et al. Lauric and palmitic acid enriched diets have minimal impact on serum lipid and lipoprotein concentrations and glucose metabolism in healthy young women // *J. Nutr.* 1995. Vol. 125. P. 466–473.
42. Iggman D., Rosqvist F., Larsson A. et al. Role of dietary fats in modulating cardiometabolic risk during moderate weight gain: a randomized double-blind overfeeding trial (LIPOGAN study) // *J. Am. Heart Assoc.* 2014. Vol. 3. P. 1–9. doi: 10.1161/JAHA.114.001095
43. Go R.E., Hwang K.A., Kim Y.S. et al. Effects of palm and sunflower oils on serum cholesterol and fatty liver in rats // *J. Med. Food.* 2014. Vol. 18. P. 1–7. doi: 10.1089/jmf.2014.3163
44. Snook J.T., Park S., Williams G., Tsai Y.H. et al. Effect of synthetic triglycerides of myristic, palmitic, and stearic acid on serum lipoprotein metabolism // *Eur. J. Clin. Nutr.* 1999. Vol. 53. P. 597–605.
45. Sundram K., Hayes K.C., Siru O.H. Dietary palmitic acid results in lower serum cholesterol than does a lauric-myristic acid combination in normolipemic humans // *Am. J. Clin. Nutr.* 1994. Vol. 59. P. 841–846.
46. Temme E.H., Mensink R.P., Hornstra G. Comparison of the effects of diets enriched in lauric, palmitic, or oleic acids on serum lipids and lipoproteins in healthy women and men // *Am. J. Clin. Nutr.* 1996. Vol. 63. P. 897–903.
47. Zock P.L., de Vries J.H., Katan M.B. Impact of myristic acid versus palmitic acid on serum lipid and lipoprotein levels in healthy women and men // *Arterioscler. Thromb.* 1994. Vol. 14. P. 567–575.
48. Kelly F.D., Sinclair A.J., Mann N.J., Turner A.H. et al. Short-term diets enriched in stearic or palmitic acids do not alter plasma lipids, platelet aggregation or platelet activation status // *Eur. J. Clin. Nutr.* 2002. Vol. 56. P. 490–499.
49. Clandinin M.T., Cook S.L., Konard S.D., French M.A. The effect of palmitic acid on lipoprotein cholesterol levels // *Int. J. Food Sci. Nutr.* 2000. Vol. 51. P. S61–S71.
50. Clandinin M.T., Cook S.L., Konrad S.D., Goh Y.K. et al. The effect of palmitic acid on lipoprotein cholesterol levels and endogenous cholesterol synthesis in hyperlipidemic subjects // *Lipids.* 1999. Vol. 34. suppl. P. S121–S124.
51. Clifton P.M. Palm oil and LDL cholesterol // *Am. J. Clin. Nutr.* 2011. Vol. 94. P. 1392–1393.
52. Зайцева Л.В., Нечаев А.П., Бессонов В.В. Транс-изомеры жирных кислот: история вопроса, актуальность проблемы, пути решения. М.: ДеЛи плюс, 2012. 56 с.
53. Перова Н.В., Метельская В.А., Бойцов С.А. Транс-изомеры ненасыщенных жирных кислот повышают риск развития болезней системы кровообращения, связанных с атеросклерозом // *Тер. арх.* 2013. № 9. С. 113–117.
54. Перова Н.В., Метельская В.А., Соколов Е.И. и др. Пищевые жирные кислоты. Влияние на риск болезней системы кровообращения // *Рационал. фармакотер. в кардиологии.* 2011. Т. 7. № 5. С. 620–627.
55. Koletzko B. Trans fatty acids may impair biosynthesis of longchain polyunsaturates and growth in man // *Acta Paediatr.* 1992. Vol. 81. P. 302–306.
56. Mensink R.P., Katan M.B. Effect of dietary trans fatty acids on high-density and low-density lipoprotein cholesterol levels in subjects // *N. Engl. J. Med.* 1990. Vol. 323. P. 439–445.
57. Sundram K., Ismail A., Hayes K.C., Jeyamalar R. et al. Trans (elaidic) fatty acids adversely affect the lipoprotein profile relative to specific saturated fatty acids in humans // *J. Nutr.* 1997. Vol. 127. P. 514S–520S.
58. Zock P.L., Katan M.B. Hydrogenation alternatives: effects of trans fatty acids and stearic acid versus linoleic acid on serum lipids and lipoproteins in humans // *J. Lipid Res.* 1992. Vol. 33. P. 399–410.
59. Fattore E. et al. Palm oil and blood lipid-related markers of cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis of dietary intervention trials // *Am. J. Clin. Nutr.* 2014. Vol. 99, N 6. P. 1331–1350.
60. Mancini A., Imperlini E., Nigro E., Montagnese C. et al. Biological and nutritional properties of palm oil and palmitic acid: effects on health // *Molecules.* 2015. Vol. 20. P. 17339–17361.
61. Rosqvist F., Iggman D., Kullberg J., Cedernaes J. et al. Overfeeding polyunsaturated and saturated fat causes distinct effects on liver and visceral fat accumulation in humans // *Diabetes.* 2014. Vol. 63. P. 2356–2368.
62. Forouhi N.G., Koulman A., Sharp S.J., Imamura F. et al. Differences in the prospective association between individual plasma phospholipid saturated fatty acids and incident type 2 diabetes: the EPIC-InterAct case-cohort study // *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2014. Vol. 2. P. 810–818.
63. Bjermo H., Iggman D., Kullberg J., Dahlman I. et al. Effects of n-6 PUFAs compared with SFAs on liver fat, lipoproteins, and inflammation in abdominal obesity: a randomized controlled trial // *Am. J. Clin. Nutr.* 2012. Vol. 95. P. 1003–1012.
64. Filippou A., Teng K.-T., Berry S.E., Sanders T.A.B. Palmitic acid in the sn-2 position of dietary triacylglycerols does not affect insulin secretion or glucose homeostasis in healthy men and women // *Eur. J. Clin. Nutr.* 2014. Vol. 68. P. 1036–1041.
65. Титов В.Н., Лисицын Д.М. Жирные кислоты. Физическая химия, биология и медицина. М.; Тверь: Триада, 2006. 672 с.
66. Innis S.M., Quinlan P., Diersen-Schade D. Saturated fatty acid chain length and positional distribution in infant formula: effects on growth and plasma lipids and ketones in piglets // *Am. J. Clin. Nutr.* 1993. Vol. 57. P. 382–390.
67. Nelson C.M., Innis S.M. Plasma lipoprotein fatty acids are altered by the positional distribution of fatty acids in infant triacylglycerols and human milk // *Am. J. Clin. Nutr.* 1999. Vol. 70. P. 62–69.
68. Hayes K.C. Replacing trans fat: the argument for palm oil with a cautionary note on interesterification // *J. Am. Coll. Nutr.* 2010. Vol. 29, N 3. P. 253S–284S.
69. Leite M.E., Lasekan J., Baggs G. et al. Calcium and fat metabolic balance, and gastrointestinal tolerance in term infants fed milk-based formulas with and without palm olein and palm kernel oils: a randomized blinded crossover study // *BMC Pediatrics.* 2013. Vol. 13. P. 215.
70. Koo W.K., Hammami M., Margeson D.P. et al. Reduced bone mineralization in infants fed palm olein-containing formula: A Randomized, Double-Blinded, Prospective Trial // *Pediatrics.* 2003. Vol. 111. P. 1017–1023.
71. Hensley K., Benaksas E.J., Bolli R., Comp P. et al. New perspectives on vitamin E: gamma-tocopherol and carboxyethyl-hydroxychroman metabolites in biology and medicine // *Free Radic. Biol. Med.* 2004. Vol. 36. P. 1–15.
72. Parker R.A., Pearce B.C., Clark R.W., Gordon D.A. et al. Tocotrienols regulate cholesterol production in mammalian cells by post-transcriptional suppression of 3-hydroxy-3-methylglutarylcoenzyme A reductase // *J. Biol. Chem.* 1993. Vol. 268. P. 11230–11238.
73. Pearce B.C., Parker R.A., Deason M.E., Qureshi A.A. et al. Hypocholesterolemic activity of synthetic and natural tocotrienols // *J. Med. Chem.* 1992. Vol. 35. P. 3595–3606.
74. Nesaretnam K., Guthrie N., Chambers A.F., Carroll K.K. Effect of tocotrienols on the growth of a human breast cancer cell line in culture // *Lipids.* 1995. Vol. 30. P. 1139–1143.
75. Khanna S., Roy S., Slivka A., Craft T.K. et al. Neuroprotective properties of the natural vitamin E alpha-tocotrienol // *Stroke.* 2005. Vol. 36. P. 2258–2264.
76. Taib I.S., Budin B., Ghazali A.R. et al. Fenitrothion alters sperm characteristics in rats: ameliorating effects of palm oil tocotrienol-rich fraction // *Exp. Anim.* 2014. Vol. 63, N 4. P. 383–394.

77. Ahsan H. et al. Pharmacological potential of tocotrienols: a review // *Nutr. Metab.* 2014. Vol. 11. P. 52.
78. Бессонов В.В., Зайцев Л.В., Степанова Л.И., Байков В.Г. Окислительная и гидролитическая порча пальмового масла и жировых продуктов, приготовленных на его основе, при различных условиях хранения и транспортировки // *Вопр. питания.* 2012. Т. 81. № 4. С. 18–23.
79. Romano R., Giordano A., Vitiello S. et al. Comparison of the frying performance of olive oil and palm superolein // *J. Food Sci.* 2012. Vol. 77. P. C519–C531.
80. Xian T.K., Omar N.A., Ying L.W. et al. Reheated palm oil consumption and risk of atherosclerosis: evidence at ultrastructural level // *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2012. Article ID 828170. doi: 10.1155/2012/828170.

References

1. Khosla P., Sundram K. A supplement on palm oil – why? *J Am Coll Nutr.* 2010; Vol. 29: 237–9.
2. Montoya C., Cochard B., Flori A. et al. Genetic architecture of palm oil fatty acid composition in cultivated oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) compared to its wild relative *E. oleifera* (H.B.K) Cortes. *PLoS ONE.* 2014; Vol. 9 (5). Article ID e95412. doi: 10.1371/journal.pone.0095412
3. Cadena T., Prada F., Perea A., Romero H.M. Lipase activity, mesocarp oil content, and iodine value in oil palm fruits of *Elaeis guineensis*, *Elaeis oleifera*, and the interspecific hybrid O×G (*E. oleifera* × *E. guineensis*). *J Sci Food Agric.* 2013; Vol. 93 (3): 674–80.
4. Ascherio A., Katan M.B., Zock P.L., Stampfer M.J. et al. Trans fatty acids and coronary heart disease. *N Engl J Med.* 1999; Vol. 340: 1994–8.
5. Mozaffarian D., Rimm E.B., King I.B., Lawler R.L. et al. Trans fatty acids and systemic inflammation in heart failure. *Am J Clin Nutr.* 2004a; Vol. 80: 1521–5.
6. Mozaffarian D., Katan M.B., Ascherio A., Stampfer M.J. et al. Trans fatty acids and cardiovascular disease. *N Engl J Med.* 2006; Vol. 354: 1601–13.
7. de Roos N.M., Bots M.L., Katan M.B. Replacement of dietary saturated fatty acids by trans fatty acids lowers serum HDL cholesterol and impairs endothelial function in healthy men and women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001; Vol. 21: 1233–7.
8. Ipatova L.G., Kochetkova A.A., Nechaev A.P., Tuteljan V.A. Fat products for healthy nutrition. The Modern view. Moscow : DeLi Print, 2009: 396 p. (in Russian)
9. Read W.W., Sarrif A. Human milk lipids. Changes in fatty acid composition of early colostrum. *Am J Clin Nutr.* 1965 Sept; Vol. 17 (3): 177–9.
10. May C.Y., Nesaretnam K. Research advancements in palm oil nutrition. *Eur J Lipid Sci Technol.* 2014; Vol. 116: 1301–15.
11. Goh S.H. Oils and fats in nutrition and health: 2. Chemistry, digestion and metabolism. *Malays Oil Sci Technol.* 2006; Vol. 15: 43–63.
12. Oguntibeju O.O., Esterhuysen A.J., Truter E.J. Red palm oil: nutritional, physiological and therapeutic roles in improving human wellbeing and quality of life. *Br J Biomed Sci.* 2009; Vol. 66: 216–22.
13. Ong A.S., Goh S.H. Palm oil: a healthful and cost-effective dietary component. *Food Nutr Bull.* 2002; Vol. 23: 11–22.
14. Sundram K., Sambanthamurthi R., Tan Y.A. Palm fruit chemistry and nutrition. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2003; Vol. 12: 355–62.
15. Fattore E., Fanelli R. Palm oil and palmitic acid: a review on cardiovascular effects and carcinogenicity. *Int J Food Sci Nutr.* 2013; Vol. 64 (5): 648–59.
16. Edem D.O. Palm oil: biochemical, physiological, nutritional, hematological, and toxicological aspects: a review. *Plant Foods Hum Nutr.* 2002; Vol. 57: 319–41.
17. McNamara D.J. Palm oil and health: a case of manipulated perception and misuse of science. *J Am Coll Nutr.* 2010; Vol. 29: 240S–4S.
18. Mukherjee S., Mitra A. Health effects of palm oil. *J Hum Ecol.* 2009; Vol. 26: 197–203.
19. Interim Summary of Conclusions and Dietary Recommendations on Total Fat & Fatty Acids. Joint FAO/WHO Expert Consultation on Fats and Fatty Acids in Human Nutrition, November 10–14, 2008. Geneva : WHO HQ, 2008. URL: <http://www.fao.org/ag/agn/nutrition/docs/Fats%20and%20Fatty%20Acids%20Summaryfin.pdf>
20. Keys A., Menotti A., Aravanis C., Blackburn H. et al. The seven countries study: 2,289 deaths in 15 years. *Prev Med.* 1984; Vol. 13: 141–54.
21. Kromhout D., Keys A., Aravanis C., Buzina R. et al. Food consumption patterns in the 1960s in seven countries. *Am J Clin Nutr.* 1989; Vol. 49: 889–94.
22. Menotti A., Keys A., Aravanis C., Blackburn H., et al. Seven countries study. First 20-year mortality data in 12 cohorts of six countries. *Ann Med.* 1989; Vol. 21: 175–9.
23. Verschuren W.M., Jacobs D.R., Bloemberg B.P., Kromhout D. et al. Serum total cholesterol and long-term coronary heart disease mortality in different cultures. Twenty-five-year follow-up of the seven countries study. *JAMA.* 1995; Vol. 274: 131–6.
24. Mensink R.P., Zock P.L., Kester A.D., Katan M.B. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *Am J Clin Nutr.* 2003; Vol. 77: 1146–55.
25. Mensink R.P., Katan M.B. Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins. A meta-analysis of 27 trials. *Arterioscler Thromb.* 1992; Vol. 12: 911–9.
26. Al-Shahib W., Marshall R.J. The fruit of the date palm: its possible use as the best food for the future? *Int J Food Sci Nutr.* 2003; Vol. 54: 247–59.
27. Edionwe A.O., Kies C. Comparison of palm and mixtures of refined palm and soybean oils on serum lipids and fecal fat and fatty acid excretions of adult humans. *Plant Foods Hum Nutr.* 2001; Vol. 56: 157–65.
28. Muller H., Jordal O., Kierulf P., Kirkhus B., et al. Replacement of partially hydrogenated soybean oil by palm oil in margarine without unfavorable effects on serum lipoproteins. *Lipids.* 1998; Vol. 33: 879–87.
29. Pedersen J.I., Muller H., Seljeflot I., Kirkhus B. Palm oil versus hydrogenated soybean oil: effects on serum lipids and plasma haemostatic variables. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2005; Vol. 14: 348–57.
30. Utarwuthipong T., Komindr S., Pakpeankitvatana V., Songchitsombon S., et al. Small dense low-density lipoprotein concentration and oxidative susceptibility changes after consumption of soybean oil, rice bran oil, palm oil and mixed rice bran/palm oil in hypercholesterolaemic women. *J Int Med Res.* 2009; Vol. 37: 96–104.
31. Vega-Lopez S., Ausman L.M., Jalbert S.M., Erkkila A.T. et al. Palm and partially hydrogenated soybean oils adversely alter lipoprotein profiles compared with soybean and canola oils in moderately hyperlipidemic subjects. *Am J Clin Nutr.* 2006; Vol. 84: 54–62.
32. Zhang J., Ping W., Chunrong W., Shou C.X. et al. Nonhypercholesterolemic effects of a palm oil diet in Chinese adults. *J Nutr.* 1997; Vol. 127: 509S–13S.
33. Zhang J., Wang C.R., Xue A.N., Ge K.Y. Effects of red palm oil on serum lipids and plasma carotenoids level in Chinese male adults. *Biomed Environ Sci.* 2003; Vol. 16: 348–54.
34. Ng T.K., Hayes K.C., DeWitt G.F., Jegathesan M. et al. Dietary palmitic and oleic acids exert similar effects on serum cholesterol and lipoprotein profiles in normocholesterolemic men and women. *J Am Coll Nutr.* 1992; Vol. 11: 383–90.
35. Truswell A.S. Comparing palmolein with different predominantly monounsaturated oils: effect on plasma lipids. *Int J Food Sci Nutr.* 2000; Vol. 51 (suppl.): S73–7.
36. Bonanome A., Grundy S.M. Effect of dietary stearic acid on plasma cholesterol and lipoprotein levels. *N Engl J Med.* 1988; Vol. 318: 1244–8.

37. Tholstrup T., Hjerpsted J., Raff M. Palm olein increases plasma cholesterol moderately compared with olive oil in healthy individuals. *Am J Clin Nutr.* 2011; Vol. 94: 1426–32.
38. Cuesta C., Rodenas S., Merinero M.C., Rodriguez-Gil S., et al. Lipoprotein profiles and serum peroxide levels of aged women consuming palmolein or oleic acid-rich sunflower oil diets. *Eur J Clin Nutr.* 1998; Vol. 52: 675–83.
39. Sanchez-Muniz F.J., Merinero M.C., Rodriguez-Gil S., Ordovas J.M. et al. Dietary fat saturation affects apolipoprotein AII levels and HDL composition in postmenopausal women. *J Nutr.* 2002; Vol. 132: 50–4.
40. Scholtz S.C., Pieters M., Oosthuizen W., Jerling J.C. et al. The effect of red palm olein and refined palm olein on lipids and haemostatic factors in hyperfibrinogaemic subjects. *Thromb. Res.* 2004; Vol. 113: 13–25.
41. Schwab U.S., Niskanen L.K., Maliranta H.M., Savolainen M.J. et al. Lauric and palmitic acid enriched diets have minimal impact on serum lipid and lipoprotein concentrations and glucose metabolism in healthy young women. *J Nutr.* 1995; Vol. 125: 466–73.
42. Iggman D., Rosqvist F., Larsson A. et al. Role of dietary fats in modulating cardiometabolic risk during moderate weight gain: a randomized double-blind overfeeding trial (LIPOGAN study). *J Am Heart Assoc.* 2014; Vol. 3: 1–9. doi: 10.1161/JAHA.114.001095
43. Go R.E., Hwang K.A., Kim Y.S. et al. Effects of palm and sunflower oils on serum cholesterol and fatty liver in rats. *J Med Food.* 2014; Vol. 18: 1–7 doi: 10.1089/jmf.2014.3163
44. Snook J.T., Park S., Williams G., Tsai Y.H. et al. Effect of synthetic triglycerides of myristic, palmitic, and stearic acid on serum lipoprotein metabolism. *Eur J Clin Nutr.* 1999; Vol. 53: 597–605.
45. Sundram K., Hayes K.C., Siru O.H. Dietary palmitic acid results in lower serum cholesterol than does a lauric-myristic acid combination in normolipemic humans. *Am J Clin Nutr.* 1994; Vol. 59: 841–6.
46. Temme E.H., Mensink R.P., Hornstra G. Comparison of the effects of diets enriched in lauric, palmitic, or oleic acids on serum lipids and lipoproteins in healthy women and men. *Am J Clin Nutr.* 1996; Vol. 63: 897–903.
47. Zock P.L., de Vries J.H., Katan M.B. Impact of myristic acid versus palmitic acid on serum lipid and lipoprotein levels in healthy women and men. *Arterioscler Thromb.* 1994; Vol. 14: 567–75.
48. Kelly F.D., Sinclair A.J., Mann N.J., Turner A.H., et al. Short-term diets enriched in stearic or palmitic acids do not alter plasma lipids, platelet aggregation or platelet activation status. *Eur J Clin Nutr.* 2002; Vol. 56: 490–9.
49. Clandinin M.T., Cook S.L., Konard S.D., French M.A. The effect of palmitic acid on lipoprotein cholesterol levels. *Int J Food Sci Nutr.* 2000; Vol. 51: S61–71.
50. Clandinin M.T., Cook S.L., Konrad S.D., Goh Y.K., et al. The effect of palmitic acid on lipoprotein cholesterol levels and endogenous cholesterol synthesis in hyperlipidemic subjects. *Lipids.* 1999; Vol. 34 (suppl.): S121–4.
51. Clifton P.M. Palm oil and LDL cholesterol. *Am J Clin Nutr.* 2011; Vol. 94: 1392–93.
52. Zaytseva L.V., Nechaev A.P., Bessonov V.V. Транс-изомеры жирных кислот: история вопроса, актуальность проблемы, пути решения. Moscow : DeLi plus, 2012. 56 p. (in Russian)
53. Perova N.V., Metel'skaya V.A., Boitsov S.A. Trans isomers of unsaturated fatty acids increase the risk of atherosclerosis-related circulatory system diseases. [Therapeutic Archive]. 2013; Vol. 9: 113–7. (in Russian)
54. Perova N.V., Metel'skaya V.A., Sokolov E.I., Schukina G.N. et al. Dietary fatty acids. Effects on the risk of cardiovascular diseases. *Rational Pharmacotherapy in Cardiology*. 2011; Vol. 7 (5): 620–7. (in Russian)
55. Koletzko B. Trans fatty acids may impair biosynthesis of longchain polyunsaturates and growth in man. *Acta Paediatr.* 1992; Vol. 81: 302–6.
56. Mensink R.P., Katan M.B. Effect of dietary trans fatty acids on high-density and low-density lipoprotein cholesterol levels in subjects. *N Engl J Med.* 1990; Vol. 323: 439–45.
57. Sundram K., Ismail A., Hayes K.C., Jeyamalar R. et al. Trans (elaidic) fatty acids adversely affect the lipoprotein profile relative to specific saturated fatty acids in humans. *J Nutr.* 1997; Vol. 127: 514S–20S.
58. Zock P.L., Katan M.B. Hydrogenation alternatives: effects of trans fatty acids and stearic acid versus linoleic acid on serum lipids and lipoproteins in humans. *J Lipid Res.* 1992; Vol. 33: 399–410.
59. Fattore E. et al. Palm oil and blood lipid-related markers of cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis of dietary intervention trials. *Am J Clin Nutr.* 2014; Vol. 99 (6): 1331–50.
60. Mancini A., Imperlini E., Nigro E., Montagnese C., et al. Biological and nutritional properties of palm oil and palmitic acid: effects on health. *Molecules.* 2015; Vol. 20: 17339–61.
61. Rosqvist F., Iggman D., Kullberg J., Cedernaes J. et al. Overfeeding polyunsaturated and saturated fat causes distinct effects on liver and visceral fat accumulation in humans. *Diabetes.* 2014; Vol. 63: 2356–68.
62. Forouhi N.G., Koulman A., Sharp S.J., Imamura F., et al. Differences in the prospective association between individual plasma phospholipid saturated fatty acids and incident type 2 diabetes: the EPIC-InterAct case-cohort study. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2014; Vol. 2: 810–8.
63. Bjermo H., Iggman D., Kullberg J., Dahlman I., et al. Effects of n-6 PUFAs compared with SFAs on liver fat, lipoproteins, and inflammation in abdominal obesity: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 2012; Vol. 95: 1003–12.
64. Filippou A., Teng K.-T., Berry S.E. Sanders T.A.B. Palmitic acid in the sn-2 position of dietary triacylglycerols does not affect insulin secretion or glucose homeostasis in healthy men and women. *Eur J Clin Nutr.* 2014; Vol. 68: 1036–41.
65. Titov V.N., Lysitsin D.M. Fatty acids. Physical chemistry, biology and medicine. Moscow; Tver : Triada Publishing House, 2006: 672 p.
66. Innis S.M., Quinlan P., Diersen-Schade D. Saturated fatty acid chain length and positional distribution in infant formula: effects on growth and plasma lipids and ketones in piglets. *Am J Clin Nutr.* 1993; Vol. 57: 382–90.
67. Nelson C.M., Innis S.M. Plasma lipoprotein fatty acids are altered by the positional distribution of fatty acids in infant triacylglycerols and human milk. *Am J Clin Nutr.* 1999; Vol. 70: 62–9.
68. Hayes K.C. Replacing trans fat: the argument for palm oil with a cautionary note on interesterification. *J Am Coll Nutr.* 2010; Vol. 29 (3): 253S–84S.
69. Leite M.E., Lasekan J., Baggs G. et al. Calcium and fat metabolic balance, and gastrointestinal tolerance in term infants fed milk-based formulas with and without palm olein and palm kernel oils: a randomized blinded crossover study. *BMC Pediatrics.* 2013; Vol. 13: 215.
70. Koo W.K., Hammami M., Margeson D.P. et al. Reduced bone mineralization in infants fed palm olein-containing formula: A Randomized, Double-Blinded, Prospective Trial. *Pediatrics.* 2003; Vol. 111: 1017–23.
71. Hensley K., Benaksas E.J., Bolli R., Comp P. et al. New perspectives on vitamin E: gamma-tocopherol and carboxyethyl-hydroxychroman metabolites in biology and medicine. *Free Radic Biol Med.* 2004; Vol. 36: 1–15.
72. Parker R.A., Pearce B.C., Clark R.W., Gordon D.A. et al. Tocotrienols regulate cholesterol production in mammalian cells by post-transcriptional suppression of 3-hydroxy-3-methylglutarylcoenzyme A reductase. *J Biol Chem.* 1993; Vol. 268: 11230–8.
73. Pearce B.C., Parker R.A., Deason M.E., Qureshi A.A. et al. Hypocholesterolemic activity of synthetic and natural tocotrienols. *J Med Chem.* 1992; Vol. 35: 3595–606.
74. Nesaretnam K., Guthrie N., Chambers A.F., Carroll K.K. Effect of tocotrienols on the growth of a human breast cancer cell line in culture. *Lipids.* 1995; Vol. 30: 1139–43.
75. Khanna S., Roy S., Slivka A., Craft T.K. et al. Neuroprotective properties of the natural vitamin E alpha-tocotrienol. *Stroke.* 2005; Vol. 36: 2258–64.
76. Taib I.S., Budin B., Ghazali A.R. et al. Fenitrothion alters sperm characteristics in rats: ameliorating effects of palm oil tocotrienol-rich fraction. *Exp Anim.* 2014; Vol. 63 (4): 383–94.

ОБЗОРЫ

77. Ahsan H., et al. Pharmacological potential of tocotrienols: a review. *Nutr Metab.* 2014; Vol. 11: 52.
78. Bessonov V.V., Zaitseva L.V., Stepanova L.I., Baikov V.G. Oxidative and hydrolytic deterioration of palm oil and fat products under various conditions of storage and transportation. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2012: Vol. 4: 418–23. (in Russian)
79. Romano R., Giordano A., Vitiello S. et al. Comparison of the frying performance of olive oil and palm superolein. *J Food Sci.* 2012; Vol. 77: C519–31.
80. Xian T.K., Omar N.A., Ying L.W. et al. Reheated palm oil consumption and risk of atherosclerosis: evidence at ultrastructural level. *Evid. Based Complement Alternat Med.* 2012. Article ID 828170. doi: 10.1155/2012/828170.

Для корреспонденции

Коротко Геннадий Феодосьевич – доктор биологических наук, профессор, научный консультант ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 2» Министерства здравоохранения Краснодарского края
 Адрес: 350012, г. Краснодар, ул. Красных партизан, д. 6, корп. 2
 Телефон: (918) 462-77-78
 E-mail: korotko@rambler.ru

Г.Ф. Коротко

Типы пищеварения при грудном вскармливании детей: возвращение к проблеме

Types of digestion in breast feeding: returning to the problem

G.F. Korot'ko

During the breast feeding the hydrolysis of breast milk nutrients in natural conditions provides by milk enzymes, digestive gland secrets and intestinal epitheliocyte as autolytic induced digestion with following including and development of auto-digestion in hydrolysis of milk lipids and proteins. Milk lactose is hydrolyzed as a type of auto-intestinal digestion. Breast glands release enzymes according to a year lactation dynamics. The mechanism of hydrolase recreation from the mother's blood takes part in milk hydrolase origin.

Keywords: types of digestion, breast feeding, breast milk, milk hydrolase

ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 2» Министерства здравоохранения Краснодарского края, Краснодар
 Region Clinic Hospital # 2, Krasnodar

На этапе вскармливания младенцев гидролиз нутриентов грудного молока в естественных условиях обеспечивается ферментами молока, секретов пищеварительных желез и кишечных эпителиоцитов по типу аутолитического индуцированного пищеварения с последующим включением и повышением значимости собственного пищеварения в гидролизе липидов и белков молока. Лактоза молока гидролизуется по типу собственного кишечного пищеварения. Выделение ферментов молочными железами имеет характерную динамику в течение отслеженной годовой лактации. В происхождении гидролаз молока ключевую роль играет механизм рекреации их из крови кормящей ребенка грудью матери.

Ключевые слова: типы пищеварения, грудное вскармливание ребенка, грудное молоко, гидролазы молока

В одной из своих ранних монографий А.М. Уголев [1] назвал 3 типа пищеварения: собственное, производимое ферментами пищеварительных желез и кишечных эпителиоцитов макроорганизма, симбионтное – посредством ферментов микробиоты и аутолитическое – гидролиз нутриентов пищи ее же ферментами. Спустя несколько лет он ввел понятие «индуцированный аутолиз пищи» [2]. Суть его состоит в том, что условия в пищеварительном тракте индуцируют самопереваривание пищи ее ферментами. В роли индуктора для примера была названа кислая среда полости желудка. По результатам работы по самоперевариванию нативной и денатурированной мышечной ткани желудочным соком было сделано заключение: «...организм-ассимилятор индуцирует расщепление структур пищевого объекта его собственными ферментами, активируя последние и создавая для них оптимальные условия среды, в том числе рН» [3]. Обсуждая возможности самопереваривания пищи, А.М. Уголев [3] назвал переваривание пищевых веществ молока его же ферментами, что ранее постулировалось российским педиатром М.С. Масловым (в своей публикации он назвал и зарубежных коллег) [4]. В настоящее время дан-

ный постулат общепринят [5–9]. Однако механизм индуцированного аутолитического пищеварения при грудном вскармливании ребенка, насколько нам известно, рассматривался, и настоящая публикация посвящена этой имеющей теоретическое и прикладное значение проблеме.

Гидролитические ферменты грудного молока человека

Грудное молоко человека содержит большое число биологически активных веществ с разнообразными, преимущественно защитными свойствами [8, 10–14], в том числе ферментов. Менее значителен в молоке набор гидролитических ферментов, участвующих в переваривании пищевых веществ самого молока, т.е. в аутолитическом пищеварении в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) вскармливаемого материнским молоком ребенка. Тем не менее грудное молоко содержит ферменты для гидролиза основных нутриентов – липидов, углеводов и белков: липазы, карбогидразы и протеазы.

Ранее и более остальных ферментов педиатров заинтересовала липолитическая активность грудного молока [4, 15–17]. Это может найти объяснение в достаточно высоком содержании в молоке липидов, которые выполняют роль энергетических и пластических веществ в организме, вскармливаемом материнским молоком, обладают антибактериальными, противовирусными и антимикозными свойствами [18]. Отмечены многие функциональные нарушения у младенца, вскармливаемого молоком с низким содержанием липидов [6, 19, 20]. Немаловажным свойством липидов является обус-

ловленная многими причинами вариабельность их содержания в молоке, нестабильность при его хранении, приводящая к появлению горького вкуса из-за ферментной деградации [18]. Аутолиполиз имеет место при практическом отсутствии панкреатической липазы в ранний постнатальный период. Исследования показали, что аутолиполиз молока можно отнести к индуцированному аутолитическому пищеварению: липиды молока при определенных условиях перевариваются его же липазой. Такими индуцирующими условиями являются начальное действие лингвальной и желудочной липаз в липидной глобуле, куда они проникают из-за своей гидрофобности, а затем ведут липолиз в желудке, и последующее основное гидролитическое действие на липиды молока ее липазы в двенадцатиперстной кишке при обязательном содействии этому солей желчных кислот. Это отличает липазу молока от лингвальной, желудочной и панкреатической, определив название липазы молока как зависимой от наличия солей желчных кислот. Липаза молока производит гидролиз триглицеридов при pH 5,2–9,8 [21]. Упрощенная версия этого процесса представлена на рис. 1.

Липиды, в основном триглицериды, покидают лактоцит по механизму апокриновой секреции, будучи заключены в оболочку плазмолеммы апикальной части эпителиоцита в виде липидной глобулы-капли. Липидные глобулы лактоцитов грудных желез в составе молока в полости желудка «атакуются» липазами слюны и желудочного сока, куда они могут проникать из-за своей гидрофобности. Основной липолиз липазами молока происходит в тонкой кишке, откуда абсорбируются конечные продукты липолиза, а также продукты гидролиза мембраны липидных глобул.

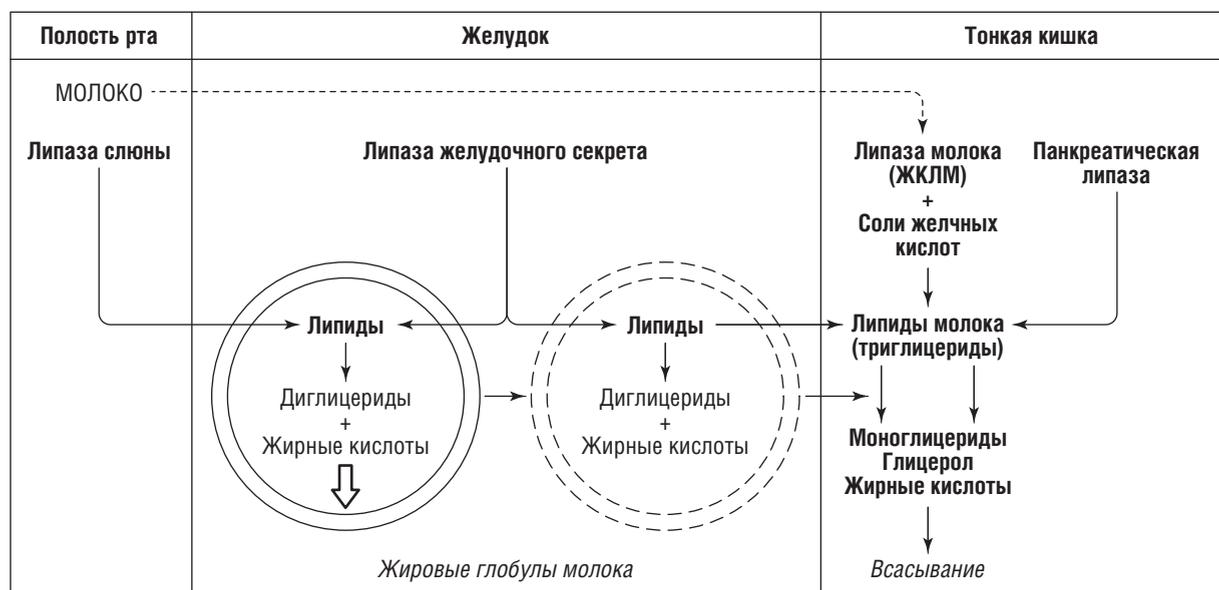


Рис. 1. Гидролиз липидов молока

Таблица 1. Ферментативная активность грудного молока в зависимости от срока лактации ($n=62$; $M \pm m$) [22]

Месяцы	Пепсиноген, тир. ед/мл	Амилаза, ед/мл	Липаза, ед/мл
1-й	21,0±1,2	98,1±6,5	3,4±0,2
2-й	19,2±1,2	86,1±5,1	3,4±0,2
3-й	18,6±1,0	83,4±4,1	3,4±0,2
4-й	24,3±1,5	70,9±5,5	3,0±0,2
5-й	19,4±1,3	62,4±3,1	4,1±0,2
6-й	18,8±0,9	62,3±3,1	4,1±0,2
7-й	20,7±1,2	62,1±2,9	3,3±0,2
8-й	18,0±0,8	54,8±3,1	3,3±0,1
9-й	15,0±0,7	55,6±3,6	3,3±0,1
10-й	10,0±0,5	45,2±2,6	3,2±0,1
11-й	10,7±0,6	39,8±2,6	3,0±0,1
12-й	7,8±0,8	26,1±0,5	2,4±0,1

Примечание. Методы определения: трипсиноген и ингибитор трипсина по методу Эрлангера в модификации В.А. Шатерникова [23], субстрат – бензол-D₁-аргининпаранитроанилид. Пепсиноген – модифицированный метод В.Л. Hirschowitz [24], субстрат – сухая плазма крови. Амилаза – амилокластический метод В.В. Smith, J.H. Roe [25], субстрат – растворимый крахмал. Липаза – модифицированный трибутирный метод в модификации Ф.А. Абдуллаева [26].

В целом аутолизис липидов молока его липазой требует индукции данного процесса лингвальной и желудочной липазами в липидной глобуле, в полости желудка и тонкой кишки в широком диапазоне рН среды.

При этом желудочная и лингвальная липазы в результате гидролиза триглицеридов образуют в основном диглицериды и жирные кислоты, панкреатическая липаза – моноглицериды и жирные кислоты, липаза молока – жирные кислоты и глицерин [12].

Участие липазы молока в пищеварении младенца косвенно подтверждается тем, что липолитическая активность молока, судя по средним данным достаточно большой группы кормящих женщин, в отличие от других ферментов молока существенно не снижается на протяжении года кормления грудью (табл. 1).

Впрочем липолитическая активности молока в годовой динамике лактации снижается, если в 1-й месяц она была высокой. При низкой и средней липолитической активности молока в 1-й месяц лактации в последующие месяцы данная активность нарастает и не снижается даже во второй половине года, когда детей переводят на смешанное вскармливание (рис. 2). Механизм данного установленного нами явления требует специального изучения как одно из регуляторных проявлений в системе мать–ребенок в период грудного вскармливания.

Значимость данного явления в обеспечении организма ребенка продуктами липолиза велика, так как экзосекреция панкреатических ферментов в этот период остается низкой, что в большой мере касается секреции липазы поджелудочной железой [28]. Это тем более необходимо для оптимизации гидролиза пептидов в тонкой кишке из-за торможения его негидролизованной триглицеридами [29]. В обеспечении гидролиза в этот период, как показано выше, существенна роль липазы грудного молока.

Многоцелевой состав белков грудного молока весьма сложен. Одни из них играют роль иммунопротекторов (SlgA, IgM, IgG), защитную (лактоферрин) и антибактериальную (лизоцим) роль, другие – роль нутриентов (казеин), различных ферментов и, наконец, гормонов. Защитные свойства белков утрачиваются при протеолизе, что объясняет содер-

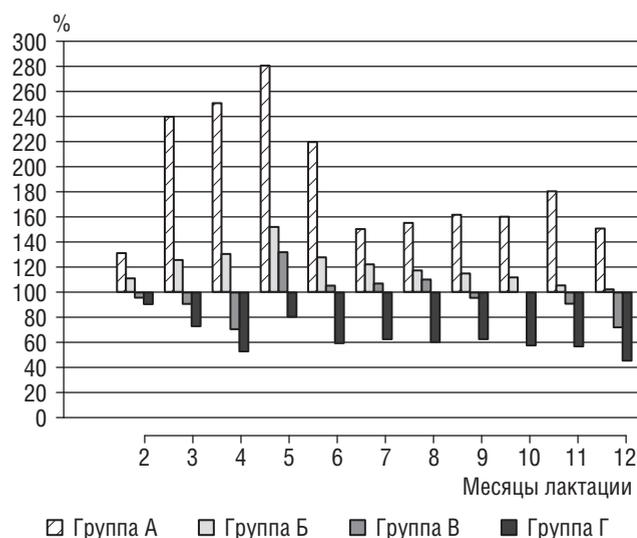


Рис. 2. Изменение активности липазы в грудном молоке женщин в течение года лактации в зависимости от исходной липолитической активности молока (в % к показателю 1-го месяца)

Группы: А (14 человек) – 0–60 ед/мл; Б (20 человек) – 61–100 ед/мл; В (22 человека) – 101–180 ед/мл; Г (6 человек) – 181 ед/мл и выше.

Таблица 2. Содержание ферментов в молозиве родильниц в 1-ю неделю лактации ($n=20$, $M\pm m$) [22]

Дни лактации	Пепсиноген, тир. ед/мл	Трипсиноген, миллиед/мл	Антитрипсин, миллиед/мл
1-й	51,6±6,4	4,0±1,2	2,9±0,7
3-й	45,7±4,1	0,8±0,2	1,3±0,6
6-й	31,6±2,7	1,3±0,3	1,5±0,5

Таблица 3. Содержание трипсиногена в грудном молоке в 1–5-й месяцы лактации 62 женщин разного возраста ($M\pm m$, миллиед/мл)

Месяц лактации	Возраст женщин		
	19–25 лет	26–30 лет	31–40 лет
1-й	9,3±1,6	7,0±2,9	4,9±2,3
2-й	6,9±1,3	5,5±1,4	4,1±1,3
3-й	5,3±0,9	4,0±1,3	2,1±1,2
4-й	4,4±0,6	2,5±2,1	1,3±1,0
5-й	2,4±0,6	1,4±0,7	0,4±0,3

жание в молоке зимогенной формы протеаз (пепсиногена, трипсиногена) и его антитриптическую активность. Их содержание, наивысшее в молозиве, существенно снижается в течение 1-й недели лактации (табл. 2) с последующим более медленным достижением минимума в конце годового (см. табл. 1) и полугодового (табл. 3) периода лактации, когда в кишечный протеолиз включаются ферменты желез желудка, поджелудочной железы и тонкой кишки. Немаловажно, что лизису защитных белков молока препятствует их гликозилированность.

Мы обратили внимание на зависимость содержания трипсиногена в грудном молоке от возраста

кормящих матерей: чем они старше, тем содержание профермента ниже не только в первый, но и в последующие месяцы лактации (см. табл. 3). Этого не выявлено по другим гидролазам молока.

Содержание в молоке второй зимогенной протеазы – пепсиногена – также постепенно снижается с увеличением срока лактации (см. табл. 1). Однако если в 1-й месяц лактации содержание пепсиногена в молоке очень низкое, то в последующие 9 мес наблюдается его почти двукратное повышение (рис. 3, группа А).

Не столь низкое содержание пепсиногена в молоке в 1-й месяц лактации сопровождается менее значительным и длительным его повышением в последующие месяцы (см. рис. 3, группа Б). И наконец при более высоком содержании пепсиногена в молоке 1-го месяца лактации наблюдалось снижение его содержания тем значительнее, чем оно было выше в 1-й месяц (группы В, Г).

Обращает на себя внимание тот факт, что при очень низком содержании в молоке пепсиногена (рис. 4, группа А) уровень трипсиногена в течение 4 мес лактации повышен в 2,5 раза. В последующие месяцы лактации он снижается до минимальных величин (рис. 4).

Есть основание рассматривать обнаруженную закономерность как проявление связи секреции двух зимогенов протеаз молочными железами – выполнения ими пептического и триптического протеолиза в желудке и тонкой кишке. Данный протеолиз может быть отнесен к аутолитическому индуцированному пищеварению, если белки не гликозилированы, т.е. доступны для деградации их протеазами. В роли индукторов аутопротеолиза для пепсиногена выступают кислая среда в полости желудка и образовавшийся в ней пепсин (еще с фетальными свойствами данного фермента). Для индукции трипсиногена молока могут иметь

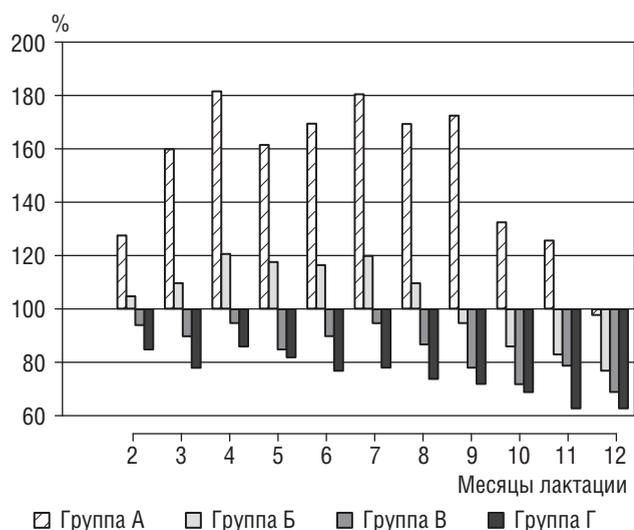


Рис. 3. Динамика содержания пепсиногена в грудном молоке женщин в течение года лактации в зависимости от исходного уровня (в % к показателю 1-го месяца)

Группы: А (8 человек) – до 10 тир. ед/мл; Б (23 человека) – 11–20 тир. ед/мл; В (20 человек) – 21–30 тир. ед/мл; Г (11 человек) – 31 тир. ед/мл и выше.

значение в разное время энтеропептидаза и панкреатический трипсин. По результатам корреляционного анализа содержание в молоке пепсиногена и трипсиногена за весь период лактации имеет обратную зависимость [22, 27].

Не защищен от аутопротеолиза казеин молока, гидролизуемый как белковый нутриент в желудке и тонкой кишке активированными протеазами молока (по типу аутолитического индуцированного пищеварения) и собственными желудочными, панкреатическими гидролазами до стадии олигопептидов, а также кишечными пептидазами до абсорбируемых аминокислот (рис. 5).

Нельзя не заметить, что в ЖКТ происходит ограниченный протеолиз с образованием физиологически активных пептидов. Данный протеолиз может относиться к эффектам не только протеаз пищеварительных желез, но и молока. Во всяком случае обращается внимание на образование из казеина грудного молока в ЖКТ младенца бета-казеинорфинов [12]. Они, будучи опиоидными агонистами, имеют многие физиологические эффекты, в том числе снижение болевой чувствительности.

Известно, что грудное молоко содержит большое количество биологически активных веществ [10, 12, 18], в том числе несколько регуляторных пептидов, например лептин, проявляющий многие эффекты, в том числе регулирующий аппетит [30], что может иметь значение в формировании насыщения. Как известно, лептин образуется в желудке и адипоцитах жировой ткани [30], и в грудном молоке он, возможно, происходит из адипоцитов грудных желез кормящей матери. Однако происхождение лептина молока не установ-

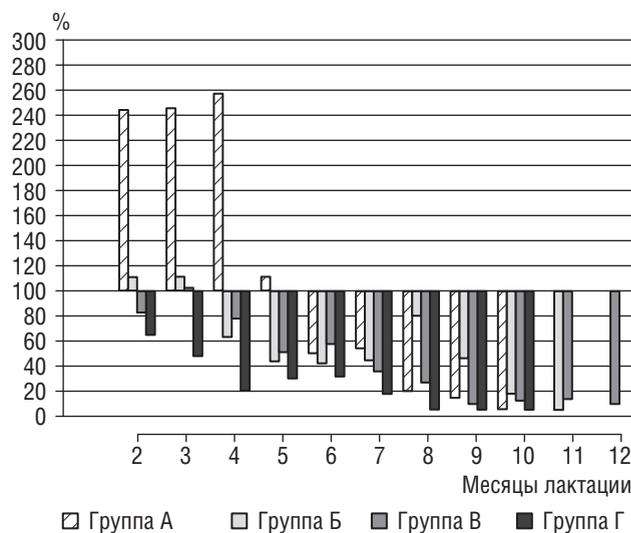


Рис. 4. Динамика содержания трипсиногена в грудном молоке женщин в течение 1 года лактации в зависимости от исходного уровня пепсиногена (в % к показателю 1-го месяца)

Группы: А (8 человек) – до 10 тир. ед/мл; Б (23 человека) – 11–20 тир. ед/мл; В (20 человек) – 21–30 тир. ед/мл; Г (11 человек) – 31 тир. ед/мл и выше.

лено, а лептины желудочных желез и адипоцитов функционально различаются.

Основным углеводом молока, требующимся для всасывания предварительного гидролиза, является дисахарид лактоза. Ее содержание в зрелом молоке относительно стабильно, будучи ниже в молозиве. Лактоза женского молока представлена в основном бета-формой. Она не успевает полностью гидролизоваться в тонкой кишке, достигает

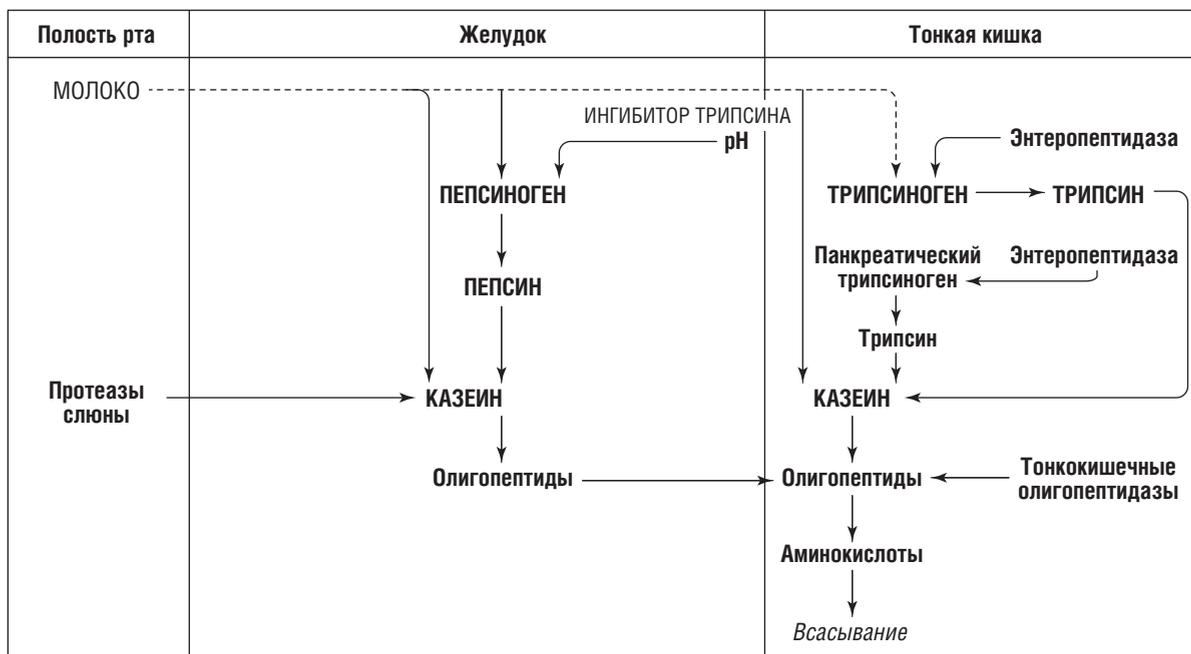


Рис. 5. Гидролиз казеина молока

толстой кишки, где используется ее микрофлорой. Энергетическая значимость лактозы невелика, но она важна для многих органов младенца, особенно для формирования скелета, так как усиливает всасывание кальция в кишечнике [12]. Кроме того, лактоза осмотически активна, что важно в транспорте воды и электролитов.

У человека лактазная активность слизистой оболочки тонкой кишки обнаруживается на 3-м месяце внутриутробного развития и достигает 70% таковой у новорожденного. Далее нарастает вплоть до перехода ребенка на дефинитивное питание, при котором повышается сахаразная активность тонкокишечной слизистой оболочки при синхронном снижении лактазной активности. Тем не менее у здорового человека она достаточно велика. Описанная закономерность объясняет снижение лактазной активности грудного молока, более того, ее наличие в молоке может стать причиной ферментной деградации лактозы молока. Видимо, аутолитическое пищеварение и его индукция не имеют места в переваривании углеводов грудного молока.

Наличие амилазы в грудном молоке обнаружено более века назад, и физиологическое ее назначение долгое время считалось непонятным. В настоящее время общепринято, что амилазная активность грудного молока важна с началом прикорма ребенка, так как молочные смеси и продукты прикорма содержат гидролизующие амилазой полисахариды (крахмал) и олигосахариды, а данного фермента недостаточно поступает в ЖКТ ребенка в составе слюны и панкреатичес-

кого сока [27]. Амилаза молока имеет оптимум pH от 4,5 до 7,5, относительно устойчива при pH 3, что сохраняет ее активность в желудочном пищеварении, а от гидролиза пепсином она защищена белками молока [12].

Амилолитическая активность максимальна у молозива и зрелого молока ранних сроков лактации, затем она снижается до 25% от начальной величины к концу года лактации [22, 27]. Отмечена описанная выше закономерность: если у кормящих женщин амилазная активность молока в 1-й месяц лактации низка, то в последующие месяцы (вплоть до 10-го месяца) она нарастает (рис. 6). У большинства женщин отмечено ее снижение по месяцам лактации, и чем выше активность в ранние сроки лактации, тем в большей мере она снижена в последующие месяцы лактационного периода (имея в конце года грудного вскармливания 20–25% от своей начальной амилазной активности, см. табл. 1).

Молочные железы формируют свой секрет посредством нескольких клеточных механизмов: синтез и экзоцитоз (экструзия) лактоцитами секреторных продуктов – нутриентов молока (казеина, лактозы, липидов) и ряда биологически активных веществ; двусторонний апикальный транспорт воды и электролитов; трансцитоз (базолатеральный эндо- и апикальный экзоцитоз) многих физиологически активных веществ, в том числе гормонов и ферментов; двусторонний парацеллюлярный (межклеточный) транспорт [31].

Происхождение гидролаз грудного молока

Постулируются несколько механизмов происхождения гидролаз в молоке. Во-первых, синтез гидролаз секреторным эпителием молочных желез – лактоцитами их альвеол; во-вторых, лейкопедез лейкоцитов, содержащих многие гидролазы; в-третьих, рекреция путем трансцитоза гидролаз и их зимогенов молочными железами из крови кормящих женщин [32]. При нарушении межклеточных контактов лактоцитов ферменты из крови поступают в состав молока и парацеллюлярно [31]. Посредством трансцитоза в состав молока включаются многие крупномолекулярные вещества (глобулины, лактоферрин, факторы роста, полиненасыщенные жирные кислоты, гормоны и др.). Часть гидролаз в плазме крови адсорбирована ее белками, и в виде комплекса с ними они могут транспортироваться в состав молока. Их содержание наиболее высокое в молозиве, когда лактоциты еще недостаточно дифференцированы и не полностью сформированы межклеточные контакты [31]. Рекреторный механизм транспорта ферментов молочными железами и рекреция ферментов другими железами стали предметом

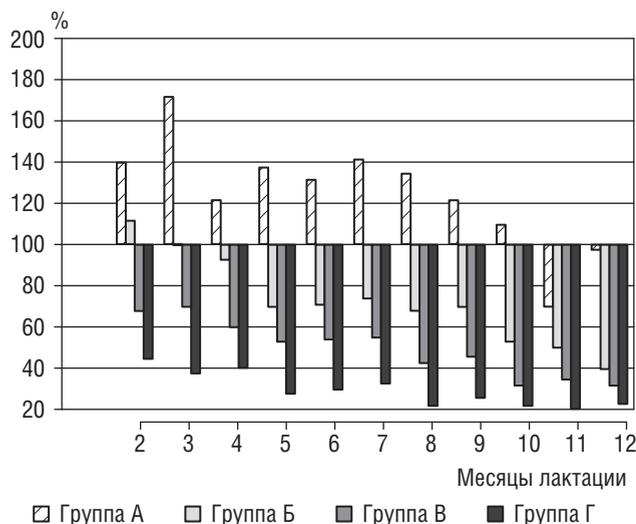


Рис. 6. Изменение активности амилазы в грудном молоке женщин в течение года лактации в зависимости от ее исходного уровня (в % к показателю 1-го месяца) [27]

Группы: А (10 человек) – 0–2,0 ед/мл; Б (18 человек) – 2,1–3,0 ед/мл; В (18 человек) – 3,1–4,0 ед/мл; Г (16 человек) – 4,1 ед/мл и выше.

наших многолетних исследований, позволивших заключить, что рекреция ферментов из крови является свойством пищеварительных и непищеварительных желез [32, 33]. В крови гидролитические ферменты происходят, как известно, из пищеварительных желез посредством разных механизмов: инкреция glanduloцитов, резорбция из протоков желез и тонкой кишки [32].

Гидролитическая активность и содержание ферментов и зимогенов протеаз в грудном молоке невелики. Тем не менее амилитическая активность молока в 3–4 раза выше, чем сыворотки крови, липолитическая активность – в 3–5 раз, содержание пепсиногена в молоке – в 2–2,5 раза ниже, чем в плазме крови. При этом ферментативные активности молока – реальный участник гидролиза нутриентов по типу индуцированного аутолитического пищеварения [3] и неаутолитического гидролиза экзогенных нутриентов (например, крахмала амилазой молока, см. выше).

Рекреция ферментов железами, будучи по механизму активного транспорта трансцитозом, зависит от концентрации в крови солибилизованных (в основном) и адсорбированных белками ее плазмы ферментов, а также от секреторной активности разных типов glanduloцитов. Поэтому возможно влияние на рекрецию ферментов путем изменения их концентрации в крови и секреторной активности glanduloцитов (секреторных эпителиоцитов, в данном случае – лактоцитов). Наиболее адекватным количественным показателем рекреции ферментов является их дебит. При относительно постоянном объеме секреции (лактации) и учете ее за относительно длительный период показателем рекреции ферментов может являться их концентрация или активность секрета (молока).

Исходя из этого для доказательства рекреторного механизма происхождения ферментов в молоке в экспериментах на лактирующих беспородных собаках нами было измерено изменение их содержания или активности в молоке в ответ на повышение (гиперферментемия) или понижение (гипоферментемия) уровня гидролаз в крови.

В опытах на лактирующих собаках гиперамилемия вызывалась внутривенным введением амилазы (5 мг в 10 мл физиологического раствора). В результате этого амилитическая активность плазмы крови повышалась с 43–49 до 60–77 ед/мл, амилитическая активность молока – с 32–49 до 60–74 ед/мл. Аналогичные результаты были ранее получены в другом исследовании [34]. Внутривенное введение пепсиногена (5 мг в 10 мл физиологического раствора) через 30 и 60 мин вызывало двукратное повышение его содержания в плазме крови, а через 2 ч – двукратное и длительное повышение содержания пепсиногена в молоке [35]. Лигирование панкреатического протока в экспериментах на лактирующих соба-

ках последовательно вызывало панкреатическую гипер-, а затем гипоферментемия, так же изменялась ферментативная активность молока экспериментальных животных [35]. Резекция желудка, вызывавшая гипопепсиногемия, прекращала лактацию.

Рекреторное происхождение гидролаз молока отражает одну из сторон связи системы пищеварения и лактации. Такая связь многогранна, в частности при сосании раздражением соска груди рефлекторно стимулируется посредством гипоталамо-гипофизарной системы лактация и оттоком молока из железы за счет сокращения миоэпителиоцитов ее альвеол и протоков под влиянием окситоцина. При этом усиливаются секреция слюнных, желудочных и поджелудочной желез, моторика желудка и кишечника [36]. Влияния распространены на ферментовыделение пищеварительными железами, транспорт ферментов в лимфо- и кровотоки [37]. Мы отмечали повышение секреции ферментов поджелудочной железы под влиянием окситоцина [37]. Он, как недавно показано [38], является миолитиком клапанов протоков поджелудочной железы, что повышает давление секрета в протоках и транспорт из них гидролаз в системный кровоток. При лактации это может выступать одним из механизмов повышения содержания и выделения панкреатических ферментов в составе молока. Нам представляется, что данный проблемный вопрос заслуживает дальнейшего специального экспериментального и клинического исследования.

Заключение

В индивидуальном пре- и постнатальном развитии человека совмещены и последовательно сменяются типы питания макроорганизма и обеспечивающего его пищеварения [1, 3, 10, 11, 39, 40]. С развитием у плода во второй половине беременности пищеварительного тракта он поглощает амниотическую жидкость, содержащую нутриенты, гидролиз которых осуществляется посредством внутриклеточного и пристеночного пищеварения ферментами тонкой кишки, а также полостного пищеварения – ферментами околоплодных вод и фетальными ферментами формирующихся и развивающихся пищеварительных желез. Эти процессы в разной степени представлены по срокам гестации.

Амниотрофия, совмещенная с трансплацентарной гемотрофией, не может удовлетворить пластические и энергетические потребности макроорганизма плода, так как околоплодные воды имеют низкое содержание нутриентов. Амниотрофия играет трофогенную роль для пищеварительного тракта плода, в основном многофункциональных

эпителиоцитов его слизистой оболочки, тем более что околоплодные воды содержат биологически активные вещества, в том числе факторы роста. Таким образом, амниотрофия с аутолитическим и собственным пищеварением подготавливает систему пищеварения к последующему лакто-трофному питанию – лактотрофии родившегося младенца.

В ранние сроки грудного вскармливания ребенка, когда секреторная деятельность пищеварительных желез, их ферментовыделение минимальны, доминирует аутолитическое пищеварение, оно нарастает в варианте индуцированного. Затем со снижением ферментативной активности молока все большую значимость в ЖКТ ребенка имеет собственное пищеварение. Немаловажно, что индуцированное аутолитическое пищеварение наиболее представлено в липолизе молока, менее – в протеолизе, а гидролиз лактозы происходит только по типу собственного пищеварения в тонкой кишке ребенка по типу пристеночного пищеварения [3, 29, 41, 42]. Следовательно, аутолитическое пищеварение свойственно деградации не всех видов нутриентов, т.е. данный тип пищеварения нельзя относить к лактотрофии в целом. Можно заметить, что в ранние сроки вскармливания ребенка (прежде всего новорожденного) ферментная индукция еще мало выражена, затем она становится все более значимой. И наконец с уменьшением ферментативной активности молока и практически ее пре-

кращением ферментные индукторы роль таковых не выполняют и переходят в факторы, реализующие собственное пищеварение.

По-видимому, немаловажно, что синтезируемые пищеварительными железами плода и новорожденного фетальные гидролазы отличаются от таковых взрослого организма субстратной специфичностью и оптимальными условиями гидролиза соответствующих субстратов [27, 29]. С учетом этого должна моделироваться заместительная ферментная терапия младенцев при их смешанном и искусственном вскармливании.

Доказано, что при смешанном и искусственном вскармливании ребенка нарастает секреторная, в том числе ферментовыделительная деятельность пищеварительных желез, адаптивно изменяются свойства гидролаз их секретов [27]. Этим определяются возможность собственного пищеварения и готовность к эффективному пожизненному дефинитивному питанию ребенка, подростка, взрослого человека. По А.М. Уголеву: «В целом начальные стадии пищеварения следует характеризовать как комплексный процесс, состоящий из эффективной обработки пищевых структур ферментами организма-ассимилятора и механизма индуцированного аутолиза, изучение которого делает свои первые шаги» [3]. Это положение в полной мере относится и к настоящему периоду развития научных представлений об онтогенезе пищеварения как естественной технологии [30, 43], оставаясь актуальным в теоретическом и прикладном значении.

Литература

1. Уголев А.М. Пищеварение и его приспособительная эволюция. М. : Высшая школа, 1961. 306 с.
2. Уголев А.М., Цветкова В.А. Индуцированный аутолиз как важный механизм начальных стадий пищеварения в естественных условиях // Физиол. журн. СССР. 1984. Т. 70. С. 1542–1550.
3. Уголев А.М. Эволюция пищеварения и принципы эволюции функций. Элементы современного функционализма. Л. : Наука, 1985. 544 с.
4. Маслов М.С. Учебник детских болезней. Л. : Медицина, 1953. 512 с.
5. Баранов А.И., Климанская Г.В., Римарчук Г.В. Детская гастроэнтерология. М., 2003. 1029 с.
6. Володин Н.Н. (гл. ред.) Неонатология : нац. рук. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2007. 848 с.
7. Конь И.Я., Гмошинская М.В., Фатеева Е.М. Основы естественного вскармливания детей первого года жизни // Тутельян В.А., Конь И.Я. Детское питание : рук. для врачей. 2009. Ч. II, гл. 1. С. 277–339.
8. Тутченко Л.И. Еще раз о феномене грудного вскармливания // Здоровье Украины. 2013. № 2 (25). С. 14–116.
9. Шабалов Н.П. (гл. ред.) Неонатология. 4-е изд. : в 2 т. М. : МЕДпресс-информ, 2006. Т. 1. 344 с.
10. Аршавский И.А., Немец М.П. О смене типов питания и пищеварения в онтогенезе // Успехи физиол. наук. 1996. Т. 27, № 1. С. 109–129.
11. Закс М.Г., Никитин В.Н. Онтогенез пищеварительной функции. Возрастная физиология // Руководство по физиологии. Л. : Наука, 1975. С. 263–312.
12. Hamosh M. Bioactive components in human milk // *Pediatr. Basics*. 2002. Vol. 99. P. 2–11.
13. Hamosh M. Breastfeeding: Unraveling the Mysteries of Mother's Milk // *Med. Gen. Med.* 1999. Vol. 1 (1). [Formerly published in *Medscape Women's Health e Journal*. 1996. Vol. 1 (5)]. URL: www.medscape.com/viewarticle/408813.
14. Newburg D.S. Oligosaccharides in human milk and bacterial colonization // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2000. Vol. 30. P. 8–17.
15. Chandan K.C., Shahani K.M. Purification and characterization on milk lipase. I. Purification // *J. Dairy Sci.* 1963. Vol. 46, N 4. P. 275–283.
16. Frankel E.N., Tarassuk N.P. Inhibition of lipase and lipolysis in milk // *J. Dairy Sci.* 1959. Vol. 42, N 3. P. 409–419.
17. Jensen R.G. (ed.) *Handbook of Milk Composition*. San Diego : Academic Press, 1995. 944 p.
18. Hamosh M. Enzymes of human milk // *Handbook of Milk Composition* / ed. R. Jencen. N.Y. Academic Press, 1995. P. 388–427.
19. Адамкин Девид Х. Стратегия питания младенцев с очень низкой массой тела при рождении / пер. с англ., под ред. Е.Н. Байбаринной. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013. 176 с.
20. Брокерхоф Х., Дженсен Р. Липолитические ферменты : пер. с англ. М. : Мир, 1978. 396 с.
21. Ширина Л.И., Мазо В.К. Система пищеварения ребенка, ее созревание // Тутельян В.А., Конь И.Я. Детское питание : рук. для врачей. 2009. Ч. I, гл. 3. С. 25–50.
22. Коротько Г.Ф., Мирзакаримов У.М. О гидролазах грудного молока // *Вестн. интенсив. терапии*. 2014. № 5. С. 75–80.
23. Шатерников В.А. Протеолитическая активность и содержание ингибитора трипсина в сыворотке крови и соке поджелудочной

- железы при хроническом панкреатите // *Вопр. мед. химии*. 1966. Т. 12, вып. 1. С. 103–105.
24. Hirsihowitz B.I. The control of pepsinogen secretion // *Ann. Acad. Sci.* 1967. Vol. 140, N 4. P. 709–723.
 25. Уголев А.М., Иезуитова Н.Н., Масевич Ц.Г. и др. Исследование пищеварительного аппарата у человека (Обзор современных методов). Л. : Наука, 1969. 216 с.
 26. Абдуллаев Ф.А. Модифицированный метод определения липолитической активности пищеварительных соков // *Материалы Второй республиканской конференции по клинической биохимии*. Ташкент, 1965. С. 45–48.
 27. Коротько Г.Ф. Система пищеварения и типы питания в онтогенезе. Краснодар : Традиция, 2014. 176 с.
 28. Коротько Г.Ф. Секрция ферментов поджелудочной железой // *Соврем. мед. наука*. 2013. № 3. С. 6–22.
 29. Уголев А.М., Тимофеева Н.М., Груздков А.А. Адаптация пищеварительной системы // *Физиология адаптационных процессов : рук. по физиологии*. М. : Наука, 1986. С. 371–480.
 30. Коротько Г.Ф. Пищеварение – естественная технология. Краснодар : Эдви, 2010. 304 с.
 31. Neville M.C. Milk secretion : an overview URL: //mammary.nih.gov/reviews/lactation/Neville001/21.09.2014.
 32. Коротько Г.Ф. Рециркуляция ферментов пищеварительных желез. Краснодар : Эдви, 2011. 144 с.
 33. Колодкина Е.В., Камакин Н.Ф. Гомеостаз инкретируемых ферментов у женщин при беременности и в период грудного вскармливания. Киров : Кировская ГМА, 2008. 156 с.
 34. Дегтярев В., Дегтярева Т.В. Амилолитическая активность молока // *Амилолитическая активность молока : Тез. докл. I конф. биохим. Ср. Азии Казахстана*. Ташкент, 1966. С. 128.
 35. Мирзакаримов У.М. Гидролитические ферменты женского молока в течение всего лактационного периода и их возможная роль в аутолитическом пищеварении и новорожденных детей : автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 1974. 30 с.
 36. Грачев И.И., Галанцев В.П. Физиология лактации, общая и сравнительная // *Руководство по физиологии*. Л. : Наука, 1973. 590 с.
 37. Коротько Г.Ф., Розин Д.Г. Влияние питуитрина и окситоцина на внешнесекреторную деятельность поджелудочной железы // *Мед. журн. Узбекистана*. 1976. № 2. С. 34–38.
 38. Восканян С.Э. Морфофункциональная организация поджелудочной железы и клинико-экспериментальные аспекты острого послеоперационного панкреатита : автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 2013. 48 с.
 39. Клиорин А.И. Некоторые возрастные особенности функций желудочно-кишечного тракта у детей // *Справочник по детской диететике / под ред. И.М. Воронцова, А.В. Мазурина*. Л. : Медицина, 1977. С. 5–11.
 40. Проссер Л.С. (ред.) Сравнительная физиология животных : пер. с англ. Т. 1. М. : Мир, 1977. 608 с.
 41. Рахимов К.Р. Механизмы усвоения лактозы в онтогенезе человека и животных. Ташкент : Изд. «ФАН» АН УзССР, 1991. 136 с.
 42. Тутьельян В.А., Конь И.Я. Детское питание : рук. для врачей. М. : Медицинское информгентство, 2009. 952 с.
 43. Уголев А.М. Естественные технологии биологических систем. Л. : Наука, 1987. 317 с.

References

1. Ugolev A.M. Digestion and its adoptive evolution. Moscow : High School, 1961: 306 p. (in Russian)
2. Ugolev A.M., Tsvetkova V.A. Induced autolysis as an important mechanism of initial digestive parts in natural conditions *Fiziologicheskii zhurnal SSSR [Physiol. Journal of USSR]*. 1984; Vol. 70: 1542–50. (in Russian)
3. Ugolev A.M. Digestive evolution and principles of function evolution. The elements of modern functionalism. Leningrad : Nauka, 1985: 544 p. (in Russian)
4. Maslov M.S. Textbook of children's diseases. Leningrad : Meditsina, 1953: 512 p. (in Russian)
5. Baranov A.I., Klimanskaya G.V., Rimarchuk G.V. Children's gastroenterology. Moscow, 2003: 1029 p. (in Russian)
6. Volodin N.N. (ch.ed.). Neonatology. National manual. Moscow : GEOTAR-Media, 2007: 848 p. (in Russian)
7. Kon' I.Ya., Gmoshinskaya M.V., Fateeva E.M. Basis of breast feeding in infants during the 1-st year of life // *Tytelyan V.A., Kon' I.Ya. Children's Feeding. Manual for Doctors*. 2009. Pt II, ch. 1: P. 277–339. (in Russian)
8. Tutchenko L.I. Once more about breast feeding phenomenon. [*Health of Ukraine*]. 2013; Vol. 2 (25): 14–116. (Ukrainian)
9. Shabalov N.P. (ch. ed.) Neonatology. 4th publ. 2 Vol. Moscow : MED press-inform, 2006; Vol. 1: 344 p. (in Russian)
10. Arshavskii I.A., Nemets M.P. Changing of feeding types in ontogenesis. [*Advances of Physiology*]. 1996; Vol. 27 (1): 109–29. (in Russian)
11. Zaks M.G., Nikitin V.N. Ontogenesis of digestive function. Aged physiology. In: *Manual of Physiology*. Leningrad : Nauka, 1975: 263–312. (in Russian)
12. Hamosh M. Bioactive components in human milk. *Pediatr Basics*. 2002; Vol. 99: 2–11.
13. Hamosh M. Breastfeeding: Unraveling the Mysteries of Mother's Milk. *Med Gen Med*. 1999; Vol. 1 (1). [Formerly Published in *Med-scape Women's Health e Journal*. 1996; Vol. 1 (5)]. URL: www.medscape.com/viewarticle/408813.
14. Newburg D.S. Oligosaccharides in human milk and bacterial colonization. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2000; Vol. 30: 8–17.
15. Chandan K.C., Shahani K.M. Purification and characterization on milk lipase. I. Purification. *J Dairy Sci*. 1963; Vol. 46 (4): 275–83.
16. Frankel E.N., Tarassuk N.P. Inhibition of lipase and lipolysis in milk. *J Dairy Sci*. 1959; Vol. 42 (3): 409–19.
17. Jensen R.G. (ed.) *Handbook of Milk Composition*. San Diego : Academic Press, 1995: 944 p.
18. Hamosh M. Enzymes of human milk. In: *Handbook of Milk Composition / ed. R. Jencen*. N.Y. Academic Press, 1995: 388–427.
19. Adamkin David X. The feeding strategy for infants with very low body weight / transl. from English, ed. E.N. Baibarina. Moscow : GEOTAR-Media, 2013: 176 p. (in Russian)
20. Brokerhof X., Jenecen R. Steatolytic enzymes : transl. from English. Moscow : Mir, 1978: 396 p. (in Russian)
21. Shirina L.I., Mazo V.K. Child digestive system, its maturation. In: *Tutelyan V.A., Kon' I.Ya. Children's Feeding. Manual for Doctors*. 2009. Pt. I, ch. 3: P. 25–50. (in Russian)
22. Korot'ko G.F., Mirzakarimov U.M. About breast milk hydrolase. [*Reporter of Intensive Therapy*]. 2014; Vol. 5: 75–80. (in Russian)
23. Shaternikov V.A. Proteolytic activity and tripsine inhibitor content in blood serum and pancreatic juice at chronic pancreatitis. [*Quest. of Med. Chemistry*]. 1966; Vol. 12 (1): 103–5. (in Russian)
24. Hirsihowitz B.I. The control of pepsinogen secretion. *Ann Acad Sci*. 1967; Vol. 140 (4): 709–23.
25. Ugolev A.M., Iezuitova N.N., Macevich Ts.G. et al. The investigation of men's digestive system (Review of modern methods). Leningrad : Nauka, 1969: 216 p. (in Russian)
26. Abdullaev F.A. The modified method of digestive juice steatolytic activity determination. In: *Materials of the 2nd republic conference of clinic biochemistry*. Tashkent, 1965: 45–8. (in Russian)
27. Korot'ko G.F. Digestive system and feeding types in ontogenesis. *Krasnodar : Tradition*, 2014: 176 p. (in Russian)
28. Korot'ko G.F. Pancreatic enzyme secretion. [*Modern Medical Science*]. 2013; Vol. 3: 6–22. (in Russian)
29. Ugolev A.M., Timofeeva N.M., Gruzdkov A.A. The adaptation of digestive system. In: *Physiology of Adaptive Processes. Manual of Physiology*. Moscow : Nauka, 1986: 371–480. (in Russian)

30. Korot'ko G.F. Digestion – natural technology. Krasnodar : Edvi, 2011: 144 p. (in Russian)
31. Neville M.C. Milk secretion. An overview URL: //mammary.nih.gov/reviews/lactation/Neville001/21.09.2014.
32. Korot'ko G.F. Recirculation of pancreatic enzymes. Krasnodar : Edvi, 2011: 144 p. (in Russian)
33. Kolodkina E.V., Kamakin N.F. Homeostasis of increted enzymes in pregnant and breast feeding. Kirov : Kirov GMA, 2008: 156 p. (in Russian)
34. Degtyarev V., Degtyareva T.V. Milk amyolytic enzyme activity. In: Milk Amyolytic Enzyme Activity. [Theses of Report I Conference of Biochemistry Mid. Asia Kazakhstan]. Tashkent, 1966: 128.
35. Mirzakarimov U.M. Hydrolytic enzymes of breast milk during lactation and their role in infants autolytic digestion : Diss. Moscow, 1974: 30 p. (in Russian)
36. Grachev I.I., Galantsev V.P. Lactation physiology, total and comparative. In: Manual of Physiology. Leningrad : Nauka, 1973: 590 p. (in Russian)
37. Korot'ko G.F., Rozin D.G. The Influence of pituitrine and oxytacine at out-secretory pancreatic activity. Meditsinskiy zhurnal Uzbekistana [Medical Journal of Uzbekistan]. 1976; Vol. 2: 34–8.
38. Voskanyan S.E. Morph functional organization of the pancreas and clinic-experimental aspects of acute post-operational pancreatitis : Diss. Moscow, 2013: 48 p. (in Russian)
39. Klorin A.I., Mazurin A.V. Some aged peculiarities of child gastro-intestinal tract. In: Handbook of Children's Dietetics. Leningrad : Meditsina, 1977: 5–11. (in Russian)
40. Prosser L.S. (ed.) Comparative physiology of animals : transl. from Engl. Vol. 1. Moscow : Mir, 1977: 608 p. (in Russian)
41. Rakhimov K.R. The mechanisms of lactose digestion in ontogenesis of man and animals. Tashkent : Press. «FAN» AN UzSSR, 1991: 136 p.
42. Tutelyan V.A., Kon' I.Ya. Children's feeding. Manual for doctors. Moscow : Medical inform agency, 2009: 952 p. (in Russian)
43. Ugolev A.M. Natural technologies of biological systems. Leningrad : Nauka, 1987: 317 p. (in Russian)

Для корреспонденции

Медведев Дмитрий Валериевич – ассистент кафедры биологической химии с курсом клинической лабораторной диагностики факультета дополнительного профессионального образования ГБОУ ВПО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России
 Адрес: 390026, г. Рязань, ул. Высоковольтная, д. 9
 Телефон: (4912) 46-08-01
 E-mail: meddmit@mail.ru

Д.В. Медведев, В.И. Звягина

Изучение биохимических механизмов развития дисфункции митохондрий гепатоцитов при экспериментальной гипергомоцистеинемии у крыс

The study of biochemical mechanisms of mitochondrial dysfunction in rats' hepatocytes during experimental hyperhomocysteinemia

D.V. Medvedev, V.I. Zvyagina

ГБОУ ВПО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России
 Ryazan State Medical University named after academician I.P. Pavlov

Метионин – незаменимая протеиногенная аминокислота, содержащаяся во многих пищевых продуктах. В ходе ее метаболизма образуется гомоцистеин, с повышением содержания которого в крови – гипергомоцистеинемией – связывают увеличение риска развития ряда заболеваний, включая неалкогольную жировую болезнь печени. Имеются данные о том, что гомоцистеин способен снижать эффект оксида азота и вызывать митохондриальную дисфункцию. Цель работы – изучение взаимосвязи функционального состояния митохондрий клеток печени и уровня метаболитов оксида азота в них при экспериментальной гипергомоцистеинемии, вызванной избыточным приемом метионина. Эксперимент проводился на 17 крысах-самцах линии Вистар с исходной массой тела 220–270 г. Животным 1-й группы (n=9) в течение 21 дня внутрижелудочно (через зонд) вводили 25% суспензию метионина (1,5 г на 1 кг массы тела) 2 раза в сутки, при этом вместо питьевой воды животные получали 1% водный раствор метионина при свободном доступе к поилкам. Выпиваемый объем раствора метионина составил 17,2 (15,5; 18,1) мл/сут. В эксперимент были взяты 8 животных с развившейся тяжелой гипергомоцистеинемией (>100 мкмоль/л сыворотки крови). Вторая группа (n=8) была контрольной. Этим крысам вводили суспензионную основу, не содержащую метионин (10% твина-80, 1% крахмала, 89% воды). В сыворотке крови измеряли общую концентрацию гомоцистеина иммуноферментным методом. В суспензии митохондрий печени фотометрически измеряли общий белок методом Лоури, концентрацию метаболитов NO – скрининг-методом, активность сукцинатдегидрогеназы – по реакции восстановления гексацианоферрата (III) калия, лактатдегидрогеназы – по снижению концентрации НАДН в реакции восстановления пирувата, H⁺-АТФазы – измеряя содержание неорганического фосфата методом Боданского, супероксиддисмутазы – по торможению реакции аутоокисления кверцетина, уровень Ca²⁺ – по реакции с арсеназо III. Окислительную модификацию

белков оценивали на основании реакции взаимодействия карбонильных групп и иминогрупп окисленных аминокислотных остатков с 2,4-динитрофенилгидразином с образованием 2,4-динитрофенилгидразонов, обладающих специфическим спектром поглощения в ультрафиолетовой и видимой областях спектра. За 3 нед эксперимента масса тела крыс, получавших метионин, увеличилась с 246 (229; 262) до 302 (283; 311) г, а животных контрольной группы – с 256 (231; 264) до 307 (275; 314) г. Статистически значимые различия в приросте массы тела крыс отсутствовали. В ходе исследования выявлено, что внутривнутрижелудочное введение метионина в течение 3 нед с добавлением этой аминокислоты в питьевую воду вызывает гипергомоцистеинемию (повышение уровня в крови в 50 раз) и приводит, с одной стороны, к интенсификации энергетического обмена в митохондриях клеток печени крыс, что выражается в повышении активности лактатдегидрогеназы (на 63,0%), сукцинатдегидрогеназы (на 76,1%) и H⁺-АТФазы (на 62,5%), с другой – к нарушению депонирования Ca²⁺ (уровень Ca²⁺ в митохондриях снижался на 68,2%) и усилению карбонилирования белков митохондрий (суммарно на 52,2%) с преобладанием процесса агрегации и снижением резервно-адаптационного потенциала, несмотря на увеличение активности супероксиддисмутазы (на 87,7%). Причиной указанных изменений в митохондриях может служить снижение продукции оксида азота (уровень его метаболитов снижался на 21,3%).

Ключевые слова: метионин, гипергомоцистеинемия, оксид азота, оксидативный стресс, митохондриальная дисфункция

Methionine is an essential proteinogenic amino acid found in many foods. During its metabolism homocysteine is formed. With elevated level of homocysteine in the blood – hyperhomocysteinemia – increased risk of developing certain diseases, such as non-alcoholic fatty liver disease, is associated. There is evidence that the homocysteine is able to reduce the effect of nitric oxide and induce mitochondrial dysfunction. The present study investigates the relationship of the functional state of the liver cells mitochondria and the level of nitric oxide metabolites in them in experimental hyperhomocysteinemia caused by excessive intake of methionine. The experiment was conducted on 17 male Wistar rats with an initial weight of 220–270 g, rats were divided into 2 groups. A 25% suspension of methionine was administered (in a dose of 1.5 g of methionine per kg body weight) two times a day for 21 days intragastrically (by gavage) to rats of the first group (n=9) while instead of drinking water animals received a 1% aqueous solution of methionine. Drinks daily volume of methionine solution was 17.2 [15.5; 18.1] ml. In the experiment 8 animals were used, in which severe hyperhomocysteinemia (> 100 mmol/l) was developed. The second group (n=8) served as a control. These rats were administered suspension base containing no methionine (10% Tween-80, 1% starch, 89% water). The total homocysteine concentration was measured in blood serum by ELISA. In the suspension of liver mitochondria total protein was measured by Lowry method; the concentration of NO metabolites by screening method; succinate dehydrogenase activity – under the reaction of hexacyanoferrate (III) potassium reduction; lactate dehydrogenase activity – by decrease of NADH concentration in the reaction of pyruvate's reduction; activity of H⁺-ATPase – by measuring the inorganic phosphate; superoxide dismutase – by inhibition of quercetin auto-oxidation, the level of Ca²⁺ – by reaction with Arsenazo III. Oxidative modification of proteins was evaluated based on the reaction between carbonyl and imino groups of the amino acid residues oxidized with 2,4-dinitrophenylhydrazine to form 2,4-dinitrophenylhydrazone having a specific absorption spectrum in the ultraviolet and visible regions of the spectrum. During three weeks of the experiment the body weight of rats treated with methionine increased from 246 (229; 262) to 302 (283; 311) g, and of control animals – from 256 (231; 264) to 307 (275; 314) g. The difference in body weight gain was not statistically significant. In the study it was revealed that intragastric administration of the methionine for 3 weeks with the addition of this amino acid in the drinking water caused hyperhomocysteinemia. On the one hand it lead to an intensification of energy metabolism in rat liver mitochondria, resulted in increase of lactate dehydrogenase (by 63.0%), succinate dehydrogenase (by 76.1%) and H⁺-ATPase (by 62.5%) activities. On the other hand it lead to the disruption of the Ca²⁺ deposit (Ca²⁺ level in mitochondria was reduced by 68.2%) and to enhance of mitochondrial protein carbonylation (by 52.2%) with a predominance of the aggregation process and a reduction of the reserve-adaptive capacity, despite an increase in superoxide dismutase activity (by 87.7%). The reason for these changes in the mitochondria can be the decrease in production of nitric oxide (the level of its metabolites decreased by 21.3%).

Keywords: methionine, hyperhomocysteinemia, nitric oxide, oxidative stress, mitochondrial dysfunction

Метионин – незаменимая протеиногенная аминокислота, содержащаяся во многих пищевых продуктах. В животноводстве она используется как кормовая добавка, в медицине применяется как липотропный фактор. Метаболизм метиони-

на в организме человека включает образование S-аденозилметионина, который далее участвует в многочисленных реакциях трансметилирования. При этом образуется S-аденозилгомоцистеин, гидролизующийся далее до гомоцистеина

и аденозина. Гомоцистеин может превращаться обратно в метионин с помощью метионинсинтазы или бетаингомоцистеинметилтрансферазы либо в две реакции образовывать цистеин [1]. Несмотря на то что гомоцистеин является нормальным промежуточным продуктом метаболизма метионина, с повышением его содержания в крови – гипергомоцистеинемией (ГГЦ) – связывают увеличение риска развития ряда заболеваний, таких как неалкогольная жировая болезнь печени [2], ишемическая болезнь сердца, атеросклероз [3]. ГГЦ может развиваться при наследственных дефектах ферментов, участвующих в метаболизме гомоцистеина (метилентетрагидрофолатредуктазы, цистатионин-β-синтазы, реже – метионинсинтазы [4]), при гиповитаминозах В₆ и В₁₂, почечной недостаточности, алкоголизме или приеме некоторых лекарственных средств (метотрексата, метилпреднизолона, теофиллина и др.). Повышение уровня гомоцистеина в значительной степени связано с неправильным питанием. Принципиально можно вызвать ГГЦ и избыточным приемом метионина, хотя в отсутствие вышеперечисленных факторов для этого требуются очень высокие дозы аминокислоты. Так, известны модели ГГЦ на крысах, получаемые исключительно путем введения метионина [5].

Одним из органов, наиболее чувствительных к ГГЦ, можно считать печень. Механизмы повреждающего действия гомоцистеина на этот орган до конца неясны. Большинство исследований посвящено изучению эндотелиальной дисфункции, вызываемой избыточным уровнем гомоцистеина, в то же время эта аминокислота присутствует внутри клеток различных органов, где она может разрушать дисульфидные связи в белках, нарушать реакции трансметилирования, усиливать перекисное окисление липидов и белков [6]. Имеются данные о том, что гомоцистеин способен снижать эффект оксида азота (NO) [7], однако механизм такого действия не установлен. Также известно, что повышенный уровень гомоцистеина вызывает митохондриальную дисфункцию [6]. С чем связано нарушение функционирования митохондрий: с прямым действием гомоцистеина на клетки или же с нарушением кровотока в органе за счет уменьшения чувствительности эндотелия к сосудорасширяющим факторам, – неясно. Возможно, такой эффект гомоцистеина опосредован его влиянием на метаболизм NO, так как последний является регулятором функций митохондрий – в них NO ингибирует аконитатгидратазу и цитохром с-оксидазу, а действие его на другие гемсодержащие белки все еще изучается [8].

Целью исследования стало изучение взаимосвязи функционального состояния митохондрий клеток печени и уровня метаболитов NO в них при экспериментальной ГГЦ, вызванной избыточным приемом метионина.

Материал и методы

Объектом исследования служили 17 крыс-самцов линии Вистар. Работа с животными осуществлялась в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, 1986), приказом Минздравсоцразвития России от 23.08.2010 № 708н «Об утверждении правил лабораторной практики» и приказом Минздрава СССР от 12.08.1977 № 755 «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных». Крыс содержали в стандартных условиях вивария, в качестве пищи они получали корм «Чара» («Ассортимент-Агро», РФ), содержащий 0,7% метионина-цистина в пересчете на сухое вещество, все витамины группы В, в том числе В₆ – 28 мг/кг, В₉ – 64 мг/кг, В₁₂ – 0,13 мг/кг. Крысы были разделены на 2 группы. 1-я группа (*n*=9) использовалась для моделирования ГГЦ. С этой целью применяли метод С.Г. Емельянова и соавт. [5] в нашей модификации: в течение 21 дня крысам внутривенно (через зонд) вводили 25% суспензию метионина в дозе 1,5 г метионина на 1 кг массы тела 2 раза в сутки, при этом вместо питьевой воды животные получали 1% водный раствор метионина при свободном доступе к поилкам [9]. Выпиваемый в сутки объем раствора метионина составил 17,2 (15,5; 18,1) мл. В эксперимент были взяты 8 животных с развившейся тяжелой ГГЦ (>100 мкмоль/л), 1 особь была исключена из эксперимента, так как имела умеренную форму ГГЦ. Вторая группа (*n*=8) была контрольной. Этим крысам вводили суспензионную основу, не содержащую метионин (состав по массе: 10% твина-80, 1% крахмала, 89% воды). Животных умерщвляли под эфирным наркозом путем вскрытия брюшной полости и перерезания брюшной аорты. При этом отбирали кровь и часть печени. Печень отмывали от крови и гомогенизировали на гомогенизаторе «Potter S» («Sartorius», ФРГ) в среде, содержащей 0,25 М сахарозы, 0,001 М ЭДТА и 0,05 М трис-буфер, pH 7,4 [10]. Митохондрии выделяли методом дифференциального центрифугирования при 11 000g [11]. Осадок, содержащий митохондрии, ресуспендировали в среде выделения, не содержащей ЭДТА. Для анализа использовали суспензию митохондрий и сыворотку крови.

В сыворотке крови определяли концентрацию гомоцистеина набором для иммуноферментного анализа («Axis Shield», Великобритания).

В суспензии митохондрий измеряли общий белок методом Лоури с помощью коммерческого набора («Экосервис», РФ), концентрацию

метаболитов NO – методом в модификации В.А. Метельской [12], активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ) – по реакции восстановления гексацианоферрата (III) калия [11], активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) – по снижению концентрации НАДН в реакции восстановления пирувата с помощью коммерческого набора («Diasys», ФРГ), активность Н⁺-АТФазы – измеряя содержание неорганического фосфата методом Боданского после остановки реакции [13], активность супероксиддисмутазы (СОД) – по торможению реакции аутоокисления кверцети-на [14], уровень Са²⁺ – по реакции с арсеназо III с помощью коммерческого набора («Diasys», ФРГ). Окислительную модификацию белков (ОМБ) оценивали по методу R.L. Levine в модификации Е.Е. Дубининой [15], который основан на реакции взаимодействия карбонильных групп и иминогрупп окисленных аминокислотных остатков с 2,4-динитрофенилгидразином с образованием 2,4-динитрофенилгидразонов, обладающих специфическим спектром поглощения в ультрафиолетовой и видимой областях спектра. Затем рассчитывали доли ранних и поздних маркеров окислительной деструкции белков, а также анализировали резервно-адаптационный потенциал [16].

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программ MS Excel и Statplus 2009 Portable. Соответствие выборок нормальному распределению проверяли с помощью критерия Шапиро–Уилка. Поскольку распределение отличалось от нормального, для проверки достоверности отличий значений в контрольной и опытной группах использовали непараметрический U-критерий Манна–Уитни. Отличия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Результаты представлены в форме медианы (1-й квартиль; 3-й квартиль).

Результаты и обсуждение

За 3 нед эксперимента масса крыс, получавших метионин, увеличилась с 246 (229; 262) до 302 (283; 311) г, а животных контрольной группы – с 256 (231; 264) до 307 (275; 314) г. Статистически значимые различия между экспериментальной и контрольной группами в приросте массы тела крыс отсутствовали.

Введение метионина в дозе 3 г на 1 кг массы тела в течение 3 нед с добавлением его в питьевую воду вызвало у крыс развитие тяжелой ГГЦ – уровень гомоцистеина в сыворотке крови животных увеличился более чем в 50 раз (табл. 1).

У крыс экспериментальной группы наблюдалось резкое повышение активности митохондриальных оксидоредуктаз, участвующих в энергетическом обмене, – ЛДГ и СДГ (табл. 2). При этом значительно возрастала и активность Н⁺-АТФазы (см. табл. 2), что указывает на интенсификацию процесса окислительного фосфорилирования. Также отмечалось снижение содержания в митохондриях метаболитов NO (см. табл. 2), что, скорее всего, свидетельствует об уменьшении его продукции. Невысокий уровень NO может быть одной из причин, обуславливающих усиление процессов окисления и фосфорилирования в митохондриях (этот низкомолекулярный регулятор известен как ингибитор ферментов дыхательной цепи и цикла Кребса).

На фоне этих, казалось бы, позитивных эффектов ГГЦ вызывает и негативные явления в митохондриях гепатоцитов. Так, увеличивается степень карбонилирования белков (рис. 1, табл. 3), несмотря на рост активности СОД (см. табл. 2) – одного из ключевых ферментов антиоксидантной защиты митохондрий, обезвреживающего наиболее часто образующийся в результате деятельности дыхательной цепи радикал – супероксидный анион.

Таблица 1. Концентрация гомоцистеина в сыворотке крови крыс с гипергомоцистеинемией и животных контрольной группы

Показатель	Контроль (n=8)	Гипергомоцистеинемия (n=8)	p
Гомоцистеин, мкмоль/л в сыворотке крови	5,8 (5,6; 5,8)	291,65 (277,38; 334,43) ↑ в 50 раз	0,025

Таблица 2. Биохимические показатели митохондрий гепатоцитов крыс при гипергомоцистеинемии

Показатель	Контроль (n=8)	Гипергомоцистеинемия (n=8)	p
Концентрация белка, мг/мл	14,71 (13,85; 15,89)	14,04 (13,03; 16,51) ↓ 4,6%	0,6744
Концентрация метаболитов NO, мкмоль на 1 г белка	38,03 (34,69; 39,43)	29,94 (28,64; 32,74) ↓ 21,3%	0,0157
Концентрация Са ²⁺ , мкмоль на 1 г белка	26,96 (21,49; 38,03)	8,57 (8,27; 9,62) ↓ 68,2%	0,0008
Активность ЛДГ, ЕД на 1 г белка	639,38 (608,21; 714,84)	1041,99 (977,92; 1391,70) ↑ 63,0%	0,0008
Активность СДГ, нмоль сукцината на 1 мг белка в минуту	39,69 (27,23; 49,45)	69,91 (56,64; 95,30) ↑ 76,1%	0,0274
Н ⁺ -АТФазы, мкг фосфата/ч	2,32 (2,09; 2,69)	3,77 (2,64; 5,00) ↑ 62,5%	0,0372
Активность СОД, усл. ед. на 1 мг белка	3,75 (2,62; 4,38)	7,04 (1,91; 10,28) ↑ 87,7%	0,5286

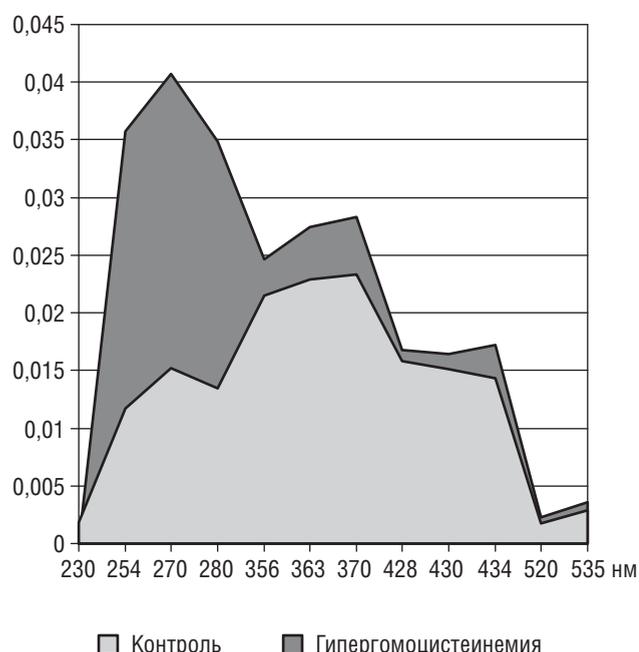


Рис. 1. Содержание карбонилированных производных белков в митохондриях клеток печени крыс, усл. ед. на 1 мг белка

При этом доля кетондинитрофенилгидразонов (КДНФГ) – маркеров агрегации белков – возрастает на 6,46% ($p=0,0163$) по сравнению с долей альдегиддинитрофенилгидразонов (АДНФГ) – маркеров фрагментации белков (рис. 2).

Трехнедельное введение высоких доз метионина привело к снижению резервно-адаптационного потенциала белков митохондрий как в отношении процесса агрегации (на 31,62%; $p=0,0039$), так и в отношении фрагментации белков (на 17,64%; $p=0,5218$), что выражается в увеличении соотношения показателей спонтанной ОМБ к ОМБ, индуцированной реакцией Фентона (рис. 3).

Одной из причин описанного выше окислительно-повреждения белков может быть снижение синтеза NO, ведь известно, что в малых концентрациях эта молекула оказывает антиоксидантный эффект, в отношении окислительного повреждения белков обусловленный главным образом конкуренцией NO за связывание с металлами переменной валентнос-

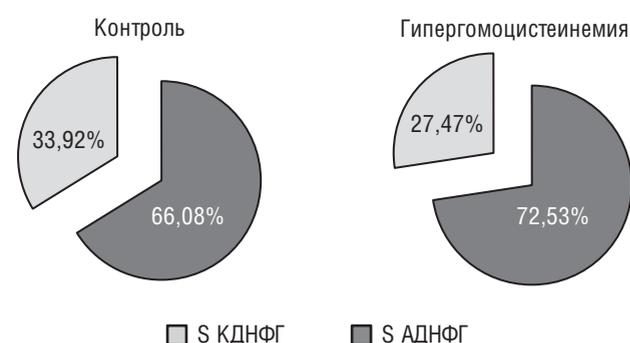


Рис. 2. Соотношение маркеров агрегации и фрагментации белков в митохондриях гепатоцитов крыс

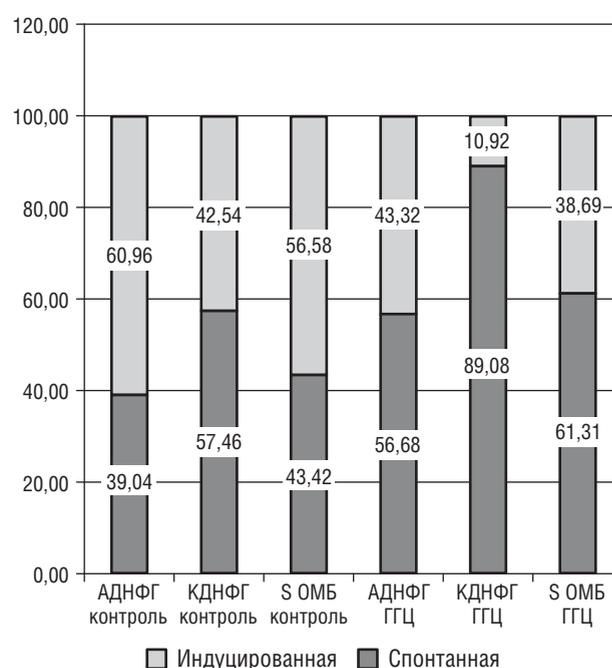


Рис. 3. Резервно-адаптационный потенциал белков митохондрий гепатоцитов крыс (процент показателей спонтанной окислительной модификации белков относительно металл-индуцированной, значения металл-индуцированной окислительной модификации белков приняты за 100%)

ти и торможением реакции Фентона, в результате которой образуется сильнейший окислитель – гидроксильный радикал [17]. Также дефицит NO, возможно, вызывает повышение продукции дыхательной цепью активных форм кислорода. Это может

Таблица 3. Содержание карбонилированных производных белков в митохондриях клеток сердца крыс, усл. ед. на 1 мг белка

Группа	S АДНФГ uv	S КДНФГ uv	S АДНФГ vs	S КДНФГ vs	S ОМБ
Контроль (n=8)	2,16 (1,00; 3,09)	1,30 (1,04; 1,69)	0,81 (0,67; 1,07)	0,10 (0,07; 0,13)	4,37 (2,80; 5,98)
Гипергомоцистеинемия (n=8)	4,20 (2,59; 5,53) ↑ 94,4%	1,50 (1,19; 2,04) ↑ 15,4%	0,85 (0,70; 1,11) ↑ 4,9%	0,10 (0,08; 0,15) ↑ 2,4%	6,65 (4,65; 8,75) ↑ 52,2%
p	0,0104	0,4233	0,631	0,8728	0,0163

Примечание. АДНФГ – альдегиддинитрофенилгидразоны, КДНФГ – кетондинитрофенилгидразоны, ОМБ – окислительная модификация белков, S – площадь под кривой (рис. 1), uv – в ультрафиолетовой области спектра, vs – в видимой области спектра.

быть единым порочным кругом патогенеза, так как увеличение содержания активных форм кислорода способствует скорейшей инактивации NO.

Кроме того, у крыс, получавших метионин, наблюдается нарушение депонирования Ca²⁺ в митохондриях гепатоцитов.

Таким образом, высокие дозы метионина способны не только стимулировать энергетический обмен митохондрий, но и вызывать в них оксидативный стресс и нарушать депонирование Ca²⁺, что может привести к митохондриальной дисфункции. Указанный эффект метионина скорее всего обусловлен высокими концентрациями образующегося из него гомоцистеина.

Заключение

Гипергомоцистеинемия, вызванная введением высоких доз метионина, приводит, с одной стороны, к интенсификации энергетического обмена в митохондриях клеток печени крыс, что выражается в повышении активности ЛДГ, СДГ и H⁺-АТФазы, с другой – к нарушению депонирования Ca²⁺ и усилению карбонилирования белков митохондрий с преобладанием процесса агрегации и снижением резервно-адаптационного потенциала, несмотря на увеличение активности СОД. Одной из причин указанных изменений в митохондриях может служить снижение продукции NO.

Сведения об авторах

Медведев Дмитрий Валериевич – ассистент кафедры биологической химии с курсом клинической лабораторной диагностики факультета дополнительного профессионального образования ГБОУ ВПО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России
E-mail: meddmit@mail.ru

Звягина Валентина Ивановна – кандидат биологических наук, доцент кафедры биологической химии с курсом клинической лабораторной диагностики факультета дополнительного профессионального образования ГБОУ ВПО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России
E-mail: vizvyagina@yandex.ru

Литература

1. Мирошниченко И.И., Птицына С.Н., Кузнецова Н.Н. и др. Гомоцистеин – предиктор патологических изменений в организме человека // Рус. мед. журн. 2009. № 4. С. 224–228.
2. Глушченко С.В. Гипергомоцистеинемия как предиктор развития и прогрессирования неалкогольной жировой болезни печени // Проблемы непрерывной медицинской освіти та науки. 2014. № 2. С. 89–92.
3. Костюченко Г.И. Гипергомоцистеинемия: клиническое значение, возрастные особенности, диагностика и коррекция // Клин. геронтология. 2007. Т. 13. № 4. С. 32–40.
4. Гречанина Е.Я. Метионин – незаменимая аминокислота // Клінічна генетика і перинатальна діагностика. 2013. № 1 (2). С. 19–35.
5. Пат. 2414755. Способ моделирования гипергомоцистеин индуцированной эндотелиальной дисфункции / С.Г. Емельянов, М.В. Корокин, М.В. Покровский и др.; заявитель и патентообладатель: Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Юго-Западный государственный университет»; № 2009138369/14; опубл. 20.03.2011, Бюл. № 8. 4 с.
6. Arun K., Lijo J., Shuvadeep M. et al. Converging evidence of mitochondrial dysfunction in a yeast model of homocysteine metabolism imbalance // J. Biol. Chem. 2011. Vol. 286, N 24. P. 21779–21795.
7. Puddu P., Puddu G. M., Cravero E. et al. The emerging role of cardiovascular risk factor-induced mitochondrial dysfunction in atherogenesis // J. Biomed. Sci. 2009. Vol. 16, N 1. P. 112–118.
8. Martinez-Ruiz A., Cadenas S., Lamas S. Nitric oxide signaling: classical, less classical, and nonclassical mechanisms // Free Radic. Biol. Med. 2011. Vol. 51, Is. 1. P. 17–29.
9. Медведев Д.В., Звягина В.И., Фомина М.А. Способ моделирования тяжелой формы гипергомоцистеинемии у крыс // Рос. медико-биологический вестн. им. акад. И.П. Павлова. 2014. № 4. С. 42–46.
10. Колесник М.Ю., Беленичев И.Ф., Дзяк Г.В. и др. Особенности функционирования митохондрий миокарда у крыс со спонтанной гипертензией (SHR) на фоне экспериментального сахарного диабета и атеросклероза // Запорож. мед. журн. 2012. № 2 (71). С. 26–30.
11. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / под ред. М.И. Прохоровой. Л.: Изд-во Ленинград. ун-та, 1982. 327 с.
12. Метельская В.А., Гуманова Н.Г. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке // Клин. лаб. диагностика. 2005. № 6. С. 15–18.
13. Биоэнергетика клетки. Химия патологических процессов / под ред. В.Ю. Сереброва, Г.А. Сухановой. Томск: Сибир. гос. мед. ун-т, 2008. С. 79–82.
14. Костюк В.А., Потапович А.И., Ковалева Ж.В. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина // Вопр. мед. химии. 1990. № 2. С. 88–91.
15. Дубинина Е.Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток (жизнь и смерть, созидание и разрушение). Физиологические и клинико-биохимические аспекты. СПб.: Медицинская пресса, 2006. С. 276–282.
16. Пат. 2524667 РФ, МПК 11, G01N33/52. Способ комплексной оценки содержания продуктов окислительной модификации белков в тканях и биологических жидкостях / заявители: Фомина М.А., Абаленихина Ю.В., Фомина Н.В., Терентьев А.А.; патентообладатель: Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU); № 2013102618/15; заявл. 21.01.2013; опубл. 27.07.2014; Бюл. № 21. 9 с.
17. Wink D. A., Miranda K. M., Espey M. G. et al. Mechanisms of the antioxidant effects of nitric oxide // Antioxidants Redox Signaling. 2001. Vol. 3, N 2. P. 203–213.

References

- Miroshnichenko I.I., Pticyna S.N., Kuznecova N.N., Kalmykov Yu.M. Homocysteine – predictor of pathological changes in the human body. *Russkij medicinskij zhurnal [Russian Medical Journal]*. 2009; Vol. 4: 224–8. (in Russian)
- Glushhenko S.V. Hyperhomocysteinemia as a predictor of the development and progression of nonalcoholic fatty liver disease. *Problemi bezpererвної medicinoї osviti ta nauki*. 2014; Vol. 2: 89–92. (in Ukrainian)
- Kosyuchenko G.I. Hyperhomocysteinemia: clinical significance, age features, diagnosis and correction. *Klinicheskaja gerontologija [Clinical Gerontology]*. 2007; Vol. 13 (4): 32–40. (in Russian)
- Grechanina E.Ya. Methionine – an essential amino acid. *Klinichna genetika i perinatal'na diagnostika [Клінічна генетика I перинатальна діагностика]*. 2013; Vol. 1 (2): 19–35. (in Ukrainian)
- Pat. 2414755. Method for modeling hyperhomocysteine induced endothelial dysfunction. S.G. Emel'janov, M.V. Korokin, M.V. Pokrovskij i dr.; zajavitel' i patentoobladatel': Gosudarstvennoe obrazovatel'noe uchrezhdenie vysshego professional'nogo obrazovanija «Jugo-Zapadnyj gosudarstvennyj universitet»; N 2009138369/14; opubl. 20.03.2011; Bul. N 8: 4 p. (in Russian)
- Arun K., Lijo J., Shuvadeep M. et al. Converging evidence of mitochondrial dysfunction in a yeast model of homocysteine metabolism imbalance. *J Biol Chem*. 2011; Vol. 286 (24): 21779–95.
- Puddu P., Puddu G. M., Cravero E. et al. The emerging role of cardiovascular risk factor-induced mitochondrial dysfunction in atherogenesis. *J Biomed Sci*. 2009; Vol. 16 (1): 112–8.
- Martinez-Ruiz A., Cadenas S., Lamas S. Nitric oxide signaling: classical, less classical, and nonclassical mechanisms. *Free Radic Biol Med*. 2011; Vol. 51 (1): 17–29.
- Medvedev D.V., Zvyagina V.I., Fomina M.A. A method of modeling of severe hyperhomocysteinemia in rats. *Rossijskij mediko-biologicheskij vestnik imeni akademika I.P. Pavlova [P. Pavlov Russian Medical Biological Herald]*. 2014; Vol. 4: 42–6. (in Russian)
- Kolesnik M.Yu., Belenichev I.F., Džjak G.V., Chekman I.S. Features of myocardium mitochondrial functions in spontaneously hypertensive rats (SHR) on the background of experimental diabetes mellitus and atherosclerosis. *Zaporozhskij medicinskij zhurnal [Zaporozhye medical journal]*. 2012; Vol. 2 (71): 26–30. (in Russian)
- Methods of biochemical research (lipid and energy metabolism) / ed. M.I. Prohorova. Leningrad : Izdatel'stvo Leningradskogo universiteta, 1982: 327 p. (in Russian)
- Metel'skaya V.A., Gumanova N.G. The screening method for determining the level of nitric oxide metabolites in serum. *Klinicheskaja laboratornaja diagnostika [Russian Clinical Laboratory Diagnostics]*. 2005; Vol. 6: 15–8. (in Russian)
- Cell's bioenergy. Chemistry of pathological processes / eds V.Yu. Serebrova, G.A. Suhanova. Tomsk : Sibirskij Gosudarstvennyj Medicinskij Universitet, 2008: 79–82. (in Russian)
- Kostyuk V.A., Potapovich A.I., Kovaleva Zh.V. A simple and sensitive method for determining the activity of superoxide dismutase, based on the oxidation of quercetin. *Voprosy medicinskoj himii*. 1990; Vol. 2: 88–91. (in Russian)
- Dubinina E.E. Products of metabolism of oxygen in the functional activity of cells (life and death, creation and destruction). *Physiological, clinical and biochemical aspects*. St. Petersburg : Medicinskaya Pressa, 2006: 276–82. (in Russian)
- Pat. 2524667 RF, MPK 11, G01N33/52. Way of a comprehensive assessment of the content of oxidative modification of proteins in tissues and biological fluids. Zajaviteli: Fomina M.A., Abalenihina Yu.V., Fomina N.V., Terent'ev A.A.; patentoobladatel': Gosudarstvennoe bjudzhetnoe obrazovatel'noe uchrezhdenie vysshego professional'nogo obrazovanija «Rjazanskij gosudarstvennyj medicinskij universitet imeni akademika I.P. Pavlova» Ministerstva zdravoochranenija Rossijskoj Federacii (RU); N 2013102618/15; zajavl. 21.01.2013; opubl. 27.07.2014; Bull. N 21: 9 p. (in Russian)
- Wink D. A., Miranda K. M., Espey M. G. et al. Mechanisms of the antioxidant effects of nitric oxide. *Antioxidants Redox Signaling*. 2001; Vol. 3 (2): 203–13.

Для корреспонденции

Рылова Наталья Викторовна – доктор медицинских наук, профессор кафедры госпитальной педиатрии с курсами поликлинической педиатрии и последипломного образования ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России
 Адрес: 420012, г. Казань, ул. Бутлерова, д. 49
 Телефон: (843) 237-30-37
 E-mail: rilovanv@mail.ru

Н.В. Рылова¹, А.А. Биктимирова¹, А.П. Середина², А.С. Самойлов³

Изучение взаимосвязи между показателями карнитинового обмена и содержанием жировой массы у юных пловцов

The study of the relationship between rates of carnitine exchange and fat mass in young swimmers

N.V. Rylova¹, A.A. Biktimirova¹, A.P. Sereda², A.S. Samoylov³

- ¹ ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России
 - ² ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр спортивной медицины и реабилитации» ФМБА России, Москва
 - ³ ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, Москва
- ¹ Kazan State Medical University
² Federal Research and Clinical Center of Sports Medicine and Rehabilitation of Federal Medical-Biological Agency of Russia, Moscow
³ State Scientific Center of the Russian Federation – Federal Medical Biophysical Center named after A.I. Burnazyan of Federal Medical-Biological Agency of Russia, Moscow

Изучение состояния карнитинового обмена является актуальной задачей для специалистов, исследующих состояние здоровья детей, занимающихся спортом. Показатели карнитинового обмена отражают митохондриальный потенциал и состояние клеточного энергообмена. Цель исследования – определение особенностей карнитинового обмена у юных спортсменов, а также установление корреляции между показателями карнитинового обмена и жировой массы тела. В исследовании приняли участие 46 спортсменов 12–17 лет (31 мальчик и 15 девочек), занимающихся плаванием. Средний возраст обследованных составил 15,9±0,2 года. Карнитиновый обмен изучали с помощью тандемной хромато-масс-спектрометрии, содержание жировой массы тела определяли методом биоимпедансометрии. Содержание свободного карнитина достоверно не различалось у мальчиков (36,3±1,1 мкмоль/л) и девочек (36,3±1,3 мкмоль/л). Содержание связанного карнитина оказалось выше у мальчиков – 17,4±0,8 мкмоль/л (против 14,0±0,9 мкмоль/л у девочек; p<0,05). Соотношение связанный карнитин/свободный карнитин достоверно выше на 22,5% у мальчиков (0,49±0,03), что обусловлено более высоким содержанием у них связанного карнитина. Среднее содержание жировой массы тела у мальчиков составило 9,6±0,87%, а у девочек – 22,24±1,0%. Выявлена достоверная

корреляция между показателями карнитинового обмена и содержанием жировой массы тела. Таким образом, по сравнению с мальчиками у девочек, занимающихся плаванием, обнаружен более высокий митохондриальный потенциал.

Ключевые слова: юные спортсмены, карнитиновый обмен, жировая масса тела

The study of the state of carnitine metabolism is an actual problem for the specialists who are interested in the investigating of children's health, involved in sport. Indicators of carnitine metabolism reflect mitochondrial capacity and the state of energy of the cell, which in its turn effect on the level of physical performance of athletes and their health status. The aim of our study was to identify the characteristics of carnitine metabolism in young athletes, as well as the establishment of correlation between carnitine metabolism and body fat mass. The study included 46 young athletes 12–17 years old involved in swimming. The average age of the athletes was 15.9 ± 0.2 years. Carnitine metabolism has been studied by gas chromatography-tandem mass spectrometry, the content of body fat mass has been established by bioimpedance. The free carnitine didn't significantly differ in males (36.3 ± 1.1 mmol/l) and females (36.3 ± 1.3 mmol/l). Content of related carnitine was higher in boys – 17.4 ± 0.8 mmol/l (vs 14.0 ± 0.9 mmol/l in girls, $p < 0.05$). Value of related carnitine/free carnitine (AC/C0) was significantly 22.5% higher in boys (0.49 ± 0.03), because of higher content of related carnitine. The content of body fat mass in boys was $9.6 \pm 0.87\%$, and in girls – $22.24 \pm 1.0\%$. There was found a significant correlation between indicators of carnitine metabolism and fat body mass. The findings may suggest a higher mitochondrial potential of girls engaged in swimming.

Keywords: young athletes, carnitine metabolism, body fat mass

Изучение состояния здоровья детей и подростков, занимающихся спортом, в том числе их физического развития, реакции организма на физическую нагрузку, представляет особый интерес. Чрезмерные нагрузки вызывают перенапряжение в функционировании многих органов и систем, ухудшение психологического состояния, снижение адаптационных возможностей, что влияет на интенсивность тренировочных нагрузок, которые юный спортсмен способен выполнить без ущерба для здоровья. Правильное питание, адекватные тренировочные и соревновательные нагрузки и прочие аспекты сохранения здоровья спортсмена должны учитываться во все возрастные периоды [1].

Плавание относится к циклическим видам спорта. Такие виды спорта требуют высоких энергетических затрат, однако акцентированно развивают общую выносливость, так как в данном случае физическая нагрузка выполняется относительно длительное время в условиях аэробной работоспособности [2]. Регулярные аэробные тренировки, которых требуют циклические виды спорта, приводят к улучшению некоторых морфометрических показателей: массы тела и снижению содержа-

ния жировой ткани в организме, увеличивают не только экскурсию грудной клетки и жизненную емкость легких, но и максимальное потребление кислорода [3, 4]. При выполнении подобного рода упражнений изменяется метаболизм жирных кислот, который характеризуется нарушением их β -окисления, так как наступает гипоксия тканей. Этот процесс сопровождается снижением уровня карнитина, в результате чего происходит внутриклеточное накопление ацилкарнитинов и других промежуточных веществ. Возникает также дефицит ферментов, осуществляющих транспорт карнитина и его соединений через митохондриальные мембраны, что также ведет к уменьшению транспорта карнитина. Промежуточные продукты обмена жирных кислот содействуют усугублению энергодефицита и развитию ацидоза, что сначала приводит к функциональным нарушениям, повреждению мембран, а в итоге и к гибели клетки. Клинически это выражается в виде раннего наступления утомления [5, 6].

Карнитин – это вещество, которое принимает непосредственное участие в метаболических процессах в клетке и поддержании сохранности тканей. В организме карнитин выполняет две основные

функции. Первая заключается в участии в энергетическом обеспечении клетки. Это происходит за счет транспорта остатков длинноцепочечных жирных кислот в форме ацилкарнитина через митохондриальную мембрану с целью дальнейшего β -окисления и образования аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ). Детоксицирующая функция карнитина заключается в связывании и выведении из клеток органических кислот, которые являются промежуточными продуктами окисления. 97% активной формы карнитина находится в скелетных мышцах и миокарде, так как эти ткани используют жирные кислоты в качестве главного источника энергии. Суточная потребность организма в карнитине варьирует в широких пределах (50–200 мг). Часть ее (25%) покрывается за счет эндогенного синтеза, а 75% – за счет поступлений извне [5, 6]. Большинство клеток организма обладают способностью синтезировать эндогенный карнитин в течение всей жизни, однако основная доля карнитина поступает в организм с пищей животного происхождения (молоко, мясо, рыба). Эндогенный синтез L-карнитина происходит в печени путем трансформации лизина, донатором метильных групп при этом является метионин. Источником лизина и метионина служат пищевые продукты, а также собственные белки мышечной ткани. В синтезе L-карнитина принимают участие витамины С, В₃, В₆, фолиевая кислота, железо и некоторые ферменты [7, 8]. Таким образом, карнитин – это вещество, содержание которого зависит от большого количества факторов. Дефицит карнитина приводит к снижению работоспособности и ухудшению состояния здоровья детей, испытывающих интенсивные физические нагрузки [9].

Цель исследования – определение особенностей карнитинового обмена у юных спортсменов, а также установление корреляции между показателями карнитинового обмена и жировой массы тела.

Материал и методы

В рамках исследования определяли состояние карнитинового обмена [уровня свободного (С0) и связанного карнитина (ацилкарнитина, АК), а также подсчет коэффициента связанный карнитин/свободный карнитин (АК/С0)] и содержание жировой массы тела у 46 детей, занимающихся плаванием. Все обследованные были разделены на 2 группы: мальчики ($n=31$) и девочки ($n=15$). В исследование были включены спортсмены в возрасте от 12 лет до 17 лет 11 мес, испытывающие интенсивную физическую нагрузку не менее 12 ч в неделю в течение последних 6 мес или более. Средний возраст обследованных составил $15,9 \pm 0,2$ года. Спортивный стаж пловцов варьировал от 2 до 10 лет.

Наибольшую долю в структуре обеих групп составляли спортсмены, занимающиеся плаванием от 8 до 10 лет: 64,5% среди мальчиков, 40,0% среди девочек. Спортсмены, включенные в исследование, занимаются плаванием вольным стилем на дистанциях 400, 800 и 1500 м.

В группу обследованных вошли дети с I взрослым разрядом, кандидаты в мастера спорта, мастера спорта. Согласно полученным данным, среди девочек, занимающихся плаванием, 5 (33,3%) человек имели I взрослый разряд, 11 (40,0%) имели звание кандидата в мастера спорта, 4 (26,7%) были мастерами спорта. Среди мальчиков I взрослый разряд имели 15 (48,4%) спортсменов, звание кандидата в мастера спорта – также 15 (48,4%), звание мастера спорта – 1 (3,2%) человек.

Состояние карнитинового обмена исследовали методом тандемной хромато-масс-спектрометрии на базе лаборатории молекулярной и биохимической диагностики Научно-исследовательского клинического института педиатрии (заведующий – профессор В.С. Сухоруков). Методика проведения теста включала отбор образца капиллярной крови на специальную фильтровальную бумагу, высушивание, проведение стандартной подготовительной процедуры, а затем собственно спектрометрии. Содержание жировой массы тела определяли методом биоимпедансометрии. Исследование проводили с помощью аппарата «TANITA BC-543» («Tanita», Япония). Принцип работы анализатора основан на измерении сопротивления различных тканей организма электрическому току – биоимпеданса, по которому количественно оцениваются компоненты тела. Измерения проводились в положении стоя, при контакте электродов с босыми ступнями.

Накопление, корректировка, систематизация исходной информации и визуализация полученных результатов осуществлялись в электронных таблицах Microsoft Office Excel 2007. Статистический анализ проводили с использованием программы IBM SPSS Statistics20. Статистическую обработку полученных результатов осуществляли после проверки сравниваемых совокупностей на нормальность распределения. При сравнении исследуемых величин распределение оказалось нормальным. Способом оценки статистической значимости различий между показателями служил *t*-критерий Стьюдента. Для оценки связи между исследуемыми параметрами, имеющими количественное выражение, использовался метод линейной регрессии.

Результаты и обсуждение

Основными характеристиками карнитинового обмена являются С0 и АК, а также индекс их со-

Таблица 1. Показатели карнитинового обмена у пловцов

Показатель	Обследованные (n=46)		
	мальчики (n=31)	девочки (n=15)	p
Свободный карнитин (C0), мкмоль/л	36,3±1,1	36,3±1,3	>0,05
Связанный карнитин (AK), мкмоль/л	17,4±0,8	14,0±0,9	<0,05
AK/C0	0,49±0,03	0,40±0,04	<0,05

Таблица 2. Масса тела и содержание жировой массы у обследованных детей и подростков

Масса тела, кг		% жировой массы тела	
мальчики	девочки	мальчики	девочки
65,93±1,39	57,66±1,71*	9,6±0,87	22,24±1,0*

* – достоверность отличий ($p < 0,001$) от показателя мальчиков.

отношения AK/C0. Полученные данные представлены в табл. 1.

При сравнении содержания C0 у детей и подростков, занимающихся плаванием, среди мальчиков и девочек существенных различий не установлено ($p > 0,05$). Уровень AK определялся суммарным содержанием ацилкарнитинов. Различия в содержании AK у мальчиков и девочек оказались достоверны. Большую часть AK составил ацетилкарнитин. Среднее содержание ацетилкарнитина составило 9,9±0,6 мкмоль/л, процентное содержание изменялось в широком диапазоне – от 28,0 до 88,7, составив в среднем 59,3±1,5. Особый интерес представляет соотношение AK/C0. Этот показатель используется для дополнительной характеристики содержания ацилкарнитинов и C0 и отражает эффективность клеточной энергетики. Таким образом, чем ниже данный коэффициент, тем эффективнее энергообмен. Увеличение данного соотношения указывает на недостаточность C0, что отражает несовершенство клеточной энергетики и подтверждает увеличение доли связанных форм карнитина в структуре показателя общего карнитина.

В группе обследуемых детей и подростков было проведено изучение массы тела и процентного содержания жировой массы у мальчиков и девочек. Полученные результаты представлены в табл. 2.

Масса тела у мальчиков оказалась достоверно выше, чем у девочек, а содержание жировой массы тела, наоборот, оказалось выше у девочек.

Был проведен также корреляционно-регрессионный анализ зависимостей между массой тела, содержанием жировой массы тела и показателями карнитинового обмена.

Вначале была изучена взаимосвязь соотношения AK/C0 и жировой массы тела. В результате было получено следующее уравнение линейной регрессии (2):

$$Y_{AK/C0} = 0,621 - 0,011 * X_{ЖМТ}, \quad (2)$$

где $Y_{AK/C0}$ – соотношение связанного карнитина к свободному карнитину; $X_{ЖМТ}$ – содержание жира в массе тела (%).

Полученная регрессионная модель характеризуется значением коэффициента корреляции $R = -0,55$, что по шкале Чеддока соответствует заметной тесноте связи между показателями. Вклад показателя жировой массы тела в дисперсию соотношения AK/C0 составляет 20,6%. Наблюдаемая зависимость статистически значима при $p < 0,001$.

Зависимость содержания AK (мкмоль/л) от жировой массы тела описывается следующим уравнением регрессии (1):

$$Y_{AK} = 19,43 - 0,29 * X_{ЖМТ}, \quad (1)$$

где Y_{AK} – содержание связанного карнитина (мкмоль/л), $X_{ЖМТ}$ – содержание жировой ткани в организме (%).

Полученная регрессионная модель характеризуется значением коэффициента корреляции $R = -0,45$, что по шкале Чеддока соответствует умеренной тесноте связи между показателями. Наблюдаемая зависимость статистически значима при $p < 0,001$.

Изучение карнитинового обмена привлекает внимание многих специалистов. Полученные нами результаты коррелируют с исследованиями зарубежных авторов. Так, было установлено, что в результате воздействия интенсивной длительной физической нагрузки уровень C0 снижался до 37% от общего карнитина, а уровень ацилкарнитинов возрастал до 288%. При изучении взаимосвязи между содержанием жировой массы тела, ацилкарнитинами, а также C0 у 33 здоровых людей была установлена статистически значимая отрицательная корреляция между уровнем ацетилкарнитина в плазме крови и мышечной массой, что, по мнению авторов, является следствием улучшения

окислительного метаболизма мышц и подтверждает то, что изменение мышечного метаболизма находится в тесной связи с концентрацией ацетилкарнитина в крови [10].

Таким образом, в результате проведенного нами исследования было установлено, что у девочек, занимающихся плаванием, более высокий митохондриальный потенциал по сравнению с мальчиками,

это подтверждается более высоким содержанием С0 и низким уровнем индекса АК/С0. Кроме того, в проведенном исследовании выявлена достоверная корреляция между показателями карнитинового обмена и содержанием жировой массы тела и выявлена прогностическая значимость уровня жировой массы тела в дисперсию соотношения АК/С0.

Сведения об авторах

Рылова Наталья Викторовна – доктор медицинских наук, профессор кафедры госпитальной педиатрии с курсами поликлинической педиатрии и последипломного образования ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России

E-mail: rilovanv@mail.ru

Биктимирова Алина Азатовна – ассистент кафедры профилактической медицины и экологии человека ФПК и ППС ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России

E-mail: biktimirova.alin@mail.ru

Сереев Андрей Петрович – доктор медицинских наук, директор ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр спортивной медицины и реабилитации» ФМБА России (Москва)

E-mail: fnkcsm@sportfmba.ru

Самойлов Александр Сергеевич – кандидат медицинских наук, генеральный директор ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России (Москва)

E-mail: fmbc.sportcenter@gmail.com

Литература

1. Баранов А.А. Профилактическая педиатрия : рук. для врачей. М. : Союз педиатров России, 2012. 691 с.
2. Колупаев В.А., Дятлов Д.А., Окишор А.В., Мельников И.Ю. Влияние тренировочных нагрузок анаэробной и аэробной направленности на уровень физической работоспособности и адаптационные возможности спортсменов в различные сезоны года // Теория и практика физической культуры. 2004. № 5. С. 2–6.
3. Гольберг Н.Д., Морозов В.И., Rogozkin V.A. Метаболические реакции организма при адаптации к мышечной деятельности // Теория и практика физической культуры. 2003. № 3. С. 17–20.
4. Максимов Н.Е., Гилев Н.А. Использование сочетаний упражнений различной интенсивности в тренировочном процессе пловцов // Вестн. спортивной науки. 2011. № 2. С. 12–15.
5. Сухоруков В. С. Очерки митохондриальной патологии. М. : Медпрактика-М, 2011. 288 с.
6. Копелевич В. М. Чудо Карнитина. М. : Генезис, 2003. 80 с.
7. Алямовская Г. А., Золкина И. В., Кешишян Е. С. Вторичная карнитиновая недостаточность у недоношенных детей с массой тела при рождении менее 1500 г. в патогенезе энергетического дефицита на первом-втором году жизни и возможности ее коррекции // Рос. вестн. перинатологии и педиатрии. 2012. № 4 (2). С. 126–131.
8. Bagetta V., Barone I., Ghiglieri V. Acetyl-L-Carnitine selectively prevents post-ischemic LTP via a possible action on mitochondrial energy metabolism // Neuropharmacology. 2008. Vol. 55, N 2. P. 223–229.
9. Раджабадиев Р. М., Коростелева М.М., Евстратова В.С., Никитюк Д.Б. и др. L-карнитин, свойства и перспективы применения в спортивной практике // Вопр. питания. 2015. Т. 84, № 3. С. 4–12.
10. Claude B. et al. Familial aggregation of V-O2max response to exercise training: results from the HERITAGE Family Study // J. Appl. Physiol. 1999. Vol. 3. P. 1003–1008.

References

1. Baranov A.A. Preventive pediatrics : a guide for doctors. Moscow : Soyuz pediatrov Rossii, 2012: 691 p. (in Russian)
2. Kolupaev V.A., Dyatlov D.A., Okishor A.V., Mel'nikov I.Yu. Influence of training loads of anaerobic and aerobic focus on the level of physical performance and adaptability of athletes in different seasons. *Teoriya i praktika fizicheskoy kul'tury* [Theory and Practice of Physical Culture]. 2004; Vol. 5: 2–6. (in Russian)
3. Gol'berg N. D., Morozov V.I., Rogozkin V.A. Metabolic reactions of the body in adapting to the muscular activity. *Teoriya i praktika fizicheskoy kul'tury* [Theory and Practice of Physical Culture]. 2003; Vol. 3: 17–20. (in Russian)
4. Maksimov N.E., Gilev N.A. Using a combination of exercises of varying intensity in the training process of swimmers. *Vestnik sportivnoy nauki* [Herald of Sports Science]. 2011; Vol. 2: 12–5. (in Russian)
5. Sukhorukov V.S. Essays on mitochondrial pathology. Moscow : Medpraktika-M, 2011: 288 p.
6. Kopelevich V.M. Carnitine's miracle. Moscow : Genesis, 2003: 80 p. (in Russian)
7. Alyamovskaya G.A., Zolkina I.V., Keshishyan E.S. Secondary carnitine deficiency in preterm infants with birth weight less than 1500, in the pathogenesis of the energy deficit in the first and second year

- of life and the possibility of its correction. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii [Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics]*. 2012; Vol. 4 (2): 126–31. (in Russian)
8. Bagetta V., Barone I., Ghiglieri V. Acetyl-L-Carnitine selectively prevents post-ischemic LTP via a possible action on mitochondrial energy metabolism. *Neuropharmacology*. 2008; Vol. 55 (2): 223–9.
9. Radzhabkadiev R.M., Korosteleva M.M., Evstratova V.S., Nikityuk D.B. et al. L-carnitine: properties and perspectives for use in sports practice. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2015; Vol. 84 (3): 4–12. (in Russian)
10. Claude B. et al. Familial aggregation of V-O2max response to exercise training: results from the HERITAGE Family Study. *J Appl Physiol*. 1999; Vol. 3: 1003–8.

Для корреспонденции

Медведев Илья Николаевич – доктор медицинских наук, доктор биологических наук, профессор, заслуженный изобретатель РФ, профессор кафедры социальной работы, культуры и социального права Курского института социального образования (филиал) ФГБОУ ВПО «Российский государственный социальный университет»
 Адрес: 305035, г. Курск, ул. Пирогова, д. 12Б
 Телефон: (4712) 70-83-00
 E-mail: ilmedv1@yandex.ru

И.Н. Медведев

Динамика нарушений внутрисосудистой активности тромбоцитов у крыс в ходе формирования метаболического синдрома с помощью фруктозной модели

Dynamics of violations of intravascular platelet activity in rats during the formation of metabolic syndrome using fructose models

I.N. Medvedev

Курский институт социального образования (филиал) ФГБОУ ВПО «Российский государственный социальный университет»
 Kursk Institute of Social Education (Branch) of Russian State Social University

Цель исследования – проследить в условиях экспериментального формирования метаболического синдрома процесс развития нарушений внутрисосудистой активности тромбоцитов. В исследование включена 61 крыса-самец линии Вистар в возрасте 2,5–3 мес. Животные разделены на 2 группы: 32 крысы получали в свободном доступе в качестве питья 10% раствор фруктозы в течение 8 нед; 29 крыс составили группу контроля. Концентрацию общего холестерина, холестерина липопротеинов высокой плотности и триглицеридов определяли энзиматическим колориметрическим способом. В плазме крови определяли содержание эндотелина-1 радиоиммунологическим методом, тромбоксана B_2 и 6-кетопростагландина $F_{1\alpha}$ – иммуноферментным методом. В крови выявляли суммарное содержание метаболитов оксида азота. Состояние внутрисосудистой активности тромбоцитов оценивали с помощью фазово-контрастного микроскопа. В условиях фруктозной нагрузки у крыс одновременно с нарастанием массы тела и развитием биохимических нарушений, свойственных для метаболического синдрома, наблюдалось выраженное прогрессирующее повышение внутрисосудистой активности тромбоцитов [понижение количества дискоцитов с $81,0 \pm 0,1$ до $61,3 \pm 0,2\%$, нарастание числа активных форм кровяных пластинок с $19,0 \pm 0,1$ до $38,7 \pm 0,2\%$, увеличение числа свободно перемещающихся по крови малых агрегатов с $2,4 \pm 0,0$ до $14,6 \pm 0,1$ на 100 свободных тромбоцитов, а средних и крупных агрегатов (из 4 клеток и более) – с $0,1 \pm 0,03$ до $2,3 \pm 0,06$ на 100 свободных тромбоцитов] во многом за счет нарастания ($p < 0,01$) синтеза тромбоксана B_2 (с $145,9 \pm 0,2$ до $232,6 \pm 0,7$ пг/мл), эндотелина-1 (с $6,9 \pm 0,2$ до $12,5 \pm 0,4$ пг/мл)

и снижения ($p < 0,01$) генерации 6-кетопростагландин $F_{1\alpha}$ (с $75,9 \pm 0,2$ до $62,3 \pm 0,4$ нг/мл) и суммарного количества метаболитов оксида азота (с $27,9 \pm 0,3$ до $23,2 \pm 0,1$ мкмоль/л).

Ключевые слова: крысы, фруктоза, метаболический синдром, тромбоциты, внутрисосудистая активность

Objective: to trace the development of disorders intravascular platelet activity in experimental form of the metabolic syndrome. The study included 61 rat male Wistar rats at the age of 2.5–3 months. Animals were divided into 2 groups: 32 rats were given free access to drink 10% solution of fructose for 8 weeks and 29 rats were the control group. The level of the total cholesterol, high density lipoprotein cholesterol (HDL cholesterol) and triglycerides were determined using colorimetric enzymatic method. The blood plasma content of endothelin-1 was determined by radioimmunoassay, thromboxane B_2 and 6-keto-prostaglandin $F_{1\alpha}$ – by ELISA. The total content of nitrogen oxide metabolites was revealed in blood. Intravascular platelet activity was assessed using phase contrast microscopy. In terms of fructose load in rats simultaneously with the increase of body weight and the development of biochemical disorders that are characteristic for the metabolic syndrome, there comes a marked progressive increase in intravascular platelet activity [reduction of the number of discocytes from 81.0 ± 0.1 to $61.3 \pm 0.2\%$, increase in the number of reactive platelets from 19.0 ± 0.1 to $38.7 \pm 0.2\%$, an increase in the number of freely moving in the blood of small units from 2.4 ± 0.0 to 14.6 ± 0.1 per 100 free platelets, and of medium and large units (from 4 or more cells) from 0.1 ± 0.03 to 2.3 ± 0.06 per 100 free platelets], largely due to the increase ($p < 0.01$) of the synthesis of thromboxane B_2 (from 145.9 ± 0.2 to 232.6 ± 0.7 pg/ml), endothelin-1 (from 6.9 ± 0.2 to 12.5 ± 0.4 pg/ml) and reduction ($p < 0.01$) of the generation of 6-keto-prostaglandin $F_{1\alpha}$ (from 75.9 ± 0.2 to 62.3 ± 0.4 pg/ml), and the total amount of nitric oxide metabolites (from 27.9 ± 0.3 to 23.2 ± 0.1 mmol/l).

Keywords: rats, fructose, metabolic syndrome, platelets, coagulation activity

Функционирование гемостаза во многом обеспечивается оптимумом тромбоцитарной активности [1, 2]. Большая роль в этом принадлежит состоянию внутрисосудистой активности тромбоцитов, зависящей от множества влияний среды [3].

Проведенные ранее работы по различным направлениям физиологии тромбоцитарной активности сформировали современные представления о механизмах ее регуляции при различной патологии [4, 5] и пролили свет на ее динамику при изолированной артериальной гипертензии (АГ) и ее сочетаниях с различными обменными нарушениями [3, 6, 7], в том числе с метаболическим синдромом [1, 8, 9]. Стало ясно, что именно свойственный для АГ при метаболическом синдроме повышенный уровень активности тромбоцитов во многом обеспечивает высокую частоту тромботических явлений [10]. С целью ослабления проявлений тромбоцитопатии и сведений к минимуму риска тромбозов при АГ с метаболическим синдромом были проведены серьезные экспериментальные

и клинические наблюдения по оценке отдельных механизмов ее развития [2, 3, 11]. Вместе с тем особенности ранних изменений тромбоцитарной активности *in vivo* в дебюте формирования метаболического синдрома нельзя считать окончательно выясненными. Невозможность до конца проследить этот процесс на человеке ввиду выпадения лиц с первыми признаками метаболического синдрома из поля зрения клиницистов диктует острую потребность проведения экспериментальных исследований на лабораторных животных с моделированием у них метаболического синдрома [12]. Именно эти сведения способны послужить основой для последующих клинических исследований, направленных на уточнение патогенетически оправданного момента начала коррекционных воздействий у лиц с ранними признаками метаболического синдрома. В связи с этим **целью** исследования было проследить в условиях экспериментального формирования метаболического синдрома процесс развития нарушений внутрисосудистой активности тромбоцитов.

Материал и методы

В исследование включена 61 крыса-самец линии Вистар в возрасте 2,5–3 мес, полученные от здоровых самок первым-вторым пометом. Масса тела животных на момент взятия в исследование составляла $261,1 \pm 1,18$ г, длина окружности живота – $14,7 \pm 0,26$ см. До исследования все крысы не участвовали ни в каких экспериментах и не переносили никаких заболеваний. Случайным образом все животные были разделены на 2 группы: 32 крысы основной группы получали в свободном доступе в качестве питья 10% раствор фруктозы [12], а 29 крыс составили группу контроля. Эксперимент продолжался 8 нед. Кровь у экспериментальных животных брали из хвостовой вены в исходный момент, через 2, 4, 6 и 8 нед фруктозной нагрузки. Животных из группы контроля обследовали двукратно: в исходный момент и в возрасте 4,5–5 мес, т.е. одновременно с окончанием наблюдения за экспериментальными крысами. Ввиду отсутствия статистически значимых различий между результатами двух обследований контрольных крыс полученные данные представлены одной цифрой – их средней арифметической.

Массу тела животных определяли путем взвешивания на лабораторных весах. Длину окружности живота выясняли путем измерения его охвата на уровне середины туловища, выражая в сантиметрах. Концентрацию общего холестерина (ОХС) и триглицеридов (ТГ) определяли при помощи энзиматического колориметрического способа с использованием набора (ООО «Витал Диагностика», РФ). Содержание в плазме холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП) определяли при помощи набора (ООО «Ольвекс Диагностика», РФ) энзиматическим колориметрическим способом. Концентрацию холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП) устанавливали расчетным путем. Концентрацию холестерина липопротеинов очень низкой плотности (ХС ЛПОНП) вычисляли, используя формулу:

$$\text{ХС ЛПОНП} = \text{концентрация ТГ} / 2,2.$$

Интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) в жидкой части крови оценивали по количеству содержащихся в ней тиобарбитуровая кислота (ТБК)-активных продуктов с помощью набора (ООО «Агат-Мед», РФ) и по содержанию ацилгидроперекисей (АГП) с учетом уровня антиокислительной активности (АОА) крови [13]. В плазме крови определяли содержание эндотелина-1 радиоиммунологическим методом с помощью реактивов фирмы «DRG» (США), а также уровни тромбксана B_2 и 6-кетопроستاгландина $F_{1\alpha}$ путем иммуноферментного анализа при помощи наборов («Enzo Life science», США). В крови крыс

выявляли суммарное содержание метаболитов оксида азота [14]. Состояние внутрисосудистой активности тромбоцитов оценивали с помощью фазово-контрастного микроскопа [15].

Результаты обрабатывали статистически с использованием критерия (*t*) Стьюдента.

Результаты

Изначально нормальная масса тела животных основной группы уже спустя 2 нед эксперимента имела тенденцию к росту, а начиная с 4 нед ее увеличение достигло уровня статистической значимости (см. таблицу). Окружность живота так же увеличивалась на фоне потребления фруктозы с питьевой водой (см. таблицу).

У включенных в эксперимент крыс, получавших фруктозу, уже спустя 2 нед в липидном составе плазмы появилась тенденция к ухудшению, а через 4 нед отрицательная динамика достигла уровня достоверности, что в последующем прогрессивно усугублялось. При этом уже через 2 нед экспериментального воздействия у крыс отмечено достоверное понижение АОА плазмы при нарастании в ней АГП и ТБК-активных продуктов, продолжавшееся в течение всего срока потребления животными фруктозы (см. таблицу).

Оптимальная на момент начала эксперимента концентрация метаболитов арахидоновой кислоты в плазме у крыс, получавших фруктозу, быстро изменялась – уже через 4 нед эксперимента найден дисбаланс метаболитов, достигший своего максимума к 8 нед: уровень тромбксана B_2 возрос на 37,3% при понижении концентрации 6-кетопроستاгландина $F_{1\alpha}$ на 21,8%. Это сопровождалось у наблюдаемых крыс нарастанием уровня эндотелина-1 до $12,5 \pm 0,36$ пг/мл и понижением суммарного количества метаболитов оксида азота на 20,2% (см. таблицу).

При создании у крыс с помощью фруктозной модели метаболического синдрома уже через 2 нед отмечена тенденция к усилению внутрисосудистой активности тромбоцитов, динамика которой стала достоверной через 4 нед нагрузки фруктозой и испытывала дополнительное повышение в течение всего наблюдения. Это привело к 8 нед эксперимента к понижению количества дискоцитов до $61,3 \pm 0,2\%$ и нарастанию числа активных форм кровяных пластинок до $38,7 \pm 0,2\%$. На протяжении 8 нед эксперимента число свободно перемещающихся по крови животных малых агрегатов в 6,1 раза, а средних и крупных агрегатов – в 23 раза значимо увеличилось. К моменту окончания эксперимента количество тромбоцитов в агрегатах в их крови превышало контроль на 80,6%.

Таким образом, в экспериментальных условиях фруктозной нагрузки выяснено, что одновременно с нарастанием массы тела и развитием биохими-

Динамика морфометрических, биохимических и гематологических показателей у крыс, получавших раствор фруктозы в свободном доступе ($M \pm m$)

Показатель	Опытная группа (n=32)					Контрольная группа, (n=29)
	исходное состояние	2 нед нагрузки фруктозой	4 нед нагрузки фруктозой	6 нед нагрузки фруктозой	8 нед нагрузки фруктозой	
Масса тела, г	262,1±1,2	268,5±1,1	276,3±1,2 $p < 0,05$	283,4±1,3 $p < 0,01$	296,6±1,3 $p < 0,01$	260,1±1,12
Окружность живота, см	14,7±0,2	15,1±0,3	15,8±0,1 $p < 0,05$	16,4±0,2 $p < 0,01$	17,2±0,2 $p < 0,01$	14,8±0,3
ОХС, ммоль/л	2,19±0,06	2,30±0,09	2,54±0,07 $p < 0,01$	2,79±0,05 $p < 0,01$	2,92±0,03 $p < 0,01$	2,22±0,06
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,12±0,05	1,06±0,04	1,01±0,00 $p < 0,05$	0,96±0,00 $p < 0,01$	0,94±0,01 $p < 0,01$	1,10±0,00
ХС ЛПНП, ммоль/л	0,59±0,04	0,67±0,05 $p < 0,05$	0,82±0,07 $p < 0,01$	1,09±0,08 $p < 0,01$	1,15±0,04 $p < 0,01$	0,63±0,02
ХС ЛПОНП, ммоль/л	0,48±0,003	0,57±0,06 $p < 0,05$	0,71±0,05 $p < 0,01$	0,78±0,01 $p < 0,01$	0,83±0,00 $p < 0,01$	0,49±0,00
ТГ, ммоль/л	1,05±0,05	1,26±0,06 $p < 0,05$	1,56±0,04 $p < 0,01$	1,72±0,03 $p < 0,01$	1,83±0,02 $p < 0,01$	1,08±0,04
АГП, Д ₂₃₃ /1 мл	1,37±0,12	1,64±0,06 $p < 0,05$	1,97±0,07 $p < 0,01$	2,50±0,05 $p < 0,01$	2,85±0,04 $p < 0,01$	1,41±0,03
ТБК-продукты, мкмоль/л	2,27±0,06	2,83±0,06 $p < 0,05$	3,39±0,09 $p < 0,01$	3,98±0,07 $p < 0,01$	4,48±0,08 $p < 0,01$	2,30±0,04
АОА, %	29,2±0,05	27,6±0,08	26,0±0,08 $p < 0,05$	24,6±0,06 $p < 0,01$	22,4±0,05 $p < 0,01$	29,7±0,04
Тромбоксан В ₂ , пг/мл	145,9±0,2	168,7±0,5	184,7±0,6 $p < 0,01$	208,1±0,4 $p < 0,01$	232,6±0,7 $p < 0,01$	148,1±0,3
6-кетопроستاгландин F _{1α} , пг/мл	75,9±0,2	72,4±0,3	69,6±0,3 $p < 0,05$	65,4±0,4 $p < 0,01$	62,3±0,4 $p < 0,01$	76,5±0,2
Метаболиты NO, мкмоль/л	27,9±0,3	27,1±0,2	26,4±0,1 $p < 0,05$	24,7±0,2 $p < 0,01$	23,2±0,1 $p < 0,01$	28,5±0,3
Эндотелин-1, пг/мл	6,9±0,2	8,2±0,2 $p < 0,05$	10,1±0,3 $p < 0,01$	11,4±0,3 $p < 0,01$	12,5±0,4 $p < 0,01$	6,8±0,2
Количество дискоцитов, %	81,0 ±0,1	78,8±0,1	72,5±0,2 $p < 0,01$	65,0±0,2 $p < 0,01$	61,3±0,2 $p < 0,01$	80,4±0,2
Базальное количество диско-эхиноцитов, %	14,5±0,1	15,5±0,1 $p < 0,05$	17,3±0,1 $p < 0,01$	21,7±0,1 $p < 0,01$	21,0±0,1 $p < 0,01$	15,2±0,1
Количество сфероцитов, %	2,3±0,1	2,9±0,1	5,6±0,1 $p < 0,01$	7,9±0,1 $p < 0,01$	10,9±0,1 $p < 0,01$	2,2 ±0,1
Количество сферо-эхиноцитов, %	1,7±0,1	2,2±0,1 $p < 0,05$	3,8±0,1 $p < 0,01$	4,4±0,1 $p < 0,01$	5,5±0,1 $p < 0,01$	1,6±0,1
Суммарное количество активированных тромбоцитов, %	19,0±0,1	21,2±0,2	27,5±0,2 $p < 0,01$	35,0±0,2 $p < 0,01$	38,7±0,2 $p < 0,01$	19,6±0,1
Количество тромбоцитов в агрегатах, %	6,3±0,1	6,9±0,1 $p < 0,05$	8,5±0,1 $p < 0,01$	9,9±0,1 $p < 0,01$	11,2±0,1 $p < 0,01$	6,2±0,1
Количество агрегатов малых размеров, по 2–3 тромбоцита на 100 свободных тромбоцитов	2,4±0,0	3,8±0,1 $p < 0,01$	7,4±0,1 $p < 0,01$	11,2±0,1 $p < 0,01$	14,6±0,1 $p < 0,01$	2,3±0,0
Количество средних и больших тромбоцитных агрегатов из 4 клеток и более на 100 свободных тромбоцитов	0,1±0,03	0,8±0,04 $p < 0,05$	1,3±0,02 $p < 0,01$	1,8±0,03 $p < 0,01$	2,3±0,06 $p < 0,01$	0,1±0,02

Примечание. p – достоверность отличий показателя у опытных крыс от величин контроля.

ческих нарушений, свойственных для метаболического синдрома, возникает быстро углубляющееся усиление внутрисосудистой активности тромбоци-

тов, во многом связанное с понижением в крови уровня простаглицина и NO и нарастанием уровня тромбоксана, эндотелина-1 и продуктов ПОЛ.

Литература

1. Громнацкий Н.И., Медведев И.Н. Коррекция нарушений тромбоцитарного гемостаза немедикаментозными средствами у больных артериальной гипертензией с метаболическим синдромом // Клини. мед. 2003. Т. 81, № 4. С. 31–34.
2. Симоненко В.Б., Медведев И.Н., Толмачев В.В. Динамика активности первичного гемостаза у больных артериальной гипертензией при метаболическом синдроме на фоне лечения кандесартаном // Клини. мед. 2011. Т. 89, № 3. С. 35–38.
3. Симоненко В.Б., Медведев И.Н., Носова Т.Ю. Агрегационная функция тромбоцитов у лиц с артериальной гипертензией с абдоминальным ожирением // Клини. мед. 2008. Т. 86, № 5. С. 22–24.
4. Кутафина Н.В., Медведев И.Н. Тромбоцитарная агрегация у клинически здоровых лиц второго зрелого возраста, проживающих в Курском регионе // Успехи геронтологии. 2015. Т. 28, № 2. С. 321–325.
5. Медведев И.Н., Лапшина Е.В., Завалишина С.Ю. Активность тромбоцитарного гемостаза у детей с искривлениями позвоночника // Бюл. exper. биол. 2010. № 5. С. 579–580.
6. Медведев И.Н., Скорятин И.А. Влияние ловастатина на адгезивно-агрегационную функцию тромбоцитов у больных артериальной гипертензией с дислипидемией // Клини. мед. 2010. Т. 88, № 2. С. 38–40.
7. Симоненко В.Б., Медведев И.Н., Гамолina О.В. Активность первичного гемостаза у больных артериальной гипертензией с нарушением толерантности к глюкозе на фоне применения трандолаприла // Клини. мед. 2011. Т. 89, № 2. С. 29–31.
8. Медведев И.Н., Громнацкий Н.И. Воздействие небиволола на агрегацию тромбоцитов больных артериальной гипертензией с метаболическим синдромом // Клини. мед. 2005. Т. 83, № 3. С. 31–33.
9. Медведев И.Н. Сравнительный анализ влияния нормодипина и спираприла на внутрисосудистую активность тромбоцитов у больных артериальной гипертензией с метаболическим синдромом // Тер. арх. 2007. Т. 79, № 10. С. 25–27.
10. Симоненко В.Б., Медведев И.Н., Кумова Т.В. Патогенетические аспекты артериальной гипертензии при метаболическом синдроме // Воен.-мед. журн. 2010. Т. 331, № 9. С. 41–44.
11. Медведев И.Н. Коррекция первичного гемостаза у больных артериальной гипертензией при метаболическом синдроме // Клини. мед. 2007. Т. 85, № 3. С. 29–33.
12. Решетняк М.В., Хирмаков В.Н., Зыбина Н.Н., Фролова М.В. и др. Модель метаболического синдрома, вызванного кормлением фруктозой: патологические взаимосвязи обменных нарушений // Мед. академ. журн. 2011. Т. 11, № 3. С. 23–27.
13. Волчегорский И.А., Долгушин И.И., Колесников О.Л., Цейликман В.Э. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма. Челябинск, 2000. 167с.
14. Метельская В.А., Гуманова Н.Г. Оксид азота: роль в регуляции биологических функций, методы определения в крови человека // Лаб. мед. 2005. № 7. С. 19–24.
15. Завалишина С.Ю., Краснова Е.Г., Медведев И.Н. Методические вопросы исследования функциональной активности тромбоцитов при различных состояниях // В мире науч. открытий. 2012. № 2. С. 145–147.

References

1. Gromnatskiy N.I., Medvedev I.N. Non-pharmacological correction of impaired platelet hemostasis in hypertensive patients with metabolic syndrome. *Klinicheskaya medicina* [Clinical Medicine]. 2003; Vol. 81 (4): 31–4. (in Russian)
2. Simonenko V.B., Medvedev I.N., Tolmachev V.V. Dynamics of primary hemostasis activity in patients with arterial hypertension and metabolic syndrome treated with candesartan. *Klinicheskaya medicina* [Clinical Medicine]. 2011; Vol. 89 (3): 35–8. (in Russian)
3. Simonenko V.B., Medvedev I.N., Nosova T.Yu. Aggregation function of platelets in persons with arterial hypertension and abdominal obesity. *Klinicheskaya medicina* [Clinical Medicine]. 2008; Vol. 86 (5): 22–4. (in Russian)
4. Kutafina N.V., Medvedev I.N. Platelet aggregation clinically healthy persons of the second coming of age living in the Kursk region. *Uspehi gerontologii* [Advances in Gerontology] 2015; Vol. 28 (2): 321–5. (in Russian)
5. Medvedev I.N., Lapshina E.V., Zavalishina S.Yu. Experimental methods for clinical practice: Activity of platelet hemostasis in children with spinal deformities. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i mediciny* [Bulletin of Experimental Biology and Medicine]. 2010; Vol. 5: 579–80. (in Russian)
6. Medvedev I.N., Skoryatina I.A. Effect of lovastatin on adhesive and aggregation function of platelets in patients with arterial hypertension and dyslipidemia. *Klinicheskaya medicina* [Clinical Medicine]. 2010; Vol. 88 (2): 38–40. (in Russian)
7. Simonenko V.B., Medvedev I.N., Gamolina O.V. Primary hemostasis activity in patients with arterial hypertension and impaired glucose tolerance treated with trandolapril. *Klinicheskaya medicina* [Clinical Medicine]. 2011; Vol. 89 (2): 29–31. (in Russian)
8. Medvedev I.N., Gromnatskiy N.I. The influence of nebivolol on thrombocyte aggregation in patients with arterial hypertension with metabolic syndrome. *Klinicheskaya medicina* [Clinical Medicine]. 2005; Vol. 83 (3): 31–3. (in Russian)
9. Medvedev I.N. A comparative analysis of normodipin and spirapril effects on intravascular activity of platelets in patients with metabolic syndrome. *Terapevticheskij arhiv* [Therapeutic Archive]. 2007; Vol. 79 (10): 25–7. (in Russian)
10. Simonenko V.B., Medvedev I.N., Kumova T.V. Pathogenetic aspects of hypertension in case of metabolic syndrome. *Voenno-meditsinskij zhurnal*. 2010; Vol. 331 (9): 41–44. (in Russian)
11. Medvedev I.N. Correction of primary hemostasis in patients suffering from arterial hypertension with metabolic syndrome. *Klinicheskaya medicina* [Clinical Medicine]. 2007; Vol. 85 (3): 29–33. (in Russian)
12. Reshetnyak M.V., Khirmakov V.N., Zyбина N.N., Frolova M.V. et al. The model of the metabolic syndrome, caused by feeding fructose: pathologic correlation of metabolic disorders. *Meditsinskij akademicheskij zhurnal* [Medical Academic Journal]. 2011; Vol. 11 (3): 23–7. (in Russian)
13. Volchegorskiy I.A., Dolgushin I.I., Kolesnikov O.L., Cejlikman V.Je. Experimental modeling and laboratory evaluation of adaptive reactions. Cheljabinsk, 2000: 167 p. (in Russian)
14. Metel'skaja V.A., Gumanova N.G. Nitric oxide: role in the regulation of biological functions, methods of determining human blood. *Laboratornaya medicina* [Laboratory Medicine]. 2005; Vol. 7: 19–24. (in Russian)
15. Zavalishina S.Yu., Krasnova E.G., Medvedev I.N. Methodological aspects of research of platelet functional activity in various state. *V mire nauchnykh otkrytiy* [In the World of Scientific Discoveries]. 2012; Vol. 2: 145–147. (in Russian)

Для корреспонденции

Гмошинский Иван Всеволодович – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий ФГБНУ «НИИ питания»

Адрес: 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14

Телефон: (495) 698-53-71

E-mail: gmosh@ion.ru

Н.В. Зайцева¹, М.А. Землянова^{1, 2}, В.Н. Звездин¹, А.А. Довбыш¹, И.В. Гмошинский³, С.А. Хотимченко³, Т.И. Акафьева⁴

Токсикологическая оценка наноразмерного коллоидного серебра, стабилизированного поливинилпирролидоном, в 92-дневном эксперименте на крысах. II. Морфология внутренних органов

Toxicological evaluation of nanosized colloidal silver, stabilized with polyvinylpyrrolidone, in 92-day experiment on rats. II. Internal organs morphology

N.V. Zaytseva¹, M.A. Zemlyanova^{1, 2}, V.N. Zvezdin¹, A.A. Dovbysh¹, I.V. Gmoshinsky³, S.A. Khotimchenko³, T.I. Akafieva⁴

¹ ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора, Пермь

² ФГБОУ ВПО «Пермский национальный исследовательский политехнический университет»

³ ФГБНУ «НИИ питания», Москва

⁴ ФГБОУ ВПО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»

¹ Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm'

² Perm National Research Polytechnic University

³ Institute of Nutrition, Moscow

⁴ Perm State National Research University

Целью исследования стала оценка безопасных доз промышленно выпускаемого наноразмерного коллоидного серебра (НКС), стабилизированного поливинилпирролидоном (ПВП, пищевая добавка E1201), при введении в желудочно-кишечный тракт крыс в 92-дневном эксперименте по показателям морфологических изменений в органах животных. Исследуемый образец НКС содержал неагрегированные наночастицы (НЧ) серебра, принадлежащие к размерным фракциям с диаметром менее 5, 10–20 и 50–80 нм. 80% НЧ находилось в интервале гидродинамических диаметров 10,6–61,8 нм. Препарат НКС вводили растущим крысам-самцам линии Вистар с исходной массой тела 80±10 г в течение 1 мес внутрижелудочно через зонд и далее с потребляемым кормом в дозах 0,1, 1,0 и 10 мг на 1 кг массы тела в расчете на серебро. Животные контрольных групп получали воду или носитель наноматериала – водный раствор ПВП. После выведения животных из эксперимента путем обескровливания под эфирной анестезией отбирали органы (печень, селезенку, почки, подвздошную кишку) и готовили их микропрепараты по стандартным методикам; окраску осуществляли гематоксилином

и эозином. Анализ микропрепаратов выполняли в светооптическом микроскопе, снабженном цифровой фотокамерой, при увеличении от 1×100 до 1×1000 . Показано, что у животных опытных групп, получавших НКС, отмечается серия морфологических изменений тканей внутренних органов (печени, селезенки и почек) с нарастанием спектра и степени выраженности структурных изменений по мере увеличения дозы серебра. Органом, наиболее чувствительным к воздействию НКС, является, по-видимому, печень животных, в которой уже при дозе НЧ серебра 0,1 мг на 1 кг массы тела отмечается эозинофильная инфильтрация портальных трактов, которая при дальнейшем увеличении дозы до 1,0 и 10,0 мг на 1 кг массы тела начинает сопровождаться появлением средних и крупнокапельных жировых вакуолей в цитоплазме гепатоцитов, отеком и лимфомакрофагальной инфильтрацией портальных трактов. Выявляемые изменения могут рассматриваться как признаки развития воспаления гепатоцитов, во всяком случае при дозе наноматериала 1,0 мг на 1 кг массы тела и более. Сравнительная выраженность морфологических изменений во внутренних органах коррелирует с известными из литературы данными о биораспределении НЧ серебра, вводимых в желудочно-кишечный тракт. Сделан вывод, что пороговая доза, отвечающая минимальному токсическому действию НКС, по данным изучения вышеуказанных органов, не превышает 1,0 мг на 1 кг массы тела в расчете на серебро.

Ключевые слова: серебро, наночастицы, токсичность, крысы, морфология, печень, селезенка, почки

The aim of the study was to evaluate the safe doses of commercially available nanosized colloidal silver (NCS), stabilized with polyvinylpyrrolidone (PVP, food additive E1201) when administered in gastrointestinal tract of rats in the 92-day experiment in terms of the morphological changes in the internals of animals. The sample studied contained non-aggregated nanoparticles (NPs) of silver belonging to size fractions with a diameter of less than 5 nm, 10–20 nm or 50–80 nm. 80% of NPs were inside the range of hydrodynamic diameters 10.6–61.8 nm. The preparation of NCS was administered to growing male Wistar rats (initial body weight 80 ± 10 g) for 1 month by intragastric gavage and then consumed with food at doses of 0.1, 1.0 and 10 mg/kg of body weight based on silver. The control animals received water or vehicle of nanomaterial – water solution of PVP. After withdrawal of animals from the experiment by exsanguination under ether anesthesia organs (liver, spleen, kidney, ileum) were isolated and their slides were prepared by standard methods following by staining with hematoxylin-eosin. Analysis was performed in light optical microscope equipped with a digital camera at a magnification from 1×100 to 1×1000 . It was shown that the experimental animals treated with the NCS developed series of morphological changes in the tissues of the internal organs (liver, spleen and kidney) with the elevation of the range and severity of structural changes with increasing doses of silver. The most sensitive target of NCS action was apparently liver, which has already shown at a dose of 0.1 mg of silver NP/kg of body weight marked eosinophilic infiltration of portal tracts, which was accompanied at doses of 1.0 and 10.0 mg/kg by the emergence of medium and large-drop fat vacuoles in the cytoplasm of hepatocytes, swelling and lympho-macrophage infiltration of the portal tracts. Detectable changes can be regarded as symptoms of inflammation of hepatocytes, at least, at a dose nanomaterial of 1.0 mg/kg body weight or more. Relative intensity of morphological changes in the internal organs correlated with published data on the biodistribution of silver NP administered to the gastrointestinal tract. It is concluded that the threshold dose corresponding to the minimum adverse effect of NCS is, according to the study of the above, no more than 1.0 mg/kg of body weight based on silver.

Keywords: silver, nanoparticles, toxicity, rats, morphology, liver, spleen, kidney

В настоящее время значительно возрастает нагрузка на население наночастицами (НЧ) серебра, содержащимися в большом числе видов потребительской продукции (медицинские препараты, перевязочные материалы, дезинфицирующие средства, лакокрасочная продукция, текстиль, фильтры для воды, упаковочные материалы, косметическая продукция, биологически активные добавки к пище) [1–3]. Годовой объем производства в мире материалов, содержащих этот вид НЧ, в 2011 г. превысил 500 т в пересчете на серебро [4]. В результате утилизации изделий и материалов, содержащих НЧ серебра, они могут поступать в объекты окружающей среды [4, 5]. Ввиду этого оценка рисков, связанных с пероральным поступлением НЧ серебра в организм,

является актуальной и представляет собой одну из важных задач гигиены и профилактической медицины.

В ряде исследований сообщается о токсическом действии НЧ серебра при пероральном введении. Так, анализ морфологических изменений ткани печени и желчных протоков мышей после экспозиции НЧ серебра в течение 28 дней в дозе 125 мг на 1 кг массы тела и выше выявил вакуолизацию, очаговый некроз печени, гиперплазию желчных протоков, а также повышенную инфильтрацию клеток, воспаление и расширение центральных вен [6]. При внутрижелудочном введении мышам НЧ серебра в дозе 1 мг на 1 кг массы тела в течение 14 дней отмечали увеличение экспрессии IL-1, IL-6, IL-4, IL-10, IL-12 и TGF- β , признаки

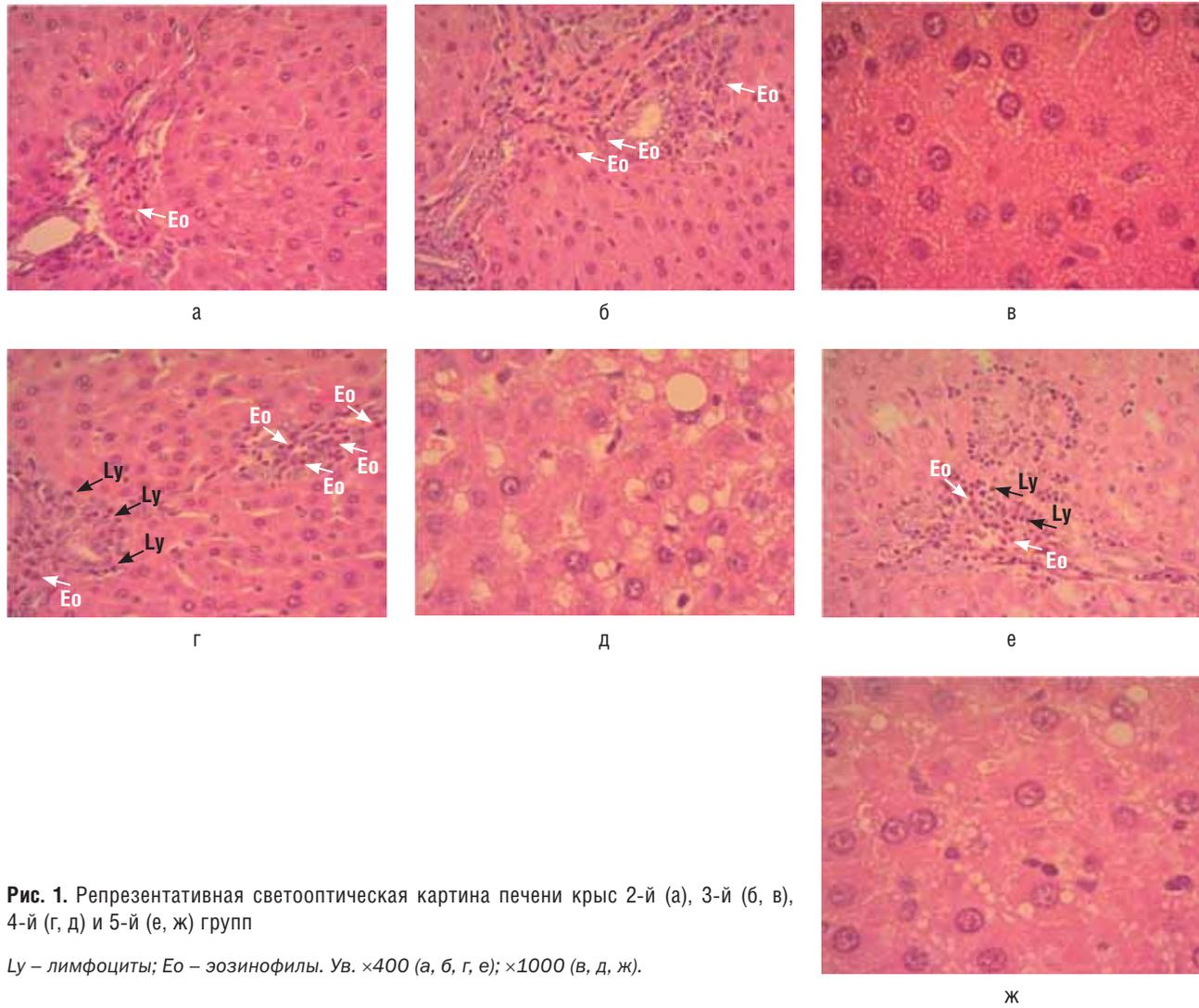


Рис. 1. Репрезентативная светооптическая картина печени крыс 2-й (а), 3-й (б, в), 4-й (г, д) и 5-й (е, ж) групп

Ly – лимфоциты; *Eo* – эозинофилы. Ув. $\times 400$ (а, б, г, е); $\times 1000$ (в, д, ж).

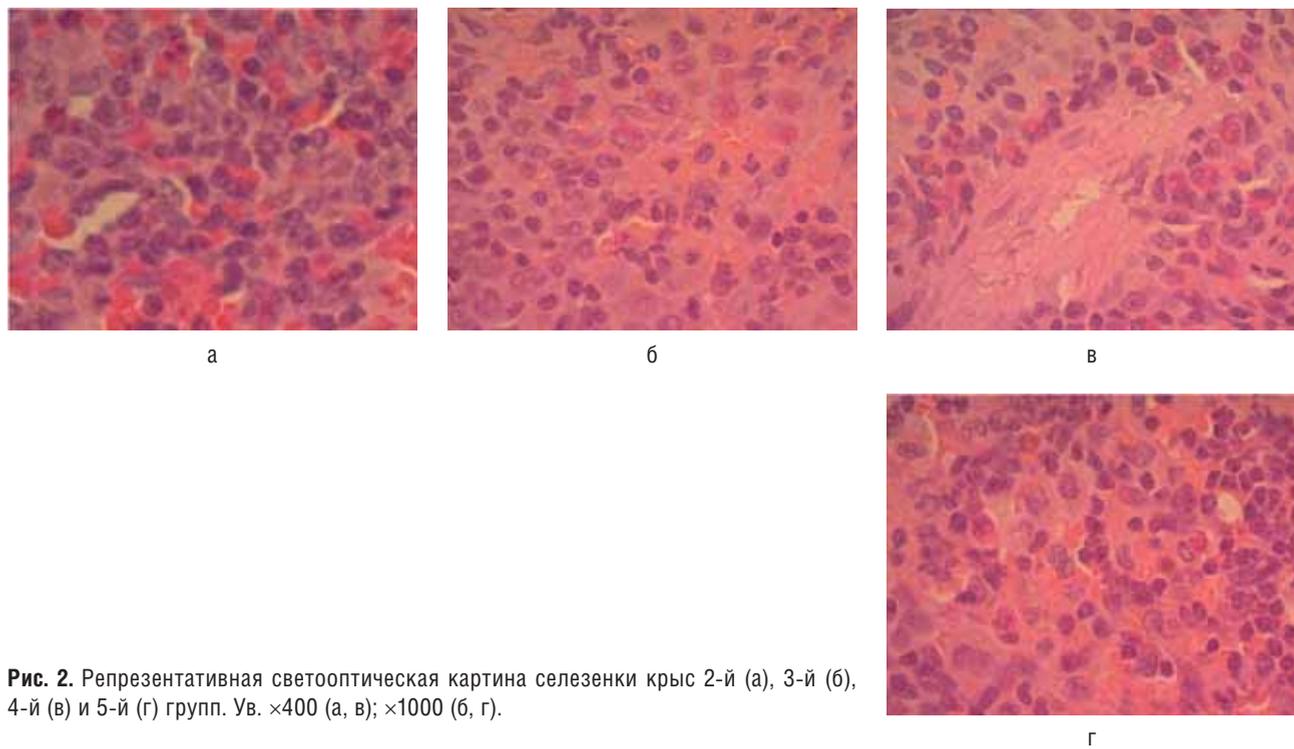
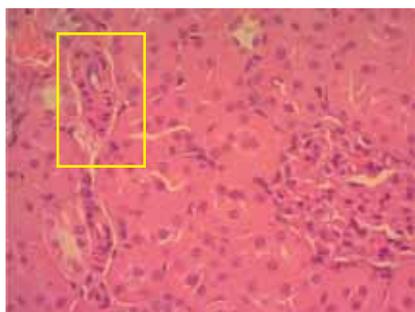
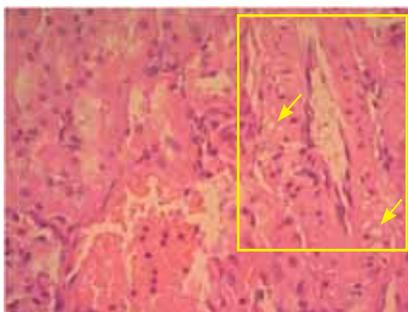


Рис. 2. Репрезентативная светооптическая картина селезенки крыс 2-й (а), 3-й (б), 4-й (в) и 5-й (г) групп. Ув. $\times 400$ (а, в); $\times 1000$ (б, г).

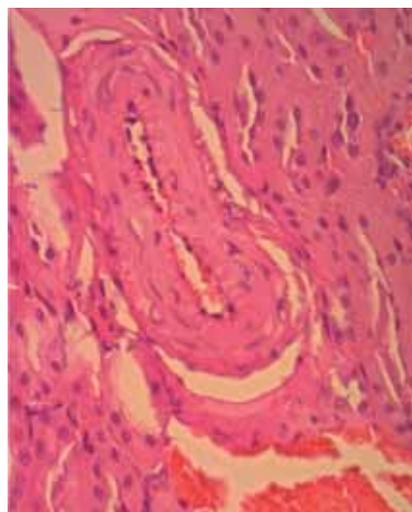




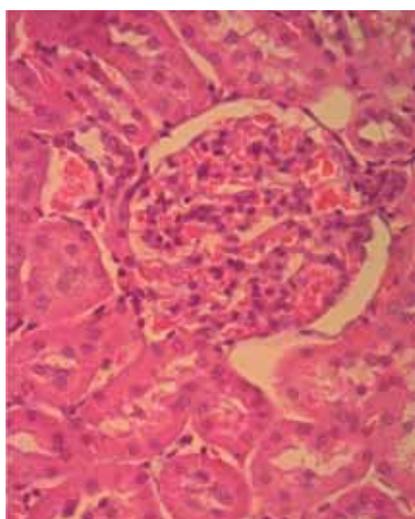
а



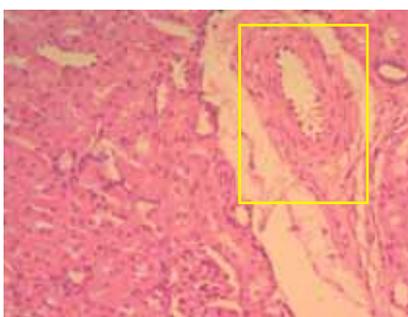
б



в



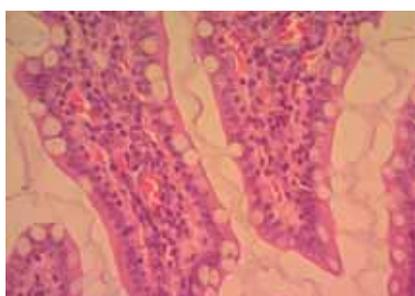
г



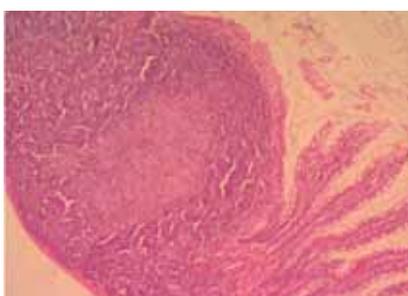
д

Рис. 3. Репрезентативная светооптическая картина почки крыс 2-й (а), 3-й (б), 4-й (в, г), 5-й (д) групп

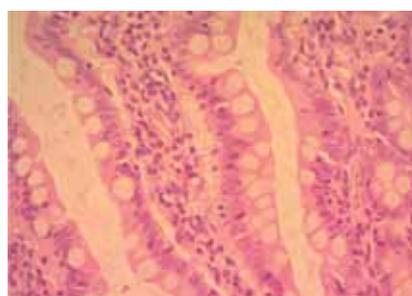
Прямоугольник – ветви почечной артерии; очаговая вакуолизация миоцитов (стрелки). Ув. $\times 400$ (а–г); $\times 200$ (д).



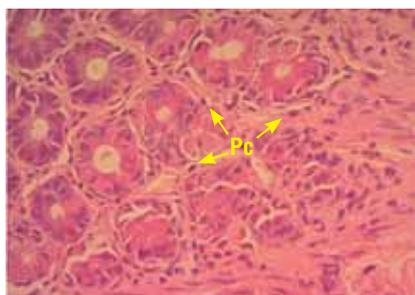
а



б



в



г

Рис. 4. Репрезентативная светооптическая картина стенки подвздошной кишки крыс 2–5-й групп

а – крыса 2-й группы, аксиальный срез, вершина ворсинки; б – крыса 3-й группы, аксиальный срез, ворсинка с частью пейерова фолликула; в – крыса 4-й группы, аксиальный срез, ворсинка и криптальная область; г – крысы 5-й группы, латеральный срез. Pc – клетки Панета. Ув. $\times 400$ (а, в, г); $\times 100$ (б).



гистопатологического действия на почки [7]. В результате 28-дневного введения НЧ серебра самцам крыс в возрасте около 1 мес в начале эксперимента у животных отмечались снижение уровня глюкозы натощак, повышение макромолекулярной проницаемости кишки, ингибирование развития симбиотической кишечной микрофлоры [8]. В то же время авторы исследования [9] не выявили достоверных признаков пероральной токсичности НЧ серебра (включая репродуктивную токсичность) для самцов и самок крыс в дозах до 250 мг на 1 кг массы тела при длительности введения до 52 дней. Таким образом, имеющиеся оценки пероральных токсических доз НЧ противоречивы, что может быть обусловлено различиями в свойствах применяемых НЧ.

Среди выпускаемых в настоящее время материалов, содержащих НЧ серебра, наибольший практический интерес представляет наноразмерное коллоидное серебро (НКС), стабилизированное поливинилпирролидоном (ПВП). Преимуществами этого стабилизатора являются его высокая эффективность в сочетании с низкой токсичностью для человека (ПВП является разрешенной пищевой добавкой E1201, а также используется в составе инфузионных растворов – кровезаменителей). **Цель** цикла исследований, проводимых совместно ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» и ФГБНУ «НИИ питания», – оценка безопасных доз НКС, стабилизированного ПВП, при введении в желудочно-кишечный тракт крыс в 92-дневном эксперименте с использованием методических указаний по оценке безопасности наноматериалов [10]. Предметом исследования в данной статье являются морфологические (гистопатологические) изменения в органах животных.

Материал и методы

Исследованный раствор НКС («кластерного серебра») «Арговит-С» по ТУ 9310-03-79044259-12 был предоставлен ООО НПЦ «Вектор-Вита» (Новосибирск¹, РФ). Препарат НКС представлял собой водный раствор коричневого цвета (в проходящем свете) с зеленовато-серым оттенком (в отраженном свете) и небольшой опалесценцией. Длина волны максимума поглощения в видимой области составляла $\lambda=403,2$ нм. Согласно данным анализа методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (MP 1.2.2641-10), общее содержание серебра в неразбавленном растворе НКС составляло $10,09 \pm 0,04$ мг/см³.

Стабилизатор ПВП в продукте содержался в количестве 19% (по массе). Исследование методом трансмиссионной электронной микроскопии² (микроскоп «JEOL JEM-100CX»; «JEOL», Япония) при ускоряющем напряжении 80 кВ показало, что в составе изучаемого образца НКС выявляются НЧ высокой электронной плотности, с четкими контурами, преимущественно округлой, эллипсоидной формы и отдельные частицы треугольной формы, принадлежащие к размерным фракциям с диаметром <5, 10–20 и 50–80 нм. В качестве НЧ серебра эти частицы идентифицировали методом дифракции электронов с выбранной области (MP 1.2.2641-10). По данным исследования методом динамического лазерного светорассеяния на приборе «Nanotrack Wave» («Microtrac Inc.», США), 80% НЧ серебра находилось в интервале гидродинамических диаметров 10,6–61,8 нм.

Работа с животными выполнена в соответствии с Руководством по уходу и использованию лабораторных животных (ILAR, DELS) и Правилами лабораторной практики [11, 12]. Эксперимент выполнен на 5 группах животных – по 15 крыс-самцов линии Вистар исходной массой тела 80 ± 10 г, в возрасте около 30 дней, полученных из питомника «Столбовая». На протяжении всего эксперимента животные получали сбалансированный полусинтетический рацион согласно МУ 1.2.2520-09. Крыс размещали в клетках по 3 особи, рацион и воду предоставляли в режиме свободного неограниченного доступа. На протяжении первого месяца эксперимента животные 1-й (контрольной) группы получали внутривентрикулярно через зонд деионизованную воду, 2-й группы – носитель ПВП («Пласдон К-29/32», «Ashland», США) в виде 2% водного раствора в дозе 200 мг на 1 кг массы тела, 3–5-й групп – раствор НКС в дозах соответственно 0,1, 1,0 и 10,0 мг на 1 кг массы тела в сутки в пересчете на серебро. Животным 3-й и 4-й групп дополнительно вводили ПВП в количестве, соответствующем его поступлению с препаратом НКС в 5-й группе. Начиная со второго месяца эксперимента, соответствующие количества НКС и ПВП добавляли к корму животных; потребляемые дозы рассчитывали, определяя фактическую поедаемость рационов. В ходе эксперимента крыс ежедневно взвешивали на электронных весах с точностью ± 1 г, фиксировали заболеваемость, летальность, внешний вид, активность, состояние шерстяного покрова, стула, особенности поведения.

Выведение животных из эксперимента осуществляли на 93-е сутки путем обескровливания из нижней полой вены под эфирной анестезией. Вскрытие животных, отбор органов (печень, почки, селезенку, подвздошную кишку) для морфологи-

¹ Авторы благодарят кандидата химических наук В.А. Бурмишрова за предоставленный для исследования образец коллоидного серебра.

² Исследование проведено кандидатом биологических наук С.М. Придворовой (ФГБНУ «Институт биохимии им. А.Н. Баха»).

ческих исследований осуществляли в соответствии с МУ 1.2.2745-10. Немедленно после отбора органов материал фиксировали в 10% нейтральном (забуференном 0,1 М фосфатом натрия, pH 7,00±0,05) растворе формалина (квалификации «Analytical grade», «Sigma-Aldrich», Германия) в соотношении 1:50 (образец:фиксатор) по массе.

Подготовка гистологических препаратов включала дегидратацию фрагментов органов в спиртах восходящей концентрации, пропитку хлороформом и парафином в автоматическом гистологическом процессоре «Excelsior ES» («Thermo Scientific», Германия). Далее фрагменты заливали гомогенизированной парафиновой средой «Histomix» [13] на станции заливки блоков «Histo Star» («Thermo Scientific», Германия). Парафиновые срезы толщиной 3–4 мкм изготавливали на санном микротоме «JUNG SM 2000R» («Leica», Германия) и окрашивали их по общепринятой методике [14] гематоксилином и эозинном в роботе-окрашивателе «Varistain Gemini ES» («Thermo Scientific», Германия). Полученные микропрепараты исследовали на светооптическом микроскопе «MEIJI» («Techno», Япония), снабженном камерой «Microscopy VISION» («VISION», Канада) при увеличении ×50, ×100, ×200, ×400, ×800, ×1000. Микрофотографии выполняли с помощью камеры «Microscopy VISION» («VISION», Канада). В каждой из групп животных изучено не менее 8 микропрепаратов каждого органа. Всего проанализировано 550 микропрепаратов исследованных органов.

Результаты

Контрольная группа животных (1-я группа)

При оценке морфологии внутренних органов крыс 1-й (контрольной) группы структура ткани печени и почек соответствовала ортодоксальной картине для животных данного пола и возраста; видимых патологических изменений не установлено. В структуре лимфоидной ткани селезенки выявлены увеличение объема белой пульпы до 35–40% от общего объема ткани (норма – 20–25%), образование реактивных фолликулов. В подвздошной кишке установлена гиперплазия лимфоидной ткани, ассоциированная со слизистой оболочкой тонкой кишки. Указанные эффекты могут рассматриваться как не выходящие за пределы нормальных возрастных изменений для животных 4-месячного возраста.

Животные, получавшие носитель/стабилизатор наноматериала – поливинилпирролидон (2-я группа)

При изучении структуры тканей внутренних органов крыс 2-й группы, получавших ПВП в дозе 200 мг на 1 кг массы тела в сутки в течение

92 дней, видимых морфологических изменений печени, селезенки, почек и подвздошной кишки относительно структуры органов от животных 1-й контрольной группы не установлено. Репрезентативные микрофотографии препаратов органов животных 2-й группы в сравнении с 1-й группой представлены на рис. 1а, 2а, 3а, 4а (см. цветную вклейку).

Животные, получавшие наноразмерное коллоидное серебро в дозе 0,1 мг на 1 кг массы тела в расчете на серебро (3-я группа)

Печень. Капсула органа имеет тонкую волокнистую структуру с очаговым набуханием мезотелия. Балочное строение печени сохранено (рис. 1б, см. цветную вклейку). Цитоплазма гепатоцитов зернистая, содержит большое количество мелких прозрачных вакуолей с четкими контурами (рис. 1в, см. цветную вклейку). Морфология стенок и эндотелия центральных и портальных вен, артерий, синусов, структура и органное распределение клеток Купфера в основном соответствуют ортодоксальной картине. Портальные тракты содержат умеренно выраженную инфильтрацию из эозинофилов, макрофагов, лимфоцитов (рис. 1б, см. цветную вклейку).

Селезенка. Капсула органа толстая, волокнистая, покрытая набухшим мезотелием. Структура трабекул, объем и строение белой пульпы, лимфатических фолликулов, периартериальных лимфатических влагилиц в основном соответствуют ортодоксальной картине, характерной для животных 1-й и 2-й групп. При этом в маргинальных зонах белой пульпы и в красной пульпе отмечены множественные скопления эозинофилов, одиночные многоядерные гигантские клетки (рис. 2б, см. цветную вклейку).

Почки. Капсула тонкая, волокнистая, содержит единичные гладкомышечные клетки, клетки мезотелия уплощены. Дифференцировка на кору и мозговой слой сохранена. Структура клубочков ортодоксальна, признаков пролиферации мезангиальных, эндотелиальных клеток и клеток наружного листка капсулы не выявлено. Проксимальные прямые и извитые канальцы с четкими контурами выстланы однослойным эпителием с неравномерно зернистой оксифильной цитоплазмой, неровным размытым апикальным краем, базально расположенным ядром. Собираательные трубочки узкие, выстланы светлым призматическим эпителием. Вены тонкостенные, полнокровны. Ветви почечной артерии характеризуются набухшим эндотелием, вакуолизацией миоцитов. По сравнению с животными 1-й и 2-й групп в структуре ткани почек крыс 3-й группы установлены морфологические изменения в виде острого венозного полнокровия, вакуолизации миоцитов и набухания эндотелия артерий (рис. 3б, см. цветную вклейку).

Подвздошная кишка. Все слои стенки кишки хорошо дифференцируются. Структура ворсинок

и крипт эпителия, собственной пластинки, мышечного слоя является ортодоксальной и не отличается в 3-й группе животных от структуры подобных органов животных 1-й и 2-й групп. Структура лимфоидной ткани кишки соответствует норме и не отличается от картины, характерной для органов животных 1-й и 2-й групп. Таким образом, каких-либо морфологических изменений в стенке подвздошной кишки при дозе НКС 0,1 мг на 1 кг массы тела не выявлено (рис. 4б, см. цветную вклейку).

Животные, получавшие наноразмерное коллоидное серебро в дозе 1,0 мг на 1 кг массы тела в расчете на серебро (4-я группа)

Печень. Капсула органа тонкая, волокнистая, покрыта уплощенными клетками мезотелия. Балочное строение сохранено. Гепатоциты многоугольной формы, одно или двоядерные с четко видимыми ядрышками (рис. 1г, см. цветную вклейку). Цитоплазма гепатоцитов грубозернистая, содержит большое количество прозрачных мелких и средних жировых вакуолей с четкими контурами, в единичных гепатоцитах вакуоли крупные (рис. 1д, см. цветную вклейку). Просветы центральных вен и прилежащие к ним синусоиды несколько расширены. Портальные тракты в большинстве полей зрения с размытыми контурами за счет отека и клеточной инфильтрации из лимфоцитов, макрофагов и большого количества эозинофилов, портальные вены запустевшие, с тонкими стенками. Жёлчные капилляры мелкие с низким кубическим эпителием. Клетки Купфера неправильной формы, крупные, преобладают по периферии долек. Таким образом, в структуре ткани печени крыс 4-й группы выявляются морфологические изменения относительно структуры органов животных 1-й и 2-й групп в виде выраженной эозинофилии инфильтрата портальных трактов, мелких и средних жировых вакуолей в цитоплазме гепатоцитов.

Селезенка. Капсула толстая волокнистая, покрыта уплощенным мезотелием. Трабекулы толстые, волокнистые, содержат полнокровные сосуды, инфильтрированы макрофагами, лимфоцитами, плазматическими клетками. Белая пульпа составляет до 40% от объема органа, образована средними и крупными фолликулами, широкими клеточными периартериальными лимфатическими влагиалищами, клеточными размытыми маргинальными зонами, в части полей зрения сливающимися между собой. В части фолликулов видны широкие светлые реактивные центры, образованные центроцитами, центробластами, иммунобластами, макрофагами. Маргинальные синусы узкие, содержат эритроциты, лимфоциты. Красная пульпа представлена венозными синусами и пульпарными тяжами. Венозные синусы с тонкими стен-

ками, очаговым набуханием эндотелия содержат эритроциты, лимфоциты, лейкоциты. Селезеночные (пульпарные) тяжи имеют клеточное строение. В разных отделах красной пульпы и маргинальных зонах визуализируются скопления эозинофилов, одиночные многоядерные клетки (рис. 2в, см. цветную вклейку). Таким образом, морфологические изменения в селезенке крыс 4-й группы в сравнении с органами животных 1-й и 2-й групп включают выраженную эозинофилию маргинальных зон и красной пульпы.

Почки. Капсула тонкая, волокнистая, покрыта уплощенным мезотелием. Вены с тонкими стенками, полнокровны. Крупные ветви почечной артерии с толстыми мышечными стенками, набухшим эндотелием, очаговой вакуолизацией миоцитов. Клубочки разных размеров, их капиллярные петли умеренного кровенаполнения, мочевые пространства широкие. В части клубочков слабая пролиферация мезангиальных клеток (до 6 в дольке) с незначительным увеличением объема мезангиального матрикса (рис. 3в, г, см. цветную вклейку). Проксимальные прямые и извитые канальцы с четкими контурами, выстланы однослойным мелкозернистым оксифильным эпителием с неровным апикальным краем, округлыми базально расположенными ядрами. Дистальные канальцы тонкие, выстланы однослойным низким кубическим эпителием со светлой цитоплазмой и округлыми ядрами. Собирательные трубочки тонкие, выстланы призматическим светлым эпителием. Таким образом, выявленные в почках животных 4-й группы морфологические изменения относительно структур органов животных 1-й и 2-й групп состоят преимущественно в очаговой, слабо выраженной пролиферации мезангиальных клеток.

Подвздошная кишка. В структуре ткани подвздошной кишки крыс 4-й группы, как и в случае животных 3-й группы, морфологических изменений относительно показателей контрольной группы не установлено (рис. 4в, см. цветную вклейку).

Животные, получавшие наноразмерное коллоидное серебро в дозе 10 мг на 1 кг массы тела в расчете на серебро (5-я группа)

Печень. Капсула органа тонкая, волокнистая, покрыта уплощенным мезотелием. Структуры долек прослеживаются хорошо, балочное строение сохранено. Центральные и портальные вены с тонкими стенками, очаговым набуханием эндотелия. Вокруг единичных центральных артерий в синусоидах определяются скопления лимфоцитов, макрофагов, единичные эозинофилы (рис. 1е, см. цветную вклейку). Крупные ветви артерий с толстыми мышечными стенками, очаговым набу-

ханием эндотелия. Синусоиды уменьшены в объеме. Гепатоциты многоугольной формы, находятся в состоянии распространенной мелкокапельной жировой дистрофии, в части полей зрения видны единичные вакуоли среднего размера (рис. 1ж, см. цветную вклейку). В порталных трактах отмечаются очаговый отек, слабая и умеренная лимфомакрофагальная инфильтрация с примесью единичных эозинофилов. Желчные протоки с толстыми отечными стенками, выстланы низким кубическим эпителием. Клетки Купфера крупные, неправильной формы, преобладают на периферии долек. Таким образом, у животных 5-й группы наблюдаются выраженные изменения в структуре печени в виде распространенной мелкокапельной жировой дистрофии, единичных жировых вакуолей среднего и крупного размера в цитоплазме гепатоцитов, отека и лимфомакрофагальной инфильтрации порталных трактов с примесью эозинофилов.

Селезенка. Капсула органа толстая, волокнистая, содержит единичные гладкомышечные клетки, покрыта мезотелием с очаговым набуханием клеток, инфильтрирована единичными лимфоцитами. Трабекулы толстые волокнистые, инфильтрированы лимфоцитами, макрофагами, плазматическими клетками, единичными эозинофилами (рис. 2г, см. цветную вклейку). Белая пульпа составляет до 45% объема органа, образована средними и крупными фолликулами и широкими клеточными периартериальными лимфатическими влагаллищами с широкими клеточными размытыми маргинальными зонами, в части полей зрения сливающимися между собой. Центральные артерии фолликулов с толстыми стенками, набухшим эндотелием, вакуолизацией миоцитов. Маргинальные синусы узкие или не дифференцируются. Венозные синусы красной пульпы с тонкими стенками, заполнены клеточными элементами. В маргинальных зонах и в пульпарных тяжах небольшие скопления эозинофилов. В разных отделах пульпы встречаются единичные многоядерные клетки. Таким образом, в селезенке животных 5-й группы выявлены выраженные изменения по сравнению с крысами 1-й и 2-й групп, состоящие в увеличении объема белой пульпы, эозинофилии маргинальных зон красной пульпы.

Почки. Капсула органа тонкая волокнистая, покрыта уплощенным мезотелием. Вены с тонкими стенками, полнокровны. Крупные ветви почечной артерии с толстыми мышечными стенками, набухшим эндотелием, очаговой вакуолизацией миоцитов (рис. 3д, см. цветную вклейку). Клубочки разных размеров, их капиллярные петли умеренного кровенаполнения, мочевые пространства широкие. В части клубочков определяется слабая пролиферация мезангиальных клеток (до 6 в дольке) с незначительным увеличением объ-

ема мезангиального матрикса. Признаков пролиферации эндотелиоцитов и клеток наружного листка капсулы нет. Проксимальные прямые и извитые каналы с четкими контурами, выстланы однослойным мелкозернистым оксифильным эпителием с неровным апикальным краем, округлыми базально расположенными ядрами. Дистальные каналы тонкие, выстланы однослойным низким кубическим эпителием со светлой цитоплазмой и округлыми ядрами. Собирающие трубочки тонкие, выстланы призматическим светлым эпителием. Таким образом, в структуре ткани почек крыс 5-й группы установлены морфологические изменения относительно структур органов животных 1-й и 2-й групп в виде очаговой слабо выраженной пролиферации мезангиальных клеток и набухания эндотелия артерий.

Подвздошная кишка. Морфология всех слоев стенки подвздошной кишки крыс 5-й группы не изменена сколько-нибудь значимым образом по сравнению с аналогичными данными животных 1-й и 2-й групп (рис. 4г, см. цветную вклейку).

Обсуждение

Результаты проведенных в данной работе исследований показали, что при введении НКС в желудочно-кишечный тракт крыс на протяжении 92 сут в дозе 0,1, 1,0 и 10,0 мг на 1 кг массы тела в сутки (в расчете на серебро) отмечается серия морфологических изменений тканей внутренних органов (печени, селезенки и почек) с нарастанием спектра и степени выраженности структурных изменений по мере увеличения дозы. Органом, наиболее чувствительным к воздействию НКС, является, по-видимому, печень животных, в которой уже при дозе серебра в составе его НЧ 0,1 мг на 1 кг массы тела отмечается эозинофильная инфильтрация порталных трактов, что при дальнейшем увеличении дозы НКС до 1,0 и 10,0 мг на 1 кг начинает сопровождаться появлением средних и крупнокапельных жировых вакуолей в цитоплазме гепатоцитов, отеком и лимфомакрофагальной инфильтрацией порталных трактов. Выявляемые изменения могут рассматриваться как признаки развития воспаления гепатоцитов, во всяком случае, при дозе наноматериала 1,0 мг на 1 кг массы тела и более. В селезенке животных опытных групп, начиная с дозы НКС 1,0 мг на 1 кг массы тела, отчетливо выявляются изменения в виде эозинофилии маргинальных зон и красной пульпы. В почках морфологические изменения при дозе НКС 1,0 мг на 1 кг массы тела и более имеют менее выраженный характер и проявляются в виде острого венозного полнокровия, вакуолизации миоцитов, слабо выраженной

пролиферации мезангиальных клеток и набухания эндотелия артерий. Наименее чувствительным к воздействию НКС органом является, по-видимому, тонкая (подвздошная) кишка, в которой морфологических изменений во всем интервале исследованных доз НКС не выявлено.

Сравнительная выраженность морфологических изменений во внутренних органах опытных групп животных коррелирует с известными из литературы данными о биораспределении НЧ серебра, вводимых в желудочно-кишечный тракт крыс. Так, показано, что внутренним органом, накапливающим наибольшее количество этих НЧ, является печень, далее следует селезенка, тогда как в почках накопление НЧ серебра оказывается менее значительным [6, 15, 16]. В работах [16, 17] показана способность НЧ серебра к проникновению через кишечную стенку, поступлению в системную циркуляцию, накоплению и персистенции в составе ряда внутренних органов. При этом на первой стадии указанных процессов, по-видимому, не происходит растворение НЧ серебра в значимых количествах; напротив, в случае введения в желудочно-кишечный тракт растворимых (солевых) форм этого металла отмечается обратный процесс – формирование его металлических НЧ в ряде внутренних органов [16]. Согласно имеющимся данным [18], возможен захват клетками различного типа НЧ серебра, после чего под действием окислителей различной природы (в том числе эндогенных) происходит постепенное высвобождение из них серебра в ионной форме, которое, как известно, обладает способностью необратимо ингибировать большое число ферментов и мембранных транспортных систем, связываясь с тиоловыми группами активных белков [19]. Обобщение большого числа данных исследований в клеточных культурах *in vitro* показало, что эти эффекты проявляются при содержании НЧ серебра в среде инкубации 3 мкг/см³ и выше. При этом, как показывают данные компьютерного моделирования биокинетики НЧ серебра, такая их концентрация в ткани печени и селезенки может

развиться при внутрижелудочном введении в зависимости от его длительности, при дозе порядка 5–10 мг на 1 кг массы тела [20]. С этими оценками согласуются полученные данные в настоящей работе о том, что морфологические изменения в печени и селезенке (и, отчасти, в почках) животных в интервале доз 1–10 мг на 1 кг массы тела являются выраженными и свидетельствуют о развитии токсического действия, тогда как при дозе 0,1 мг на 1 кг массы тела они имеют маргинальный характер. Показательно, что тонкая кишка, как первый барьер на пути НЧ серебра из просвета желудочно-кишечного тракта в организм сама по себе, по-видимому, не является мишенью их токсического действия. Это согласуется с результатами исследований, при которых не выявлено значительных ультраструктурных изменений в энтероцитах крыс, по данным электронной микроскопии (в отличие от селезенки и печени), при остром внутрикишечном введении высоких доз НКС [17], а также с отсутствием влияния НКС на проницаемость кишечного барьера крыс возрастом 4 мес для белковых макромолекул, что было показано в нашей предыдущей работе [21]. Данное наблюдение косвенно подтверждает положение о том, что всасывание НКС в кишке происходит преимущественно в форме дискретных НЧ, которые, по-видимому, сами обладают относительно низкой токсичностью [22]. Основным местом проявления их токсического действия при этом являются паренхиматозные внутренние органы, в клетках которых возможно, по некоторым данным, высвобождение высоких локальных концентраций ионов серебра под действием оксидантов, способностью эндогенной продукции которых обладают нейтрофильные лейкоциты, макрофаги и клетки Купфера [23, 24].

В совокупности морфологических данных, полученных у крыс, потреблявших на протяжении 3 мес НКС, можно заключить, что пороговая доза данного наноматериала составляет, по данным изучения вышеуказанных органов, не более 1,0 мг на 1 кг массы тела.

Сведения об авторах

Зайцева Нина Владимировна – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, директор ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора (Пермь)

E-mail: znv@fcrisk.ru

Землянова Марина Александровна – доктор медицинских наук, заведующая отделом биохимических и цитогенетических методов диагностики ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора, профессор кафедры экологии человека и безопасности жизнедеятельности ФГБОУ ВПО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»

E-mail: zem@fcrisk.ru

Звездин Василий Николаевич – кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией биохимической и наносенсорной диагностики ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора (Пермь)

E-mail: zvezdin@fcrisk.ru

Довбыш Анастасия Александровна – токсиколог лаборатории метаболизма и фармакокинетики ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора (Пермь)

E-mail: dovnastja@yandex.ru

Гмошинский Иван Всеволодович – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий ФГБНУ «НИИ питания» (Москва)

E-mail gmosh@ion.ru

Хотимченко Сергей Анатольевич – доктор медицинских наук, заведующий лабораторией пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий, врио заместителя директора ФГБНУ «НИИ питания» (Москва)

E-mail hotimchenko@ion.ru

Акафьева Татьяна Игоревна – магистр кафедры экологии человека и безопасности жизнедеятельности ФГБОУ ВПО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»

E-mail: akafieva@fcrisk.ru

Литература

- Blaser S.A., Scherlinger M., MacLeod M., Hungerbuhler K. Estimation of cumulative aquatic exposure and risk due to silver: contribution of nano-functionalized plastics and textiles // *Sci. Total Environ.* 2008. Vol. 390, N 2–3. P. 396–409.
- Marambio-Jones C., Hoek E.M.V. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment // *J. Nanopart. Res.* 2010. Vol. 12, N 5. P. 1531–1551.
- Savage N., Diallo M.S. Nanomaterials and water purification: opportunities and challenges // *J. Nanopart. Res.* 2005. Vol. 7, N 4–5. P. 331–342.
- Fabrega J., Luoma S.N., Tyler C.R., Galloway T.S. et al. Silver nanoparticles: behaviour and effects in the aquatic environment // *Environ. Int.* 2011. Vol. 37, N 2. P. 517–531.
- Vejerano E.P., Leon E.C., Holder A.L., Marr L.C. Characterization of particle emissions and fate of nanomaterials during incineration // *Environ. Sci. Nano.* 2014. Vol. 1, N 2. P. 133–143.
- Kim Y.S., Kim J.S., Cho H.S., Rha D.S. et al. Twenty-eight-day oral toxicity, genotoxicity, and gender-related tissue distribution of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats // *Inhal. Toxicol.* 2008. Vol. 20, N 6. P. 575–583.
- Park E.J., Bae E., Yi J., Kim Y. et al. Repeated-dose toxicity and inflammatory responses in mice by oral administration of silver nanoparticles // *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 2010. Vol. 30, N 2. P. 162–168.
- Шумакова А.А., Смирнова В.В., Тананова О.Н., Трушина Э.Н. и др. Токсиколого-гигиеническая характеристика наночастиц серебра, вводимых в желудочно-кишечный тракт крыс // *Вопр. питания.* 2011. Т. 80. № 6. С. 9–18.
- Hong J.S., Kim S., Lee S.H., Jo E. et al. Combined repeated-dose toxicity study of silver nanoparticles with the reproduction/developmental toxicity screening test // *Nanotoxicology.* 2014. Vol. 8, N 4. P. 349–362.
- Онищенко Г.Г., Тутельян В.А., Гмошинский И.В., Хотимченко С.А. Развитие системы оценки безопасности и контроля наноматериалов и нанотехнологий в Российской Федерации // *Гиг. и сан.* 2013. № 1. С. 4–11.
- Приказ Минздравсоцразвития России № 708Н от 23.08.2010. Об утверждении правил лабораторной практики [Электронный ресурс]. URL: <http://www.zakonprost.ru/content/base/165273>.
- Guide for the care and use of laboratory animals. 8th ed. / Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals; Institute for Laboratory Animal Research (ILAR); Division on Earth and Life Studies (DELS); National Research Council of the national academies. Washington : The National Academies Press, 2011.
- Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники. Л. : Медицина, Ленинградское отделение, 1969. 424 с.
- Микроскопическая техника : руководство / под ред. Д.С. Саркисова, Ю.Л. Петрова. М. : Медицина, 1996. 544 с.
- Бузулуков Ю.П., Гмошинский И.В., Распопов Р.В., Демин В.Ф. и др. Изучение абсорбции и биораспределения наночастиц некоторых неорганических веществ, вводимых в желудочно-кишечный тракт крыс, с использованием метода радиоактивных индикаторов // *Мед. радиол. и радиац. безопасность.* 2012. Т. 57, № 3. С. 5–12.
- Van der Zande M., Vandebriel R.J., Doren E.V., Kramer E. et al. Distribution, elimination, and toxicity of silver nanoparticles and silver ions in rats after 28-day oral exposure // *ACS Nano.* 2012. Vol. 6, N 8. P. 7427–7442.
- Платонова Т.А., Придворова С.М., Жердев А.В., Василевская Л.С. и др. Идентификация наночастиц серебра в тканях слизистой оболочки тонкой кишки, печени и селезенки крыс методом просвечивающей электронной микроскопии // *Бюл. экспер. биол.* 2013. Т. 155, № 2. С. 204–209.
- Stensberg M.C., Wei Q., McLamore E.S., Porterfield D.M. et al. Toxicological studies on silver nanoparticles: challenges and opportunities in assessment, monitoring and imaging // *Nanomedicine (Lond.)*. 2011. Vol. 6, N 5. P. 879–898.
- Lapresta-Fernandez A., Fernandez A., Blasco J. Nanoecotoxicity effects of engineered silver and gold nanoparticles in aquatic organisms // *Trends Anal. Chem.* 2012. Vol. 32, N 2. P. 40–59.
- Demin V.A., Gmoshinsky I.V., Demin V.F., Anciferova A.A. et al. Modeling interorgan distribution and bioaccumulation of engineered nanoparticles (using the example of silver nanoparticles) // *Nanotechnologies in Russia.* 2015. Vol. 10, N 3–4. P. 288–296.
- Шумакова А.А., Шипелин В.А., Сидорова Ю.С., Трушина Э.Н. и др. Токсикологическая оценка наноразмерного коллоидного серебра, стабилизированного поливинилпирролидоном, в 92-дневном эксперименте на крысах. I. Характеристика наноматериала, интегральные, гематологические показатели, уровень тиоловых соединений и апоптоз клеток печени // *Вопр. питания.* 2015. Т. 84, № 6. С. 46–57.
- Xiu Z.M., Zhang Q.B., Puppala H.L., Colvin V.L. et al. Negligible particle-specific antibacterial activity of silver nanoparticles // *Nano Lett.* 2012. Vol. 12, N 8. P. 4271–4275.
- Маянский А.Н., Маянский Д.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге / под ред. В.П. Казначеева. Новосибирск : Наука. Сибир. отд-ние, 1983. 256 с.
- Takahashi R., Edashige K., Sato E.F., Inoue M. et al. Luminol chemiluminescence and active oxygen generation by activated neutrophils // *Arch. Biochem. Biophys.* 1991. Vol. 285, N 2. P. 325.

References

- Blaser S.A., Scheringer M., MacLeod M., Hungerbuhler K. Estimation of cumulative aquatic exposure and risk due to silver: contribution of nano-functionalized plastics and textiles. *Sci Total Environ*. 2008; Vol. 390 (2–3): 396–409.
- Marambio-Jones C., Hoek E.M.V. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. *J Nanopart Res*. 2010; Vol. 12 (5): 1531–51.
- Savage N., Diallo M.S. Nanomaterials and water purification: opportunities and challenges. *J Nanopart Res*. 2005; Vol. 7 (4–5): 331–42.
- Fabrega J., Luoma S.N., Tyler C.R., Galloway T.S., et al. Silver nanoparticles: behaviour and effects in the aquatic environment. *Environ Int*. 2011; Vol. 37 (2): 517–31.
- Vejerano E.P., Leon E.C., Holder A.L., Marr L.C. Characterization of particle emissions and fate of nanomaterials during incineration. *Environ Sci Nano*. 2014; Vol. 1 (2): 133–43.
- Kim Y.S., Kim J.S., Cho H.S., Rha D.S., et al. Twenty-eight-day oral toxicity, genotoxicity, and gender-related tissue distribution of silver nanoparticles in Sprague-Dawley rats. *Inhal Toxicol*. 2008; Vol. 20 (6): 575–83.
- Park E.J., Bae E., Yi J., Kim Y. et al. Repeated-dose toxicity and inflammatory responses in mice by oral administration of silver nanoparticles. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2010; Vol. 30 (2): 162–8.
- Shumakova A.A., Smirnova V.V., Tananova O.N., Trushina E.N. et al. Toxicological sanitary characterization of silver nanoparticles introduced in gastrointestinal tract of rats. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2011. Vol. 80, N 6. P. 9–18. (in Russian)
- Hong J.S., Kim S., Lee S.H., Jo E. et al. Combined repeated-dose toxicity study of silver nanoparticles with the reproduction/developmental toxicity screening test. *Nanotoxicology*. 2014; Vol. 8 (4): 349–62.
- Onishchenko G.G., Tutelyan V.A., Gmshinsky I.V., Khotimchenko S.A. Development of nanomaterials and nanotechnology safety an control system in Russian Federation. *Hygiene i sanitariya [Hygiene and Sanitation]*. 2013; Vol. 1: 4–11. (in Russian)
- Order of the Health Ministry of Russia from 23.08.2010 N 708N. On approval of rules of laboratory practice [electronic resource]. URL: <http://www.zakonprost.ru/content/base/165273>. (in Russian)
- Guide for the care and use of laboratory animals. 8th ed. / Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals; Institute for Laboratory Animal Research (ILAR); Division on Earth and Life Studies (DELS); National Research Council of the national academies. Washington : The National Academies Press, 2011.
- Merkulov G.A. Course of pathohistological technique. Leningrad : Meditsina, 1969: 424 p. (in Russian)
- Microscopy technique: guidance /ed. D.S. Sarkisov, Ju.L. Petrov. Moscow : Meditsina, 1996: 544 p. (in Russian)
- Buzulukov Ju.P., Gmshinski I.V., Raspopov R.V., Demin V.F. et al. Studies on absorption and biodistribution of some inorganic nanoparticles administered into gastrointestinal tract using radioisotope tracers. *Meditsinskaya radiologiya i radiatsionnaya bezopasnost' [Medical Radiology and Radidtoin Safety]*. 2012; Vol. 57 (3): 5–12. (in Russian)
- Van der Zande M., Vandebriel R.J., Doren E.V., Kramer E. et al. Distribution, elimination, and toxicity of silver nanoparticles and silver ions in rats after 28-day oral exposure. *ACS Nano*. 2012; Vol. 6 (8): 7427–42.
- Platonova T.A., Pridvorova S.M., Zherdev A.V., Vasilevskaya L.S. et al. Identification of silver nanoparticles in intestinal mucosa, liver and spleen of rats using transmission electron microscopy. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny [Bulletin of Experimental Biology and Medicine]*. 2013. Vol. 155 (2): 204–9. (in Russian)
- Stensberg M.C., Wei Q., McLamore E.S., Porterfield D.M. et al. Toxicological studies on silver nanoparticles: challenges and opportunities in assessment, monitoring and imaging. *Nanomedicine (Lond)*. 2011; Vol. 6 (5): 879–98.
- Lapresta-Fernandez A., Fernandez A., Blasco J. Nanoecotoxicity effects of engineered silver and gold nanoparticles in aquatic organisms. *Trends Anal Chem*. 2012; Vol. 32 (2): 40–59.
- Demin V.A., Gmshinsky I.V., Demin V.F., Anciferova A.A., et al. Modeling interorgan distribution and bioaccumulation of engineered nanoparticles (using the example of silver nanoparticles). *Nanotechnologies in Russia*. 2015; Vol. 10 (3–4): 288–96.
- Shumakova A.A., Shipelin V.A., Sidorova Yu.S., Trushina E.N. et al. Toxicological evaluation of nanosized colloidal silver, stabilized with polyvinylpyrrolidone, in 92-day experiment on rats. I. Characterization of nanomaterial, integral, hematological parameters, level of thiol compounds and liver cell apoptosis. *Voprosy pitaniya [Problems of Nutrition]*. 2015; Vol. 84 (6): 46–57. (in Russian)
- Xiu Z.M., Zhang Q.B., Puppala H.L., Colvin V.L. et al. Negligible particle-specific antibacterial activity of silver nanoparticles. *Nano Lett*. 2012; Vol. 12 (8): 4271–5.
- Mayansky A.N., Mayanski D.N. Essays on neutrophil and macrophage / ed. V.P. Kaznacheev. Novosibirsk : Nauka. Siberian Department, 1983: 256 p. (in Russian)
- Takahashi R., Edashige K., Sato E.F., Inoue M., et al. Luminol chemiluminescence and active oxygen generation by activated neutrophils. *Arch Biochem Biophys*. 1991; Vol. 285 (2): 325.

Для корреспонденции

Мартинчик Арсений Николаевич – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории эпидемиологии питания и генодиагностики алиментарно-зависимых заболеваний ФГБНУ «НИИ питания»

Адрес: 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14

Телефон: (495) 698-53-87

E-mail: arsmartin@yandex.ru

А.Н. Мартинчик, А.К. Батурин, Е.В. Пескова, Э.Э. Кешабянц, Н.А. Михайлов

Потребление йогурта и снижение риска избыточной массы тела и ожирения среди взрослого населения

Yogurt consumption
and reduced risk
of overweight
and obesity in adults

A.N. Martinchik, A.K. Baturin,
E.V. Peskova, E.E. Keshabyants,
N.A. Mikhaylov

ФГБНУ «НИИ питания», Москва
Institute of Nutrition, Moscow

В настоящем исследовании впервые проведен анализ взаимосвязи между потреблением кисломолочного продукта йогурт и распространением избыточной массой тела и/или ожирением взрослого населения России. Фактическое потребление продуктов, блюд и напитков и антропометрические измерения роста, массы тела, окружности талии и обхвата бедер взрослого населения получены в поперечном выборочном обследовании домохозяйств России в рамках Российского мониторинга социально-экономического положения и состояния здоровья населения в 1994–2012 гг., проведенных Высшей школой экономики совместно с Университетом Северной Каролины в Чапел Хилле, Институтом социологии РАН и НИИ питания РАМН (первичные материалы доступны на сайтах <http://www.cpc.unc.edu/projects/rlms-hse>, <http://www.hse.ru/org/hse/rlms>). Среднесуточное потребление йогуртов значительно увеличилось за годы наблюдения. У лиц обоего пола в возрасте старше 40 лет отмечается снижение потребления йогурта. У женщин потребление йогуртов обратно коррелирует с величиной индекса массы тела (ИМТ): у женщин с нормальным ИМТ (>18,5–25,0) потребление йогурта достоверно выше, чем у женщин с избыточной массой тела и/или ожирением (ИМТ>25,0 или >30,0). Средние величины ИМТ у женщин, потреблявших йогурт, достоверно ниже, чем у женщин, не потреблявших йогурт. У мужчин подобной взаимосвязи потребления йогурта и величины ИМТ не выявлено. У женщин выявлена значительная отрицательная взаимосвязь между ожирением и потреблением йогурта (ОШ 0,582, 95% ДИ 0,497, 0,680; $p<0,001$). У мужчин подобной ассоциации не выявлено.

Ключевые слова: взрослые, фактическое питание, йогурт, избыточная масса тела, ожирение

Fermented dairy products comprise a large food group in Russia and are an important source of dietary nutrients like protein, calcium, fat. Obesity is a rising public health issue in Russia. Observing the role of fermented dairy in the maintenance of healthy weights is important. Current study objective was to explore the association between obesity/overweight prevalence and yogurt consumption in Russian adults. Data from RLMS-HSE 1994–2012 was used. Primary mate-

rials are available on <http://www.cpc.unc.edu/projects/rlms-hse>, <http://www.hse.ru/org/hse/rlms>. Data collected included dietary intake by single 24h recalls and anthropometric measures for 72.400 adults (≥ 19 y.o.). Logistic regression models were used to explore the relationships between yogurt consumption and obesity prevalence (BMI >30.0 compared with 18.5–25.0), controlling for age and gender. Daily average intake (g/day) of yogurt significantly increased from 1994 to 2012. Yogurt consumption decreased over 40 y.o. in both gender. Women yogurt consumption is inversely correlated with the magnitude of the BMI: the consumption of yogurt in women with normal BMI values ($>18.5-25.0$) was significantly higher than in women who are overweight and/or obese (BMI >25.0 ; or >30.0). The mean values of BMI in women who ate yogurt, were significantly lower than in women not consuming yogurt. In men, the relationship between consumption of yogurt and BMI is not revealed. Thus, among women, a significant inverse association was observed between yogurt consumption and obesity (OR 0.582, CI 95% 0.497, 0.680; $p<0.001$). The observed association between yogurt intake and prevalence of obesity is dependent on gender: yogurt is associated with lower obesity prevalence only in women.

Keywords: adults, dietary intake, yogurt, overweight, obesity

Молочные продукты являются важнейшей частью рациона питания человека, обеспечивая организм энергией, белком, кальцием и другими макро- и микронутриентами. Результаты эпидемиологических исследований ассоциации потребления молочных продуктов и развития избыточной массы тела и ожирения неоднозначны и противоречивы и варьируют в зависимости от исследуемой популяции и типа эпидемиологических исследований или клинических испытаний. В проспективных когортных исследованиях показано, что потребление молочных продуктов повышает риск сердечно-сосудистых заболеваний [1, 2]. Однако большинство современных обсервационных (кросс-секционных) исследований и метаанализ рандомизированных клинических испытаний показали обратную связь между потреблением молочных продуктов и риском сердечно-сосудистых заболеваний, составом тела и ожирением [3–5]. Особое внимание привлекают данные ряда эпидемиологических исследований и клинических испытаний, в которых выявлен положительный эффект потребления йогурта в предупреждении распространения кардиометаболических нарушений, избыточной массы тела и/или ожирения [6–9]. При анализе материалов национального обследования питания населения США 1999–2004 гг. была выявлена обратная ассоциация между потреблением йогурта и проявлениями метаболического синдрома [10].

Поскольку в последние годы наметился существенный рост распространенности ожирения в России [11], анализ и оценка факторов питания как факторов риска или профилактики ожирения весьма актуальны. В литературе отсутствуют дан-

ные о взаимосвязи потребления йогурта и распространения избыточной массы тела и/или ожирения в России.

Цель работы – анализ взаимосвязи потребления йогурта и распространения избыточной массы тела и ожирения среди взрослого населения России.

Материал и методы

Данные о фактическом питании и антропометрические параметры (рост, масса тела, окружность талии и обхват бедер) взрослого населения получены в поперечном выборочном обследовании домохозяйств России в рамках Российского мониторинга социально-экономического положения и состояния здоровья населения в 1994–2012 гг. (проект RLMS). Процедура выборки домохозяйств и первичные материалы обследований домохозяйств, проведенных Высшей школой экономики совместно с Университетом Северной Каролины в Чапел Хилле, Институтом социологии РАН и НИИ питания РАМН, доступны на сайтах <http://www.cpc.unc.edu/projects/rlms-hse>, <http://www.hse.ru/org/hse/rlms>.

С 1994 по 2012 г. в 38 единицах первичной выборки проведено 10 волн обследований взрослых членов около 4000 домохозяйств (в 2012 г. – 8000 домохозяйств).

Сбор первичной информации о фактическом потреблении пищи и антропометрические измерения с использованием портативных ростометров, электронных весов и измерительных лент по стандартизованным процедурам проводили специально обученные интервьюеры из числа

местных жителей в точках выборки. Для диагностики избыточной массы тела и ожирения у взрослых в возрасте старше 19 лет рассчитывали индекс массы тела (ИМТ) по формуле: масса тела (кг)/рост (м)². Согласно классификации ВОЗ, за избыточную массу тела принимали ИМТ $\geq 25,0$ – $30,0$ кг/м², а ожирение определяли при ИМТ более 30,0.

Фактическое потребление пищи изучали методом 24-часового (суточного) воспроизведения питания. Оценку количества потребляемой пищи проводили с помощью альбома порций продуктов и блюд, содержащего фотографии различной величины порций наиболее часто употребляемой пищи [12]. Для расчетов количества потребляемых нутриентов и энергии использовали таблицы пищевой ценности продуктов питания [13] и созданную на их основе компьютерную базу химического состава продуктов и блюд, потребляемых населением России. В обследовании выявлено 153 наименования индивидуальных молочных продуктов, среди которых 16 видов йогурта.

Обработку первичного материала и статистический анализ проводили с помощью программы SPSS v.18,0 (SPSS Inc., США), в которой был специально написан алгоритм (синтакс) расчетов и анализа индивидуального потребления пищевых продуктов и конверсии данных о потреблении пищи в величины потребления энергии и пищевых веществ. Достоверными считали отличия при значении $p < 0,05$.

Результаты

Исследования по проекту RLMS включают 18-летний период, который характеризовался существенными изменениями социально-экономического положения населения и характера питания. В связи с этим был проведен анализ изменения потребления кисломолочных продуктов за этот период, что необходимо для обоснования возможности анализа объединенных данных из различных волн обследования.

Среднедушевое потребление йогуртов характеризуется низкими величинами во все периоды обследования. Однако общая тенденция увеличения потребления йогуртов вполне очевидна (рис. 1). С 1994 по 2012 г. потребление йогуртов в среднем на взрослого увеличилось с 0,9 до 8,5 г, т.е. почти на порядок. При этом удельный вес взрослых, потреблявших йогурт, в 1994 г. составил 0,4%, а в 2012 г. – 3,1%. Во все годы наблюдения среднедушевое потребление йогуртов выше у женщин, чем у мужчин (рис. 2), достигая минимальных величин в группе пожилых лиц старше 60 лет.

Для анализа взаимосвязи потребления йогуртов и распространения избыточной массы тела и/или ожирения у взрослых были выбраны данные, полученные в 2000–2012 гг., так как в этот период наблюдались достаточные для анализа уровни и частота потребления йогуртов.

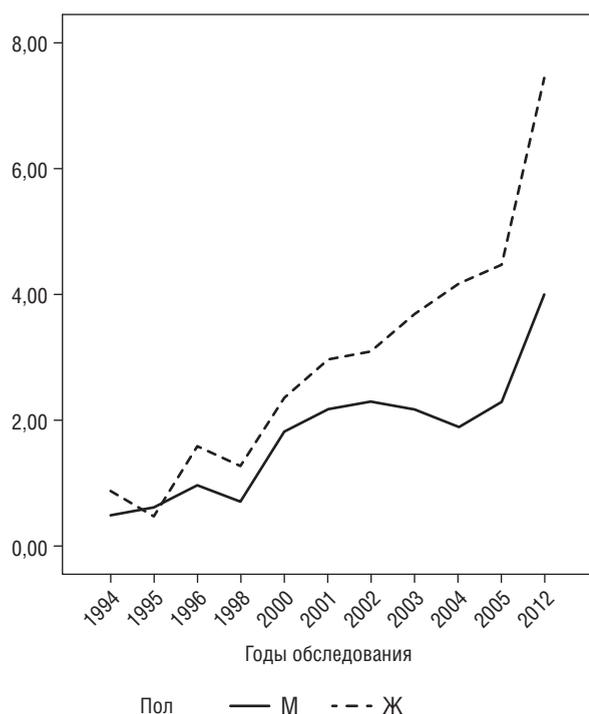


Рис. 1. Потребление йогуртов (г/сут) за период наблюдений, 1994–2012 гг.

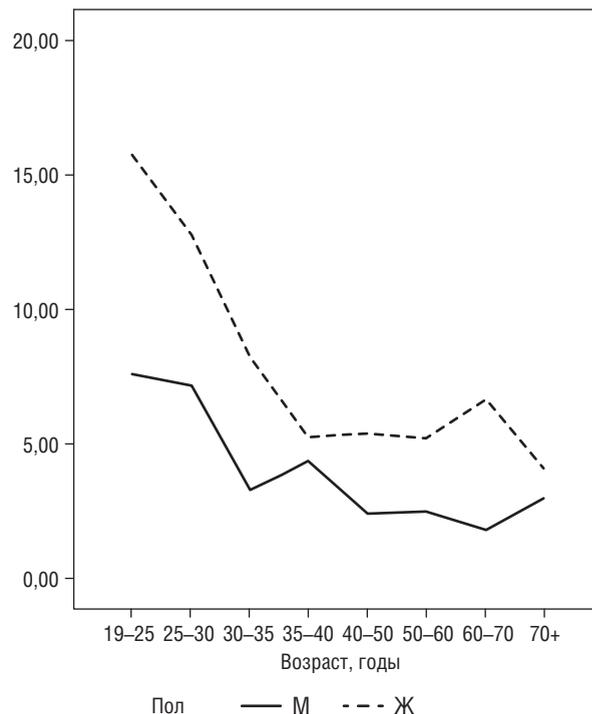


Рис. 2. Среднесуточное потребление йогуртов в возрастных группах взрослых, 2012 г.

Таблица 1. Потребление йогурта (г/сут) в группах взрослых с различными величинами индекса массы тела

ИМТ, кг/м ²	Среднее		СО		n	
	муж.	жен.	муж.	жен.	муж.	жен.
≤18,5	2,08	5,77	32,42	36,06	588	1293
18,5–25,0	2,59	5,66	30,00	36,90	14976	15800
25,0–30,0	2,38	3,75*	27,09	29,74	10355	12299
>30	2,82	3,38*	33,27	29,71	4188	11995
Все	2,54	4,43	29,57	32,86	30107	41387

* – достоверность различий ($p < 0,001$) при сравнении с группой с ИМТ 18,5–25,0 кг/м². Здесь и в табл. 2: СО – стандартное отклонение.

Таблица 2. Антропометрические показатели взрослых, потреблявших и не потреблявших йогурты

Показатель		Мужчины			Женщины		
		потребление йогурта			потребление йогурта		
		нет	да	все	нет	да	все
ИМТ, кг/м ²	Среднее	25,44	25,51	25,44	27,22	25,87*	27,18
	СО	4,29	4,47	4,29	6,01	5,78	6,01
	n	29 750	377	30 127	40 402	1078	41 480
Окружность талии, см	Среднее	89,18	89,36	89,18	85,94	81,85*	85,84
	СО	13,50	12,44	13,49	15,10	14,69	15,10
	n	29 657	376	30 033	40 529	1085	41 614
Соотношение талия/бедра	Среднее	0,90	0,90	0,90	0,82	0,80*	0,82
	СО	0,09	0,08	0,09	0,08	0,08	0,08
	n	29 647	376	30 023	40 517	1085	41 602

* – достоверность различий ($p < 0,001$) при сравнении с показателями людей, не потреблявших йогурт.

Среднесуточное потребление йогурта существенно различается в группах с различными величинами ИМТ (табл. 1). У женщин потребление йогуртов обратно коррелирует с ИМТ: в категории женщин с нормальным ИМТ (>18,5–25,0 кг/м²) потребление йогурта статистически достоверно выше, чем у женщин с избыточной массой тела и/или ожирением (ИМТ>25,0 или >30,0 кг/м²). У мужчин зависимости потребления йогурта от величины ИМТ не выявлено.

Средние величины ИМТ у женщин, потреблявших йогурт, достоверно ниже, чем у женщин, не потреблявших йогурты в день опроса (табл. 2). У мужчин подобного различия ИМТ не выявлено. Окружность талии и соотношение окружности талии и обхвата бедер у женщин, потреблявших йогурты, значительно меньше, чем у женщин, не потреблявших йогурты (см. табл. 2). Эти показатели не различались у мужчин, потреблявших и не потреблявших йогурты.

На основании анализа описательных статистических показателей потребления йогуртов и антропометрических параметров можно полагать, что между потреблением йогуртов и распространением избыточной массы тела и/или ожирения существует обратная связь только у женщин.

Для исследования ассоциации между потреблением кисломолочных напитков и распространением избыточной массы тела и/или ожирения использовали модель логистической регрессии с ковариатами по возрасту, уровню душевого дохода и образованию респондентов. Анализ проводили с данными, расщепленными по полу.

Как следует из данных, представленных в табл. 3, у женщин выявлена отрицательная ассоциация между потреблением йогуртов и распространением избыточной массы тела или ожирения (ИМТ>25,0 или >30,0 кг/м² по сравнению с группой с ИМТ 18,5–25,0 кг/м²). У мужчин подобной ассоциации потребления йогуртов с избыточной массой тела или ожирением не выявлено.

Для оценки влияния сопутствующих факторов на ассоциацию потребления йогуртов и распространения ожирения была использована модель логистической регрессии с ковариатами возраста, уровня дохода и образования.

Средние величины и ДИ 95% отношения шансов развития избыточной массы тела и/или ожирения у потребителей йогуртов женщин представлены в табл. 4. Как видно из табл. 4, возраст, уровень дохода и образование как ковариаты, не отменяют влияние потребления йогуртов на снижение риска избыточной массы тела и/или ожирения у женщин.

Таблица 3. Относительный риск (отношение шансов) избыточной массы тела и/или ожирения у взрослых, потреблявших йогурты, по сравнению с не потреблявшими этот продукт (модель логистической регрессии)

Отношение шансов	Пол	Среднее	95% ДИ		p
			нижний	верхний	
ИМТ>25,0/18,5–25,0 кг/м ²	М	0,939	0,765	1,152	>0,05
	Ж	0,634	0,560	0,717	<0,0001
ИМТ>30,0/18,5–25,0 кг/м ²	М	0,976	0,719	1,325	>0,05
	Ж	0,582	0,497	0,680	<0,0001

Таблица 4. Риск (отношение шансов) избыточной массы тела и/или ожирения у женщин, потреблявших йогурты. Модель логистической регрессии с ковариатами по социально-демографическим переменным

Ковариаты	Среднее	95% ДИ		p
		нижний	верхний	
<i>ИМТ>25,0/18,5–25,0 кг/м²</i>				
Без стандартизации	0,634	0,560	0,717	<0,001
Стандартизация по возрасту	0,795	0,696	0,910	0,001
По возрасту и доходу семьи	0,792	0,691	0,908	0,001
По возрасту и образованию	0,831	0,724	0,953	0,008
По всем факторам	0,816	0,711	0,937	0,004
<i>ИМТ>30,0/18,5–25,0 кг/м²</i>				
Без стандартизации	0,582	0,497	0,680	<0,001
Стандартизация по возрасту	0,747	0,628	0,888	0,001
По возрасту и доходу семьи	0,732	0,613	0,873	0,001
По возрасту и образованию	0,792	0,663	0,946	0,01
По всем факторам	0,768	0,643	0,918	0,004

Для выяснения возможной связи потребления йогуртов с изменением свойств пищевого рациона в целом был проведен сравнительный анализ пищевой ценности рациона питания потреблявших и не потреблявших йогурт мужчин и женщин (табл. 5). Потребление ряда пищевых веществ существенно отличается у потреблявших и не потреблявших йогурт как женщин, так и мужчин. Например, потребление белка и кальция потреблявшими йогурт респондентами было значимо выше, чем не потреблявшими данный продукт. Исключение составляет отсутствие различий в потреблении общих углеводов, железа, витамина В₁, витамина А, β-каротина у лиц обоего пола, а также алкоголя и витамина С у женщин.

Учитывая интерес и важность полученных результатов об отрицательной ассоциации потребления йогуртов и распространения ожирения, был проведен анализ потребления отдельных продуктов или групп продуктов, который показал (табл. 6) наличие значительных различий в структуре рационов питания у потреблявших и не потреблявших йогурт женщин и мужчин (представлены продукты, для которых выявлена достоверная разница величин потребления между группами). У потреблявших йогурты мужчин и женщин рацион включает меньше хлеба и хлебобулочных изделий, но больше крупяных изделий. Из мяс-

ных продуктов потребители йогуртов потребляют больше говядины, мяса птицы, а также колбасных и ветчинных изделий. Взрослые, потреблявшие йогурт, потребляют меньше питьевого молока, но больше сыров, творога и общего количества всех кисломолочных продуктов. Интересно отметить, что женщины – потребители йогурта потребляют в среднем столько же кефира, что и не потреблявшие йогуртов. Потребление всех молочных продуктов в пересчете на молоко также выше у женщин и мужчин, потреблявших йогурты. Отличительной особенностью питания потребителей йогуртов является меньшее потребление добавленного сахара и сладостей в целом, а также более высокое потребление фруктов, орехов, соков и зеленого чая. Следует отметить, что изменения величин потребления отдельных пищевых веществ или пищевых продуктов у женщин и мужчин, потреблявших йогурты, носят однонаправленный характер.

Обсуждение

Полученные нами данные об обратной ассоциации потребления йогуртов и распространения ожирения согласуются с данными литературы. Специальные исследования показали, что

потребление йогурта обратно взаимосвязано с ИМТ, окружностью талии и бедер и долей жировой массы тела [5, 14, 15]. Недавнее исследование Фрэмлингемской когорты показало [16], что потребление йогурта связано с более низкой прибавкой массы тела в ходе наблюдения когорты.

Потенциальные механизмы снижения или замедления прироста массы тела при потреблении

йогурта могут быть связаны с общими свойствам йогурта как молочного продукта и реализовываться несколькими путями [17]. Например, есть данные о снижении активности процессов липогенеза и усилении липолиза в жировой ткани под влиянием молочных продуктов [15, 18]. Другим механизмом может быть влияние более высокого уровня потребления кальция, который способствует выведению жира с калом, образуя мыло-

Таблица 5. Потребление пищевых веществ и энергии у взрослых, потреблявших и не потреблявших йогурты

Нутриент	Пол	Среднее		СО		p
		потреблявшие	не потреблявшие	потреблявшие	не потреблявшие	
Энергия, ккал	М	2507,0	2350,6	875,6	962,5	0,000
	Ж	1710,6	1619,3	666,3	663,8	0,000
Белок, г	М	98,0	78,6	40,6	37,6	0,000
	Ж	62,9	52,2	27,2	25,2	0,000
% энергии белка	М	15,4	13,5	3,8	3,7	0,000
	Ж	15,0	13,0	4,1	3,9	0,000
Жиры, г	М	110,7	91,0	54,5	51,0	0,000
	Ж	70,4	61,4	35,2	34,0	0,000
% энергии жира	М	37,7	34,0	8,0	10,2	0,000
	Ж	36,4	33,3	8,9	10,2	0,000
Углеводы, всего, г	М	297,3	289,5	127,1	123,0	0,216
	Ж	205,1	210,6	89,9	91,7	0,050
Крахмал, г	М	172,7	187,0	90,2	90,2	0,002
	Ж	102,7	122,6	60,8	63,2	0,000
Моно-, дисахариды, г	М	124,6	102,5	68,6	57,7	0,000
	Ж	102,5	88,0	50,9	49,5	0,000
% энергии углеводов	М	46,0	50,4	8,9	11,7	0,000
	Ж	48,1	52,8	10,1	11,8	0,000
% энергии крахмала	М	26,4	32,4	8,2	10,1	0,000
	Ж	23,5	30,6	9,0	10,5	0,000
% энергии моно-, дисахаридов	М	19,6	18,0	7,9	8,1	0,000
	Ж	24,6	22,2	9,3	9,7	0,000
Алкоголь, г	М	4,35	8,06	20,70	31,48	0,021
	Ж	1,58	2,01	9,47	12,01	0,243
% энергии алкоголя	М	0,92	2,06	3,74	7,63	0,003
	Ж	0,51	0,70	2,73	4,03	0,116
Витамин А, мг	М	0,68	0,53	2,47	2,23	0,198
	Ж	0,47	0,37	1,55	1,55	0,046
β-Каротин, мг	М	2,47	2,45	2,66	2,59	0,890
	Ж	2,01	1,97	2,50	2,33	0,659
Витамин В ₁ , мг	М	1,27	1,24	0,72	0,65	0,314
	Ж	0,83	0,84	0,50	0,48	0,369
Витамин В ₂ , мг	М	1,64	1,26	1,07	0,99	0,000
	Ж	1,19	0,93	0,75	0,86	0,000
Витамин С, мг	М	69,3	63,7	64,6	59,5	0,068
	Ж	64,8	56,8	61,5	54,6	0,000
Са, мг	М	991,1	619,1	598,4	411,8	0,000
	Ж	749,2	501,1	372,2	319,6	0,000
Fe, мг	М	18,4	17,6	10,6	9,4	0,090
	Ж	12,7	12,8	7,1	7,2	0,893

Таблица 6. Потребление отдельных групп пищевых продуктов (г/сут) в группах потреблявших и не потреблявших йогурты взрослых (представлены группы продуктов при наличии существенных различий)

Группа продуктов	Пол	Среднее		СО		р
		потреблявшие	не потреблявшие	потреблявшие	не потреблявшие	
Хлеб и хлебобулочные изделия	М	206,1	250,2	204,8	188,8	0,000
	Ж	100,7	143,8	113,2	121,7	0,000
Крупяные изделия	М	32,6	25,7	46,5	46,0	0,004
	Ж	27,2	22,6	40,7	37,8	0,000
Говядина, телятина	М	78,2	47,3	116,5	82,1	0,000
	Ж	35,3	25,5	65,7	51,0	0,000
Баранина	М	21,8	4,2	96,7	36,5	0,000
	Ж	6,1	2,1	43,6	20,2	0,002
Свинина	М	32,1	34,0	97,2	78,3	0,707
	Ж	14,3	16,9	41,8	45,3	0,039
Куры, цыплята	М	46,5	36,4	85,8	83,5	0,021
	Ж	30,8	22,6	61,7	55,6	0,000
Ветчинные изделия, консервы	М	6,4	5,2	29,5	28,5	0,425
	Ж	4,3	2,6	21,7	15,5	0,010
Колбасные изделия	М	43,3	37,6	64,3	68,1	0,086
	Ж	23,8	20,3	45,1	41,5	0,011
Кефир	М	6,1	19,5	120,9	82,8	0,007
	Ж	26,5	23,0	83,1	79,2	0,166
Йогурты	М	202,5	0,0	171,1	0,0	0,000
	Ж	170,4	0,0	115,0	0,0	0,000
Кисломолочные напитки, сумма	М	249,2	25,4	204,2	94,4	0,000
	Ж	202,4	29,1	145,8	88,9	0,000
Молоко питьевое	М	82,0	105,8	164,9	206,6	0,005
	Ж	63,3	93,1	106,4	155,0	0,000
Сыры, всего	М	23,8	11,9	46,4	32,5	0,000
	Ж	15,1	9,6	28,5	25,3	0,000
Творог и творожные изделия, всего	М	22,3	8,5	58,5	40,4	0,000
	Ж	30,2	12,5	65,9	45,2	0,000
Молочные продукты, всего, в пересчете на молоко	М	780,4	354,2	725,1	540,4	0,000
	Ж	599,6	325,6	482,4	444,0	0,000
Рыба	М	24,2	31,9	65,5	85,6	0,023
	Ж	20,1	22,5	52,4	61,6	0,145
Овощи свежие	М	156,7	167,5	171,8	186,6	0,222
	Ж	120,7	131,8	145,2	154,2	0,012
Орехи, семена	М	5,0	1,8	25,0	14,8	0,013
	Ж	3,4	2,1	19,1	15,6	0,026
Фрукты и ягоды свежие	М	115,1	72,6	236,9	176,9	0,000
	Ж	143,7	101,5	224,2	192,4	0,000
Соки, напитки	М	33,6	12,7	116,5	73,0	0,000
	Ж	31,6	13,5	95,5	69,9	0,000
Сахар	М	42,6	50,6	39,0	39,4	0,000
	Ж	30,8	40,5	28,9	34,0	0,000
Сладости (сахар, варенье, мед, конфеты)	М	66,1	62,5	73,5	55,5	0,340
	Ж	52,4	56,1	51,5	49,8	0,019
Кофе, какао (сухие порошки)	М	4,01	4,07	6,25	7,82	0,855
	Ж	4,33	3,46	6,62	6,27	0,000
Чай зеленый сухой	М	,58	,26	2,93	1,80	0,031
	Ж	,94	,42	2,98	2,08	0,000
Напитки алкогольные крепкие	М	7,80	18,48	58,23	88,47	0,000
	Ж	1,85	4,06	21,47	33,79	0,001
Вина разные	М	7,08	4,12	53,73	55,09	0,284
	Ж	5,80	3,63	47,55	36,57	0,134

подобные соли, а также усиливает окисление жиров в жировой ткани [19–21]. В рассматриваемом аспекте нельзя не учитывать и данные о том, что молочные белки повышают чувство насыщения [22].

Кроме того, в последние годы были получены доказательства участия кишечной микробиоты в регуляции каскада метаболических и микро-структурных процессов в пищеварительной системе и в регуляции массы тела экспериментальных животных [23–25]. Подобный эффект йогурта предполагается и у человека.

Необходимо иметь в виду также возможные особенности пищевого поведения и образа жизни людей, потребляющих или предпочитающих йогурт другим молочным продуктам. Последнее обстоятельство при обсуждении полученных нами данных не лишено оснований, так как в России йогурт – новый продукт более высокой стоимости по сравнению с традиционными кисломолочными продуктами. Отличительными особенностями пищевого рациона потреблявших йогурт женщин являются более высокое потребление суммы молочных продуктов, а также меньшее потребление добавленного сахара и других сладостей. Недавнее когортное исследование на средиземноморском типе питания показало, что потребление

йогурта ассоциируется со сниженным риском ожирения, и эта обратная ассоциация более выражена у лиц с высоким потреблением фруктов [26].

Таким образом, однозначная интерпретация эффекта потребления йогуртов на снижение риска избыточной массы тела и/или ожирения у женщин пока невозможно. Однако в проведенной работе получены статистические доказательства обратной ассоциации между потреблением йогурта и риском ожирения у взрослых женщин.

Безусловно, следует иметь в виду ограничения и недостатки, которые присущи типу обсервационного (кросс-секционного) исследования фактического питания однократно методом 24-часового воспроизведения. Определенной компенсацией этого недостатка может служить большое число наблюдений, полученных более чем за 10 лет. Даже если в группу потребителей йогуртов попадали люди, потреблявшие йогурт эпизодически, статистический анализ показал эффект снижения риска избыточной массы тела и ожирения среди женщин, потреблявших йогурты. Следует также особо подчеркнуть, что выявление ассоциации потребления пищевого продукта с распространением ожирения прямо не означает наличие причинно-следственных связей этих явлений, которые требуют дальнейшей разработки.

Сведения об авторах

ФГБНУ «НИИ питания» (Москва):

Мартинчик Арсений Николаевич – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории эпидемиологии питания и генодиагностики алиментарно-зависимых заболеваний

E-mail: arsmartin@yandex.ru

Батурин Александр Константинович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией эпидемиологии питания и генодиагностики алиментарно-зависимых заболеваний, заместитель директора

E-mail: baturin@ion.ru

Кешабянц Эвелина Эдуардовна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории эпидемиологии питания и генодиагностики алиментарно-зависимых заболеваний

E-mail: evk1410@mail.ru

Пескова Елена Васильевна – младший научный сотрудник лаборатории эпидемиологии питания и генодиагностики алиментарно-зависимых заболеваний

E-mail: peskova@ion.ru

Михайлов Николай Александрович – старший научный сотрудник лаборатории пищевой токсикологии с группой оценки безопасности наноматериалов

E-mail: mnik@ion.ru

Литература

1. Elwood P.C., Pickering J.E., Givens D.I., Gallacher J.E. The consumption of milk and dairy foods and the incidence of vascular disease and diabetes: An overview of the evidence // *Lipids*. 2010. Vol. 45. P. 925–939.
2. Goldbohm R.A., Chorus A.M., Galindo Garre F., Schouten L.J. et al. Dairy consumption and 10-y total and cardiovascular mortality: A prospective cohort study in the Netherlands // *Am. J. Clin. Nutr.* 2011. Vol. 93. P. 615–627.
3. Abargouei A.S., Janghorbani M., Salehi-Marzijarani M., Esmailzadeh A. Effect of dairy consumption on weight and body composition in adults: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled clinical trials // *Int. J. Obes. (Lond.)*. 2012. Vol. 36. P. 1485–1493.
4. Fathi Y., Faghieh S., Zibaenezhad M.J., Tabatabaei S.H.R. Kefir drink leads to a similar weight loss, compared with milk, in a dairy

- rich non energy restricted diet in overweight or obese premenopausal women: a randomized controlled trial // *Eur. J. Nutr.* 2014. doi: 10.1007/s00394-015-0846-9.
5. Louie J.C.Y., Flood V.M., Hector D.J., Rangan A.M. et al. Dairy consumption and overweight and obesity: a systematic review of prospective cohort studies // *Obes. Rev.* 2011. Vol. 12. P. e582–e592.
 6. Astrup A. Yogurt and dairy product consumption to prevent cardiometabolic diseases: epidemiologic and experimental studies // *Am. J. Clin. Nutr.* 2014. Vol. 99, N 5. P. 1235S–1242S.
 7. Azadbakht L., Mirmiran P., Esmailzadeh A., Azizi F. Dairy consumption is inversely associated with the prevalence of the metabolic syndrome in Tehranian adults // *Am. J. Clin. Nutr.* 2005. Vol. 82. P. 523–530.
 8. Marette A., Picard-Deland E. Yogurt consumption and impact on health: focus on children and cardiometabolic risk // *Am. J. Clin. Nutr.* 2014. Vol. 99. P. 1243S–1247S.
 9. Wang H., Livingston K.A., Fox C.S., Meigs J.B. et al. Yogurt consumption is associated with better diet quality and metabolic profile in American men and women // *Nutr. Res.* 2013. Vol. 33. P. 18–26.
 10. Beydoun M.A., Gary T.L., Caballero B.H., Lawrence R.S. et al. Ethnic differences in dairy and related nutrient consumption among US adults and their association with obesity, central obesity, and the metabolic syndrome // *Am. J. Clin. Nutr.* 2008. Vol. 87. P. 1914–1925.
 11. Мартинчик А.Н., Батурич А.К., Кешабянц Э.Э., Пескова Е.В. Гендерные и возрастные особенности и тенденции распространения ожирения среди взрослого населения в 1994–2012 гг. // *Вопр. питания.* 2015. Т. 84, № 3. С. 50–57.
 12. Мартинчик А.Н., Батурич А.К., Баева В.С. и др. Альбом порций продуктов и блюд / Институт питания РАМН. М., 1995. 64 с.
 13. Химический состав российских пищевых продуктов: справочник / под ред. И.М. Скурихина, В.А.Тутельяна. М.: ДеЛи принт, 2002. 236 с.
 14. Jacques P.F., Wang H. Yogurt and weight management // *Am. J. Clin. Nutr.* 2014. Vol. 99. P. 1229S–1234S.
 15. Murphy Karen J., Crichton Georgina E., Dyer Kathryn A., Coates Alison M. et al. Dairy foods and dairy protein consumption is inversely related to markers of adiposity in obese men and women // *Nutrients.* 2013. Vol. 5. P. 4665–4684.
 16. Wang H., Troy L., Rogers G., Fox C. et al. Longitudinal association between dairy consumption and changes of body weight and waist circumference: the Framingham Heart Study // *Int. J. Obes. (Lond.)*. 2014. Vol. 38, N 2. P. 299–305.
 17. Маркова Ю.М., Шевелева С.А. Пробиотики как функциональные продукты: производство и подходы к оценке эффективности // *Вопр. питания.* 2014. Т. 83. № 4. С. 4–14.
 18. Sjogren P., Rosell M., Skoglund-Andersson C., Zdravkovic S. et al. Milk-derived fatty acids are associated with a more favorable LDL particle size distribution in healthy men // *J. Nutr.* 2004. Vol. 134. P. 1729–1735.
 19. Kratz M., Baars T., Guyenet S. The relationship between high-fat dairy consumption and obesity, cardiovascular, and metabolic disease // *Eur. J. Nutr.* 2013. Vol. 5. P. 1–24.
 20. Samara A., Herbeth B., Ndiaye N.C., Fumeron F. et al. Dairy product consumption, calcium intakes, and metabolic syndrome-related factors over 5 years in the STANISLAS study // *Nutrition.* 2013. Vol. 29. P. 519–524.
 21. Sun X., Zemel M.B. Calcium and dairy products inhibit weight and fat regain during ad libitum consumption following energy restriction in Ap2-agouti transgenic mice // *J. Nutr.* 2004. Vol. 134. P. 3054–3060.
 22. Tsuchiya A., Almiron-Roig E., Lluch A., Guyonnet D. et al. Higher satiety ratings following yogurt consumption relative to fruit drink or dairy fruit drink // *J. Am. Diet. Assoc.* 2006. Vol. 106. P. 550–557.
 23. Kallus S.J., Brandt L.J. The intestinal microbiota and obesity // *J. Clin. Gastroenterol.* 2012. Vol. 46. P. 16–24.
 24. Maynard C.L., Elson C.O., Hatton R.D., Weaver C.T. Reciprocal interactions of the intestinal microbiota and immune system // *Nature.* 2012. Vol. 489. P. 231–241.
 25. Turnbaugh P.J., Ley R.E., Mahowald M.A., Magrini V. et al. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest // *Nature.* 2006. Vol. 444. P. 1027–1031.
 26. Martinez-Gonzalez M.A., Sayon-Orea C., Ruiz-Canela M., de la Fuente C. et al. Yogurt consumption, weight change and risk of overweight/obesity: the SUN cohort study // *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 2014. Vol. 24, N 11. P. 1189–1196.

References

1. Elwood P.C., Pickering J.E., Givens D.I., Gallacher J.E. The consumption of milk and dairy foods and the incidence of vascular disease and diabetes. An overview of the evidence. *Lipids.* 2010; Vol. 45: 925–39.
2. Goldbohm R.A., Chorus A.M., Galindo Garre F., Schouten L.J., et al. Dairy consumption and 10-y total and cardiovascular mortality: A prospective cohort study in the Netherlands. *Am J Clin Nutr.* 2011; Vol. 93: 615–27.
3. Abargouei A.S., Janghorbani M., Salehi-Marzijarani M., Esmailzadeh A. Effect of dairy consumption on weight and body composition in adults: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled clinical trials. *Int J Obes (Lond).* 2012; Vol. 36: 1485–93.
4. Fathi Y., Faghhi S., Zibaenezhad M.J., Tabatabaei S.H.R. Kefir drink leads to a similar weight loss, compared with milk, in a dairy rich non energy restricted diet in overweight or obese premenopausal women: a randomized controlled trial. *Eur J Nutr.* 2014. doi: 10.1007/s00394-015-0846-9.
5. Louie J.C.Y., Flood V.M., Hector D.J., Rangan A.M. et al. Dairy consumption and overweight and obesity: a systematic review of prospective cohort studies. *Obes Rev.* 2011; Vol. 12: e582–92.
6. Astrup A. Yogurt and dairy product consumption to prevent cardiometabolic diseases: epidemiologic and experimental studies. *Am J Clin Nutr.* 2014; Vol. 99 (5): 1235S–42S.
7. Azadbakht L., Mirmiran P., Esmailzadeh A., Azizi F. Dairy consumption is inversely associated with the prevalence of the metabolic syndrome in Tehranian adults. *Am J Clin Nutr.* 2005; Vol. 82: 523–30.
8. Marette A., Picard-Deland E. Yogurt consumption and impact on health: focus on children and cardiometabolic risk. *Am J Clin Nutr.* 2014; Vol. 99: 1243S–7S.
9. Wang H., Livingston K.A., Fox C.S., Meigs J.B. et al. Yogurt consumption is associated with better diet quality and metabolic profile in American men and women. *Nutr Res.* 2013; Vol. 33: 18–26.
10. Beydoun M.A., Gary T.L., Caballero B.H., Lawrence R.S. et al. Ethnic differences in dairy and related nutrient consumption among US adults and their association with obesity, central obesity, and the metabolic syndrome. *Am J Clin Nutr.* 2008; Vol. 87: 1914–25.
11. Martinchik A.N., Baturin A.K., Keshabians E.E., Peskova E.V. Gender and age characteristics and the trends in prevalence of obesity in the adult population during the 1994–2012 period. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2015; Vol. 84 (3): 50–7. (in Russian).
12. Martinchik A.N., Baturin A.K., Baeva V.S. Album of portionsize of food and dishes. Moscow, 1995: 64 p. (in Russian).
13. The chemical composition of Russian food products. Directory / eds I.M. Scurikhin, V.A. Tutelian. Moscow: DeLi print, 2002: 236 p. (in Russian).
14. Jacques P.F., Wang H. Yogurt and weight management. *Am J Clin Nutr.* 2014; Vol. 99: 1229S–34S.
15. Murphy Karen J., Crichton Georgina E., Dyer Kathryn A., Coates Alison M., et al. Dairy foods and dairy protein consumption is inversely related to markers of adiposity in obese men and women. *Nutrients.* 2013; Vol. 5: 4665–84.

16. Wang H., Troy L., Rogers G., Fox C. et al. Longitudinal association between dairy consumption and changes of body weight and waist circumference: the Framingham Heart Study. *Int J Obes (Lond)*. 2014; Vol. 38 (2): 299–305.
17. Markova Yu.M., Sheveleva S.A. Probiotics as functional food: production and assessment of efficiency. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2014; Vol. 83 (4): 4–14 (in Russian).
18. Sjogren P., Rosell M., Skoglund-Andersson C., Zdravkovic S. et al. Milk-derived fatty acids are associated with a more favorable LDL particle size distribution in healthy men. *J Nutr*. 2004; Vol. 134: 1729–1735.
19. Kratz M., Baars T., Guyenet S. The relationship between high-fat dairy consumption and obesity, cardiovascular, and metabolic disease. *Eur J Nutr*. 2013; Vol. 5: 1–24.
20. Samara A., Herbeth B., Ndiaye N.C., Fumeron F. et al. Dairy product consumption, calcium intakes, and metabolic syndrome-related factors over 5 years in the STANISLAS study. *Nutrition*. 2013; Vol. 29: 519–24.
21. Sun X., Zemel M.B. Calcium and dairy products inhibit weight and fat regain during ad libitum consumption following energy restriction in Ap2-agouti transgenic mice. *J Nutr*. 2004; Vol. 134: 3054–60.
22. Tsuchiya A., Almiron-Roig E., Lluch A., Guyonnet D. et al. Higher satiety ratings following yogurt consumption relative to fruit drink or dairy fruit drink. *J Am Diet Assoc*. 2006; Vol. 106: 550–7.
23. Kallus S.J., Brandt L.J. The intestinal microbiota and obesity. *J Clin Gastroenterol*. 2012; Vol. 46: 16–24.
24. Maynard C.L., Elson C.O., Hatton R.D., Weaver C.T. Reciprocal interactions of the intestinal microbiota and immune system. *Nature*. 2012; Vol. 489: 231–41.
25. Turnbaugh P.J., Ley R.E., Mahowald M.A., Magrini V. et al. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*. 2006; Vol. 444: 1027–31.
26. Martinez-Gonzalez M.A., Sayon-Orea C., Ruiz-Canela M., de la Fuente C. et al. Yogurt consumption, weight change and risk of overweight/obesity: the SUN cohort study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2014; Vol. 24 (11): 1189–96.

Для корреспонденции

Ефимочкина Наталья Рамазановна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биобезопасности и анализа нутримикробиома ФГБНУ «НИИ питания»

Адрес: 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14

Телефон: (495) 698-53-83

E-mail: karlikanova@ion.ru

Н.Р. Ефимочкина, И.Б. Быкова, Ю.М. Маркова, Ю.В. Короткевич, С.А. Шевелева

Влияние технологических стрессовых факторов на экспрессию генов патогенности возбудителей пищевого кампилобактериоза *Campylobacter jejuni*

The study of influence of stresses on virulence genes expression in foodborne pathogens

Campylobacter jejuni

N.R. Efimochkina, I.B. Bykova, Yu.M. Markova, Yu.V. Korotkevich, S.A. Sheveleva

ФГБНУ «НИИ питания», Москва
Institute of Nutrition, Moscow

Изучение на генетическом и метаболическом уровнях ответов на холодное воздействие *Campylobacter jejuni* – одного из наиболее распространенных возбудителей пищевых токсикоинфекций – имеет важное значение для выяснения механизмов приобретения продуктами, загрязненными кампилобактериями, опасных свойств, эти данные также необходимы для создания эффективных систем микробиологического контроля на всех этапах производства и хранения пищевых продуктов. Проведен подбор 5 пар олигонуклеотидных праймеров для выявления экспрессии генов *cadF*, *cdtB*, *ciaB*, *flaA*, *iatA*, кодирующих основные факторы патогенности бактерий *C. jejuni* – способность к адгезии и инвазии эпителиальных клеток, продукции CDT-токсина и подвижности. Для количественной оценки уровней экспрессии целевых генов *C. jejuni* разработан сравнительный метод определения количества продуктов амплификации генов, кодирующих факторы патогенности *Campylobacter spp.*, с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени с интеркалирующими красителями. Для расчета и количественной оценки экспрессии генов получены математические модели, позволяющие проводить экстраполяцию значений пороговых циклов амплификации к исходному числу копий РНК/ДНК в тестируемых пробах. Установлено, что экспозиция бактерий *C. jejuni* под воздействием низких температур на уровне +4 °С не приводила к увеличению уровней экспрессии генов *cdtB* и *ciaB*. Однако в популяциях *C. jejuni*, подвергнутых замораживанию с последующей инкубацией при оптимальной для данного патогена температуре +42 °С, происходит усиление экспрессии мРНК, кодирующих синтез белковой субъединицы В цитолетального токсина и антигенных маркеров факторов инвазии этого возбудителя. Количество копий РНК у бактерий *C. jejuni* после стрессового воздействия увеличивалось на 1,14–2,6 логарифмических порядка в сравнении с интактными культурами. Экспрессия генов *cdtB* и *ciaB* у *C. jejuni* может служить индикатором клеточного ответа на стресс и способствует восстановлению функций бактериальной клетки

после прекращения холодного воздействия и возвращения возбудителя в условия, благоприятные для реализации его патогенного потенциала.

Ключевые слова: *Campylobacter jejuni*, стрессовые воздействия, факторы патогенности, экспрессия генов, устойчивость, количественная ОТ-ПЦР с флуоресцентно-гибридизационной детекцией

The study of the responses to cold exposure in Campylobacter jejuni (C. jejuni) – one of the most common foodborne pathogens is important for elucidating the mechanisms of acquisition of products contaminated with campylobacter, hazardous properties. These data are also necessary to create effective systems of microbiological controls at all stages of production and storage of food. 5 pairs of oligonucleotide primers were selected for detecting of genes cadF, cdtB, ciaB, flaA, iamA, encoding the main factors of pathogenicity of foodborne pathogens Campylobacter jejuni – adhesion and invasion of epithelial cells, production of CDT-toxin and mobility. To quantify the expression levels of target genes of C. jejuni a comparative method of determining the amount of amplification products of genes encoding pathogenicity factors of Campylobacter spp. has been developed using real-time PCR with intercalating dyes. To calculate and quantify gene expression the mathematical models have been obtained that allow extrapolation of threshold cycles of amplification to the initial number of copies of RNA/DNA in the tested samples. It has been established that exposure of C. jejuni at low temperatures +4 °C did not lead to increased levels of expression of genes cdtB and ciaB. However, in the populations of C. jejuni subjected to freezing, followed by incubation at optimum for the pathogen temperature of +42 °C, the increase in expression of mRNA encoding protein subunit B of CDT-toxin and antigenic marker of invasion took place. The number of copies of RNA in C. jejuni after stress exposure increased by 1.14–2.6 lg in comparison with intact cultures. CdtB and ciaB gene expression in C. jejuni can serve as an indicator of cell response to stress and helps to restore the functions of the bacterial cells after the termination of cold exposure and return of the pathogen in conditions favourable to the realization of its pathogenic potential.

Keywords: *Campylobacter jejuni*, stresses, virulence factors, gene expression, tolerance, reverse transcription quantitative Rti-PCR

Жизнедеятельность микроорганизмов в той или иной экологической нише непосредственно связана с генетически закрепленной способностью включать регуляторные системы изменчивости на разных стадиях развития микробной клетки. Перестройка популяционных структур патогенов в условиях окружающей среды существенно отличается от характера персистенции возбудителя в клеточных системах макроорганизма при различных пищевых инфекциях, что требует углубленного изучения биохимических и генетических аспектов этой проблемы.

Наиболее признанной в настоящее время теорией возникновения новых свойств и генетических систем, регулирующих баланс микробных популяций и экспрессию факторов патогенности, является концепция стрессовых ответов микроорганизмов на химические, физические и биологические воздействия.

С учетом многообразия свойств микробных популяций, фенотипического полиморфизма контаминантов пищи, изменения традиционных технологий переработки сырья и способов хранения готовой продукции возникает необходимость углубленного изучения наиболее значимых стрессовых воздействий, обуславливающих деструкцию микроорганизмов или формирование толерантности к неблагоприятным условиям среды.

Изменения метаболических профилей пищевых патогенов в результате экспрессии генов патогенности (токсинов, инвазинов, адгезинов, мембраноразрушающих ферментов и др.) носят адаптивный характер и во многом зависят от физико-химических свойств пищевых субстратов и технологических параметров производства. Изучение механизмов формирования стрессовой толерантности патогенов позволяет прогнозировать интенсивность размножения бактериальных

популяций в пище, оценивать способность возбудителей к преодолению защитных барьеров макроорганизма и, соответственно, степень риска, связанную с применением новых видов технологических воздействий при изготовлении пищевых продуктов.

В процессе производства и хранения пищевых продуктов микроорганизмы подвергаются разнообразным внешним воздействиям, формируя соответствующие стрессовые ответы как на уровне повреждения клеточных оболочек, так и путем изменений ДНК, мембран и ферментов микробной клетки. Наиболее сильным стрессом считают нагревание, которое не только влияет на термотолерантность, но и может вызывать устойчивость к другим стрессовым факторам. Под влиянием низких температур в пищевых продуктах у бактерий также может возникать стрессовый ответ; такие воздействия могут варьировать от сравнительно мягких режимов до экстремальных, выживание при которых требует наличия ряда белков холодового шока [1, 2].

Изучение на генетическом и метаболическом уровнях ответов на холодовое воздействие *Campylobacter jejuni* – одного из наиболее распространенных возбудителей пищевых токсикоинфекций – имеет важное значение для выяснения механизмов приобретения продуктами, загрязненными кампилобактериями, опасных свойств, эти данные также необходимы для создания эффективных систем микробиологического контроля на всех этапах производства и хранения пищевых продуктов. Бактерии *C. jejuni* обладают несколькими факторами вирулентности, которые определяются такими свойствами возбудителя, как хемотаксис и подвижность, адгезия и инвазия, наличие гликозилирующих систем, продукция цитолетального токсина CDT, капсулообразование, образование липоолигосахаридов [3–5].

При охлаждении происходят изменения в уровне экспрессии различных генов *C. jejuni* – появляются мембранные белки с массой более 70 кД, не экспрессируемые при температуре 37 °С, наблюдаются изменения микро- и макроморфологии клеток, когда форма меняется со спиралевидной на кокковидную, уменьшается размер жгутиков. Ж.Н. Шурышевой в 2007 г. [6] было показано, что *C. jejuni* из птицепродуктов формируют колонии разного морфотипа (S или R) в зависимости от источника выделения – замороженного или охлажденного мяса кур соответственно. Поскольку микробный полиморфизм является одним из механизмов выживаемости микробов с паразитическими свойствами, это можно расценивать как звено в механизме сохранения возбудителя при ухудшении условий обитания.

В целом признается, что *C. jejuni* способны длительное время находиться при охлаждении

в живом состоянии в высоких концентрациях. Описанные отличия кампилобактеров от других пищевых патогенов и выраженная способность к полиморфизму позволяют им устоять против целого ряда мер, направленных на снижение микробного загрязнения в процессе производства пищевых продуктов. Это подтверждается в условиях предприятий по переработке птицепродуктов, где все технологические процессы происходят при низких температурах.

Практическое значение исследований по данной проблеме состоит в возможности создания более эффективных систем микробиологического контроля на всех этапах производства и хранения пищевых продуктов, а также внедрения предупредительных мер для снижения риска контаминации продуктов наиболее опасными возбудителями пищевых токсикоинфекций *C. jejuni*.

В связи с изложенным **целью** данной работы являлось изучение влияния температурных стрессовых воздействий на экспрессию генов – регуляторов транскрипции и генов, кодирующих признаки патогенности у *C. jejuni*.

В качестве мишеней были выбраны 5 генов, участвующих в патогенезе кампилобактерий: *cadF* – кодирует поверхностный мембранный фибронектин-связывающий белок, обуславливает адгезию и колонизацию *C. jejuni*, *cdtB* – синтез субъединицы В цитолетального токсина, *ciaB* и *iamA* – генные маркеры инвазивности возбудителя, *flaA* – синтез флагеллинов (подвижность). Выбранные генные детерминанты патогенности термотолерантных кампилобактеров были использованы в данной работе для изучения физиологических свойств штаммов *C. jejuni*, выделенных из сырых птицепродуктов методами полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) в реальном времени.

Материал и методы

В работе использованы 9 штаммов кампилобактерий, выделенных из охлажденных и замороженных птицепродуктов. Культуры были идентифицированы как *C. jejuni*, в том числе *C. jejuni* ssp. *jejuni* 1, *C. jejuni* ssp. *jejuni* 2, *C. jejuni* ssp. *doylei* (табл. 1).

Для изучения воздействия низких температур на уровне экспрессии различных факторов патогенности у штаммов *C. jejuni* использовали два температурных режима хранения: охлаждение до $+4\pm 1$ °С и замораживание до -18 ± 1 °С. Бульонную культуру *C. jejuni* вносили в пищевой продукт (куриное филе, куриный фарш) в соотношении 1:9, после чего зараженные субстраты термостатировали в микроаэрофильных условиях при 42 °С в течение 2 ч. Плотность популяции микро-

организмов в исследуемых пробах составляла 10^6 – 10^7 КОЕ/см³ (г). Далее тестируемые образцы быстро охлаждали до температур $+4 \pm 1$ и -18 ± 1 °С; длительность воздействия составляла 2,5–4 ч. В качестве контроля использовали зараженные образцы, которые хранили при комнатной температуре (20 ± 2 °С), а также исходную бульонную культуру.

Охлажденные до $+4$ °С пробы экстрагировали сразу после выдержки, замороженные образцы помещали в термостат и прогревали до $+42$ °С. Куриный фарш до экстракции центрифугировали при 1000 об/мин в течение 5 мин, для экстракции использовали супернатант.

По окончании обработки проводили экстракцию нуклеиновых кислот с использованием автоматизированной станции «NucliSens easyMag» («БиоМерье», Франция) и наборов для экстракции («РИБО-преп», РФ). Очищенные пробы РНК/ДНК после тщательного перемешивания делили на две части, с одной из которых ставили реакцию обратной транскрипции (ОТ) (30 мин при 37 °С, наборы «Реверта-L»), далее полученные пробы кДНК тестировали параллельно с экстрактами, содержащими интактную ДНК (без ОТ), методом ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) – вариант 1. Аналогичной процедуре подвергали культуры *C. jejuni* и зараженный фарш, выдержанные при комнатной температуре $+20$ °С, – вариант 2. В 3-м варианте эксперимента тестировали культуры *C. jejuni* и искусственно зараженные пищевые субстраты, подвергнутые замораживанию до -18 °С с последующим прогревом до $+42$ °С. Амплификацию проводили на приборе «ABI PRISM 7500 RealTime PCR» («Applied Biosystems», США).

Полученные экстракты использовали для проведения сравнительных исследований уровней экспрессии генов, кодирующих основные факторы патогенности *C. jejuni*.

Для изучения выбранных генов-мишеней *cadF*, *cdtB*, *ciaB*, *flaA*, *iamA* был проведен подбор 5 пар олигонуклеотидных праймеров [7–12]. Олигонуклеотидные последовательности для ПЦР-детекции вышеуказанных генов приведены в табл. 2. В работе также использовали видоспецифическую для *C. jejuni* последовательность в области 16S рРНК [13, 14].

Для проведения амплификации вышеуказанных генов методом ПЦР были подобраны составы реакционных смесей и разработана программа амплификации (табл. 3).

Для постановки ПЦР использовали реакционную смесь qPCRmix-HS SYBR+ROX («Евроген», РФ), содержащую высокопроцессивную Taq ДНК-полимеразу со специфическими моноклональными антителами, интеркалирующий краситель SYBR Green I, референсный краситель ROX, смесь нуклеотидтрифосфатов, Mg²⁺, реакционный буфер.

Таблица 1. Штаммы *Campylobacter* spp., выделенные из сырых птицепродуктов

Штамм	Вид	Продукт
П1	<i>C. jejuni</i> ssp. <i>doylei</i>	Печень куриная охлажденная
П4	<i>C. jejuni</i> ssp. <i>doylei</i>	Печень куриная охлажденная
П7	<i>C. jejuni</i> ssp. <i>doylei</i>	Печень куриная замороженная
П8	<i>C. jejuni</i> ssp. <i>doylei</i>	Печень куриная замороженная
К2	<i>C. jejuni</i> ssp. <i>jejuni2</i>	Курица охлажденная
К3	<i>C. jejuni</i> ssp. <i>jejuni 2</i>	Курица замороженная
К4	<i>C. jejuni</i> ssp. <i>doylei</i>	Курица замороженная
К5	<i>C. jejuni</i> ssp. <i>jejuni2</i>	Курица замороженная
К53	<i>C. jejuni</i> ssp. <i>jejuni2</i>	Курица охлажденная

Таблица 2. Олигонуклеотидные праймеры

Целевой ген	Олигонуклеотидные последовательности 5'→3'
<i>cadF</i>	TGG AGG GTA ATT TAG ATA TG
	CTA ATA CCT AAA GTT GAA AC
<i>cdtB</i>	GTT AAA ATC CCC TGC TAT CAA CCA
	GTT GGC ACT TGG AAT TTG CAA GGC
<i>ciaB</i>	CAG CTT CTT GCC AAG CTT TT
	TTG TGA GCG AAG CTA TGG TG
<i>flaA</i>	CAA GAC CTG TTC CAA CTG AAG
	CTA TGG ATG AGC AAT TTA AAA T
<i>iamA</i>	GCA CAA AAT ATA TCA TTA CAA
	TTC ACG ACT ACT ATG AGG
16S рРНК	TCC TAC GGG AGG CAG CAG T
	GGA CTA CCA GGG TAT CTA ATC CTG TT

Таблица 3. Программа амплификации генов *C. jejuni* методом полимеразной цепной реакции

Целевой ген	Температура, длительность и количество циклов амплификации	Размер ампликонов, бп
<i>cadF</i>	95 °С – 5 мин (95 °С 10 с, 58 °С 10 с, 72 °С 30 с) × 40 циклов	396
<i>cdtB</i>	95 °С – 5 мин (95 °С 10 с, 59 °С 10 с, 72 °С 30 с) × 40 циклов	495
<i>ciaB</i>	95 °С – 5 мин, (95 °С 10 с, 58 °С 10 с, 72 °С 30 с) × 40 циклов	240
<i>flaA</i>	95 °С – 5 мин (95 °С 10 с, 52 °С 10 с, 72 °С 30 с) × 40 циклов	620
<i>iamA</i>	95 °С – 5 мин (95 °С 10 с, 55 °С 10 с, 72 °С 30 с) × 40 циклов	515
16S рРНК	95 °С – 5 мин, (95 °С 10 с, 62 °С 10 с, 72 °С 30 с) × 40 циклов	466

Таблица 4. Состав реакционной смеси для проведения полимеразной цепной реакции (мкл)

Компонент	ОТ-ПЦР	ПЦР
Вода, очищенная от нуклеаз	$N^* \times 14$	$N \times 17$
Праймер F	$N \times 1$	$N \times 1$
Праймер R	$N \times 1$	$N \times 1$
5×qPCRmix-HS SYBR+ROX	$N \times 5$	$N \times 5$
Образец ДНК	4	1
Общий объем реакционной смеси (в 1 пробирке)	25	25

* – $N = (\text{число исследуемых проб} + \text{контроли} + 1)$.

Пассивный референсный краситель ROX обеспечивает нормирование сигналов репортерной флуоресценции, что позволяет корректировать флуктуацию сигналов между пробами в пределах эксперимента. Состав смесей для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР приведен в табл. 4.

Верификацию олигонуклеотидных праймеров и выбранных программ термоциклирования проводили с использованием тест-штаммов *S. jejuni* методом ПЦР с выявлением ампликонов электрофоретической детекцией в агарозном геле.

Результаты

Для количественной оценки уровней экспрессии выбранных целевых генов *S. jejuni* при выполнении экспериментальных исследований был разработан сравнительный метод определения продуктов амплификации генов – регуляторов транскрипции и генов, кодирующих факторы патогенности *Samylobacter* spp., с использованием ПЦР в реальном времени с флуоресцентно-гибридизационной детекцией, с учетом рекомендаций K.J. Livak, T.D. Schmittgen (2001) [15].

На первом этапе для получения сравнительных количественных зависимостей проводили постановку ПЦР, используя последовательный ряд де-

сятых разведений штаммов *S. jejuni* с предварительно рассчитанной концентрацией живых клеток (КОЕ/мл) в исходной суспензии. Ориентировочную оценку исходного числа копий амплифицируемых фрагментов ДНК в исследуемых пробах получали на основании анализа результатов амплификации ДНК, которые регистрировали по каналу флуоресценции FAM/Green. Полученные данные, представленные в виде кривых накопления флуоресцентного сигнала (ΔRn), анализировали с помощью программного обеспечения системы «ABI PRISM 7500 RealTime PCR». Результаты интерпретировали по наличию (или отсутствию) пересечения кривой флуоресценции с установленной на заданном уровне пороговой линией, что соответствовало наличию (или отсутствию) значения порогового цикла C_t .

Значение C_t для положительных проб, содержащих РНК или ДНК *S. jejuni*, в данной работе было установлено эмпирически на уровне 38–40 (по завершении термоциклирования); увеличение числа циклов амплификации до 45 не приводило к появлению соответствующих кривых накопления флуоресцентного сигнала, или характер флуоресценции не позволял оценивать полученные результаты как достоверные. Исходя из этого отрицательными считали пробы при отсутствии сигнала флуоресценции (neg) или при значениях C_t кривой амплификации более 38. Значения пороговых циклов для ряда разведений тест-штаммов в десятикратно убывающих концентрациях приведены в табл. 5.

Анализ полученных количественных зависимостей значений C_t для использованных генов-мишеней определил направленность дальнейших исследований: в качестве наиболее перспективных объектов детекции были выбраны геномные последовательности *cdtB* и *ciaB*, кодирующие продукцию основного токсического белка *S. jejuni* и факторы инвазии возбудителя.

Характер кривых накопления ампликонов для генов *cadF*, *flaA*, *iamA* свидетельствовал о пригодности этих мишеней для целей детекции *S. jejuni*,

Таблица 5. Пороговые циклы кривых роста флуоресценции продуктов полимеразной цепной реакции фрагментов *cadF*, *cdtB*, *ciaB*, *flaA*, *iamA* и 16S рРНК *S. jejuni*

Количество бактериальных клеток, КОЕ/мл	Средние значения C_t для генов ($n=4$)					
	<i>cadF</i>	<i>cdtB</i>	<i>ciaB</i>	<i>flaA</i>	<i>iamA</i>	16S рРНК
Бульонная культура ($\approx 10^9$)	27,1	17,3	8,3	27,9	Нет данных	10,5
10^8	31,6	18,9	11,7	33,4	29,7	13,9
10^7	37,1	21,5	14,8	34,8	32,0	15,1
10^6	39,8	23,0	18,4	37,7	33,8	17,9
10^5	–	25,4	21,5	39,5	35,3	21,0
10^4	–	28,3	25,3	37,7	39,9	24,7
10^3	–	31,8	28,1	–	–	27,3
10^2	–	35,9	Нет данных	–	–	28,1

однако не давал возможности для экстраполяции результатов от числа бактериальных клеток к концентрации целевых нуклеиновых кислот в исследуемой пробе. При постановке ОТ-ПЦР с целевыми генами *cadF*, *flaA*, *iamA* были получены те же закономерности скорости накопления флуоресцентного сигнала.

Для экстраполяции значений C_t к исходному числу копий РНК/ДНК в пробах учитывали экспоненциальную зависимость, используемую для расчета теоретической концентрации ампликонов при многократном повторении температурного цикла, которая выражается как:

$$X_n = X_0 \times 2^n, \quad (1)$$

где X_0 – стартовое количество ДНК-мишени, X_n – концентрация ампликонов после n циклов.

При этом концентрация копий рассчитывается следующим образом:

$$RT = A \times X_0 k \times (1 + Ek) C_{t_k}, \quad (2)$$

где RT – пороговое значение флуоресценции, A – константа (коэффициент пропорциональности), k – исследуемый образец.

С учетом зависимостей, полученных при тестировании десятикратных разведений суспензий штаммов *C. jejuni*, скорость накопления ампликонов в ходе ПЦР при тестировании целевого гена *cdtB* оценивали в соответствии с формулой (3):

$$C_t = -2,644 \lg \text{КОЕ} + 34,355. \quad (3)$$

Скорость накопления ампликонов при тестировании целевого гена *ciaB* оценивали в соответствии с формулой (4):

$$C_t = -2,589 \lg \text{КОЕ} + 39,504. \quad (4)$$

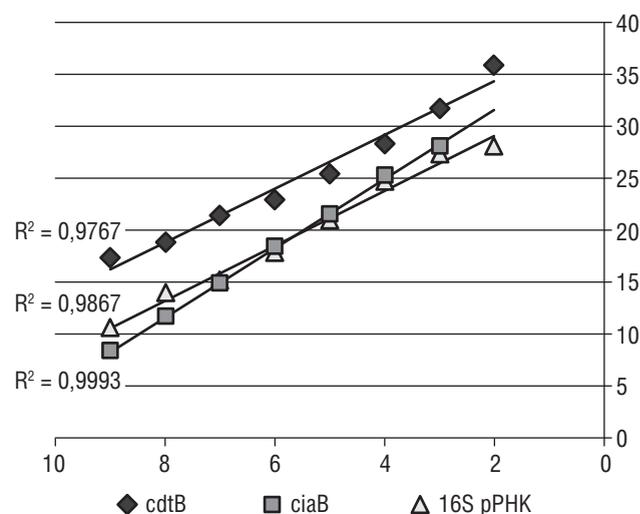


Рис. 1. Значения C_t суточных бульонных культур *C. jejuni* и их десятикратных разведений

Для определения количества копий исследуемых генов и нормализации значений относительно числа исходных бактериальных клеток использовали фрагмент хромосомной последовательности 16S рРНК (рис. 1).

Значения C_t , полученные для *cdtB* и *ciaB* методом ПЦР без ОТ, использовали в качестве базовых величин для выявления относительной экспрессии генов непосредственно по концентрации мРНК в клетках и сравнительной оценки количества транскриптов кДНК в контрольных и опытных образцах *C. jejuni*, а также в экспериментально зараженных ими пробах пищевых продуктов.

Результаты амплификации фрагментов *cdtB* и *ciaB*, кодирующих продукцию цитолетального токсина и факторы инвазии *C. jejuni*, а также последовательности 16S рРНК в исследуемых пробах, подвергнутых различным температурным воздействиям, приведены в табл. 6–8.

Таблица 6. Значения C_t -кривых флуоресценции полимеразной цепной реакции с праймерами к гену *cdtB*

Объект исследования	ОТ-ПЦР			ПЦР		
	вариант 1 +4 °С	вариант 2 +20 °С	вариант 3 -18 °С/+42 °С	вариант 1 +4 °С	вариант 2 +20 °С	вариант 3 -18 °С/+42 °С
<i>C. jejuni</i> K53	17,26	16,71	14,98	27,57	26,20	20,95
<i>C. jejuni</i> K5	21,82	15,34	7,26	23,45	18,81	16,20
<i>C. jejuni</i> K2	26,37	22,68	14,87	27,33	15,85	26,91
<i>M</i> ± <i>m</i>	21,8±2,6	18,2±2,3	12,4±2,6	26,1±1,3	20,3±3,1	21,4±3,1
Фарш + <i>C. jejuni</i> K53	14,98	20,95	6,43	17,57	16,20	17,31
Фарш + <i>C. jejuni</i> K5	27,73	26,18	19,87	19,89	19,69	26,18
Фарш + <i>C. jejuni</i> K2	27,98	27,97	–	23,59	23,64	–
<i>M</i> ± <i>m</i>	23,6±4,3	25,0±2,1	13,2±6,8	20,4±1,8	19,8±2,1	21,7±1,2

Таблица 7. Значения Ct-кривых флуоресценции полимеразной цепной реакции с праймерами к гену *ciaB*

Объект исследования	ОТ-ПЦР			ПЦР		
	вариант 1 +4 °С	вариант 2 +20 °С	вариант 3 -18 °С/+42 °С	вариант 1 +4 °С	вариант 2 +20 °С	вариант 3 -18 °С/+42 °С
<i>C. jejuni</i> K53	22,8	19,2	13,11	18,72	16,71	15,56
<i>C. jejuni</i> K5	27,86	23,25	18,64	22,63	19,82	21,03
<i>C. jejuni</i> K2	17,91	17,60	–	18,83	14,99	–
<i>M±m</i>	22,9±2,9	20,0±1,7	15,9±2,8	20,1±1,3	17,4±2,0	18,3±2,7
Фарш + <i>C. jejuni</i> K53	22,52	19,53	18,83	18,86	16,0	21,84
Фарш + <i>C. jejuni</i> K5	26,86	24,61	21,19	22,53	19,90	25,78
Фарш + <i>C. jejuni</i> K2	22,32	36,43	–	18,87	15,33	–
<i>M±m</i>	23,9±1,5	26,9±5,0	20,0±1,2	20,1±1,2	17,1±1,4	23,8±2,0

Таблица 8. Значения Ct-кривых флуоресценции полимеразной цепной реакции с праймерами 16S рРНК

Объект исследования	ОТ-ПЦР			ПЦР		
	вариант 1 +4 °С	вариант 2 +20 °С	вариант 3 -18 °С/+42 °С	вариант 1 +4 °С	вариант 2 +20 °С	вариант 3 -18 °С/+42 °С
<i>C. jejuni</i> K53	10,57	11,94	11,23	15,23	15,26	19,24
<i>C. jejuni</i> K5	24,54	9,57	19,98	9,75	14,14	12,68
<i>C. jejuni</i> K2	21,77	20,74	11,56	18,91	25,84	17,43
<i>M±m</i>	19,0±4,3	14,1±3,4	14,9±0,5	14,6±2,7	18,4±3,7	16,5±2,0
Фарш + <i>C. jejuni</i> K53	18,77	18,59	25,35	20,18	18,99	17,43
Фарш + <i>C. jejuni</i> K5	24,51	24,65	22,19	neg (>40)	16,55	36,78
Фарш + <i>C. jejuni</i> K2	24,88	23,77	–	21,20	neg (>40)	–
<i>M±m</i>	22,7±2,0	24,2±0,4	23,8±2,4	27,1±6,4	25,2±7,4	27,1±9,7

Обсуждение

Известно, что стрессовый ответ *Campylobacter* spp. на охлаждение не идентичен таковому у других пищевых патогенов, таких как сальмонеллы и *E. coli*, и не сопровождается выработкой белков теплового шока, в связи с чем охлажденные клетки кампилобактерий не становятся термотолерантными. У *C. jejuni* также не найдены белки холодового шока, что частично объясняет их неспособность расти ниже 30 °С. Известно, что разные виды *Campylobacter* spp. обладают разными профилями выживаемости при низких температурах, но механизм адаптации к этим факторам остается неизвестным [16]. В то же время установлено, что при низких температурах *C. jejuni* проявляют значительную метаболическую активность, в том числе способны к синтезу некоторых белков и хемотаксису. При 4 °С неоднократно фиксировали увеличение плотности популяции на 0,5–1,0lg, хотя это может свидетельствовать не столько о способности *C. jejuni* расти при охлаждении, сколько об осуществлении перехода

между жизнеспособным культивируемым и некультивируемым состоянием [16].

Полученные в данной работе результаты показали, что в большинстве случаев культуры *C. jejuni* после охлаждения не экспрессировали факторы патогенности, кодируемые генами *cdtB* и *ciaB*, в сравнении с культурами, хранившимися при +20 °С. Полученные средние значения Ct после обратной транскрипции РНК в ДНК свидетельствуют о том, что количество исходных копий мРНК в подвергнутых холодовому шоку бактериальных суспензиях было на 10–20% ниже, чем в пробах, инкубированных при комнатной температуре. Эта закономерность наблюдалась как для чистых культур *C. jejuni*, так и при тестировании образцов сырого куриного фарша, экспериментально зараженного тест-штаммами в соответствующих концентрациях. Выявленные количественные различия по числу амплифицированных копий фрагментов генов *cdtB* и *ciaB* в охлажденных и неохлажденных образцах, по всей вероятности, были связаны с угнетением основных физиологических функций кампилобак-

терий под действием холодового шока и увеличением времени генерации исследуемых популяций.

В случае тестирования нуклеиновых кислот опытных и контрольных проб по фрагменту хромосомной последовательности 16S рРНК однозначной тенденции не выявлено, различия по числу копий РНК в охлажденных и контрольных пробах находились в пределах статистических колебаний и рассматривались как недостоверные. Следует отметить, что полученные данные подтвердили пригодность использования геномной последовательности 16S рРНК в качестве внутреннего контроля для постановки количественной ПЦР при исследовании *C. jejuni*.

В целом анализ полученных результатов позволил заключить, что экспозиция жизнеспособных клеток *C. jejuni* под воздействием неблагоприятных для данного вида бактерий низких температур на уровне +4 °С приводит к снижению уровней экспрессии токсических белковых субъединиц CdtВ и факторов инвазии, кодируемых геном *ciaB*.

Анализ данных, полученных в 3-м варианте эксперимента (замораживание и прогрев до +42 °С проб суспензий *C. jejuni* и контаминированных образцов продукта), позволил выявить иной характер изменений интенсивности накопления транскриптов. Сопоставление значений Ct в амплифицированных пробах в вариантах ОТ-ПЦР и прямой ПЦР показало, что в популяциях *C. jejuni*, инкубированных при оптимальных для данного патогена температурах после воздействия холодового шока, происходит усиление экспрессии процессов транскрипции и синтеза белковых метаболитов, кодируемых генами *cdtB* и *ciaB*. Различия в количестве циклов для *cdtB* составили 8,8, для *ciaB* – 3,8 Ct.

С учетом рассчитанных ранее закономерностей накопления ампликонов в ходе ПЦР для штаммов *C. jejuni* можно предполагать, что различия в числе копий РНК в исходных пробах для целевой последовательности *cdtB*, установленные в данном исследовании, составляли 2,64lg, для гена *ciaB* – 1,14lg (рис. 2).

Заключение

Получены данные, подтверждающие увеличение экспрессии мРНК, кодирующих синтез белковой субъединицы В цитолетального токсина *C. jejuni* и антигенных маркеров факторов инвазии этого возбудителя, при кратковременном температурном воз-

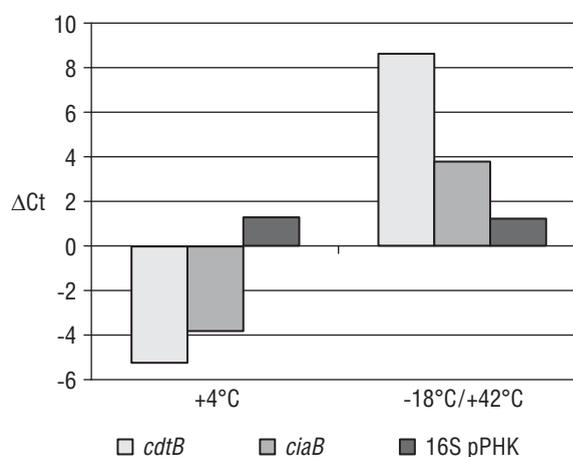


Рис. 2. Изменения количества транскриптов у *C. jejuni*, подвергнутых охлаждению и замораживанию, соотнесенные со значениями Ct для положительных проб в реакции ПЦР-РВ

действию с последующим интенсивным прогреванием. Эти результаты позволяют предполагать, что экспрессия генов *cdtB* и *ciaB* у *C. jejuni* может служить индикатором клеточного ответа на стресс и способствует восстановлению функций бактериальной клетки после прекращения холодового воздействия и возвращения возбудителя в условия, благоприятные для реализации его патогенного потенциала.

Вместе с тем очевидно, что для подтверждения вышеописанного эффекта необходимы более детальные исследования метаболических процессов, участвующих в формировании стрессовых ответов *Campylobacter* spp. и их роли как потенциальных транскрипционных регуляторов.

В целом полученные данные свидетельствуют о необходимости углубленного изучения процессов формирования толерантности возбудителей пищевых токсикоинфекций *C. jejuni*, основанного на определении полного генетического и протеомного профилей патогенов, включая изучение внутриклеточных механизмов регуляции и экспрессии факторов патогенности.

Авторы выражают благодарность за помощь в разработке методических подходов, использованных для изучения экспрессии генов патогенности *C. jejuni*, кандидату биологических наук А.В. Булахову.

Исследование выполнено за счет гранта
Российского научного фонда
(проект № 15-16-00015).

Сведения об авторах

ФГБНУ «НИИ питания» (Москва):

Ефимочкина Наталья Рамазановна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биобезопасности и анализа нутримикробиома

E-mail: karlikanova@ion.ru

Быкова Ирина Борисовна – научный сотрудник лаборатории биобезопасности и анализа нутримикробиома

E-mail: bykova@ion.ru

Маркова Юлия Михайловна – младший научный сотрудник лаборатории биобезопасности и анализа нутримикробиома

E-mail: yulia.markova.ion@gmail.com

Короткевич Юлия Владимировна – младший научный сотрудник лаборатории биобезопасности и анализа нутримикробиома

E-mail: ulya_korotkevich@mail.ru

Шевелева Светлана Анатольевна – доктор медицинских наук, заведующая лабораторией биобезопасности и анализа нутримикробиома

E-mail: sheveleva@ion.ru

Литература

- Stintzi A. Gene expression profile of *Campylobacter jejuni* in response to growth temperature variation // *J. Bacteriol.* 2003. Vol. 185, N 6. P. 2009–2016.
- Weber M.H.W., Marahiel M.A. Bacterial cold shock responses // *Sci. Prog.* 2003. Vol. 86. P. 9–75.
- Levin R.E. Rapid Detection and Characterization of Foodborne Pathogens by Molecular techniques. USA : CRC Press, 2010. 592 p.
- On S.L.W., Dorrell N., Petersen L., Bang D.D. et al. Numerical analysis of DNA microarray data of *Campylobacter jejuni* strains correlated with survival, cytolethal distending toxin and haemolysin analysis // *Int. J. Med. Microbiol.* 2006. Vol. 296, issue 6. P. 353–363.
- Poly F., Guerry P. Pathogenesis of *Campylobacter* // *Curr. Opin. Gastroenterol.* 2008. Vol. 24, issue 1. P. 27–31.
- Шевелева С.А., Шурышева Ж.Н., Пискарева И.И. Загрязненность пищевых продуктов бактериями рода *Campylobacter* // *Вопр. питания.* 2006. № 6. С. 38–44.
- Bohaychuk V.M., Gensler G.E., King R.K. et al. Evaluation of detection methods for screening meat and poultry products for the presence of foodborne pathogens // *J. Food Protection.* 2005. Vol. 68, N 12. P. 2637–2647.
- Hassane D., Lee R., Mendenhall M., Picket C. Cytolethal distending toxin demonstrates genotoxic activity in a yeast model // *Infect. Immun.* 2001. Vol. 69, is. 9. P. 5752–5759.
- Konkel M.E., Gray S.A., Kim B.J. et al. Identification of the enteropathogens *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* based on the *cadF* virulence gene and its product // *J. Clin. Microbiol.* 1999. Vol. 37, N 3. P. 510–517.
- Line J., Hiett K., Conlan A. Comparison of challenge models for determining the colonization dose of *Campylobacter jejuni* in broiler chicks // *Poult. Sci.* 2008. Vol. 87. P. 1700–1706.
- van Vliet A.H., Ketley J.M. Pathogenesis of enteric *Campylobacter* infection // *J. Appl. Microbiol.* 2001. Vol. 90, issue S6. P. 45S–56S.
- Young K.T., Davis L.M., Dirita V.J. *Campylobacter jejuni*: molecular biology and pathogenesis // *Nat. Rev. Microbiol.* 2007. Vol. 5, N 9. P. 665–679.
- Josefsen M.H., Cook N., D'Agostino M. et al. Validation of a PCR-based method for detection of food-borne thermotolerant *Campylobacter* spp. in a multicenter collaborative trial // *Appl. Environ. Microbiol.* 2004. Vol. 70, N 7. P. 4379–4383.
- Wolffs P., Norling B., Hoorfar J. et al. Quantification of *Campylobacter* spp. in chicken rinse samples by using flotation prior to real-time PCR // *Appl. Environ. Microbiol.* 2005. Vol. 71, N 10. P. 5759–5764.
- Livak K. J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta C_T$ Method // *Methods.* 2001. Vol. 25. P. 402–408.
- Humphrey T., O'Brien S., Madsen M. *Campylobacter* spp. as zoonotic pathogens: a food production perspective // *Int. J. Food Microbiol.* 2007. Vol. 117, issue 03. P. 237–257.

References

- Stintzi A. Gene expression profile of *Campylobacter jejuni* in response to growth temperature variation. *J. Bacteriol.* 2003; Vol. 185 (6): 2009–2016.
- Weber M.H.W., Marahiel M.A. Bacterial cold shock responses. *Sci. Prog.* 2003; Vol. 86: 9–75.
- Levin R.E. Rapid Detection and Characterization of Foodborne Pathogens by Molecular techniques. USA : CRC Press, 2010: 592 p.
- On S.L.W., Dorrell N., Petersen L., Bang D.D. et al. Numerical analysis of DNA microarray data of *Campylobacter jejuni* strains correlated with survival, cytolethal distending toxin and haemolysin analysis. *Int J Med Microbiol.* 2006; Vol. 296 (6): 353–63.
- Poly F., Guerry P. Pathogenesis of *Campylobacter*. *Curr Opin Gastroenterol.* 2008; Vol. 24 (1): 27–31.
- Shurisheva J.N. Sheveleva S.A., Piskareva I.I. Assessment of the risk of contamination of food by *Campylobacter* spp. *Voprosi pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2006; Vol. 6: 38–44. (in Russian).
- Bohaychuk V.M., Gensler G.E., King R.K., et al. Evaluation of detection methods for screening meat and poultry products for the presence of foodborne pathogens. *J Food Protection.* 2005; Vol. 68 (12): 2637–47.
- Hassane D., Lee R., Mendenhall M., Picket C. Cytolethal distending toxin demonstrates genotoxic activity in a yeast model. *Infect Immun.* 2001; Vol. 69 (9): 5752–9.
- Konkel M.E., Gray S.A., Kim B.J., et al. Identification of the enteropathogens *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* based on the *cadF* virulence gene and its product. *J. Clin. Microbiol.* 1999; Vol. 37 (3): 510–7.
- Line J., Hiett K., Conlan A. Comparison of challenge models for determining the colonization dose of *Campylobacter jejuni* in broiler chicks. *Poult. Sci.* 2008; Vol. 87: 1700–6.
- van Vliet A.H., Ketley J.M. Pathogenesis of enteric *Campylobacter* infection. *J Appl Microbiol.* 2001; Vol. 90 (S6): 45S–56S.
- Young K.T., Davis L.M., Dirita V.J. *Campylobacter jejuni*: molecular biology and pathogenesis. *Nat Rev Microbiol.* 2007; Vol. 5 (9): 665–79.
- Josefsen M.H., Cook N., D'Agostino M., et al. Validation of a PCR-based method for detection of food-borne thermotolerant *Campylobacter* spp. in a multicenter collaborative trial. *Appl Environ Microbiol.* 2004; Vol. 70 (7): 4379–83.
- Wolffs P., Norling B., Hoorfar J., et al. Quantification of *Campylobacter* spp. in chicken rinse samples by using flotation prior to real-time PCR. *Appl Environ Microbiol.* 2005; Vol. 71 (10): 5759–64.
- Livak K. J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta C_T$ Method. *Methods.* 2001; Vol. 25: 402–8.
- Humphrey T., O'Brien S., Madsen M. *Campylobacter* spp. as zoonotic pathogens: a food production perspective. *Int J Food Microbiol.* 2007; Vol. 117 (03): 237–57.

Для корреспонденции

Ревакина Вера Афанасьевна – доктор медицинских наук,
профессор, заведующая отделением аллергологии
ФГБНУ «НИИ питания»

Адрес: 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14

Телефон: (499) 794-36-21

E-mail: 5356797@mail.ru

В.А. Ревакина, И.А. Ларькова, Е.Д. Кувшинова, М.И. Шавкина, В.А. Мухортых

Фенотипы пищевой аллергии у детей

Phenotypes of food allergy
in children

V.A. Revyakina, I.A. Larkova,
E.D. Kuvshinova, M.I. Shavkina,
V.A. Mukhortykh

*Questions of food allergy
heterogeneity, approaches
to allocation of various phenotypes
on the basis of clinical signs and
immunological markers taking into
account an etiology and immune
mechanisms of the disease
are considered in the article.*

*Allocation of phenotypes contributes
the best understanding of essence
and it expedient for development
of individual approach to diet and
therapy.*

Keywords: food allergy, children,
phenotypes, food allergens

ФГБНУ «НИИ питания», Москва
Institute of Nutrition, Moscow

В статье рассмотрены вопросы гетерогенности пищевой аллергии у детей, подходы к выделению различных фенотипов на основании клинических признаков и иммунологических маркеров с учетом этиологии и механизмов развития. Выделение фенотипов способствует лучшему пониманию сущности пищевой аллергии и целесообразно для разработки индивидуального подхода к диетологической и фармакотерапии.

Ключевые слова: пищевая аллергия, дети, фенотипы, пищевые аллергены

Многообразие причин, вызывающих развитие аллергических заболеваний, сложный патогенез, неодинаковый ответ пациентов на проводимую терапию стали основанием для выделения фенотипов и эндотипов аллергических болезней. Столь высокий интерес к данной проблеме связан с тем, что современные успехи в диагностике и терапии аллергических заболеваний не всегда удовлетворяют пациентов, причем у многих из них отмечается неэффективность проводимого стандартного лечения [1]. Все это послужило поводом для изучения фенотипов и эндотипов аллергических заболеваний, которые позволяют объяснить клинические, патофизиологические, функциональные, а иногда генетические особенности каждого конкретного больного и подобрать ему персонализированную терапию [2, 3]. На сегодняшний день наиболее подробно описаны фенотипы бронхиальной астмы [4, 5].

Впервые термин «фенотип» (*phenotype* от греч. *phaino* – являю, обнаруживаю и *typos* – отпечаток, форма, образец) был предложен датским ученым Вильгельмом Иогансеном в 1909 г., объяснявшим, что под влиянием факторов окружающей среды генотип организма (наследственная предрасположенность) реализуется в какой-либо признак, присущий данному организму, или болезнь. Каждый биологический вид имеет свойственный только ему фенотип. Он формируется в соответствии с наследственной информацией, заложенной в генах. Однако в зависимости от изменений внешней среды состояние признаков варьирует от организма к организму, в результате чего возникают индивидуальные различия – генетическая изменчивость,

которая бывает комбинативной и мутационной. Комбинативная изменчивость возникает в результате обмена гомологичными участками гомологичных хромосом, что приводит к образованию новых объединений генов в генотипе. Мутационная изменчивость (мутации) вызывает изменения генотипа, наследуется потомством и не связана со скрещиванием и рекомбинацией генов. Выделяют хромосомные и генные мутации. Хромосомные мутации связаны с изменением структуры хромосом. Это может быть изменение числа хромосом, кратное или не кратное гаплоидному набору. Генные мутации затрагивают структуру самого гена и влекут за собой изменение свойств организма и возникают как в соматических, так и в половых клетках.

Фенотипические признаки не передаются от родителей к потомкам, наследуется лишь норма реакции, т.е. характер реагирования на изменение окружающих условий. И если совокупность всех генов организма составляет его генотип, то совокупность всех его признаков (анатомических, морфологических, функциональных и др.) составляет его фенотип. В течение жизни фенотип организма может меняться, при этом генотип остается неизменным. Каждый фенотип имеет свои молекулярные маркеры (эндотипы), которые требуют дальнейшей расшифровки. Эндотипы – именно те биомаркеры, которые определяют патогенез и особенности фенотипа больного с тем или иным заболеванием.

Итак, фенотип – совокупность всех признаков и свойств организма, который формируется в процессе его индивидуального развития в результате взаимодействия генотипа и условий среды обитания. Набор хромосом, полученный от родителей, несет совокупность генов, которые характерны для данного вида вообще и для данного организма в частности. Эти гены несут информацию о белках, которые могут синтезироваться в этом организме, а также о механизмах, определяющих сам синтез и его регуляцию. В процессе развития осуществляется последовательное включение генов и синтез тех белков, которые они кодируют (экспрессия генов). В результате происходит развитие всех признаков и свойств организма, которые и составляют его фенотип. Таким образом, фенотип – это продукт реализации той генетической программы, которая содержится в генотипе. Однако генотип не однозначно определяет фенотип: в большей или меньшей степени он зависит и от внешних условий. Иногда фенотипы в разных условиях отличаются крайне резко. Фенотип можно определить как «вынос» генетической информации навстречу факторам среды.

В свете вышесказанного огромное значение для клинической практики имеет выделение и изучение фенотипов пищевой аллергии как пускового

и этиологического фактора многих аллергических заболеваний [6, 7]. Пищевая аллергия характеризуется полиморфизмом клинических проявлений и сложными иммунологическими механизмами. Она имеет высокую и неравномерную распространенность в различных регионах земного шара, обусловленную специфическими традициями питания и своеобразием воздействия на организм ребенка средовых факторов [8, 9, 10]. Гетерогенность пищевой аллергии со всем разнообразием клинических проявлений, различиями в тяжести течения и, в особых случаях, резистентностью к традиционному лечению позволяет выделить отдельные фенотипы пищевой аллергии на основании клинических признаков и ряда иммунологических маркеров. В настоящее время этот вопрос носит дискуссионный характер и требует дальнейшего обсуждения.

Пищевая аллергия лежит в основе многих аллергических заболеваний: атопического дерматита, крапивницы, ангиоотека, гастроинтестинальных симптомов, аллергического ринита, бронхиальной астмы, анафилаксии. В большинстве случаев пищевая аллергия обусловлена гиперпродукцией IgE-антител с формированием хронического воспаления в шоковом органе-мишени [11]. Главную роль в нем играют различные иммунокомпетентные клетки, среди которых выделяют лимфоциты, дендритные клетки, эозинофилы, тучные клетки и базофилы. У больных с IgE-опосредованными реакциями имеет место дисбаланс Th2/Th1 – цитокинового профиля с преобладанием активности Th2-лимфоцитов с генерированием провоспалительных цитокинов. Причиной поляризации Th1-клеток может быть экскреция дендритными клетками большого количества антигенных пептидов с высокой аффинностью к главному комплексу гистосовместимости (HLA) II класса и продукция ими IL-12. При замедленном созревании врожденной иммунной системы отмечаются полиморфные варианты генов Toll-подобных рецепторов и снижение продукции IL-12. Причиной недостаточности Th1-иммунного ответа может быть снижение функциональной активности T-регуляторных лимфоцитов (CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺, Tr1, Th3), что может быть причиной гиперактивации Th2-лимфоцитов. IL-4 играет существенную роль в развитии иммунного Th2/Th1-дисбаланса, превалирование Th2-иммунного ответа приводит к повышению продукции IgE-антител. Помимо IgE-опосредованных реакций в патогенезе пищевой аллергии важную роль могут играть не-IgE-опосредованные и клеточно-опосредованные реакции, ответственные за развитие различных клинических проявлений со стороны многих органов и систем организма [12]. Формирование клинических фенотипов пищевой аллергии может происходить с участием патофизиологических процессов на молекулярном уровне.

На сегодняшний день при выделении отдельных фенотипов пищевой аллергии следует остановиться на описании ее клинических проявлений, наиболее значимых триггерах (пищевые аллергены), а также ответе на проводимую стандартную терапию. Так, в отношении различия клинических проявлений пищевой аллергии выделяют кожный, гастроинтестинальный и респираторный фенотипы пищевой аллергии. У больных пищевой аллергией могут присутствовать несколько фенотипов, причем один фенотип может трансформироваться в другой.

Кожный фенотип пищевой аллергии может проявляться атопическим дерматитом, крапивницей, ангиоотеком. Атопический дерматит – наиболее частое проявление пищевой аллергии у детей первых 3 лет жизни. В этом возрасте характерно преобладание экссудативного компонента воспаления на коже. По мере взросления ребенка клиническая картина атопического дерматита меняется, преобладают пруригинозные и лихеноидные кожные проявления. При экспозиции пищевых аллергенов может развиваться крапивница и аллергические отеки (ангиоотек). Причиной развития кожного фенотипа пищевой аллергии являются коровье молоко, яйцо, рыба, морепродукты, пшеница, соя, арахис, орехи, морковь, свекла, тропические фрукты (киви, манго, авокадо, бананы), цитрусовые.

Гастроинтестинальный фенотип пищевой аллергии проявляется у детей периодической рвотой, болями в животе, рецидивирующей диареей. Могут наблюдаться потеря массы тела, кровь в стуле. У ряда больных отмечается оральный аллергический синдром, характеризующийся быстро возникающим зудом и отеком губ, иногда слизистой полости рта и задней стенки глотки. Вызывают любые пищевые продукты. Чаще всего коровье молоко, пшеница, рыба, морепродукты, соя.

Респираторный фенотип пищевой аллергии проявляется острым риноконъюнктивальным синдромом в виде зуда в носу, ринореей, чиханием, затрудненным носовым дыханием, признаками конъюнктивита, бронхиальной астмой. Вызывают яблоко, томат, морковь, свежие фрукты, овощи, арахис, рыба, морепродукты.

Наличие различных иммунологических механизмов, влияющих на развитие и течение пищевой аллергии, послужило поводом к выделению патогенетических фенотипов. На сегодняшний день известны основные механизмы развития, лежащие в основе пищевой аллергии. Это IgE-, не IgE- и клеточно-опосредованные механизмы (табл. 1).

Потенциальные триггеры (пищевые аллергены) и сопутствующие состояния обуславливают особенности клинической картины и течения пищевой аллергии. Пищевая аллергия возникает при употреблении самых разнообразных пищевых продуктов, среди которых выделяют пищевые аллергены животного происхождения [коровье молоко и молоко других домашних животных; яйцо кур и других птиц; рыба, ракообразные (раки, крабы, креветки) и другие продукты моря] и пищевые аллергены растительного происхождения [злаки (пшеница, ячмень, рожь, овес, кукуруза, сорго, просо, рис); зонтичные культуры (морковь, сельдерей, петрушка, укроп); пасленовые культуры (томат, картофель, перец, баклажан, кофе); фрукты (киви, банан, мандарины, апельсины, лимон, яблоко, персик) и ягоды (земляника, клубника, арбуз); растения семейства крестоцветных (капуста, редька, редис, репа, горчица, хрен); бобовые (арахис, соевые бобы, зеленый горошек); орехи (лесной орех, каштан, кокос)]. В отношении времени появления пищевой аллергии, продолжительности и тяжести течения следует выделять пищевую аллергию у детей раннего возраста и у детей старшего возраста. Отмечается определенная возрастная последовательность к аллергии на пищевые продукты. Так, у детей первых лет жизни ведущей причиной пищевой аллергии являются белки коровьего молока, глютен злаковых продуктов, яйцо, соя, ряд овощей и фруктов. В старшем возрасте существенна роль в обострении пищевой аллергии орехов, морепродуктов, пряностей, специй и др. [8, 9]. Очень важно на этапе диагностики пищевой аллергии установить индивидуальный причинно-значимый пищевой аллерген или аллергенные фракции этого продукта, ответственные за манифестацию аллергических симптомов (табл. 2).

Таблица 1. Фенотипы пищевой аллергии с учетом клинических проявлений и механизмов развития пищевой аллергии

Фенотипы	Кожные	Гастроинтестинальные	Респираторные
IgE-опосредованные	Крапивница, ангиоотек, атопический дерматит	Оральный аллергический синдром, гастроинтестинальная анафилаксия	Острый риноконъюнктивальный синдром, бронхиальная астма
Не IgE-опосредованные	Атопический дерматит	Аллергический эозинофильный эзофагит, гастроэнтерит	Бронхиальная астма
Клеточно-опосредованные	Контактный дерматит, герпетиформный дерматит Дюринга	Энтероколит, проктоколит, энтеропатия	Синдром Хейнера

Таблица 2. Пищевые аллергены и их аллергенные фракции, наиболее часто вызывающие клинические проявления пищевой аллергии

Пищевой аллерген	Аллергенная фракция
Коровье молоко	Казеины, сывороточные белки
Куриное яйцо	Овомукоид, овальбумин, оватрансферрин
Арахис	Вицилин, конгютин, глицинин
Чечевица	Вицилин
Соя	Глицинин, профилин, ингибитор трипсина
Креветки	Тропомиозин
Рыба	Парвальбумины

Составление индивидуальных элиминационных диет с учетом возраста ребенка и определения аллергенспецифических IgE-антител в сыворотке крови не только к цельному пищевому белку, но и к его аллергенным фракциям всегда более оправданно, чем эмпирическое исключение пищевого продукта из рациона питания.

Следует отметить, что перекрестная аллергия – реакции на пищевые продукты у больных пыльцевой или грибковой аллергией – является дополнительным фактором, модифицирующим фенотип пищевой аллергии. При пыльцевой аллергии (поллинозе) симптомы могут возникать при употреблении в пищу плодов или других частей растений-аллергенов, а также других продуктов, содержащих общие антигенные детерминанты. У пациентов с грибковой аллергией симптомы аллергии могут возникать при употреблении продуктов, подвергавшихся грибковой ферментации в период изготовления. В настоящее время выделены и изучены группы и семейства растительных аллергенов, играющих важную роль в формировании пере-

крестных реакций. К ним относятся **PR-белки**, или «белки защиты», а также запасные белки; 2S-альбумины; тиоловые протеазы; ингибиторы протеаз [13–15]. **PR-белки** – это белки с низкой молекулярной массой. Они синтезируются в растениях под воздействием стрессовых ситуаций, таких как инфекция, ультрафиолетовое облучение, неблагоприятные метеорологические условия, некоторые химические вещества, механические повреждения. В пыльце или плодах некоторых растений кумуляция этих белков особенно высока. Их можно сравнить с белками острой фазы у млекопитающих; они обеспечивают первую фазу защиты растений от инфекций и других раздражителей. **PR-белки** классифицируются на 14 различных групп, среди которых 8 обладают аллергенной активностью. В процессе формирования перекрестных реакций наиболее значимыми являются белки защиты 2, 3, 4, 5, 10 и 14-й групп (табл. 3).

К **PR 2-го** типа относятся β -1,3-глюканазы, действие которых направлено на разрушение клеточной стенки грибов (защита от плесневых грибов). Один из таких ферментов, обладающий выраженной сенсибилизирующей активностью, был выделен из натурального латекса, полученного из дерева гевеи бразильской (*Hevea brasiliensis* – основной источник натурального каучука), и охарактеризован как один из аллергенов латекса Hev b 2. Гомологичные ему пептиды содержат многие фрукты и овощи, особенно авокадо, бананы, киви, фиги, каштаны, томаты и картофель. Они ответственны за развитие «фруктово-латексного синдрома».

PR 3-го типа являются преимущественно хитиназами I класса. Они обладают способностью расщеплять хитин – основной структурный элемент экзоскелета насекомых и клеточной стенки большинства грибов (противогрибковая защита).

Таблица 3. Аллергены, относящиеся к PR-белкам (белкам защиты)

Семейство	Обозначение	Источник	Аллерген
PR-2	Класс I, II и III эндо- β -1,3-глюканазы, 25–35 кД	Латекс, банан, томат, картофель, киви	Hev b 2
PR-3	Класс I, II, IV, V, VI и VII эндохитиназы, около 30 кД	Авокадо, латекс, каштан, банан	Pers a 1, Hev b 11, Cas s 5
PR-4	Хитиназы	Латекс, репа, картофель	Hev b 6
PR-5	Тауматин-подобные белки, осмотины, зеаматины, пермеатины	Вишня, яблоко, черный перец, горный кедр	Pru av 2, Mal d 2, Cap a 1, Jun a 3
PR-8	Класс III хитиназа	Латекс, огурец	Hevamine
PR-10	Рибонуклеазы, Bet v 1 гомологи, 14–17 кД	Береза, орешник, ольха, граб, каштан, яблоко, сельдерей, вишня, персик, абрикос, груша, морковь, томат, петрушка	Bet v 1, Cor a 1, Aln g 1, Car b 1, Cas s 1, Mal d 1, Api g 1, Pru av 1, Pru p 1, Pru ar 1, Pyr c 1, Dau c 1, STH-2, PcPR-1
PR-14	Трансфер-фактор липидов (TFL)	Персик, яблоко, соевый боб, абрикос, слива, вишня, ячмень, латекс, каштан, лесной орех, грецкий орех, полынь, амброзия, спаржа, виноград, кукуруза, олива	Pru p 3, Mal d 3, Gly m 1, Pru av 3, Art v 3, Amb a 6, Par j 1,2, Cas s 8, Cor a 8, Jug r 1, Aspa o 1, Vit

К хитин-связывающим белкам относятся аллергены латекса – прогевеин (Hev b 6.01) и гевеин (Hev b 6.02), а также главный аллерген авокадо (Pres a 1), аллергены банана и каштана, которые могут вызывать фруктово-латексный синдром.

К PR 4-го типа относятся хитиназы, содержащиеся в латексе (Hev b), картофеле и репе. Основная функция этих хитиназ – защита от раневых повреждений.

PR 5-го типа содержатся во фруктах кустарника растения из рода *Thaumatococcus daniellii* (природный источник тауматина). Впервые были выделены из яблок (Mal d 2). Они могут вызывать перекрестные реакции с вишней, яблоком, черным перцем и горным кедром. Основная функция PR-5 белка – противогрибковая защита, защита от засухи, заморозков.

PR 8-й группы – это хитиназы III класса. Содержат латексный минорный аллерген – гевамин.

Аллергия к фруктам, овощам и орехам часто сочетается с сенсibilизацией к пыльце березы. Bet v 1 относится к PR 10-го типа и является основным аллергеном пыльцы березы. Гомологичные ему белки представлены в большинстве цветущих растений: Cog a 1 – главный аллерген пыльцы орешника, Mal d 1 – главный аллерген яблока, аллергены вишни – Pru av 1 абрикоса – Pru ar 1, груши – Pyc s 1, сельдерея – Api g 1, моркови – Dau c 1. Гомологичные Bet v 1 белки также обнаружены в петрушке и картофеле. Гомологи аллергена березы Bet v 1 составляют основу перекрестных реакций при развитии пищевой аллергии у больных с сенсibilизацией к пыльце деревьев.

PR 14-го типа – полипептиды с молекулярной массой 9 кД, состоящие из 90–95 аминокислотных остатков, устойчивые к действию протеаз. Они относятся к трансфер-факторам липидов (ТФЛ, lipid transfer proteins – LTP), и их биологическая функция состоит в переносе фосфолипидов из липосом в митохондрии. Они обладают противомикробной и антифунгальной активностью. Аллергены плодов розоцветных растений (Pru p 3 персика, Pru ar 3 абрикоса и Mal d 3 яблока) представляют собой ТФЛ. IgE-антитела к ТФЛ обнаружены у больных, имеющих аллергические реакции на названные фрукты, но несенсибилизированных к пыльцевым аллергенам

К аллергенным белкам, вызывающим перекрестные реакции, относятся также **профилины**. Они являются низкомолекулярными белками и встречаются во всех растительных клетках. Играют важную роль в развитии березо-полынь-фруктово-овощного синдрома. Присутствие профилина в пыльце и в пище является одной из причин перекрестной реактивности к различным овощам у пациентов с аллергией на пыльцу. Профилин в латексе, который вызывает **латекс-фруктовый синдром**, также официально называется аллергеном латекса Hev b 8.

Профилины могут быть причиной тяжелых анафилактических реакций на арахис и сою.

Составление персонализированной диетотерапии с учетом выявленных индивидуальных причинно-значимых пищевых аллергенов, степени выраженности пищевой сенсibilизации (от + до ++++), наличия перекрестной реактивности с другими аллергенами существенно повышает эффективность лечения и повышает качество жизни больного, устраняя те неудобства, которые он испытывает при соблюдении строгой элиминационной диеты. Так, устранение какого-либо пищевого продукта и его замещение другим продуктом той же калорийности и с таким же содержанием белка обычно не представляет трудностей. Например, если пищевая аллергия развивается на редко употребляемые пищевые продукты (землянику, клубнику, шоколад, крабы и т.п.), элиминация может быть признана единственным эффективным методом лечения. Если спектр аллергенов выявлен полностью, элиминационной диетой удается поддерживать удовлетворительное состояние больного без дополнительной терапии. Исключение из рациона таких важных продуктов, как молоко, мясо, картофель и злаки, должно быть достаточно обоснованным (только при четкой доказанной связи «прием–реакция»). Элиминация требует исключения из рациона не только конкретного пищевого продукта-аллергена, но и любых других, в состав которых он входит даже в следовых количествах.

В ходе соблюдения элиминационной диеты следует учитывать возрастные потребности ребенка в энергии и микронутриентах. При этом рацион питания должен содержать минимум продуктов с высоким аллергенным потенциалом; пищевые продукты для снижения аллергенной активности необходимо подвергать тщательной кулинарной обработке; исключать экстрактивные вещества, острые приправы, соленые блюда, бульоны; ограничить потребление моно- и дисахаридов. При назначении продуктов и блюд прикорма следует подбирать продукты с относительно низкой аллергенностью, последовательно включать в рацион питания от монокомпонентных до многокомпонентных.

Что касается такого патогенетического лечения, как аллергенспецифическая иммунотерапия, она пока не нашла широкого применения в клинической практике. Были предложены различные методы проведения такого вида иммунотерапии: пероральный, подкожный и др., но вопрос о ее целесообразности при пищевой аллергии требует дальнейшего изучения.

Таким образом, выделение фенотипов пищевой аллергии у детей имеет огромную практическую значимость для выбора эффективной терапии, предупреждающей развитие резистентных к традиционному лечению некоторых клинических ее проявлений, снижающей формирование тяжелого течения и частоту обострений болезни.

Сведения об авторах

ФГБНУ «НИИ питания» (Москва):

Ревакина Вера Афанасьевна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделением аллергологии

E-mail: 5356797@mail.ru

Ларькова Инна Анатольевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения аллергологии

E-mail: inna_larkova@mail.ru

Кувшинова Елена Дмитриевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения аллергологии

E-mail: len.kuwshinowa@yandex.ru

Шавкина Мария Игоревна – младший научный сотрудник отделения аллергологии

E-mail: kostowka@yandex.ru

Мухортых Валерий Алексеевич – аспирант отделения аллергологии

E-mail: Valera-89@ yandex.ru

Литература

1. Ларькова И.А., Ревакина В.А. Проблема пищевой аллергии и элиминационных диет у детей // *Вопр. питания*. 2015. Т. 84, № 5. С. 49–50.
2. Flanagan S. Handbook of food allergy detection and control. Cambridge : Woodhead Publishing, 2014. 21 p.
3. Батуринов А.К., Сорокина Е.Ю., Погожева А.В., Тутельян В.А. Генетические подходы к персонализации питания // *Вопр. питания*. 2012. Т. 81, № 6. С. 4–11.
4. Wenzel S.E. Phenotypes and endotypes: emerging concepts on asthma heterogeneity // *Global Atlas of Asthma*. Zurich : EAACI, 2013. P. 34–35. URL: www.eaaci.org.
5. Wenzel S.E. Asthma phenotypes: the evolution from clinical to molecular approaches // *Nat. Med.* 2012. Vol. 18. P. 716–725.
6. Anandan C., Gupta R., Simpson R., Fischbacher C. et al. Epidemiology and disease burden from allergic disease in Scotland; analyses of national databases // *J. R. Soc. Med.* 2009. Vol. 102. P. 431–442.
7. Burks A.W., Tang M., Sicher S., Murraro A. et al. ICIN; food allergy // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2012. Vol. 129. P. 906–920.
8. Пищевая аллергия у детей / под ред. И.И. Балаболкина, В.А. Ревакиной. М. : Династия, 2010. 190 с.
9. Лусс Л.В. Пищевая аллергия и пищевая непереносимость. Возможности эффективного лечения и профилактики у детей и взрослых. М. : Фармус Принт Медиа, 2007. 46 с.
10. Allen J.K., Koplin J.J. The epidemiology of IgE-mediated food allergy and anaphylaxis // *Immunol. Allergy Clin. North Am.* 2012. Vol. 32. P. 35–50.
11. Roehr C.C., Edenharter G., Reimann S., Ehlers I. et al. Food allergy and non-allergic food hypersensitivity in children and adolescents // *Clin. Exp. Allergy*. 2004. Vol. 34. P. 1534–1541.
12. Muraro A., Roberts G. Food allergy and anaphylaxis guidelines. Zurich : EAACI, 2014. P. 276. URL: www.eaaci.org.
13. Van Loon L.C., Pierpoint W.S., Boiler T. et al. Recommendations for naming plant pathogenesis-related proteins // *Plant Mol. Biol. Rep.* 1994. Vol. 12. P. 245–264.
14. Van Loon L.C., Van Strien E.A. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 types proteins // *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 1999. Vol. 55. P. 85–97.
15. Radauer C., Bublin M., Wagner S., Mari A. et al. Allergens are distributed into few protein families and possess a restricted number of biochemical functions // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2008. Vol. 121. P. 847–852.

References

1. Larkova I.A., Revyakina V.A., The problem of food allergies and elimination diets in children. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 2015; Vol. 84 (5): 49–50. (in Russian)
2. Flanagan S. Handbook of food allergy detection and control. Cambridge : Woodhead Publishing, 2014: 21 p.
3. Baturin A.K., Sorokina E.Yu., Pogozeva A.V., Tutelyan V.A. Genetic approaches to nutrition personalization. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 2012; Vol. 81 (6): 4–11. (in Russian)
4. Wenzel S.E. Phenotypes and endotypes: emerging concepts on asthma heterogeneity. In: *Global Atlas of Asthma*. Zurich : EAACI, 2013: 34–5. URL: www.eaaci.org.
5. Wenzel S.E. Asthma phenotypes: the evolution from clinical to molecular approaches. *Nat Med.* 2012; Vol. 18: 716–25.
6. Anandan C., Gupta R., Simpson R., Fischbacher C., et al. Epidemiology and disease burden from allergic disease in Scotland; analyses of national databases. *J R Soc Med.* 2009; Vol. 102: 431–42.
7. Burks A.W., Tang M., Sicher S., Murraro A., et al. ICIN; food allergy. *J Allergy Clin Immunol.* 2012; Vol. 129: 906–20.
8. Food allergy in children / eds I.I. Balabolkin, V.A. Revyakina. Moscow : Dinastiya, 2010: 190 p. (in Russian)
9. Luss L.V. Food Allergy and food intolerance. Possibility of effective treatment and prevention in children and adults. Moscow : Varmus Print Media, 2007: 46 p. (in Russian)
10. Allen J.K., Koplin J.J. The epidemiology of IgE-mediated food allergy and anaphylaxis. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2012; Vol. 32: 35–50.
11. Roehr C.C., Edenharter G., Reimann S., Ehlers I., et al. Food allergy and non-allergic food hypersensitivity in children and adolescents. *Clin Exp Allergy.* 2004; Vol. 34: 1534–1541.
12. Muraro A., Roberts G. Food allergy and anaphylaxis guidelines. Zurich : EAACI, 2014: 276. URL: www.eaaci.org.
13. Van Loon L.C., Pierpoint W.S., Boiler T., et al. Recommendations for naming plant pathogenesis-related proteins. *Plant Mol Biol Rep.* 1994; Vol. 12: 245–64.
14. Van Loon L.C., Van Strien E.A. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 types proteins. *Physiol Mol Plant Pathol.* 1999; Vol. 55: 85–97.
15. Radauer C., Bublin M., Wagner S., Mari A., et al. Allergens are distributed into few protein families and possess a restricted number of biochemical functions. *J Allergy Clin Immunol.* 2008; Vol. 121: 847–52.

Для корреспонденции

Зорин Сергей Николаевич – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов ФГБНУ «НИИ питания»
 Адрес: 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14
 Телефон: (495) 698-53-71
 E-mail: zorin@ion.ru

С.Н. Зорин¹, Ю.С. Сидорова¹, А.П. Плетень², В.К. Мазо¹

Комплексы меди, марганца и хрома с ферментативным гидролизатом селезенки свиньи: исследование *in vitro*

The complexes of copper, manganese and chromium with enzymatic hydrolysate of pig spleen: research *in vitro*

S.N. Zorin¹, Yu.S. Sidorova¹, A.P. Pleten², V.K. Mazo¹

¹ ФГБНУ «НИИ питания», Москва

² ФГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России

¹ Institute of Nutrition, Moscow

² Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A.I. Evdokimov

Описано получение и приведены результаты физико-химического анализа комплексов ферментативного гидролизата селезенки свиньи (ФГСС) с эссенциальными микроэлементами антиоксидантного действия – марганцем, медью, хромом. Комплексы получали с использованием схем, которые включают реакцию комплексообразования неорганических катионов с пептидными структурами ФГСС и мембранные технологии. Микрофльтрацию полученных смесей проводили в тангенциальном потоке и собирали низкомолекулярные фракции. Растворы комплексов меди и марганца с ФГСС подвергали нанофльтрации для удаления из реакционной смеси не связанных с пептидной матрицей неорганических ионов. Полученные препараты лиофильно высушивали и анализировали молекулярно-массовое распределение белково-пептидных фракций в составе Cu-ФГСС, Mn-ФГСС и Cr-ФГСС методом эксклюзионной жидкостной хроматографии среднего давления. Процентное соотношение фракций с определенными интервалами молекулярных масс рассчитывали, применяя весовое интегрирование хроматограмм. Определение в составе комплексов содержания меди, марганца и хрома осуществляли атомно-абсорбционным методом. Содержание микроэлементов в полученных препаратах составило для меди 16,5±0,3 мг/г, марганца – 24,9±0,5 мг/г и хрома – 2,5±0,2 мг/г.

Ключевые слова: эссенциальные микроэлементы, ферментативный гидролизат селезенки свиньи, мембранные технологии, комплексообразование

This report describes the preparation and the results of physical and chemical analysis of complexes of enzymatic hydrolysate of pig spleen (EHPS) with

manganese, copper and chromium. The complexes were prepared using schemes including the reaction of complexation of inorganic cations with EHPS-peptides structures and application of membrane technology. The process of microfiltration of the resulting mixtures was carried out in tangential flow and low molecular weight fractions were collected. Solutions of copper and manganese complexes with EHPS were subjected to nanofiltration to remove inorganic ions from the reaction mixture. The obtained preparations were lyophilic dried and the molecular weight distribution of the protein fractions in Cu-EHPS, Mn-EHPS and Cr-EHPS complexes was analyzed by exclusion medium pressure liquid chromatography. The percentage relation of fractions with specific molecular weight range was calculated by applying the weighted integration of chromatograms. The determination of copper, manganese and chromium levels in the complexes was performed by atomic absorption method. The content of microelements in the preparations is for copper 16.5 ± 0.3 mg/g, for manganese – 24.9 ± 0.5 mg/g and for chromium – 2.5 ± 0.2 mg/g.

Keywords: essential microelements, enzymatic hydrolysate of pig spleen, membrane technology, complexation

Недостаточная обеспеченность организма эссенциальными микроэлементами (ЭМ), относящимися к пищевым антиоксидантам (селеном, медью, цинком, марганцем), представляет фактор риска свободнорадикальной патологии, проявляющейся многочисленными болезнями и клиническими синдромами. Соответственно обогащение рациона ЭМ антиоксидантного действия является одним из факторов оптимизации питания и используется при производстве широкого спектра специализированных пищевых продуктов, преимущественно профилактического и лечебного назначения. Это обстоятельство определяет необходимость получения новых пищевых источников ЭМ, легко усвояемых организмом, эффективных и безопасных, которые могут быть использованы в качестве пищевых ингредиентов в специализированных продуктах и биологически активных добавках (БАД) к пище, отвечающих одновременно требованиям высокой эффективности и безопасности. Использование в качестве пищевых источников ЭМ их комплексов с ферментативными гидролизатами белков было продемонстрировано в ряде наших предыдущих статей [1–6]. В последней из этой серии публикаций нами были охарактеризованы в опытах *in vitro* и *in vivo* ферментолитат белков селезенки свиньи (ФГСС) и его комплекс с цинком [2]. В данном кратком сообщении описано получение и приведены физико-химические свойства комплексов ФГСС с другими ЭМ d-группы периодической таблицы Д.И. Менделеева: марганцем, медью, хромом.

Материал и методы

Исходный ФГСС был предоставлен ООО «Петрохим» (Москва) и охарактеризован физико-химическими методами. Суммарное содержание

частично расщепленных белков, пептидов и аминокислот (структуры с молекулярной массой менее 11,3 кД) составило около 75%. Около $1/3$ части от этого количества составила фракция аминокислот и пептидов с молекулярной массой менее 2,4 кД. Содержание золы и влаги в ФГСС составляло соответственно 10 и 5%.

Комплексы ФГСС с ЭМ получали согласно ранее разработанным и апробированным схемам [2], смешивая 25% водные растворы $\text{CuCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ и 10% водный раствор $\text{CrCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$ с водным раствором ФГСС. Весовые соотношения (в пересчете на массы сухих веществ) составили: $1/_{10}$ для $\text{CuCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}/\text{ФГСС}$ и $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}/\text{ФГСС}$, $1/_{99}$ для $\text{CrCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}/\text{ФГСС}$. Реакции комплексообразования проводили согласно [7] при pH реакционной среды 7,0–7,1 в течение 1 ч при комнатной температуре и постоянном перемешивании. Затем осуществляли микрофильтрацию полученной смеси в тангенциальном потоке на установке «Минитан» («Millipore», США; мембрана 0,65 мкм) и собирали низкомолекулярные фракции. Растворы комплексов меди и марганца с ФГСС подвергали наночистотации на лабораторной наночистотационной установке («Владисарт», РФ). Полученные препараты лиофильно высушивали на сублимационной сушке ЛС-500 («ПРОИНТЕХ», РФ). Анализ молекулярно-массового распределения белково-пептидных фракций в составе Cu-ФГСС, Mn-ФГСС и Cr-ФГСС проводили методом эксклюзионной жидкостной хроматографии среднего давления на колонке «Супероза 12» (1,6×50 см) («Pharmacia», Швеция) [7]. Процентное соотношение фракций с определенными интервалами молекулярных масс рассчитывали, применяя весовое интегрирование хроматограмм. Определение в составе комплексов содержания меди, марганца и хрома осуществляли атомно-абсорбционным методом [8].

Молекулярно-массовое распределение пептидных фракций в комплексах меди, марганца и хрома с ферментоллизатом белков селезенки свиньи

№ фракции	Диапазон молекулярных масс, кД	Комплексы эссенциальных микроэлементов с ферментоллизатом белков селезенки свиньи					
		исходный ФГСС	Си-ФГСС (до нанофильтрации)	Си-ФГСС (после нанофильтрации)	Мп-ФГСС (до нанофильтрации)	Мп-ФГСС (после нанофильтрации)	Cr-ФГСС (до нанофильтрации)
1	> 46,5	1,8	1,4	0,9	0,5	0,8	3,3
2	46,5–21,1	4,1	3,7	4,4	3,4	4,9	3,7
3	21,1–11,3	19,2	18,2	24,6	17,7	24,6	18,7
4	11,3–5,9	26,3	28,8	36,2	33,3	34,5	25,7
5	5,9–2,4	21,3	21,1	21,6	18,9	18,2	18,6
6	<2,4	27,3	26,8	12,3	26,2	17,0	30,0

Результаты и обсуждение

В таблице представлено распределение фракций, отвечающих определенным интервалам молекулярных масс в составе полученных комплексов. Высокое содержание в составе этих комплексов свободных аминокислот, коротко- и среднецепочечных пептидов способствует эффективному комплексованию ЭМ. Чтобы исключить возможные остаточные количества неорганических солей меди и марганца, использовали нанофильтрацию. Ее использование снижает относительное содержание в препаратах низкомолекулярных структур. При этом практически полностью удаляются из конечного продукта не связанные с пептидной матрицей неорганические ионы [4]. Следует отметить, что чрезмерно высокое содержание низкомолекулярных пептидов и свободных аминокислот может негативно влиять на органолептические свойства комплекса как пищевого ингредиента, придавая ему горький вкус. Для комплексов хрома с белковым ферментоллизатом стадию нанофильтрации не применяли, поскольку использованное соотношение $1/99$ для $\text{CrCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}/\text{ФГСС}$ априори обеспечивает очень высокую степень связывания хрома.

Содержание меди в комплексах Си-ФГСС без нанофильтрации и после нанофильтрации составило соответственно $20,7 \pm 0,4$ и $16,5 \pm 0,3$ мг/г, марганца в комплексах Мп-ФГСС без нанофильтрации – $22,4 \pm 0,4$ мг/г и после нанофильтрации – $24,9 \pm 0,5$ мг/г, содержание хрома в составе Cr-ФГСС – $2,5 \pm 0,2$ мг/г.

Таким образом, нами получены и физико-химически охарактеризованы комплексы, представляющие органические формы марганца, меди и хрома. Представленные результаты подтверждают эффективность использования биотехнологического подхода для получения новых пищевых источников указанных ЭМ в органической форме. Они свидетельствуют, что наряду с биотехнологическими процессами культивирования биомассы простейших микроорганизмов в средах, обогащенных неорганическими соединениями переходных металлов, для широкомасштабного получения новых пищевых источников этих микроэлементов в органически связанной форме может быть эффективно использована их способность к комплексообразованию со свободными аминокислотами и пептидами, входящими в состав ферментативных гидролизатов пищевых белков. Использование современных ферментных препаратов и мембранных технологий позволяет получать гидролизаты пищевых белков с заданными физико-химическими свойствами и их комплексы с ЭМ. Очевидны перспективы использования последних в качестве пищевых источников вышеперечисленных ЭМ. Расширение ассортимента на основе недорогого животного сырья (селезенки свиньи) пищевых источников ЭМ актуально в плане стоящей перед отечественной пищевой промышленностью проблемы замещения импортных специализированных пищевых продуктов и БАД к пище, используемых для профилактики и/или коррекции микроэлементной недостаточности.

Сведения об авторах

Зорин Сергей Николаевич – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов ФГБНУ «НИИ питания» (Москва)

E-mail: zorin@ion.ru

Сидорова Юлия Сергеевна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов ФГБНУ «НИИ питания» (Москва)

E-mail: sidorovaulia28@mail.ru

Плетень Анатолий Петрович – доктор биологических наук, профессор кафедры биологической химии ФГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России

E-mail: Pleatol@mail.ru

Мазо Владимир Кимович – доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов ФГБНУ «НИИ питания» (Москва)

E-mail: mazo@ion.ru

Литература

1. Баяржаргал М., Зилова И.С., Зорин С.Н., Гмошинский И.В. и др. Сравнительная оценка биодоступности органической и неорганической форм цинка in vivo // *Вопр. питания*. 2008. Т. 77, № 1. С. 34–37.
2. Зорин С.Н. Ферментативные гидролизаты пищевых белков и органические комплексы эссенциальных микроэлементов на их основе // *Вопр. питания*. 2009. Т. 78. № 6. С. 60–66.
3. Зорин С.Н., Баяржаргал М., Гмошинский И.В., Мазо В.К. Комплексная оценка органических форм эссенциальных микроэлементов цинка, меди, марганца и хрома в опытах in vitro и in vivo // *Вопр. питания*. 2007. Т. 76. № 5. С. 74–79.
4. Зорин С.Н. Получение и физико-химическая характеристика комплексов эссенциальных микроэлементов (цинк, медь, марганец, хром) с ферментативными гидролизатами пищевых белков // *Микроэлементы в медицине*. 2007. Т. 8, вып. 1. С. 53–55.
5. Мазо В.К., Зорин С.Н., Баяржаргал М., Гмошинский И.В. и др. Новые пищевые источники эссенциальных микроэлементов. Сообщение 6. Получение и физико-химическая характеристика новых пищевых источников цинка, меди, марганца, хрома и селена // *Вопр. дет. диетологии*. 2005. Т. 3. № 5. С. 19–21.
6. Мазо В.К., Зорин С.Н., Гмошинский И.В. Новые пищевые источники эссенциальных микроэлементов. Сообщение 3. Влияние комплексов эссенциальных микроэлементов с ферментативными гидролизатами сывороточных белков коровьего молока на степень сенсибилизации и протекание реакции анафилаксии у лабораторных животных // *Вопр. дет. диетологии*. 2004. Т. 2. № 4. С. 12–14.
7. Зорин С.Н., Сидорова Ю.С., Зилова И.С., Мазо В.К. Комплекс цинка с ферментализатом белка селезенки свиньи – исследование in vivo // *Вопр. питания*. 2014. Т. 83. № 5. С. 58–63.
8. Руководство по методам анализа качества и безопасности пищевых продуктов / под ред. И.М. Скурихина, В.А. Тутельяна. М. : Брандес-медицина, 1998. С. 183–185.

References

1. Bayarzhargal M., Zilova I.S., Zorin S.N., Gmshinsky I.V. et al. Comparative evaluation of zinc organic and inorganic form bioavailability in vivo. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2008; Vol. 77 (1): 34–7. (in Russian)
2. Zorin S.N. Enzymatic hydrolyzats food proteins and organic complexes essential trace elements on their basis. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2009; Vol. 78 (6): 60–6. (in Russian)
3. Zorin S.N., Bayarzhargal M., Gmshinsky I.V., Mazo V.K. Multipurpose assessment of organic forms of essential trace elements: zinc, copper, manganese, chromium in vitro and in vivo experiments. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2007; Vol. 76 (5): 74–9. (in Russian)
4. Zorin S.N. Preparation and physicochemical analysis of complexes of essential microelements (zinc, copper, manganese, chromium) with enzymatic hydrolysate of food proteins. [*Microelements in Medicine*]. 2007; Vol. 8 (1): 53–5.
5. Mazo V.K., Zorin S.N., Bayardgargal M., Gmshinsky I.V., et al. New food sources of essential trace elements. Communication 6: Isolation and physicochemical characteristic of new food sources of zinc, cuprum, manganese, chromium and selenium. *Voprosy detskoii dietologii Pediatric Nutrition*. 2005; Vol. 3 (5): 19–21.
6. Mazo V.K., Zorin S.N., Gmshinsky I.V. New food sources of the essential trace elements (Report 3: Influence of essential trace elements complexes with enzymic hydrolyzate of serum peptides of cow's milk on the sensitization degree and passing of anaphylactic reaction in laboratory animals). *Voprosy detskoii dietologii Pediatric Nutrition*. 2004; Vol. 2 (4): 12–4.
7. Zorin S.N., Sidorova Yu.S., Zilova I.S., Mazo V.K. Complex of zinc with enzymatic hydrolysate of pig spleen protein – in vivo investigation. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2014; Vol. 83 (5): 58–63.
8. Guidance on methods of quality control and food safety / eds I.M. Skurikhin, V.A. Tutelian. Moscow : Brandes-medicina, 1998: 183–5.

Для корреспонденции

Блинникова Ольга Михайловна – кандидат технических наук, доцент, доцент кафедры торгового дела и товароведения ФГБОУ ВО «Мичуринский государственный аграрный университет»

Адрес: 393760, Тамбовская область, г. Мичуринск, ул. Интернациональная, д. 101
Телефон: (475-45) 9-45-03
E-mail: o.blinnikova@yandex.ru

О.М. Блинникова¹, Л.Г. Елисеева²

Обогащение ягод и плодов селеном и перспективы их использования в профилактическом питании

Enrichment of fruits and berries with selenium and prospects for their using in the preventive nutrition

O.M. Blinnikova¹, L.G. Eliseeva²

¹ ФГБОУ ВО «Мичуринский государственный аграрный университет»

² ФГБОУ ВО «Российский экономический университет им. Г.В. Плеханова», Москва

¹ Michurinsk State Agrarian University

² Plekhanov Russian University of Economics, Moscow

Исследован способ получения обогащенных селеном ягод и плодов. Объектами исследования были растения и ягоды жимолости съедобной сорта «зимородок», земляники садовой сорта «корона», актинидии коломикта сорта «сорока», плоды рябины обыкновенной сорта «сорбинка» и аронии черноплодной сорта «черноокая». Обогащение селеном ягод и плодов указанных культур проводили методом одно- и двукратной внекорневой обработки растений водным раствором селената натрия концентрацией 1, 2 и 3 мг/л во время формирования плодов и ягод. Повторную обработку проводили через 10 дней после первой. Установлено, что повторная обработка растений не способствует большому накоплению селена в ягодах и плодах по сравнению с однократной обработкой и является неэффективной. Обработка растений водным раствором с максимальной концентрацией селена – 3 мг/л оптимальна, она позволяет увеличить его содержание в жимолости в 5,2 раза; в землянике – в 3,9 раза; в актинидии – в 3 раза; в рябине и аронии – в 2,7 раза. Содержание селена (мкг/100 г) в обогащенных ягодах жимолости составило 32,3–35,2, земляники садовой – 11,7–13,1, актинидии коломикта – 3,5–4,1, плодах рябины обыкновенной – 4,6–5,1, аронии черноплодной – 2,8–3,2. Употребление в пищу обогащенных ягод и плодов будет способствовать профилактике дефицита селена в организме. Так, употребление 100 г ягод жимолости способствует покрытию суточной потребности в селене на 47,9–60,9%, земляники садовой – на 18,0–22,1%. Ягоды актинидии, плоды рябины и аронии удовлетворяют суточную потребность в селене на 4,3–8,7%.

Ключевые слова: селен, ягоды жимолости съедобной, земляники садовой, актинидии коломикта, плоды рябины обыкновенной, аронии черноплодной, внекорневая обработка, селенат натрия

The method of producing enriched with selenium berries and fruits has been investigated. The objects of research were plants and berries of edible honeysuckle variety Kingfisher, of garden strawberry variety Korona, of Actinidia kolomikta variety Soroka, the fruits of a field ash variety Sorbinka and the black chokeberry's fruits variety Chernookaya. Enrichment with the selenium of berries and fruits of these cultures has been performed by the method of single and double foliar treatment of plants with aqueous sodium selenate (concentration of 1.2 and 3 mg/l) during the formation of fruits and berries. Re-processing had been performed in 10 days after the first one. It was found out that the use of plants' re-processing didn't contribute to greater accumulation of selenium in berries and fruits, according to the single treatment, that's why it is inefficient. Using enrichment, providing the maximum concentration of selenium in the working solution – 3 mg/l is the most optimal to increase its content in the honeysuckle – by 5.2 fold; in the strawberry – by 3.9 fold; in Actinidia – 3 fold; in the field ash and black chokeberry's fruits – by 2.7 fold. The content of selenium ($\mu\text{g}/100\text{ g}$) in enriched berries of the honeysuckle was 32.3–35.2; the strawberry – 11.7–13.1; Actinidia kolomikta – 3.5–4.1; the fruits of the field ash ordinary – 4.6–5.1, Aronia – 2.8–3.2. Eating fortified fruit and berries will contribute to the prevention of selenium deficiency in the body. Thus, intake of 100 g honeysuckle's berries helps cover the daily requirement of selenium in 47.9–60.9%, the strawberry – in 18.0–22.9%, actinidia' berries, the field ash and black chokeberry's fruits – in 4.3–8.7%.

Keywords: selenium, edible honeysuckle's berries, strawberry, Actinidia kolomikta, the field ash fruits, Aronia, foliar treatment, sodium selenate

Селен относится к эссенциальным микроэлементам для человека. Это один из микроэлементов, участвующих в метаболических, биофизических и энергетических реакциях организма, обеспечивающих жизнеспособность и функции клеток, тканей, органов и организма человека в целом. Особенно важна роль селена для функциональной активности таких органов, как сердце, печень, почки и др. Селен – один из ключевых микроэлементов, обеспечивающих нормальное функционирование ферментативной антиоксидантной системы организма [1, 2], в сочетании с витаминами Е и А в значительной степени защищает организм от радиоактивного облучения. Селен снижает риск развития некоторых хронических заболеваний, болезней сердца, развития злокачественных и доброкачественных опухолей, регулирует работу щитовидной железы и укрепляет иммунную систему. Дефицит селена приводит к болезни Кашина–Бека (остеоартроз с множественной деформацией суставов, позвоночника и конечностей), болезни Кешана (эндемическая миокардиопатия), наследственной тромбастении [1, 3–5]. В связи с этим адекватная обеспеченность селеном очень важна для здоровья человека.

Суточное потребление селена из пищевых источников значительно различается в разных районах мира и колеблется в широких пределах: 8–11 мкг в отдельных провинциях КНР, 400–500 мкг

в Канаде, 500–600 мкг в некоторых штатах США. В России в большей части регионов этот показатель находится в пределах 39–67 мкг/сут. Согласно нормам физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения РФ, в организм здорового взрослого человека ежедневно должно поступать 50–75 мкг селена.

В Российской Федерации отмечаются крайне низкие уровни селена в почвах, воде и пищевых продуктах в Хабаровском и Приморском краях, Бурятии, Горном Алтае, Иркутской и Читинской областях. Концентрация селена в сыворотке крови взрослого населения вышеуказанных районов, при нормальном уровне 120 мкг/л, составляет 60–80 мкг/л [6–10]. Кроме того, для населения подавляющего большинства регионов России [Архангельской, Амурской, Ленинградской, Свердловской, Мурманской, Пермской, Псковской, Калужской, Челябинской, Новосибирской, Омской, Кемеровской, Тюменской, Брянской и Магаданской областей; республик Татарстан, Башкортостан, Коми, Марий Эл, Саха (Якутия) и др.] характерно содержание селена в крови в пределах 60–80% от величины физиологического оптимума [11–17]. В целом по России, согласно данным эпидемиологических исследований, проведенных в последнее время, более чем у 80% населения обеспеченность селеном ниже оптимальной [6–17]. Это обуславливает необходимость незамедли-

тельной коррекции селенового статуса во многих регионах нашей страны.

Обеспеченность населения селеном в первую очередь определяется питанием, так как в повседневной жизни селен поступает в организм человека в органической форме в составе пищи растительного и животного происхождения [18, 19]. Однако поступление селена в организм, как правило, недостаточно из-за дефицита его в пище и воде, поэтому актуальной становится задача повышения содержания в пищевых продуктах, в том числе плодах и ягодах, для рационализации питания и доставки в организм недостающих нутриентов, в том числе селена.

Целью исследований являлось изучение возможности обогащения селеном ягод и плодов различных культур способом внекорневой обработки растений во время формирования плодов и ягод.

Материал и методы

По результатам комплексной оценки ягод и плодов, выращенных в условиях Центрально-Черноземного региона России, проведенной по широкому перечню биохимических показателей, нами были выделены ценные ботанические сорта исследуемых культур отечественной и зарубежной селекции, обладающие высокой пищевой ценностью, с дифференцированным превалированием индивидуальных биологически активных соединений [20–25]. Это ягоды жимолости съедобной сорта «зимородок», земляники садовой сорта «корона», актинидии коломикта сорта «сорока», плоды рябины обыкновенной сорта «сорбинка» и аронии черноплодной сорта «черноокая».

Обогащение селеном ягод и плодов указанных культур проводили методом одно- и двукратной внекорневой обработки растений водным раствором селената натрия концентрацией 1, 2 и 3 мг/л во время формирования плодов и ягод. Повторную обработку проводили через 10 дней после первой. Сроки проведения первой обработки: первая декада мая – для жимолости съедобной, вторая декада мая – для земляники садовой, третья декада июня – для актинидии коломикта, первая декада июля – для рябины обыкновенной и аронии черноплодной. Приготовленным раствором опрыскивали листья растений. Опрыскивание проводили рано утром, в вечернее время или днем в пасмурную, но не дождливую погоду, чтобы раствор на листьях быстро не высыхал. Норма расхода рабочего раствора зависела от количества растений на 1 га и возраста насаждений и составила: 750 л/га – для земляники садовой, 1000 л/га – для жимолости съедобной и актинидии коломикта, 400 л на 100 деревьев – для аронии черноплодной

и рябины обыкновенной. Контрольные образцы опрыскивали дистиллированной водой.

Варианты опыта:

1-й вариант – однократная внекорневая обработка растений по зеленой ягоде водным раствором селената натрия концентрацией 1 мг/л;

2-й вариант – однократная внекорневая обработка растений по зеленой ягоде водным раствором селената натрия концентрацией 2 мг/л;

3-й вариант – однократная внекорневая обработка растений по зеленой ягоде водным раствором селената натрия концентрацией 3 мг/л;

4-й вариант – двукратная внекорневая обработка растений по зеленой ягоде с интервалом 10 дней водным раствором селената натрия концентрацией 1 мг/л;

5-й вариант – двукратная внекорневая обработка растений по зеленой ягоде с интервалом 10 дней водным раствором селената натрия концентрацией 2 мг/л;

6-й вариант – двукратная внекорневая обработка растений по зеленой ягоде с интервалом 10 дней водным раствором селената натрия концентрацией 3 мг/л;

контроль – однократная и двукратная внекорневая обработка растений по зеленой ягоде дистиллированной водой.

Исследования выполнены в 2011–2014 гг. на базе ФГБОУ ВО «Мичуринский государственный аграрный университет»; коллекционного участка отдела ягодных культур ГНУ ВНИИС им. И.В. Мичурина Россельхозакадемии (Тамбовская область, г. Мичуринск); плодоносящей плантации земляники садовой ООО «СНЕЖЕТОК» Первомайского района Тамбовской области.

Содержание селена в ягодах и плодах исследуемых культур определяли по МУК 4.1.033-95 [26].

Результаты и обсуждение

Согласно имеющимся в настоящее время данным, использование селенового микроудобрения Воценко для растений (ТУ 2189-006-36020918-99) методом внекорневой обработки позволило увеличить содержание селена в овощах в 2,5–4 раза [27]. В то же время внекорневая обработка ягодных кустарников крыжовника, красной и черной смородины раствором селенита натрия способствовала накоплению в ягодах селена соответственно в 5, 7 и 15 раз больше, чем в контрольных образцах [28].

Повышение содержания селена в растениях может быть достигнуто за счет двух аспектов: увеличение биодоступности селена почвы и внесение экзогенного селена. Для многократного повышения уровня селена в продукции растениеводства основным подходом считается использование эк-

зогенного селена [29, 30]. В табл. 1 представлены данные о содержании селена в ягодах и плодах исследуемых культур при использовании указанных вариантов обогащения.

В растениях вносимый микроэлемент биотрансформируется в органические производные селена [10, 31–35]. Количество селена в ягодах и плодах увеличивается в 1,5–5,2 раза по сравнению с природным содержанием. Увеличение концентрации селена в растворе, используемом для внекорневой обработки, способствует большему накоплению его в ягодах и плодах. Так, при однократной обработке раствором селената натрия с концентрацией 1 мг/л увеличение содержание селена составило 150,0–169,1% в зависимости от культуры, в то время как концентрация 3 мг/л способствовала повышению природного уровня селена в 2,5–5,2 раза. Наиболее отзывчивой культурой, способной максимально накапливать селен, является жимолость съедобная. В ее ягодах максимальное содержание селена в 5,2 раза больше, чем в контрольном образце. Земляника садовая также хорошо аккумулирует селен, увеличение содержания селена составило более 3,7 раза. В ягодах актинидии коломикта, а также плодах рябины обыкновенной и аронии черноплодной

увеличение содержания селена находилось примерно на одном уровне. При этом использование повторной обработки растений не способствовало большему накоплению селена по сравнению с однократной обработкой и является неэффективным. Содержание селена в исследуемых ягодах и плодах, при использовании 4, 5 и 6-го вариантов обработки, находилось примерно на том же уровне, что и при использовании соответственно 1, 2 и 3-го вариантов. Оптимальной концентрацией рабочего раствора является 3 мг/л, т.е. 3-й вариант опыта. В связи с этим дальнейшие исследования по возможности повышения природного содержания селена в ягодах и плодах проводили с использованием указанного варианта. В табл. 2 представлены результаты дальнейших исследований, полученные в 2012 и 2013 гг.

Полученные результаты полностью совпадают с ранее полученными данными и свидетельствуют о возможности повышения природного содержания селена. По способности накапливать селен по-прежнему ягоды жимолости съедобной и земляники садовой являются лидерами. В плодах аронии черноплодной, рябины обыкновенной и ягодах актинидии коломикта содержание селена также увеличивается, однако в несколько меньшей степени.

Таблица 1. Содержание селена в ягодах и плодах исследуемых культур при различных вариантах обогащения (по результатам 2011 г., $M \pm m$)

Образец	Содержание селена при различных вариантах обогащения, мкг/100 г (содержание селена, % к контролю)						
	контроль	1-й вариант	2-й вариант	3-й вариант	4-й вариант	5-й вариант	6-й вариант
Ягоды жимолости съедобной	6,8±0,1	11,5±0,1	23,9±0,1	35,2±0,1	11,7±0,1	24,3±0,1	34,8±0,1
	100,0	169,1	351,4	517,6	170,0	358,2	511,7
Ягоды земляники садовой	3,1±0,1	4,8±0,1	7,5±0,1	11,7±0,1	4,7±0,1	7,6±0,1	11,4±0,1
	100,0	154,8	241,9	377,4	151,6	245,1	367,7
Ягоды актинидии коломикта	1,2±0,1	1,8±0,1	2,6±0,1	3,5±0,1	1,9±0,1	2,5±0,1	3,5±0,1
	100,0	150,0	216,6	291,6	158,3	208,3	291,6
Плоды рябины обыкновенной	1,8±0,1	2,9±0,1	3,8±0,1	5,1±0,1	2,9±0,1	3,8±0,1	5,2±0,1
	100,0	161,1	211,1	283,3	161,1	211,1	288,8
Плоды аронии черноплодной	1,1±0,1	1,7±0,1	2,3±0,1	2,8±0,1	1,6±0,1	2,4±0,1	2,7±0,1
	100,0	154,5	209,1	254,5	145,4	218,1	254,4

Таблица 2. Содержание селена в плодах и ягодах исследуемых культур при использовании 3-го варианта обогащения ($M \pm m$)

Образец	Содержание селена					
	2012 г.			2013 г.		
	мкг/100 г		% к контролю	мкг/100 г		% к контролю
контроль	3-й вариант	контроль		3-й вариант		
Ягоды жимолости съедобной	6,2±0,1	32,3±0,1	520,9	6,5±0,1	32,9±0,1	506,2
Ягоды земляники садовой	3,3±0,1	13,1±0,1	396,9	3,4±0,1	13,0±0,1	382,4
Ягоды актинидии коломикта	1,3±0,1	3,9±0,1	300,0	1,4±0,1	4,1±0,1	292,9
Плоды рябины обыкновенной	1,7±0,1	4,6±0,1	270,6	1,8±0,1	4,7±0,1	261,1
Плоды аронии черноплодной	1,1±0,1	2,9±0,1	263,6	1,2±0,1	3,2±0,1	266,7

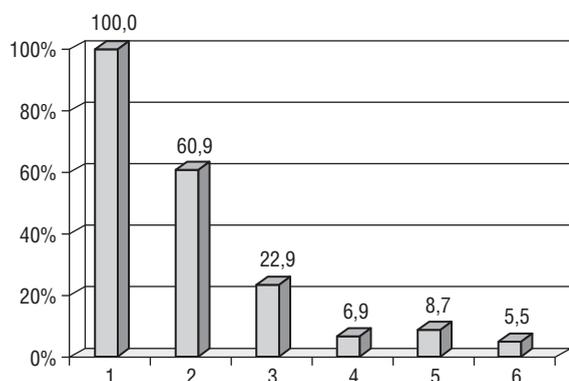


Рис. 1. Степень удовлетворения суточной потребности в селене для женщин за счет 100 г обогащенных ягод и плодов:

1 – суточная норма (55 мкг); 2 – ягоды жимолости; 3 – ягоды земляники; 4 – ягоды актинидии; 5 – плоды рябины; 6 – плоды аронии.

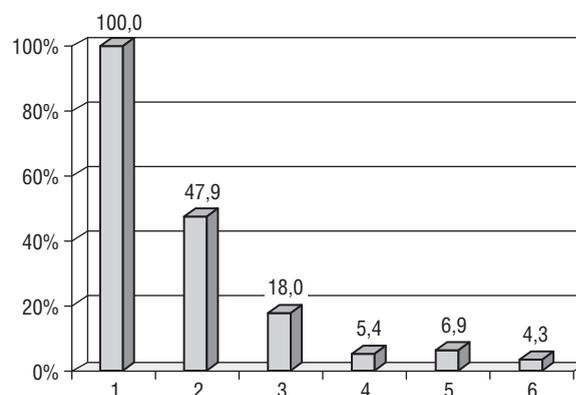


Рис. 2. Степень удовлетворения суточной потребности в селене для мужчин за счет 100 г обогащенных ягод и плодов:

1 – суточная норма (70 мкг); 2 – ягоды жимолости; 3 – ягоды земляники; 4 – ягоды актинидии; 5 – плоды рябины; 6 – плоды аронии.

Использование указанных ягод и плодов в питании, а также в производстве функциональных продуктов будет способствовать профилактике дефицита селена в организме [36]. На рис. 1 и 2 представлены данные об удовлетворении суточной потребности в селене для женщин и мужчин соответственно при употреблении 100 г обогащенных ягод и плодов исследуемых культур (по средним значениям за 3 года исследований).

Как видно на рис. 1 и 2, употребление 100 г ягод жимолости покрывает суточную потребность в селене примерно наполовину, земляники садовой – на 20%. Ягоды актинидии, плоды рябины и аронии удовлетворяют суточную потребность в селене на 4,3–8,7%.

Таким образом, указанный способ обогащения селеном предлагается применять как для традиционного, так и для нетрадиционного растительного сырья. Можно повысить содержание се-

лена в ягодах земляники садовой, жимолости съедобной, актинидии коломикта, плодах рябины обыкновенной и аронии черноплодной. При этом наиболее отзывчивой культурой является жимолость, наименее – арония. Использование 3-го варианта обогащения способом внекорневой обработки растений во время формирования ягод и плодов, предусматривающего максимальную концентрацию селена в рабочем растворе – 3 мг/л, позволяет увеличить его содержание в жимолости в 5,2 раза; в землянике – в 3,9 раза; в актинидии – в 3 раза; в рябине и аронии – в 2,7 раза. Употребление в пищу обогащенных ягод жимолости и земляники садовой будет способствовать профилактике дефицита селена в организме. Высокое содержание микроэлемента в указанных ягодах, а также их богатый химический состав свидетельствуют о перспективности их использования при производстве новых функциональных продуктов.

Сведения об авторах

Блиникова Ольга Михайловна – кандидат технических наук, доцент, доцент кафедры торгового дела и товароведения ФГБОУ ВО «Мичуринский государственный аграрный университет»

E-mail: o.blinnikova@yandex.ru

Елисеева Людмила Геннадьевна – доктор технических наук, профессор, заведующая кафедрой товароведения и товарной экспертизы ФГБОУ ВО «Российский экономический университет им. Г.В. Плеханова» (Москва)

E-mail: eliseeva-reu@mail.ru

Литература

1. Гмошинский И.В., Мазо В.К. Селен в питании: краткий обзор // *Альтернативная медицина (Medicina Altera)*. 1999. № 4. С. 18–22.
2. Тутельян В.А., Спиричев В.Б. и др. *Микронутриенты в питании здорового и больного человека*. М.: Колос, 2002. 424 с.
3. Вощенко А.В., Дремина Г.А. *Селен, здоровье, человек*. Чита: Забтранс, 1996. 15 с.
4. Гмошинский И.В., Мазо В.К. Минеральные вещества в питании человека. Селен: всасывание и биодоступность // *Вопр. питания*. 2006. № 5. С. 15–21.

5. МР 2.3.1.2432-08. Рациональное питание: нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации. М., 2008. 50 с.
6. Голубкина Н.А., Батулин А.К., Шагова В.М., Мартинчик А.Н. Обеспеченность селеном жителей Алтайского края // *Вопр. питания*. 1998. № 5. С. 16–18.
7. Голубкина Н.А., Парфенова Е.О., Решетник Л.А. Потребление селена населением Иркутской области // *Вопр. питания*. 1998. № 4. С. 24–26.
8. Лузан В.Н., Черновая С.С. Уровень обеспеченности селеном населения Бурятии и Читинской области // *Материалы конф. «Современные проблемы науки и образования»*. М. 2006. Т. 1. С. 67–69.
9. Сенькевич О.А., Голубкина Н.А., Ковальский Ю.Г., Сиротина З.В. и др. Обеспеченность селеном жителей Хабаровского края // *Теоретическая и экспериментальная медицина (Дальневосточный медицинский журнал)*. 2009. № 1. С. 82–84.
10. Третьяк Л.Н., Герасимов Е.М. Специфика влияния селена на организм человека и животных (применительно к проблеме создания селеносодержащих продуктов питания) // *Вестн. ОГУ*. 2007. № 12. С. 136–145.
11. Брежнева Е.В., Зинчук С.Ф. Обеспеченность йодом и селеном взрослого населения г. Кемерово // *Федеральный и региональный уровни политики в области здорового питания : материалы междунар. симп. Кемерово, 2002*. С. 32.
12. Голубкина Н.А., Мальцев Ю.Г., Богданов Н.Г. и др. Обеспеченность селеном жителей Калужской области // *Вопр. питания*. 1995. № 5. С. 13–16.
13. Голубкина Н.А., Шагова М.В., Сиричев В.Б. Обеспеченность селеном различных групп населения республики Башкортостан // *Вопр. питания*. 1996. № 4. С. 3–5.
14. Голубкина Н.А. Потребление селена жителями Брянской области в районах радиоактивного заражения // *Вопр. питания*. 1994. № 4. С. 3–5.
15. Голубкина Н.А. Содержание селена в пшеничной и ржаной муке России, стран СНГ и Балтии // *Вопр. питания*. 1997. № 3. С. 17–20.
16. Голубкина Н.А., Соколов Я.А. Уровень обеспеченности селеном жителей северного экономического района России // *Гиг. и сан.* 1997. № 3. С. 22–24.
17. Турчанинов Д.В., Баранова Т.А., Вильмс Е.А. Распространенность селенодефицитных состояний среди различных групп населения Омской области // *Материалы II Международной научно-практической конференции «Биозлементы»*. Оренбург, 2006. С. 348–350.
18. Решетник Л.А., Панферова Е.О., Скальный А.В. Способы определения и методы коррекции обеспеченности селеном // *Экология моря*. 2000. вып. 54. С. 69–74.
19. Gissel-Nielsen G., Gupta U.C., Lamand M., Westermarck T. Selenium in soils and plants and its importance in livestock and human nutrition // *Adv. Agron. (Orlando)*. 1984. Vol. 37. P. 397–461.
20. Елисеева Л.Г., Блинникова О.М. Комплексная товароведная оценка плодов жимолости съедобной, выращенной в Центральном регионе РФ // *Товаровед продовольственных товаров*. 2011. № 3. С. 11–17.
21. Елисеева Л.Г., Блинникова О.М. Сравнительная характеристика потребительских свойств селекционных сортов актинидии вида коломикта // *Товаровед продовольственных товаров*. 2011. № 7. С. 20–27.
22. Елисеева Л.Г., Блинникова О.М. Комплексная оценка потребительских свойств селекционных сортов рябины обыкновенной // *Технология и товароведение инновационных пищевых продуктов*. 2012. № 3 (14). С. 69–76.
23. Елисеева Л.Г., Блинникова О.М., Новикова И.М. Сравнительная характеристика пищевой ценности, функциональной активности и сохранности ягод земляники садовой голландских, американских и бельгийских сортов, выращенных в условиях ЦЧР // *Товаровед продовольственных товаров*. 2013. № 3. С. 5–11.
24. Елисеева Л.Г., Блинникова О.М. Комплексная оценка плодов аронии черноплодной // *Пищ. пром-сть*. 2013. № 4. С. 28–29.
25. Елисеева Л.Г., Блинникова О.М. Дифференцирование перспективных сортов плодово-ягодных культур по содержанию биологически активных соединений // *Пищ. пром-сть*. 2013. № 6. С. 50–52.
26. МУК 4.1.033-95 Методы контроля. Химические факторы. Определение селена в продуктах питания.
27. Коррекция статуса селена в организме животных и человека через растения [Электронный ресурс]. URL: <https://sites.google.com/site/vseoselene/selen3>
28. Равашдех Х. Влияние внекорневых обработок йодом и селеном на урожайность и качество ягод смородины и крыжовника : автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. М., 2005.
29. Хрыкина Ю.А., Голубкина Н.А., Никульшин В.П., Григорьянц И.К. и др. Аккумуляция селена чесноком *Allium sativum* L. // *Вестн. РАСХН*. 2007. № 5. С. 32–33.
30. Alfthan G., Aro A. Environmental effects of selenium fertilization // *Proceedings Twenty Years of Selenium Fertilization, Sept. 8–9, 2005 / ed. M. Eurola. Helsinki, Finland, 2005*. P. 33–36.
31. Дерябина В.И., Скворцова Л.Н., Захарова Э.А., Слепченко Г.Б. Вольтамперометрический контроль содержания селена и его форм в растениях и пищевых добавках с использованием экстракции и ионного обмена // *Заводская лаборатория. Диагностика материалов*. 2006. Т. 72, № 11. С. 7–11.
32. Скворцова Л.Н., Заика Я.Г., Кармушакова Г.Н., Захарова Э.А. Применение ионного обмена для разделения различных форм селена в анализе водных экстрактов растений и БАД // *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2010. Т. 10, вып. 2. С. 266–272.
33. Соловьева А.Ю. Изучение аккумуляции селена и влияния его на накопление первичных и вторичных метаболитов в лекарственном и эфирно-масличном сырье : Автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. М., 2014.
34. Dietary Supplement Fact Sheet [Электронный ресурс]. URL: <http://ods.od.nih.gov/factsheets/Selenium-HealthProfessional/Selenium>
35. Ekambaramgnanadesigan, Balumahendran K., Gnanagurudasan E., Santhosh Kumar N. A systematic review of selenium and its role in human reproductive system // *Int. J. Pharma Bio Sci.* 2013. Vol. 4, N 4. P. B1–B15.
36. Пат. 2507185 РФ, МПК C05D 9/00. Способ обогащения селеном плодов и ягод / Блинникова О.М., Елисеева Л.Г.; ФГБОУ ВПО МичГАУ. 2012.12.07.2012; заявл. 20.02.2014; Бюл. № 5. 4 с.

References

1. Gmshinskiy I.V., Mazo V.K. Selenium in the diet: an overview. *Al'ternativnaya meditsina [Medicina Altera]*. 1999; Vol. 4: 18–22. (in Russian)
2. Tutel'yan V.A., Spirichev V.B., et al. Micronutrients in the diet of healthy and sick human. Moscow : Kolos, 2002: 424 p. (in Russian)
3. Voshchenko A.V., Dremina G.A. Selenium, health, human. Chita : Zabtrans, 1996: 15 p.
4. Gmshinskiy I.V., Mazo V.K. Minerals in human nutrition. Selenium: suction and bioavailability. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2006; Vol. 5: 15–21. (in Russian)
5. Metodicheskie rekomendatsii [Methodical recommendations] 2.3.1.2432-08. Rational nutrition: norms physiological needs for energy and nutrients for different groups of the population of the Russian Federation. Moscow, 2008: 50 p. (in Russian)

6. Golubkina N.A., Baturin A.K., Shagova V.M., Martinchik A.N. Provision of selenium the residents of the Altai Territory. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 1998; Vol. 5: 16–18. (in Russian)
7. Golubkina N.A., Parfenova E.O., Reshetnik L.A. Consumption of selenium populations of Irkutsk region. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 1998; Vol. 4: 24–6. (in Russian)
8. Luzan V.N., Chernovaya S.S. The level of selenium of the population of Buryatia and the Chita region. *Materialy konferentsii «Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya»*. [Proceedings of the conference «Modern problems of science and education»]. Moscow, 2006; Vol. 1: 67–9. (in Russian)
9. Sen'kevich O.A., Golubkina N.A., Koval'skiy Yu.G., Sirotnina Z.V., et al. Provision of selenium the residents the Khabarovsk Territory. *Teoreticheskaya i eksperimental'naya meditsina (Dal'nevostochnyy meditsinskiy zhurnal)* [Theoretical and Experimental Medicine (Far East Medical Journal)]. 2009; Vol. 1: 82–4. (in Russian)
10. Tret'yak L.N., Gerasimov E.M. Specificity of influence of selenium on the human body and animal (as applied to the problem of creating a selenium-containing foods). *Vestnik OGU* [Herald of Tomsk State University]. 2007; Vol. 12: 136–45. (in Russian)
11. Brezhneva E.V., Zinchuk S.F. Provision of iodine and selenium adult population city of Kemerovo. In: *Federal'nyy i regional'nyy urovni politiki v oblasti zdorovogo pitaniya. Materialy mezhdunarodnogo simpoziuma* [Proceedings of the International Symposium «federal and regional level policies in the area of healthy nutrition»]. Kemerovo, 2002: 32 p. (in Russian)
12. Golubkina N.A., Mal'tsev Yu.G., Bogdanov N.G., et al. Provision of selenium of residents of Kaluga region. *Voprosy pitaniya* [Problems of Nutrition]. 1995; Vol. 5: 13–6. (in Russian)
13. Golubkina N.A., Shagova M.V., Sirichev V.B. Provision of selenium different population groups of the Republic of Bashkortostan. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 1996; Vol. 4: 3–5. (in Russian)
14. Golubkina N.A. The consumption of selenium residents of the Bryansk region in the areas of radioactive contamination. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 1994; Vol. 4: 3–5. (in Russian)
15. Golubkina N.A. The content of selenium in wheat and rye flour Russia, CIS and Baltic countries. *Voprosy pitaniia* [Problems of Nutrition]. 1997; Vol. 3: 17–20. (in Russian)
16. Golubkina N.A., Sokolov Ya.A. Level of provision selenium of residents of the northern economic region of Russia. *Gigiena i sanitariya* [Hygiene and Sanitation]. 1997; Vol. 3: 22–4. (in Russian)
17. Turchaninov D.V., Baranova T.A., Vil'ms E.A. The prevalence of selenium deficiency states among different population groups of the Omsk region. *Materialy II Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii «Bioelementy»*. [Proceedings of the II International Scientific and Practical Conference «Bioelements»]. Orenburg, 2006: 348–50. (in Russian)
18. Reshetnik L.A., Panferova E.O., Skal'nyy A.V. The methods of detection and correction methods of provision of selenium. *Ekologiya morey* [Ecology of the Sea]. 2000; Vol. 54: 69–74. (in Russian)
19. Gissel-Nielsen G., Gupta U.C., Lamand M., Westermarck T. Selenium in soils and plants and its importance in livestock and human nutrition. *Adv Agron.* (Orlando). 1984; Vol. 37: 397–461.
20. Eliseeva L.G., Blinnikova O.M. Complex merchandizing estimation of eatable fruits of honeyberry grown in the central region of the Russian Federation. *Tovarovod prodovol'stvennykh tovarov* [Goods Manager of Food Products]. 2011; Vol. 3: 11–7. (in Russian)
21. Eliseeva L.G., Blinnikova O.M. Comparative characteristics of the consumers' properties of the selection variety of actinidia kolomikta. *Tovarovod prodovol'stvennykh tovarov* [Goods Manager of Food Products]. 2011; Vol. 7: 20–7. (in Russian)
22. Eliseeva L.G., Blinnikova O.M. Kompleksnaya otsenka potrebitel'skikh svoystv selektsionnykh sortov ryabiny obyknovennoy. *Tekhnologiya i tovarovedenie innovatsionnykh pishchevykh produktov* [Technology and Commodity Research of Innovative Food]. 2012; Vol. 3 (14): 69–76. (in Russian)
23. Eliseeva L.G., Blinnikova O.M., Novikova I.M. Comparative characteristics of nutritional value, functional activity and storage property of berries of garden strawberry of Dutch, American and Belgian sorts, grown in CCA conditions. *Tovarovod prodovol'stvennykh tovarov* [Goods Manager of Food Products]. 2013; Vol. 3: 5–11. (in Russian)
24. Eliseeva L.G., Blinnikova O.M. the complex assessment of the black chokeberry's fruits (aronia melanocarpa). *Pishchevaya promyshlennost'* [Food Processing Industry]. 2013; Vol. 4: 28–9. (in Russian)
25. Eliseeva L.G., Blinnikova O.M. Differentiation of promising fruit and berry crops' varieties in the content of biologically active substances. *Pishchevaya promyshlennost'* [Food Processing Industry]. 2013; Vol. 6: 50–2. (in Russian)
26. MUK [Methodical instructions] 4.1.033-95 Control methods. Chemical factors. Determination of selenium in foods. (in Russian)
27. Correction the status of selenium in the body of animals and humans by plants [Electronic resource]. URL: <https://sites.google.com/site/vseoselene/selen3> (in Russian)
28. Ravashdekh Kh. Influence of extraroot treatment with iodine and selenium on the yield and quality berries currants and gooseberry : Diss. Moscow, 2005. (in Russian)
29. Khyrkina Yu.A., Golubkina N.A., Nikul'shin V.P., Grigor'yants I.K., et al. Accumulation of selenium garlic, *Allium sativum* L. *Vestnik rossiyskoy akademii sel'skokhozyaystvennykh nauk* [Herald of the Russian Academy of Agricultural Sciences]. 2007. Vol. 5: 32–33. (in Russian)
30. Alfthan G., Aro A. Environmental effects of selenium fertilization // *Proceedings Twenty Years of Selenium Fertilization*, Sept. 8–9, 2005 / ed. M. Eurola. Helsinki, Finland, 2005: 33–36.
31. Deryabina V.I., Skvortsova L.N., Zakharova E.A., Slepchenko G.B. Voltammetric monitoring of the content of selenium and its forms in plants and food additives using extraction and ion exchange. *Zavodskaya laboratoriya. Diagnostika materialov* [Factory Laboratory. Diagnostics of materials]. 2006; Vol. 72 (11): 7–11. (in Russian)
32. Skvortsova L.N., Zaika Ya.G., Karmushakova G.N., Zakharova E.A. The use of ion exchange to separate different forms of selenium in the analysis of aqueous plant extracts and biologically active additives. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy* [Sorptive and Chromatography processes]. 2010; Vol. 2 (10): 266–72. (in Russian)
33. Solov'eva A.Yu. The study of accumulation of selenium and its influence on the accumulation of primary and secondary metabolites in a medicinal and essential oil feedstock : Diss. Moscow, 2014. (in Russian)
34. DietarySupplementFactSheet. URL: <http://ods.od.nih.gov/factsheets/Selenium-HealthProfessional/Selenium>
35. Ekambaramgnanadesigan, Balumahendran K., Gnanagurudasan E., Santhosh Kumar N. A systematic review of selenium and its role in human reproductive system. *Int J Pharma Bio Sci.* 2013; Vol. 4 (4): B1–5.
36. Pat. 2507185 RF, MPK S05D 9/00. Method of enriched with selenium fruit and berries / Blinnikova O.M., Eliseeva L.G.; FSBEI HPE Michurinsk State Agrarian University. 2012129644/13: Statement 12.07.2012; opubl. 20.02.2014. Byul. N 5: 4 p. (in Russian)

Для корреспонденции

Табакаева Оксана Вацлавовна – доктор технических наук, доцент, профессор кафедры биотехнологии и функционального питания, ФГАОУ ВПО «Дальневосточный федеральный университет», Школа биомедицины
 Адрес: 690920, г. Владивосток, о. Русский, п. Аякс, кампус ДВФУ, корп. М25
 Телефон: (423) 223-00-23
 E-mail: yankovskaya68@mail.ru

О.В. Табакаева, А.В. Табакаев

Микронутриентный состав пищевых частей промышленного двустворчатого моллюска *Anadara broughtoni*

Micronutrient structure
 of food parts of a trade
 bivalve mollusc of *Anadara
 broughtoni*

O.V. Tabakaeva, A.V. Tabakaev

ФГАОУ ВПО «Дальневосточный федеральный университет», Школа
 биомедицины, Владивосток
 Far East Federal University, Biomedicine School, Vladivostok

*Определено содержание микронутриентов в пищевых частях двустворчатого моллюска Дальневосточного региона *Anadara broughtoni*. Установлено, что в мускуле преобладающим макроэлементом является калий, в мантии с мускулом-замыкателем – натрий. В мускуле *Anadara broughtoni* концентрация калия достигает 490 мг/100 г сырой ткани, что в 2–3 раза выше содержания этого элемента в гребешках и устрицах и в 4 раза выше, чем в мантии. Для натрия наблюдается обратная зависимость: его содержание в мантии (439 мг/100 г) в 3 раза больше, чем в мускуле. Необходимо отметить низкое содержание натрия в аддукторе. Употребление 100 г двигательного мускула моллюска *Anadara broughtoni* позволит удовлетворить потребность организма в калии на 19,6 %, в магнии – на 26,8 %. Для всех пищевых частей моллюска *Anadara broughtoni* доминирующими микроэлементами являются железо и цинк. Содержание железа максимально в мускуле (4,84 мг/100 г) и превышает таковое в аддукторе в 1,84 раза. Содержание цинка в пищевых частях различается несущественно, максимальное содержание определено в мантии (2,12 мг/100 г), по сравнению с аддуктором превышение составляет всего 15%. Необходимо отметить высокое содержание марганца, особенно в мантии (1,12 мг/100 г), по сравнению с аддуктором больше на 43,5%. Содержание хрома в мускуле (0,018 мг/100 г) превышает таковое в аддукторе в 2,25 раза. Определено высокое содержание меди в мускуле (0,04 мг/100 г) – в 4 раза больше, чем в аддукторе. Содержание селена и йода максимально в мускуле (по 0,03 мг/100 г). Для мантии и мускула преобладающим классом липидов являются фосфолипиды, для аддуктора – холестерин. Содержание холестерина в аддукторе на 27–37% больше, чем в других пищевых частях моллюска. Содержание суммы каротиноидов в двигательном мускуле (5,7 мг/100 г) в 1,78 раза превышает содержание в аддукторе и в 1,5 раза – содержание в мантии. Основная доля каротиноидов сосредоточена в двигательном мускуле.*

Ключевые слова: двустворчатый моллюск *Anadara broughtoni*, микронутриентный состав, макро- и микроэлементы, фосфолипиды, каротиноиды

The content of micronutrients in food parts of a bivalve mollusk of the Far East region of *Anadara broughtoni* has been defined. It is established that in a muscle the prevailing mineral is potassium, in a cloak with an adductor – sodium. In *Anadara broughtoni* muscle concentration of potassium reaches 490 mg/100 g of crude tissue that is 2–3 fold higher than the content of this element in combs and oysters and 4 fold above, than in a cloak. For sodium inverse relationship is observed: its contents in a cloak (439 mg/100 g) is 3 fold more, than in a muscle. The low content of sodium in an adductor should be noted. For all food parts of a mollusk of *Anadara broughtoni* the dominating trace elements are iron and zinc. The content of iron is maximum in a muscle (4.84 mg/100 g) and exceeds that in an adductor by 1.84 fold. The content of zinc in food parts differs insignificantly, the maximum contents is defined in a cloak (2.12 mg/100 g), in comparison with an adductor excess makes only 15%. It should be noted the high content of manganese – especially in a cloak (1.12 mg/100 g) – in comparison with an adductor 43.5% more. Chromium content in a muscle (0.018 mg/100 g) exceeds that in an adductor 2.25 times. The high content of copper in a muscle (0.04 mg/100 g) – 4 times old higher than in an adductor is defined. The content of selenium and of iodine is maximum in a muscle (0.03 mg/100 g). For a cloak and a muscle the prevailing class of lipids are phospholipids, for an adductor – cholesterol. The content of cholesterol in an adductor is 27–37% more, than in other food parts of a mollusk. The level of total carotenoids in a motive muscle (5.7 mg/100 g) 1.78 fold exceeds the contents in an adductor and by 1.5 fold elevates the contents in a cloak. The main share of carotenoids is concentrated in a motive muscle.

Keywords: a bivalve mollusk of *Anadara broughtoni*, micronutrient composition, minerals and trace elements, phospholipids, carotenoids

Широкое использование морских биологических ресурсов, являющихся источниками высокоусвояемых полноценных белков, эссенциальных полиненасыщенных жирных кислот, микроэлементов, биологически активных веществ различных классов является одним из путей решения проблемы улучшения питания и здоровья населения. Кроме рыбного сырья заметное внимание привлекают нерыбные объекты промысла – моллюски, голотурии, ракообразные, водоросли. Продукты их технологической и биотехнологической переработки обладают различной биологической активностью – антирадикальной [1], иммуномодулирующей [2], антимикробной [3], радиозащитной [4]. Промысловое значение нерыбных гидробионтов далеко не одинаково. Из донных беспозвоночных двустворчатые моллюски относятся к числу наиболее энергично промысливаемых видов.

В последнее десятилетие в прибрежной зоне Дальнего Востока добыча беспозвоночных, особенно новых видов моллюсков (в основном двустворчатых), заметно активизировалась. В силу своеобразного белкового, витаминного и минерального составов их относят к числу ценных промысловых объектов. Мышцы многих моллюсков отличаются не только высокой пищевой ценностью, но и при применении в лечении больных атеросклерозом, гипертонией, а также артритом

оказывают положительное влияние на процесс выздоровления [5]. Доказано, что постоянное употребление моллюсков позволяет достаточно быстро восполнить дефицит ряда эссенциальных веществ, повысить сопротивляемость организма к воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды [6–8].

Одним из перспективных видов условно промысловых двустворчатых моллюсков Дальневосточного региона является Анадара брoutона (*Anadara broughtoni*), относящаяся к довольно распространенному типу *Mollusca* и классу *Bivalvia* – двустворчатые моллюски. В настоящее время этот моллюск активно изучается как сырье для создания функциональных пищевых продуктов и биологически активных добавок к пище [9, 10].

Цель работы – изучение микронутриентного состава пищевых частей двустворчатого моллюска *Anadara broughtoni*.

Материал и методы

Объектами исследования служили мягкие пищевые части двустворчатого моллюска *Anadara broughtoni*, добытого в Амурском заливе и заливе Посьета Приморского края в 2012–2013 гг.: двигательный мускул (так называемая нога), мускул-замыкатель (аддуктор), мантия. Определяли со-

держание макро- и микроэлементов, суммарное содержание каротиноидов, фосфолипидов, холестерина и его эфиров.

Исследование качественного и количественного элементного состава проводили методом атомно-абсорбционной спектроскопии, используя спектрофотометр AA-7000 («Shimadzu», Япония) с графитовой кюветой и корректором фона дейтериевой лампой, в средней пробе из 5 экземпляров, предварительно высушенных при 80 °С после минерализации азотной кислотой [11]. Применяли стандартные растворы элементов, прошедших государственную поверку и включенных в реестр.

Оценку санитарно-химических показателей безопасности (содержание тяжелых металлов – ртути, кадмия, свинца и мышьяка) проводили методом атомно-абсорбционной спектроскопии. Для определения содержания ртути беспламенным атомно-адсорбционным методом использовали анализатор ртути «Hg-1» («Hiranuma», Япония) [12]. Для подготовки проб проводили минерализацию смесью азотной и серной кислот и перманганатом калия. Кадмий, мышьяк и свинец определяли на атомно-абсорбционном спектрофотометре «Shimadzu AA-7000» [13]. Пределы обнаружения: ртуть – 0,01 мг/кг, свинец – 0,01 мг/кг, кадмий – 0,01 мг/кг, мышьяк – 0,01 мг/кг.

Содержание йода определяли колориметрическим методом после сжигания навески в соответствии с ГОСТ 26185-04 [14].

Для определения фракций липидов образцы фиксировали 96% этиловым спиртом и тщательно измельчали, заливали смесью хлороформ–метанол (2:1) и хранили до анализа на холоде (+4 °С). Общие липиды разделяли на фракции (фосфолипиды, холестерин, эфиры холестерина) на тонкослойных хроматографических пластинках «Silufol» («Kavalier», Чехия) в смеси растворителей петролейный эфир: серный эфир: уксусная кислота (90:10:1). Количественное содержание фосфолипидов и эфиров холестерина определяли гидроксаматным методом [15], холестерин – по реакции с окрашивающим реагентом [16].

Каротиноиды выделяли 100% ацетоном. Количественное содержание каротиноидов определяли спектрофотометрически на спектрофотометре сканирующем UV-1800 («Shimadzu», Япония) в ацетоновой вытяжке при длине волны 450 нм [17].

Все исследования проводили в 3-кратной повторности. Экспериментальные данные представлены в виде среднего (*M*) и стандартной ошибки среднего (*m*). Статистическую обработку проводили с использованием пакетов прикладных статистических программ Excel, Statistica 7.0.

Результаты и обсуждение

Результаты определения содержания макроэлементов в отдельных частях *Anadara broughtoni* отражены в табл. 1.

Как следует из этих данных, в мускуле преобладающим макроэлементом является калий, в мантии и мускуле-замыкателе – натрий. В мускуле *Anadara broughtoni* концентрация калия достигает 490 мг на 100 г сырой ткани, что в 2–3 раза выше содержания этого элемента в гребешках и устрицах [19] и в 4 раза выше, чем в мантии. Для натрия наблюдается обратная зависимость: его содержание в мантии в 3 раза больше, чем в мускуле. Необходимо отметить низкое содержание натрия в аддукторе.

Употребление пищевых частей моллюска *Anadara broughtoni* в количестве 100 г позволит удовлетворить потребность человека: двигательного мускула – в калии на 19,6%, в мантии – на 26,8%, мантии – в натрии на 33,8%.

Результаты определения содержания микроэлементов в пищевых частях моллюска *Anadara broughtoni* отражены в табл. 2.

Для всех пищевых частей моллюска *Anadara broughtoni* доминирующими микроэлементами являются железо и цинк. Содержание железа максимально в мускуле и превышает таковое в аддукторе в 1,84 раза. Содержание цинка в пищевых частях различается несущественно, максимальное содержание определено в мантии, по сравнению с аддуктором превышение составляет всего 15%. Необходимо отметить высокое содержание марганца, особенно в мантии, по сравнению с аддуктором больше на 43,5%. Содержание меди в мускуле в 4 раза больше, чем в аддукторе. Сравнение с результатами ранее проведенного определения количества микроэлементов в других промысловых двусторчатых моллюсках Дальневосточного региона [20] показало, что *Anadara*

Таблица 1. Содержание макроэлементов в пищевых частях моллюска *Anadara broughtoni* (мг/100 г)

Макроэлемент	Пищевая часть			Норма физиологической потребности (мг/сут) для взрослых
	мантия	двигательный мускул	аддуктор	
Na	439±20	152±6	135±5	1300
K	108±5	490±22	147±7	2500
Ca	59±3	54±2	79±3	1000
Mg	45±2	107±5	41±2	400

Таблица 2. Микроэлементный состав пищевых частей моллюска *Anadara broughtoni*

Элемент	Содержание, мг/100 г			Нормы физиологической потребности (мг) взрослые
	мантия	мускул	аддуктор	
Cr	0,012±0,001	0,018±0,001	0,008±0,001	0,05
Mn	1,12±0,05	0,96±0,05	0,78±0,04	2,0
Ni	0,14±0,01	0,11±0,01	0,07±0,01	–
Fe	4,26±0,21	4,84±0,24	2,63±0,13	10 (муж.)–18 (жен.)
Co	0,007±0,0003	0,008±0,0004	0,005±0,0002	0,01
Zn	2,12±0,11	2,01±0,10	1,85±0,09	12
Cu	0,03±0,001	0,04±0,002	0,01±0,001	1,0
Mo	0,02±0,001	0,01±0,001	0,01±0,001	0,07
Se	0,01±0,005	0,03±0,001	0,02±0,001	0,07
I	0,02±0,001	0,03±0,001	0,01±0,001	0,15

Таблица 3. Состав липидов пищевых частей моллюска *Anadara broughtoni*

Класс липидов	Мантия		Аддуктор		Двигательный мускул	
	% от суммы липидов	г/100 г	% от суммы липидов	г/100 г	% от суммы липидов	г/100 г
Фосфолипиды	46,9±2,2	0,84±0,04	31,1±1,5	0,72±0,03	39,7±1,8	0,84±0,04
Холестерин	28,7±1,3	0,52±0,02	39,4±1,8	0,91±0,04	31,1±1,5	0,65±0,03
Эфиры холестерина	12,3±0,5	0,22±0,01	13,1±0,5	0,30±0,01	8,9±0,4	0,19±0,01

broughtoni превосходит гигантскую устрицу по содержанию железа и марганца, мидию Грея – по содержанию цинка и марганца, приморского гребешка – по содержанию меди и цинка, тихоокеанскую устрицу – по содержанию марганца. Но в то же время исследуемый двустворчатый моллюск *Anadara broughtoni* по содержанию железа уступает тихоокеанской мидии, мидии Грея и приморскому гребешку.

Содержание хрома в мускуле превышает таковое в аддукторе 2,25 раза. По содержанию никеля максимальная разница отмечена для мантии и аддуктора – 100%. Содержание кобальта в мантии и мускуле идентично и несущественно превышает содержание данного элемента в аддукторе. Содержание селена и йода максимально в мускуле.

Употребление пищевых частей моллюска *Anadara broughtoni* в количестве 100 г позволит удовлетворить потребность человеческого организма в хrome на 36% (мускул), в марганце – на 56% (мантия), в железе – на 48,4% (мускул), в кобальте – на 80% (мускул), в цинке – на 22% (мантия), в йоде – на 20% (мускул), в молибдене – на 28,6% (мантия), в селене – на 42,8% (мускул).

Таким образом, можно сказать: мантия по сравнению с другими пищевыми частями характеризуется более высоким содержанием марганца, никеля, цинка, молибдена; мускул – содержанием

хрома, железа, кобальта, меди, селена и йода. Содержание микроэлементов в аддукторе ниже, чем в мантии и мускуле.

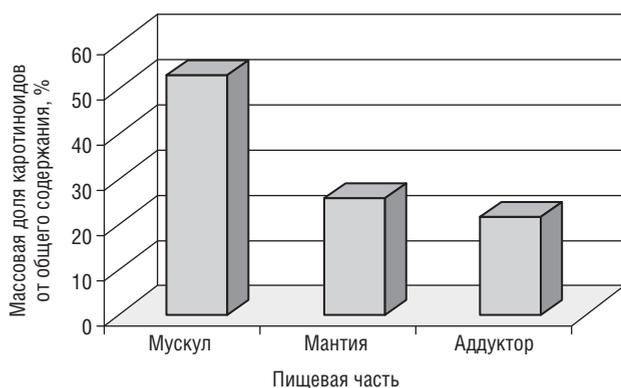
Содержание токсичных металлов в мягких тканях исследуемого моллюска составило (диапазоны мг/кг сырой массы) для свинца – 0,05–0,07, мышьяка – 0,04–0,06, кадмия – 0,02–0,03, ртути – 0,03–0,04. По требованиям [21] нерыбные объекты промысла должны содержать не более (мг/кг): свинца – 0,5; мышьяка – 0,5; кадмия – 0,1; ртути – 0,15. Полученные данные демонстрируют, что пищевые части исследуемого моллюска *Anadara broughtoni* содержат тяжелые металлы в количестве, не превышающем нормативные требования по санитарно-химическим показателям для нерыбных объектов промысла.

Высокое содержание в пищевых частях моллюска калия при низком содержании натрия, а также наличие магния, железа, марганца, цинка, йода позволяет рекомендовать использование *Anadara broughtoni* в диетотерапии больных с сердечно-сосудистой патологией [22]. Значительное количество железа в тканях позволяет рассматривать *Anadara broughtoni* как поставщика этого микронутриента.

Исследование состава липидов пищевых частей моллюска *Anadara broughtoni*, результаты которого представлены в табл. 3, показало, что для мантии и мускула преобладающим классом являются фосфолипиды, для аддуктора – холестерин. Содержание липидов в мантии превышает таковое в мус-

Таблица 4. Содержание каротиноидов в пищевых частях моллюска *Anadara broughtoni*

Орган моллюска	Содержание суммы каротиноидов, мг/100 г сырого веса
Двигательный мускул	5,7±0,2
Мантия	3,8±0,1
Аддуктор	3,2±0,1



Распределение суммарных каротиноидов по органам моллюска *Anadara broughtoni*

куле на 18%, в аддукторе – на 51%. Содержание холестерина в аддукторе на 27–37% больше, чем в других пищевых частях моллюска. Аддуктор характеризуется более высоким содержанием эфиров холестерина – на 6,5–47,1%, причем наиболее существенная разница определена по сравнению с мускулом.

Для всех пищевых частей моллюска *Anadara broughtoni* характерно следующее: фосфолипиды

и холестерин являются преобладающими классами липидов, эфиры холестерина содержатся в существенно меньших количествах. Максимальное содержание фосфолипидов – в мантии, холестерина и его эфиров – в аддукторе. Оптимальным уровнем потребления фосфолипидов считается не менее 5 г/сут. Потребление 100 г мускула или мантии моллюска *Anadara broughtoni* обеспечивает удовлетворенность в фосфолипидах на 16,8%.

Результаты определения содержания суммарных каротиноидов в пищевых частях моллюска *Anadara broughtoni* представлены в табл. 4.

Содержание суммы каротиноидов в двигательном мускуле в 1,78 раза превышает содержание в аддукторе и в 1,5 раза содержание в мантии. Содержание каротиноидов в пищевых частях моллюска *Anadara broughtoni* является значимым для питания человека, так как, согласно [23], адекватный уровень потребления суммы каротиноидов для взрослых составляет 15 мг/сут.

Соотнеся массу органов моллюска *Anadara broughtoni* и концентрацию содержащихся в них каротиноидов, можно рассчитать их распределение во всем организме (см. рисунок).

Из данных рисунка видно, что основная доля каротиноидов сосредоточена в двигательном мускуле.

Таким образом, исходя из всего вышесказанного, можно сделать следующие выводы: микронутриентный состав пищевых частей двустворчатого моллюска *Anadara broughtoni* характеризуется высоким содержанием макро- и микроэлементов, необходимых для организма человека, фосфолипидов, каротиноидов. Наибольший интерес представляют двигательный мускул и мантия моллюска.

Работа поддержана Российским научным фондом (№ проекта 14-50-00034).

Сведения об авторах

Табакеева Оксана Вацлавовна – доктор технических наук, доцент, профессор кафедры биотехнологии и функционального питания ФГАОУ ВПО «Дальневосточный федеральный университет», Школа биомедицины (Владивосток)

E-mail: yankovskaya68@mail.ru

Табакеев Антон Вадимович – аспирант кафедры биотехнологии и функционального питания, ФГАОУ ВПО «Дальневосточный федеральный университет», Школа биомедицины, Школа биомедицины (Владивосток)

E-mail: tabakaev92@mail.ru

Литература

1. Табакеева О.В., Каленик Т.К., Табакеев А.В. Антирадикальная активность продуктов переработки голотурии *Sisumaria japonica* и их практическое применение для стабилизации липидов // *Вопр. питания*. 2015. Т. 84. № 1. С. 66–72.
2. Беседнова Н.Н., Эпштейн Л.Н. Иммуноактивные пептиды из гидробионтов и наземных животных. Владивосток : ТИПРО-центр, 2004. 248 с.
3. Любавская Т.Я. Антимикробные и иммуномодулирующие свойства комплексных экстрактов из трепанга японского : автореф. дис. ... канд. мед. наук. Владивосток, 1996. 29 с.
4. Давидович В.В., Пивненко Т.Н. Аминокислоты двустворчатых моллюсков: биологическая роль и применение в качестве БАД // *Изв. ТИПРО*. 2001. Т. 129. С. 146–153.

5. Alvarez I.-G. Storey in rabbit spermatozoa and protect against mobility // *Biol. Reprod.* 1993. Vol. 29, N 3. P. 4–8.
6. Аюшин Н.Б., Петрова И.П., Эпштейн Л.М. Азотистые экстрактивные вещества в тканях дальневосточных моллюсков // *Изв. ТИНРО.* 1999. Т. 125. С. 52–55.
7. Аюшин Н.Б., Петрова И.П., Эпштейн Л.М. Таурин и карнозин в тканях тихоокеанских моллюсков // *Вопр. питания.* 1997. № 6. С. 6–9.
8. Оводова Р.Г., Молчанова В.И., Михайская Л.В., Оводов Ю.С. Общая характеристика биогликанов-иммуномодуляторов из беспозвоночных Японского моря // *Химия природных соединений.* 1990. Т. 26, № 6. С. 738–742.
9. Зюзьгина А.А., Купина Н.М. Характеристика двустворчатого моллюска *Anadara broughtoni* как сырья для производства пищевых продуктов // *Хранение и переработка сельхозсырья.* 2001. № 1. С. 40–43.
10. Киселев В.В., Купина Н.М., Поваляева Н.Т. Технохимическая характеристика некоторых видов двустворчатых моллюсков // *XXI век – перспективы развития рыбохозяйственной науки : материалы Всероссийской Интернет-конференции молодых ученых.* Владивосток : ТИНРО-центр, 2002. С. 155–162.
11. ГОСТ 26929-94 Сырье и продукты пищевые. Подготовка проб. Минерализация для определения содержания токсичных элементов. М. : Стандартинформ, 2010. 12 с.
12. ГОСТ 26927-86. Сырье и продукты пищевые. Методы определения ртути. М. : Стандартинформ, 2010. 14 с.
13. ГОСТ 30178-96. Сырье и продукты пищевые. Атомно-абсорбционный метод определения токсичных элементов. М. : Стандартинформ, 2010. 10 с.
14. ГОСТ 26185-04. Водоросли морские, травы морские и продукты их переработки. Методы анализа. М. : Стандартинформ, 2010. 36 с.
15. Сидоров В.С., Лизенко Е.И., Болгова О.М., Неведова З.А. Липиды рыб. 1. Методы анализа. Тканевая специфичность ярышкы *Coregonusalbula* L. // *Лососевые (Salmonidae) Карелии.* Петрозаводск : Карел. фил. АН СССР, 1972. Вып. 1. С. 152–163.
16. Engelbrecht F.M., Mori F., Anderson I.T. Cholesterol determination in serum. A rapid direct method // *S. Afr. Med. J.* 1974. Vol. 48. P. 250–256.
17. Якушина Л.М., Бекетова Н.А., Бендер Е.Д., Харитончик Л.А. Использование методов ВЭЖХ для определения витаминов в биологических жидкостях и пищевых продуктах // *Вопр. питания.* 1993. № 1. С. 43–48.
18. Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации. Методические рекомендации МР 2.3.1.2432-08. URL: <http://www.niiot.ru/doc/bank01/doc113/doc.htm>
19. Справочник по химическому составу и технологическим свойствам водорослей, беспозвоночных и морских млекопитающих. М. : Изд-во ВНИРО, 1999. 262 с.
20. Коведокова Л.Т., Симоконов М.В. Тяжелые металлы в промысловых моллюсках залива Петра Великого // *Изв. ТИНРО.* 1995. Т. 118. С. 124–129.
21. СанПиН 2.3.2.2401-08 Дополнения и изменения № 10 к санитарно-эпидемиологическим правилам и нормативам СанПиН 2.3.2.1078-01 «Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов». URL: <http://03.rospotrebnadzor.ru/documents/ob-utverzhdennii-sanpin-2-3-2-2401-08-id-1868/>
22. Справочник по диетологии. 3-е изд., перераб. и доп. / под ред. В.А.Тутельяна, М.А. Самсонова. М. : Медицина, 2002. 544 с.
23. Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому контролю (надзору). URL: https://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/laws/tsouz/t_souz_food.pdf

References

1. Tabakaeva O.V., Kalenik T.K., Tabakaev A.V. Anti-radical activity of products of processing of a holothuria of *Cucumaria japonica* and their practical application for stabilization of lipids. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 2015; Vol. 84 (1): 66–72. (in Russian)
2. Besednova N.N., Epstein L.N. Immunoactive peptides from hydrobionts and land animals. Vladivostok : TINRO-center, 2004: 248 p. (in Russian)
3. Lyubavskaya T.YA. Antimicrobial and immunomodulatory properties of complex extracts from a trepang Japanese : Diss. Vladivostok, 1996: 29 p. (in Russian)
4. Davidovich V.V., Pivnenko T.N. Amino acids of bivalve mollusks: a biological role and application as BAD. *Izv. TINRO.* 2001; Vol. 129: 146–53. (in Russian)
5. Alvarez I.-G., Storey in rabbit spermatozoa and protect against mobility. *Biol. Reprod.* 1993; Vol. 29 (3): 4–8. (in Russian)
6. Ayushin N.B., Petrov I.P., Epstein L.M. Nitrogenous extractive substances in fabrics of Far East mollusks. *Izv. TINRO.* 1999; Vol. 125: 52–5. (in Russian)
7. Ayushin N. B., Petrov I.P., Epstein L.M. Taurin and karnozin in fabrics of the Pacific mollusks. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 1997; Vol. 6: 6–9. (in Russian)
8. Ovodova R.G., Molchanov V.I., Mikheyskaya L.V., Ovodov Yu.S. A general characteristic of bioglikanov-immunomodulators from invertebrates of the Sea of Japan. *Khimiya prirodnykh soedineniy [Chemistry of Natural Connections]*. 1990; Vol. 26 (6): 738–42. (in Russian)
9. Zyuuzgina A.A., Kupina N.M. The characteristic of abivalve mollusk of *Anadara broughtoni* as raw materials for production of foodstuff. *Khrenenie i pererabotka sel'khozsyry'a [Storage and Processing of Agricultural Raw Materials]*. 2001; Vol. 1: 40–3. (in Russian)
10. Kiselyov V.V., Kupina N.M., Povalyaeva N.T. Tekhnokhimicheskaya the characteristic of some species of bivalve mollusks. *The XXI century – prospects of development of fishery science.* In: Materials of the All-Russian Internet conference of young scientists. Vladivostok : TINRO-center, 2002; 155–62. (in Russian)
11. GOST 26929-94 Raw materials and foodstuff. Preparation of tests. A mineralization for definition of the maintenance of toxic elements. М. : Standartinform. 2010: 12 p. (in Russian)
12. GOST 26927-86. Raw materials and foodstuff. Mercury definition methods. М. : Standartinform, 2010: 14 p. (in Russian)
13. GOST 30178-96. Raw materials and foodstuff. Nuclear and absorbing method of definition of toxic elements. М. : Standartinform, 2010: 10 p. (in Russian)
14. GOST 26185-04. Seaweed, herbs sea and products of their processing. Analysis methods. М. : Standartinform, 2010: 36 p. (in Russian)
15. Sidorov V.S., Lizenko E.I., Bolgova O.M., Nefedov Z.A. Lipids of fishes. 1. Analysis methods. Fabric specificity of a ryapushka of *Coregonusalbula* L. In: *Salmon (Salmonidae) Karelia.* Petrozavodsk : Karelian Phil. Academy of Sciences of the USSR, 1972; Vol. 1: 152–63. (in Russian)
16. Engelbrecht F.M., Mori F., Anderson I.T. Cholesterol determination in serum. A rapid direct method. *S Afr Med J.* 1974; Vol. 48: 250–6.
17. Yakushina L.M., Beketova N. A., Bender E.D., Haritonchik L.A. Use of the HPLC methods for definition of vitamins B biological liquids and foodstuff. *Voprosy pitaniia [Problems of Nutrition]*. 1993; Vol. 1: 43–8. (in Russian)
18. Norms of physiological needs for energy and feedstuffs for various groups of the population of the Russian Federation. Methodical recommendations of MR 2.3.1.2432-08. URL: <http://www.niiot.ru/doc/bank01/doc113/doc.htm> (in Russian)
19. Reference book on a chemical composition and technological properties of seaweed, invertebrate and sea mammals. Moscow : VNIRO, 1999: 262 p. (in Russian)

20. Kovedokova L.T., M. V Simokon. Heavy metals in trade mollusks of Peter the Great Bay. Izvestiya TINRO [News of the TINRO]. 1995; Vol. 118: 124–9. (in Russian)
21. A SanPiN of 2.3.2.2401-08 Additions and change No. 10 to sanitary and epidemiologic rules and standards the SanPiN 2.3.2.1078-01 «Hygienic requirements of safety and a nutrition value of foodstuff». URL: <http://03.rospotrebnadzor.ru/documents/ob-utverzhdenii-san-pin-2-3-2-2401-08-id-1868/> (in Russian)
22. The reference book on dietology. 3rd prod., reslave. and additional / eds V.A. Tutelyan, M.A. Samsonova. Moscow : Meditsina, 2002: 544 p. (in Russian)
23. Uniform sanitary and epidemiologic and hygienic requirements to the goods which are subject to sanitary and epidemiologic control (supervision). URL: https://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/laws/tsouz/t_souz_food.pdf (in Russian)

Для корреспонденции

Черноусова Инна Владимировна – кандидат технических наук, старший научный сотрудник отдела аналитических исследований и инновационных технологий ГБУ Республики Крым «Национальный научно-исследовательский институт винограда и вина «Магарач»»
 Адрес: 298600, Республика Крым, г. Ялта, ул. Кирова, д. 31
 Телефон: (978) 706-80-85
 E-mail: chernblack@mail.ru

А.М. Авидзба¹, А.В. Кубышкин², Т.И. Гугучкина³, В.А. Маркосов³, А.М. Кацев², Н.В. Наумова², Ю.И. Шрамко², Г.П. Зайцев¹, И.В. Черноусова¹, Ю.А. Огай¹, И.И. Фомочкина²

Антиоксидантная активность продуктов переработки красных сортов винограда «Каберне-Совиньон», «Мерло», «Саперави»

The antioxidant activity of the products of processing of red grape of Cabernet Sauvignon, Merlot, Saperavi

A.M. Avidzba¹, A.V. Kubyshkin², T.I. Guguchkina³, V.A. Markosov³, A.M. Katsev², N.V. Naumova², Yu.I. Shramko², G.P. Zaytsev², I.V. Chernousova¹, Yu.A. Ogay¹, I.I. Fomochkina²

- ¹ ГБУ Республики Крым «Национальный научно-исследовательский институт винограда и вина «Магарач», Ялта
- ² Медицинская академия им. С.И. Георгиевского ФГАУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», Симферополь
- ³ ФГБНУ «Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства», Краснодар
- ¹ National Research Institute for Grape and Wine «Magarach», Yalta
- ² Medical Academy of V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol
- ³ North Caucasian Regional Research Institute of Horticulture and Viticulture, Krasnodar

В статье представлены экспериментальные данные по антиоксидантной активности сока, вина и концентратов из винограда «Каберне-Совиньон», «Мерло» и «Саперави» Крыма и Краснодарского края. Флавоноиды представлены антоцианами в форме гликозидов дельфинидина, мальвидина, цианидина, петунидина, пеонидина, а также кверцетином и его гликозидом, (+)-D-катехином, (-)-эпикатехином. В значительном количестве присутствуют олигомерные процианидины, представляющие собой конденсированные катехиновые единицы (2–6), растворимые в воде, а также полимерные процианидины с количеством катехиновых единиц более 7, не растворимые в воде, которые составляют основную часть полифенолов вина и концентратов из красных сортов винограда (в соке отсутствуют). Среди нефлавоноидных полифенолов идентифицированы оксibenзойные (галловая, сиреневая) и оксикоричные (кафтаровая, каутаровая) кислоты, относительное содержание которых в сумме полифенолов максимально в соке, минимально в концентратах. Установлено, что независимо от вида продукта показатель антиоксидантной активности в стандартных единицах тролокса (Trolox) можно

оценить по уравнению: $Y=0,53627+0,1395X+0,080439X^2-0,00064708X^3$ с коэффициентом корреляции $r=0,9952$; где: Y – антиоксидантная активность, g/dm^3 в пересчете на тролокс; X – массовая концентрация фенольных веществ по Фолину–Чокальтеу, g/dm^3 . Уравнение справедливо при $Y=0,76-196,22$; $X=1,0-82,67$. Результаты биотестирования виноматериалов «Каберне-Совиньон», «Мерло», «Саперави» и полифенольных концентратов «Эноант», «Эноант Премиум», «Фэнокор» на биологической модели биолюминесцентных бактерий *Photobacterium leiognathi Sh1* показали достоверность биотеста для оценки антиоксидантной активности, которая хорошо коррелирует как с величинами концентраций полифенолов, так и с показателем антиоксидантной активности в единицах тролокса.

Ключевые слова: полифенолы винограда, антиоксидантная активность, биотестирование, биолюминесцентные бактерии, вино, концентраты винограда

*Experimental data on the antioxidant activity of grape juice, grape concentrates and wine from grapes of Cabernet Sauvignon, Merlot and Saperavi from Crimea and Krasnodar regions was presented. Flavonoids are presented in the form of glycosides of such anthocyanins as delphinidin, malvidin, cyanidin, petunidin, peonidin and also by quercetin and its glycoside, (+)-D-catechin and (-)-epicatechin. Oligomeric procyanidins, which are condensed catechol units (2–6) soluble in water, are presented in significant amounts, and polymeric procyanidins with the amount catechin units greater than 7, insoluble in water, constituted the bulk of polyphenols of wine and concentrates from red grapes (no juice). Among non-flavonoid polyphenols hydroxybenzoic (gallic, syringic) and hydroxycinnamic (caftaric, cautaric) acids are identified, the relative content of which in the amount of polyphenols in the juice is maximum, and minimum is in concentrates. It was found that antioxidant activity for all products in standard Trolox method can be estimated by the equation: $Y=0.53627+0.1395X+0.080439X^2-0.00064708X^3$, with a correlation coefficient $r=0.9952$; where: Y – antioxidant activity, g/dm^3 by Trolox method; X – mass concentration of phenolic substances on the Folin–Ciocalteu, g/dm^3 . The equation is valid for $Y=0.76-196.22$; $X=1.0-82.67$. The results of biological testing of wines Cabernet Sauvignon, Merlot, Saperavi and polyphenol concentrates from grape on the biological model of bioluminescent bacteria *Photobacterium leiognathi Sh1* demonstrated the applicability of bioassay to assess the antioxidant activity, which correlates well with the polyphenols content and antioxidant activity by trolox method.*

Keywords: grape polyphenols, antioxidant activity, bioluminescent bacteria, biotesting, wine, grape concentrates

Полифенолы винограда культурного, содержащиеся в кожце, мякоти и семечке виноградной ягоды, определяют антиоксидантную активность продуктов его переработки, которые, поступая в организм человека с питанием, препятствуют процессам перекисного окисления в биомембранах, повышают антиоксидантный статус и снижают риск возникновения заболеваний сердечно-сосудистой и дыхательной систем (атеросклероз, ишемическая болезнь, бронхит, бронхиальная астма, эмфизема, ревматизм), стресса, аллергии, лучевой болезни, отравления, старения организма, сахарного диабета и других нарушений обмена веществ [1, 2]. Условно поли-

фенолы продуктов переработки красных сортов винограда можно распределить на две группы: флавоноидные и нефлавоноидные полифенолы. Флавоноиды включают такие соединения, как антоцианы, флавоны, мономерные и олигомерные (процианидины) и полимерные (танины) флаван-3-олы. Нефлавоноидные полифенолы представлены в основном оксикоричными и оксибензойными кислотами [3]. Среди групп полифенолов, присутствующих в продуктах переработки винограда в значительных объемах, можно выделить флаван-3-олы и галловую кислоту, являющиеся наиболее мощными антиоксидантами среди полифенолов винограда [4, 5].

Систематизированные данные о качественном и количественном составе полифенолов продукции из массовых красных сортов винограда для промышленной переработки, таких как «Каберне-Совиньон», «Саперави», «Мерло», а также сведения, характеризующие антиоксидантную активность этой продукции, отсутствуют, что затрудняет оценку перспектив ее применения для здорового питания.

Цель исследования – установить экспериментально антиоксидантную активность, а также качественный и количественный состав полифенолов в продукции из красных сортов винограда «Каберне-Совиньон», «Саперави», «Мерло».

Материал и методы

При проведении исследований использовали сок, вино, пищевые концентраты полифенолов из винограда сортов «Каберне-Совиньон», «Саперави», «Мерло», произведенные в Крыму и на Кубани, полученные от производителей, урожая 2014 г. Хранили вина при температуре, не превышающей +16 °С, и относительной влажности 65–80%, пищевые концентраты полифенолов винограда – при температуре +5...+20 °С и относительной влажности воздуха 65–80%.

Качественный и количественный состав полифенолов определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием хроматографической системы «Agilent Technologies 1100» («Agilent», США) с диодно-матричным детектором. Для разделения веществ использовали хроматографическую колонку Zorbax SB-C18 размером 2,1×150 мм, заполненную силикагелем с привитой октадецилсилильной фазой с размером частиц сорбента 3,5 мкм. Анализ проводили в градиентном режиме. Состав элюента: раствор А – метанол, раствор В – 0,6% водный раствор трифторуксусной кислоты. Состав элюента в ходе анализа изменялся по следующей схеме (по содержанию компонента В): 0 мин – 8%; 0–8 мин – 8–38%; 8–24 мин – 38–100%; 24–30 мин – 100%; скорость потока элюента – 0,25 мл/мин. Объем вводимой пробы – 1 мкл. Хроматограммы регистрировали при следующих длинах волн: 280 нм для галловой кислоты, (+)-D-катехина, (-)-эпикатехина и процианидинов, 313 нм для производных оксикоричных кислот, 371 нм для кверцетина и 525 нм для антоцианов. Идентификацию веществ производили путем сравнения их спектральных характеристик времени удерживания с аналогичными характеристиками стандартов. Спектральные характеристики отдельных веществ получали с использованием данных литературы [6–8].

Количественное содержание индивидуальных компонентов рассчитывали с использованием калибровочных графиков зависимости площади пика от концентрации вещества, построенных по растворам индивидуальных веществ. Содержание антоцианов определяли в пересчете на хлорид мальвидин-3-О-глюкозида, содержание кафтаровой кислоты – в пересчете на кофейную кислоту, содержание полимерных и олигомерных процианидинов производили в пересчете на (+)-D-катехин. Все определения проводили в трех повторностях.

В качестве стандартов использовали галловую кислоту, кофейную кислоту, (+)-D-катехин, хлорид мальвидин-3-О-глюкозида, кверцетин дигидрат, изокверцитрин («Fluka Chemie AG», Швейцария) и (-)-эпикатехин, сиреневую кислоту («Sigma-Aldrich», Швейцария).

Результаты исследований обрабатывали стандартными методами математической статистики [9].

Массовую концентрацию фенольных веществ определяли колориметрическим методом, основанным на том, что реактив Фолина–Чокальтеу при добавлении в исследуемый продукт окисляет фенольные группы, восстанавливаясь при этом в соединение голубого цвета. Интенсивность окраски пропорциональна концентрации фенольных веществ.

Исследуемый концентрат полифенолов винограда разбавляли в 100 раз. В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещали 1 см³ исследуемого раствора, добавляли 1 см³ реактива Фолина–Чокальтеу, 10 см³ раствора карбоната натрия. Доводили дистиллированной водой до метки при температуре 20±0,5 °С и перемешивали. Через 30–40 мин измеряли оптическую плотность растворов в кювете 10 мм при длине волны 670 нм против контрольного раствора на колориметре фотоэлектрическом «КФК-2» (ЗОМЗ, РФ). Значение массовой концентрации фенольных веществ в мг/дм³ по галловой кислоте определяли по градуировочной кривой [10].

За окончательный результат принимали среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, допускаемое расхождение между которыми не превышало (для диапазона измерений 3000–20 000 мг/дм³) 33 мг/дм³. Предел погрешности при доверительной вероятности $p=0,95$ для диапазона измерения 3000–20 000 мг/дм³ составлял ±39 мг/дм³.

Определения проводили в 3 повторностях.

Для оценки антиоксидантной активности образцов продукции (сока, вина, концентратов) использовали амперометрический метод измерения массовой концентрации антиоксидантов по стандартному антиоксиданту тролоксу (Trolox) на приборе «Цвет-Яуза 01-АА» (НПО «Химавтоматика», РФ) по ГОСТ Р 54037 [11].

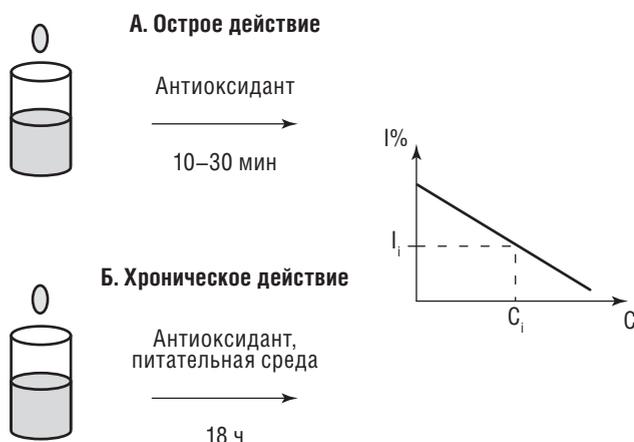


Рис. 1. Методики биотестирования острого (а) и хронического (б) действий с использованием светящихся бактерий

Для проведения биolumинесцентного анализа антиоксидантной активности использовали светящиеся бактерии *Photobacterium leiognathi* Sh1 из коллекции Медицинской академии, Крымского федерального университета [12]. Биотестирование проводили по методикам оценки острого и хронического действий образцов на биolumинесценцию тест-бактерий (рис. 1А, Б).

Подготовку бактериальных культур для биотестирования антиоксидантной активности проводили, как описано ранее [12]. Для определения острого действия образцов (см. рис. 1А) в кюветах люминометра смешивали 0,8–0,9 мл тестируемого виноматериала в 3% NaCl, 100 мкл фосфатного буферного раствора, рН 7,0 и 50–200 мкл бактериальной суспензии до конечной концентрации 5×10^5 кл/мл. Изменение интенсивности биolumинесценции регистрировали в течение 30 мин с использованием биolumинометра «БЛМ 8801» (СКТБ «Наука», РФ) с самописцем. Интенсивность действия выражали в виде значений биolumинесценции при определенной концентрации образцов (мг/мл, для растворов индивидуальных веществ) или их разведения (V/V, для растворов неизвестного состава).

Хроническое действие определяли как влияние тестируемого объекта на рост и биolumинесценцию *P. leiognathi* Sh1. Для этого после измерения острого воздействия в пробы дополнительно вносили 20–50 мкл стерильной питательной среды для светящихся бактерий («Himedia», Индия, с добавлением NaCl до конечной концентрации 3%) и помещали их в термостат при температуре 30 °С. После инкубации в течение 18 ч измеряли интенсивность биolumинесценции, как описано выше (см. рис. 1Б).

Результаты и обсуждение

Экспериментальные данные по качественному и количественному составу полифенолов винограда, антиоксидантной активности соков, вин и концентратов полифенолов из винограда «Каберне-Совиньон», «Саперави», «Мерло» приведены в табл. 1 и 2.

Как видно из данных табл. 1 и 2, сведения литературы о флавоноидной и нефлавоноидной природе полифенолов красных сортов винограда находят подтверждение в наших опытах.

Флавоноиды представлены антоцианами в форме гликозидов дельфинидина, мальвидина, цианидина, петунидина, пеонидина, а также кверцетином и его гликозидом, (+)-D-катехином, (-)-эпикатехином. В значительном количестве присутствуют олигомерные процианидины, представляющие собой конденсированные катехиновые единицы (2–6), растворимые в воде, а также полимерные процианидины с количеством катехиновых единиц более 7, не растворимые в воде. Полимерные процианидины составляют основную часть полифенолов вина и концентратов из красных сортов винограда, находятся в продукции в лабильном состоянии; в соке наблюдается полное отсутствие олигомерных и полимерных процианидинов, как известно, обладающих многообразной биологической активностью [13]. Среди нефлавоноидных полифенолов идентифицированы оксibenзойные (галловая, сиреневая) и оксикоричные (кафтаровая, каутаровая) кислоты, относительное содержание которых в сумме полифенолов максимально в соке, минимально в концентратах.

Сумма фенольных веществ в образцах продукции, найденная по данным ВЭЖХ и колориметрически (по реактиву Фолина–Чокальтеу), в пересчете на галловую кислоту систематически различается, что, по-видимому, связано с большей чувствительностью методики ВЭЖХ.

Оценка антиоксидантной активности *in vitro* амперометрическим методом по ГОСТ Р 54037 [11] показала, что величина антиоксидантной активности в единицах тролокса возрастает по мере увеличения концентрации полифенолов в продукции (см. табл. 1, 2). При этом данные табл. 1 и 2 по величинам антиоксидантной активности и массовой концентрации фенольных веществ аппроксимируются уравнением с коэффициентом корреляции $R=0,9952$:

$$Y=0,53627+0,1395X+0,080439X^2-0,00064708X^3,$$

где: Y – антиоксидантная активность, г/дм³ в пересчете на тролокс; X – массовая концентрация фенольных веществ по Фолину–Чокальтеу, г/дм³.

Таблица 1. Фенольный состав и антиоксидантная активность продуктов переработки винограда

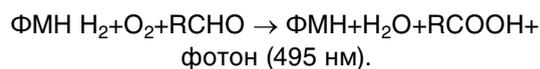
Показатель, мг/дм ³	Опытные образцы сока, Национальный научно-исследова- тельский институт винограда и вина «Магарач»		Вина ГК НПАО «Массандра»			Пищевые концентраты из «Каберне-Совиньон» ООО «РЕССФУД»		
	«Каберне- Совиньон»	«Мерло»	«Каберне»	«Мерло»	«Саперави»	«Эноант»	«Эноант Премиум»	«Фэнокор»
<i>Антоцианы</i>								
Сумма антоцианов	1,7±0,1	26,3±0,6	20,3±0,4	23,8±0,5	23,4±0,6	18,9±0,4	22,9±0,6	–
<i>Флавоны</i>								
Кверцетин-3-О- глюкозид	0,9 ±0,02	3,7 ±0,1	8,5 ±0,2	15,9 ±0,3	11,5 ±0,3	3,1 ±0,1	3,5 ±0,1	15,4 ±0,3
Кверцетин	–	–	2,8±0,1	1,6±0,03	1,2±0,03	49,6±1,1	81,2±2,0	10,2±0,2
<i>Флаван-3-олы</i>								
(+)-D-Катехин	–	2,1 ±0,1	34,7 ±0,7	44,8 ±0,9	26,8 ±0,6	177,6 ±4,0	208,5 ±5,1	1752,6 ±35,1
(-)-Эпикатехин	–	–	34,5 ±0,7	47,4 ±0,9	29,7 ±0,7	118,4 ±2,7	127,3 ±3,1	1374,2 ±27,5
<i>Оксикоричные кислоты</i>								
Кафтаровая кислота	49,8 ±1,1	104,4 ±2,5	45,6 ±0,9	58,0 ±1,1	44,3 ±1,1	11,7 ±0,3	16,9 ±0,4	–
Каутаровая кислота	–	–	7,5 ±0,2	10,0 ±0,2	7,4 ±0,2	1,8 ±0,04	2,4 ±0,1	–
<i>Оксибензойные кислоты</i>								
Галловая кислота	–	0,23 ±0,01	39,3 ±0,8	42,6 ±0,8	33,8 ±0,8	341,1 ±7,7	465,2 ±11,3	1119,2 ±22,4
Сиреневая кислота	1,7 ±0,04	7,7 ±0,2	7,0 ±0,1	5,3 ±0,1	9,0 ±0,2	22,6 ±0,5	26,2 ±0,6	–
<i>Проантоцианидины</i>								
Олигомерные проан- тоцианидины	–	–	187 ±4	222 ±4	200 ±5	603 ±14	1614 ±39	4598 ±92
Полимерные проан- тоцианидины	–	–	3045 ±61	3723 ±73	3525 ±84	28155 ±634	38436 ±932	172662 ±3455
<i>Интегральные показатели</i>								
Сумма фенольных веществ (ВЭЖХ), г/дм ³	0,062 ±0,001	0,163 ±0,004	3,43 ±0,1	4,20 ±0,1	3,91 ±0,1	29,50 ±0,7	41,01 ±1,0	181,53 ±3,6
Массовая концентрация фенольных веществ, в пересчете на галловую кислоту, г/дм ³	0,29 ±0,01	0,46 ±0,01	4,35 ±0,11	4,56 ±0,11	4,25 ±0,1	18,51 ±0,49	21,81 ±0,59	82,69 ±2,29
Антиоксидантная активность, г/дм ³ , в пересчете на тролокс	0,08 ±0,002	0,20 ±0,01	2,36 ±0,06	2,75 ±0,07	2,38 ±0,07	24,72 ±0,73	36,48 ±0,92	196,22 ±4,92

Уравнение справедливо в пределах варьирования 1,0–82,67 г/дм³ по фенольным веществам и 0,76–196,22 г/дм³ антиоксидантной активности. Уравнение, обобщающее величины антиоксидантной активности в широком диапазоне изменения концентрации полифенолов

для сока, вина и концентратов из красных сортов винограда «Каберне-Совиньон», «Саперави», «Мерло» позволяет косвенно оценить биологическую активность продукции при наличии банка данных, полученных для этой продукции *in vivo*.

Антиоксидантную активность образцов исследовали также на биологической модели люминесцентных бактерий, которые представляют собой разнородную группу микроорганизмов, объединенных по способности излучать видимый свет. Большинство представителей этой группы являются морскими бактериями, которые обитают практически во всех акваториях мирового океана. Бактериальная биолюминесценция представляет собой ферментативный процесс, сопровождающийся потреблением кислорода и выделением света. В общем виде химизм реакции генерации свечения может быть представлен как окисле-

ние восстановленного флавиномононуклеотида (ФМН Н₂) до ФМН с одновременным окислением длинноцепочечного алифатического альдегида (RCHO) до соответствующей жирной кислоты (RCOOH) [14]:



Традиционно светящиеся морские бактерии широко используются для биотестирования, в частности для оценки биотоксичности. Принцип биолюминесцентных тестов заключается в

Таблица 2. Фенольный состав и антиоксидантная активность столовых сухих красных вин производства винодельческих предприятий Краснодарского края

Показатель, мг/дм ³	ООО «Фанагория»			ООО «Кубань вино»			ООО «Кубанские вина»	
	«Сапери»	«Мерло»	«Каберне»	«Сапери»	«Мерло»	«Каберне»	«Сапери»	«Мерло»
<i>Антоцианы</i>								
Сумма антоцианов	341,9 ±8,3	286,7 ±5,6	292,3 ±6,2	556,2 ±12,4	167,5 ±3,8	133,3 ±2,7	111,7 ±2,2	66,6 ±1,4
<i>Флавоны</i>								
Кверцетин-3-О-глюкозид	18,5 ±0,5	15,2 ±0,3	8,9 ±0,2	9,8 ±0,2	36,9 ±0,8	15,7 ±0,3	6,6 ±0,1	4,6 ±0,1
Кверцетин	2,8 ±0,07	1,1 ±0,02	0,9 ±0,02	0,7 ±0,02	4,1 ±0,1	0,3 ±0,01	0,5 ±0,01	0,4 ±0,01
<i>Флаван-3-олы</i>								
(+)-D-Катехин	31,1 ±0,8	63,6 ±1,2	58,1 ±1,2	58,6 ±1,3	83,5 ±1,9	60,8 ±1,2	38,2 ±0,7	45,2 ±1,0
(-)-Эпикатехин	43,8 ±1,1	58,2 ±1,1	49,9 ±1,1	71,2 ±1,6	78,8 ±1,8	52,9 ±1,1	31,4 ±0,6	45,1 ±1,0
<i>Оксикоричные кислоты</i>								
Кафтаровая кислота	24,1 ±0,6	59,8 ±1,2	49,2 ±1,0	69,6 ±1,6	52,7 ±1,2	29,9 ±0,6	36,9 ±0,7	34,4 ±0,7
Каутаровая кислота	2,4 ±0,1	5,7 ±0,1	6,8 ±0,1	11,8 ±0,3	5,4 ±0,1	3,5 ±0,1	3,4 ±0,1	2,5 ±0,1
<i>Оксибензойные кислоты</i>								
Галловая кислота	58,2 ±1,4	41,8 ±0,8	45,0 ±1,0	63,0 ±1,4	67,8 ±1,5	78,1 ±1,6	64,7 ±1,3	71,5 ±1,5
Сиреневая кислота	6,6 ±0,2	1,9 ±0,04	4,5 ±0,1	4,3 ±0,1	4,0 ±0,1	8,4 ±0,2	5,2 ±0,1	4,7 ±0,1
<i>Проантоцианидины</i>								
Олигомерные проантоцианидины	227 ±6	215 ±4	188 ±4	212 ±5	222 ±5	221 ±5	166 ±3	164 ±4
Полимерные проантоцианидины	2476 ±60	1650 ±32	1749 ±37	2380 ±53	2072 ±47	2068 ±42	2411 ±47	1805 ±39
<i>Интегральные показатели</i>								
Сумма фенольных веществ (ВЭЖХ), г/дм ³	3,23 ±0,08	2,40 ±0,05	2,45 ±0,05	3,44 ±0,08	2,79 ±0,06	2,67 ±0,05	2,88 ±0,06	2,24 ±0,05
Массовая концентрация фенольных веществ, в пересчете на галловую кислоту, г/дм ³	3,86 ±0,10	3,75 ±0,11	3,84 ±0,09	4,13 ±0,08	3,85 ±0,08	3,89 ±0,10	3,94 ±0,10	3,86 ±0,09
Антиоксидантная активность, г/дм ³ , в пересчете на тролокс	2,14 ±0,05	2,23 ±0,06	2,25 ±0,05	2,69 ±0,06	2,49 ±0,06	2,37 ±0,07	2,59 ±0,08	2,50 ±0,06

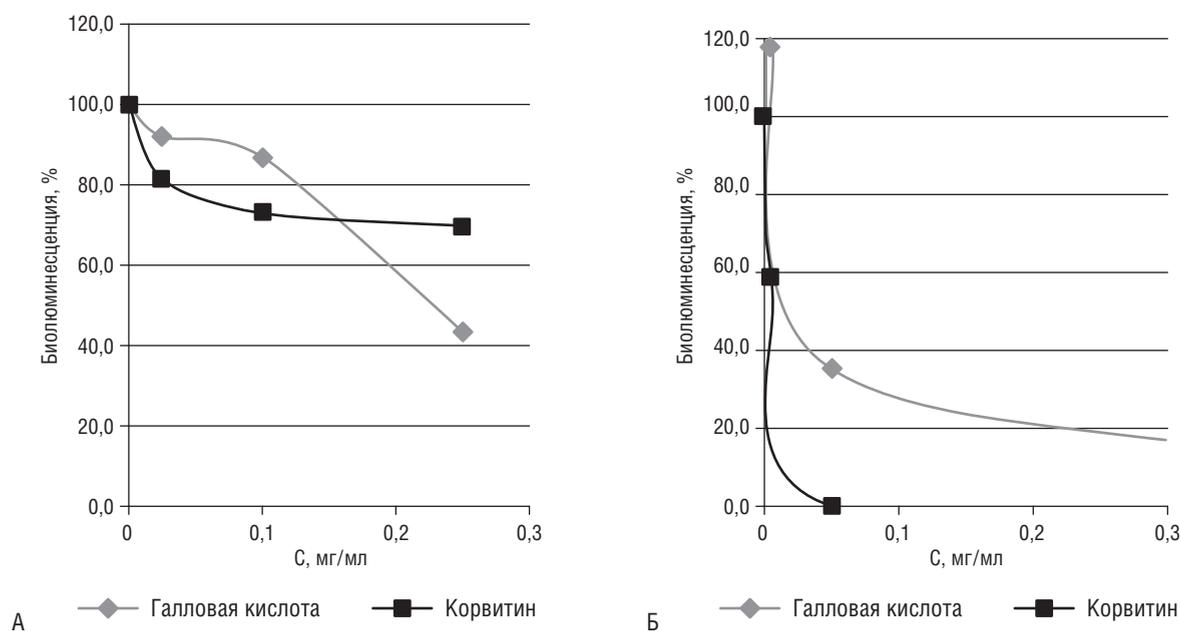


Рис. 2. Действие галловой кислоты и корвитина на биолуминесценцию *P. leiognathi* Sh1: А – 10-минутный тест; Б – 18-часовой тест

инкубировании люминесцирующих бактерий в анализируемых средах, содержащих вещество или смеси веществ, способных оказать влияние на физиологическое состояние бактериальных клеток. Соответственно, возможными реакциями являются отсутствие изменения уровня свечения, его повышение или снижение, в последнем случае обычно интерпретируемое как развитие токсического эффекта. При этом в случае исследования образцов неизвестного состава, регистрируемый отклик неспецифичен, так как отражает реакцию на всю совокупность присутствующих в пробе химических веществ [14–16].

В данной работе люминесцентные бактерии были использованы для биотестирования антиоксидантных свойств виноматериалов. При этом биолуминесцентная реакция бактерий с участием фермента люциферазы рассматривалась как модельная окислительная система и ее ингибирование как результат антиокислительного действия [17, 18]. Учитывая, что бактерии реагируют изменением свечения на самые различные факторы, в том числе биоцидные, одновременно с антиоксидантной активностью тест показывал и наличие антибактериальных свойств виноматериалов, что можно считать дополнительным преимуществом такого подхода.

На первом этапе для испытания люминесцентных бактерий в качестве модели для изучения антиоксидантной активности изучали воздействие двух модельных антиоксидантов: галловой кислоты (нефлавоноидное фенольное соедине-

ние) и кверцетина (флавоноид) на интенсивность бактериальной люминесценции. В качестве водорастворимой формы кверцетина использовали фармацевтический препарат корвитин (ПАО НПЦ «Борщаговский ХФЗ», Украина), представляющий собой комплекс кверцетина с поливинилпирролидоном.

Оба препарата оказывали сходное ингибирование биолуминесценции бактерий, которое отмечалось через 10 мин (рис. 2А) и усиливалось при 18-часовом тесте на хроническое действие (рис. 2Б). В последнем случае наблюдалось также увеличение хронического эффекта корвитина по сравнению с галловой кислотой.

Далее было изучено действие образцов виноматериалов и виноградных концентратов на биолуминесценцию фотобактерий (рис. 3). Результаты оценки острого действия (10 и 30 мин) показали более сильное воздействие концентратов («Эноант», «Эноант Премиум», «Фэнокор») по сравнению с образцами вин.

При использовании 18-часового биотеста на хроническое действие наблюдалось изменение в активности полифенольных концентратов (рис. 4). Если при 10- и 30-минутных тестах ингибирование биолуминесценции «Эноантами» и «Фэнокором» было практически одинаково, то при в 18-часовом тесте отмечалось усиление действия в ряду «Эноант» (6) – «Эноант Премиум» (4) – «Фэнокор» (5), что совпадает с увеличением содержания в них полифенольных антиоксидантов, а также с увеличением общей антиоксидантной активности.

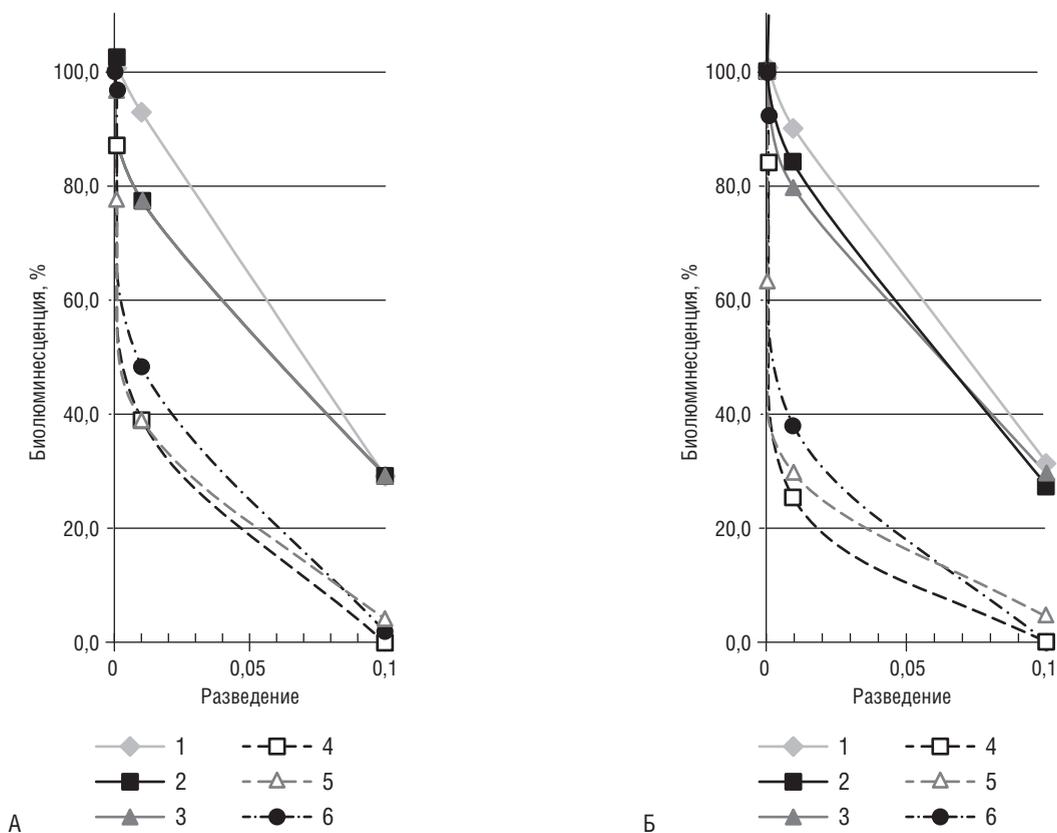


Рис. 3. Действие исследованных образцов виноматериалов на биоломинесценцию *P. Leioagnathi* Sh1: А – 10-минутный тест; Б – 30-минутный тест. Здесь и на рис. 4: 1 – «Мерло»; 2 – «Саперави»; 3 – «Каберне»; 4 – «Эноант Премиум»; 5 – «Фэнокор»; 6 – «Эноант».

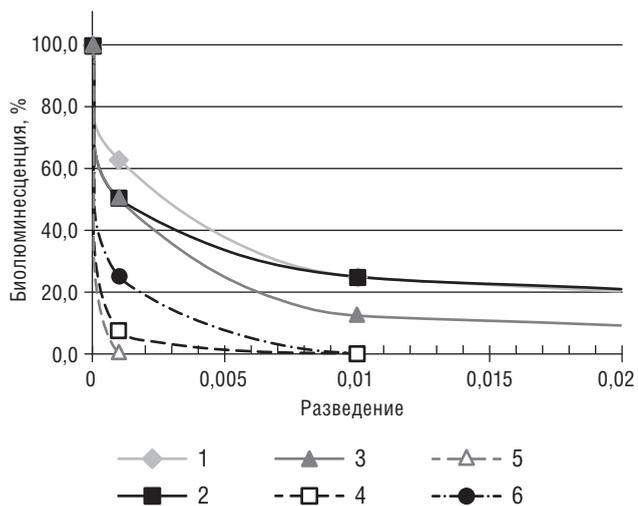


Рис. 4. Хроническое действие исследуемых образцов виноматериалов на биоломинесценцию *P. Leioagnathi* Sh1, 18-часовой тест

Представлялось интересным установить корреляционные зависимости между показателями антиоксидантной активности в биологическом тесте по ингибированию бактериальной биоло-

минесценции и данными по содержанию фенолов согласно ВЭЖХ, фотокolorиметрическому методу и общей антиоксидантной активности по тролоксу. Как видно из табл. 3, между результатами биотестирования на светящихся бактериях и значениями антиоксидантной активности, полученными другими методами, наблюдается достаточно строгая обратная корреляция. Более высокое содержание антиоксидантов в образцах приводило к более сильному ингибированию бактериальной биоломинесценции и более низким показателям интенсивности свечения тест-бактерий. Наиболее высокие коэффициенты корреляций 0,75–0,81 наблюдались при использовании значений биоломинесценции при 18-часовом тесте на хроническое действие и при разведении образца в 1000 раз (0,001).

Таким образом, в работе проведен качественный и количественный физико-химический анализ антиоксидантной активности продуктов переработки красных сортов винограда «Каберне-Совиньон», «Мерло», «Саперави», получено экспериментальное уравнение для расчетов антиоксидантной активности образцов в единицах тролокса.

Таблица 3. Корреляция показателей антиоксидантной активности образцов и результатов биотестирования на светящихся бактериях

Образец	Билюминесценция, отн. ед.		
	10 мин, разведение 0,01	30 мин, разведение 0,01	18 ч, разведение 0,001
«Каберне»	77,52	79,83	50,25
«Мерло»	93,02	90,34	62,81
«Саперави»	77,52	84,03	50,25
«Эноант»	48,45	37,82	25,13
«Эноант Премиум»	38,76	25,21	7,54
«Фэнокор»	38,76	29,41	0
Корреляция с содержанием фенольных веществ (ВЭЖХ), г/дм ³	-0,672	-0,651	-0,781
Корреляция с содержанием фенольных веществ по Фолину–Чокальтеу, г/дм ³	-0,709	-0,690	-0,809
Корреляция с антиоксидантной активностью по тролоксу, г/дм ³	-0,635	-0,611	-0,750

Показана достоверность биотеста на люминесцентных тест-бактериях *Photobacterium leiognath* Sh1 для оценки антиоксидантной активности вино-материалов и виноградных концентратов.

Коэффициенты корреляции значений антиоксидантной активности, полученных с использованием биотеста на светящихся бактериях (хроническое действие,

18 ч), с данными ВЭЖХ, результатами определения по Фолину–Чокальтеу и тролоксу составляли 0,75–0,81.

Статья выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России.

Уникальный идентификатор ПНИ RFMEFI60414X0077 при подписании Соглашения № 14.604.21.0077.

Сведения об авторах

Авидзба Анатолий Мканович – доктор сельскохозяйственных наук, академик, директор ГБУ Республики Крым «Национальный научно-исследовательский институт винограда и вина «Магарач»» (Ялта)
E-mail: magarach@rambler.ru

Кубышкин Анатолий Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по науке Медицинской академии им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского» (Симферополь)
E-mail: kubyshkin_av@mail.ru

Гугучкина Татьяна Ивановна – доктор сельскохозяйственных наук, профессор, заведующая научным центром виноделия ФГБНУ «Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства» (Краснодар)
E-mail: guguchkina@mail.ru

Маркосов Владимир Арамович – доктор технических наук, заведующий лабораторией специальных рас дрожжей ФГБНУ «Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства» (Краснодар)
E-mail: kubansad@kubannet.ru

Кацев Андрей Моисеевич – доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой медицинской и фармацевтической химии Медицинской академии им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского» (Симферополь)
E-mail: katsev@mail.ru

Наумова Наталья Валентиновна – ассистент кафедры медицинской и фармацевтической химии Медицинской академии им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского» (Симферополь)
E-mail: naumova-csmu@mail.ru

Шрамко Юлиана Ивановна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры общей и клинической патофизиологии Медицинской академии им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского» (Симферополь)
E-mail: julianashramko@rambler.ru

Зайцев Георгий Павлович – младший научный сотрудник ГБУ Республики Крым «Национальный научно-исследовательский институт винограда и вина «Магарач»» (Ялта)

E-mail: gorg-83@mail.ru

Черноусова Инна Владимировна – кандидат технических наук, старший научный сотрудник отдела аналитических исследований и инновационных технологий ГБУ Республики Крым «Национальный научно-исследовательский институт винограда и вина «Магарач»» (Ялта)

E-mail: chernblack@mail.ru

Огай Юрий Алексеевич – кандидат технических наук, старший научный сотрудник, начальник отдела аналитических исследований и инновационных технологий ГБУ Республики Крым «Национальный научно-исследовательский институт винограда и вина «Магарач»» (Ялта)

E-mail: enoant@yandex.ru

Фомочкина Ирина Ивановна – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник ЦНИЛ Медицинской академии им. С.И. Георгиевского ФГАОВ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского» (Симферополь)

E-mail: fomochkina_i@mail.ru

Литература

1. Яшин Я.И., Рыжнев В.Ю., Яшин А.Я., Черноусова Н.И.. Природные антиоксиданты. Содержание в пищевых продуктах и их влияние на здоровье и старение человека. М.: ТрансЛит, 2009. 192 с.
2. Биологические активные вещества винограда и здоровье : монография / под общ. ред. А.Л. Загайко. Харьков : Форт, 2012. 404 с.
3. Огай Ю.А., Алексеева Л.М., Сиказан О.М., Катрич Л.И. Полифенольные биологически активные компоненты пищевого концентрата «Эноант» // Материалы конференции «Биологически активные природные соединения винограда – III: Гигиенические и медицинские эффекты применения продуктов с высоким содержанием полифенолов винограда». Ялта, 17–18 декабря 2004 г. URL: http://enoant.info/_pdf/_sb2/3_enoant_info_Ogay.pdf.
4. Bombardelli E., Morazzoni P. Vitis vinifera L. // Fitoterapia. 1995. Vol. LXVI, N 4. P. 291–317.
5. Teissedre P.L., Walzem R.L., Waterhouse A.L., Cterman J.B. et al. Composes phenoliques durasin, duvinetsante // Revue des Oenologues. 1996. Vol. 79. P. 7–14.
6. Bagchi D., Bagchi M., Stohs S.J., Das D.K. et al. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention // Toxicology. 2000. Vol. 148. P. 187–197.
7. Bagchi D., Sen C.K., Ray S.D., Dipak K. et al. Molecular mechanisms of cardioprotection by a novel grape seed proanthocyanidin extract // Mutat. Res. 2003. Vol. 523. P. 87–97.
8. Woodring P. J., Edwards P.A., Chisholm M.G. HPLC determination of nonflavonoid phenols in vidal blanc wine using electrochemical detection // J. Agric. Food Chem. 1990. Vol. 38. P. 729–732.
9. Лакин Г.Ф. Биометрия : учеб. пособие для биол. спец. вузов. 4-е изд., перераб. и доп. М. : Высш. шк., 1990. 352 с.
10. Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище. Руководство Р 4.1.1672.
11. ГОСТ 3 54037-2010 Продукты пищевые. Определение содержания водорастворимых антиоксидантов амперометрическим методом в овощах, фруктах, продуктах их переработки, алкогольных и безалкогольных напитках.
12. Кацев А.М. Новые термофильные люминесцентные бактерии, выделенные из Азовского моря // Таврический медико-биологический вестн. 2014. Т. 17, № 2. С. 59–64.
13. В.Г. Спрыгин, Н.Ф. Кушнерова. Природные олигомерные процианидины – перспективные регуляторы метаболических нарушений // Вестн. ДВО РАН. 2006. № 2. С. 81–90.
14. Дерябин Д.Г. Бактериальная биолюминесценция: фундаментальные и прикладные аспекты. М. : Наука, 2009. 248 с.
15. Berest G.G., Voskoboynik O.Y., Kovalenko S.I., Nosulenko I.S. et al. Synthesis of New 6- ω -(Dialkylamino(heterocyclyl)alkyl)thio]-3-R-2H-[1,2,4]triazino[2,3-c]quinazoline-2-ones and evaluation of their anticancer and antimicrobial activities // Sci. Pharm. 2012. Vol. 80, N 1. P. 37–65.
16. Antipenko L.N., Karpenko A.V., Kovalenko S.I., Katsev A.M. et al. Synthesis, cytotoxicity by bioluminescence inhibition, antibacterial and antifungal activity of ([1,2,4]triazolo[1,5-c]quinazolin-2-ylthio)carboxylic acid amides // Arch. Pharm. (Weinheim). 2009. Vol. 342, N 11. P. 651–620.
17. Kudryasheva N., Vetrova E., Kuznetsov A. et al. Bioluminescence assays: effects of quinones and phenols // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2002. Vol. 53, N 3. P. 198–203.
18. Исмаилов А.Д. Биолюминесценция как излучательная форма защиты от окислительного стресса у морских фотобактерий // Материалы VII Съезда Российского фотобиологического общества, пос. Шепси, 14–20 сентября 2014 г. Пущино, 2014. С. 104.

References

1. Yashin Ya.I., Ryzhnev V.Yu., Chernousova N.I. Natural antioxidants. Their content in food products and influence on human's health and ageing process. Moscow: TransLit, 2009: 192 p. (in Russian)
2. Biologically active substances in grapes and health. Monograph / Ch. ed. A.L. Zagaiko. Kharkov: Fort, 2012: 404 p. (in Russian)
3. Ogai Yu.A., Alekseeva L.M., Sikazan O.M., Katritch L.I. Polyphenolic biologically active components in «Enoant» food concentrate. In: Conference materials «Biologically active natural compounds in grapes – III. Hygienic and Medical effects in products usage with high content of grape polyphenols». Yalta, 17–18 December 2004. URL: http://enoant.info/_pdf/_sb2/3_enoant_info_Ogay.pdf. (in Russian)
4. Bombardelli E., Morazzoni P. Vitis vinifera L. Fitoterapia. 1995; Vol. LXVI (4): 291–317.
5. Teissedre P.L., Walzem R.L., Waterhouse A.L., Cterman J.B. et al. Composes phenoliques durasin, duvinetsante. Revue des Oenologues. 1996: Vol. 79: 7–14.
6. Bagchi D., Bagchi M., Stohs S.J., Das D.K. et al. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. Toxicology. 2000: Vol. 148: 187–197.
7. Bagchi D., Sen C.K., Ray S.D., Dipak K., et al. Molecular mechanisms of cardioprotection by a novel grape seed proanthocyanidin extract. Mutat Res. 2003; Vol. 523: 87–97.

8. Woodring P. J., Edwards P.A., Chisholm M.G. HPLC determination of nonflavonoid phenols in vidal blanc wine using electrochemical detection. *J Agric Food Chem.* 1990; Vol. 38: 729–32.
9. Lakin G.F. *Biometrics: tutorial for institutes specializing in biological sciences.* 4th ed. improved and amended. Moscow: Vyschaya Schkola, 1990: 352 p. (in Russian)
10. Guidebook: quality control methods and safety for biologically active food supplements. Guidebook P 4.1.1672. (in Russian)
11. State Standard GOST 3 54037-2010 Food products. Definition of water-soluble antioxidant content in vegetables, fruit and processed products, alcohol and alcohol-free beverages by amperometric method. (in Russian)
12. Katsev A.M. New thermophilic luminescent bacteria evolved from the Azov Sea. [*Tavrida Medical and Biological Bulletin*]. 2014; Vol. 17 (2): 59–64. (in Russian)
13. Sprygin V.G., Kushnerova N.F. Natural oligomeric proanthocyanidins – perspective metabolic disorders' regulators. [*FEB RAS Bulletin*]. 2006; Vol. 2: 81–90. (in Russian)
14. Deryabin D.G. *Bacterial bioluminescence: fundamental and applied aspects.* Moscow: Nauka, 2009: 248 p. (in Russian)
15. Berest G.G., Voskoboynik O.Y., Kovalenko S.I., Nosulenko I.S. et al. Synthesis of New 6- ω -(Dialkylamino(heterocyclyl)alkyl)thio)-3-R-2H-[1,2,4]triazino[2,3-c]quinazoline-2-ones and evaluation of their anticancer and antimicrobial activities. *Sci Pharm.* 2012; Vol. 80 (1): 37–65.
16. Antipenko L.N., Karpenko A.V., Kovalenko S.I., Katsev A.M., et al. Synthesis, cytotoxicity by bioluminescence inhibition, antibacterial and antifungal activity of ([1,2,4]triazolo[1,5-c]quinazolin-2-ylthio)carboxylic acid amides. *Arch Pharm (Weinheim).* 2009; Vol. 342 (11): 651–20.
17. Kudryasheva N., Vetrova E., Kuznetsov A. et al. Bioluminescence assays: effects of quinones and phenols. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2002; Vol. 53 (3): 198–203.
18. Ismailov A.D. Bioluminescence as a radioactive way of protection for sea photobacteria from oxidizing stress. *Materials of VII Congress of Russian PhotoBiological Society, Schepsi settlement, 14–20 September 2014*. Pushino, 2014: 104. (in Russian)

Для корреспонденции

Арнаут Олег Вячеславович – директор Департамента санитарных, фитосанитарных и ветеринарных мер Евразийской экономической комиссии

Адрес: 119121, г. Москва, Смоленский бульвар, д. 3/5, стр. 1

Телефон: (495) 669-25-24

E-mail: arnautov@eecommission.org

О.В. Арнаут

О совершенствовании механизмов установления и изменения показателей качества и безопасности пищевой продукции в нормативных и правовых актах Евразийского экономического союза

On improvement of the mechanism for establishing and changing indicators of quality and food safety in the regulatory and legal acts of the Eurasian Economical Union

O.V. Arnautov

Департамент санитарных, фитосанитарных и ветеринарных мер Евразийской экономической комиссии, Москва
Department of Sanitary, Phytosanitary and Veterinary Measures of Eurasian Economic Comission, Moscow

В соответствии с Договором о Евразийском экономическом союзе (далее – Союз) в целях обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения в рамках Союза проводится согласованная политика в сфере применения санитарных мер. Санитарные меры – обязательные для исполнения требования и процедуры, в том числе требования к конечному продукту, методы обработки, производства, транспортировки, хранения и утилизации, процедуры отбора образцов, методы исследований (испытаний), оценки риска, государственной регистрации, требования к упаковке, непосредственно направленные на обеспечение безопасности продукции (товаров) в целях защиты жизни и здоровья человека, – должны применяться на основе принципов, имеющих научное обоснование, и только в той степени, в которой это необходимо для защиты жизни и здоровья человека. Санитарные меры, применяемые в рамках Союза, должны основываться на международных и региональных стандартах, руководствах и (или) рекомендациях, за исключением случаев, когда на основе соответствующего научного обоснования вводятся санитарные меры, которые обеспечивают более высокий уровень санитарной защиты. В настоящее время механизм разработки, обоснования и утверждения единых санитарно-эпидемиологических требований (ЕСТ) и процедур актами Евразийской экономической комиссии (Комиссии) не установлен. Отсутствие четкого механизма разработки, утверждения и применения ЕСТ к продукции (товарам) на основе принципов, имеющих научное обоснование, с одной стороны, может приводить к созданию необоснованных барьеров во внешней и взаимной торговле, с другой – ослаблять уровень безопасности для жизни и здоровья человека продукции (товаров), выпускаемых в обращение на территорию Союза. В целях приведения нормативных правовых актов Таможенного союза в соответствие с Договором о Евразийском экономическом союзе Комиссией совместно с уполномоченными органа-

ми государств-членов в области санитарно-эпидемиологического благополучия разработан и в настоящее время проходит процедуры согласования проект Порядка разработки, утверждения, изменения и применения единых санитарно-эпидемиологических и гигиенических требований и процедур (далее – Порядок). Проектом Порядка предусмотрено, что единые санитарные требования устанавливаются на основании научных исследований, в том числе оценки риска вредного воздействия на организм человека факторов среды обитания, с учетом анализа международного опыта в целях гармонизации единых санитарных требований с международными стандартами, руководствами и (или) рекомендациями. Принятие проекта Порядка, а также применение единых методологий оценки рисков и гигиенического нормирования при установлении и обосновании показателей безопасности продукции (товаров) в Союзе позволит оперативно и транспарентно разрабатывать, обосновывать, согласовывать и утверждать единые санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования и процедуры к подконтрольной санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю) продукции (товарам) и включать их в технические регламенты Союза.

Ключевые слова: пищевая продукция, санитарно-эпидемиологические, гигиенические требования, оценка рисков, Евразийский экономический союз

In accordance with the Treaty on the Eurasian Economic Union (EAEU) to ensure the sanitary and epidemiological welfare of the population within the Union, a coordinated policy in agreed policy in the sphere of application of sanitary measures is carried out. Sanitary measures are the obligatory requirements and procedures, including requirements for the final product, processing methods, production, transportation, storage and disposal, sampling procedures, methods of research (tests), risk assessment, the state registration, requirements for packaging directly aimed at ensuring the safety of products (goods) in order to protect human welfare, and they should be applied on the basis having a scientific explanation, and only to the extent that is necessary to protect human welfare. Sanitary measures applied within the Union should be based on international and regional standards, guidelines and (or) the recommendations, except when they based on appropriate scientific studies and explanations. In this case sanitary measures which could provide a higher level of sanitary protection are introduced. At present, the mechanism of the development, justification and approval of common sanitary and epidemiological requirements (ESR) and procedures of the Eurasian Economic Commission (the Commission) is not installed. The absence of a clear mechanism for the development, approval and implementation of the ESR to the products (goods) on the basis having a scientific explanation on the one hand could lead to the creation of unjustified barriers to foreign and mutual trade, on the other – to weaken the level of safety for human life and health of products (goods) placed on markets of the Union. In order to bring the regulatory legal acts of the Customs Union in accordance with the Treaty on the Eurasian Economic Union the Commission in cooperation with the competent authorities of the Member States in the field of sanitary and epidemiological welfare developed the project of Guidelines for development, approval, modification and application of common sanitary epidemiological and hygienic requirements and procedures (hereinafter – Guidelines) which is currently undergoing approval procedures. The project envisages that the Uniform sanitary requirements are established on the basis of scientific research, including the evaluation of the risk of harmful effects of the environment on the human factors, taking into consideration the analysis of international experience in order to harmonize common sanitary requirements with international standards, guidelines and (or) recommendations. Adoption of the draft Guidelines, as well as the application of common methodologies of risk assessment and the hygienic standardization in establishing and justifying safety performance of products (goods) in the Eurasian Economic Union allow quickly and transparently develop, validate, coordinate and approve the Uniform sanitary and epidemiological and hygienic requirements and procedures for sanitary inspection (control) of products (goods) and include them into technical regulations Union.

Keywords: food products, sanitary-epidemiological, hygienic requirements, risk estimation, Eurasian Economic Union

Евразийский экономический союз (далее – Союз) – это международная организация региональной экономической интеграции, обладающая международной правосубъектностью и учрежденная Договором о Евразийском экономическом союзе, подписанным главами государств Беларуси, Казахстана и России в Астане 29 мая 2014 г. [1]. В настоящее время членами Союза являются 5 государств: Армения, Беларусь, Казахстан, Киргизия и Российская Федерация (далее – государства-члены). В Союзе обеспечиваются свобода

движения товаров, услуг, капитала и рабочей силы, проведение скоординированной, согласованной или единой политики в отраслях экономики, определенных Договором [1] и международными договорами в рамках Союза.

В соответствии с Договором о Евразийском экономическом союзе (глава XI, статья 56) [1] в целях обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения в рамках Союза проводится согласованная политика в сфере применения санитарных мер, которая реализуется

путем разработки, принятия и реализации государствами-членами международных договоров и актов Евразийской экономической комиссии (далее – Комиссия) в области применения санитарных мер. Санитарные меры – обязательные для исполнения требования и процедуры, в том числе требования к конечному продукту, методы обработки, производства, транспортировки, хранения и утилизации, процедуры отбора образцов, методы исследований (испытаний), оценки риска, государственной регистрации, требования к упаковке, непосредственно направленные на обеспечение безопасности продукции (товаров) в целях защиты жизни и здоровья человека, – должны применяться на основе принципов, имеющих научное обоснование, и только в той степени, в которой это необходимо для защиты жизни и здоровья человека. Санитарные меры, применяемые в рамках Союза, должны основываться на международных и региональных стандартах, руководствах и (или) рекомендациях, за исключением случаев, когда на основе соответствующего научного обоснования вводятся санитарные меры, которые обеспечивают более высокий уровень санитарной защиты [1].

Евразийская экономическая комиссия наделена полномочиями по установлению единых санитарно-эпидемиологических и гигиенических требований (ЕСТ) и процедур к продукции (товарам), подлежащей санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю). Порядок разработки, утверждения, изменения и применения ЕСТ и процедур утверждается Комиссией. ЕСТ и процедуры к продукции (товарам), в отношении которой разрабатываются технические регламенты Союза, включаются в технические регламенты в соответствии с актами Комиссии.

В настоящее время механизм разработки, обоснования и утверждения единых санитарно-эпидемиологических требований и процедур актами Комиссии не установлен. Это обусловлено тем, что до подписания Договора о Евразийском экономическом союзе [1] Комиссия не была наделена полномочиями по принятию решений такого порядка. В связи с этим принятие актов комиссии в сфере санитарных мер осуществляется на общих основаниях в соответствии с Регламентом работы Комиссии. Отсутствие процедурного регламентирующего документа, определяющего порядок разработки, научного обоснования, рассмотрения, согласования, утверждения, внесения изменений и включения установленных требований в технические регламенты Союза, приводит к тому, что, во-первых, зачастую поступают в Комиссию и принимаются к рассмотрению инициативы не только от государств-членов и их уполномоченных органов, но и от представителей бизнес-сообществ; во-вторых, поступающие предложения не всегда содержат оценку рисков и научные обоснования вносимых

предложений, не всегда базируются на международных стандартах, руководствах и рекомендациях; в-третьих, процедура рассмотрения поступивших предложений четко не регламентирована, что, в свою очередь, приводит к длительному их рассмотрению и согласованию; в-четвертых, установленные актами Комиссии ЕСТ и процедуры зачастую не включаются разработчиками в проекты технических регламентов Союза либо включаются в параметрах, не соответствующих установленным в ЕСТ; в-пятых, актуализация нормативов гигиенической безопасности в ЕСТ, установленная актом Комиссии, не является безусловным и обязательным основанием для изменения аналогичных нормативов в действующих технических регламентах Союза. Отсутствие четкого механизма разработки, утверждения и применения ЕСТ к продукции (товарам) на основе принципов, имеющих научное обоснование, с одной стороны, может приводить к созданию необоснованных барьеров во внешней и взаимной торговле, с другой – ослаблять уровень безопасности для жизни и здоровья человека продукции (товаров), выпускаемых в обращение на территорию Союза. В целях приведения нормативных правовых актов Таможенного союза в соответствие с Договором о Евразийском экономическом союзе [1] Комиссией совместно с уполномоченными органами государств-членов в области санитарно-эпидемиологического благополучия разработан и в настоящее время проходит процедуры согласования проект Порядка разработки, утверждения, изменения и применения единых санитарно-эпидемиологических и гигиенических требований и процедур (далее – Порядок). Проектом Порядка предусмотрено, что ЕСТ устанавливаются на основании научных исследований, в том числе оценки риска вредного воздействия на организм человека факторов среды обитания, с учетом анализа международного опыта в целях гармонизации ЕСТ с международными стандартами, руководствами и (или) рекомендациями. ЕСТ включаются в документ Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования к продукции (товарам), подлежащей санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю). ЕСТ и (или) процедуры включаются в разрабатываемые технические регламенты Союза в соответствии с проектом Порядка – положения о порядке разработки, принятия, внесения изменений и отмены технического регламента Таможенного союза. Разработку, изменение ЕСТ и процедур осуществляет Комиссия на основании предложений государств – членов Союза. Внесение изменений в принятые технические регламенты Союза в части изменений требований безопасности, включенных из ЕСТ к продукции (товарам), подлежащей санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю), и процедур осуществляется в соответствии с раз-

работанным Порядком. В целях разработки, утверждения и изменения ЕСТ и процедур государства-члены представляют в Комиссию:

- обращение (письмо), содержащее предложение и обоснование принятия ЕСТ или изменения к ним;
- научное обоснование принятия предлагаемых ЕСТ, включая анализ международного опыта;
- сведения о методах исследований (испытаний) и (или) измерений, утвержденных государствами-членами в порядке, установленном национальным законодательством, или предлагаемые методы исследований (испытаний) и (или) измерений при отсутствии и (или) невозможности применения имеющихся.

Комиссия в течение 10 рабочих дней со дня поступления обращения направляет государству-члену:

- подтверждение о принятии материалов, предусмотренных п. 9 проектом Порядка, к рассмотрению и о включении данного вопроса в проект повестки очередного заседания Подкомитета по санитарным мерам при Консультативном комитете по техническому регулированию, применению санитарных, карантинных фитосанитарных и ветеринарно-санитарных мер (далее – Подкомитет);
- в случае отсутствия материалов, предусмотренных п. 9 проекта Порядка, возвращает представленные материалы с обоснованием отказа в принятии.

В случае направления предложений об изменении ЕСТ к продукции, в отношении которой принят технический регламент Союза, и (или) процедур, государства-члены дополнительно представляют в Комиссию предложение о внесении изменений в соответствующий технический регламент Союза. Комиссия в течение 20 рабочих дней со дня направления Комиссией государству-члену подтверждения о принятии представленных материалов для рассмотрения готовит на основании представленных материалов проект (проекты) решения Комиссии об изменении ЕСТ и внесении изменений в технический регламент (далее – проекты).

Проект (проекты) решения Комиссии и материалы к нему выносятся на рассмотрение очередного заседания Подкомитета.

По результатам рассмотрения Подкомитет принимает решение о вынесении проекта (проектов) решения Комиссии на публичное обсуждение.

В случае принятия Подкомитетом этого решения Комиссия в течение пяти рабочих дней обеспечивает размещение его и информационно-аналитической справки в соответствии с Регламентом работы Комиссии на официальном сайте Союза в сети Интернет в целях организации публичного обсуждения.

Для представления замечаний (предложений) к проекту (проектам) решения Комиссии устанавливается срок продолжительностью не менее 60 календарных дней с даты официального опубликования проекта (проектов) решения на официальном сайте Союза в сети Интернет.

Комиссия в течение пяти календарных дней со дня размещения на официальном сайте Союза проекта (проектов) решения Комиссии и информационно-аналитической справки информирует в письменной форме, в том числе посредством электронной почты, о начале проведения публичного обсуждения проекта (проектов) Комиссии:

- членов рабочей группы Комиссии по проведению оценки регулирующего воздействия проектов решений Комиссии;
- координаторов от бизнес-сообщества каждого государства-члена, определенных бизнес-диалогом;
- представителей бизнес-сообщества, научных и общественных организаций, иных независимых экспертов, включенных в состав соответствующего консультативного органа;
- иных лиц, которых, по мнению департамента-разработчика, целесообразно привлечь к подготовке проекта решения Комиссии.

Указанным лицам направляется информация:

- о месте размещения на официальном сайте Союза проекта решения Комиссии, информационно-аналитической справки и опросного листа (полных электронных адресах – гиперссылках);
- о сроке проведения публичного обсуждения, в течение которого департаментом-разработчиком принимаются предложения, и способе их представления (с использованием соответствующего сервиса официального сайта Союза, на бумажных носителях и (или) посредством электронной почты).

В течение 30 рабочих дней после окончания срока публичного обсуждения Комиссия:

- рассматривает все предложения (замечания), поступившие в ходе публичного обсуждения, а также проводит необходимые консультации;
- составляет сводку комментариев и предложений по форме, установленной в Приложении № 1;
- в случае необходимости дорабатывает проект (проекты) решения Комиссии с привлечением уполномоченных органов государств-членов;
- размещает проект (проекты) решения Комиссии и сводку комментариев и предложений на официальном сайте Союза в сети Интернет.

Проект решения Комиссии о внесении изменений в соответствующий технический регламент Союза направляется в государства-члены для проведения внутригосударственного согласования.

Проект (проекты) решения Комиссии вносятся на рассмотрение очередного заседания Консультативного комитета.

тативного комитета по техническому регулированию, применению санитарных, карантинных фитосанитарных и ветеринарно-санитарных мер (далее – Консультативный комитет).

Одобренный на заседании Консультативного комитета проект (проекты) решения Комиссии в соответствии с Регламентом работы Комиссии вносится на рассмотрение Коллегии Комиссии.

При принятии Коллегией Комиссии решения об изменении ЕСТ к продукции, в отношении которой принят технический регламент Союза и (или) процедур, Коллегия Комиссии одновременно одобряет проект решения Совета Комиссии о внесении изменений в соответствующий технический регламент Союза и вносит его на рассмотрение Совета Комиссии.

Совет Комиссии принимает решение о внесении изменений в соответствующий технический регламент Союза.

В случае поступления письменных обращений о несоответствии решения Комиссии, устанавливающего ЕСТ, международным стандартам проводится его экспертиза в соответствии с Положением о едином порядке проведения экспертизы нормативных правовых актов в области применения санитарных, ветеринарных и фитосанитарных мер, утвержденным решением Коллегии Комиссии от 6 ноября 2012 г. № 212 в целях гармонизации санитарных мер, применяемых на таможенной территории Союза.

Кроме того, в целях применения единых подходов при разработке ЕСТ Союза целесообразно наличие и применение единых методологий оценки рисков и гигиенического нормирования при установлении показателей безопасности продукции (товаров).

С этой целью, основываясь на положениях международного законодательства и опыте государств – членов Союза, Комиссия совместно с научными учреждениями Российской Федерации (ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», ФГБНУ «Научно-исследовательский институт питания»), Республики Беларусь (ГУ «Республиканский научно-практический центр гигиены») и Республики Казахстан (Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова) уже разработала Методологию оценки рисков здоровью населения при воздействии химических, физических и биологических факторов для определения показателей безопасности продукции (товаров) (далее – Методология). Она устанавливает единые для государств – членов Союза методы и критерии оценки риска для здоровья населения с использованием инструментов математического моделирования, учитывает и развивает методические подходы, изложенные в стандартах ИСО [2, 3] и законодатель-

ных документах Комиссии Кодекс Алиментариус [4], а также позволяет в динамике и с учетом возрастных особенностей потребителей проводить оценку риска продукции, обладающей комплексом разнородных факторов опасности (химической, биологической, физической). Новый подход к оценке риска продукции позволяет оценивать:

- эволюцию риска для здоровья за период контакта потребителя с продукцией;
- уровень риска для разных групп потребителей;
- одновременное влияние комплекса разнородных факторов риска продукции на человека;
- структуру риска.

Методология базируется на следующих принципах:

- приоритет безопасности человека перед экономическими и хозяйственными интересами производителей и продавцов продукции (товаров);
- научная обоснованность оценки. Реализуется через максимальное использование релевантных данных на этапах идентификации опасности, оценки экспозиции и зависимостей «экспозиция–эффект (ответ)»;
- однозначность и четкость выводов о результатах оценки риска;
- прозрачность оценки риска. Обеспечивается свободным доступом к описанию всех процедур, исходных и промежуточных данных, а также к результатам оценки риска;
- реалистичность сценариев экспозиции с одновременным учетом специфики групп населения с высокой чувствительностью и наиболее подверженных риску;
- полнота оценки риска. Обеспечивается рассмотрением возможности возникновения неблагоприятных последствий при кратковременном и длительном воздействии факторов опасности продукции (товаров) с учетом комбинированного и сочетанного действия, а также материальной и функциональной кумуляции;
- указание на ограничения, неопределенности и допущения, влияющие на результаты оценки риска, а также условия их применения для управления. Неопределенность или вариабельность в оценочных величинах риска может быть выражена качественно или количественно, но ее следует определить в количественных параметрах в той степени, в какой это достижимо с научной точки зрения;
- возможность пересмотра оценки риска с учетом независимых данных о нарушении здоровья потребителей, ассоциированных с использованием продукции (товаров), и новых научных данных об опасностях и угрозах, связанных с использованием продукции (товаров).

Схема проведения оценки риска, связанного с потреблением пищевых продуктов, для здоровья населения включает 4 этапа.

1. Идентификация опасности:

- установление в соответствии с принципиальными сценариями воздействия конкретных факторов риска и связанных с ними возможных нарушений здоровья;
- идентификация контингентов риска, определение критических точек;
- анализ формирования опасности в процессе производства пищевых продуктов в рамках системы ХАССП;

2. Оценка зависимости «доза–ответ»:

- определение безопасных уровней воздействия для факторов, обладающих пороговостью действия;
- параметризация зависимости «доза–ответ» для факторов беспорогового воздействия.

3. Оценка экспозиции:

- оценка качественной и количественной выраженности, частоты и продолжительности экспозиции;
- оценка путей воздействия вредных факторов с использованием сценарного подхода с учетом уровней потребления продукции (максимальный, рекомендуемый, фактический).

4. Характеристика риска:

- оценка допустимости уровня риска и его классификация для отдельных факторов и продукции в целом;
- интегральная оценка риска от воздействия разнородных факторов продукции;
- описание рисков как вероятностей отдельных эффектов с их количественной или полуквантитативной характеристикой.

Оценка риска с использованием Методологии может быть выполнена на всех этапах жизненного цикла продукции (товара): на стадии проектирования, оценки (подтверждения) соответствия, обращения на рынке.

Методология может применяться в следующих случаях:

- оценка (в случаях предупреждения) потенциального ущерба (вреда) здоровью человека;
- отнесение продукции (товаров) к категории рисков поставок;
- определение требований к маркированию продукции (товаров);
- принятие решений об отзыве продукции (товаров) или ее изъятии с рынка;
- принятие иных управляющих решений по минимизации рисков продукции (товаров).

В целях практического внедрения Методологии разработан макет прикладного информационно-аналитического обеспечения для количественной оценки риска здоровью человека на основе эволюционных моделей.

Консультативным комитетом по техническому регулированию, применению санитарных, ветеринарно-санитарных и карантинных фитосанитар-

ных мер при Комиссии одобрена для включения в план НИР на 2016–2017 гг. работа по теме: «Разработка методических указаний по установлению и обоснованию гигиенических нормативов содержания химических примесей, биологических агентов в пищевых продуктах по критериям риска здоровья человека».

Целью работы является разработка единых для государств – членов Союза гармонизированных с международными подходами методических указаний, содержащих описание методов установления гигиенических нормативов содержания химических примесей и биологических агентов в пищевых продуктах по критериям риска для здоровья человека.

Результатом научно-исследовательской работы будет являться проект межгосударственного методического документа – методических указаний «Установление и обоснование гигиенических нормативов содержания химических примесей и биологических агентов в пищевых продуктах по критериям риска для здоровья человека», который позволит стандартизировать процесс разработки максимально допустимых уровней содержания остаточных количеств ветеринарных препаратов, вредных химических веществ и пестицидов, обеспечивающих гигиеническую безопасность пищевых продуктов в рамках Союза.

Вместе с тем считаем обоснованной установленную практику введения новых гигиенических нормативов санитарно-микробиологической безопасности пищевой продукции, включающую:

- обобщение и научный анализ репрезентативных данных лабораторного контроля образцов пищевой продукции, не отвечающих санитарным нормам и правилам, утвержденных на предприятиях по изготовлению пищевой продукции и в учреждениях государственного надзора стран Союза;
- анализ данных об уровнях фактической предельной обсемененности микроорганизмами конкретных видов пищевой продукции, при которых на протяжении установленных сроков годности у этой продукции сохраняются надлежащие показатели качества и состояние безопасности для потребителей, а согласно сведениям эпидемиологического надзора они не фиксируются в качестве причинного фактора пищевых отравлений и инфекций.

Вместе с тем нормативы на продукцию для контингентов высокого риска и на ряд эпидзначимых продуктов должны быть научно обоснованы с использованием методологии оценки микробиологического риска и ее элементов [5, 6]. Все введенные показатели должны быть обеспечены методиками обнаружения и определения количества нормируемых микроорганизмов, утвержденными в установленном порядке.

Данный подход полностью соответствует стандарту Кодекс Алиментариус CAC/GL 21-1997 «Принципы и руководящие указания по установлению и применению микробиологических критериев, относящихся к пищевым продуктам» (пересмотр 2013 г.) [7], который предусматривает, что установление и применение микробиологических критериев должно соответствовать принципам, изложенным в данном документе, и должно быть основано на научной информации и анализе.

Основным принципом управления микробиологической безопасностью пищевых продуктов, согласно CAC/GL 21-1997, является профилактический подход, осуществляемый путем эффективной реализации мер контроля (при необходимости на протяжении всей пищевой цепи), которые валидированы на соответствие установленным требованиям к этим процедурам. Проведение оценки риска данным стандартом обозначается как допустимый подход («...может быть проведена на пищевые продукты в процессе их производства и использования, когда имеется достаточно данных»). Этот подход лежит в основе большинства действующих микробиологических нормативов, установленных в ряде развитых стран мира, в том числе Европейском союзе.

Принятие проекта Порядка, а также применение единых методологий оценки рисков и гигиенического нормирования при установлении и обосновании показателей безопасности продукции (товаров) в Союзе позволит (основываясь на принципах, имеющих научное обоснование, с учетом международных и региональных стандартов, руководств и (или) рекомендаций, в соответствии с Регламен-

том работы Комиссии) оперативно и транспарентно разрабатывать, обосновывать, согласовывать и утверждать ЕСТ и процедуры к подконтрольной санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю) продукции (товарам) и включать их в технические регламенты Союза. Принятие данного Порядка также позволит сократить сроки принятия решений о внесении изменений в ЕСТ и действующие технические регламенты Союза в части актуализации нормативов гигиенической безопасности подконтрольной санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю) продукции, являющейся объектом технического регулирования, объединив по времени процедуры согласования проектов актов Комиссии о внесении изменений в ЕСТ и в действующие технические регламенты Союза. Регламентация и оптимизация процедур установления в актах Союза обязательных требований к продукции (товарам) в сферах санитарных мер и технического регулирования позволит также не допускать противоречий, своевременно гармонизировать требования Союза с международными стандартами, руководствами и рекомендациями, что, в свою очередь, позволит избежать необоснованных барьеров во внешней и взаимной торговле и повысить уровень санитарно-эпидемиологического благополучия населения Союза.

Исследование выполнено в соответствии с заданием «Российского научного фонда аналитического исследования» (грант № 56-РНФ/15) «Анализ международного опыта с целью совершенствования систем контроля качества пищевой продукции в Российской Федерации как ключевой стратегии в области здоровьесберегающих технологий».

Литература

1. Договор о Евразийском экономическом союзе. Астана, 29 мая 2014 года. С. 56–63. URL: <http://www.eurasiancommission.org/ru/>
2. ISO 31000:2009. Риск-менеджмент. Принципы и руководства. 32 с.
3. ISO 10377:2013 Безопасность потребительских товаров. Руководство для поставщиков. 54 с.
4. Working principles for risk analysis for food safety for application by governments, CAC/GL 62-2007. 4 p.
5. Методические рекомендации «Оценка риска здоровью населения при воздействии факторов микробной природы, содержащихся в пищевых продуктах. Методические основы, принципы и критерии оценки», МР 2.1.10.0067-12. М., 2012. 53 с.
6. Principles and guidelines for the conduct of microbiological risk management (MRM), CAC/GL 63-2007. 15 p.
7. Принципы и руководящие указания по установлению и применению микробиологических критериев, относящихся к пищевым продуктам, CAC/GL 21-1997. 6 с.

References

1. The Treaty on the Eurasian Economic Union. Astana, May 29, 2014: 56–63. URL: <http://www.eurasiancommission.org/ru/v> (in Russian)
2. ISO 31000:2009 Risk management. Principles and guidelines. In: Stage: 90.92 (2013-12-18), TC/SC: ISO/TC 262: 24 p.
3. ISO 10377:2013 Consumer product safety. Guidelines for suppliers. In: Stage: 60.60 (2013-04-16), TC/SC: ISO/TMBG: 46 p.
4. Working principles for risk analysis for food safety for application by governments, CAC/GL 62-2007: 4 p.
5. Methodical Recommendations «Risk estimation of population's health in case of microbial factors exposure, contained in foods», МР 2.1.10.0067-12. Moscow, 2012: 53 p. (in Russian)
6. Principles and guidelines for the conduct of microbiological risk management (MRM), CAC/GL 63-2007: 15 p.
7. Principles and guidelines for the establishment and application of microbiological criteria to foods, CAC/GL 21-1997: 6 p.

Для корреспонденции

Кулакова Елена Николаевна – кандидат медицинских наук,
доцент кафедры госпитальной и поликлинической педиатрии
ГБОУ ВПО «Воронежский государственный медицинский
университет им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России
Адрес: 394024, г. Воронеж, ул. Бурденко, д. 1
Телефон: (4732) 37-27-46
E-mail: elena.n.kulakova@mail.ru

Е.Н. Кулакова, Т.Л. Настаушева, Е.А. Усачева

Здоровое питание: внедрение практико-ориентированной программы обучения

Healthy eating: implementation
of a practice-oriented training
program

E.N. Kulakova, T.L. Nastausheva,
E.A. Usacheva

ГБОУ ВПО «Воронежский государственный медицинский университет
им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России
Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko

Медицинские работники должны обладать современным уровнем знаний в области здорового питания, чтобы эффективно консультировать и обучать пациентов. Формировать эти знания и умения необходимо не только в структуре непрерывного медицинского образования, но и на додипломном этапе в течение обучения в медицинской образовательной организации. Основной целью данной работы было внедрение практико-ориентированной программы обучения студентов базовым принципам здорового питания и навыку эффективного консультирования пациентов. Для реализации программы обучения выбрана дисциплина «Нутрициология» на 2-м году обучения. Определен понятийно-категориальный аппарат дисциплины: нутрициология, здоровое питание, доказательная нутрициология. Для формирования у студентов навыка эффективной оценки индивидуального рациона, его коррекции и мотивации к изменениям разработан и внедрен метод консультирования и обучения пациентов «Индивидуальная пирамида питания», который является ключевым интегрирующим элементом программы, облегчающим запоминание, понимание и применение базовых принципов здорового питания на практике. Итоговая рабочая программа дисциплины состоит из двух разделов: «Общая нутрициология» и «Специальная нутрициология». Один из наиболее важных результатов обучения – оптимизация собственных студенческих рационов. Общее направление программы является практико-ориентированным, здоровьесберегающим и нацеленным на результат.

Ключевые слова: здоровое питание, доказательная нутрициология, индивидуальная пирамида питания, программа обучения

Health professionals need to have current knowledge and skills in nutrition. The knowledge and skills have to be acquired in programs of continuing medical education, but also in undergraduate medical education. The main purpose of this work was to develop and implement a practice-oriented training program in nutrition and healthy eating for medical students. The subject named «Nutrition»

was implemented into second-year medical curriculum. We defined a theoretical framework and terms such as nutrition, healthy eating, and evidence-based nutrition. In order to get learning outcomes we constructed a method of patients counseling and training «Individual food pyramid». The making of «Individual food pyramid» is a key integrate element of the program. It helps to memorize, understand and apply the basic principles of healthy eating in real life contexts. The final program consists of two sections: «General Nutrition» and «Special Nutrition». The most important intended learning outcome is student's lifestyle improvement. The program is practice-oriented and outcome-based.

Keywords: *nutrition, healthy eating, evidence-based nutrition, individual food pyramid, training program*

Существуют многочисленные доказательства влияния рациона питания на здоровье населения, в том числе на развитие хронических неинфекционных заболеваний, которые являются ведущими причинами преждевременной смертности как в России, так и в большинстве стран мира [1–6].

В 2010 г. распоряжением Правительства РФ утверждены Основы государственной политики Российской Федерации в области здорового питания населения на период до 2020 года. Целями данного документа являются сохранение и укрепление здоровья населения, профилактика заболеваний, обусловленных неполноценным и несбалансированным питанием, а одной из основных задач – разработка образовательных программ для различных групп населения по вопросам здорового питания [7].

Медицинским работникам отводится ключевая роль в реализации программ в области здорового питания, что требует современных знаний, умений и навыков, в том числе навыка консультирования и обучения населения [2–4].

По мнению экспертов ВОЗ, подобные программы должны реализовываться не только в структуре непрерывного медицинского образования, но и на додипломном этапе в течение обучения в медицинской образовательной организации [1].

Цель работы – разработать и внедрить программу обучения студентов медицинских образовательных организаций базовым принципам здорового питания, которая направлена на формирование не только современного уровня знаний, но и навыка эффективного консультирования, обучения населения, оценки и коррекции пищевого рациона.

Материал и методы

Дисциплина «Нутрициология»

В качестве платформы для реализации программы обучения студентов базовым принципам здорового питания выбрана дисциплина «Нутрициология», которая в соответствии с решением ГБОУ ВПО «Воронежский государственный ме-

дицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России определена в качестве дисциплины вариативной части профессионального цикла федерального государственного образовательного стандарта высшего профессионального образования (ФГОС ВПО) по специальности «Педиатрия».

В соответствии с ФГОС ВПО дисциплины вариативной части дают возможность расширения и (или) углубления знаний, умений, навыков и компетенций, определяемых содержанием базовых (обязательных) дисциплин, позволяют обучающимся получить углубленные знания и навыки для успешной профессиональной деятельности и (или) для дальнейшего продолжения обучения по программам послевузовского профессионального образования (интернатура, ординатура, аспирантура) [8]. В качестве стратегической цели при разработке рабочей программы дисциплины «Нутрициология» определено овладение несколькими общекультурными и профессиональными компетенциями ФГОС ВПО по специальности «Педиатрия», при этом ключевой обозначена профессиональная компетенция – способность и готовность к обучению детей, подростков и их родителей формированию навыков здорового образа жизни.

Включение дисциплины «Нутрициология» в учебный план специальности «Педиатрия» также было обусловлено требованиями ФГОС ВПО о необходимости обучения будущих педиатров решению следующих профессиональных задач [8]:

1. В структуре профилактической деятельности:
 - формирование у детей, подростков и их родителей мотивации к сохранению и укреплению здоровья;
 - проведение санитарно-просветительной работы среди детей, подростков, их родителей и медицинского персонала с целью формирования здорового образа жизни.
2. В структуре психолого-педагогической деятельности:
 - формирование у детей, подростков и членов их семей мотивации к внедрению элементов здорового образа жизни.

Учитывая, что в соответствии с ФГОС ВПО знания, умения и навыки дисциплин вариативной части стандарта определяются образовательными организациями самостоятельно [8], проектирование рабочей программы дисциплины «Нутрициология» осуществлялось сотрудниками кафедры госпитальной и поликлинической педиатрии с использованием технологии планируемых результатов обучения (learning outcomes) [9].

При формировании содержания дисциплины в качестве информационной базы выбраны утвержденные нормативные документы, действующие на территории РФ [10–12], зарубежные и международные рекомендации, в том числе рекомендации ВОЗ [13–19], российские научные издания [3, 20–22], образовательная программа для студентов медицинских вузов и врачей центров здоровья «Основы здорового питания» [23], а также информационные материалы для населения, составленные Минздравсоцразвития России и НИИ питания РАМН в 2009–2010 гг.

Во многих странах ключевыми национальными документами в области здорового питания являются нормы физиологических потребностей (Nutrient reference values) и руководства о здоровом питании для населения (Dietary guidelines) [24]. Если нормы физиологических потребностей имеют мало межнациональных отличий, то в руководствах о здоровом питании представляются основанные на результатах научных исследований, но соответствующие национальным традициям принципы здорового питания в терминах, понятных широкому массам населения [5, 25]. Наиболее известными из национальных руководств о здоровом питании являются американские рекомендации, которые обновляются каждые 5 лет и имеют фундаментальную доказательную базу [14, 15].

Понятийно-категориальный аппарат

Учитывая различное понимание терминологии, связанной со здоровым питанием, определены следующие основные понятия дисциплины.

- Нутрициология (nutrition, от греч. nutritio), или наука о питании, – это наука о пище, пищевых веществах и других компонентах, содержащихся в продуктах питания, их действии и взаимодействии, роли в поддержании здоровья или возникновении заболеваний, о процессах их потребления, усвоения, переноса, утилизации и выведения из организма [21].
- Здоровое питание (healthy eating) – это питание, которое в соответствии с результатами научных исследований, основанных на доказательствах, способствует укреплению здоровья и профилактике заболеваний. Определения «рациональное», «сбалансированное» и «оптимальное» питание не использовались в качестве синонимов здорового питания.

- Здоровье (health) – это состояние полного физического, душевного и социального благополучия, а не только отсутствием болезней и физических дефектов [26].
- Доказательная нутрициология (evidence-based nutrition) – это наука о питании, основанная на доказательствах. Несмотря на некоторые различия методов [5, 27–29], доказательная нутрициология является частью доказательной медицины.
- Доказательная медицина (evidence-based medicine) – это осознанное, четкое и беспристрастное использование наилучших из существующих доказательств с целью принятия решения о помощи конкретным больным [30]. На практике доказательная медицина предполагает интеграцию индивидуального клинического опыта с результатами систематических обзоров.
- Систематический обзор (systematic review) – это применение научных стратегий, которые уменьшают вероятность ошибок при принятии решений благодаря систематическому сбору, критической оценке и обобщению результатов всех первичных исследований по конкретной теме [30]. Систематический обзор включает всесторонний поиск всех публикаций, соответствующих критериям отбора, оценку дизайна и качества оригинальных исследований, обобщение данных и интерпретацию полученных результатов. Если в систематическом обзоре обобщение результатов нескольких первичных исследований осуществляется с использованием статистических методов, такие обзоры называются метаанализами. Выводы, полученные в систематических обзорах, имеют большую ценность, чем изолированные результаты отдельных исследований.

Именно на основании систематических обзоров разрабатываются клинические рекомендации, в том числе многие зарубежные национальные рекомендации по питанию для населения.

Метод консультирования и обучения

«Индивидуальная пирамида питания»

Общеизвестно, что графические модели более эффективны по сравнению с текстовой информацией для целей информирования широких масс населения о правильном выборе пищевых продуктов [25, 31].

Графическая модель базовых принципов здорового питания в виде пирамиды (Food Guide Pyramid) впервые была предложена в 1992 г. Департаментом сельского хозяйства США (USDA) после 11 лет научно обоснованного проектирования [32]. Эта модель была поддержана ВОЗ [18] и оказала значительное влияние на формирование знаний о базовых принципах здорового пи-

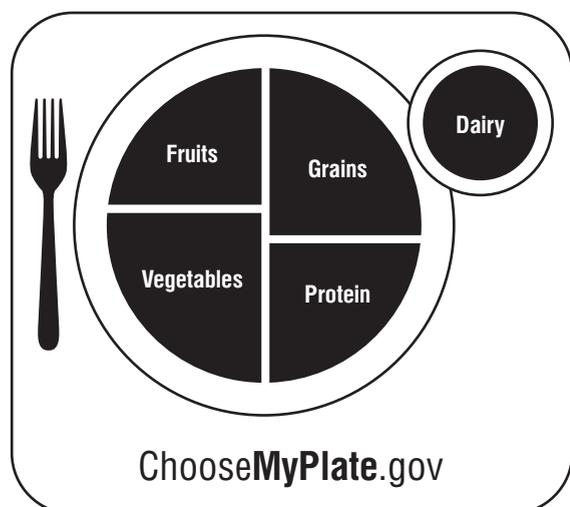


Рис. 1. Модель здорового питания (США) – «Моя тарелка» (Myplate). Fruits – фрукты; Vegetables – овощи; Grains – зерновые; Protein – белковые продукты; Dairy – молочные продукты

тания не только среди американского населения, но и во всем мире.

В 2005 г. в США появилась модель здорового питания – «Моя пирамида» (MyPyramid), которая из-за многочисленной критики в 2011 г. была заменена на новое изображение – «Моя тарелка» (Myplate) (рис. 1). Ожидается, что «Моя тарелка» (Myplate) оптимизирует не только знание и понимание, но и применение правил здорового питания среди населения [31]. Однако изображение здорового рациона питания в виде пирамиды до настоящего времени не потеряло своей актуальности и используется во многих странах мира. Наиболее известная современная пирамида здорового питания (Healthy Eating Pyramid) разработана сотрудниками Гарвардской школы общественного здоровья (Harvard School of Public Health) в соответствии с результатами современных научных исследований, основанных на доказательствах [33]. Российские диетологи также предлагают использовать пирамиду питания для обучения теории здорового питания и планирования рациона [23].

С целью формирования у студентов навыка эффективной оценки индивидуального рациона, его коррекции и мотивации к изменениям нами разработан и внедрен метод консультирования и обучения пациентов, не имеющих специальных диетических ограничений, – «Индивидуальная пирамида питания».

Этапы построения «Индивидуальной пирамиды питания»

I этап. Анализ пищевого рациона, записанного пациентом самостоятельно, с распределением продуктов и блюд по группам и уровням пирамиды (рис. 2):

- первый уровень – зерновые продукты (хлебобулочные, макаронные изделия, изделия из круп), картофель;
- второй уровень – овощи и фрукты;
- третий уровень – молочные продукты и белковые продукты (мясные, рыбные продукты, яйца, бобовые, орехи, семена);
- четвертый уровень – кондитерские изделия, сахар, колбасные изделия, фастфуд, а также жиродержащие продукты (сливочное масло, растительные масла, майонез, животные жиры и др.), в том числе в составе приготовленных блюд.

II этап. Расчет количества порций для каждой группы продуктов. Введение понятия одной порции и ее количественной характеристики осуществлялось в соответствии с адаптированными российскими рекомендациями [20, 21, 23]. Например, одна порция молочных продуктов – это один стакан молока (250 мл) или один кусок сыра (30 г). Использовались как визуальные ориентиры, так и приблизительное количество в граммах, стандартизированное для облегчения запоминания. Учитывалась вероятность погрешности, особенно при кратком консультировании, когда пациент предварительно не взвешивал продукты и блюда.

III этап. Визуальное графическое изображение полученных результатов в виде «Индивидуальной пирамиды питания» (рис. 3).

IV этап. Сравнение «Индивидуальной пирамиды питания» со средним рекомендуемым количеством порций, зависящим от возраста, пола и уровня физической активности [23, 32] (рис. 2).

V этап. Качественный анализ каждой группы продуктов:

- первый уровень. Не менее половины всех порций данного уровня должны быть представлены цельнозерновыми продуктами и блюдами из них;
- второй уровень. Овощи и фрукты должны быть разнообразными, а их общее количество не менее 400 г/сут (оптимально – 600 г). Рационально выбирать местные виды. Суточное потребление сока не должно превышать одного стакана;
- третий уровень. Молочные продукты должны быть разнообразными, рационально выбирать продукты с низким содержанием жира и соли. Среди белковых продуктов животного происхождения отдавать предпочтение мясу птицы (без жира) и рыбе. Употреблять рыбные блюда не менее 1–2 раз в неделю. Ограничить красное мясо (говядина, свинина, баранина) до 300–500 г в неделю. Употреблять яйца около 3–4 штук в неделю (ограничение относится только к желткам). Желательно иметь в ежедневном рационе белковые продукты растительного происхождения, такие как бобовые, орехи и семена;
- четвертый уровень. Рационален ежедневный прием растительного масла (чередовать разные



Рис. 2. Распределение пищевых продуктов и блюд по уровням пирамиды питания со средним рекомендуемым количеством порций



Рис. 3. Одна из характерных «Индивидуальных пирамид питания», соответствующих первичному студенческому рациону

виды) в пределах одной порции. Остальные продукты употреблять ограниченно и не ежедневно. Переработанное мясо (колбасы, копчености и т.д.) и продукты, содержащие трансжиры (фаст-фуд, а также кондитерские изделия на основе маргарина и т.д.), желателно полностью исключить из питания.

VI этап. Дополнительный анализ особенностей питания и образа жизни:

- количество приемов пищи;
- наличие завтрака;
- распределение суточной калорийности рациона между приемами пищи;
- время последнего приема пищи;
- наличие натуральных продуктов и блюд, приготовленных в домашних условиях;
- уровень потребления соли;
- кулинарная обработка;
- особенности выбора пищевых продуктов промышленного выпуска (умение анализировать информацию на этикетке);
- адекватный питьевой режим;
- адекватная физическая активность;
- контроль массы тела.

VII этап. Формирование рекомендаций по коррекции рациона, обучение самоанализу на основе «Индивидуальной пирамиды питания» и ведению дневника самоконтроля.

По нашему мнению, только после коррекции рациона с использованием «Индивидуальной пирамиды питания» целесообразен полноценный анализ химического состава и калорийности рациона, в том числе с использованием компьютерных программ, и сопоставление результатов с нормами физиологических потребностей.

Результаты и обсуждение

Итоговая рабочая программа дисциплины состоит из двух разделов: «Общая нутрициология» и «Специальная нутрициология».

Основные темы первого раздела:

- базовые принципы здорового питания;
- классификация пищевых веществ;
- нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах;
- химический состав и энергетическая ценность продуктов питания;
- программное обеспечение в нутрициологии;
- алгоритм оценки и основы коррекции пищевого рациона;
- основы консультирования по вопросам здорового питания.

Раздел «Специальная нутрициология» посвящен введению в такие темы, как «Питание и профилактика сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний», «Коррекция избыточной массы тела», «Биологически активные добавки к пище», «Основы здорового питания беременных женщин», «Основы здорового питания детей различного возраста».

Определены следующие основные планируемые результаты обучения в терминах умений, т.е. то, что студент в конце обучения по дисциплине должен уметь (способен продемонстрировать):

- провести опрос о рационе и режиме питания в структуре беседы (консультации) о здоровом питании;
- качественно и количественно проанализировать рацион питания;
- определить индивидуальные физиологические потребности в энергии и пищевых веществах;
- оценить и при необходимости составить план коррекции рациона и режима питания;
- провести беседу о реализации плана коррекции;
- обучить базовым принципам здорового питания и адекватной физической активности.

Одним из важных дополнительных планируемых результатов обучения заявлена оптимизация собственных студенческих рационов. С этой целью в программу обучения включены самоанализ, коррекция и мониторинг оптимизации пищевого рациона каждого студента.

Преподавание дисциплины «Нутрициология» на кафедре госпитальной и поликлинической педи-

атрии ГБОУ ВПО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России начато с 2013 г. на II курсе педиатрического факультета.

Ключевым интегрирующим элементом программы обучения, облегчающим запоминание, понимание и применение базовых принципов здорового питания, является навык построения «Индивидуальной пирамиды питания». Количественная и качественная оценка построенной пирамиды помогает студентам визуализировать изучаемый рацион, определить наиболее значимые отличия от рекомендуемых правил и норм, рекомендовать конкретные индивидуальные пути оптимизации, строить программу обучения пациента и мониторировать приверженность к выполнению рекомендаций.

Значительное влияние на достижение планируемых результатов оказывает внедрение симуляционных технологий: организация консультаций стандартизированных пациентов [34], в роли которых выступают студенты других групп и курсов, а также интерны и ординаторы. Разра-

ботан и эффективно используется онлайн-курс для оптимизации внеаудиторной самостоятельной работы студентов [35, 36].

Общее направление программы является практико-ориентированным, здоровьесберегающим и нацеленным на результат.

После обсуждения в фокус-группах получены положительные отклики студентов о программе обучения, методах, средствах, а также о влиянии дисциплины на оптимизацию студенческих рационов питания. Рабочая программа дисциплины ежегодно обновляется с учетом новых результатов научных исследований и опубликованных обобщающих рекомендаций.

Изучение принципов здорового питания на клинических кафедрах начиная с младших курсов не только помогает сформировать полноценный объем знаний, умений и навыков в области здорового питания, но и оптимизирует применение знаний нормальной физиологии и биохимии на практике, а также является необходимым фундаментом для последующего изучения профилактической медицины и основ лечебного питания.

Сведения об авторах

ГБОУ ВПО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России:

Кулакова Елена Николаевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры госпитальной и поликлинической педиатрии

E-mail: elena.n.kulakova@mail.ru

Насташева Татьяна Леонидовна – доктор медицинских наук, профессор, декан педиатрического факультета, заведующая кафедрой госпитальной и поликлинической педиатрии

E-mail: nastat53@mail.ru

Усачева Елена Анатольевна – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры госпитальной и поликлинической педиатрии

E-mail: pediatr-nephro@mail.ru

Литература

1. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ). Здоровое питание: план действий по разработке региональных программ в России: Отчет о совещании ВОЗ, Архангельск, Российская Федерация, 19–20 сентября 2000 года. Копенгаген, 2001. 30 с. (Здоровье-21: европейская задача 11).
2. Всероссийское научное общество кардиологов. Кардиоваскулярная профилактика : нац. рекомендации. М., 2011. 64 с. (приложение 2 к «Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2011. Т. 10, № 6).
3. Глазунов И. С., Соловьева И. М., Усова Е.В. Профилактика неинфекционных заболеваний в регионах и других административных единицах России. Методы и организация : метод. рекомендации. М. : РИО ФГБУ «Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины» Минздравсоцразвития России, 2012. 28 с. (Сер. «Утверждено на Ученом Совете»).
4. К здоровой России. Здоровое питание: план действий по разработке региональных программ в России : руководство. М., 2001. 67 с.
5. Nutrition for the primary care provider / eds D.M. Bier, J. Mann, D.H. Alpers, H.H.E. Vorster et al. Basel : Karger, 2015. 210 p. (World Review of Nutrition and Dietetics. Vol. 111).
6. World Health Organization. Global atlas on cardiovascular disease prevention and control / eds S. Mendis, P. Puska, B. Norrving. Geneva, 2011. 155 p.
7. Распоряжение Правительства РФ от 25.10.2010 № 1873-р «Об основах государственной политики Российской Федерации в области здорового питания населения на период до 2020 года» // Собрание законодательства РФ. 2010. № 45. Ст. 5869.
8. Приказ Минобрнауки России от 08.11.2010 № 1122 (ред. от 31.05.2011) «Об утверждении и введении в действие федерального государственного образовательного стандарта высшего профессионального образования по направлению подготовки (специальности) 060103 Педиатрия [квалификация (степень) «специалист»]». Доступ из справ.-правовой системы «КонсультантПлюс».
9. Кулакова Е.Н., Усачева Е.А., Волосовец Г.Г. Здоровое питание: проектирование программы обучения студентов // Тезисы Ежегодного международного форума «Питание и здоровье». М., 2014. С. 32–33.
10. Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Феде-

- рации : метод. рекомендации МР 2.3.1.2432-08 (утв. Роспотребнадзором 18.12.2008). Доступ из справ.-правовой системы «КонсультантПлюс».
11. Письмо Минздрава России от 29.08.2013 № 14-2/10/2-6432 «О направлении Методических рекомендаций «Организация проведения диспансеризации и профилактических медицинских осмотров взрослого населения». Доступ из справ.-правовой системы «КонсультантПлюс».
 12. Приказ Минздравсоцразвития России от 02.08.2010 № 593н «Об утверждении рекомендаций по рациональным нормам потребления пищевых продуктов, отвечающим современным требованиям здорового питания» (Зарегистрировано в Минюсте России 11.10.2010 № 18680). Доступ из справ.-правовой системы «КонсультантПлюс».
 13. Всемирная организация здравоохранения. Питание и здоровье в Европе: новая основа для действий / под ред. А. Robertson, С. Tirado, Т. Lobstein, М. Jermini et al. : пер с англ. Copenhagen: Европейское региональное бюро Всемирной организации здравоохранения, 2005. 506 с. (Региональные публикации ВОЗ, Европейская серия, № 96).
 14. U.S. Department of Agriculture and U.S. Department of Health and Human Services. Report of the Dietary Guidelines Advisory Committee on the Dietary Guidelines for Americans, 2010. Washington, DC, 2010. 445 p.
 15. U.S. Department of Agriculture, U.S. Department of Health and Human Services. Dietary Guidelines for Americans, 2010. Washington, DC : U.S. Government Printing Office, 2010. 99 p.
 16. World Cancer Research Fund, American Institute for Cancer Research. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective. Washington, DC : AICR, 2007. 517 p.
 17. World Health Organization (WHO), Food and Agriculture Organization (FAO). Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of a joint WHO/FAO expert consultation. Geneva : World Health Organization, 2003. 149 p. (WHO technical report series 916).
 18. World Health Organization. CINDI dietary guide. Copenhagen : WHO Region office of Europe, 2000. 33 p.
 19. World Health Organization. Prevention of cardiovascular disease: Guidelines for assessment and management of cardiovascular risk. Geneva, 2007. 86 p.
 20. Диетология / под ред. А.Ю. Барановского. СПб. : Питер, 2012. 1024 с.
 21. Мартинчик А.Н., Маев И.В., Петухов А.Б. Питание человека (основы нутрициологии) / под ред. А.Н. Мартинчика. М. : ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ, 2002. 576 с.
 22. Скурихин И.М., Тутельян В.А. Таблицы химического состава и калорийности российских продуктов питания : справочник. М. : Дели принт, 2008. 276 с.
 23. Батулин А.К., Погожева А.В., Сазонова О.В. Основы здорового питания. Образовательная программа для студентов медицинских вузов и врачей Центров здоровья : метод. пособие. М., 2011. 79 с.
 24. World Health Organization. Food based dietary guidelines in the WHO European Region. Copenhagen : WHO Region office of Europe, 2003. 38 p.
 25. Present knowledge in nutrition / eds J.W. Erdman Jr., I.A. Macdonald, S.H. Zeisel. Ames : International Life Sciences Institute, Wiley-Blackwell, 2012. 1305 p.
 26. Устав (Конституция) Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ). URL: <http://apps.who.int/gb/bd/PDF/bd47/RU/constitution-ru.pdf?ua=1> (дата обращения: 01.03.2015).
 27. Blumberg J., Heaney R.P., Huncharek M., Scholl T. et al. Evidence-based criteria in the nutritional context // *Nutr. Rev.* 2010. Vol. 68, N 8. P. 478–484.
 28. Fenton T.R., Fenton C.J. Nutrition science mustn't accept a lower level of evidence // *Nutr. Rev.* 2011. Vol. 69, N 7. P. 413–414.
 29. Mann J.I. Evidence-based nutrition: Does it differ from evidence-based medicine? // *Ann. Med.* 2010. Vol. 42, N 7. P. 475–486.
 30. Гринхальт Т. Основы доказательной медицины : пер. с англ. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2006. 240 с.
 31. Haack S.A., Byker C.J. Recent population adherence to and knowledge of United States federal nutrition guides, 1992–2013: a systematic review // *Nutr. Rev.* 2014. Vol. 72, N 10. P. 613–626.
 32. United States Department of Agriculture, Center for nutrition policy and promotion. The Food Guide Pyramid. Washington, DC, 1992. 30 p. (Home and Garden Bulletin N 252) URL: http://www.cnpp.usda.gov/sites/default/files/archived_projects/FGPPamphlet.pdf (дата обращения: 01.03.2015).
 33. Healthy eating plate and healthy eating pyramid. URL: <http://www.hsph.harvard.edu/nutritionsource/healthy-eating-plate/> (дата обращения: 01.03.2015).
 34. Балкизов З.З., Семенова Т.В. Глоссарий терминов в области медицинского образования // *Мед. образование и профессиональное развитие.* 2013. № 2–3. С. 16–46.
 35. Кулакова Е.Н., Настаушева Т.Л., Волосовец Г.Г. Онлайн-курс в высшем медицинском образовании: электронное обучение или внеаудиторная самостоятельная работа? // *Мед. образование и профессиональное развитие.* 2014. № 3. С. 87–89.
 36. Kulakova E., Bolotskih V., Nastausheva T., Kondratjeva I. Video concept maps in medical education // *AMEE-2014: Abstract book.* Milan, 2014. P. 410.

References

1. World health organization (WHO). Healthy Eating: an action plan for the development of regional programs in the Russian Federation. Otchet o soveshchanii VOZ, Arkhangel'sk, Rossiiskaya Federatsiya, 19–20 sentyabrya 2000 [Report on a WHO Meeting, Arkhangel'sk, Russian Federation 19–20 September 2000]. Copenhagen, 2001. 30 p. (Health-21: the European challenge 11). (in Russian)
2. Russian Scientific Society of Cardiology. Cardiovascular prevention. Natsional'nye rekomendatsii. Moscow, 2011: 64 p. (Cardiovascular therapy and prevention, Appendix 2. 2011; Vol. 10 (6)). (in Russian)
3. Glazunov I.S., Solov'eva I.M., Usova E.V. Prevention of non-communicable diseases in the regions and other administrative units of the Russian Federation. Methods and Organization: Guideline. Moscow : Federal State Institution "National Research Center for Preventive Medicine" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 2012: 28 p. (in Russian)
4. Towards a healthy Russia healthy nutrition: plan of action to develop regional programmes in the Russian Federation. Guidebook. Moscow, 2001: 67 p. (in Russian)
5. Nutrition for the primary care provider / eds D.M. Bier, J. Mann, D.H. Alpers, H.H.E. Vorster et al. Basel : Karger, 2015: 210 p. (World Review of Nutrition and Dietetics. Vol. 111).
6. World Health Organization. Global atlas on cardiovascular disease prevention and control / eds S. Mendis, P. Puska, B. Norrving. Geneva, 2011: 155 p.
7. Rasporyazhenie Pravitel'stva RF ot 25.10.2010 N 1873-r «On the Principles of State Policy of the Russian Federation in the field of healthy nutrition for the period up to 2020». Sobranie zakonodatel'stva RF. 2010. Vol. 45. St. 5869. (in Russian)
8. Prikaz Minobrnauki RF ot 08.11.2010 N 1122 (red. ot 31.05.2011) «On approval and implementation of the federal state educational standard of higher vocational education in the direction of training (specialty) 060103 Pediatrics [qualification (degree) "specialist"]». Dostup iz sprav.-pravovoi sistemy «Konsul'tantPlyus» (in Russian)
9. Kulakova E.N., Usacheva E.A., Volosovets G.G. Healthy Eating: design training program for students. Tezisy Ezhegodnogo Mezhdunarodnogo Forumа «Pitanie i zdorov'e». Moscow, 2014: 32–3. (in Russian)

10. Nutrient reference values for different groups of the population of the Russian Federation: Guideline MR 2.3.1.2432-08 (approved by the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Rosпотребнадзор) 18.12.2008). Available on ConsultantPlus. (in Russian)
11. Pis'mo Minzdrava Rossii ot 29.08.2013 N 14-2/10/2-6432 «The organization of the preventive medical examinations of the adult population». Available on ConsultantPlus (in Russian)
12. Prikaz Minzdravsotsrazvitiya RF ot 02.08.2010 N 593n «On approval of recommendations of food intakes norms that meet modern requirements of a healthy diet» Registered with the Ministry of Justice (Minyust) of the Russian Federation dated 11.10.2010, No. 18680). Available on ConsultantPlus. (in Russian)
13. World health organization. Food and Health in Europe: A New Basis for Action / eds A. Robertson, C. Tirado, T. Lobstein, M. Jermini et al. : translation from English. Copenhagen : The WHO Regional Office for Europe, 2005: 506 p. (WHO Regional Publications European Series, No. 96) (in Russian)
14. U.S. Department of Agriculture and U.S. Department of Health and Human Services. Report of the Dietary Guidelines Advisory Committee on the Dietary Guidelines for Americans, 2010. Washington, DC, 2010: 445 p.
15. U.S. Department of Agriculture, U.S. Department of Health and Human Services. Dietary Guidelines for Americans, 2010. Washington, DC : U.S. Government Printing Office: 2010: 99 p.
16. World Cancer Research Fund, American Institute for Cancer Research. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective. Washington, DC : AICR, 2007: 517 p.
17. World Health Organization (WHO), Food and Agriculture Organization (FAO). Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of a joint WHO/FAO expert consultation. Geneva : World Health Organization, 2003: 149 p. (WHO technical report series 916).
18. World Health Organization. CINDI dietary guide. Copenhagen : WHO Region office of Europe, 2000: 33 p.
19. World Health Organization. Prevention of cardiovascular disease: Guidelines for assessment and management of cardiovascular risk. Geneva, 2007: 86 p.
20. Dietetics / ed. A.Yu. Baranovskogo. St. Petersburg : Piter, 2012: 1024 p. (in Russian)
21. Martinchik A.N., Maev I.V., Petukhov A.B. Human Nutrition (the basics of nutrition) / ed. A.N. Martinchik. Moscow : State Educational Institution All-Russian Educational Scientific Methodological Center of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 2002: 576 p. (in Russian)
22. Skurikhin I.M., Tutel'yan V.A. Tables of chemical composition and calorific value Russian food. Handbook. Moscow : DeLi print, 2008: 276 p. (in Russian)
23. Baturin A.K., Pogozheva A.V., Sazonova O.V. The basics of healthy eating. Educational program for medical students and doctors health centers. Metodicheskoe posobie. Moscow, 2011: 79 p. (in Russian)
24. World Health Organization. Food based dietary guidelines in the WHO European Region. Copenhagen : WHO Region office of Europe, 2003: 38 p.
25. Present knowledge in nutrition / eds J.W. Erdman Jr., I.A. Macdonald, S.H. Zeisel. Ames : International Life Sciences Institute, Willey-Blackwell, 2012: 1305 p.
26. Constitution of the world health organization (WHO). URL: <http://apps.who.int/gb/bd/PDF/bd47/RU/constitution-ru.pdf?ua=1> (available: 01.03.2015) (in Russian)
27. Blumberg J., Heaney R.P., Huncharek M., Scholl T. et al. Evidence-based criteria in the nutritional context. Nutr Rev. 2010; Vol. 68 (8): 478–84.
28. Fenton T.R., Fenton C.J. Nutrition science mustn't accept a lower level of evidence. Nutr Rev. 2011; Vol. 69 (7): 413–4.
29. Mann J.I. Evidence-based nutrition: Does it differ from evidence-based medicine? Ann Med. 2010; Vol. 42 (7): 475–86.
30. Greenhalgh T. The basics of evidence based medicine. Moscow : GEOTAR-Media, 2006: 240 p. (in Russian)
31. Haack S.A., Byker C.J. Recent population adherence to and knowledge of United States federal nutrition guides, 1992–2013: a systematic review. Nutr Rev. 2014; Vol. 72 (10): 613–26.
32. United States Department of Agriculture, Center for nutrition policy and promotion. The Food Guide Pyramid. Washington, DC, 1992: 30 p. (Home and Garden Bulletin N 252) URL: http://www.cnpp.usda.gov/sites/default/files/archived_projects/FGPPamphlet.pdf (available: 01.03.2015).
33. Healthy Eating Plate and Healthy Eating Pyramid. URL: <http://www.hsph.harvard.edu/nutritionsource/healthy-eating-plate/> (available: 01.03.2015).
34. Balkizov Z.Z., Semenova T.V. Glossary of terms in medical education. Meditsinskoe obrazovanie i professional'noe razvitie [Medical Education and Professional Development]. 2013; Vol. 2–3: 16–46 (in Russian)
35. Kulakova E.N., Nastausheva T.L., Volosovets G.G. Online course in medical education: electronic teaching or e-self-learning? Meditsinskoe obrazovanie i professional'noe razvitie [Medical Education and Professional Development]. 2014; Vol. 3: 87–9. (in Russian)
36. Kulakova E., Bolotskih V., Nastausheva T., Kondratjeva I. Video concept maps in medical education. AMEE-2014: Abstract book. Milan, 2014: 410.

Для корреспонденции

Манин Евгений Анатольевич – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории эпидемиологии ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора
 Адрес: 355035, Ставропольский край, г. Ставрополь, ул. Советская, д. 13–15
 Телефон: (865-2) 26-03-12
 E-mail: snipchi@mail.stv.ru

А.Ю. Попова¹, А.С. Гуськов¹, Г.Е. Иванов¹, Л.В. Чикина¹, В.П. Клиндухов²,
 П.Н. Николаевич², Т.В. Гречаная², М.И. Балаева², Л.С. Вечерняя², Е.А. Вечерняя²,
 И.И. Божко², Т.Г. Чаплыгина³, В.В. Пархоменко⁴, О.А. Куличенко⁴, О.В. Тушина⁵,
 Е.А. Манин⁵, Т.В. Таран⁵

Организация питания клиентских групп в период проведения XXII Олимпийских зимних игр и XI Паралимпийских зимних игр 2014 г. в городе-курорте Сочи

Catering for client groups during the XXII Olympic winter games and XI Paralympic winter games of 2014 in Sochi

A.Yu. Popova¹, A.S. Gus'kov¹, G.E. Ivanov¹, L.V. Chikina¹, V.P. Klindukhov², P.N. Nikolaevich², T.V. Grechanaya², M.I. Balaeva², L.S. Vechernyaya², E.A. Vechernyaya², I.I. Bozhko², T.G. Chaplygina³, V.V. Parkhomenko⁴, O.A. Kulichenko⁴, O.V. Tushina⁵, E.A. Manin⁵, T.V. Taran⁵

- 1 Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва
- 2 Управление Роспотребнадзора по Краснодарскому краю, Краснодар
- 3 Территориальный отдел Управления Роспотребнадзора по Краснодарскому краю в городе-курорте Сочи
- 4 ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Краснодарском крае» Роспотребнадзора, Краснодар
- 5 Территориальный отдел Управления Роспотребнадзора по Краснодарскому краю в городе-курорте Геленджик
- 6 ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора
- 1 Russian Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow
- 2 Department of Russian Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing in Krasnodar Territory
- 3 Sochy Branch of Department of Russian Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing in Krasnodar Territory
- 4 Center for Hygiene and Epidemiology in Krasnodar Territory
- 5 Territorial Department of Department of Russian Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing in Krasnodar Territory in Gelendzhik
- 6 Stavropol Plague Control Research Institute

Рассмотрены вопросы контроля организации питания различных клиентских групп в период проведения XXII Олимпийских зимних игр и XI Паралимпийских зимних игр 2014 г. в городе-курорте Сочи как одного из приоритетных направлений обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения при проведении массовых мероприятий. Представлены данные о порядке обеспечения питанием гостей

и участников игр, контроле объектов питания, санитарно-гигиеническом и микробиологическом мониторинге питьевой воды, пищевого сырья и продуктов. Отмечено, что проводимые надзорные мероприятия способствовали обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия в период игр. Целью настоящего исследования явилось освещение современных достижений в области организации питания и пищевой микробиологии в период проведения Олимпийских игр и определение их ценности для дальнейшего усовершенствования и использования при проведении массовых мероприятий.

Ключевые слова: Олимпийские игры, массовые мероприятия, организация питания, санитарный надзор, клиентские группы

The problems of catering control various client groups during the XXII Olympic Winter Games and XI Paralympic Winter Games of 2014 in Sochi is one of the priorities of the sanitary and epidemiological welfare of the population during mass events. The data on the order of nutrition of guests and participants of the games, control of food items, sanitary and microbiological monitoring of drinking water, food raw materials and products are presented. It is noted that the ongoing supervisory activities contributed to the sanitary and epidemiological well-being during the Games. The purpose of this study was to lighting modern achievements in the field of nutrition and food microbiology in the period of the Olympic Games and the determination of their value to the further improvement and use at when conducting mass gatherings.

Keywords: Olympic Games, events, catering, sanitation, customer groups

Несмотря на применение и внедрение нового современного технологического оборудования, совершенствование систем управления, появление новых видов сырья высокой степени готовности, общественное питание остается социально значимой услугой, включающей санитарно-эпидемиологические риски и зависящей от человеческого фактора [1]. Организация эффективной системы питания, а также контроль безопасности и качества пищевых продуктов были одним из приоритетных направлений обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения при массовых мероприятиях [2, 3]. В период проведения XXII Олимпийских зимних игр и XI Паралимпийских зимних игр 2014 г. в городе-курорте Сочи (далее – Олимпийские игры) государственный санитарный надзор за объектами питания и предприятиями пищевой промышленности осуществлялся силами учреждений Роспотребнадзора в Краснодарском крае совместно с АНО «Оргкомитет Сочи 2014» и специализированной противозидемической бригадой (СПЭБ) ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора.

Основными задачами государственного надзора и контроля исполнения требований законодательства РФ в области обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия человека

в части, касающейся питания различных клиентских групп, были:

- профилактика массовых неинфекционных (отравлений) и инфекционных заболеваний, связанных с употреблением продуктов питания;
- подготовка нормативно-методической базы, включающей документы, регламентирующие организацию питания во время проведения массовых мероприятий;
- паспортизация объектов по критериям: производственная мощность, кадровый потенциал, источник поступления продукции, условия выработки, хранения блюд и доставки их до потребителя;
- назначение и закрепление за должностными лицами Роспотребнадзора предприятий пищевой промышленности (фабрики, кухни) и объектов общественного питания на время проведения Олимпийских игр;
- разработка порядка лабораторного контроля (определение точек отбора, количества и видов отбираемых образцов и исследований на всех этапах движения пищевых продуктов от поставщика до стола потребителя);
- проведение мониторинга предприятий пищевой промышленности и объектов общественного питания с использованием современных экспресс-методов;

– проведение анализа меню для различных клиентских групп с целью контроля химического состава и энергетической ценности блюд.

Основными требованиями, согласно действующим санитарно-гигиеническим правилам и нормам, к организациям общественного питания, а также к изготовлению и обороту в них пищевых продуктов и продовольственного сырья были:

- соответствие ассортимента (меню) предприятия составу и площади помещений;
- наличие технологической документации (технологические карты) на каждое блюдо, соблюдение норм вложения;
- ежедневное ведение необходимой документации;
- организация гигиенической подготовки и профессионально-гигиеническое обучение персонала;
- своевременное прохождение предварительных медицинских обследований работников при поступлении на работу;
- обеспечение условий труда работников в соответствии с действующим законодательством, санитарными правилами, гигиеническими нормативами;
- наличие достаточного количества производственного инвентаря, посуды, моющих, дезинфицирующих средств и других предметов и средств материально-технического оснащения;
- контроль текущего санитарного состояния и содержания объекта, исправная работа технологического, холодильного и другого оборудования.

Материал и методы

Численность участников и гостей Олимпийских игр, обеспечиваемых организованным питанием, составила около 500 000 человек, из них в разрезе клиентских групп: спортсмены и представители НОК – 8270, представители международных федераций – 1647, Олимпийская и Паралимпийская семья – 3575, средства массовой информации – 3933, маркетинговые партнеры – 28 893, персонал (оргкомитет, подрядчики, волонтеры) – 91 043, зрители – до 373 000 человек.

По данным АНО «Оргкомитет Сочи 2014», питание участников и официальных гостей Олимпийских игр было организовано в 3 Олимпийских деревнях (Прибрежная, Горная, Высокогорная) и обеспечивалось 18 компаниями.

В период проведения Олимпийских игр структура предприятий общественного питания была очень разнообразна и включала в себя порядка 1200 объектов, из них: столовые – 36, рестораны – 46, бары – 2, фуд-корты – 20, «Макдоналдс» – 2,

концессии – 58, стрит-фуды (торговля с использованием передвижных точек) – 97, кафе – 30, мобильные киоски – 167, ложи для атлетов, зрителей, VIP – 112, станции бесплатных напитков – 157, вендинговые автоматы – 500. Общее количество посадочных мест – 26 123, из них в Прибрежном кластере – 2757, в Горном кластере – 5622, в Олимпийских деревнях – 4557, на неолимпийских объектах – 13 187.

Питание на объектах было представлено 6 кухнями:

- русская кухня: традиционные закуски, первые и вторые блюда, холодные и горячие напитки (рестораны, столовые); пирожки, кулебяки, блины, картофель, бублики – реализация через уличную торговлю; шоколад, пряники, квас, морс – автоматы;
- европейская кухня: традиционные закуски, первые и вторые блюда, холодные и горячие напитки (рестораны, столовые); пицца, лазанья – реализация через уличную торговлю; пицца – автоматы;
- азиатская (китайская, японская, индийская, корейская) кухня: суши, роллы, традиционные первые и вторые блюда (рестораны, столовые);
- американская кухня: бургеры, стейки, сэндвичи, картофель фри (рестораны, столовые); бургеры, сэндвичи (уличная торговля, автоматы);
- кошерная кухня: традиционные закуски, первые и вторые блюда (рестораны, столовые);
- вегетарианская кухня: традиционные закуски, первые и вторые блюда (рестораны, столовые).

Всего в период проведения Олимпийских игр было приготовлено более 3 млн кг готовой продукции (борщ – 265 000 л, паста – 123 590 кг, рис – 135 425 кг, шашлык – 150 000 кг, пирожки – 140 825 кг, яйца – 576 000, блины – 195 000 кг, яблоки – 850 000 кг, помидоры – 115 160 кг, пельмени – 100 000 кг, салат – 119 300 пучков, петрушка – 110 827 пучков).

Результаты и обсуждение

Организация питания в Горном и Прибрежном кластерах

В Горном кластере в соревновательных объектах «Лаура», «Горнолыжный центр Роза Хутор», «Русские горки», «Санки», «Экстрим парк Роза Хутор» было размещено 217 пунктов питания, в том числе 12 столовых, 8 ресторанов, 13 атлет-лаунж, 46 стрит-фудов, 80 мобильных киосков, 54 скай-боксы, 6 кафе, 4 главные кухни.

В Прибрежном кластере в соревновательных объектах Большой ледовый дворец, Ледовая арена «Шайба», Керлинг-центр «Ледяной клуб», Дворец зимнего спорта «Айсберг», «Адлер-Арена» был организован 201 пункт питания, в том

числе 5 столовых, 12 ресторанов, 7 атлет-лаунж, 34 концессии, 72 мобильных киоска, 69 скай-боксов, 6 кафе, главная кухня – 2. В несоревновательных объектах, находящихся в Главном и Горном медиацентрах, было расположено 56 пунктов питания, в том числе 2 столовые, 3 ресторана, 11 фуд-кортов, 4 кофейных уголка, 1 «Макдоналдс», 1 бар, 34 вендинговых аппарата.

В целом во время проведения Олимпийских игр, для всех категорий граждан в городе-курорте Сочи дополнительно было размещено более 300 предприятий общественного питания и более 300 организаций быстрого питания.

Организация питания различных клиентских групп

Питание клиентских групп было организовано в 10 соревновательных объектах, 2 медиацентрах, 3 деревнях для спортсменов, 2 тренировочных объектах, в несоревновательных объектах (Олимпийский парк, медиацентры, места размещения волонтеров, главный распределительный центр продуктов питания).

В период проведения Олимпийских игр питание спортсменов осуществлялось в Олимпийских деревнях, где для них было предусмотрено пятиразовое питание и предоставлены все 6 видов кухонь. В случае нахождения спортсменов на тренировках или участия в соревнованиях более 4 ч было предусмотрено горячее питание на тренировочных или соревновательных объектах (в зонах отдыха для спортсменов). При нахождении спортсменов вне Олимпийской деревни менее 4 ч они были обеспечены разнообразной буфетной продукцией с ограниченным ассортиментом (горячие напитки, бутерброды, мучные изделия, фрукты).

Питание зрителей было организовано на 5 соревновательных объектах, расположенных в Горном кластере («Лаура», «Горнолыжный центр Роза Хутор», «Русские горки», «Санки», «Экстрим парк Роза Хутор»), включающих 46 стрит-фудов, 80 мобильных киосков и 54 скай-боксов. На 5 соревновательных объектах, расположенных в Прибрежном кластере (Большой ледовый дворец, Ледовая арена «Шайба», Керлинг-центр «Ледяной клуб», Дворец зимнего спорта «Айсберг», «Адлер-Арена»), питание зрителей осуществлялось в 34 концессиях, 69 мобильных киосках, 1 ресторане и 69 скай-боксах.

Питание персонала было организовано на 5 соревновательных объектах, расположенных в Горном кластере, включающих 12 столовых, и на 5 соревновательных объектах, расположенных в Прибрежном кластере.

Олимпийская семья и VIP-гости были обеспечены 9 пунктами питания на 5 соревновательных объектах, расположенных в Горном кластере

и в зоне отдыха, в 34 пунктах 5 соревновательных объектов, расположенных в Прибрежном кластере и зоне отдыха.

Питание прессы осуществлялось в медиацентре, а при ведении репортажей – на 5 соревновательных объектах, расположенных в Горном кластере (6 кафе для прессы) и на 5 соревновательных объектах, расположенных в Прибрежном кластере (6 кафе для прессы и 6 концессий).

Обеспечение питьевой водой

Питьевой режим спортсменов был организован за счет обеспечения бутилированной водой в индивидуальной упаковке. В период подготовки к Олимпийским играм Управлением Роспотребнадзора по Краснодарскому краю проведен расчет потребности в воде на одного спортсмена, количество которой во время проведения напряженных тренировок и соревнований составило, согласно гигиеническим нормам, до 6–7 л/сут. Ежедневная потребность в питьевой воде для спортсменов составляла порядка 44 000 л, всего во время Олимпийских игр – 1 243 200 л воды.

Для клиентских групп ежедневная потребность в питьевой воде составила порядка 162 750 л, всего во время Олимпийских игр – 4 557 000 л.

Контроль качества посуды

В зависимости от вида объекта и наличия (или отсутствия) условий для мытья посуды, на предприятиях использовалась многоразовая или одноразовая посуда. В ходе санитарно-гигиенического мониторинга проведен отбор 500 образцов используемой многоразовой посуды и упаковочного материала, в том числе 300 образцов – у оптовых поставщиков, 200 – в организациях общественного питания, использующих одноразовую посуду. Контроль качества мытья многоразовой посуды осуществлялся с помощью экспресс-методов (СПЭЛ, АТФ и контактно-бесконтактных термометров) [4]. Всего проведено более 4000 исследований, в том числе 1636 измерений температуры горячей воды, 1179 исследований смывов с помощью прибора АТФ, 1052 исследования на полноту отмыывания остатков моющих и дезинфицирующих средств с помощью СПЭЛ, 674 исследования на активность хлора.

Доля нестандартных проб от общего количества проведенных с помощью экспресс-методик проб составила 2,6% [153 пробы, в том числе 112 (2%) проб по факту несоответствия температуры горячей воды, 41 (0,71%) проба не соответствовала по наличию АТФ как результат жизнедеятельности микроорганизмов]. По данным фактам выдавались предписания об усилении санитарно-эпидемиологического и дезинфекционного режима, усилении контроля обработки кухонной и столовой посуды.

По результатам проводимого в ежедневном режиме анализа принимались экстренные меры и управленческие решения, направленные на стабилизацию ситуации.

Контроль поставщиков продовольственного сырья

Контроль поставщиков продовольственного сырья проводился посредством аудита систем менеджмента качества и сертификации. Силами Роспотребнадзора анализировались пробы поставляемого сырья, отбираемого в двух логистических распределительных пунктах.

Контроль объектов питания

Контроль объектов питания на территории Олимпийских парков осуществлялся силами АНО «Оргкомитет Сочи 2014». Дополнительно проводились мониторинговые исследования специалистами Роспотребнадзора, а также был организован лабораторный контроль силами ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Краснодарском крае» и СПЭБ ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора (скрининговые исследования на ПБА).

В отношении объектов, обеспечивающих питанием все клиентские группы Игр, Управлением Роспотребнадзора по Краснодарскому краю совместно с администрацией города-курорта Сочи было организовано проведение лабораторного контроля.

С момента функционирования объектов питания на территории проведения Олимпийских игр с 28.01.2014 по 16.03.2014 было проведено 16 065 исследований пищевых продуктов (4257 проб), из них 60 проб не соответствовали гигиеническим нормативам:

- на микробиологические показатели – 12 164 исследования кулинарной продукции (3041 проба), из них 59 проб не соответствовали гигиеническим нормативам, 288 исследований сырья и полуфабрикатов (72 пробы);
- на качество термической обработки кулинарной продукции – 318 исследований (318 проб);
- на химические загрязнения – 742 исследования (106 проб);
- на паразитологические показатели – 418 исследований (209 проб);
- на наличие возбудителей опасных инфекционных болезней и биологических токсинов – 1449 исследований (161 проба);
- на радиологическую безопасность – 672 исследования (336 проб);
- на наличие ГМО – 14 исследований (14 проб).

Также проведено 6204 исследования внешней среды методом смывов, 3222 исследования питьевой воды из разводящей сети (358 проб), 97 исследований дезсредств (97 проб), 1105 исследований материалов, контактирующих с пищевыми продуктами (221 образец).

По данным исследований проведено ранжирование результатов нестандартных проб по следующим категориям:

1. В разрезе кластеров – 3041 проба, исследованная по микробиологическим показателям, 60 не соответствовали гигиеническим требованиям (1,9%):

- максимальное количество пришлось на Прибрежный кластер – 38 (1,24%) проб;
- в Высокогорном кластере 12 (0,4%) проб;
- в Горном кластере 10 (0,32%) проб.

2. По видам продукции:

- салаты – 0,6% (23,7% от общего количества нестандартных);
- мясные блюда – 0,4% (16,9% от общего количества нестандартных);
- гарниры – 0,33% (13,5% от общего количества нестандартных).

3. По видам микроорганизмов:

- в 1 пробе *Staphylococcus aureus* (0,03% от общего количества отобранных и 1,66% от общего количества нестандартных);
- в 2 пробах *Listeria monocytogenes* (0,06% от общего количества отобранных и 3,3% от общего количества нестандартных);
- в 28 пробах количество бактерий группы кишечной палочки (БГКП) выше установленных значений (0,92% от общего количества отобранных и 46,7% от общего количества нестандартных);
- в 29 пробах количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) выше установленных значений (0,95% от общего количества отобранных и 48,34% от общего количества нестандартных).

По фактам получения нестандартных проб проведены дополнительные обследования с отбором удвоенных образцов продукции, выданы предписания о проведении дополнительных санитарно-эпидемиологических и дезинфекционных мероприятий, операторами питания организовано проведение внеочередной мойки и дезинфекции помещений, оборудования, инвентаря.

Всего за период проведения Олимпийских и Паралимпийских игр проведено свыше 5500 обследований и проверок объектов питания.

Начальные обследования свидетельствовали о наличии принципиально важных, значимых нарушений действующих норм и правил. Из 300 обследованных объектов в 210 (70%) установлены грубые нарушения действующего законодательства:

- у 50% не было установлено технологическое оборудование, санитарно-технические приборы;
- 30% не были укомплектованы персоналом (не представлены сведения о прохождении персоналом медицинских осмотров);
- у 10% не была оборудована система вентиляции;
- у 5% заявленный ассортимент не соответствовал имеющимся условиям;

- у 3% отсутствовала горячая проточная вода;
- у 1% не были завершены строительные и отделочные работы;
- у 1% отсутствовал необходимый объем холодильного оборудования.

Объекты, не полностью соответствующие требованиям санитарного законодательства, были взяты на особый контроль Управлением Роспотребнадзора, благодаря чему до 1 февраля 2014 г. все нарушения Оргкомитетом и операторами питания были устранены.

Всего за истекший период времени в связи с нарушениями условий хранения, сроков реализации продукции, отсутствия маркировочных ярлыков и т.д. забраковано и утилизировано 10 680,55 кг.

При ранжировании забракованной продукции по видам установлено, что максимальное количество пришлось на овощи, фрукты, сухофрукты, мясо и мясопродукты, кулинарную и молочную продукцию:

- овощи, фрукты, сухофрукты – 2472,3 кг (23,1%);
- мясо и мясопродукты – 2132,8 кг (20%);
- кулинарная продукция – 1548,8 кг (14,5%);
- молочная продукция, включая сыры – 1408 кг (13,2%);
- рыба и морепродукты – 778 кг (7,3%);
- хлебобулочные и кондитерские изделия – 661,65 кг (6,2%);
- птица и птицепродукты – 532 кг (5%);
- десерты – 523 кг (4,9%);
- соки, напитки – 507 кг (4,7%);
- специи – 120 кг (1,1%).

С целью обследования объектов, имеющих наибольшую эпидемиологическую значимость (устанавливались нестандартные пробы продукции, регистрировалась смена персонала, выявлялись факты нахождения в обороте некачественной и опасной продукции), Управлением Роспотребнадзора по Краснодарскому краю было принято решение об организации скрининговых исследований продукции на наличие возбудителей опасных инфекций (ДНК возбудителей шигеллеза, сальмонеллеза, эшерихиоза, антигенов возбудителей чумы, сибирской язвы), для чего были привлечены силы и средства ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора.

Во время проведения Игр всего отобрано 192 пробы продукции. Из них 9 проб было задержано в связи с обнаружением ДНК эшерихиоза в полуфабрикатах мяса курицы гриль, ДНК *Yersinia enterocolitica* в капусте савойской, краснокочанной, а также в томате; ДНК возбудителей сальмонеллеза в продукции полуфабрикатов мяса курицы. После проведения дополнительных классических исследований только в 1 пробе было подтверждено наличие *L. monocytogenes* в образце сырой рыбы (лосось). По данному факту проведен комплекс санитарно-гигиенических и профилактических мероприятий.

Управлением Роспотребнадзора по Краснодарскому краю осуществлялся постоянный мониторинг качества и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов на потребительском рынке края, в том числе в городе-курорте Сочи. Ситуация по состоянию продовольственной безопасности в крае и городе оставалась удовлетворительной и стабильной.

Все продукты поставлялись только аккредитованными поставщиками, сертифицированными на соответствие требованиям стандарта ISO 22000:2005. Концепция питания «Сочи–2014» полностью отвечала санитарным правилам и нормам. Система пищевой безопасности в период Олимпийских игр использовала лучшие мировые стандарты, в частности систему требований безопасности пищевых продуктов (НАССР – Hazard Analysis and Critical Control Points). В соответствии с этими требованиями осуществлялся 24-часовой цикл контроля безопасности сырья, полуфабрикатов, готовых блюд и изделий [5].

Таким образом, в период подготовки и проведения Олимпийских игр было уделено значительное внимание организации и контролю качества предоставляемых услуг в сфере питания клиентских групп. Проведенные Роспотребнадзором контрольно-надзорные мероприятия позволили выявить и своевременно устранить нарушения законодательства в этой области предоставления услуг, что, в свою очередь, обеспечило стабильную санитарно-эпидемиологическую обстановку в городе-курорте Сочи во время подготовки и проведения Олимпийских игр.

Сведения об авторах

Попова Анна Юрьевна – доктор медицинских наук, профессор, руководитель Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главный государственный санитарный врач РФ (Москва)

E-mail: depart@gsen.ru

Гуськов Андрей Сергеевич – заместитель начальника Управления санитарного надзора Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Москва)

E-mail: depart@gsen.ru

Иванов Геннадий Евгеньевич – заместитель начальника Управления санитарного надзора Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Москва)

E-mail: depart@gse.ru

Чикина Людмила Владимировна – заместитель начальника отдела организации санитарного надзора по гигиене питания Управления санитарного надзора Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Москва)

E-mail: depart@gse.ru

Клиндухов Валерий Павлович – кандидат технических наук, руководитель Управления Роспотребнадзора по Краснодарскому краю (Краснодар)

E-mail: upravlenie@kubanrpn.ru

Николаевич Павел Николаевич – кандидат медицинских наук, заместитель руководителя Управления Роспотребнадзора по Краснодарскому краю (Краснодар)

E-mail: upravlenie@kubanrpn.ru

Гречаная Татьяна Викторовна – заместитель руководителя Управления Роспотребнадзора по Краснодарскому краю (Краснодар)

E-mail: upravlenie@kubanrpn.ru

Балаева Марина Иосифовна – начальник отдела надзора за питанием населения Управления Роспотребнадзора по Краснодарскому краю (Краснодар)

E-mail: upravlenie@kubanrpn.ru

Вечерняя Людмила Степановна – начальник отдела надзора за условиями воспитания и обучения Управления Роспотребнадзора по Краснодарскому краю (Краснодар)

E-mail: upravlenie@kubanrpn.ru

Вечерняя Екатерина Александровна – заместитель начальника отдела надзора за питанием населения Управления Роспотребнадзора по Краснодарскому краю (Краснодар)

E-mail: upravlenie@kubanrpn.ru

Божко Ирина Ивановна – начальник отдела защиты прав потребителей Управления Роспотребнадзора по Краснодарскому краю (Краснодар)

E-mail: upravlenie@kubanrpn.ru

Чаплыгина Татьяна Григорьевна – специалист-эксперт Территориального отдела Управления Роспотребнадзора по Краснодарскому краю в городе-курорте Сочи

E-mail: sochi@kubanrpn.ru

Пархоменко Владимир Владимирович – главный врач ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Краснодарском крае» Роспотребнадзора (Краснодар)

E-mail: gorses@mail.kuban.ru

Куличенко Ольга Алексеевна – заместитель главного врача по санитарно-гигиеническим вопросам ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Краснодарском крае» Роспотребнадзора (Краснодар)

E-mail: gorses@mail.kuban.ru

Тушина Ольга Владимировна – начальник Территориального отдела Управления Роспотребнадзора по Краснодарскому краю в городе-курорте Геленджик

E-mail: gelendjik@kubanrpn.ru

Манин Евгений Анатольевич – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории эпидемиологии ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора

E-mail: snipchi@mail.stv.ru

Таран Татьяна Викторовна – доктор медицинских наук, заведующая лабораторией подготовки специалистов ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора

E-mail: snipchi@mail.stv.ru

Литература

1. Методические рекомендации МР 3.1.0079/2-13 «Организация санитарно-противоэпидемического обеспечения массовых мероприятий с международным участием».
2. Онищенко Г.Г., Кузькин Б.П., Ежлова Е.Б. и др. XXVII Всемирная летняя универсиада 2013 года в Казани. Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия: коллективная монография. Тверь: Триада, 2013. 528 с.
3. Онищенко Г.Г., Балахонов С.В., Чеснокова М.В. и др. Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия
4. Порядок лабораторного обеспечения исследований проб окружающей среды в период проведения XXII Олимпийских зимних Олимпийских игр и XI Паралимпийских зимних Олимпийских игр 2014 года в г. Сочи. Утвержден Руководителем Роспотребнадзора 08.09.2013 г. URL: <http://www.snipchi.ru> (дата обращения: 12.09.14).

5. О безопасности пищевых продуктов. Технический регламент таможенного союза ТР ТС 021/2011, утвержден Решением Комиссии Таможенного союза от 9 декабря 2011 г. № 880. URL: <http://www.tsouz.ru/db/techreglam/Documents/TR%20TS%20PishevayaProd.pdf> (дата обращения: 12.09.14).

[tsouz.ru/db/techreglam/Documents/TR%20TS%20PishevayaProd.pdf](http://www.tsouz.ru/db/techreglam/Documents/TR%20TS%20PishevayaProd.pdf) (дата обращения: 12.09.14).

References

1. Guidelines MR 3.1.0079 / 2-13 "Organization of sanitary and anti-epidemic ensuring of mass events with international participation". (in Russian)
2. Onishchenko G.G., Kuzmin B.P., Ezhlova E.B. and al. XXVII World Summer Universiade 2013 in Kazan. Providing of sanitary epidemiological welfare: collective monograph. Tver: LLC "Publishing "Triada", 2013. 528 pp. (in Russian)
3. Onishchenko G.G., Balakhonov S.V., Chesnokov M.V. and al. Providing sanitary and epidemiological welfare in the period of preparation and holding of the APEC summit 2012: collective monograph. Novosibirsk Science Centre, 2013. 419 p. (in Russian)
4. The procedure for laboratory investigations of environment samples during the XXII Olympic Olympic Winter Games and XI Paralympic Winter Olympic Games 2014 in Sochi. Approved by the head of Rospotrebnadzor 08/09/2013 <http://www.snipchi.ru> (date of the application: 09/12/14).(in Russian)
5. On food safety. Technical regulations of the c Customs Union TR CU 021/2011, approved by the Commission Decision of the Customs Union on December 9th, 2011 N 880. <http://www.tsouz.ru/db/techreglam/Documents/TR%20TS%20PishevayaProd.pdf> (date of the application: 09/12/14) (in Russian)

Для корреспонденции

Агеева Наталья Михайловна – доктор технических наук, профессор, главный научный сотрудник ФГБНУ «Северо-Кавказский зональный НИИ садоводства и виноградарства»
 Адрес: 3500901, г. Краснодар, ул. 40 лет Победы, д. 39
 Телефон/факс: (861) 252-58-77
 E-mail: ageyva@inbox.ru

Н.М. Агеева¹, В.А. Маркосов¹, А.М. Авидзба², Ю.А. Огай²

Антиоксидантная активность красных виноградных вин различных типов

Antioxidant activity of different types of red grape wines

N.M. Ageeva¹, V.A. Markosov¹,
 A.M. Avidzba², Yu.A. Ogay²

This article represented the data about antioxidant activity in the red table and liqueur faults, prepared from the types of grapes of Cabernet, Merlot and Saperavi. The antioxidant activity of faults in the conversion to TROLOX, the synthetic analog of gallic acid, was determined by voltammetric method. The determination of antioxidant activity was conducted in the young faults (through 2 month after the completion of fermentation) and through half a year the storage without the air inlet. It has been established that the value of antioxidant activity depended on the type of grapes and technology of the production of wine. It was shown that the addition of ethyl alcohol in the production of wines such as Cahors ensured an increase in the extraction of phenol connections from the skin of grapes. This lead to an increase of the antioxidant activity in the Cahors wines in the comparison with the table wine. During the storage of faults the value of antioxidant activity decreased. In the fault cahors wine it remained at the higher level.

Keywords: the red dining room fault, red liqueur fault, phenols, antioxidants, the antioxidant activity

¹ ФГБНУ «Северо-Кавказский зональный НИИ садоводства и виноградарства», Краснодар

² ГБУ Республики Крым «Национальный научно-исследовательский институт винограда и вина “Магарач”», Республика Крым, Ялта

¹ North Caucasian Zone Scientific Research Institution of Horticulture and Viticulture, Krasnodar

² Government-Financed Establishment of the Republic of the Crimea «National Research Institute for Vine and Wine “Magarach”», Republic of the Crimea, Yalta

В статье представлены данные о величине антиоксидантной активности в красных столовых и ликерных винах, изготовленных из сортов винограда «Каберне», «Мерло» и «Саперави». Антиоксидантную активность вин в пересчете на тролокс (Trolox), синтетический аналог галловой кислоты, определяли вольтамперометрическим способом в молодых винах (через 2 мес после завершения брожения) и через полгода хранения без доступа воздуха. Установлено, что величина антиоксидантной активности зависит от сорта винограда и технологии производства вина. Показано, что добавление этилового спирта при производстве вина типа кагор обеспечивает увеличение экстракции фенольных соединений из кожицы винограда. Это приводит к увеличению антиоксидантной активности в кагорах в сравнении со столовым вином. При хранении вин величина антиоксидантной активности уменьшается. В кагоре она сохраняется на более высоком уровне.

Ключевые слова: красное столовое вино, красное ликерное вино, фенольные соединения, антиоксиданты, антиоксидантная активность

О пользе красных вин, в том числе кагоров, известно издавна [1, 2]. При этом практически все исследователи связывают положительное действие вина на организм человека с наличием природных флавоноидов (фенольных соединений), обладающих антиоксидантными и антирадикальными свойствами. При этом предпочтения, как правило, отдаются столовым винам, а не кагорам, в связи с боль-

Антиоксидантная активность в пересчете на TROLOX в винах различных типов

Вино	АОА, мг/дм ³			
	исходное	через 1 год	исходное	через 1 год
	красное столовое вино		кагор	
Каберне	582–614	137–246	642–744	212–328
Саперави	606–816	162–324	682–924	234–385
Мерло	378–468	190–224	424–527	260–322

шей концентрацией в последних этилового спирта. Между тем при изготовлении кагоров применяют ряд технологических приемов, способствующих обогащению вина фенольными соединениями. Виноградные вина до реализации в торговую сеть могут длительное время храниться на предприятии-изготовителе. В процессе хранения фенольные соединения претерпевают ряд изменений, которые могут оказать определенное влияние на величину антиоксидантной активности (АОА). В связи с этим представляет интерес сопоставление АОА вин различных типов и ее изменения в результате хранения вина.

Цель работы – определить антиоксидантную активность вин различных типов и оценить ее изменение в результате хранения.

Материал и методы

В качестве объектов исследований использовали: красные столовые вина, изготовленные из красных сортов винограда «Каберне-Совиньон», «Мерло», «Саперави» путем брожения мезги; ликерные вина из тех же сортов винограда, в технологии которых применялись такие технологические приемы, как настаивание и подбраживание мезги красных сортов винограда с последующим спиртованием. При этом этиловый спирт был дополнительным экстрагентом фенольных соединений из кожицы винограда.

Антиоксидантная активность вин в пересчете на тролокс (Trolox), синтетический аналог галловой кислоты – 6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновая кислота, определяли вольтамперометрическим способом с применением прибора «Цвет-Яуза» (НПО «Химавтоматика», РФ) [3]. Определение АОА проводили в молодых винах (через 2 мес после завершения брожения) и через полгода хранения без доступа воздуха.

Результаты и обсуждение

Проведенные исследования показали (см. таблицу), что АОА вин колеблется в достаточно широких пределах в зависимости от сорта винограда и технологии его переработки. Установлено наибольшее значение величины АОА в винах различных типов, произведенных из сорта винограда «Саперави» [4].

При этом следует отметить, что величина АОА в кагорах, произведенных из всех исследованных сортов винограда, выше, чем в красных столовых винах, что может быть связано с консервирующим действием этилового спирта. Кроме того, этиловый спирт благодаря своему химическому строению способен связывать свободные ионы металлов и ограничивать их каталитическую прооксидантную активность, ингибируя окислительные эффекты с участием поливалентных ионов металлов (железа, меди) и аскорбата [5, 6].

В процессе последующего хранения вина величина АОА претерпевает существенные изменения, особенно в столовых винах, прежде всего за счет окисления лабильных форм фенольных соединений и их конденсации. К числу таких соединений относятся прежде всего катехины, в том числе процианидины, обладающие наибольшей биологической ценностью. По причине, указанной выше, величина АОА в кагорах через 1 год хранения имела более высокие значения во всех наименованиях вин.

Таким образом, на основании проведенных исследований можно заключить, что для применения в целях эноterapiи (винолечения) необходимо использовать молодые вина, содержащие наибольшее количество антиоксидантов.

*Работа выполнена при финансовой поддержке
Минобрнауки России.*

*Уникальный идентификатор ПНИ
RFMEFI60414X0077 при подписании
Соглашения № 14.604.21.0077*

Сведения об авторах

Агеева Наталья Михайловна – доктор технических наук, профессор, главный научный сотрудник ФГБНУ «Северо-Кавказский зональный НИИ садоводства и виноградарства» (Краснодар)
E-mail: ageyeva@inbox.ru

Маркосов Владимир Арамович – доктор технических наук, профессор ФГБНУ «Северо-Кавказский зональный НИИ садоводства и виноградарства» (Краснодар)

E-mail: ageyva@inbox.ru

Авидзба Анатолий Мканович – доктор сельскохозяйственных наук, академик РАН, директор ГБУ Республики Крым «Национальный научно-исследовательский институт винограда и вина «Магарач»» (Республика Крым, Ялта)

E-mail: magarach@rambler.ru

Огай Юрий Алексеевич – кандидат технических наук, начальник отдела аналитических исследований и инновационных технологий ГБУ Республики Крым «Национальный научно-исследовательский институт винограда и вина «Магарач»» (Республика Крым, Ялта)

E-mail: enoant@yandex.ru

Литература

1. Холмгрин Е., Литвак В. Компоненты вина и здоровье // Виноделие и виноградарство. 2002. № 2. С. 8–10.
2. Валуйко Г.Г. Биохимия и технология красных вин. М.: Пищ. пром-сть, 1973. 165 с.
3. Яшин А.Я., Яшин Я.И., Черноусова Н.И. Антиоксиданты в красном вине и их определение амперометрическим методом // Виноделие и виноградарство. 2007. № 6. С. 22–23.
4. Агеева Н.М., Маркосов В.А., Бессонов В.В., Ханферьян Р.А. Антиоксидантные и антирадикальные свойства красных виноградных вин // Вопр. питания. 2015. Т. 84, № 2. С. 63–67.
5. Lanner J., Frankel E., Granit R. et al. // J. Agric. Food Chem. 1994. Vol. 42. P. 64–69.
6. Барабой В.А. Биоантиоксиданты. Киев: Наукова думка, 2006. 469 с.

References

1. Kholmgrin E., Litvak V. Components of wine and health. [Wine Making and Viticulture]. 2002; Vol. 2: 8–10. (in Russian)
2. Valuyko G.G. Biochemistry and the technology of the red faults. Moscow: Pishchevaya promyshlennost'. 1973: 165 p. (in Russian)
3. Yashin A.Ya., Yashin Ya.I., Chernousova N.I. Antioxidants in the red wine and their determination by amperometric method. [Wine Making and Viticulture]. 2007; Vol. 6: 22–23. (in Russian)
4. Ageeva N.M., Markosov V.A., Bessonov V.V., Khanferyan R.A. Antioxidant and antiradical properties of the red wines. Voprosy pitaniia. [Problems of Nutrition]. 2015; Vol. 2: 63–67. (in Russian)
5. Lanner J., Frankel E., Granit R. et al. J Agric Food Chem. 1994; Vol. 42: 64–9.
6. Baraboy V.A. Bioantioxidants. Kiev: Naukova Dumka, 2006: 469 p. (in Russian)

Правила для авторов

- Представленные в работе данные должны быть оригинальными. Не принимаются в редакцию работы, которые дублируются в других изданиях или отправлены для публикации в другие редакции. Редакция не несет ответственности за достоверность собственных клинических исследований авторов статей. Все присланные работы подвергаются научному рецензированию. Редакция оставляет за собой право сокращения публикуемых материалов и адаптации их к рубрикам журнала.

- Текстовый материал предоставляется отпечатанным в 2 экземплярах и в электронном виде (диск). Текст на электронных носителях должен быть полностью идентичен прилагаемой распечатке. Каждый файл на диске необходимо проверить на отсутствие вирусов.

- Текст печатается в текстовом редакторе Word шрифтом Times, кеглем 12, через 1,5 интервала на листе А4.

- Статья должна иметь сопроводительное письмо (на бланке, заверенное печатью), подписанное руководителем учреждения, в котором была выполнена работа, или его заместителем. В письме должно быть указано, что материал статьи публикуется впервые.

- Материалы можно присылать в электронном виде на адрес red@ion.ru. Обязательно приложите отсканированное сопроводительное письмо (см. выше).

- Объем экспериментальной статьи не должен превышать 20 машинописных страниц, количество рисунков – не более 6; краткое сообщение – не более 12 страниц; мини-обзор – не более 15 страниц; обзор – не более 30 страниц и 8 рисунков. В основной части оригинальной статьи должна быть сформулирована цель исследования и выделены разделы «Материал и методы» и «Результаты и обсуждение». Смысловые выделения делаются полужирным шрифтом или курсивом.

- На титульной странице указывается: название статьи (не допускается употребление сокращений в названии статьи); полностью – фамилия, имя, отчество, должность, ученая степень, ученое звание каждого автора; принадлежность каждого автора к соответствующему учреждению; e-mail каждого автора (если такового не имеется, указывается e-mail учреждения); полное название на русском и английском языке, адреса и телефоны учреждений, на базе которых выполнено исследование; инициалы и фамилия руководителя кафедры, клиники, отдела, лаборатории; подписи всех авторов. Необходимо полностью указать фамилию, имя и отчество, телефон и e-mail автора, с которым можно вести переговоры и переписку по поводу представленного в редакцию материала.

- Статья должна содержать расширенную аннотацию (резюме, объем – 1 печатная страница)

и ключевые слова на русском и английском языке. В резюме необходимо отразить цель, материал и методы, а также основные результаты исследования с приведением конкретного цифрового материала.

- Каждый иллюстративный материал (графики, диаграммы, рисунки, фотографии) представляется отдельным файлом на электронных носителях в формате tiff или eps, текст-подпись – отдельно в формате Word (с соответствующей нумерацией).

- Графики, диаграммы должны быть только черно-белыми. Они предоставляются либо отдельным файлом в векторном виде в формате eps (шрифты – в кривых), либо созданными в программе Word (использование текстур и художественных заливок не допускается). Фотографии, рисунки, рентгенограммы (только черно-белые!) представляются отдельным файлом в формате tiff. Размер изображения в представляемом файле должен быть равен его окончательному физическому размеру (в миллиметрах) с разрешением 300 dpi. Цветные иллюстрации и диаграммы, а также их экранные копии в работу не принимаются. Однотипные иллюстрации должны быть одинаковыми по размеру, масштабу, характеру представления информации.

- Каждая таблица в формате Word должна иметь свой заголовок, не должна давать величин, легко выводимых из имеющихся (например, разность или проценты). Повторение одних и тех же данных в тексте, таблицах и на рисунках не допускается.

- При цитировании других публикаций дается сноска, в которой указываются название издания, год, выпуск и страница.

- При описании лекарственных препаратов указываются международное непатентованное наименование (МНН) и тщательно выверенные дозировки.

- Библиографические ссылки в тексте статьи даются цифрами в квадратных скобках в соответствии с пристатейным списком литературы, в котором авторы перечисляются по мере упоминания в тексте. В список литературы не включаются неопубликованные работы и учебники. При ссылке на диссертационную работу указывается только автореферат данной диссертации. Автор несет ответственность за правильность данных, приведенных в списке литературы.

- Для публикации статей в научных периодических изданиях, входящих в международные базы данных, авторы должны предоставлять 2 списка литературы: традиционный (**Литература**) – все публикации на родном языке (русские слова – кириллицей, иностранные – латиницей) и **References** – описание русскоязычных источников латиницей [фамилии авторов, названия источников публикаций и названия издательств транслитерируются, названия самих работ (книга, статья, диссертация) переводятся на английский язык].