

Министерство здравоохранения Российской Федерации
ФГБУ «НИИ питания» Российской академии медицинских наук

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ВОПРОСЫ ПИТАНИЯ

VOПРОSY PITANIЯ
(PROBLEMS OF NUTRITION)

Основан в 1932 г.

ТОМ 83
№ 4, 2014

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 Science, Social Sciences Citation Index, Russian Periodical Catalog



ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ГРУППА
«ГЭОТАР-Медиа»

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Тутельян Виктор Александрович

главный редактор, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, директор ФГБУ «НИИ питания» РАМН

Ханферьян Роман Авакович

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

Вржесинская Оксана Александровна

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

Батурин Александр Константинович

доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора ФГБУ «НИИ питания» РАМН по научной работе

Быков Анатолий Тимофеевич

член-корреспондент РАМН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой восстановительной медицины ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России

Васильев Андрей Валерьевич

доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории метаболизма и протеомного анализа ФГБУ «НИИ питания» РАМН

Гаппаров Минкаил Магомед Гаджиевич

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

Голухова Елена Зеликовна

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

Исаков Василий Андреевич

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

Коденцова Вера Митрофановна

доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией витаминов и минеральных веществ ФГБУ «НИИ питания» РАМН

Конь Игорь Яковлевич

доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией возрастной нутрициологии ФГБУ «НИИ питания» РАМН

Кочеткова Алла Алексеевна

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

Медведева Ирина Васильевна

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

Онищенко Геннадий Григорьевич

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

Панов Павел Борисович

главный внештатный диетолог Российской армии, начальник отдела питания и водоснабжения Научно-исследовательского центра ФГКВУ ВПО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Минобороны России

Погожева Алла Владимировна

доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории эпидемиологии питания и генодиагностики алиментарно-зависимых заболеваний с группой «Консультативно-диагностический центр "Здоровое питание"» ФГБУ «НИИ питания» РАМН

Попова Тамара Сергеевна

доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией экспериментальной патологии НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения Правительства Москвы

Савенкова Татьяна Валентиновна

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

Спиричев Владимир Борисович

доктор биологических наук, профессор

Суханов Борис Петрович

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

Хотимченко Сергей Анатольевич

доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий ФГБУ «НИИ питания» РАМН

Шевелева Светлана Анатольевна

доктор медицинских наук, заведующая лабораторией биобезопасности и анализа нутримикробиома ФГБУ «НИИ питания» РАМН

Шевырева Марина Павловна

доктор медицинских наук, профессор, директор Департамента охраны здоровья и санитарно-эпидемиологического благополучия человека Министерства здравоохранения РФ

Эллер Константин Исаакович

доктор химических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории метаболизма и протеомного анализа ФГБУ «НИИ питания» РАМН

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

К.А. Барт (Германия)

Ф. Бранко (ВОЗ)

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

М. Кароли (Италия)

В.Н. Макаров (Мичуринск, Россия)

И. Маскелюнас (Литва)

М. Ноулс (ILSI, Европа)

А.С. Орлов (Москва, Россия)

Л.Е. Панин (Новосибирск, Россия)

Ю.П. Пивоваров (Москва, Россия)

Л.В. Половинкин (Белорусия)

Н.Г. Проданчук (Украина)

Б.Л. Смолянский (Санкт-Петербург, Россия)

Т. Тамазашвили (Грузия)

Л. Уолкер (Великобритания)

Х. Хайров (Таджикистан)

Х.С.А. Хеймас (Великобритания)

А. Хенсел (Германия)

Т.Ш. Шарманов (Казахстан)

Л. Шпонар (Польша)

Научно-практический журнал «Вопросы питания» № 4, 2014

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,
ФГБУ «НИИ питания» РАМН,
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: Силина Ольга

Верстка: Килимник Арина

Отдел подписки:

Хабибулина Зульфия, habibulina@geotar.ru

Тираж 3000 экземпляров.

Формат 60x90 1/8.

Печать офсетная.

Печ. л. 12.

Отпечатано в ООО

«Центр полиграфических
услуг "Радуга"»: 115280, г. Москва,
ул. Автозаводская, д. 25.
Заказ № 69.

© ООО Издательская группа
«ГЭОТАР-Медиа», 2014

ОБЗОРЫ

Маркова Ю.М., Шевелёва С.А.

Пробиотики как функциональные пищевые продукты: производство и подходы к оценке эффективности

ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ ПИТАНИЯ

Копыльчук Г.П., Бучковская И.М.

Активность ферментов метаболизма L-аргинина в субклеточных фракциях печени крыс при алиментарной белковой недостаточности

Сидорова Ю.С., Селяскин К.Е., Зорин С.Н., Абрамова Л.С., Мазо В.К.

Влияние ферментализата мяса мидий на рост и некоторые показатели общего адаптационного синдрома у крыс

Бекетова Н.А., Коденцова В.М., Вржесинская О.А., Кошелева О.В., Переверзева О.Г., Сокольников А.А., Аксенов И.В.

Коррекция полигиповитаминоза у растущих крыс различными дозами витаминов на фоне обогащенного пищевыми волокнами рациона

Павловская Е.В., Строчкова Т.В., Сурков А.Г., Богданов А.Р., Бородина Г.В., Кутырева Е.Н., Сенцова Т.Б.

Характеристика пищевого статуса и основного обмена у детей различного возраста с избыточной массой тела и ожирением

СИСТЕМА КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА И БЕЗОПАСНОСТИ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Петренко А.С., Пономарева М.Н., Суханов Б.П.

Законодательное регулирование обращения биологически активных добавок к пище в Европейском союзе и отдельных странах Европы. Часть 2

ГИГИЕНА ПИТАНИЯ

Шумакова А.А., Авреньева Л.И., Гусева Г.В., Кравченко Л.В., Сото С.Х., Ворожко И.В., Сенцова Т.Б., Гмошинский И.В., Хотимченко С.А., Тутельян В.А.

Токсикологическая оценка наноструктурного диоксида кремния. II. Энзимологические, биохимические показатели, состояние системы антиоксидантной защиты

Александров А.А., Порядина Г.И., Котова М.Б., Иванова Е.И.

Особенности пищевого поведения детей и подростков крупных городов (на примере школьников Москвы и Мурманска)

Быков И.М., Басов А.А., Быков М.И., Ханферьян Р.А.

Сравнительная оценка антиокислительной активности и содержания прооксидантных факторов у различных групп пищевых продуктов

Высокогорский В.Е., Гаврилова Н.Б., Архипенко Ю.А.

Интенсивность липопероксидации и окислительной модификации белков козьего и коровьего молока

РЕЦЕНЗИИ

Белова Л.В., Карцев В.В.

Рецензия на книгу Н.Р. Ефимочкиной «Микробиология пищевых продуктов и современные методы детекции патогенов»

ИНФОРМАЦИЯ

REVIEW

- 4 **Markova Yu.M., Sheveleva S.A.** 4
Probiotics as functional foods: production and approaches to evaluating of the effectiveness

PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY NUTRITION

- 15 **Kopylchuk G.P., Buchkovskaya I.M.** 15
L-arginine metabolism enzyme activities in rat liver subcellular fractions under condition of protein deprivation

- 22 **Sidorova Yu.S., Selyaskin K.E., Zorin S.N., Abramova L.S., Mazo V.K.** 22
Influence of enzymatic hydrolyzate of mussels meat on growth and some indicators of general adaptation syndrome in rats

- 29 **Beketova N.A., Kodentsova V.M., Vrzhesinskaya O.A., Kosheleva O.V., Pereverzeva O.G., Sokolnikov A.A., Aksenov I.V.** 29
Correction of the combined vitamin deficit in growing rats fed fiber enriched diets with different doses of vitamins

- 42 **Pavlovskaya E.V., Strokova T.V., Surkov A.G., Bogdanov A.R., Borodina G.V., Kutyreva E.N., Sentsova T.B.** 42
Age-dependent characteristics of nutritional status and resting metabolism in overweight and obese children

FOOD SAFETY AND QUALITY CONTROL SYSTEM

- 52 **Petrenko A.S., Ponomareva M.N., Sukhanov B.P.** 52
Regulation of food supplements in the European Union and its member States. Part 2

HYGIENE OF NUTRITION

- 58 **Shumakova A.A., Avrenyeva L.I., Guseva G.V., Kravchenko L.V., Soto S.Kh., Vorozhko I.V., Sentsova T.B., Gmoshinsky I.V., Khotimchenko S.A., V.A. Tutelyan** 58
Toxicological assessment of nanostructured silica. II. Enzymatic, biochemical indices, state of antioxidative defence

- 67 **Alexandrov A.A., Poryadina G.I., Kotova M.B., Ivanova E.I.** 67
The specificity of schoolchildren's eating habits in Moscow and Murmansk

- 75 **Bykov I.M., Basov A.A., Bykov M.I., Khanferyan R.A.** 75
Comparative evaluation of antioxidant activity and content of prooxidant factors in different classes of foods

- 82 **Vysokogorsky V.E., Gavrilova N.B., Arkhipenko Yu.A.** 82
Intensity of lipid peroxidation and protein oxidative modification of goat and cow milk

BOOK REVIEW

- 86 **Belova L.V., Kartsev V.V.** 86
Review of N.R. Efimochkinoy's book «Microbiology of foodstuff and modern methods of detection of pathogens»

- 91 **INFORMATION** 91

Для корреспонденции

Маркова Юлия Михайловна – младший научный сотрудник
лаборатории биобезопасности и анализа нутримикробиома
ФГБУ «НИИ питания» РАМН

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

Телефон: (495) 698-53-83

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

Ю.М. Маркова, С.А. Шевелёва

Пробиотики как функциональные пищевые продукты: производство и подходы к оценке эффективности

Probiotics as functional
foods: production
and approaches to evaluating
of the effectiveness

Yu.M. Markova, S.A. Sheveleva

ФГБУ «НИИ питания» РАМН, Москва
Institute of Nutrition of Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

*В обзоре рассмотрены вопросы обогащения пищевых продуктов и создания функциональных пищевых продуктов (ФПП) и биологически активных добавок к пище на основе пробиотиков, освещены подходы к регулированию рынка пробиотических пищевых продуктов в различных странах. Акцентирован статус функциональных продуктов для оптимизации работы кишечника как самостоятельной категории ФПП. С учетом штаммоспецифичности пробиотического эффекта охарактеризованы минимальные критерии, применяемые для пробиотиков в пищевых продуктах, которые заключаются: 1) в необходимости идентификации на 3 уровнях (род, вид, штамм) с использованием высокоразрешающих методов; 2) жизнеспособности и присутствии в достаточном количестве в продукте к концу срока годности; 3) доказанности функциональных характеристик, присущих штаммам-пробиотикам, в контролируемых экспериментах. Рассмотрены аспекты рекомендованной ФАО/ВОЗ 3-уровневой процедуры оценки функциональной эффективности ФПП (фаза I – оценка безопасности в опытах *in vitro* и *in vivo*, фаза II – оценка эффективности в двойном слепом рандомизированном плацебо-контролируемом исследовании (ДСРПКИ) и фаза III – пострегистрационный мониторинг). Отмечено, что наряду с возможностью получать статистически значимые результаты оценки, имеют место практические трудности проведения ДСРПКИ (длительность, затратность, сложность выбора целевых биомаркеров и популяций). Освещена информация о перспективном подходе для оценки функциональной эффективности ФПП, которым является концепция нутригеномики, возникшая на стыке диетологии и генетики. Она изучает взаимосвязь питания человека с характеристиками его генома для определения влияния пищи на экспрессию генов и, в итоге, на здоровье человека. Нутригеномные подходы являются перспективными для решения вопросов как индивидуальной, так и популяционной оценки влияния пробиотиков на здоровых людей. Предложено для данных целей сделать акцент на нутригеномном ответе самого микробного сообщества кишечника*

и отдельных его популяций (в этом плане весьма информативной может быть популяция лактобактерий).

Ключевые слова: функциональные пищевые продукты, пробиотики, оценка функциональной эффективности пробиотиков, требования к штаммам-пробиотикам, нутригеномный подход

This review concerns the issues of food fortifications and the creation of functional foods (FF) and food supplements based on probiotics and covers an issue of approaches to the regulation of probiotic food products in various countries. The status of functional foods, optimizing GIT functions, as a separate category of FF is emphasized. Considering the strain-specificity effect of probiotics, the minimum criteria used for probiotics in food products are: 1) the need to identify a probiotics at genus, species, and strain levels, using the high-resolution techniques, 2) the viability and the presence of a sufficient amount of the probiotic in product at the end of shelf life, 3) the proof of functional characteristics inherent to probiotic strains, in the controlled experiments. The recommended by FAO/WHO three-stage evaluation procedure of functional efficiency of FF includes: Phase I – safety assessment in in vitro and in vivo experiments, Phase II – Evaluation in the Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled trial (DBRPC) and Phase III – Post-approval monitoring. It is noted that along with the ability to obtain statistically significant results of the evaluation, there are practical difficulties of conducting DBRPC (duration, costs, difficulties in selection of target biomarkers and populations). The promising approach for assessing the functional efficacy of FF is the concept of nutrigenomics. It examines the link between the human diet and the characteristics of his genome to determine the influence of food on the expression of genes and, ultimately, to human health. Nutrigenomic approaches are promising to assess the impact of probiotics in healthy people. The focusing on the nutrigenomic response of intestinal microbial community and its individual populations (in this regard the lactobacilli can be very informative) was proposed.

Key words: functional foods, probiotics, functional assessment of the effectiveness of probiotics, requirements for probiotic strains, nutrigenomics

Резкое увеличение техногенной и антропогенной нагрузки на окружающую среду в последнее столетие обусловило снижение устойчивости человека к различным заболеваниям. Наряду с этим произошли значимые изменения в образе жизни и характере трудовой деятельности, структуре питания населения, в целом характеризующиеся повышенной энергетической ценностью рационов при снижении энерготрат организма, дисбалансом незаменимых нутриентов, дефицитом витаминов, ряда макро- и микроэлементов, минорных биологически активных веществ пищи. В связи с этим стала активно развиваться концепция оптимального здорового питания, направленного на максимальное удовлетворение индивидуальных потребностей организма в энергетических, пластических, регуляторных и иных биологически активных соединениях и компонентах пищи, необходимых для нормального протекания физиологических процессов, поддержания здоровья

и предотвращения возможности развития острых и хронических заболеваний [5, 14, 17]. Соответственно резко возрос спрос на разработку и производство обогащенных незаменимыми факторами пищевых продуктов и функциональной пищи [7].

В России создание обогащенных продуктов началось с 1940-х гг. К настоящему времени известен ряд его вариантов: обогащение (добавление к исходной продукции эссенциальных нутриентов и биологически активных веществ, отсутствовавших изначально), нутрификация (увеличение пищевой ценности продукта), восстановление (добавление эссенциальных нутриентов для восстановления их потерь в процессе производства, хранения и использования), фортификация и стандартизация (обогащение недостающими эссенциальными нутриентами до уровня, превышающего их естественное содержание в продукте, или доведение до единого уровня содержания в однотипной продукции), сапплементация (допол-

нительный прием различных микронутриентов в форме таблеток, капсул, сиропов для восполнения их недостаточного поступления с пищевым рационом или достижения дополнительного положительного эффекта) [16].

Пробиотики как вид функциональных пищевых продуктов

Близкими к обогащенным пищевым продуктам по технологии создания являются функциональные пищевые продукты (ФПП). В отличие от обогащенных пищевых продуктов ФПП – это новая категория пищи, которая не только восполняет дефицит поступления определенных нутриентов за счет наличия в своем составе физиологически функциональных пищевых ингредиентов [12], основным требованием к ФПП является наличие у них доказанных положительных эффектов на одну или несколько функций организма человека и способности снижать риск развития заболеваний, связанных с питанием, поддерживать и улучшать здоровье, хорошее самочувствие, притом что они отвечают основному предназначению пищи – обеспечивать пластические и энергетические потребности организма [9].

Среди ФПП особое место занимают пробиотические и пребиотические продукты. В их состав входят живые микроорганизмы или неперевариваемые пищеварительными ферментами макроорганизма вещества (но доступные ферментам микробиоты), которые способны модифицировать индигенную микробиоту кишечника. Пробиотики не проникают во внутреннюю среду организма, не являются в полной мере структурными и композиционными эквивалентами своих природных эндогенных организму аналогов и не имеют установленных размеров физиологической суточной потребности. Рекомендуемые уровни их потребления с пищей основаны исключительно на функциональном эффекте, поэтому данный класс нутриентов изначально может расцениваться только как функциональный.

Термин «функциональное питание» впервые появился в Японии, где в 1980-х гг. сформировалась концепция пищевых продуктов, полезных для потребителей с медицинской точки зрения. Символично, что практика их создания была начата именно с добавления про- и пребиотиков – бифидобактерий, молочнокислых бактерий, олигосахаридов и, позже, пищевых волокон и ω-3 полиненасыщенных жирных кислот. В 1991 г. этот вид продукции получил правовой статус и обозначение FOSHU (food for specified health uses) – продукты, предназначенные для оздоровления. Обязательным условием для получения статуса FOSHU являются доказательства наличия оздо-

ровительного эффекта, полученные с помощью научных методов.

В Европе концепцию функционального питания и создание функциональных продуктов стали активно продвигать в конце 1990-х гг. Вначале работа по дефинициям и регламентации требований к таким продуктам проводилась под эгидой Международного института наук о жизни (ILSI), который объединил участие научных и крупных производственных организаций. В результате были созданы понятия «целевая функция» (target function) и «заявление о пользе» (health claim) ФПП. Под целевой функцией подразумевают эффект ФПП на определенный орган или систему организма человека (например, продукты с добавлением пищевых волокон должны оказывать выраженный эффект на моторно-эвакуационную функцию кишечника), под заявлением о пользе – маркировку изготовителем такого продукта, информирующую о наличии у него научно подтвержденных функциональных свойств (способности снижать риск развития алиментарных заболеваний, предотвращать или восполнять имеющийся в организме человека дефицит пищевых веществ и т.д.) [26]. Итогом работы стал Регламент Европейского парламента и совета № 1924/2006 от 20.12.2006, касающийся заявлений о пищевой ценности и полезности для здоровья, указываемых на этикетках пищевых продуктов, и устанавливающий правила и условия использования таких заявлений. Европейские подходы оказали влияние на развитие отрасли ФПП и были взяты за основу во многих странах, в том числе в России.

В США ФПП не выделены в отдельный класс, но Управление по надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) определяет 4 категории пищи: обычные пищевые продукты (составляющие самую большую категорию, включая продовольственные товары и напитки, не попадающие в другие 3 категории), пищевые продукты для специального диетического использования, продукты лечебного питания и биологически активные добавки к пище. ФПП могут быть отнесены к любой из этих категорий в зависимости от предполагаемого использования. В настоящее время многие производители позиционируют их в категории продуктов лечебного питания, предназначенных для потребления или применения исключительно под контролем врача для диетотерапии конкретных заболеваний или состояний, при которых характерные пищевые потребности организма человека установлены на основе общепризнанных научных методов [43].

В России в настоящее время рынок функциональной пищи находится в стадии формирования, хотя для категории пробиотических продуктов еще в 2001 г. в СанПиН 2.3.2.1078-01 [15] были установлены определение и минимальные уровни содер-

жания микроорганизмов-пробиотиков. С 2005 г. поступательно создается нормативно-правовая база, и на сегодня в этой области действует 8 национальных стандартов, которые распространяются на термины и определения, идентификацию, классификацию ФПП и ингредиентов, а также на методы определения в них ряда нутриентов (растворимых и нерастворимых пищевых волокон, каротиноидов, витаминов А, Е, D₃). Так, в ГОСТ Р 52349-2005 «Продукты пищевые. Продукты пищевые функциональные. Термины и определения» включены понятия пробиотического функционального пищевого продукта, содержащего живые микроорганизмы, благоприятно воздействующие на человека через нормализацию микробиоты пищеварительного тракта, и пробиотика как функционального пищевого ингредиента. В 2015 г. вступит в силу ГОСТ Р 55577-2013 «Продукты пищевые функциональные. Информация об отличительных признаках и эффективности», распространяющийся на оценку сведений о пищевой ценности и эффективности ФПП и функциональных пищевых ингредиентов, используемых при маркировке или в рекламе данной пищевой продукции.

В то же время практически повсеместно одним из нерешенных вопросов остается отсутствие четких границ между функциональными и специализированными пищевыми продуктами, поскольку даже в научной литературе нет единого понимания профилактики и снижения риска заболеваний [40], что может тормозить развитие всего направления. Так, все пробиотические продукты, присутствующие на рынке в Российской Федерации и Таможенном союзе и не подпадающие под категорию специализированных, квалифицированы только как источники пробиотиков или как биопродукты (разновидность кисломолочных продуктов), без указания на этикетке какого-либо определенного эффекта.

В Японии пробиотические пищевые продукты, содержащие $\geq 1 \times 10^7$ КОЕ живых пробиотических микроорганизмов в 1 г или 1 мл, также могут использоваться без заявлений о лечебных или иных свойствах [43]. Для того чтобы сделать заявление об эффективности такого продукта и признать его в качестве FOSHU, необходимо получить специальное разрешение от Министерства здравоохранения и социального обеспечения (Ministry of Health and Welfare) [23].

В европейских странах на пробиотические пищевые продукты распространяются директивы и регламенты по пищевым продуктам (регламент 178/2002/ЕС; директива 2000/13/ЕС). Необходимо, чтобы все заявления о пользе пробиотических пищевых продуктов и добавок были научно оценены Европейским ведомством по безопасности пищевых продуктов (European Food Safety Autho-

riety, EFSA) до начала их использования в странах Европейского союза. Соответственно заявления о пищевой ценности и заявления о пользе продуктов питания регулируются в соответствии с Регламентом ЕС № 1924/2006 [42].

В США пробиотики могут быть отнесены практически к каждой из 4 упомянутых выше категорий пищевой продукции, регулируемой FDA, следовательно, контроль за ними проводится в зависимости от того, в какую из существующих категорий они попадают: пищевая продукция (продукты для массового потребления, продукты лечебного питания, пищевые продукты для специального диетического использования, биологически активные добавки к пище), а также лекарственные средства и биопрепараты [31].

Во многих странах различие между продуктами на основе одних и тех же биологически активных компонентов зависит от того, как они используются. Согласно большинству действующих нормативных актов, для лечения или профилактики заболеваний предназначаются лекарственные средства и диетические лечебные продукты, тогда как ФПП служат для поддержания нормальных функций организма или для снижения риска заболеваний у здорового населения [40].

В самостоятельную категорию среди них выделяют продукты для оптимизации работы кишечника. Данный орган является очевидной мишенью для функциональных продуктов, поскольку он и ассоциированные с ним структуры (лимфоидная ткань, симбионтная флора) не только взаимодействуют с пищей, но и осуществляют в организме наряду с пищеварительной также иммунную, выделительную и другие функции [30]. Они во многом осуществляются или опосредованы экстракорпоральным органом – кишечной микробиотой. Сегодня получено достаточно доказательств в том, что микробиота:

- обеспечивает колонизационную резистентность, предотвращая заселение желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) патогенными микробами;
- как определяющий антигенный фактор способствует формированию местного мукозального и системного иммунитета, иммунологической толерантности к пищевым антигенам;
- утилизирует не абсорбированные в тонкой кишке питательные субстраты, регулируя расход и запасание энергии;
- участвует в регуляции моторики;
- осуществляет эндогенный синтез *de novo* витаминов группы В, витамина К, биологически активных и гормоноподобных веществ, регуляторно воздействующих на внутренние органы и центральную нервную систему;
- регулирует обмен холестерина в процессе энтерогепатической циркуляции, метаболизм оксалатов, всасывание кальция и других ионов;

– защищает слизистую кишечника и другие органы от воздействия повреждающих факторов, утилизируя и метаболизируя токсины, ксенобиотики, проканцерогены [11].

Поэтому очевидно, что пре- и пробиотики, способные изменять состав и метаболическую активность кишечной микробиоты, при успешном подборе могут реализовать свое действие в каждой из перечисленных функций, оптимизируя их протекание у здоровых людей. Актуальность этой задачи подтверждает высокая частота дисбиотических нарушений кишечного микробиоценоза, относящихся к одной из наиболее распространенных причин дезадаптации организма у людей всех возрастов [18, 20].

Исследования последних лет с применением новых технологий геномного анализа также демонстрируют взаимосвязь нарушений кишечной микробиоты и патогенеза ожирения, пищевой аллергии, синдрома раздраженного кишечника, доказательством чего служит положительное влияние пробиотиков и некоторых пребиотиков при этих патологиях [37]. Более того, практически у 90% больных сердечно-сосудистыми заболеваниями найдена корреляция сдвигов в системном воспалительном ответе с избыточным бактериальным ростом в кишечнике и транслокацией грамотрицательной флоры. Поэтому использование пробиотиков и пребиотиков сегодня можно признать одним из наиболее перспективных направлений в функциональном питании для коррекции дисбиозов симбионтной флоры ЖКТ и для снижения риска развития наиболее распространенных алиментарно-зависимых заболеваний человека. Но эта цель может быть достигнута только при условии получения надежных доказательств эффективности конкретных пробиотических продуктов, базирующихся на адекватной и стандартизованной должным образом методологии [21].

Принципы оценки штаммов пробиотических микроорганизмов

Для пробиотических микроорганизмов существует целый ряд дефиниций, в целом сводящихся к понятию о живых микробных культурах, обеспечивающих пользу для здоровья при регулярном потреблении с пищей в достаточных количествах [24]. В основном к таким культурам относят представителей защитной симбионтной флоры кишечника здоровых людей, которые не содержат в своих геномах детерминируемых факторов патогенности (главным образом рода *Bifidobacterium*, отдельные штаммы родов *Lactobacillus*, *Propionibacterium*). Среди специалистов достигнут консенсус в требованиях к штаммам, отбираемым

для использования в пробиотических продуктах. Так, минимальными критериями здесь является то, что пробиотик должен быть: 1) идентифицирован на 3 уровнях: род, вид, штамм; 2) живым и присутствовать в достаточном количестве в продукте к концу срока годности; 3) обладать функциональными характеристиками, присущими штаммам-пробиотикам (например, устойчивость к кислотности желудка и желчи, антагонизм в отношении патогенных микроорганизмов, способность снижать адгезию патогенов к слизистой кишечника и др.), – наличие которых доказано в контролируемых экспериментах *in vitro* и исследованиях *in vivo*, *ex vivo*.

Значимость этих критериев объясняется штаммоспецифичностью пробиотического эффекта. В свою очередь она зависит от наличия у конкретных микроорганизмов генетических детерминант, кодирующих выработку факторов, за счет которых данный эффект осуществляется. Например, у штамма *Bifidobacterium longum* BB536 в геномной ДНК был найден иммуностимулирующий олигодезоксинуклеотид BL07, стимулирующий пролиферацию В-лимфоцитов и индуцирующий выработку интерлейкина-12 в макрофаг-подобных J774.1 клетках [44], а у *Lactobacillus casei* Shirota – кластер генов, принимающих участие в биосинтезе высокомолекулярного полисахарида, который проявляет иммуномодулирующую функцию в кишечнике [47].

Поэтому совершенно очевидно, что экстраполировать результаты, полученные с одним пробиотическим штаммом, на другие штаммы этого вида нельзя, а также нельзя расширять благоприятное воздействие штамма в определенной области здоровья на другие преимущества. Конкретный эффект может быть приписан только определенному штамму или ассоциации штаммов, при этом обязательно учитывается влияние пищевой матрицы на экспрессию (выраженность) этих свойств [3, 20].

В связи с этим главным вопросом обеспечения и контроля подлинности пробиотиков является точность их идентификации на уровне штамма. Для этого еще в 2002 г. FAO/ВОЗ были разработаны рекомендации по оценке пробиотиков в пищевых продуктах, согласно которым пробиотические штаммы должны быть идентифицированы с использованием высокоразрешающих методов, основанных на международно принятых воспроизводимых технологиях молекулярного анализа (ДНК-ДНК-гибридизация, пульс-электрофорез хромосомной ДНК, полимеразная цепная реакция с произвольными праймерами), названы в соответствии с принятым современным каталогом бактериальной номенклатуры и задепонированы в национальных коллекциях культур международного уровня [21, 28].

С целью обеспечения единого подхода к оценке качества и безопасности штаммов пробиотических микроорганизмов и гармонизации нормативной базы, регулирующей оборот выработанной с их использованием продукции, эти положения включены в утвержденные в 2010 г. в России МУ 2.3.2.2789-10 [13].

Оценка функциональной эффективности пробиотических продуктов

Сегодня международное сообщество постулирует указанные ниже условия оценки эффективности пробиотических продуктов перед принятием решения о маркировке и допуске на рынок.

1. Для продуктов, содержащих штаммы пробиотических микроорганизмов, должна иметься документация, подтверждающая положительные эффекты для здоровья в исследованиях у людей.

2. Обзорные статьи или результаты исследований специфических пробиотических штаммов не могут использоваться как доказательство эффективности неисследованных штаммов того же таксономического вида.

3. Исследования, показавшие эффективность штамма в определенной дозе, не могут служить доказательством его эффективности в меньшей дозе [39].

Соответственно продукты и биологически активные добавки к пище, содержащие потенциально полезные культуры микроорганизмов, эффективность которых не доказана в исследованиях у человека, не могут называться пробиотиками [3, 20, 21].

Базовой процедурой оценки эффективности пробиотических продуктов является 3-уровневый алгоритм, рекомендованный FAO/ВОЗ в 2002 г., принятый странами – членами этой организации [24, 37, 40]. В **I фазе** продукт, в состав которого включены штаммы, идентифицированные и охарактеризованные на наличие пробиотических свойств в опытах *in vitro*, *in vivo*, *ex vivo* (соответственно результатам отбора штаммов отвечающие описанным выше критериям для пробиотических штаммов), должен быть подвергнут доклиническим исследованиям, окончательно подтверждающим безопасность для потребителей: выявлению побочных эффектов, непереносимости, установлению максимальных доз и длительности приема. Самым распространенным для этого способом являются эксперименты с кормлением лабораторных животных. Используются также различные модели *in vitro*, например хемостаты или SHIME-

реакторы*, позволяющие изучать воздействие пробиотиков в условиях, имитирующих процесс пищеварения в ЖКТ и взаимодействие с эндогенной флорой. Создано множество подобных моделей: от простых культуральных смесей при различных значениях pH, с перемешиванием или без него, до многоступенчатых непрерывных управляемых компьютером реакторов [10, 29, 32]. Если испытуемый пробиотик не имеет истории безопасного потребления, на данном этапе также должна проводиться оценка продукта, в состав которого он включен, в стационарных условиях на ограниченных группах добровольцев.

Однако полученные в I фазе испытаний результаты не могут быть экстраполированы на человека, а тем более на популяцию населения в целом. Поэтому окончательное решение о функциональной эффективности пробиотика принимается во **II фазе** процедуры, где оценивается специфический ожидаемый эффект в клинических исследованиях, проводимых по принципам двойного слепого рандомизированного плацебо-контролируемого исследования (ДСРПКИ) и доказательной медицины, причем как минимум в 2 независимых клиниках. Сегодня в мире известно о 700 ДСРПКИ с пробиотиками [40]. Но их результаты далеко не во всех случаях свидетельствуют о доказанности эффекта, хотя причины этого не всегда связаны с неэффективностью пробиотиков как таковых. Во многом они зависят от субъективных обстоятельств (большие вариации в оценке целевого эффекта, неадекватность целевых популяций и введение недостаточных для эффекта доз, отсутствие групп сравнения, получающих инактивированные пробиотики, отсутствие мониторинга продукта в процессе испытаний, использование неадекватных биомаркеров). Конечно, это характеризует ДСРПКИ как сложный для исполнения подход и в организационно-методическом плане, и по интерпретации результатов. Примеров надлежаще доказанных специфических функциональных эффектов и адекватно подобранных критериев оценки эффективности пробиотиков сегодня мало. Одним из них является комплекс работ по *Lactobacillus rhamnosus GG (LGG)*. На сегодня известно 475 научных публикаций, посвященных *LGG*, в том числе по секвенированию генома штамма, 10 – клиническим испытаниям содержащих *LGG* продуктов, из них 9 – с положительным эффектом при лечении водянистой диареи [2]. Однако лечение – это прерогатива продуктов лечебного питания.

Принимая во внимание указанные проблемы, ILSI, ISAPP**, ESPGHAN*** и другие сообщест-

* SHIME – the Simulator of the Human Intestinal Microbial Ecosystem.

** ISAPP – International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics.

*** ESPGHAN – European Scientific Committee on Pediatric Gastroenterology, Hepatology, Allergology and Nutrition.

ва специалистов формулируют рекомендации по совершенствованию методологии получения доказательств пользы пробиотиков [25, 37, 39]. Основными среди них являются четкая структуризация II этапа и выделение конкретного целевого уровня воздействия пробиотика на организм, в зависимости от которого в ДСРПКИ должны выбираться и изучаться наиболее специфичные, а главное – научно признанные критерии его ответа (биомаркеры):

1 – функция кишечника и состав микрофлоры (время кишечного транзита, уровень бифидофлоры и др.);

2 – локальный иммунитет (структура кишечной стенки, продукция цитокинов, морфология и количество лимфоцитов и т.д.);

3 – системный иммунный ответ (гуморальные антитела, заболеваемость), печень, нервная система.

В связи с тем, что такие высокобюджетные испытания пробиотиков, как ДСРПКИ, доступны в основном крупным производителям, все чаще высказывается мнение о необходимости их независимого статуса и финансирования государственными органами [25].

III фаза оценки пробиотиков по FAO/ВОЗ – пост-регистрационный мониторинг выпускающихся продуктов в долгосрочных наблюдениях со сбором сведений на популяционном уровне о побочных реакциях и заболеваниях, связанных с этими продуктами, а также о негативных эффектах на какие-либо физиологические константы организма, которые при исследованиях в краткие сроки остаются в пределах физиологических уровней, но механизм таких эффектов на сегодняшний день не ясен. Конкретных примеров об этом в литературе пока нет.

Пути совершенствования подходов к доказательству эффективности пробиотиков

Следует признать, что результаты оценки эффективности пробиотиков и пребиотиков в отвечающих требованиям GCP* и правильно организованных ДСРПКИ действительно могут быть убедительным доказательством для потребителя, но не служат быстрому внедрению и удешевлению содержащих их функциональных продуктов. Повсеместно изготовители из-за экономии средств и долгосрочности контролируемых клинических испытаний стремятся ограничиться I фазой оценки продукта и выносят на этикетку информацию о наличии в его составе про-

биотических культур, обладающих не реальным, а потенциальными эффектом. Это дезориентирует потребителя и, по сути, не позволяет квалифицировать продукты как функциональные, в результате их число на рынке исчисляется единицами. Так, в Регламенте ЕС № 432/2012 от 16.05.12 в перечне из 224 нутриентов и пищевых продуктов, для которых получено разрешение EFSA на указание функционального эффекта в этикетке, лишь 1 является продуктом микробного происхождения (живая йогуртная культура), эффект которой (при содержании в йогурте в количестве не менее 10^8 КОЕ/г) заключается в улучшении переваривания лактозы у лиц с лактазным дефицитом.

Такое положение для пищевой продукции, безопасность которой однозначно подтверждена (в отличие от лекарств, где вероятные риски здоровью на этапе оценки безопасности могут быть выявлены не до конца), неоправданно и обуславливает целесообразность дополнительных путей оценки эффективности. Так, повышение достоверности результатов изучения эффективности начиная с I фазы может быть обеспечено стандартизацией процедур и применением надлежащих практик (GCP, GLP**) [9]. Весьма целесообразна систематизация эффектов воздействия функциональных продуктов на организм и разработка методов их определения, например эффекта избирательной стимуляции роста бифидобактерий в кишечнике и его корреляции с уровнем здоровья человека.

В этом плане принятие ГОСТ Р 54059-2010 «Продукты пищевые функциональные. Ингредиенты пищевые функциональные. Классификация и общие требования» можно считать прогрессом в развитии нормативной базы для ФПП. Однако приведенные в нем кодированные обозначения функциональных пищевых ингредиентов по сути являются классами потенциальных медико-биологических эффектов, обуславливаемых этими ингредиентами. Поскольку стандарт не содержит ссылок на условия, при которых эти эффекты могут быть реализованы, а также на процедуры получения доказательств эффективности, в таком виде на практике он неприменим и, на наш взгляд, нуждается в изменении.

Многие авторы сегодня видят основной путь совершенствования и ускорения методологии доказательности в индивидуализации оценки эффекта на базе современных молекулярных, нанотехнологических и иммунологических средств [4, 27, 39]. В свою очередь это приведет к возникновению нового уровня понимания того, как функ-

* Good Clinical Practice – надлежащая клиническая практика.

** Good Laboratory Practice – надлежащая лабораторная практика.

ционирует организм человека с его микробными сообществами и как такое взаимодействие может модулироваться на благо хозяина.

Состояние рынка пробиотических продуктов и перспективы оценки их эффективности

Хотя сомнений в безопасности пробиотиков, поступающих с пищей, для здоровья людей нет и существует обширный массив данных о положительных эффектах при использовании в клинике, тем не менее отсутствует достаточное количество доказательств их пользы для здоровых потребителей. Особенно это касается таких часто декларируемых функций, как деградация холестерина и профилактика атеросклероза, редукция атропических процессов и профилактика аллергии, антиканцерогенное действие, предотвращение инфекций ЖКТ и хеликобактериоза [39]. Не сняты вопросы, связанные с потенциальным риском отдаленных проблем из-за возможной модификации индигенной флоры ЖКТ под влиянием длительного употребления пробиотиков. Специалисты признают, что для их решения необходимы многофакторные исследования и четкое понимание механизмов подобных эффектов пробиотиков, которое пока еще не достигнуто [35].

Несмотря на эти нерешенные вопросы, индустрия наращивает темпы производства пробиотиков в качестве продуктов здорового питания, так как это становится экономически выгодным. Созданы сотни разновидностей продуктов и биологически активных добавок на основе моноштаммов, их смесей друг с другом и с заквасочными культурами, пробиотических метаболитов, с олиго- и полисахаридами, витаминами, микроэлементами, нуклеотидами. Вырос спектр предлагаемых штаммов-продуцентов из числа уже известных видов или ранее не использовавшихся для пробиотических целей (*Propionibacteria* spp., *Streptococcus thermophilus*). Некоторые из них (*Bifidobacterium animalis*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus casei*), в отличие от широко апробированных штаммов, выделенных из организма человека, происходят из качественно новых источников (пищевые продукты, животные). Ряд штаммов (например, *Lactobacillus rhamnosus GG*) не имеют обязательных для фармакопейных пробиотиков свойств, например способности адгезироваться к энтероцитам и колонизировать ЖКТ [8].

В 2010 г., по оценкам экспертов, мировой рынок пробиотиков составил 21,6 млрд долл. США (из них на пищевые продукты и добавки приходится 19,6), в 2011 г. – 24,23 млрд долл. [44]. Ожидается, что среднегодовой темп роста мирового рынка составит 7,6% и к 2015 г. достигнет 31,1 млрд долл. (на долю пищевых продуктов и добавок будет при-

ходить 28,1), а к 2018 г. – 44,9 млрд долл. [38]. По данным на 2010 г., на Азиатско-Тихоокеанский регион приходилось 36,7% рынка пробиотических продуктов, на Европу – 34,2% рынка, на Северную Америку – 14,2%, доля остальных стран составила 14,9% [45].

К наиболее распространенным типам пищевых продуктов, обогащенных пробиотическими микроорганизмами, относят биокефир (в 2009 г. они составляли 35% от общего объема производства пробиотических пищевых продуктов), биокефир (11,3%), другие сквашенные напитки и смузи (35,4%), сыры (6,0%) [22].

Согласно российской статистической информации, пробиотические кисломолочные продукты составляют около 10% от совокупного объема производства кисломолочных продуктов [1].

При этом маркетинг большинства пробиотических пищевых продуктов ориентирован на здоровых взрослых людей, которых с помощью рекламы убеждают в том, что регулярный прием пробиотиков будет способствовать поддержанию здоровья, предотвращать или уменьшать риск развития хронических заболеваний ЖКТ, дыхательной и сердечно-сосудистой систем. Это побуждает многих людей постоянно употреблять продукты с пробиотиками. Однако нет точного критерия здоровья, и нет исследований, подтверждающих, что их долгосрочный прием помогает поддерживать здоровье. Кроме того, не существует количественных показателей воздействия пробиотиков на иммунную систему здоровых лиц [41]. Наоборот, известно, что употребление пробиотиков не приводит к их длительной колонизации и повышению выживаемости в организме, так как они быстро элиминируются из пищеварительного тракта после прекращения потребления продукта. Причины этого явления связывают с чужеродностью для человека микроорганизмов, входящих в состав пробиотических продуктов, их антагонизмом с резидентной микробиотой, а также высокой видовой, индивидуальной и анатомической специфичностью аутохтонной флоры макроорганизма [6, 19].

В связи с вышесказанным для подтверждения заявлений о пользе регулярного потребления пробиотических продуктов здоровыми людьми необходимы хорошо продуманные научные исследования и подходы, позволяющие оценить механизмы влияния пробиотиков на функционирование организма в целом, его органов и систем, в том числе их ответы на клеточном уровне, полученные наиболее современными методами, способными отслеживать самые тонкие механизмы этого взаимодействия.

В настоящее время большой интерес представляет концепция нутригеномики, возникающая на стыке диетологии и генетики. Она изучает взаимосвязь питания человека с характеристиками

его генома для определения влияния пищи на экспрессию генов и, в итоге, на здоровье человека [4]. Подход, названный расширенной нутригеномикой, исследует взаимодействия между 3 геномами: геномом пищи, геномом человека и геномом кишечной микробиоты, являющейся местом контакта двух предыдущих. Следует указать, что при таком подходе термин «геномика» понимают в его широком смысле – как исследование геномов (состава и последовательностей ДНК), протеомов (состава и последовательностей белков), транскриптомов (состава и последовательностей РНК) и метаболомов (состава метаболитов), а не только как изучение ДНК и РНК [33].

Одним из главных инструментов нутригеномики является транскриптомика, которая в реальном времени способна показать влияние различных факторов, в том числе пищевых, на синтез белков. Транскриптомный подход с использованием кДНК или технологии олигонуклеотидных чипов (microarray) позволяет анализировать экспрессию гена в биологическом образце в данный момент времени в конкретных условиях [36]. Близкой по технологии исполнения является пробиогеномика, которая изучает генетические детерминанты и молекулярные основы, участвующие в эффекте пробиотиков на здоровье [46]. Для понимания роли пробиотиков и кишечной микробиоты, а также взаимодействий между микробиотой и организмом необходимо согласование информации пробиогеномики с данными об экспрессии генов организма в кишечнике [33].

Нутригеномные подходы являются перспективными для решения упомянутых выше вопросов как индивидуальной, так и популяционной

оценки влияния пробиотиков на здоровых людей. Нам представляется целесообразным для данных целей сделать акцент на нутригеномном ответе самого микробного сообщества кишечника и отдельных его популяций. В этом плане весьма информативным может быть изучение популяции лактобактерий, которая у людей всех возрастов играет наиболее значимую роль в обеспечении барьерной функции кишечного эпителия, выработке антимикробных продуктов, колонизационной резистентности против патогенов в кишечнике и других биотопах организма, индукции клеточного локального иммунитета, взаимодействию с иммунными клетками и другими клеточными структурами слизистой, ферментативной конформации пищевых антигенов в просвете кишки [34]. Учитывая уникальность толл-подобных клеточных рецепторов слизистой, распознающих микробные структуры, изучение нутригеномной реакции лактобактерий в содержимом кишечника, подобно реакции самих энтероцитов, позволит получать персонализированную оценку влияния пробиотиков и пребиотиков на организм, значимым преимуществом которой может являться отсутствие инвазивности.

На I этапе исследования в этом направлении могут базироваться на оценке экспрессии определенных кодируемых факторов, обуславливающих защитный эффект, например генов бактериоцинов, ферментов класса оксидаз.

Таким образом, востребованность и доверие к функциональным продуктам, а следовательно, дальнейшее развитие их производства, будут расти в том случае, если убеждения в их пользе будут строиться на конкретных примерах научно доказанной эффективности.

Сведения об авторах

Маркова Юлия Михайловна – младший научный сотрудник лаборатории биобезопасности и анализа нутримикробиома ФГБУ «НИИ питания» РАМН (Москва)

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

Шевелёва Светлана Анатольевна – доктор медицинских наук, заведующая лабораторией биобезопасности и анализа нутримикробиома ФГБУ «НИИ питания» РАМН (Москва)

E-mail: sheveleva@ion.ru

Литература

1. Анализ Российского рынка пробиотиков, демо-версия. Московская область, г. Черноголовка, август 2010. http://www.megaresearch.ru/files/demo_file/6068.pdf
2. Андреева И.В. Современные доказательные данные эффективности применения *Lactobacillus rhamnosus* GG и *Bifidobacterium lactis* Bb-12 в педиатрической практике // *Вопр. соврем. педиатрии.* – 2011. – Т. 10, № 1. – С. 50–57.
3. Андреева И.В., Стецюк О.У. О штаммоспецифичности пробиотиков // *Клин. микробиол. и антимикроб. химиотер.* – 2010. – Т. 12, № 3. – С. 253–254.
4. Батурин А.К., Сорокина Е.Ю., Погожева А.В. и др. Генетические подходы к персонализации питания // *Вопр. питания.* – 2012. – Т. 81, № 6. – С. 4–11.
5. Волгарев М.Н. О нормах физиологических потребностей человека в пищевых веществах и энергии: рет-

- роспективный анализ и перспективы развития // *Вопр. питания.* – 2000. – № 4. – С. 3–7.
6. Глушанова Н.А., Шендеров Б.А. Взаимоотношения пробиотических и индигенных лактобацилл хозяина в условиях совместного культивирования *in vitro* // *Журн. микробиол.* – 2005. – Т. 2. – С. 56–61.
 7. Доронин А.Ф., Шендеров Б.А. Функциональное питание. – М.: Грантъ, 2002. – 296 с.
 8. Киркман М.Ф., Седгард Л. Контракт с кишечником. Микробиология пищеварительного тракта и пробиотики. – М.: Арнебия, 2004. – 160 с.
 9. Кочеткова А.А. Актуальные аспекты технического регулирования в области продуктов здорового питания // *Переработка молока* – 2013. – № 10(169). – С. 6–8.
 10. Куваева И.Б., Петрушина Л.И., Шевелёва С.А., Колосницына Н.В. Экспериментальное обоснование принципов создания микробиологических нормативов для продуктов питания детей I года жизни // *Вопр. питания.* – 1987. – № 2. – С. 56–59.
 11. Кучумова С.Ю., Полуэктова Е.А., Шептулин А.А. и др. Физиологическое значение кишечной микрофлоры // *Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.* – 2011. – Т. 21, № 5. – С. 17–27.
 12. Мазо В.К., Коденцова В.М., Вржесинская О.А., Зилова И.С. Обогащенные и функциональные пищевые продукты: сходство и различия // *Вопр. питания.* – 2012. – Т. 81, № 1. – С. 63–68.
 13. МУ 2.3.2.2789-10 «Методические указания по санитарно-эпидемиологической оценке безопасности и функционального потенциала пробиотических микроорганизмов, используемых для производства пищевых продуктов».
 14. Погожева А.В. Стратегия здорового питания от юности к зрелости. – М.: СВР-АРГУС, 2011. – 336 с.
 15. СанПиН 2.3.2.1078-2001 «Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов».
 16. Спиричев В.Б. Научные принципы обогащения пищевых продуктов микронутриентами // *Ваше питание.* – 2000. – № 4. – С. 13–19.
 17. Спиричев В.Б., Шатнюк Л.Н., Поздняковский В.М. Обогащение пищевых продуктов витаминами и минеральными веществами // *Наука и технология / Под общ. ред. В.Б. Спиричева.* – 2-е изд. – Новосибирск: Сибир. университет. изд-во, 2005. – 548 с.
 18. Червинец Ю.В., Беляева Е.А., Червинец В.М. и др. Нарушения микробиоты желудочно-кишечного тракта здоровых людей // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* – 2013. – Т. 2013, № 3. – С. 55–58.
 19. Чичерин И.Ю., Погорельский И.П., Дармов И.В. и др. Пробиотики: вектор развития // *Практическая медицина.* – 2012. – № 3(58). – С. 180–188.
 20. Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. Т. 3. Пробиотики и функциональное питание. – М.: Грант, 2001. – 288 с.
 21. Шевелёва С.А. Медико-биологические требования к пробиотическим продуктам и биологически активным добавкам к пище // *Инфекционные бол.* – 2004. – Т. 2, № 3. – С. 86–91.
 22. *Agheysi R.* The probiotics market: ingredients, supplements, foods // Report code: FOD035C, BCC Research. – Wellesley, USA, 2011.
 23. *Amagase H.* Current marketplace for probiotics: a Japanese perspective // *Clin. Infect. Dis.* – 2008. – Vol. 46, suppl. 2. – P. 73–75.
 24. *Araya M., Morelli L., Reid G. et al.* Guidelines for the evaluation of probiotics in food // Report of a Joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. – London, Ontario, Canada, 2002.
 25. *Braegger C., Chmielewska A., Decsi T. et al.* Supplementation of infant formula with probiotics and/or prebiotics: A systematic review and comment by the ESPGHAN Committee on nutrition, 2011.
 26. *Diplock A.T., Aggett P.J., Ashwell M. et al.* Scientific concepts in functional foods in Europe: Consensus document // *Br. J. Nutr.* – 1999. – Vol. 81, suppl. 1. – P. S1–S27.
 27. *Dobrogosz W.J., Peacock T.J., Hassan H.M.* Evolution of the probiotic concept: from conception to validation and acceptance in medical science // *Adv. Appl. Microbiol.* – 2010. – Vol. 72. – P. 1–41.
 28. Joint FAO/WHO Expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. – Cyrdoba, Argentina, Oct. 2001.
 29. *Haschke F., Wang W.* Influence of synbiotic mixture consisting of *Lactobacillus acidophilus* 74-2 and a fructooligosaccharide preparation on the microbial ecology sustained in a simulation of human intestinal microbial ecosystem (SHIME reactor) // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2000 Feb. – Vol. 53, issue 2. – P. 219–223.
 30. *Howlett J.* Functional foods: from science to health and claims. – ILSI Europe, 2008. – 36 p.
 31. *Hoffmann D.E., Fraser C.M., Palumbo F.B. et al.* Probiotics: Finding the Right Regulatory Balance // *Science (New York, NY).* – 2013. – Vol. 342, N 6156. – P. 314–315.
 32. *Kawther El-Shafie, Tawfik N.F. et al.* In vitro assessment of gastrointestinal viability of potentially probiotic *Lactobacilli* // *J. Am. Sci.* – 2010. – Vol. 6, N 11. – P. 357–367.
 33. *Kussmann M., Van Bladeren P.J.* The extended nutrigenomics – understanding the interplay between the genomes of food, gut microbes, and human host // *Front. Genet.* – 2010. – Vol. 2. – P. 21–21.
 34. *Lebeer S., Vanderleyden J., De Keersmaecker S.C.J.* Genes and molecules of lactobacilli supporting probiotic action // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* – 2008. – Vol. 72, N 4. – P. 728–764.
 35. *Lee Y.K., Salminen S.* Handbook of Probiotics and Prebiotics. – John Wiley and Sons, 2009.
 36. *Mutch D.M., Wahli W., Williamson G.* Nutrigenomics and nutrigenetics: the emerging faces of nutrition // *FASEB J.* – 2005. – Vol. 19, N 12. – P. 1602–1616.
 37. *Nino Binns.* Probiotics, Prebiotics and the Gut Microbiota. ILSI Europe Concise Monographs Series. – 2013. – ILSI Europe, 32 p. ISBN: 9789078637394; ISSN: 2294-5490.
 38. *Pedretti S.* Probiotic market: up or down? // *Nutrafoods.* – 2013. – Vol. 12, N 1. – P. 18–19.
 39. *Rijkers G.T., Bengmark S., Enck P. et al.* Guidance for substantiating the evidence for beneficial effects of probiotics: current

- status and recommendations for future research // *J. Nutr.* – 2010. – Vol. 140, N 3. – P. 671–676.
40. Sanders M.E., Heimbach J.T., Pot B. et al. Health claims substantiation for probiotic and prebiotic products // *Gut Microbes.* – 2011. – Vol. 2, N 3. – P. 127–133.
 41. Senok A.C., Ismaeel A.Y., Botta G.A. Probiotics: facts and myths // *Clin. Microbiol. Infect.* – 2005 Dec. – Vol. 11, N 12. – P. 958–966.
 42. Sreeja V., Prajapati J.B. Probiotic Formulations: Application and Status as Pharmaceuticals – a Review // *Probiotics Antimicrob. Proteins.* – 2013. – Vol. 5, N 2. – P. 81–91.
 43. Stanton C., Gardiner G., Meehan H. et al. Market potential for probiotics // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2001. – Vol. 73, N 2. – P. 476–483.
 44. Takahashi N., Kitazawa H., Shimosato T. et al. An immunostimulatory DNA sequence from a probiotic strain of *Bifidobacterium longum* inhibits IgE production in vitro // *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* – 2006. – Vol. 46, N 3. – P. 461–469.
 45. The Global Probiotics Market Broken Down by Product Function, Applications and Ingredients: 2013 Market Report. <http://www.cnbc.com/id/101140537>
 46. Ventura M., Canchaya C., Tauch A. et al. Genomics of Actinobacteria: tracing the evolutionary history of an ancient phylum // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* – 2007. – Vol. 71, N 3. – P. 495–548.
 47. Yasuda E., Serata M., Sako T. Suppressive effect on activation of macrophages by *Lactobacillus casei* strain Shirota genes determining the synthesis of cell wall-associated polysaccharides // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2008. – Vol. 74, N 15. – P. 4746–4755.

Для корреспонденции

Бучковская Иванна Михайловна – кандидат биологических наук, ассистент кафедры биохимии и биотехнологии Института биологии, химии и биоресурсов Черновицкого национального университета им. Ю. Федьковича

Адрес: 58012, Украина, г. Черновцы, ул. Коцюбинского, д. 2

Телефон: (0372) 58-48-38

E-mail: ivannabuchkovska@mail.ru

Г.П. Копыльчук, И.М. Бучковская

Активность ферментов метаболизма L-аргинина в субклеточных фракциях печени крыс при алиментарной белковой недостаточности

L-arginine metabolism enzyme activities in rat liver subcellular fractions under condition of protein deprivation

G.P. Kopylchuk, I.M. Buchkovskaya

Институт биологии, химии и биоресурсов Черновицкого национального университета им. Ю. Федьковича, Украина
Institute of Biology, Chemistry and Biological Resources of Chernovtsi National University named after Yu. Fedkovych, Ukraine

Исследованы особенности аргиназного и NO-синтазного путей превращения аргинина в субклеточных фракциях печени животных при алиментарной белковой недостаточности. На протяжении эксперимента (28 сут) самцов белых нелинейных крыс массой тела 100–120 г и возрастом 3–3,5 мес содержали на полусинтетическом казеиновом рационе АIN-93. Алиментарную белковую недостаточность моделировали путем полного отсутствия или частичной недостаточности белка (1/2 количества казеина от общепринятой нормы – 7%). Суточный рацион нормировали с учетом принципов парного кормления. Установлено, что после 2-недельной белковой недостаточности изменение активности ферментов метаболизма L-аргинина в исследуемых субклеточных фракциях печени крыс характеризовалось снижением аргиназной активности в 1,4–1,7 раза на фоне стабильности NO-синтазы в цитозоле. В митохондриальной фракции, наоборот, отсутствие изменений величины активности аргиназы сопровождается активацией NO-синтазы в 3–5 раз. В конце эксперимента (28-е сутки) наблюдалась однонаправленность динамики ферментной активности в цитозольной и митохондриальной фракциях клеток печени обеих опытных групп животных. В исследуемых субклеточных фракциях снижение аргиназной активности (2,4–2,7 раза – безбелковый рацион и 1,5 раза – частичная обеспеченность белком) сопровождалось увеличением активности NO-синтазы в 3,8 раза в цитозольной фракции и в 7,2 раза в митохондриальной фракции в группе, содержавшейся на безбелковом рационе, и соответственно в 2,2 и 3,5 раза – в группе животных с частичной обеспеченностью экзогенным белком, что, вероятно, связано с переключением метаболизма L-аргинина с аргиназного на окислительный NO-синтазный путь.

Ключевые слова: L-аргинин, аргиназа, NO-синтаза, оксид азота, алиментарная белковая недостаточность, печень крысы

The features of arginase and NO-synthase pathways of arginine's metabolism have been studied in rat liver subcellular fractions under condition of protein deprivation. During the experimental period (28 days) albino male rats were kept on semi synthetic casein diet AIN-93. The protein deprivation conditions were designed as total absence of protein in the diet and consumption of the diet partially deprived with 1/2 of the casein amount compared to in the regular diet. Daily diet consumption was regulated according to the pair feeding approach. It has been shown that the changes of enzyme activities, involved in L-arginine metabolism, were characterized by 1,4–1,7 fold decrease in arginase activity, accompanied with unchanged NO-synthase activity in cytosol. In mitochondrial fraction the unchanged arginase activity was accompanied by 3–5 fold increase of NO-synthase activity. At the terminal stages of the experiment the monodirectional dynamics in the studied activities have been observed in the mitochondrial and cytosol fractions in both experimental groups. In the studied subcellular fractions arginase activity decreased (2,4–2,7 fold with no protein in the diet and 1,5 fold with partly supplied protein) and was accompanied by NO-synthase activity increase by 3,8 fold in cytosole fraction, by 7,2 fold in mitochondrial fraction in the group with no protein in the diet and by 2,2 and 3,5 fold in the group partially supplied with protein respectively. The observed tendency is presumably caused by the switch of L-arginine metabolism from arginase into oxidizing NO-synthase parthway.

Key words: *L-arginine, arginase, NO-synthase, nitric oxide, alimentary protein deprivation, liver rats*

В настоящее время белковая недостаточность – далеко не редкое явление, возникающее вследствие преобладания в пищевом рационе белков с низкой биологической ценностью [21, 27, 29], замены полноценного пищевого белка на содержащий ингибитор трипсина соевый [2, 7], самолечения физиологически не обоснованными диетами (например, только растительная пища ограниченного ассортимента) [19, 28], избыточного содержания углеводов и жиров в рационе с одновременным ограничением количества белка и т.д. Длительное белковое голодание или несбалансированный рацион по количеству белка является одним из основных факторов снижения пула свободных аминокислот в организме. Алиментарные нарушения белкового обмена, связанные с недостаточностью, однообразием, дефицитом или доминированием отдельных аминокислот, играют важную роль в формировании различных патологий и определяют особенности их протекания [5, 12].

Эндогенный L-аргинин (1-амино-4-гуанидиновалериановая кислота) – основной субстрат аргиназы (КФ 3.5.3.1) и NO-синтазы (КФ 1.14.13.39, NOS) – важнейший регулятор гомеостаза организма, поскольку используется не только в процессах синтеза белков, но и функционирует как сигнальная молекула, стимулируя образование цитокинов, высвобождение гормонов поджелудочной железы и т.д. [6, 31]. Метаболизм L-аргинина может осуществляться путем окислительного превращения в оксид азота (NO) и L-цитруллин с участием

NOS и неокислительного – в аргиназной реакции с образованием мочевины и орнитина. Соотношение активности между этими 2 ферментами обеспечивает в клетках определенный пул аргинина [10, 20].

Физиологическая потребность тканей и органов в аргинине удовлетворяется его эндогенным синтезом и/или поступлением с пищей, однако в молодом возрасте и у взрослых при стрессе или определенной патологии эта аминокислота становится эссенциальной [17]. Известно, что в организме человека аргинин может синтезироваться клетками печени в условиях ненарушенного баланса питания. Дефицит аргинина ведет к переключению орнитинового цикла на синтез пиримидиновых оснований [14]. Кроме того, участие аргинина в метаболизме определяет широкий спектр его терапевтического действия, проявляя гепатотропные, противомикробные, иммунотропные, психотропные свойства [4, 6]. Имеются также сведения [16], что L-аргинин активно влияет на обмен жиров в организме.

Целью работы было исследование активности ферментов метаболизма L-аргинина в субклеточных фракциях печени крыс при алиментарной белковой недостаточности.

Материал и методы

Исследования проводили на самцах белых нелинейных крыс ($n=180$) массой тела 100–120 г и воз-

растом 3–3,5 мес. Содержание экспериментальных животных и манипуляции с ними проводили с соблюдением требований Европейской конвенции о защите позвоночных животных, использующихся для исследовательских и научных целей (Страсбург, 1986).

Животных содержали по одному в пластмассовых клетках с песчаной подстилкой, доступ к воде *ad libitum*. Суточный рацион нормировали с учетом принципов парного кормления [25]. На протяжении эксперимента крысы получали полусинтетический рацион [13, 30].

Опытные животные были разделены на равные группы:

1 – животные, содержащиеся на полусинтетическом рационе (14% белка, 10% жиров, 76% углеводов), сбалансированном по всем нутриентам – группа контроля;

2 – животные, содержащиеся на безбелковой диете в течение всего экспериментального периода;

3 – животные, получающие в течение эксперимента полусинтетический рацион с частичной недостаточностью белка ($1/2$ количества казеина от общепринятой нормы). Рацион включал 7% белка, 10% жиров и 83% углеводов.

Энергетическая ценность рационов составляла 3601 ккал/кг.

Цервикальную дислокацию животных осуществляли под легким эфирным наркозом на 14-е и 28-е сутки.

Митохондриальную фракцию клеток печени получали методом дифференциального центрифугирования [33]. Чистоту митохондриальной фракции контролировали путем сравнительного определения активности сукцинатдегидрогеназы как специфического маркера внутренней мембраны митохондрий и глюкозо-6-фосфатазы – маркера эндоплазматического ретикулаума во фракциях микросом и митохондрий. Загрязнение митохондриальной фракции микросомами составило 7,32%.

Активность аргиназы в митохондриальной фракции и цитозоле клеток печени определяли по образованию мочевины [10] и выражали в нмоль мочевины за 1 мин на 1 мг белка.

Содержание свободного L-аргинина в митохондриальной фракции и цитозоле клеток печени определяли по методу [10].

Определение активности NOS проводили модифицированным методом [11]. Активность NOS определяли как разницу между показателями окисления субстратного и бессубстратного окисления NADPH и выражали в нмоль окисленного NADPH за 1 мин на 1 мг белка.

Содержание NO определяли по модифицированному методу [23] путем образования нитрит-аниона (NO_2^-), который является стабильным метаболитом NO.

Калибровочную кривую для определения количества NO_2^- строили по стандартным растворам NaNO_2 различной концентрации в 20 мМ калий-фосфатном буфере (pH 7,4) при добавлении реактива Грисса.

Концентрацию белка определяли методом Лоури [24].

Статистическую обработку результатов проводили с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни с применением программы обработки статистических данных Statistica 6.0. Различия считали достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Аргиназа I, локализуемая в цитозоле гепатоцитов, участвует в детоксикации аммиака в цикле мочевины [14, 18]. Кроме того, активность данного изофермента часто используется в качестве раннего маркера повреждений печени [15].

Результаты исследований показали, что в условиях содержания животных на безбелковой диете в цитозоле клеток печени в течение всего эксперимента происходит снижение аргиназной активности по сравнению с контролем (рис. 1а). Следует отметить, что если на 14-е сутки потребления безбелкового рациона активность фермента была ниже показателя животных группы контроля в 1,7 раза, то на завершающем этапе – в 2,7 раза, что свидетельствует о более глубоких метаболических изменениях. Пребывание крыс на рационе с частичной недостаточностью белка сопровождалось повышением активности аргиназы в цитозоле по сравнению с предыдущей опытной группой, которая все же оставалась ниже контроля в 1,5 раза в течение всего эксперимента (рис. 1а).

Вероятно, выявленное изменение активности исследуемого фермента в цитозоле связано со снижением интенсивности цикла мочевины вследствие алиментарной белковой недостаточности. В то же время орнитин и мочевина – продукты аргиназной реакции – могут ингибировать метаболизм L-аргинина в цикле мочевины, что, возможно, ведет к уменьшению активности цитозольной изоформы фермента [18].

Следует отметить, что аргинин – единственный субстрат аргиназы, обладающей абсолютной субстратной специфичностью [4, 14]. Исследование содержания L-аргинина в цитозоле клеток печени свидетельствует о его уменьшении в течение эксперимента у животных опытных групп (рис. 1б). Более интенсивное снижение количества аргинина наблюдается в группе крыс, содержащихся на безбелковой диете. Максимальное снижение концентрации аргинина в условиях как полного отсутствия, так и частичной недостаточности белка в пищевом

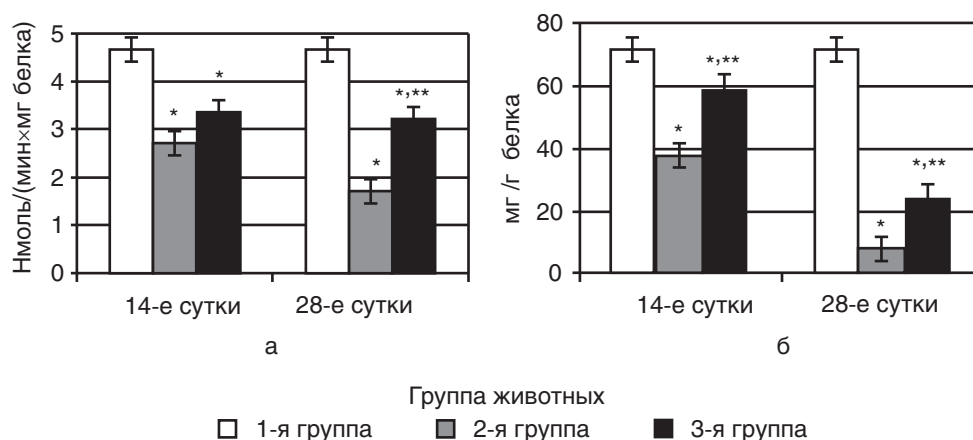


Рис. 1. Аргиназная активность (а) и содержание L-аргинина (б) в цитозоле клеток печени крыс при алиментарной белковой недостаточности

Примечание здесь и на рис. 2–4: * – достоверность отличий ($p \leq 0,05$) от показателя животных контрольной группы; ** – достоверность отличий ($p \leq 0,05$) от показателя животных, содержащихся на безбелковой диете.

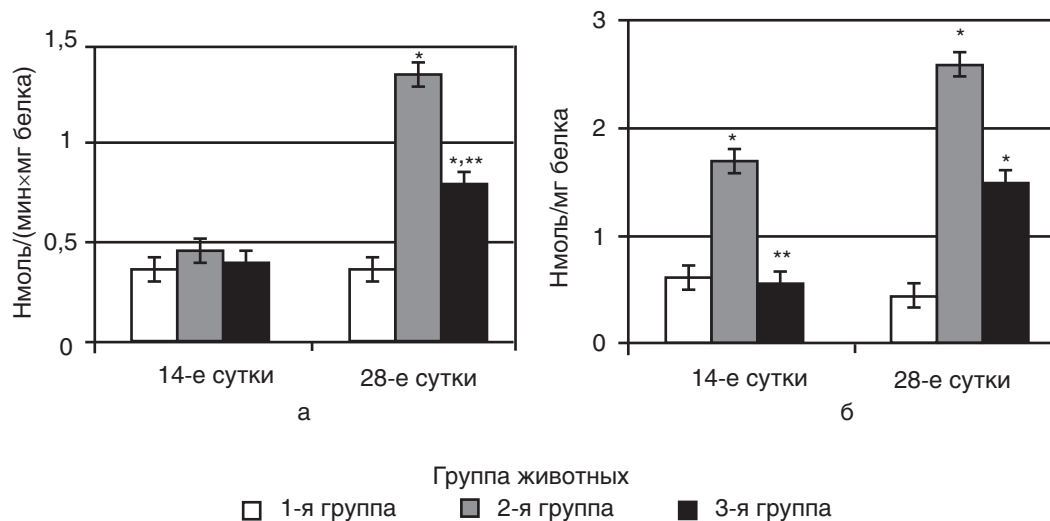


Рис. 2. NO-синтазная активность (а) и содержание NO (б) в цитозоле клеток печени крыс при алиментарной белковой недостаточности

рационе наблюдается на завершающем этапе эксперимента (28-е сутки). Исследуемый показатель в данный период оказался ниже значений контрольной группы соответственно в 9 и 3 раза. Таким образом, снижение активности аргиназы в цитозоле клеток печени опытных групп животных, вероятно, обусловлено недостатком субстрата.

По данным литературы [6, 15], уменьшение клеточного пула L-аргинина может обуславливаться нарушением поступления его в клетку или интенсивным использованием в метаболических процессах. Основным поставщиком эндогенного аргинина является катаболизм белка в организме [14]. Известно, что значительные количества аргинина расходуются на синтез креатина, являющегося субстратом креатинкиназной реакции с образованием креатинфосфата [4, 6]. Следо-

вательно, можно предположить, что в условиях недостаточности белка интенсифицируются системы восстановления клеточного фонда креатина в результате усиленного использования L-аргинина в анаболических процессах [18].

Кроме того, известно, что метаболизм L-аргинина осуществляется с помощью NOS, конкурирующей с аргиназой за субстрат. Продуктом окислительного пути метаболизма аргинина является NO [1, 20].

Изменение NO-синтазной активности в сторону повышения по сравнению с контролем в обеих опытных группах животных (в условиях безбелкового рациона – в 3,8 раза, частичной обеспеченности белком – в 2,2 раза) наблюдается лишь в конце эксперимента (28-е сутки) (рис. 2а). Отсутствие изменений уровня NO-синтазной активности

по сравнению с контролем на 14-е сутки эксперимента в группе животных, находившихся на безбелковой диете, сопровождается усиленным образованием NO в цитозоле клеток печени (рис. 2б).

По данным литературы [3, 9], кроме результата NO-синтазной реакции образование NO в цитозоле может происходить с участием фермента ксантиноксидоредуктазы, обладающей способностью восстанавливать нитриты (NO_2^-) и нитраты (NO_3^-) в NO, а также в качестве побочного продукта циклооксигеназной и липооксигеназной реакций. С учетом вышесказанного можно предположить, что чрезмерное образование NO на 14-е сутки эксперимента на фоне отсутствия изменений активности NO-синтазы по сравнению с контрольными значениями в цитозоле клеток печени в условиях безбелкового рациона может происходить именно за счет активации указанных сигнальных систем с целью реализации потенциального воздействия NO как внутриклеточного мессенджера [8].

Исследование содержания NO в цитозоле клеток печени свидетельствует об увеличении его уровня в обеих опытных группах по сравнению с контролем (рис. 2б). Однако в группе животных, пребывающих на безбелковой диете, повышение уровня NO наблюдается уже на 14-е сутки, продолжая возрастать до завершения эксперимента. На 28-е сутки отсутствие белка в рационе сопровождается максимальным образованием NO, превышающим значения контроля в 6 раз. Что касается группы животных, частично обеспеченных белком, то увеличение уровня NO в клетках печени происходит лишь на 28-е сутки и составляет 3,4 раза по сравнению со значениями контроля (рис. 2б). Вероятно, поначалу NO выступает как внутриклеточный посредник, однако на завершающих этапах эксперимента может оказывать токсическое воздействие путем образования нитрозильных

комплексов с гемовым и негемовым железом или через активные формы азота, вызывающие эндогенную интоксикацию организма [8, 9].

Итак, алиментарная белковая недостаточность сопровождается угнетением аргиназного пути метаболизма L-аргинина с одновременной активацией его окислительного NO-синтазного преобразования с повышенной генерацией NO.

В митохондриальной фракции клеток локализуется аргиназа II, регулирующая клеточную концентрацию L-аргинин/орнитин. Кроме того, аргиназа II ингибирует активность NOS, непосредственно регулируя синтез NO [14]. Многочисленные исследования [15, 18] показывают, что дефицит аргиназы I индуцирует форму аргиназы II, компенсирующую недостаток первой путем регуляции концентрации клеточного L-аргинина.

Результаты исследований аргиназной активности в митохондриальной фракции клеток печени крыс свидетельствуют о ее снижении по сравнению с контролем в обеих опытных группах, однако лишь в конце эксперимента (рис. 3а). Полное лишение крыс поступления экзогенного белка приводит к снижению ферментной активности в 2,4 раза по сравнению с контрольными значениями, в то время как в группе, частично обеспеченной белком, на 28-е сутки эксперимента активность аргиназы снижалась лишь в 1,5 раза по сравнению с контролем.

Известно, что экспрессия митохондриальной изоформы изменяется в зависимости от воздействия экзогенных или эндогенных факторов и потребностей метаболизма [15]. Учитывая роль аргиназы II в регуляции клеточной концентрации L-аргинин/орнитин и непосредственного синтеза NO [17], мы предположили, что в клетках печени крыс, находившихся на безбелковой диете, снижение аргиназной активности происходит вследст-

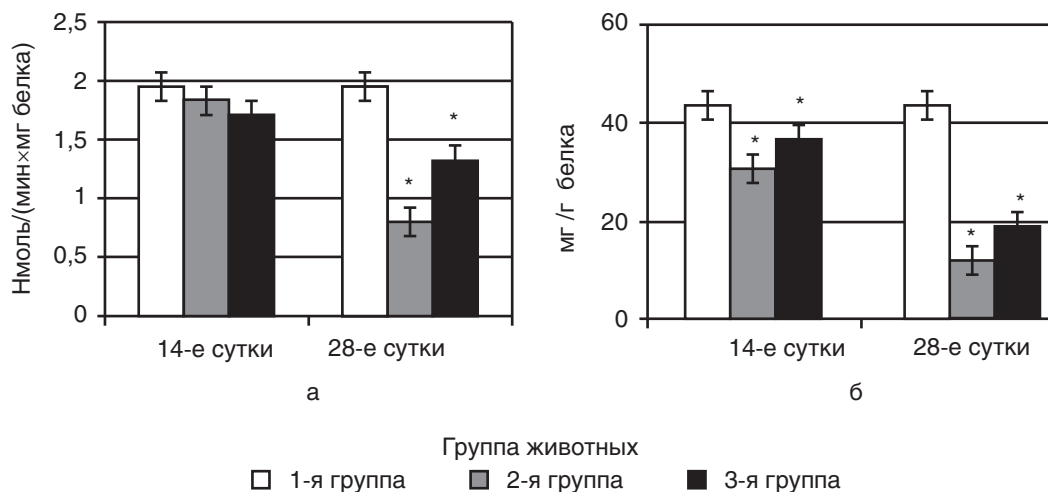


Рис. 3. Аргиназная активность (а) и содержание L-аргинина (б) в митохондриальной фракции клеток печени крыс при алиментарной белковой недостаточности

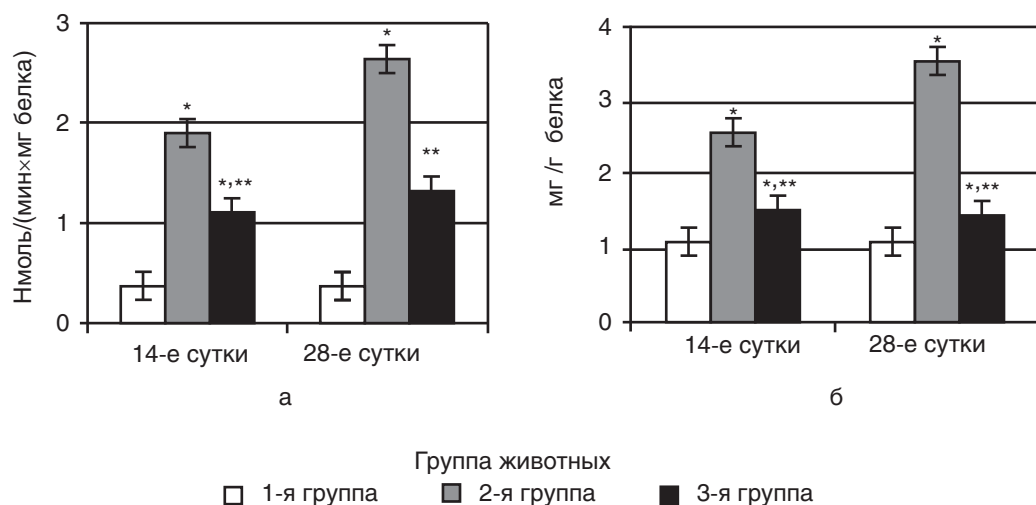


Рис. 4. NO-синтазная активность (а) и содержание NO (б) в митохондриальной фракции клеток печени крыс при алиментарной белковой недостаточности

вие активации синтазы NO. Недостаток белка в данных экспериментальных условиях можно рассматривать как определяющий стрессовый фактор функционально-метаболических нарушений организма. Данные литературы [32] свидетельствуют о том, что в условиях индуцированных стрессовых состояний происходит активация NOS с усиленным синтезом NO.

Действительно, результаты исследований показали, что в условиях содержания животных на безбелковой диете в митохондриальной фракции клеток печени на протяжении всего экспериментального периода наблюдается повышение NO-синтазной активности по сравнению с контролем соответственно в 5 и 7,2 раза на 14-е и 28-е сутки (рис. 4а). Пребывание крыс на низкобелковом рационе приводило к снижению активности фермента в исследуемой фракции по сравнению с таковой у животных, лишенных белка, но она все же оставалась выше контроля в 3,5 раза (см. рис. 4а).

Вероятно, увеличение NO-синтазной активности на фоне стабильности активности аргиназы на 14-е сутки эксперимента определяется общностью субстрата для обоих исследованных ферментов и возникновением конкурентных взаимосвязей [1, 20]. Снижение количественного содержания арги-

нина в митохондриальной фракции клеток печени крыс обеих опытных групп (рис. 3б), вероятно, вызвано интенсификацией NO-синтазной реакции (рис. 4), т.е. отсутствием характерных изменений аргиназной активности в данный период (рис. 3а) и усилением окислительного превращения *L*-аргинина с участием NOS в NO и *L*-цитруллин [26]. Цитруллин, с одной стороны, является предшественником синтеза *L*-аргинина *de novo*, а с другой – ингибитором окислительного метаболизма по принципу отрицательной обратной связи. Следует также отметить, что промежуточный продукт NO-синтазной реакции – N^ω-гидрокси-*L*-аргинин – является потенциальным ингибитором аргиназы [22]. Таким образом, очевидно, что снижение аргиназной активности с одновременным уменьшением количества *L*-аргинина в митохондриальной фракции клеток печени крыс в условиях алиментарной белковой недостаточности непосредственно связано с активацией NO-зависимой системы.

В целом полученные результаты позволяют сделать вывод, что при алиментарной белковой недостаточности в клетках печени крыс на фоне снижения аргиназной активности преобладает окислительный метаболизм *L*-аргинина с активацией NOS и усиленной генерацией NO.

Сведения об авторах

Копильчук Галина Петровна – доктор биологических наук, профессор кафедры биохимии и биотехнологии Института биологии, химии и биоресурсов Черновицкого национального университета им. Ю. Федьковича (Украина)

E-mail: kopilchuk@gmail.com

Бучковская Иванна Михайловна – кандидат биологических наук, ассистент кафедры биохимии и биотехнологии Института биологии, химии и биоресурсов Черновицкого национального университета им. Ю. Федьковича (Украина)

E-mail: ivannabuchkovska@mail.ru

Литература

1. Близнецова Г.Н., Артемьева С.С., Рецкий М.И. Влияние L-аргинина и ингибиторов NO-синтазы на образование оксида азота и нитрозотиолов при токсическом повреждении печени // Биомед. химия. – 2005. – Т. 51, № 6. – С. 656–661.
2. Бородин Е.А., Аксенова Т.В., Анищенко Н.И. Пищевые продукты из сои. Новая роль // Вестн. ДВО РАН. – 2000. – № 5. – С. 72–85.
3. Ванин А.Ф. Оксид азота: регуляция клеточного метаболизма без участия системы клеточных рецепторов // Биофизика. – 2001. – Т. 46, № 4. – С. 631–641.
4. Галкин Б.Н. Антиоксидантные свойства аргинина // Современ. пробл. токсикол. – 2003. – № 1. – С. 80–86.
5. Громова Л.В. Влияние белкового голодания на гидролитические и транспортные характеристики тонкой кишки крыс в условиях хронического опыта // Рос. физиол. журн. – 2006. – Т. 92, № 10. – С. 1239–1249.
6. Кишко Т.О., Шандренко С.Г., Дмитренко Н.П. Аргинин: биологическое действие, влияние на синтез оксида азота // Журн. АМН Украины. – 2008. – Т. 14, № 1. – С. 150–158.
7. Котровский А.В. Соевое питание. – М.: Полиграфлес, 2001. – 42 с.
8. Манухина Е.Б., Дауни Х.Ф., Маллет Р.Т., Малышев И.Ю. Защитные и повреждающие эффекты периодической гипоксии: роль оксида азота // Вестн. РАМН. – 2007. – № 2. – С. 25–33.
9. Осипов А.Н., Борисенко Г.Г., Владимиров Ю.А. Биологическая роль нитрозильных комплексов гемопротеинов // Успехи биол. химии. – 2007. – Т. 47. – С. 259–292.
10. Перетятко Ю.В., Сибирная Н.А. Особенности аргиназного и NO-синтазного путей метаболизма L-аргинина в лейкоцитах периферической крови крыс в условиях хронического рентгеновского облучения // Укр. биохим. журн. – 2009. – Т. 81, № 2. – С. 40–48.
11. Сумбаев В.В., Ясинская И.М. Влияние ДДТ на активность синтазы оксида азота в печени, легких и головном мозге крыс // Современ. пробл. токсикологии. – 2000. – № 3. – С. 3–7.
12. Тимофеева Н.М., Никитина А.А., Егорова В.В., Гордова Л.А. Влияние дефицита белка в питании крыс в раннем онтогенезе на функционирование ферментных систем пищеварительных и непещеварительных органов во взрослой жизни // Бюл. exper. биол. – 2004. – Т. 138, № 7. – С. 12–15.
13. Тышко Н.В., Жминченко В.М., Пашорина В.А. и др. Сравнительная характеристика влияния экспериментальных рационов на рост и развитие крыс // Вопр. питания. – 2011. – Т. 80, № 5. – С. 30–38.
14. Ash D.E. Structure and function of arginases // J. Nutr. – 2004. – Vol. 134. – P. 2760–2764.
15. Bachetti T., Comini L., Francolini G. et al. Arginase pathway in human endothelial cells in pathophysiological conditions // J. Mol. Cell. Cardiol. – 2004. – Vol. 37, N 2. – P. 515–523.
16. Bellentani S., Tinbelli C. Epidemiology and risk factors for fatty liver // Steatohepatitis (NASH and ASH) / Eds U. Leuschner, O.F.W. James, H. Danczygier – Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2001. – P. 3–10.
17. Bode-Boger S.M. Effect of L-arginine supplementation on NO production in man // Eur. J. Clin. Pharmacol. – 2006. – Vol. 62, N 1. – P. 91–99.
18. Cederbaum S., Yu H., Grody W. et al. Arginases I and II: do their functions overlap? // Mol. Genet. Metab. – 2004. – Vol. 81, N 1. – P. 38–44.
19. Craig W.J., Mangels A.R. Position of the American Dietetic Association: vegetarian diets // J. Am. Diet. Assoc. – 2009. – Vol. 109, N 7. – P. 1266–1282.
20. Durante W., Johnson F.K., Johnson R.A. Arginase: a critical regulator of nitric oxide synthesis and vascular function // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. – 2007. – Vol. 34, N 9. – P. 906–911.
21. Fontana L. Long-term low-protein, low-calorie diet and endurance exercise modulate metabolic factors associated with cancer risk // Am. J. Clin. Nutr. – 2006. – Vol. 84, N 6. – P. 1456–1462.
22. Hayashi T., Juliet P., Matsui-Hirai H. et al. L-citrulline and L-arginine supplementation retards the progression of high-cholesterol-diet-induced atherosclerosis in rabbits // Proc. Natl Acad. Sci. USA – 2005. – Vol. 102, N 38. – P. 13681–13686.
23. Hwang S., Lope C.A., Heck D.E. et al. Osteopontin inhibits induction of nitric oxide synthase gene expression by inflammatory mediators in mouse kidney epithelial // J. Biol. Chem. – 1994. – Vol. 264. – P. 711–715.
24. Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L. Protein measurement with Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 123, N 1. – P. 265–273.
25. Mashiko S., Ishihara A., Iwaasa H. et al. A Pair-Feeding Study Reveals That a Y5 Antagonist Causes Weight Loss in Diet-Induced Obese Mice by Modulating Food Intake and Energy Expenditure // Mol. Pharmacol. – 2007. – Vol. 71, N 2. – P. 602–608.
26. Nikoli E., Carruba M.O. Nitric oxide and mitochondrial biogenesis // J. Cell Sci. – 2006. – Vol. 119. – P. 2855–2862.
27. Pan Y. Low-protein diet for diabetic nephropathy: a meta-analysis of randomized controlled trials // Am. J. Clin. Nutr. – 2008. – Vol. 88, N 3. – P. 660–666.
28. Piccoli G., Ferraresi M., Deagostini M. et al. Vegetarian low-protein diets supplemented with keto analogues: a niche for the few or an option for many? // Nephrol. Dial. Transplant. – 2013. – Vol. 28, N 9. – P. 2295–2305.
29. Rasmussen L., Winning H., Savorani F. et al. Assessment of the effect of high or low protein diet on the human urine metabolome as measured by NMR // Nutrients. – 2012. – Vol. 4, N 2. – P. 12–31.
30. Reeves P., Nielsen F., Fahey G. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet // J. Nutr. – 1993. – Vol. 123, N 11. – P. 1939–1951.
31. Scibior D., Czczot H. Arginine – metabolism and functions in the human organism // Postepy Hig. Med. Dosw. – 2004. – Vol. 58. – P. 321–332.
32. Takeuchi K., Hatazava R., Tanigami M. Role of endogenous nitric oxide (NO) and NO synthase in healing of indomethacin-induced intestinal ulcers in rats // Life Sci. – 2007. – Vol. 80, N 4. – P. 329–336.
33. Weinbach T.C. A procedure for isolating stadle mitochondria from rat liver and kidney // Anal. Biochem. – 1961. – Vol. 2. – P. 335–343.

Для корреспонденции

Сидорова Юлия Сергеевна – младший научный сотрудник
 лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных
 продуктов ФГБУ «НИИ питания» РАМН
 Адрес: 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14
 Телефон: (495) 698-53-71
 E-mail: sidorovaulia28@mail.ru

Ю.С. Сидорова¹, К.Е. Селяскин¹, С.Н. Зорин¹, Л.С. Абрамова², В.К. Мазо¹

Влияние ферментолізата мяса мидий на рост и некоторые показатели общего адаптационного синдрома у крыс

Influence of enzymatic hydrolyzate of mussels meat on growth and some indicators of general adaptation syndrome in rats

Yu.S. Sidorova¹, K.E. Selyaskin¹,
 S.N. Zorin¹, L.S. Abramova²,
 V.K. Mazo¹

¹ ФГБУ «НИИ питания» РАМН, Москва

² ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии», Москва

¹ Institute of Nutrition of Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

² Russian Research Institute of Fishery and Oceanography, Moscow

Изучено влияние 15-дневного потребления ферментативного гидролизата мяса мидий в составе полусинтетического рациона на некоторые биомаркеры стресса и активность апоптоза в тимусе растущих крыс-самцов линии Вистар. Ферментативный гидролизат мяса мидий (ФММ) получали в полупромышленных условиях с использованием ферментного препарата «Протозим». Животные 1-й (контрольной) группы (n=8 с исходной массой тела 179,4±5,9 г) и 2-й опытной группы (n=8, 176,3±4,5 г) получали полусинтетический рацион, животные 3-й опытной группы (n=8, 177,6±4,0 г) получали полусинтетический рацион, в котором 50% казеина было заменено пептидами ФММ. В предпоследний день эксперимента животных 2-й и 3-й опытных групп подвергали стрессорному электрокожному воздействию электрическим током (электрокожное раздражение на лапы, ток 0,4 мА в течение 8 с) и помещали в обменные клетки для сбора суточной мочи. На 15-е сутки животных выводили из эксперимента декапитацией под легким эфирным наркозом. В плазме крови иммуноферментным методом определяли содержание простагландина E₂ и β-эндорфина. Содержание в моче кортикостерона определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. В изолированных клетках тимуса методом ДНК-комет определяли уровень ДНК повреждений, а также процент апоптотических клеток. Относительное увеличение массы тела животных (68,2±3,0%), получавших ФММ, было достоверно (p<0,05) выше данного показателя для животных 1-й и 2-й групп (соответственно 57,2±4,0 и 59,7±2,8%). Было выявлено достоверное (p<0,05) увеличение в тимусе индекса апоптоза у подвергнутых стрессу животных 2-й и 3-й групп (1,13±0,09 и 1,09±0,01%) по сравнению с интактными животными контрольной группы (1,04±0,01%). Определение содержания в плазме крови β-эндорфина и простагландина E₂ не выявило

достоверных различий этих показателей между группами животных. Статистически достоверно ($p < 0,05$) более низкие концентрации кортикостерона обнаружены в суточной моче стрессированных животных 3-й группы (452 ± 78 нг/мл), потреблявших ФММ, по сравнению с аналогичным показателем у подвергнутых стрессу животных 2-й группы, получавших казеиновый рацион (834 ± 167 нг/мл). Таким образом, было показано, что прием ФММ с высоким содержанием средне- и короткоцепочечных пептидов эффективно обеспечивает прирост массы тела у растущих лабораторных животных, а также ограничивает характерное для общего адаптационного синдрома увеличение в крови крыс кортикостерона.

Ключевые слова: мясо мидий, ферментативный гидролизат, стресс, адаптация, апоптоз, кортикостерон, β -эндорфин, простагландин E_2

The impact of the 15-day consumption of enzymatic hydrolyzate of the mussels meat as a part of semi-synthetic diet on some stress biomarkers and apoptosis activity in various organs of growing male Wistar rats have been studied. Enzymatic hydrolyzate of the mussels meat (EMM) was obtained in pilot conditions using the enzyme preparation «Protozim». The animals of control group 1 ($n=8$ with initial body weight of $179,4 \pm 5,9$ g) and experimental group 2 ($n=8$, $176,3 \pm 4,5$ g) received a semi synthetic diet; the animals of the experimental group 3 ($n=8$, $177,6 \pm 4,0$ g) received the same semi synthetic diet in which 50% of the casein was replaced by the peptides of EMM. On the penult day of the experiment animals of groups 2 and 3 were subjected to stress exposure by electric current on their paws (current 0,4 mA for 8 seconds) and were placed in metabolic cages for the collection of daily urine. At the 15th day of the study, all control and test animals were killed by decapitation under ether anesthesia and necropsied. The content of prostaglandin E_2 and β -endorphin in blood plasma was determined by ELISA test. The concentration of urine corticosterone was measured by HPLC. DNA damage and percentage of apoptotic cells (apoptotic index) were calculated in thymus by single-cell gel electrophoresis assay (Comet assay). The relative body weight increase of animals treated with EMM was significantly ($p < 0,05$) higher ($68,2 \pm 3,0\%$) than those in animals of groups 1 and 2 ($57,2 \pm 4,0$ and $59,7 \pm 2,8\%$, respectively). The apoptotic index in thymus cells of tested groups of animals (2 and 3) was significantly ($p < 0,05$) higher ($1,13 \pm 0,09$ and $1,09 \pm 0,01\%$) compared to intact animals of control group ($1,04 \pm 0,01\%$). Determination of β -endorphin and prostaglandin E_2 levels did not shown any significant differences between the groups. Significantly ($p < 0,05$) lower concentrations of corticosterone was found in the daily urine of stressed animals from group 3 (452 ± 78 ng/ml), treated with EMM, compared to stressed animals of group 2 that received a casein diet (834 ± 167 ng/ml). It has been shown that consumption of EMM with a high content of short and medium peptides has an impact on effectiveness of body weight gain of growing laboratory animals, and restrict the increase of corticosterone level in rats blood, which is typical for general adaptation syndrome.

Key words: mussels, enzymatic hydrolyzate, stress, adaptation, apoptosis, corticosterone, β -endorphin, prostaglandin E_2

Использование мяса мидий как высокоценного пищевого сырья для получения специализированных продуктов имеет в нашей стране уже более чем полувековую традицию. Начиная с 1960-х гг. и до настоящего времени проведены многочисленные экспериментальные и клинические исследования, подтверждающие безопасность и эффективность применения

в лечебном и профилактическом питании гидролизатов мяса мидий, полученных по технологии, основанной на кислотном гидролизе сырья [12, 13]. Результаты этих испытаний свидетельствуют о том, что кислотные мидийные гидролизаты обладают широким спектром фармакологического действия: радиопротекторной, гемостимулирующей, иммуностимулирующей и антивирусной

активностью [2, 15]. Однако недостаточно удовлетворительные органолептические свойства, низкая биологическая ценность вследствие разрушения некоторых незаменимых аминокислот в процессе кислотного гидролиза и высокое содержание солей в конечном продукте препятствуют широкому использованию кислотных гидролизатов в оздоровительном питании [9–11]. Эти недостатки в значительной степени могут быть устранены применением технологии ферментализации. Результаты по разработке и оптимизации процесса ферментативного гидролиза мяса мидий в лабораторных и полупромышленных условиях представлены в ряде отечественных публикаций [4, 5, 16]. В одной из наших предыдущих публикаций по сравнительной оценке биологической ценности гомогената мяса мидий (ГММ) и ферментативного гидролизата мяса мидий (ФММ) было высказано предположение о возможном наличии у ФММ заданного состава адаптогенных свойств [17].

В данной работе представлены результаты сравнительного определения аминокислотного сора ГММ и ФММ и исследования *in vivo* влияния потребления ФММ на рост и показатели общего адаптационного синдрома (ОАС) у крыс линии Вистар, подвергнутых дистрессу путем электрокожного раздражения.

Материал и методы

В работе использован ФММ, полученный в полупромышленных условиях с применением ферментного препарата «Протозим» («ЕНЗИМ», Украина), микрофльтрации и распылительной сушки [1]. Химический состав препарата (табл. 1) и молекулярно-массовое распределение пептидных фракций в составе ФММ были определены в нашей предыдущей работе [17]. Суммарное содержание пептидов (средне- и короткоцепочечных) с молекулярной массой менее 3,5 кДа и аминокислот в ФММ составляло более 45%.

Аминокислотный скор исходного ГММ и ФММ определяли на анализаторе «AAA-835» («Hitachi», Япония) с последующей компьютерной обработкой данных по программе Мультихром для Windows; содержание триптофана в составе ГММ и ФММ определяли методом щелочного гидролиза [7].

В опытах при проведении исследования использовали половозрелых крыс-самцов линии Вистар, полученных из питомника «Столбовая». Живот-

ных разделили случайным образом на 3 группы по 8 особей в каждой. Исходная масса тела животных контрольной и опытных групп достоверно не различалась.

Животные 1-й (контрольной) группы и 2-й опытной группы получали изокалорийный (381 ккал/100 г сухого корма) и изоазотистый (20,2% казеина по калорийности) полусинтетический рацион (табл. 2) [18]. Животные 3-й опытной группы получали полусинтетический рацион, в котором 50% казеина было заменено пептидами ФММ (табл. 3). Воду и корм животные всех групп получали без ограничений.

Крыс ежедневно осматривали и периодически взвешивали.

В предпоследний день эксперимента животных 2-й и 3-й опытных групп подвергали стрессорному воздействию, используя установку («PanLab», Испания), представляющую собой большое освещенное белое отделение и маленькое черное отделение, разделенные опускаемыми моторизованными воротами. Решетчатый пол малого черного отделения электрифицирован (выход 0–2 мА). Крысу помещали в светлый отсек камеры спиной к темному отсеку. Как только крыса переходила в темный отсек камеры, она получала электрокожное раздражение на лапы (ток 0,4 мА в течение 8 с).

Затем животных помещали в обменные клетки и в течение следующих суток собирали мочу. На 15-е сутки эксперимента животных выводили из эксперимента декапитацией под легким эфирным наркозом и подвергали патологоанатомическому вскрытию для извлечения тимуса, взвешивали его.

Кровь собирали в пробирки с предварительно добавленным раствором Трилона Б (1,25%, 400 мкл) и отбирали плазму крови центрифугированием при $t=4\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 25 мин на центрифуге «J-6B» («Beckman», Австрия). Образцы хранили в замороженном состоянии.

В плазме крови иммуноферментным методом с использованием коммерческих наборов определяли содержание β -эндорфина (набор «Peptide Enzyme immunoassay (EIA) kit», «Peninsula lab. immunoassay», США) и простагландина E_2 (набор «Rat Prostaglandin E2 (PGE2) ELISA Kit», «CUSABIO», Китай).

Содержание в моче кортикостерона определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), согласно [21] с некоторыми модификациями. К 0,75 мл мочи добавляли 100 мкл

Таблица 1. Химический состав ферментализата мяса мидий

Наименование	Содержание, %				
	белок	жир	углеводы	зола	влага
Ферментализат мяса мидий	53,5	0,5	25,1	6,1	14,5

Таблица 2. Состав полусинтетического казеинового рациона

Ингредиент	Количество, г	Содержание, г			Калорийность,	
		белок	жир	углеводы	ккал	%
Казеин	25,0	–	–	–	84,22	22,1
Крахмал	58,0	0,58	–	50,20	203,12	53,3
Масло подсолнечное нерафинированное	5,0	–	4,99	–	44,91	11,8
Лярд	5,0	–	4,98	–	44,82	11,8
Солевая смесь*	4,0	–	–	–	–	–
Смесь в/р витаминов**	1,0	–	–	1,0	4,0	1,0
Смесь ж/р витаминов***	0,1	–	0,10	–	–	–
Микрокристаллическая целлюлоза	2,0	–	–	–	–	–
Итого	100,1	20,78	10,45	51,20	381,07	100

Примечание. Здесь и в табл. 3: * – состав минеральной смеси (г на 1 кг смеси): натрий хлористый NaCl – 139,3; калий фосфорно-кислый однозамещенный K_2HPO_4 – 388,8; магний сернокислый гидрат $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 57,4; кальций углекислый $CaCO_3$ – 380,4; железо (II) сернокислое $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ – 26,4; иодистый калий KI – 0,77; марганец сернокислый $MnSO_4 \cdot 2H_2O$ – 4,55; медь сернокислая гидрат $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ – 0,48; цинк сернокислый гидрат $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,53; кобальт хлористый гидрат $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ – 0,024; фтористый натрий NaF – 0,5; алюминиевокалиевые квасцы $AlK(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ – 0,11. ** – состав смеси водорастворимых витаминов (мг на 100 г смеси): V_1 – 500; V_2 – 400; V_6 – 500; пантотенат кальция – 2800; никотиновая кислота – 2000; фолиевая кислота – 200; V_{12} – 4; викасол – 100; глюкоза – 93600. *** – состав смеси жирорастворимых витаминов (в мл на 100 мл раствора): витамин E (α -токоферол 50 мг/мл) – 10; витамин A (ретинол 100 000 МЕ/мл) – 0,8; витамин D (холекальциферол 50 000 МЕ/мл) – 1,4; подсолнечное масло до 100 мл.

Таблица 3. Состав полусинтетического рациона, содержащего ФММ

Ингредиент	Количество, г	Содержание, г			Калорийность,	
		белок	жир	углеводы	ккал	%
Казеин	12,5	10,1	0,19	–	42,11	11,1
Ферментализат мяса мидий	19,0	10,1	0,1	4,8	60,50	16,0
Крахмал	52,0	0,52	–	45,0	182,10	48,0
Масло подсолнечное нерафинированное	5,0	–	4,99	–	44,91	11,9
Лярд	5,0	–	4,98	–	44,82	11,9
Солевая смесь*	4,0	–	–	–	–	–
Смесь в/р витаминов**	1,0	–	–	1,00	4,00	1,10
Смесь ж/р витаминов***	0,1	–	0,10	–	0,9	–
Микрокристаллическая целлюлоза	2,0	–	–	–	–	–
Итого	100,6	20,72	10,36	50,80	379,32	100

раствора внутреннего стандарта (дексаметазон) с концентрацией 10 мкг/мл, затем 5,0 мл этилового спирта. Пробу помещали на лабораторный встряхиватель на 30 мин при комнатной температуре. После чего смесь фильтровали через шприцевой фильтр (0,45 мкм) и упаривали на роторном испарителе. Анализируемый образец смывали 0,5 мл 50% этилового спирта и вводили в хроматографическую систему. Хроматографический анализ проводили на колонке Нуклеосил C18 (250×5 мм, 5 мкм) в условиях линейного градиента от 20 до 60% ацетонитрила (в воде) в течение 45 мин при скорости элюирования 0,75 мл/мин и объеме петли 100 мкл. В качестве детектора использовали спектрофотометрический проточный детектор «V/VIS-151» («GILSON», США) при длине волны 254 нм [14].

Активность апоптоза в изолированных клетках тимуса определяли методом щелочного гель-элек-

трофореза (метод ДНК-комет) по степени ДНК повреждений, а также рассчитывали процент апоптотических клеток (индекс апоптоза) [3, 20]. Микроскопический анализ проводили на микроскопе «Zeiss Axio Imager Z1» («Zeiss», Германия) при увеличении 400. Полученные изображения ДНК-комет (краситель SYBR Green I) анализировали с использованием программного обеспечения Comet Imager system («Metasystems GmbH», Германия). В качестве показателя поврежденности ДНК использовали процентное содержание ДНК в хвосте ДНК-комет (% ДНК в хвосте). Апоптотическими считали клетки с содержанием ДНК в хвосте ДНК-кометы 75%. С каждого микропрепарата анализировали не менее 100 клеток [22].

Результаты исследований приведены в виде $M \pm m$, где M – выборочное среднее измеряемых величин, m – стандартная ошибка. Статистическую обработку полученных результатов проводили

с использованием пакета программ SPSS Statistics 20, используя непараметрический ранговый критерий Манна–Уитни и критерий Стьюдента. Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы (p) принимали равным 0,05.

Результаты и обсуждение

Аминокислотный скор белка мяса мидий и его ферментативного гидролизата относительно шкалы идеального белка представлен в табл. 4.

Как следует из представленных результатов, ферментализ в основном не приводил к существенной деградации незаменимых аминокислот в исходном сырье, за исключением суммы ароматических аминокислот (фенилаланин + тирозин). Аминокислотный скор ФММ, также как и аминокислотный скор мяса мидий, был лимитирован в первую очередь по сумме серосодержащих аминокислот, однако, как об этом свидетельствуют нижеприведенные результаты, полученные в опыте *in vivo*, замена в полусинтетическом рационе 50% белка казеина на ФММ не имела негативных последствий. Действительно, общее состояние всех животных при ежедневном осмотре на протяжении

всего эксперимента было удовлетворительным: по внешнему виду, качеству шерстного покрова, потреблению корма и воды, поведению не было выявлено отличий у животных, потреблявших ФММ, по сравнению с животными контрольных группы.

В табл. 5 приведены средние значения (по группе) относительного прироста массы тела животных по дням эксперимента.

Потребление ФММ в составе рациона оказало выраженное положительное влияние на рост массы тела крыс. Начиная с 8-х суток относительное увеличение массы тела животных, получавших ФММ, стало достоверно выше данного показателя животных 1-й и 2-й групп. Одним из возможных объяснений наблюдаемого феномена может быть наличие у пептидов ФММ анаболических свойств.

Визуальная оценка тимуса не выявила каких-либо неблагоприятных изменений этого органа, масса тимуса достоверно не различалась у животных всех групп. Однако было выявлено достоверное увеличение в тимусе индекса апоптоза (табл. 6) у животных 2-й и 3-й групп, подвергнутых воздействию электрического тока, по сравнению с интактными животными контрольной группы.

Этот результат свидетельствовал о том, что электрокожное раздражение крыс, использован-

Таблица 4. Аминокислотный скор белка мяса мидий и пептидных фракций ферментативного гидролизата мяса мидий

Наименование аминокислот	Аминокислотная шкала идеального белка (FAO/ВОЗ), 2008	Мясо мидий		Ферментализат мяса мидий	
		А	С	А	С
Изолейцин	3,0	4,2	140	3,9	128
Лейцин	5,9	7,3	124	7,0	118
Лизин	4,5	7,6	169	7,4	164
Метионин + цистеин	2,2	1,2	52	1,1	51
Фенилаланин + тирозин	6,3	6,9	110	5,3	85
Треонин	2,3	4,8	207	4,8	211
Триптофан	0,6	1,1	190	1,0	174
Валин	3,9	6	111	4,0	102
Гистидин	1,5	2,0	134	2,3	155

Примечание. А – содержание аминокислоты, г/100 г белка или белкового гидролизата; С – содержание аминокислоты, % относительно справочной шкалы FAO/ВОЗ (2008).

Таблица 5. Изменение относительного увеличения массы тела животных различных групп в течение эксперимента (%)

Группа животных	1-я (контрольная) (n=8)	2-я опытная (n=8)	3-я опытная (n=8)
Исходная масса животных, г	179,4±5,9	176,3±4,5	177,6±4,0
Сутки			
5	10,5±1,8	10,8±0,7	14,3±1,6
8	23,9±2,1	24,0±0,8	28,6±1,9*
12	41,1±2,4	42,4±1,7	49,8±3,0*
15	57,2±4,0	59,7±2,8	68,2±3,0*

Примечание. * – достоверность различий ($p < 0,05$) по сравнению с 1-й и 2-й группами согласно критерию Стьюдента и непараметрическому ранговому критерию Манна–Уитни.

Таблица 6. Активность апоптоза в тимусе крыс

Показатель	Группа животных		
	1-я (контрольная) (n=8)	2-я опытная (n=8)	3-я опытная (n=8)
Степень фрагментации ДНК (% ДНК)	7,45±0,09	7,66±0,06	7,61±0,09
Индекс апоптоза, %	1,04±0,01	1,13±0,09*	1,09±0,01*

Примечание. * – достоверность различий ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой согласно критерию Стьюдента и непараметрическому ранговому критерию Манна–Уитни.

Таблица 7. Биохимические показатели – биомаркеры стресса у крыс

Группа животных	Суточная моча	Плазма крови	
	кортикостерон, нг/мл	β-эндорфин, нг/мл	простагландин E ₂ , пг/мл
1-я контрольная группа	749± 240	2,31±0,73	14,1±1,4
2-я опытная группа	834±167	1,28±0,72	15,7±0,7
3-я опытная группа	452±78*	0,94±0,19	14,1±0,8

Примечание. * – достоверность различий ($p < 0,05$) по сравнению со 2-й опытной группой согласно критерию Стьюдента и непараметрическому ранговому критерию Манна–Уитни.

ное в данном исследовании, позволило достаточно корректно промоделировать дистресс.

Интенсивность протекания общего адаптационного синдрома определяется взаимосвязанным функционированием центральной стресс-системы и лимитирующих стресс-систем и характеризуется биохимическими биомаркерами – кортикостероидами, эндорфинами, простагландинами и другими биологически активными соединениями. Некоторые из этих показателей были определены в нашем исследовании.

В табл. 7 представлены результаты определения содержания β-эндорфина и простагландина E₂ в плазме крови крыс и кортикостерона в суточной моче животных всех групп по окончании эксперимента.

Определение содержания в крови β-эндорфина – нейропептида, рассматриваемого некоторыми авторами в качестве «возможного информативного показателя адаптабельности организма» [8, 19], не выявило достоверных различий этого показателя между группами животных. Содержание простагландина E₂ в плазме крови также достоверно не различалось для животных опытных и контрольной групп. Однако статистически достоверно более низкие значения концентраций

кортикостерона обнаружены в суточной моче подвергнутых стрессу животных 3-й опытной группы, потреблявших ФММ, по сравнению с аналогичным показателем у стрессированных животных 2-й опытной группы, получавших казеиновый рацион.

Таким образом, прием ФММ с высоким содержанием средне- и короткоцепочечных пептидов ограничивал характерное для общего адаптационного синдрома увеличение в суточной моче крыс классического стресс-гормона кортикостерона, что в определенной степени соответствует высказанному ранее предположению о наличии у ФММ адаптогенных свойств [17]. В работе [6] было показано, что радиозащитная и гемостимулирующая активность ГММ возрастают с увеличением содержания в их составе низкомолекулярных пептидных фракций. Выяснение вопроса о зависимости адаптогенных свойств ФММ от содержания низкомолекулярных пептидов и свободных аминокислот также представляет существенный интерес при разработке новых специализированных продуктов для лиц, связанных с неблагоприятными условиями труда, и должно стать предметом дальнейших исследований.

Сведения об авторах

Сидорова Юлия Сергеевна – младший научный сотрудник лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов ФГБУ «НИИ питания РАМН» (Москва)

E-mail: sidorovaulia28@mail.ru

Селяскин Кирилл Евгеньевич – младший научный сотрудник лаборатории оценки безопасности биотехнологий и новых источников пищи ФГБУ «НИИ питания РАМН» (Москва)

E-mail: sely2@mail.ru

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

E-mail: zorin@ion.ru

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

E-mail: mazo@ion.ru

Абрамова Любовь Сергеевна – доктор технических наук, заведующая отделом технического регулирования и нормативного обеспечения рыболовства ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии» (Москва)

E-mail: abramova@vniro.ru

Литература

1. Арнаутов М.В., Абрамова Л.С., Абрамов Д.В. и др. Оработка технологии ферментативного гидролиза мяса мидий в полупромышленных масштабах // Рыбное хозяйство. – 2013. – № 1. – С. 112–116.
2. Гончаренко Е.Н., Деев Л.И., Кудряшов Ю.Б., Пархоменко И.М. Мидийный кислотный гидролизат и его биологическое действие // Успехи соврем. биологии. – 1995. – Т. 115, вып. 2. – С. 213–224.
3. Дурнев А. Д., Жанатаев А. К., Анисина Е. А. и др. Применение метода щелочного гель-электрофореза изолированных клеток для оценки генотоксических свойств природных и синтетических соединений: Методические рекомендации. – М., 2006. – 27 с.
4. Зорин С.Н., Бучанова А.В., Матяш А.И. и др. Влияние комплекса органического цинка с ферментативным гидролизатом мяса мидий на всасываемость в желудочно-кишечном тракте потенциально аллергенных пищевых белков // Вопр. питания. – 2010. – Т. 79, № 2. – С. 73–77.
5. Зорин С.Н., Матяш А.И., Нгуан Иен и др. Одностадийный ферментативный гидролиз мяса мидий // Вопр. дет. диетологии. – 2008. – Т. 6, № 3. – С. 36–38.
6. Кудряшов Ю.Б. Фундаментальные механизмы лучевого поражения и противолучевой защиты. Принцип «четвертого состояния» и МИГИ-К // Материалы межвузовского координационного совещания по проблеме модификации лучевых повреждений. – 1989. – С. 11–21.
7. Лисицын А.Б., Иванкин А.Н., Неклюдов А.Д. Методы практической биотехнологии. Анализ компонентов и микропримесей в мясных и других пищевых продуктах. – М.: ВНИИМП, 2002.
8. Лишманов Ю.Б., Трифонова Ш.Б., Цибин А.Н. и др. Эндорфин и стресс-гормоны плазмы крови при состояниях напряжения и адаптации // Бюл. экспер. биол. – 1987. – Т. 103, № 4. – С. 422–424.
9. Моллин Р., Панек Я., Мияхара М. Белковые гидролизаты в пищевых продуктах // Мясные технологии. – 2007. – № 11. – С. 30–31.
10. Неклюдов А.Д., Иванкин А.Н., Бердугина А.В. Свойства и применение белковых гидролизатов (обзор) // Приклад. биохим. – 2000. – Т. 36, № 5. – С. 525–534.
11. Неклюдов А.Д., Иванкин А.Н., Бердугина А.В. Получение и очистка белковых гидролизатов (обзор) // Приклад. биохим. – 2000а. – Т. 36, № 4. – С. 371–379.
12. Новикова М.В. Гидробионты как промышленное сырье: Учебное пособие. – М.: Изд-во ВНИРО, 2005. – 116 с.
13. Новикова М.В., Абрамова Л.С., Котенев Б.Н. Технология получения и применения биологически активных добавок из беспозвоночных и отходов их разделки. Методические рекомендации по комплексному использованию морских и пресноводных беспозвоночных для получения пищевых и кормовых биологически активных добавок. – М.: Изд-во ВНИРО, 2008. – Вып. 3. – 24 с.
14. Остерман Л.А. Хроматография белков и нуклеиновых кислот. – М.: Наука, 1985. – Гл. 4. – С. 109–166.
15. Рехина Н.И., Новикова М.В., Беседина Т.В. и др. Пищевой продукт из мяса мидий для лечебно-профилактического применения // Рыбное хозяйство. – 1995. – № 4. – С. 53–56.
16. Сидорова Ю.С., Зорин С.Н., Мазо В.К. и др. Новый источник органических форм цинка // Вопр. питания. – 2011. – Т. 80, № 6. – С. 72–75.
17. Сидорова Ю.С., Арнаутов М.В., Байгарин Е.К. и др. Сравнительная оценка влияния гомогената и ферментализата мяса мидий на рост и усвоение белка крысами Вистар // Вопр. питания. – 2013. – Т. 82, № 2. – С. 17–22.
18. Тышко Н.В., Жминченко В.М., Пашорина В.А., Селяскин К.Е. Сравнительная характеристика влияния экспериментальных рационов на рост и развитие крыс // Вопр. питания. – 2011. – Т. 80, № 5. – С. 30–38.
19. Яременко К.В. Оптимальное состояние организма и адаптогены. – СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2008. – С. 129.
20. Chandna S. Single-cell gel electrophoresis assay monitors precise kinetics of DNA fragmentation induced during programmed cell death // Cytometry A. – 2004. – Vol. 61, N 2. – P. 127–133.
21. Petra Quillfeld, Maud Poisbleau Measuring corticosterone in seabird egg yolk and the presence of high yolk gestagen concentrations // Gen. Comp. Endocrinol. – 2011. – Vol. 173. – P. 11–14.
22. Smith C.C., Adkins D.J., Martin E.A., O'Donovan M.R. Recommendations for design of the rat comet assay // Mutagenesis. – 2008. – Vol. 23, N 3. – P. 233–240.

Для корреспонденции

Бекетова Нина Алексеевна – кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории витаминов и минеральных веществ ФГБУ «НИИ питания» РАМН

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

Телефон: (495) 698-53-30

E-mail: beketova@ion.ru

Н.А. Бекетова, В.М. Коденцова, О.А. Вржесинская, О.В. Кошелева, О.Г. Переверзева, А.А. Сокольников, И.В. Аксенов

Коррекция полигиповитаминоза у растущих крыс различными дозами витаминов на фоне обогащенного пищевыми волокнами рациона

Correction of the combined vitamin deficit in growing rats fed fiber enriched diets with different doses of vitamins

N.A. Beketova, V.M. Kodentsova, O.A. Vrzhesinskaya, O.V. Kosheleva, O.G. Pereverzeva, A.A. Sokolnikov, I.V. Aksenov

ФГБУ «НИИ питания» РАМН, Москва
Institute of Nutrition of Russian Academy of Medical Science, Moscow

В модельном опыте на крысах (8 групп по 8 крыс в каждой) исследовано влияние включения в корм 5% пшеничных отрубей (ПО) на коррекцию поливитаминовой недостаточности 2 дозами витаминов [соответствующая адекватному уровню потребления (АУП) и повышенная]. Дефицит витаминов у самцов крыс-отъемышей линии Вистар ($58,1 \pm 0,5$ г) вызывали путем 5-кратного уменьшения в корме количества витаминной смеси и полного исключения из нее витаминов E, B₁ и B₂ в течение 30 сут. Крысы контрольной группы получали полноценный рацион по количеству витаминов и пищевых волокон (ПВ) – 2% микрокристаллической целлюлозы. Пребывание в течение 35 сут на витаминдефицитном рационе приводило к снижению уровня в печени витамина А ($p < 0,05$) в 25 раз, E и B₁ – в 2,0–2,3 раза, B₂ – на 40%, концентрации 25(OH)D в плазме крови – на 21% по сравнению с контролем. У животных, получавших витаминдефицитный рацион и ПО, потребление корма было выше на 43%, чем у крыс с дефицитом витаминов. Кривая их роста заняла промежуточное положение между кривыми роста дефицитных и контрольных животных, поэтому они не могли служить полноценным контролем для оценки влияния ПВ на витаминную обеспеченность. Восполнение до АУП в течение 5 сут содержания витаминов в рационе крыс, прошедших стадию гиповитаминоза, полностью восстановило уровень витамина E. Для восстановления обеспеченности витаминами B₁ и B₂ потребовались повышенные дозы (120–160% от АУП), а для восстановления сниженного уровня витамина А в печени крыс было недостаточно повышенной в 2 раза дозы витамина А. Обогащение рациона ПВ не отражалось на содержании в печени витаминов B₁ и B₂ вне зависимости от витаминного статуса. Добавление ПВ в корм адекватно обеспеченных витаминами животных приводило к достоверному повышению концентрации 25(OH)D в плазме крови в 1,3 раза и незначительному, но достоверному снижению уровня α -токоферола в печени крыс на 16% по сравнению с показателем у крыс, не получавших ПО. Обогащение рациона крыс ПВ мешало восстановлению сниженного статуса витамина E не только при восполнении недостатка витаминов в рационе до адекватного уровня,

но и при использовании повышенной в 2 раза дозы витамина. Дефицит витаминов А, В₁, В₂ за 5 сут не ликвидировался при увеличении содержания витаминов в рационе до АУП. Для полной коррекции витаминного статуса оправданы повышенные дозы витаминов. Для нормализации повышенного уровня малонового диальдегида (МДА) в печени крыс с полигиповитаминозом оказалось достаточно восстановления содержания витаминов в рационе до адекватного уровня, что ассоциируется с улучшением обеспеченности животных витамином Е. Обогащение рациона ПВ не оказало влияния на интенсивность процессов перекисного окисления липидов в печени крыс независимо от их обеспеченности витаминами.

Ключевые слова: алиментарный полигиповитаминоз, витамины, пищевые волокна, МДА, пшеничные отруби, печень, плазма крови, крысы

The effect of 5% dietary wheat bran (WB) on the correction of combined vitamin deficiency by two doses of vitamins (physiological and enhanced) has been analyzed using a rat model (8 groups, n=8/group). Vitamin deficiency in male weanling Wistar rats (58,1±0,5 g) was induced by 5-fold reduction of vitamin mixture amount in the feed and complete vitamin E, B₁ and B₂ exclusion from the mixture for 30 days, then deficit was corrected within 5 days. Rats from control group were fed a complete semisynthetic diet containing microcrystalline cellulose 2%. Vitamin deficient diet for 35 days resulted in reduced (p<0,05) levels of vitamin A in the liver by 25 fold, vitamin E and B₁ – 2,0–2,3 fold, vitamin B₂ – by 40%, 25(OH)D blood plasma concentration – by 21% compared with the control. Feed consumption of the animals treated with vitamin deficient diet and WB was higher by 43% than in rats with vitamin deficit. Their rate of weight occupied the intermediate position between the rates of weight in deficit and in control animals, and they could not serve a full control to evaluate the WB impact on vitamin sufficiency. After filling the vitamin diet content to an adequate level vitamin E liver content was fully restored. To restore vitamins B₁ and B₂ liver level higher doses of vitamins (120–160% of adequate content) were required, and to restore the reduced levels of vitamin A in rat liver even 2-fold increased dose of vitamin A was insufficient. The diet enrichment with WB had no effect on vitamin B₁ and B₂ liver content, regardless of the amount of vitamins in the diet. Adding fiber to the diet of animals adequately provided with vitamins resulted in significantly 1,3-fold increase of 25(OH)D blood plasma concentration and a slight but significant decrease of α-tocopherol liver level by 16% as compared to rats not receiving WB. The enrichment of rat diet with dietary fibers worsened restoration of the reduced vitamin E status not only by filling vitamin content in the diet to an adequate level, but also by using 2-fold enhanced dose of vitamin. Within 5 days deficiency of vitamins A, B₁, B₂ was not eliminated with increasing vitamin diet content to an adequate level. Higher doses of vitamins are needed for the complete correction of vitamin status. The addition of vitamins to an adequate level was sufficient to normalize the elevated liver levels of MDA in rats with combined vitamin deficiency that may be associated with vitamin E status improvement. The diet enrichment with fiber did not affect on the intensity of lipid peroxidation in rat liver regardless of their provision with vitamins.

Key words: alimentary combined vitamin deficiency, fiber, vitamins, MDA, wheat bran, liver, blood plasma, rats

Анализ использования витаминно-минеральных комплексов в питании населения различных возрастных групп свидетельствует о том, что эффективность коррекции гиповитаминоза зависит как от дозы, так и от длительности приема витаминов; использование низких доз витаминов не позво-

ляет ликвидировать витаминную недостаточность в течение относительно короткого срока [11, 12]. Ранее в эксперименте на крысах с полигиповитаминозом было показано, что добавление в витаминдефицитный рацион витаминов в количестве 50% от адекватного уровня потребления (АУП) не

позволило за 2 нед полностью восстановить витаминный статус до уровня у животных, получавших адекватное количество витаминов [2]. Одним из факторов, влияющих на биодоступность витаминов, являются пищевые волокна (ПВ). Традиционный источник ПВ – отруби злаковых, в частности пшеницы. Для пшеничных отрубей характерно высокое содержание (до 45–55% [21]) нерастворимых ПВ – не перевариваемых в тонком кишечнике полисахаридов, которые благодаря развитой капиллярно-пористой структуре, наличию гликозидных связей между элементарными звеньями и гидроксильных групп, обладают сорбционными, водоудерживающими, катионообменными свойствами [3, 18, 39]. Изучение механизма действия ПВ пшеничных отрубей показало, что они влияют на показатели липидного и углеводного обмена, метаболизм желчных кислот, снижают рН содержимого кишечника, повышают образование короткоцепочечных жирных кислот [18, 22, 26, 30]. В то же время в ряде исследований было продемонстрировано, что длительное потребление ПВ может нарушать баланс минеральных веществ и микроэлементов в организме, ухудшать обеспеченность витаминами [24, 31, 32], в том числе витаминами-антиоксидантами и каротиноидами [29, 37], что способствует усилению процессов перекисного окисления липидов [3, 4]. Ранее нами было показано, что включение в течение 4 нед в витаминдефицитный рацион 2,3–4,6% пшеничных отрубей приводило к ухудшению обеспеченности организма крыс витаминами А и Е [4]. Все изложенное позволило предположить, что обогащение рациона пищевыми волокнами может неблагоприятно повлиять на эффективность коррекции сочетанной витаминной недостаточности.

Учитывая достаточно высокую встречаемость в современных условиях среди населения России одновременной недостаточности сразу нескольких витаминов [14] и благоприятное действие ПВ на здоровье человека [22, 26, 27, 40], целью работы было изучение влияния ПВ на эффективность коррекции полигиповитаминоза у экспериментальных животных различными дозами витаминов.

Материал и методы

Исследования выполнены на 64 самцах крыс-отъемышей линии Вистар с исходной массой тела 49,0–66,5 г ($58,1 \pm 0,5$ г), полученных из питомника НЦБМТ РАМН «Столовая». Возраст экспериментальных животных в начале опыта соответствовал примерно 4 годам жизни ребенка [16, 25]. Содержание животных осуществляли в соответствии с Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых в экспериментах и других научных целях (Совет Европы, Страсбург,

2004 г). На протяжении всего эксперимента животные находились в клетках по 2 особи при приглушенном естественном освещении (средняя продолжительность светового дня – 9,2 ч), относительной влажности воздуха 60–70%, температуре 24 ± 2 °С. Животные получали корм *ad libitum* и имели постоянный доступ к воде. Ежедневно проводили контроль массы тела.

Исследование включало 2 последовательных этапа продолжительностью 30 и 5 дней. Схема эксперимента представлена на рис. 1. В начале эксперимента животные были рандомизированы по массе тела на 4 группы.

Животные контрольной группы (К) в течение всего эксперимента (35 дней) получали полноценный полусинтетический рацион [5]. Средневзвешенное количество корма на 1 крысу в сутки составило 14,7 г, а содержание витаминов в рационе соответствовало АУП для крыс. Содержание в 100 г рациона витамина Е составило 6,4 МЕ, B_1 – 0,57 мг, B_2 – 0,5 мг.

В течение I этапа эксперимента (30 дней) у животных опытных групп (Д и ДО) вызывали дефицит витаминов путем 5-кратного уменьшения в корме количества витаминной смеси [6] и полного исключения из нее ацетата dl- α -токоферола, тиамина гидрохлорида и рибофлавина. Поступление токоферолов, витаминов B_1 и B_2 животным происходило только за счет естественного содержания этих микронутриентов в компонентах витаминдефицитного рациона (казеине, подсолнечном масле и отрубях) и составило для витамина Е – 30%, B_1 – 42%, B_2 – 22% от такового в контрольной группе.

На II этапе эксперимента животные опытных групп с дефицитом витаминов были рандомизированы на 3 подгруппы (по 8 крыс в каждой). Крысы одной из подгрупп продолжали получать дефицитный по витаминам рацион (Д), средневзвешенное потребление которого в расчете на 1 особь составило 10,3 г в сут. Крысам 2-й подгруппы в течение последующих 5 дней добавляли в рацион витаминную смесь в количестве 80% от дозы витаминной смеси в рационе контрольной группы (Д+80%), крысам 3-й подгруппы – 200% (Д+200%). Средневзвешенное потребление корма в подгруппах Д+80% и Д+200% оказалось достоверно выше, чем в группе Д соответственно на 22,3 и 27,2% (табл. 1).

К моменту окончания эксперимента у животных, содержавшихся в течение 35 сут на витаминдефицитном рационе (группа Д), прекращался прирост массы тела. Помимо этого у крыс отмечали типичные признаки развития недостаточности витаминов: потеря равновесия при движении, выпадение шерсти, алопеция и дерматит.

Влияние модификации углеводного компонента рациона (обогащение ПВ) на витаминный статус крыс исследовали на фоне нормальной обес-

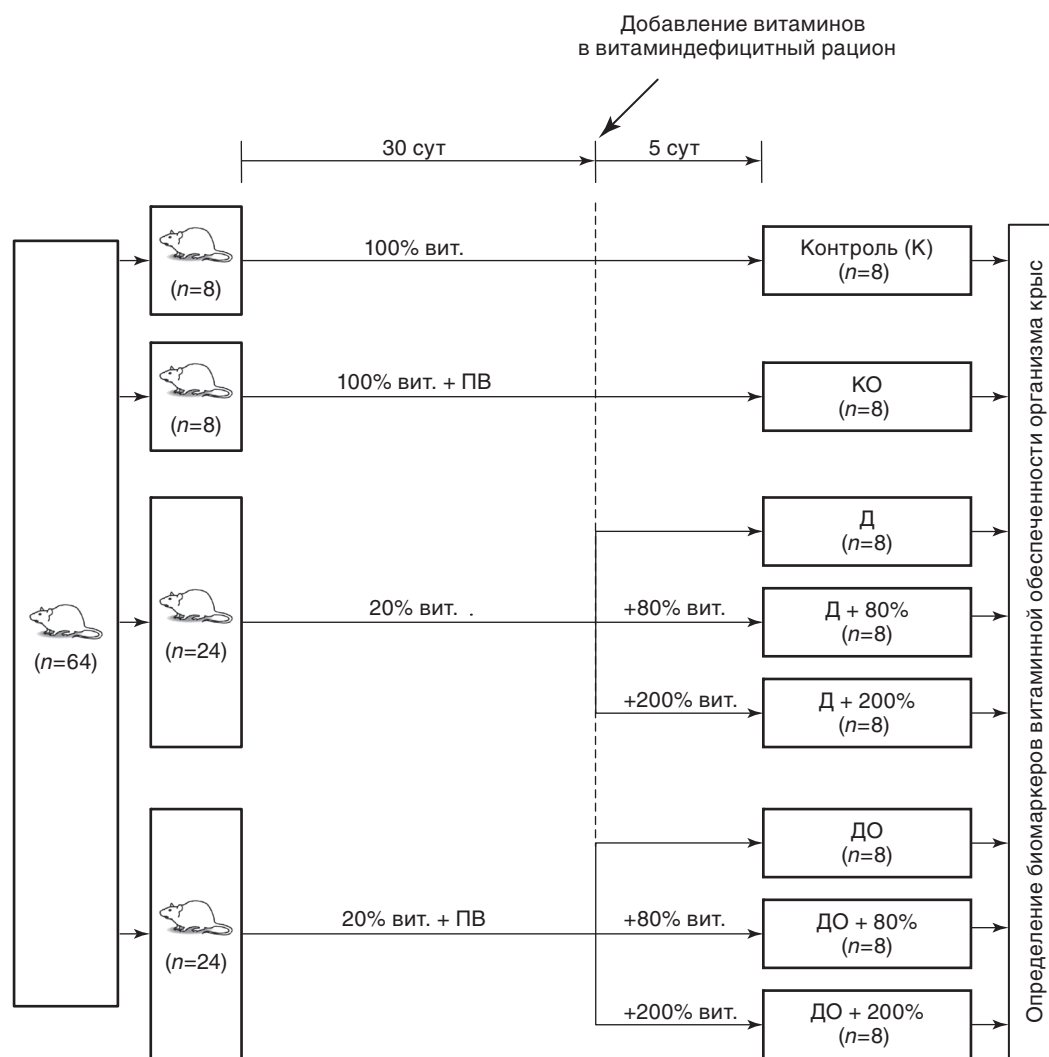


Рис. 1. Схема эксперимента

Таблица 1. Масса тела крыс в конце эксперимента и среднесуточная поедаемость корма ($M \pm m$)

Группа	Показатель	
	масса тела, г	масса поедаемого корма на 1 крысу в сутки, г
К (контроль)	274,4±4,2	14,7
КО (контроль + отруби)	278,4±6,0	
Д (дефицит)	151,3±4,3 ^к	10,3
Д+80%	175,8±7,5 ^{д, к}	12,6
Д+200%	175,3±6,0 ^{д, к}	13,1
ДО (дефицит + отруби)	235,0±4,1 ^{д, к, ко}	14,7
ДО+80%	240,0±8,3 ^{д, к, ко, о}	
ДО+200%	225,6±13,4 ^{д, к, ко, о}	

Примечание. ^к – достоверное отличие ($p < 0,05$) от показателя крыс контрольной группы; ^д – от показателя группы Д; ^{ко} – от показателя группы КО; ^{до} – от показателя группы ДО; ^о – от показателя группы крыс, получавших одинаковое количество витаминов с рационом без добавления отрубей.

печенности крыс витаминами (группа КО) и на фоне дефицита всех витаминов в рационе (ДО). Для этого в рацион добавляли пшеничные отруби в количестве 5% от сухой массы корма за счет уменьшения доли крахмала (группы ДО, ДО+80%,

ДО+200%). Использованы пшеничные отруби (ОАО «Московский мельничный комбинат № 3) по ГОСТ 7169-66 с ненормируемым размером частиц. Добавление 5% отрубей увеличивало содержание в рационе ПВ примерно в 2 раза. Ко-

личество добавляемых к рациону крыс отрубей соответствовало рекомендациям по выбору дозы фармакологического средства для I фазы клинических испытаний исходя из массы животных и величин, соответствующих верхнему допустимому уровню потребления ПВ в составе биологически активных добавок к пище для человека [17, 20]. Средневзвешенное потребление рациона у крыс этих групп не отличалось от такового в контрольной группе.

За 20 ч до вывода из эксперимента крыс лишали пищи. Предварительно анестезированных эфиром животных умерщвляли путем декапитации. Собранную с гепарином во время декапитации животного кровь центрифугировали в течение 15 мин при 500 g, отбирали плазму и хранили при -20°C . Содержание витаминов А (ретинола и пальмитата ретинола) и Е (токоферолов) в плазме крови и в печени крыс, в подсолнечном масле, пшеничных отрубях и казеине определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), витамины В₁ и В₂ в печени, плазме крови животных и казеине – флуориметрически [7, 19, 23].

Экспериментальные данные обрабатывали с помощью статистических пакетов «Статистика» (версия 6.0) и IBM SPSS Statistics для Windows (версия 20.0). Для выявления статистической значимости различий непрерывных величин использовали непараметрический *U*-критерий Манна–Уитни и непараметрический критерий Краскелла–Уоллиса для независимых переменных. Различия между анализируемыми показателями считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Аппроксимация по таблицам пересчета возраста экспериментальных крыс на возраст человека показала, что в начале эксперимента возраст крыс соответствовал примерно 4 годам жизни ребенка, в конце пребывания (в течение 30 дней) на витаминдефицитном рационе – примерно 10 годам [16, 25]. Таким образом, используемая постановка эксперимента отражала возникновение хронического сочетанного дефицита всех витаминов. При расчете, по разным данным [16, 25, 38], 5 дней восполнения витаминов в корме крыс примерно соответствовало продолжительности приема витаминов человеком в течение 11 мес.

Животные, получавшие витаминдефицитный рацион (группа Д), достоверно отставали в росте от животных, получавших полноценный рацион, уже через 1 нед от начала эксперимента [15], а через 4 нед у крыс этой группы были выявлены типичные признаки развития недостаточности витами-

нов: потеря равновесия при движении, выпадение шерсти, алопеция и дерматит. На фоне адекватной обеспеченности крыс витаминами добавление пшеничных отрубей не влияло на скорость роста. Это согласуется с данными литературы о том, что добавление в рацион 2–20% отрубей пшеницы и кукурузы не отражалось на массе животных [1, 28]. Добавление в корм крыс контрольной группы отрубей увеличивало содержание в нем витаминов Е, В₂ и В₁ незначительно (на 1,0–8,8%), тогда как добавление отрубей в витаминдефицитный корм повышало уровень витаминов В₂ и В₁ на 9–21% и практически не влияло на содержание витамина Е (повышение на 3,6%).

У животных, получавших дефицитный по витаминам рацион с добавлением отрубей (группа ДО), средневзвешенное потребление корма было существенно выше, чем у крыс с дефицитом витаминов, и практически сравнялось с таковым в контрольной группе (см. табл. 1). В результате этого кривая роста этих крыс заняла промежуточное положение между кривыми роста дефицитных по витаминам и контрольных животных. Их общее состояние не ухудшалось, а внешние признаки недостаточности витаминов отсутствовали. Таким образом, данная группа животных не смогла служить полноценным контролем для оценки влияния отрубей на витаминную обеспеченность. При этом концентрация всех витаминов в плазме крови и печени (ДО) не отличалась (рис. 2–6) от показателей крыс с дефицитом витаминов (Д). Таким образом, в такой постановке эксперимента не удалось зафиксировать ни отрицательного, ни положительного влияния отрубей на витаминный статус крыс с полигиповитаминозом.

Восполнение недостатка витаминов в корме без добавления пшеничных отрубей приводило к достоверному повышению массы тела животных, прошедших стадию полигиповитаминоза, но за этот срок она не достигла показателя контрольной группы (см. табл. 1). Следует отметить, что даже повышенная доза витаминов оказалась недостаточной для восстановления скорости роста.

Как видно из рис. 2 и 3, при потреблении витаминов В₂ и В₁, составившем 20–40% от АУП, наблюдалось достоверное уменьшение соответственно на 38–40% и в 2,3–2,7 раза содержания этих витаминов в печени крыс (группы Д и ДО) по сравнению с показателем контрольной группы К независимо от наличия в рационе дополнительно добавленных ПВ. Восполнение недостатка витаминов В₁ и В₂ в рационе до АУП в течение 5 сут хотя и достоверно повышало уровень витаминов в печени, но не ликвидировало их дефицит у животных. Только добавление в витаминдефицитный рацион повышенной дозы этих витаминов (120–160% от АУП) позволило за этот срок восстановить содержание витаминов В₁ и В₂ в печени до уровня контроля.

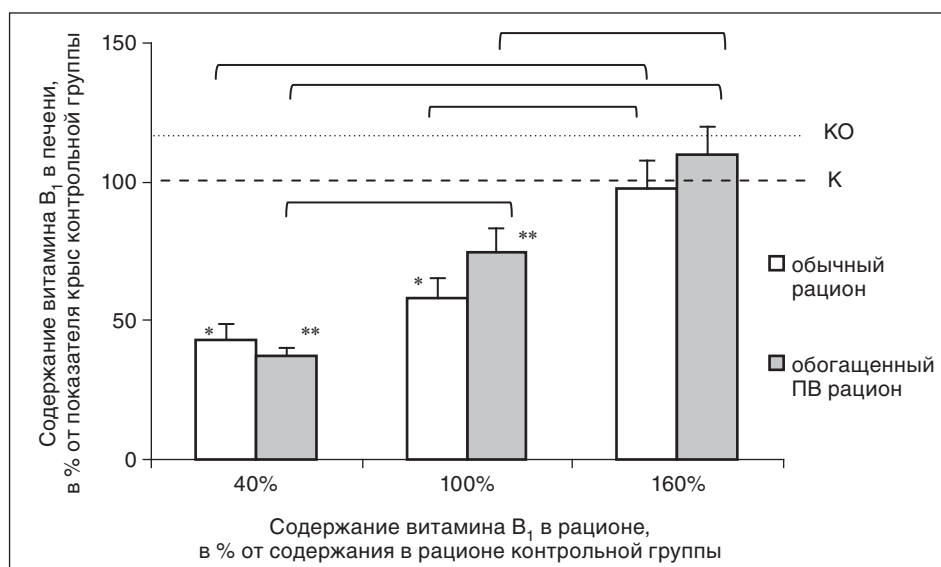


Рис. 2. Влияние пищевых волокон на уровень витамина В₁ в печени крыс, получавших дефицитный по витаминам корм в течение 30 сут (40%) и восполненный в последующие 5 сут до 100 и 160% от содержания витамина В₁ в рационе контрольной группы животных. За 100% приняты показатели обеспеченности витамином В₁ животных контрольной группы (8,71±0,32 мкг/г печени)

Здесь и на рис. 3–6 достоверное отличие ($p < 0,05$): * – от показателя контрольной группы К; ** – от показателя группы КО; скобками отмечены группы, между показателями которых имеются достоверные ($p < 0,05$) различия; пунктирные линии – показатели животных групп К и КО.

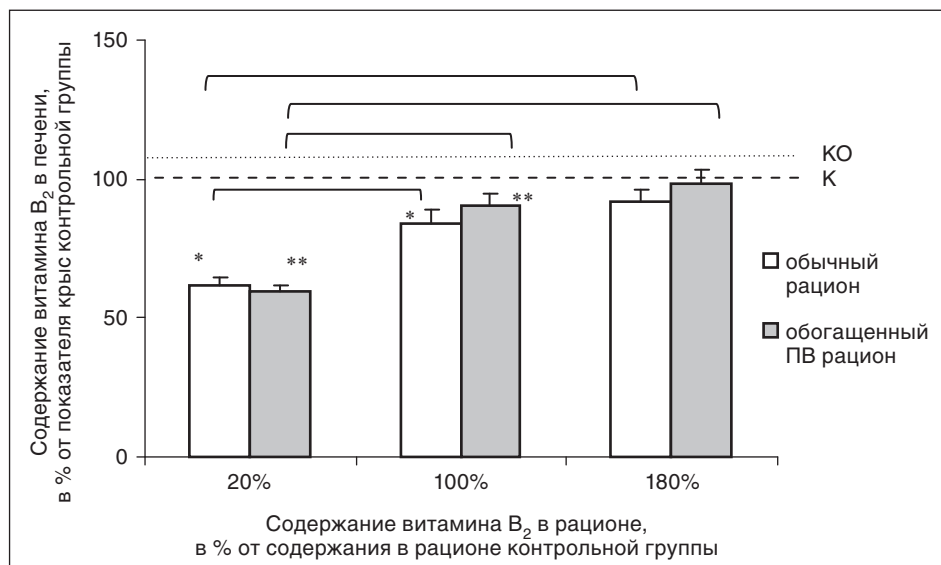


Рис. 3. Влияние пищевых волокон на уровень витамина В₂ в печени крыс, получавших дефицитный по витаминам корм в течение 30 сут (20%) и восполненный в последующие 5 сут до 100 и 180% от содержания витамина В₂ в рационе контрольной группы животных. За 100% приняты показатели обеспеченности витамином В₂ животных контрольной группы (30,3±0,5 мкг/г печени)

По-видимому, при использовании более низких доз требуется более длительный период времени, как это было показано ранее в экспериментах на крысах и клинических наблюдениях [2, 11, 12]. Обогащение рациона ПВ не оказало влияния на коррекцию недостаточности изученных витаминов группы В. Этот факт согласуется с результатами модельных опытов *in vitro*, показавших незначительную сорбционную емкость пшеничных отрубей

в отношении этих витаминов в условиях, имитирующих среду желудочно-кишечного тракта [3].

Как видно из рис. 4, уменьшение в 5 раз количества витаминной смеси в рационе без отрубей сопровождалось снижением (на 21%) концентрации в плазме крови животных транспортной формы витамина D – 25(OH)D по сравнению с показателем в контрольной группе (15,1±0,6 нг/мл), однако различие было недостоверным. Обычно

для создания дефицита витамина D у крыс требуется не только исключение из витаминной смеси витамина D, но и специальная очистка казеина от витамина или полная замена животного белка на растительный и исключение животного жира из рациона. Необходимым условием является также содержание животных в затемненном помещении для предотвращения синтеза витамина D в коже под действием ультрафиолетового света [9]. Поскольку в нашем эксперименте был использован не отмытый от витаминов казеин, снижение в 5 раз количества витаминной смеси в рационе не привело к развитию глубокого дефицита витамина D.

Уровень витамина D в плазме крови крыс, получавших витаминдефицитный рацион с последующим восполнением содержания витамина D до 100% от АУП (группа Д+80%), превысил в 1,6 раза ($p < 0,05$) таковой у крыс группы Д и в 1,3 раза – у крыс контрольной группы и достоверно не отличался от показателя крыс, получавших повышенную дозу витамина (группа Д+200%).

При обогащении ПВ как витаминдефицитного (ДО), так и рациона с адекватным количеством витаминов (КО) содержание 25(OH)D в плазме крови крыс было достоверно выше в 1,3 раза по сравнению с показателем у соответствующих групп животных, не получавших отруби (Д и К). Это свидетельствует о лучшем усвоении витамина D на фоне отрубей, возможно, за счет их влияния на метаболизм желчных кислот [30], улучшающих эмульгирование жиров. Обе дозы витамина D в течение 5 сут ликвидировали недостаточность этого витамина, восстанавливая уровень 25(OH)D в плазме крови до физиологической

нормы независимо от наличия в рационе отрубей.

Как видно из рис. 5, у крыс, получавших уменьшенное в 5 раз количество витаминов в составе рациона с обычным углеводным компонентом (группа Д), достоверно сниженные в 25 раз уровень пальмитата ретинола в печени и на 30% уровень ретинола в плазме крови по сравнению с показателями в контрольной группе (группа К) свидетельствовали о развитии у них дефицита витамина А.

Последующее восполнение в течение 5 дней в корме крыс содержания витаминов до уровня в корме контрольной группы оказалось недостаточным для полной коррекции недостатка витамина А. Уровень пальмитата ретинола в печени животных группы Д+80% хотя и достоверно повысился в 1,9 раза, однако составил лишь 7,7% от показателя крыс контрольной группы ($22,1 \pm 1,4$ мкг РЭ/г печени). Для сравнения введение витамина А в количестве 10–20% и 50% от адекватного потребления в течение 14 дней в корм крыс-отъемышей (возраст 5–6 нед) с А-авитаминозом и более взрослых крыс (исходная масса тела $107,1 \pm 1,1$ г) с полигиповитаминозом не привело к существенному увеличению уровня пальмитата ретинола в печени, который составил 5,7 и 14,9% от такового в печени животных, получавших в течение того же периода физиологический уровень этого микроэлемента [2, 8]. У крыс-отъемышей Вистар, содержащихся в течение 3 мес на рационе, полностью лишенном витамина А, но полноценном по содержанию остальных витаминов, последующее включение в корм в течение 15 дней физиологической

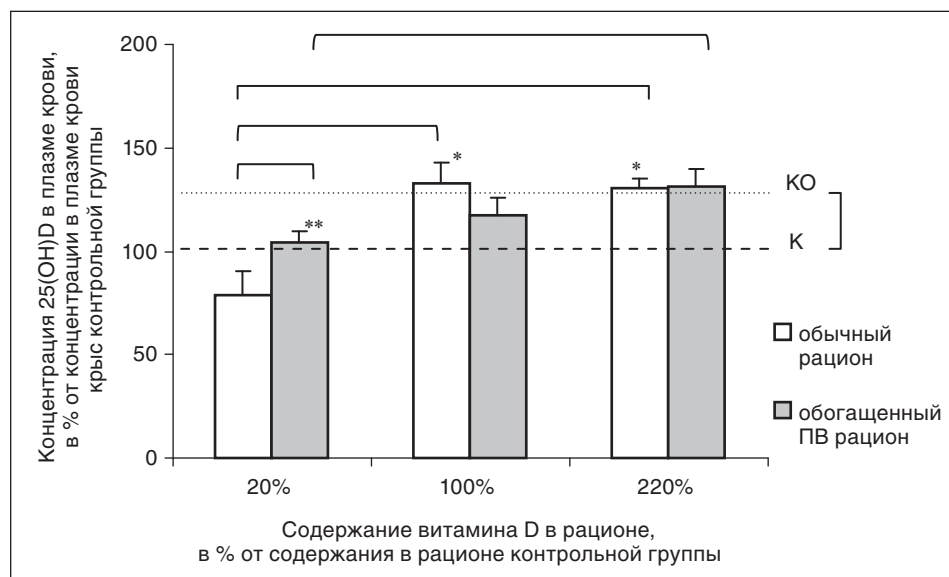
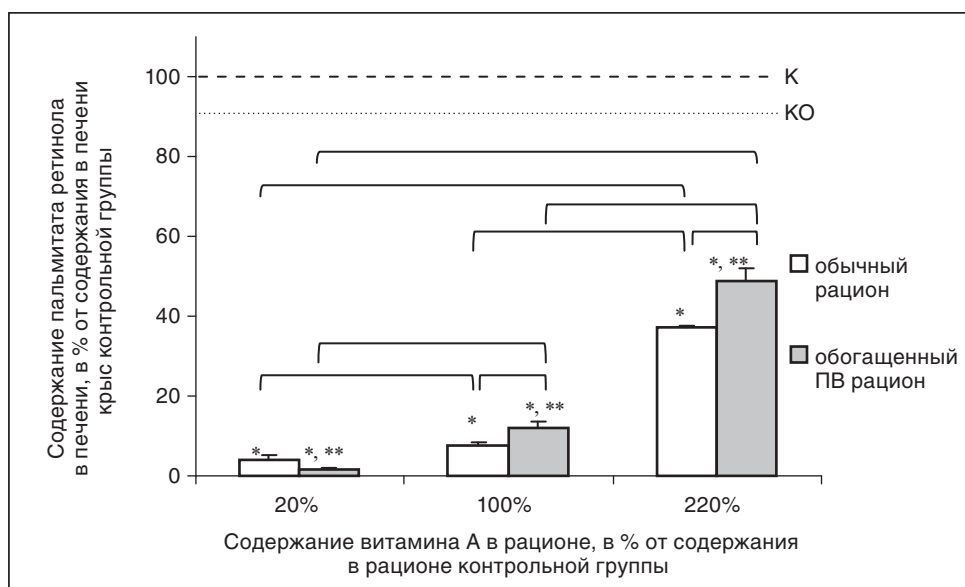
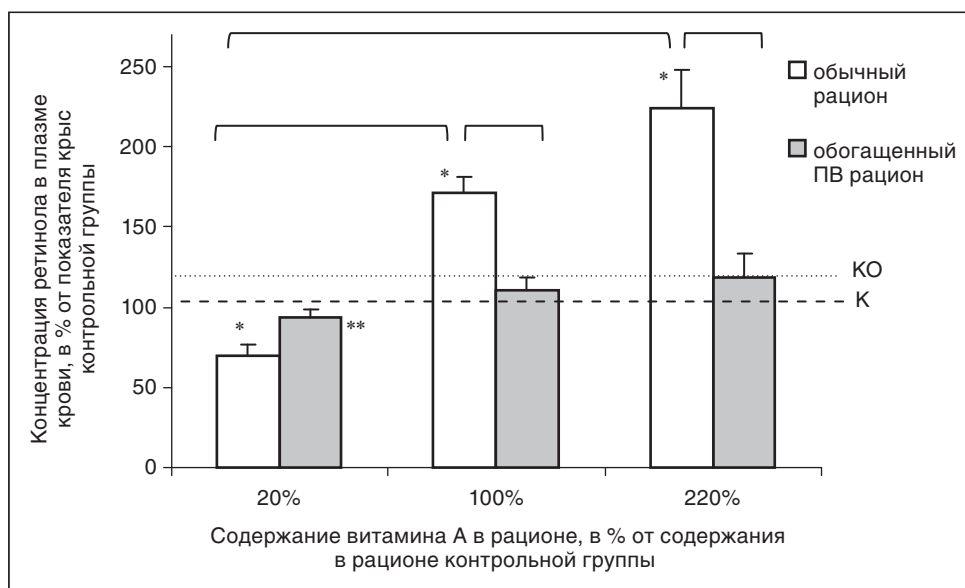


Рис. 4. Влияние пищевых волокон на концентрацию 25(OH)D в плазме крови крыс, получавших дефицитный по витаминам корм в течение 30 сут (20%) и восполненный в последующие 5 сут до 100 и 220% от содержания витамина D в витаминной смеси контрольной группы животных. За 100% приняты показатели обеспеченности витамином D животных контрольной группы ($15,1 \pm 0,6$ нг/мл плазмы крови)



а



б

Рис. 5. Влияние пищевых волокон на уровень пальмитата ретинола в печени (а) и ретинола в плазме крови (б) крыс, получавших дефицитный по витаминам корм в течение 30 сут (20%) и восполненный в последующие 5 сут до 100% и 220% от содержания витамина А в витаминной смеси контрольной группы животных. За 100% приняты показатели обеспеченности витамином А животных контрольной группы (22,1±1,4 мкг РЭ/г печени и 38,1±3,4 мкг/дл плазмы крови)

дозы пальмитата ретинола (4000 МЕ/кг рациона) восстановило сниженный уровень витамина А в печени и плазме крови до показателей крыс, получавших адекватное количество этого витамина [35]. На основании этого можно заключить, что сочетанный недостаток витаминов (полигиповитаминоз) не позволил в течение 5 дней провести коррекцию А-витаминной недостаточности.

Добавление в рацион повышенной дозы витаминов (220% от АУП) за этот же срок сопровож-

далось достоверным повышением уровня пальмитата ретинола в печени в 4,8 раза по сравнению с низкой дозой, однако он остался достоверно снижен в 2,7 раза по сравнению с показателем крыс контрольной группы, не достигнув нижней границы физиологической нормы [5, 10]. Таким образом, добавление как физиологической (до 100% от АУП), так и повышенной дозы витаминов (более 200% от АУП) в дефицитный по всем витаминам корм не компен-

сировало недостаточность витамина А в полной мере. Аналогичный вывод был сделан нами ранее на основании более продолжительной (в течение 14 сут) попытки ликвидировать полигиповитаминоз у взрослых крыс повышенной дозой витаминов, составляющей 180% от АУП [2].

При обогащении рациона ПВ наблюдалась сходная прямо пропорциональная зависимость между дозой витамина А и степенью восстановления уровня пальмитата ретинола у крыс с дефицитом витаминов. Примечательно, что на фоне получения пшеничных отрубей у крыс, содержащихся на витаминдефицитном рационе с добавкой физиологической и повышенной дозы витаминов (группы ДО+80% и ДО+200%), содержание пальмитата ретинола в печени было достоверно выше соответственно на 58,4 и 31,8% показателей у крыс, не получавших отруби (группы Д+80% и Д+200%).

Уровень ретинола в плазме крови крыс опытных групп, получавших обычный рацион, также повышался прямо пропорционально с увеличением содержания витамина А в рационе (рис. 5б). Так, концентрация ретинола в плазме крови животных, содержащихся на витаминдефицитном рационе с последующим включением в корм крыс физиологической (группа Д+80%) и повышенной дозы витаминов (группа Д+200%), была не только достоверно в 2,5 и 3,2 раза выше таковой у животных, получавших витаминдефицитный рацион (группа Д), но и превысила в 1,7 и 2,2 раза ($p < 0,05$) значение этого показателя у крыс контрольной группы, оставаясь при этом в пределах физиологической нормы для обеспеченных этим витамином животных [34]. Такое повышение концентрации ретинола в крови у людей обычно имеет место при увеличении потребления этого витамина с дефицитного до физиологического уровня [33].

В то же время концентрация ретинола в плазме крови крыс, получавших недостаточное количество витаминов с последующим его восполнением до адекватного и повышенного содержания (группы ДО+80% и ДО+200%) на фоне ПВ, была меньше в 1,5–1,9 раза ($p < 0,05$), чем у животных, не получавших отруби. Аналогичное достоверное снижение уровня витамина А в плазме крови крыс наблюдалось при добавлении в витаминдефицитный рацион 4,6% пшеничных отрубей [4].

Как видно из рис. 6а, на фоне недостатка витаминов в корме (30% витамина Е от АУП) у крыс независимо от наличия в рационе отрубей уровень α -токоферола был снижен в печени на 40–50% ($p < 0,05$), в плазме крови – на 10–23% ($p < 0,10$) относительно контроля. Повышение количества витамина Е в рационе с 30 до 100% от АУП (группа Д+80%) через 5 сут достоверно увеличило содержание в печени витамина Е в 3,2 раза, даже несколько превысив (на 58%, $p < 0,05$) этот показа-

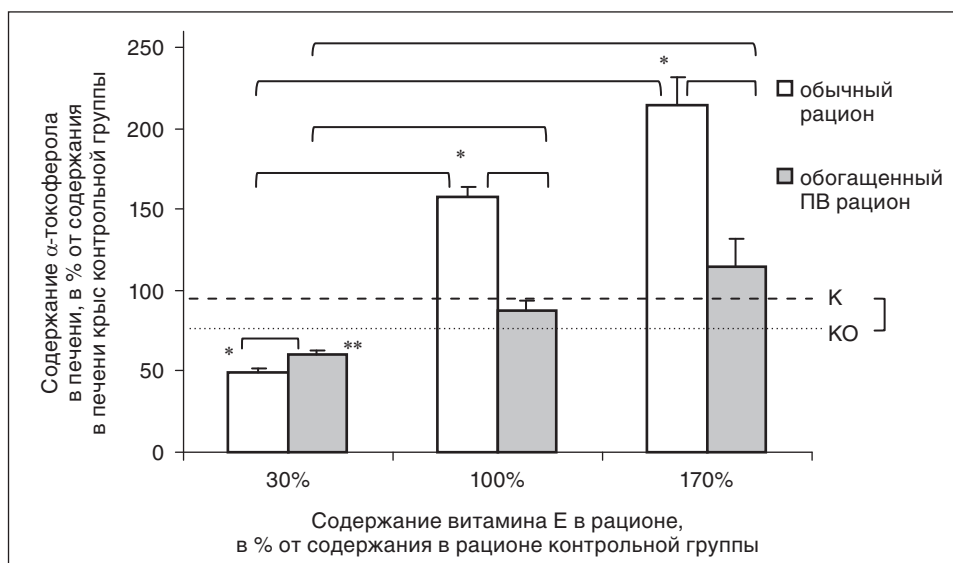
тель у крыс контрольной группы. Таким образом, использование дозы, восполнившей количество витамина Е в корме до адекватного, полностью ликвидировало недостаточность этого витамина.

При включении в рацион крыс с гиповитаминозом дозы витаминов, обеспечившей поступление токоферолов в количестве 170% от АУП (группа Д+200%), происходило выраженное повышение ($p < 0,05$) уровня α -токоферола в печени не только в 4,3 раза относительно показателя крыс, содержащихся на витаминдефицитном рационе (группа Д), но и в 2,1 раза относительно контроля (группа К). При этом достоверные различия между показателями крыс групп Д+80% и Д+200% отсутствовали.

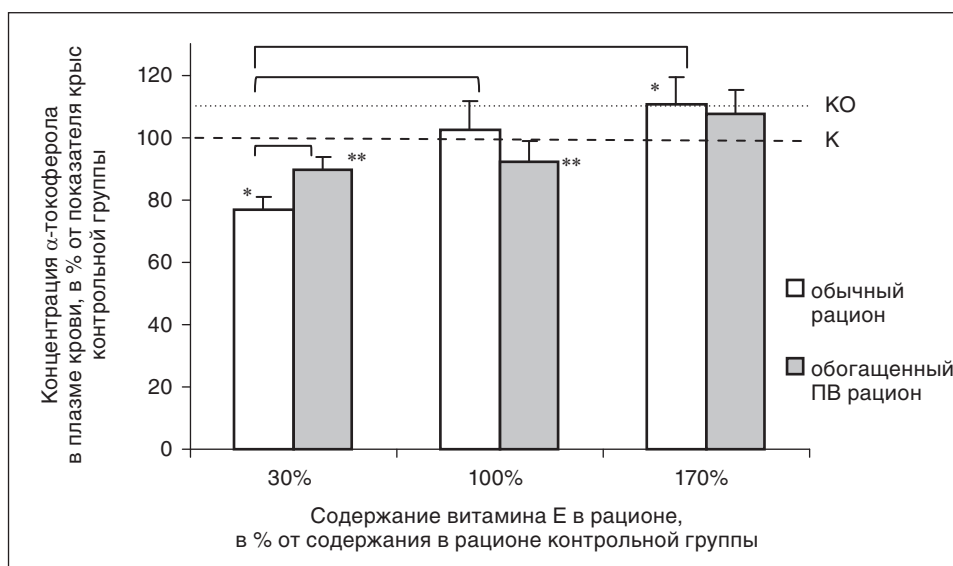
Включение пшеничных отрубей в полноценный рацион (группа КО) сопровождалось незначительным, хотя и достоверным снижением содержания α -токоферола в печени крыс на 16%. У крыс, получавших обе дозы витамина Е, содержание α -токоферола в печени также оказалось сниженным в большей степени – на 45–46% относительно показателей крыс, прошедших стадию полигиповитаминоза, но не получавших отруби. Эффект ПВ на концентрацию α -токоферола в плазме крови не обнаруживался (рис. 6б). Эти результаты согласуются с более ранними наблюдениями, обнаружившими в модельных опытах *in vitro* способность пшеничных отрубей связывать витамин Е в форме α -токоферола ацетата [3], а также ухудшение показателей обеспеченности витамином Е при обогащении рациона пшеничными отрубями в дозах, соответствующих верхнему допустимому уровню потребления [4, 35]. Таким образом, наличие в рационе отрубей затрудняло коррекцию недостаточной обеспеченности витамином Е. Обогащение рациона крыс пищевыми волокнами ухудшало восстановление сниженного статуса витамина Е не только при восполнении недостатка витаминов в рационе до адекватного уровня, но и при использовании повышенной дозы витамина.

Как видно из рис. 7а, уровень МДА в печени и плазме крови крыс, получавших на протяжении 35 сут витаминдефицитный рацион (группы Д и ДО), был достоверно выше на 20–23% и 20–49% по сравнению с соответствующими показателями животных контрольной группы. Это свидетельствовало об усилении процессов перекисного окисления липидов в результате недостаточного поступления с рационом витаминов, в том числе антиоксидантного ряда, что согласуется с ранее полученными результатами [13].

Коррекция развившегося полигиповитаминоза крыс как более низкой, так и повышенной дозами витаминов (группы Д+80%, ДО+80%; Д+200% и ДО+200%) сопровождалась снижением содержания МДА в печени (на 12–17%) до уровня у животных, получавших полноценный рацион (группа К).



а



б

Рис. 6. Влияние пищевых волокон на уровень α -токоферола в печени (а) и в плазме крови (б) крыс, получавших дефицитный по витаминам корм в течение 30 сут (30%) и восполненный в последующие 5 сут до 100 и 170% от содержания витамина Е в рационе контрольной группы животных. За 100% приняты показатели обеспеченности витамином Е животных контрольной группы ($36,1 \pm 1,3$ мкг/г печени и $0,78 \pm 0,03$ мг/дл плазмы крови)

Обогащение рациона ПВ не влияло на интенсивность процессов перекисного окисления липидов в печени крыс независимо от их обеспеченности витаминами.

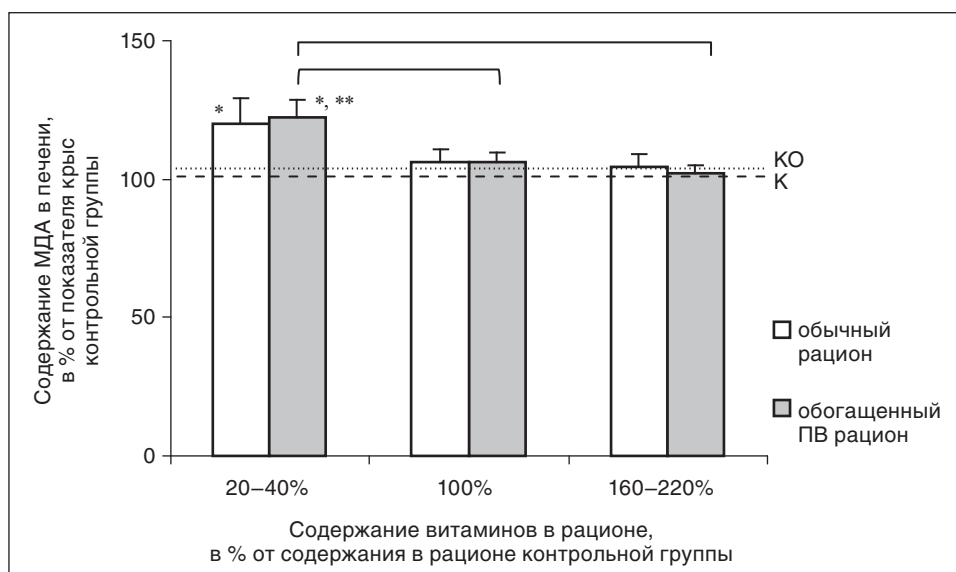
Как видно из рис. 7б, восполнение в течение 5 сут сниженного уровня витаминов в рационе обеими дозами витаминов практически не отражалось на повышенной относительно контроля концентрации МДА в плазме крови крыс, испытывавших дефицит витаминов (группы Д+80% и Д+200%). Обогащение витаминдефицитного

рациона ПВ приводило к снижению этого показателя (на 8–19%, $p < 0,05$) у крыс (группы ДО и ДО+200%), однако при этом он не достигал показателя у животных контрольной группы. Наблюдаемый эффект ПВ может быть связан с наличием собственных антиоксидантных свойств биологически активных компонентов отрубей, таких как фенольных кислот (преимущественно феруловой кислоты – 99–231 мкг/г), токоферолов и каротиноидов [41]. Для нормализации повышенного уровня МДА в печени крыс с полигиповитаминозом ока-

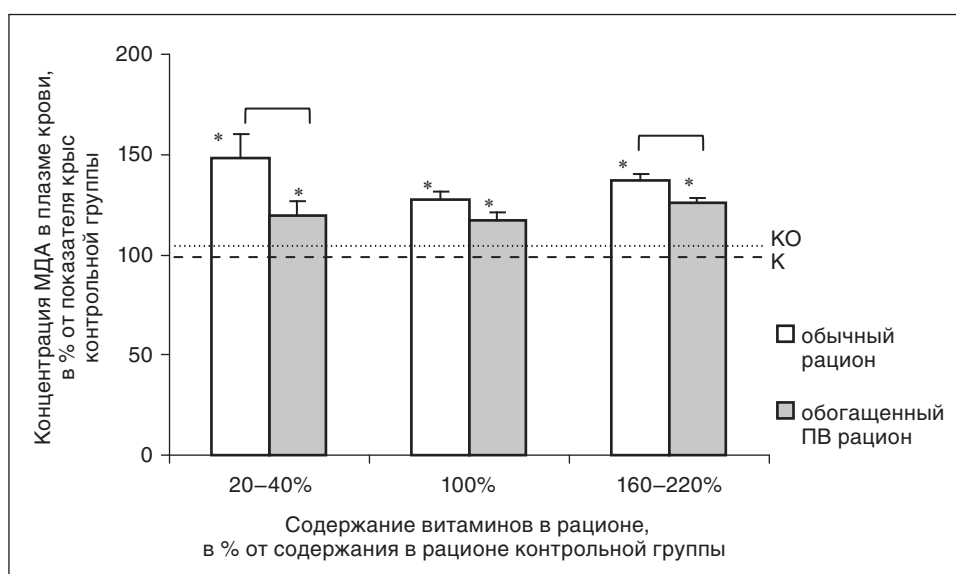
залось достаточным восстановлением содержания витаминов до адекватного уровня, что ассоциируется с улучшением обеспеченности витамином Е.

Таким образом, включение в полноценный по содержанию витаминов рацион ПВ отрубей не влияло на обеспеченность витаминами А, В₁ и В₂, несколько улучшало обеспеченность витамином D и приводило к снижению обеспеченности витамином Е. Дефицит витаминов А, В₁, В₂ за короткий срок не ликвидировался при увеличении содержания витаминов в рационе до АУП. Для

полной коррекции витаминного статуса оправдано использование повышенных доз витаминов. Наличие в рационе отрубей мешало восстановлению уровня витамина Е до нормы при использовании не только восполняющей до адекватного уровня дозы витаминов, но и при его удвоенной дозе. Полученные данные позволяют прогнозировать эффективность витаминно-минеральных комплексов, содержащих различные дозы витаминов, при обогащении рациона пищевыми волокнами.



а



б

Рис. 7. Влияние пищевых волокон на уровень МДА в печени (а) и в плазме крови (б) крыс, получавших дефицитный по витаминам корм в течение 30 сут (20–40%) и восполненный в последующие 5 сут до 100 и 160–220% от содержания витаминов в рационе контрольной группы животных. За 100% приняты показатели животных контрольной группы (120,6±6,1 нмоль/г печени и 4,34±0,21 нмоль/мл плазмы крови)

Сведения об авторах

ФГБУ «НИИ питания» РАМН (Москва):

Бекетова Нина Алексеевна – кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории витаминов и минеральных веществ

E-mail: beketova@ion.ru

Вржесинская Оксана Александровна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории витаминов и минеральных веществ

E-mail: vr.oksana@yandex.ru

Коденцова Вера Митрофановна – доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией витаминов и минеральных веществ

E-mail: kodentsova@ion.ru

Кошелева Ольга Васильевна – научный сотрудник лаборатории витаминов и минеральных веществ

E-mail: kosheleva@ion.ru

Переверзева Ольга Георгиевна – научный сотрудник лаборатории витаминов и минеральных веществ

E-mail: kosheleva@ion.ru

Сокольников Андрей Арнольдович – старший научный сотрудник лаборатории клинической биохимии, иммунологии и аллергологии

E-mail: sa221260@yandex.ru

Аксенов Илья Владимирович – старший научный сотрудник лаборатории энзимологии питания

E-mail: aksenov@ion.ru

Литература

- Байгарин Е.К.* Влияние микрокристаллической целлюлозы и пшеничных отрубей на массу тела крыс, биологическую ценность, усвояемость белка и показатели липидного обмена // *Вопр. питания.* – 2010. – Т. 79, № 2. – С. 28–32.
- Бекетова Н.А., Вржесинская О.А., Коденцова В.М. и др.* Коррекция полигиповитаминоза у крыс различными дозами витаминов на фоне обогащения рациона полиненасыщенными жирными кислотами семейства ω -3 // *Вопр. питания.* – 2013. – Т. 82, № 4. – С. 39–47.
- Бекетова Н.А., Вржесинская О.А., Кошелева О.Г. и др.* Оценка способности некоторых пищевых волокон адсорбировать *in vitro* витамины А, Е, С, В₁ и В₂ // *Вопр. питания.* – 2010. – Т. 79, № 2. – С. 47–53.
- Бекетова Н.А., Коденцова В.М., Вржесинская О.А. и др.* Влияние пшеничных отрубей на обеспеченность организма витаминами (эксперимент на крысах) // *Вопр. питания.* – 2011. – Т. 80, № 6. – С. 35–42.
- Вржесинская О.А., Бекетова Н.А., Коденцова В.М. и др.* Влияние обогащения витаминдефицитного рациона крыс полиненасыщенными жирными кислотами семейства ω -3 на биомаркеры витаминного и антиоксидантного статуса // *Вопр. питания.* – 2013. – Т. 82, № 1. – С. 45–52.
- Вржесинская О.А., Коденцова В.М., Бекетова Н.А. и др.* Экспериментальная модель алиментарного полигиповитаминоза разной степени глубины у крыс // *Вопр. питания.* – 2012. – Т. 81, № 2. – С. 51–56.
- Вржесинская О.А., Коденцова В.М., Спиричев В.Б. и др.* Оценка рибофлавинового статуса организма с помощью различных биохимических методов. // *Вопр. питания.* – 1994. – Т. 63, № 6. – С. 9–12.
- Горгошидзе Л.Ш., Конь И.Я., Кулакова С.Н. и др.* Перекисное окисление липидов в печени крыс при нетяжелых формах недостаточности витамина А // *Вопр. питания.* – 1986. – № 5. – С. 45–50.
- Исаева В.А., Алексеева И.А., Блажевич Н.В. и др.* Экспериментальная недостаточность витамина D при различном соотношении кальция и фосфора в рационе // *Вопр. мед. химии.* – 1979. – № 1. – С. 86–92.
- Каримов Т.К., Ким Б.И., Колесова О.А. и др.* Влияние ретинола, токоферола и аскорбиновой кислоты на метаболизм витаминов при экспериментальной хромовой интоксикации на фоне направленного питания // *Вопр. питания.* – 1988. – № 4. – С. 48–51.
- Коденцова В.М., Вржесинская О.А.* Витаминно-минеральные комплексы: соотношение доза – эффект // *Вопр. питания.* – 2006. – Т. 75, № 1. – С. 30–39.
- Коденцова В.М., Вржесинская О.А.* Витаминно-минеральные комплексы: типы, способы приема, эффективность // *Вопр. питания.* – 2006. – Т. 75, № 5. – С. 34–44.
- Коденцова В.М., Вржесинская О.А., Бекетова Н.А. и др.* Микроэлементный и антиоксидантный статус крыс при полигиповитаминозе // *Вопр. биол. мед. и фармацевт. химии.* – 2013. – № 2. – С. 64–68.
- Коденцова В.М., Вржесинская О.А., Спиричев В.Б.* Изменение обеспеченности витаминами взрослого населения Российской Федерации за период 1987–2009 гг. (к 40-летию лаборатории витаминов и минеральных веществ НИИ питания РАМН) // *Вопр. питания.* – 2010. – Т. 79, № 3. – С. 68–72.
- Мустафина О.К., Трушина Э.Н., Кошелева О.В. и др.* Гематологические показатели крыс, получавших полноценный и дефицитный по витаминам рацион, обогащенный пищевыми волокнами // *Вопр. питания.* – 2013. – Т. 82, № 4. – С. 15–21.
- Поворознюк В.В., Гопкалова И.В., Григорьева Н.В.* Особенности изменений минеральной плотности костной ткани

- у белых крыс линии Вистар в зависимости от возраста и пола // Пробл. старения и долголетия. – 2011. – Т. 20, № 4. – С. 393–401.
17. Рекомендуемые уровни потребления пищевых и биологически активных веществ. Методические рекомендации МР 2.3.1.1915-04. – М., 2004. – 36 с.
 18. Роль пищевых волокон в питании человека / Под ред. В.А. Тутельяна, А.В. Погожевой, В.Г. Высоцкого. – М.: Фонд «Новое тысячелетие», 2008. – 325 с.
 19. Руководство по методам анализа качества и безопасности пищевых продуктов / Под ред. И.М. Скурихина, В.А. Тутельяна. – М.: Брандес-Медицина, 1998. – 340 с.
 20. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Р.У. Хабриева. – 2 изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 2005. – 832 с.
 21. Химический состав российских продуктов питания / Под ред. И.М. Скурихина, В.А. Тутельяна. – М.: ДеЛи принт, 2002. – 235 с.
 22. *Шарафетдинов Х.Х., Плотникова О.А., Цагикян Т.А.* Сравнительная эффективность различных видов пищевых волокон в коррекции углеводного и липидного обмена у больных сахарным диабетом II типа // *Вопр. питания.* – 1993. – № 3. – С. 9–13.
 23. *Якушина Л.М., Бекетова Н.А., Бендер Е.Д. и др.* Использование методов ВЭЖХ для определения витаминов в биологических жидкостях и пищевых продуктах // *Вопр. питания.* – 1993. – № 1. – С. 43–48.
 24. *Aggett P.J., Agostoni C., Axelsson I. et al.* Nondigestible carbohydrates in the diets of infants and young children: a commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* – 2003. – Vol. 36. – P. 329–337.
 25. *Andreollo N.A., Santos E.F., Araujo M.R. et al.* Rat's age versus human's age: what is the relationship? // *Arq. Bras. Cir. Dig.* – 2012. – Vol. 25, N 1. – P. 49–51.
 26. *Chen H.-L., Haack V.S., Janecky C.W. et al.* Mechanisms by which wheat bran and oat bran increase stool weight in humans // *Am. J. Clin. Nutr.* – 1998. – Vol. 68. – P. 711–719.
 27. EFSA. Scientific opinion on the substantiation of health claims related to wheat bran fibre and increase in faecal bulk (ID3066) reduction in intestinal transit time (ID 828, 839, 3067, 4699) and contribution to the maintenance or achievement of a normal body weight (ID 829) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA) // *EFSA J.* – 2010. – Vol. 8, N 10: 1817. <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/1817.pdf>
 28. *Fleming S.E., Lee B.* Growth performance and intestinal transit time of rats fed purified and natural dietary fibers // *J. Nutr.* – 1983. – Vol. 113. – P. 592–601.
 29. *Kahlon T.S., Chow F.I., Hudson C.A. et al.* Influence of wheat bran particle size on vitamins A and E and cholesterol in rats // *Cereal Chem.* – 1989. – Vol. 66, N 2. – P. 103–106.
 30. *Kritchevsky D.* Dietary fibre and cancer // *Eur. J. Cancer Prev.* – 1997. – Vol. 6, N 5. – P. 435–441.
 31. *Leklem J.E., Miller L.T., Perera A.D. et al.* Bioavailability of vitamin B-6 from wheat bread in humans // *J. Nutr.* – 1980. – Vol. 110, N 9. – P. 1819–1828.
 32. *Lindberg A.S., Leklem J.E., Miller L.T.* The effect of wheat bran on the bioavailability of vitamin B₆ in young men // *J. Nutr.* – 1983. – Vol. 113, N 12. – P. 2578–2586.
 33. *McLaren D.S., Kraemer K.* Assessment of vitamin A status // *World Rev. Nutr. Diet.* – 2012. – Vol. 103. – P. 52–64.
 34. *Nzegwu H., Levin R.J.* Vitamin A deficiency and small intestinal secretory function in the rat // *Gut.* – 1991. – Vol. 32, N 11. – P. 1324–1328.
 35. *Oliveros L.B., Domeniconi M.A., Vega V.A. et al.* Vitamin A deficiency modifies lipid metabolism in rat liver // *Br. J. Nutr.* – 2007. – Vol. 97, N 2. – P. 263–272.
 36. *Omaye S.T., Chow F.I.* Lipid-soluble vitamins in blood and liver of rats fed a diet containing hard red spring wheat bran // *J. Food Sci.* – 1986. – Vol. 51, N 4. – P. 1001–1004.
 37. *Riedl J., Linseisen J., Hoffmann J. et al.* Some dietary fibers reduce the absorption of carotenoids in women // *J. Nutr.* – 1999. – Vol. 129, N 12. – P. 2170–2176.
 38. *Sengupta P.* The laboratory rat: relating its age with human's // *Biomed. Int.* – 2011. – Vol. 2, N 2. – P. 81–89.
 39. *Slavin J.* Why whole grains are protective: biological mechanisms // *Proc. Nutr. Soc.* – 2003. – Vol. 62, N 1. – P. 129–134.
 40. *Stevenson L., Phillips F., O'Sullivan K. et al.* Wheat bran: its composition and benefits to health, a European perspective // *Int. J. Food Sci. Nutr.* – 2012. – Vol. 63, N 8. – P. 1001–1013.
 41. *Zhou K., Su L., Yu L.L.* Phytochemicals and antioxidant properties in wheat bran // *J. Agric. Food Chem.* – 2004. – Vol. 52, N 20. – P. 6108–6114.

Для корреспонденции

Павловская Елена Вячеславовна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения педиатрической гастроэнтерологии, гепатологии и диетологии
ФГБУ «НИИ питания» РАМН
Адрес: 115446, г. Москва, Каширское ш., д. 21
Телефон: (499) 794-36-52
E-mail: elena_pavlovsky@rambler.ru

Е.В. Павловская¹, Т.В. Строкова^{1, 2}, А.Г. Сурков¹, А.Р. Богданов^{1, 2}, Г.В. Бородина¹,
Е.Н. Кутырева¹, Т.Б. Сенцова¹

Характеристика пищевого статуса и основного обмена у детей различного возраста с избыточной массой тела и ожирением

Age-dependent characteristics of nutritional status and resting metabolism in overweight and obese children

E.V. Pavlovskaya¹, T.V. Strokov^{1, 2},
A.G. Surkov¹, A.R. Bogdanov^{1, 2},
G.V. Borodina¹, E.N. Kutyreva¹,
T.B. Sentsova¹

¹ ФГБУ «НИИ питания» РАМН, Москва

² ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова», Москва

¹ Research Institute of Nutrition of Russian Academy of Sciences, Moscow

² Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow

Изучены особенности пищевого статуса и основного обмена у детей с избыточной массой тела и ожирением в зависимости от возраста. Обследованы 625 детей в возрасте 2,5–17 лет. Пациенты были разделены на 3 группы: 2,5–7 лет (n=49), 8–12 лет (n=204), 13–17 лет (n=372). Диагноз избыточной массы тела и ожирения устанавливали на основании критериев Центра по контролю и профилактике заболеваний США (CDC): при значении индекса массы тела (ИМТ), соответствующего 85–94-му перцентилю с учетом возраста и пола, регистрировалась избыточная масса тела, при ИМТ ≥95-го перцентиля диагностировалось ожирение. Средний ИМТ у пациентов 1-й группы составил 24,9±0,6 кг/м², что соответствовало 98,1±0,3 перцентиля, 2-й группы – 28,3±0,3 кг/м² (97,8±0,1 перцентиля), 3-й группы – 33,59±0,5 кг/м² (97,4±0,1 перцентиля). Проводили антропометрию, биоимпедансометрию, исследование основного обмена методом непрямой респираторной калориметрии; определяли показатели липидного и углеводного обмена. Доля жировой массы в составе тела у детей изучаемых групп составила 41,3±1,9, 39,8±0,7 и 42,3±0,4%, средний уровень превышения индивидуальной нормы – 163,6±26,2, 113,7±8,3 и 134,9±8,2% соответственно, p>0,05. Частота дислипидемии у детей увеличивалась с возрастом: нарушения липидного обмена выявлены у 28,6, 49,0 и 53,2% детей 1, 2 и 3-й групп соответственно. Средний уровень липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) у детей 1-й и 2-й групп был достоверно выше, а триглицеридов – достоверно ниже, чем у детей 3-й группы. В младшей возрастной группе выявлена корреляция уровня ЛПВП с длительностью грудного вскармливания (r₁=0,94, p<0,05). Гиперинсулинемия была выявлена у 38,8% детей 1-й группы (средний показатель 12,8±1,4 мкМЕ/мл), у 62,2% детей

2-й группы ($21,1 \pm 0,7$ мкМЕ/мл) и у 64,8% детей 3-й группы ($25,1 \pm 0,9$ мкМЕ/мл); увеличение индекса НОМА – соответственно у 36,7% ($4,32 \pm 0,6$), 62,2% ($4,65 \pm 0,17$) и 59,1% ($5,56 \pm 0,21$). У детей 1-й группы обнаружена отрицательная корреляция уровня инсулина и индекса НОМА с длительностью грудного вскармливания ($r_1 = -0,38$ и $-0,37$ соответственно, $p < 0,05$). Частота гиперурикемии возрастала с 13% в 1-й группе до 21,1% во 2-й группе и 44,1% – в старшей возрастной группе. Частота и степень выраженности изменений основного обмена увеличивались с возрастом с тенденцией к смещению соотношения окисления энергоемких субстратов (жиры и углеводы) в сторону замедления окисления углеводов (у 32, 50, 55,1% обследованных) и компенсаторного повышения скорости окисления жиров (у 8, 28,4 и 34,7% соответственно). Скорость окисления жиров между группами достоверно различалась с постепенным повышением данного показателя с возрастом ($48,38 \pm 7,14$, $54,29 \pm 3,06$ и $78,43 \pm 2,89$ г/сут у детей соответственно 1, 2 и 3-й групп, $p < 0,001$). Средняя скорость окисления углеводов у детей 3-й группы была достоверно ниже средних значений нормы ($p < 0,01$). Средний показатель суточных энергозатрат покоя был достоверно ниже нормы у детей 2-й и 3-й групп.

Ключевые слова: дети, ожирение, избыточная масса тела, основной обмен

The age-dependent nutritional status and resting metabolism in overweight and obese children have been examined. The study included 625 children of 2,5–17 years old. Patients were divided into three groups: 1st – 2,5–7 years old (n=49), 2nd – 8–12 years old (n=204), 3rd – 13–17 years old (n=372). The diagnosis of overweight and obesity was based on CDC criteria: children with 85–94 BMI percentile according to age and gender had overweight, BMI ≥ 95 percentile – obesity. Anthropometry, bioelectric impedance analysis and indirect respiratory calorimetry were performed; lipid and carbohydrate parameters were measured. The fat mass percentages in children of studied groups were $41,3 \pm 1,9$, $39,8 \pm 0,7$ and $42,3 \pm 0,4\%$, the mean percent of fat mass excess – $163,6 \pm 26,2$, $113,7 \pm 8,3$ and $134,9 \pm 8,2\%$ respectively, $p > 0,05$. Prevalence of dyslipidemia in children increased with age: lipid metabolism disorders were revealed in 28,6, 49,0 and 53,2% children of the 1st, 2nd and 3rd groups respectively. The mean HDL level in the 1st and 2nd groups was significantly higher, and triglycerides – lower than in the 3rd group. The correlation of HDL level and breastfeeding duration ($r_1 = 0,94$, $p < 0,05$) was found in the 1st group of children. Increased insulin level was revealed in 38,8% children in the 1st group (mean $12,8 \pm 1,4$ μ IU/ml), 62,2% children in the 2nd group ($21,1 \pm 0,7$ μ IU/ml) and 64,8% children in the 3rd group ($25,1 \pm 0,9$ μ IU/ml); increased HOMA – in 36,7% ($4,32 \pm 0,6$), 62,2% ($4,65 \pm 0,17$) and 59,1% ($5,56 \pm 0,21$) respectively. The negative correlation of insulin and HOMA level with breastfeeding duration ($r_1 = -0,38$ and $-0,37$, respectively, $p < 0,05$) was found in the 1st group of children. Prevalence of hyperuricemia increased from 13% in the 1st group to 21,1% in the 2nd and 44,1% in the 3rd group. Prevalence and degree of resting metabolism changes increased with age and had tendency to the shift of proportion of energy-intensive substrates (fats and carbohydrates) to deceleration of carbohydrate oxidation (in 32, 50, 55,1% of children) and compensatory fat oxidation acceleration (8, 28,4 and 34,7% respectively). Mean fat oxidation rate levels significantly differed between groups and increased with age ($48,38 \pm 7,14$, $54,29 \pm 3,06$ and $78,43 \pm 2,89$ g/day in children of the 1st, 2nd and 3rd groups respectively, $p < 0,001$). The mean level of carbohydrate oxidation rate in the 3rd group of children was lower than normal value ($p < 0,01$). Resting energy expenditure was lower in the 2nd and 3rd groups of children.

Key words: children, obesity, overweight, resting metabolism

Увеличение распространенности ожирения среди детей является одной из важнейших проблем современного здравоохранения. Согласно прогнозам Европейской ассоциации по изучению ожирения, к 2030 г. избыточную массу тела будет иметь треть населения планеты (3,3 млрд человек), из них ожирением будут страдать 1,1 млрд. По оценке ВОЗ, в 2011 г. в мире избыточную массу тела и ожирение имели более 40 млн детей в возрасте до 5 лет [13]. Распространенность избыточной массы тела и ожирения у детей в разных регионах России колеблется от 5,5 до 11,8% [6, 8].

Критическими периодами для возникновения ожирения являются дошкольный и подростковый возраст. У детей до 7 лет данная проблема представляется особенно актуальной в связи с недостаточной выявляемостью, а также стереотипным мнением, согласно которому избыточный вес

у ребенка ассоциируется с его здоровьем. Родители детей с избытком массы тела не воспринимают это состояние как отклонение от нормы, особенно в регионах с высокой распространенностью детского ожирения [11].

Избыточная масса тела, появившаяся до 9 лет жизни и прогрессирующая в период пубертата, определяет в дальнейшем развитие морбидного варианта заболевания [индекс массы тела (ИМТ) > 41 кг/м²], тогда как избыточная масса тела и ожирение, появляющиеся после 18-летнего возраста, характеризуются ИМТ до 35 кг/м² [10]. В подростковом возрасте увеличивается распространенность нарушений пищевого поведения, определяющих развитие и прогрессирование ожирения: частота выявления данных поведенческих расстройств превышает 40% [20]. Для ожирения, возникающего в детском и подростковом воз-

расте, характерно прогрессирующее течение [19]. Уровень физической активности детей оказывает минимальное воздействие на естественное течение ожирения [16]. Нарушения липидного обмена и артериальная гипертензия, возникающие на фоне ожирения у детей, сохраняются в дальнейшие десятилетия жизни [24].

Одним из оснований для прогрессирующего увеличения массы тела являются индивидуальные особенности обмена энергии и макронутриентов вследствие генетических причин или неблагоприятных воздействий среды. Оптимальным методом оценки уровня основного обмена в условиях стационара считается непрямая респираторная калориметрия. Этот метод обладает высокой точностью и позволяет определить уровень базовых энергозатрат и индивидуальную скорость окисления белков, жиров и углеводов.

К настоящему времени в мире проведены единичные исследования, посвященные состоянию обмена энергии и макронутриентов при ожирении у детей. Известно, что ожирение сопровождается повышением абсолютных показателей суточных энергозатрат, хотя относительное значение данного показателя по сравнению с возрастными нормами часто оказывается сниженным [36]. Низкая скорость окисления жиров (СОЖ) считается одним из ключевых патогенетических факторов, объясняющих избыточный набор массы тела, тогда как сниженная скорость окисления углеводов (СОУ) может быть обусловлена истощением депо гликогена в печени в связи с нерациональным питанием [18].

Немногочисленные отечественные исследования посвящены оценке показателей метабологаммы при различных заболеваниях у детей и взрослых. Были изучены особенности метаболического статуса у пациентов с ишемической болезнью сердца, метаболическим синдромом, сердечно-сосудистыми заболеваниями на фоне ожирения [1, 2, 4].

На сегодняшний день единственным эффективным методом коррекции избыточной массы тела и ожирения является изменение образа жизни с повышением уровня физической активности и изменением рациона питания. Персонализированное диетологическое вмешательство на основании индивидуальных метаболических показателей является безопасным методом лечения ожирения и его осложнений.

Цель исследования – изучить особенности пищевого статуса и показатели основного обмена у детей с избыточной массой тела и ожирением в зависимости от возраста.

Материал и методы

В отделении педиатрической гастроэнтерологии, гепатологии и диетологии НИИ питания РАМН

были обследованы 625 детей с избыточной массой тела и ожирением в возрасте от 2,5 до 17 лет (в среднем $12,3 \pm 0,1$ года). В зависимости от возраста пациенты были разделены на 3 группы: 2,5–7 лет ($n=49$), 8–12 лет ($n=204$), 13–17 лет ($n=372$). Средний возраст детей в 1-й группе составил $6,2 \pm 0,2$ года, во 2-й группе – $9,9 \pm 0,1$ года, в 3-й группе – $14,1 \pm 0,1$ года. Доля мальчиков среди пациентов обследованных групп составила соответственно 38,8, 42,2 и 40,3%.

Для диагностики избыточной массы тела и ожирения были использованы критерии Центра по контролю и профилактике заболеваний США (CDC), согласно которым ИМТ при избыточной массе тела соответствует 85–94-му перцентилю с учетом пола и возраста пациентов, ИМТ при ожирении ≥ 95 -го перцентиля.

Первые признаки избытка массы тела у детей младшей возрастной группы, по мнению родителей, появились в $3,1 \pm 0,2$ года, у детей 7–11 лет – в $4,9 \pm 0,1$, у подростков 13–17 лет – в $6,8 \pm 0,2$ лет ($p_{1-2} < 0,01$; p_{1-3} и $p_{2-3} < 0,001$). Средний стаж заболевания к моменту обследования составил $3,1 \pm 0,2$, $4,9 \pm 0,1$ и $7,2 \pm 0,2$ лет ($p < 0,01$ между всеми группами).

У многих детей ожирение сопровождалось характерной сопутствующей патологией и осложнениями. Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) была диагностирована у 7 (14,3%) детей 1-й группы, у 3 из них – на стадии неалкогольного стеатогепатита (НАСГ). Во 2-й группе НАЖБП была выявлена у 65 (31,9%) детей, из них НАСГ – у 26. У подростков 13–17 лет НАЖБП была обнаружена в 48,9% случаев ($n=182$), в том числе на стадии НАСГ – у 51 пациентов. Дислипидемия выявлена у 28,6, 49,0 и 53,2%, нарушение толерантности к глюкозе – у 12,2, 16,7 и 18,5% соответственно. Артериальная гипертензия выявлена у 1 ребенка в 1-й группе, у 21 (10,3%) ребенка во 2-й группе и у 80 (21,5%) детей в 3-й группе. Отмечена высокая частота патологии желудочно-кишечного тракта у обследованных детей: дисфункция билиарного тракта была выявлена у 75,5, 73,0 и 69,1% в обследуемых группах, хронический гастродуоденит – у 8,2, 8,8 и 17,7% пациентов. Среди детей старших возрастных групп отмечались также гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь (3,4 и 8,1% во 2-й и 3-й группах соответственно, желчнокаменная болезнь (1 и 3,2%). Патология щитовидной железы (субклинический гипотиреоз, йододефицитное состояние) была диагностирована у 12,2, 20,0 и 19,3% детей обследованных групп соответственно.

Метаболический синдром, в соответствии с критериями Международной федерации диабета (IDF, 2007), может быть диагностирован у детей начиная с 10-летнего возраста при наличии абдоминального ожирения и 2 дополнительных критериев, к которым относятся повышение

уровня триглицеридов или глюкозы, снижение концентрации липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), артериальная гипертензия. Во 2-й группе среди детей соответствующей возрастной категории частота выявления метаболического синдрома составила 18,2%, в 3-й группе – 23,9%.

Оценка пищевого статуса включала исследование антропометрических параметров (измерение массы тела, роста, длины окружности живота – ОЖ и бедер – ОБ, определение ИМТ по стандартной формуле – вычисление ИМТ в перцентилях проводили с помощью перцентильных таблиц CDC 2000 [25] – и перцентильного распределения величины ОЖ [14]), оценку состава тела и метабологаммы [9].

Исследование состава тела проводили методом биоимпедансометрии на стационарном анализаторе состава тела «InBody 520» («Biospace Co. Ltd.», Корея). Определяли абсолютное и относительное количество жировой массы, тощую массу тела, массу скелетной мускулатуры, общее содержание воды в организме.

Основной обмен определяли с помощью стационарного метабологафа «MetaMax 3B» («Cortex», США) методом непрямой респираторной калориметрии по стандартной методике. Исследование метабологаммы включало определение энергозатрат покоя и скорости расщепления макронутриентов (белка, жиров, углеводов). Данное исследование проведено у всех детей старших возрастных групп и 25 пациентов 1-й группы (51%), что было связано с техническими возрастными ограничениями, требующими от пациента четкого выполнения инструкций врача в процессе обследования.

Лабораторные исследования включали биохимический анализ крови, определение уровня инсулина и С-пептида, стандартный оральный глюкозотолерантный тест. Инсулинорезистентность регистрировали при показателе индекса НОМА $\geq 2,77$.

Обработку полученных результатов исследования проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0 («StatSoft Inc.», США). Для анализа полученных данных определяли средние значения признака (M), стандартные ошибки среднего (m). Достоверность различий оценивали с помощью критерия Стьюдента (t) для независимых и связанных выборок. Различия полученных результатов расценивали как статистически значимые при $p < 0,05$. Для оценки степени корреляции использовали метод Спирмена, корреляцию считали достоверной при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При анализе генеалогического анамнеза ожирение у близких родственников детей 1-й группы

выявлено в 83,7% случаев, 2-й группы – в 69,6%, 3-й группы – в 73,1%; артериальная гипертензия – в 53,2, 53,4 и 54,0%, сахарный диабет типа 2 – в 51,0, 40,2 и 35,2%, ишемическая болезнь сердца – в 12,2, 16,7 и 12,4%, патология щитовидной железы – в 18,4, 9,8 и 11,3%, желчнокаменная болезнь – в 16,3, 11,3 и 8,1% соответственно. Таким образом, семейный метаболический портрет у детей всех групп был сходным, хотя у детей 1-й группы степень наследственной отягощенности по большинству перечисленных заболеваний была несколько выше.

Аппетит расценивался родителями как избыточный у 55,1% детей младшей возрастной группы, у 63,2% детей 8–11 лет и у 62,4% подростков в возрасте 13 лет и старше. У обследованных детей отмечались разнообразные жалобы неспецифического характера, включавшие (у детей 1, 2 и 3-й групп соответственно): боли в животе (22,4, 18,6 и 9,7%), головные боли (10,2, 28,9 и 35,2%), одышку (0, 9,8 и 13,7%), жажду (0, 9,8 и 11,8%), утомляемость и плохую переносимость физической нагрузки (14,3, 9,3 и 9,1%), боль в ногах при ходьбе (0, 3,9 и 3,5%). Нарушения пищевого поведения по типу гиперфагии выявлены у 22,4% детей 1-й группы, 27,0% – 2-й группы и 34,1% – 3-й группы.

Анализ антропометрических данных показал, что большинство обследованных детей имели ИМТ, соответствующий критериям ожирения. Частота избыточной массы тела в 1-й группе детей выявлена у 2 (4,1%), во 2-й группе – у 11 (5,4%), в 3-й группе – у 37 (9,9%) пациентов. Частота выраженного ожирения, при котором показатель ИМТ превышал значение 99-го перцентиля, у детей 1, 2 и 3-й групп составляла соответственно 67,3, 50 и 43,8%. Показатели антропометрических данных у детей обследованных групп представлены в табл. 1.

Частота абдоминального ожирения, регистрируемого при величине ОЖ, превышающей 90-й перцентиль для конкретного возраста и пола, у детей 1, 2 и 3-й групп составила соответственно 71,4, 95,1 и 96,5%.

При анализе показателей состава тела было выявлено повышение количества жировой массы у всех детей. Процентное содержание жировой массы у обследованных детей составило $41,3 \pm 1,9$, $39,8 \pm 0,7$ и $42,3 \pm 0,4\%$, уровень превышения индивидуальной нормы – $163,6 \pm 26,2\%$ (17,4–408,9%), $113,7 \pm 8,3\%$ (2,5–612,8%) и $134,9 \pm 8,2\%$ (5,8–485,0%) соответственно, межгрупповые различия недостоверны.

Содержание воды в организме находилось в пределах нормы у большинства детей. Превышение возрастной нормы общей жидкости, свидетельствующее о задержке жидкости в организме,

Таблица 1. Антропометрические показатели у детей с избыточной массой тела и ожирением различного возраста ($M \pm m$)

Показатель	1-я группа (n=49)	2-я группа (n=204)	3-я группа (n=372)
Масса тела, кг	40,9±1,5 ¹	64,9±1,0 ²	93,3±1,1 ³
ИМТ, кг/м ²	24,9±0,6 ¹	28,3±0,3 ²	33,59±0,5 ³
Перцентиль ИМТ (CDC)	98,1±0,3 ¹	97,8±0,1 ²	97,4±0,1 ³
Z-score ИМТ (CDC)	2,4±0,1 ¹	2,2±0,02	2,4±0,3
ОТ, см	75,9±1,9 ¹	88,5±0,8 ²	100,2±0,82 ³
ОБ, см	83,4±1,8 ¹	96,5±0,9 ²	112,5±0,8 ³

Примечание. ¹ – достоверность отличий между показателями 1-й и 2-й групп ($p_{1-2} < 0,05$); ² – достоверность отличий между показателями 2-й и 3-й групп ($p_{2-3} < 0,05$); ³ – достоверность отличий между показателями 1-й и 3-й групп ($p_{1-3} < 0,05$).

Таблица 2. Биохимические показатели липидного и углеводного обмена у детей с избыточной массой тела и ожирением различного возраста ($M \pm m$)

Показатель	1-я группа (n=49)	2-я группа (n=204)	3-я группа (n=372)	p_{1-2}	p_{2-3}	p_{1-3}	Норма
Общий холестерин, ммоль/л	4,45±0,12	4,65±0,07	4,52±0,05	>0,05	>0,05	>0,05	До 5,2
ЛПВП, ммоль/л	1,34±0,04	1,22±0,02	1,15±0,02	>0,05	<0,05	<0,01	1,03–2,3
ЛПНП, ммоль/л	2,78±0,11	3,00±0,07	2,87±0,05	>0,05	>0,05	>0,05	До 3,8
Триглицериды, ммоль/л	0,82±0,05	1,06±0,04	1,23±0,03	<0,05	<0,05	<0,01	До 1,7
Глюкоза, ммоль/л	4,64±0,09	4,8±0,03	4,84±0,03	>0,05	>0,05	>0,05	3,9–5,6
Инсулин, мкМЕ/мл	12,76±1,44	17,95±0,69	21,29±0,81	<0,01	<0,01	<0,01	До 12,5
Индекс НОМА	2,73±0,33	3,88±0,16	4,64±0,18	<0,05	<0,01	<0,05	До 2,77

было обнаружено у 3 (6,1%) детей 1-й группы, 17 (8,3%) – 2-й группы и 49 (13,2%) – 3-й группы.

Масса скелетной мускулатуры у большинства обследованных соответствовала возрастной норме. У ряда пациентов было зарегистрировано повышение уровня мышечной массы по сравнению с индивидуальной возрастной нормой, что являлось благоприятным прогностическим признаком в отношении снижения массы тела. Повышение количества мышечной массы выявлено у 6 (12,2%) детей 1-й группы (на 2–11%), у 21 (10,3%) ребенка 2-й группы (на 1–37%) и у 53 (14,2%) детей 3-й группы (на 1,9–35,2%). Особого внимания требует выявленное соответственно у 1, 9 и 5 пациентов обследованных групп снижение доли мышечной массы, поскольку у лиц старшего возраста ожирение, характеризующееся снижением массы скелетной мускулатуры (саркопеническое ожирение), сопровождается неблагоприятным биохимическим профилем и повышенным риском сердечно-сосудистых осложнений [35]. У детей данная проблема требует изучения.

Патологические изменения липидного профиля сыворотки крови [гиперхолестеринемия, повышение уровня липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), триглицеридов, снижение уровня ЛПВП] выявляются у значительной части детей с ожирением; дислипидемия является патогенетическим фактором большинства осложнений ожирения.

Средние показатели липидограммы соответствовали нормальным значениям (табл. 2). Гиперхолестеринемия (5,3–9,5 ммоль/л) имела место у 8 (16,3%) детей 1-й группы, 51 (25%) – 2-й группы и 70 (18,8%) – 3-й группы. Повышение уровня ЛПНП (3,9–6,8 ммоль/л) выявлено у 2 (4,1%) детей младшей возрастной группы, 30 (14,7%) детей 8–11 лет и 33 (8,9%) подростков 13–17 лет. Снижение уровня ЛПВП (0,6–1,0 ммоль/л) отмечалось соответственно у 12,2, 25 и 33,6%, гипертриглицеридемия (1,8–4,9 ммоль/л) – у 4,1, 9,3 и 14,8% пациентов. В целом при ожирении возраст детей с дислипидемией оказался достоверно выше, чем у детей, липидный профиль которых оставался в пределах нормы (12,6±2,7 vs 11,8±2,8 лет, $p=0,001$).

Средний уровень ЛПВП у детей 1-й и 2-й групп был достоверно выше, а триглицеридов – достоверно ниже, чем у детей 3-й группы, хотя средние показатели не выходили за пределы возрастной нормы.

В младшей возрастной группе выявлена выраженная корреляция уровня ЛПВП с длительностью грудного вскармливания ($r=0,94$, $p<0,05$): чем дольше продолжалось грудное вскармливание, тем выше был показатель ЛПВП. У пациентов старших групп такой взаимосвязи не обнаружено. В старших группах пациентов выявлена положительная корреляция ($p<0,05$) уровня триглицеридов сыворотки с рядом антропометрических показателей:

массой тела (3-я группа, $r_3=0,35$), окружностью живота (3-я группа, $r_3=0,36$), Z-score ИМТ ($r_2=0,4$ и $r_3=0,38$ во 2-й и в 3-й группах). У детей 1-й группы данная закономерность не обнаружена.

У детей 2-й группы концентрация ЛПВП имела отрицательную корреляцию с длительностью заболевания ($r_2=-0,37$, $p<0,05$) и уровнем инсулина крови ($r_2=-0,37$, $p<0,05$). В старшей возрастной группе показана отрицательная корреляция ($p<0,05$) уровня ЛПВП со многими показателями пищевого статуса: массой тела ($r_3=-0,47$), ИМТ ($r_3=-0,4$), Z-score ИМТ ($r_3=-0,51$), длиной ОЖ ($r_3=-0,45$) и ОБ ($r_3=-0,46$), жировой массой ($r_3=-0,46$).

Уровень ЛПВП является одним из критериев метаболического синдрома наряду с абдоминальным ожирением, гипертриглицеридемией, повышением гликемии натощак и артериальной гипертензией. Выявленная связь этих показателей объясняется единым патогенетическим механизмом нарушения липидного обмена, в том числе на стадии избыточной массы тела, определяющим высокий риск развития сердечно-сосудистых заболеваний у детей с тенденцией к снижению ЛПВП и/или увеличением длины ОЖ [27].

Нарушение углеводного обмена с формированием инсулинорезистентности развивается у большинства лиц с ожирением на различных этапах заболевания. Инсулинорезистентность является центральным патогенетическим механизмом развития большинства осложнений ожирения. Как показали наши данные, при проведении стандартного глюкозотолерантного теста нарушение толерантности к глюкозе было выявлено у 14,3, 18,1 и 18,3% детей, повышение гликемии натощак – у 4,1, 4,4 и 5,9% детей 1, 2 и 3-й групп соответственно ($p>0,05$). При этом повышение уровня инсулина натощак выявлено у 38,8% детей 1-й группы ($n=19$, средний показатель $12,8\pm 1,4$ мкМЕ/мл), 62,2% детей 2-й группы ($n=127$, $21,1\pm 0,7$ мкМЕ/мл) и 64,8% детей 3-й группы ($n=241$, $25,1\pm 0,9$ мкМЕ/мл); уве-

личение индекса НОМА – у 36,7% ($n=18$, $4,32\pm 0,6$), 62,2% ($n=127$, $4,65\pm 0,17$) и 59,1% ($n=220$, $5,56\pm 0,21$) соответственно. Средние значения показателей углеводного обмена представлены в табл. 2.

У детей младшей возрастной группы уровни глюкозы и инсулина, а также индекс НОМА коррелировали с количеством жировой массы тела ($r_1=0,47$, $0,56$ и $0,54$ соответственно, $p<0,05$). Кроме того, обнаружена отрицательная корреляция содержания инсулина и индекса НОМА с продолжительностью грудного вскармливания у детей 1-й группы ($r_1=-0,38$ и $-0,37$ соответственно, $p<0,05$). В группе детей 8–12 лет уровни инсулина и индекса НОМА достоверно коррелировали с массой тела при рождении ($r_2=-0,46$ и $0,48$), длительностью заболевания ($r_2=0,37$ для обоих показателей), уровнем триглицеридов сыворотки ($r_2=0,40$ и $0,37$) и уровнем энерготрат покоя ($r_2=0,44$ и $0,46$). У детей старшей возрастной группы достоверной корреляции параметров углеводного обмена с изучаемыми показателями не выявлено.

Таким образом, у детей с избыточной массой тела и ожирением всех возрастных групп часто выявляются нарушения углеводного обмена с формированием инсулинорезистентности, достигающей максимальных значений в подростковом возрасте.

Гиперурикемия у взрослых относится к дополнительным критериям диагностики метаболического синдрома. Это нарушение пуринового обмена часто сочетается с гиперхолестеринемией и ожирением. Показано, что концентрация мочевой кислоты в крови достоверно коррелирует со степенью выраженности абдоминального ожирения и триглицеридемией у взрослых [3, 5]. Нарушение обмена мочевой кислоты у обследованных детей прогрессировало с возрастом: частота гиперурикемии возрастала с 13% в 1-й группе до 21,1% во 2-й группе и 44,1% – в старшей возрастной группе. Уровень мочевой кислоты во 2-й и 3-й группах детей коррелировал ($p<0,05$) с массой тела

Таблица 3. Показатели основного обмена у детей с избыточной массой тела и ожирением различного возраста

Показатель	Дети 3–7 лет ($n=25$)	Дети 8–11 лет ($n=204$)	Дети 12–17 лет ($n=372$)	p_{1-2}	p_{2-3}	p_{1-3}
Энерготраты покоя, ккал/сут ($M\pm m$)	1130 ± 45	1344 ± 20	1642 ± 20	<0,001	<0,0001	<0,0001
Снижение энерготрат покоя, %	52	50,9	51,1	>0,05	>0,05	>0,05
Скорость окисления жиров, г/сут ($M\pm m$)	$48,38\pm 7,14$	$54,29\pm 3,06$	$78,43\pm 2,89$	<0,001	<0,0001	<0,0001
Снижение СОЖ, %	48	29,9	26,3	>0,05	>0,05	<0,05
Повышение СОЖ, %	8	28,4	34,7	<0,05	>0,05	<0,01
Скорость окисления углеводов, г/сут ($M\pm m$)	$216,53\pm 31,42$	$172,94\pm 7,56$	$188,78\pm 6,2$	>0,05	>0,05	>0,05
Снижение СОУ, %	32	50,0	55,1	>0,05	>0,05	<0,05
Повышение СОУ, %	40	17,1	14,2	<0,01	>0,05	<0,001
Скорость окисления белка, г/сут ($M\pm m$)	$40,33\pm 3,94$	$48,18\pm 1,45$	$51,97\pm 1,18$	>0,05	<0,05	<0,05
Снижение СОБ, %	60	59,8	67,2	>0,05	>0,05	>0,05
Повышение СОБ, %	4	9,8	7,0	>0,05	>0,05	>0,05

($r_2=0,51$ и $r_3=0,43$), ОЖ ($r_2=0,45$ и $r_3=0,40$), тощей массой тела ($r_2=0,59$ и $r_3=0,39$) и массой скелетной мускулатуры ($r_2=0,62$ и $r_3=0,46$).

При исследовании основного обмена методом непрямой респираторной калориметрии нами была выявлена высокая частота различных отклонений изучаемых показателей от индивидуальных нормативов, определявшихся в соответствии с возрастом и полом пациентов. Сравнительные показатели энерготрат покоя и скорости окисления основных нутриентов и частота отклонения их от нормы у детей исследованных групп представлены в табл. 3.

Как показали наши данные, снижение уровня энерготрат покоя по сравнению с возрастной нормой было отмечено у половины обследованных (13, 106 и 190 детей из 1, 2 и 3-й групп), повышение – у 7 (3,4%) детей 2-й группы и 11 (2,9%) – 3-й группы, у остальных пациентов данный показатель соответствовал возрастной норме. Уровень энерготрат покоя у детей младшей возрастной группы был снижен в среднем на $19,4 \pm 3,5\%$ (2–39%), у детей 8–12 лет – на $19,1 \pm 1,3\%$ (1–53%), 13–17 лет – на $19,0 \pm 0,9\%$ (1–53%). Средний показатель суточных энерготрат был достоверно ниже средней индивидуальной нормы у детей 2-й и 3-й групп ($p < 0,05$). Уровень энерготрат покоя у пациентов 1-й группы коррелировал с возрастом ($r_1=0,49$) и ростом детей ($r_1=0,49$), $p < 0,05$; зависимости энерготрат покоя от массы тела в данной группе детей не было выявлено. Во 2-й и 3-й группах детей энерготраты покоя коррелировали с антропометрическими показателями: ростом ($r_2=0,58$ и $r_3=0,66$), массой тела ($r_2=0,55$ и $r_3=0,65$), ИМТ ($r_2=0,40$ и $r_3=0,50$), длиной ОЖ ($r_2=0,49$ и $r_3=0,47$) и ОБ ($r_2=0,48$ и $r_3=0,52$), показателями состава тела: жировой массой ($r_2=0,43$ и $r_3=0,49$), тощей массой ($r_2=0,60$ и $r_3=0,73$), массой скелетной мускулатуры ($r_2=0,56$ и $r_3=0,67$ соответственно, $p < 0,05$). Выявлена отрицательная корреляция показателя энерготрат покоя с уровнем ЛПВП ($r_2=-0,44$ и $r_3=-0,31$) во 2-й и 3-й группах. Положительная достоверная корреляция показателя энерготрат покоя с уровнем инсулина ($r_2=0,46$) и индексом НОМА ($r_2=0,48$) имела место только во 2-й группе обследованных детей.

Нормальный уровень СОЖ был обнаружен у 11 (44%) детей 1-й группы, 85 (41,7%) – 2-й группы и 145 (39%) – 3-й группы. Снижение показателей СОЖ по сравнению с индивидуальной возрастной нормой выявлено у 12 (48%), 61 (29,9%) и 98 (26,3%) пациентов, повышение – у 2 (8%), 58 (28,4%) и 129 (34,7%) пациентов 1, 2 и 3-й групп соответственно. Средние значения СОЖ между группами достоверно различались с постепенным повышением данного показателя с возрастом (см. табл. 3). У детей младшей возрастной группы СОЖ имела отрицательную корреляцию с массой тела

при рождении ($r_1=-0,53$, $p < 0,05$). Во 2-й группе детей данный показатель достоверно коррелировал с ОБ ($r_2=0,41$). В 3-й группе достоверная корреляция слабой степени была выявлена с рядом показателей пищевого статуса: ростом и массой тела ($r_3=0,38$), длиной ОБ ($r_3=0,32$), тощей массой тела ($r_3=0,46$), массой скелетной мускулатуры ($r_3=0,34$).

Показатель СОУ, соответствующий возрастной норме, был получен у 7, 67 и 114, сниженный – у 8, 102 и 205, повышенный – у 10, 35 и 53 детей 1, 2 и 3-й групп, соответственно (см. табл. 3). Средний показатель СОУ у детей 3-й группы был достоверно ниже средних значений нормы ($p < 0,01$). У детей 1-й группы показана положительная корреляция СОУ с массой тела детей при рождении ($r_1=0,60$), у детей 2-й группы – отрицательная корреляция с уровнем холестерина сыворотки ($r_2=-0,39$, $p < 0,05$).

Как показали наши данные, по мере увеличения возраста пациентов и стажа заболевания соотношение окисления энергоемких субстратов (жиры и углеводы) смещается в сторону замедления окисления углеводов и компенсаторного повышения скорости окисления жиров. Это, с одной стороны, может быть отражением высокого потребления жиров с пищей, а с другой стороны, может отражать нарушение метаболизма углеводов.

Снижение СОБ было выявлено примерно у 60% детей (см. табл. 3). Снижение данного показателя в детском возрасте указывает на активные процессы роста и благоприятный прогноз по снижению жировой массы тела при условии повышения физической активности. Нормальная СОБ, указывающая на стабильное состояние белкового обмена, была обнаружена у 9 (36%) детей младшей возрастной группы, 62 (30,4%) детей 8–12 лет и 96 (25,8%) подростков 13–17 лет. У 4–9,8% детей показатель СОБ был повышен. Увеличение СОБ характерно для пациентов, склонных к снижению тощей массы тела в процессе снижения веса, и требует особого внимания к количественному и качественному составу белкового компонента рациона [1, 2, 4].

Представления о роли уровня энерготрат покоя в развитии ожирения у детей противоречивы. В проспективном исследовании EarlyBird, выполненном J. Hosking и соавт., не выявлено взаимосвязи между энерготратами покоя и изменениями массы тела на протяжении 7-летнего периода наблюдения [23].

В то же время снижение уровня энерготрат покоя выявлено у подростков по сравнению с детьми препубертатного возраста. Уровень энерготрат покоя зависит от многих факторов. Низкая скорость энерготрат может быть врожденной: уровень энерготрат покоя обладает умеренным уровнем наследуемости, независимо от состава тела, пола, возраста, функции щитовидной железы и факто-

ров кардиометаболического риска [12]. У взрослых снижение СОЖ является одним из предикторов избыточного увеличения массы тела [32, 38]. В целом к настоящему времени проведены единичные исследования метаболических показателей у детей, в том числе при избыточной массе тела и ожирении [7, 22, 26, 28, 33].

Депо углеводов в организме, в отличие от жирового и белкового депо, имеет ограниченные размеры и определяется количеством гликогена в печени. Для сохранения углеводного депо СОУ способна быстро изменяться в зависимости от уровня их потребления, снижаясь при недостаточном поступлении углеводов и повышаясь при поступлении с пищей большого количества этого нутриента [15, 29]. При избыточном поступлении с пищей жиров они становятся основным энергетическим субстратом, вследствие чего СОУ компенсаторно снижается.

В последние годы исследователями было введено понятие «метаболической гибкости». Метаболическая гибкость – это способность организма или клетки соразмерять окисление нутриентов с их доступностью и гормональным фоном организма [17, 37]. В контексте регуляции потребления пищи нарушенная метаболическая гибкость может приводить к различным видам дисбаланса нутриентов. При изменении макронутриентного состава рациона скорость окисления энергоемких нутриентов должна меняться для достижения нового равновесия. Скорость, с которой происходит данное приспособление, максимальна при переходе от низкоуглеводной к высокоуглеводной диете (около 2 дней), тогда как при увеличении в диете количества жира для повышения СОЖ и восстановления равновесия требуется около 1 нед [31]. Кроме того, существуют значительные индивидуальные различия во времени, необходимым для достижения нового равновесия макронутриентов [21, 30, 34]. Так, повышение потребления жира может приводить к истощению углеводного депо у лиц с нарушенной регуляцией СОЖ и может таким образом служить сигналом для повышения аппетита. Нарушение метаболической гибкости может быть причиной нарушения регуляции веса с постепенным его увеличением в течение многих лет.

Таким образом, наше исследование показало, что частота нарушений пищевого статуса у детей с ожирением зависела от возраста пациентов и, следовательно, от стажа заболевания (дислипидемия 28,6, 49,0 и 53,2%, инсулинорезистентность 36,7, 62,2 и 59,1%, гиперурикемия 13,0, 21,1 и 44,1% в 1, 2 и 3-й группах соответственно). Час-

тота осложнений ожирения также возрастает по мере увеличения возраста пациентов: НАЖБП выявляется у 14,3, 31,9 и 48,9% детей 1–3-й групп, артериальная гипертензия – у 10,3 и 21,5% детей 2-й и 3-й групп, метаболический синдром – у 18,2 и 23,9% детей 2-й и 3-й групп соответственно.

Отрицательная корреляция индекса инсулинорезистентности НОМА с продолжительностью грудного вскармливания у детей 3–7 лет подтверждает протективную роль грудного молока в профилактике метаболических нарушений у ребенка в дошкольном возрасте.

Частота и степень выраженности изменений основного обмена у детей с избыточной массой тела и ожирением увеличиваются с возрастом детей и длительностью заболевания с тенденцией к смещению соотношения окисления энергоемких субстратов (жиры и углеводы) в сторону замедления окисления углеводов (32, 50, 55,1%) и компенсаторного повышения СОЖ (8, 28,4 и 34,7%). Низкая СОУ оказалась наиболее характерным признаком основного обмена у детей с избыточной массой тела и ожирением, способствующим быстрому увеличению массы на фоне повышенного потребления как углеводов, так и жиров. Можно предполагать, что выявленные изменения являются основой для дальнейшего увеличения массы тела с развитием ожирения при отсутствии адекватной коррекции рациона и образа жизни.

Дети, имеющие избыточную массу тела и ожирение, нуждаются в активном врачебном вмешательстве с момента выявления избытка массы тела. Целью работы с данным контингентом пациентов является изменение образа жизни как единственная эффективная стратегия коррекции ожирения и его осложнений. Лечение ожирения у детей дошкольного и младшего школьного возраста позволит предотвратить усугубление метаболических нарушений и возникновение осложнений и сопутствующих заболеваний, ухудшающих качество жизни у детей и взрослых.

Группой максимального риска являются дети со снижением суточных энергозатрат покоя и скорости окисления жиров и углеводов, повышением скорости окисления белка. Целевые мероприятия, направленные на коррекцию пищевого статуса, профилактику и лечение осложнений ожирения среди этой группы детей на основании индивидуальных метаболических показателей, позволят снизить или стабилизировать массу тела с дальнейшей коррекцией обмена липидов, углеводов, белка и энергии.

Сведения об авторах

Павловская Елена Вячеславовна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения педиатрической гастроэнтерологии, гепатологии и диетологии ФГБУ «НИИ питания» РАМН (Москва)
E-mail: elena_pavlovsky@rambler.ru

Строкова Татьяна Викторовна – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отделения педиатрической гастроэнтерологии, гепатологии и диетологии ФГБУ «НИИ питания» РАМН, заведующая кафедрой диетологии и нутрициологии ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России (Москва)

E-mail: strokova_t.v@mail.ru

Сурков Александр Геннадьевич – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения педиатрической гастроэнтерологии, гепатологии и диетологии ФГБУ «НИИ питания» РАМН (Москва)

E-mail: aleksander.surkov@gmail.com

Богданов Альфред Равилевич – кандидат медицинских наук, заведующий отделением сердечно-сосудистой патологии ФГБУ «НИИ питания» РАМН, доцент кафедры диетологии и нутрициологии ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России (Москва)

E-mail: bogdanov.ar@mail.ru

Бородина Галина Владимировна – аспирант ФГБУ «НИИ питания» РАМН (Москва)

E-mail: Bgv7696889@yandex.ru

Кутырева Елена Николаевна – врач отделения педиатрической гастроэнтерологии, гепатологии и диетологии ФГБУ «НИИ питания» РАМН (Москва)

E-mail: kutyrevaen@mail.ru

Сенцова Татьяна Борисовна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией клинической биохимии, иммунологии и аллергологии ФГБУ «НИИ питания» РАМН (Москва)

E-mail: bio45@inbox.ru

Литература

1. Богданов А.Р., Погожева А.В., Васильев А.В. и др. Особенности энергетического обмена у больных с ишемической болезнью сердца при кардиоваскулярных вмешательствах // *Вопр. питания.* – 2007. – Т. 76, № 5. – С. 17–21.
2. Вискунова А.А., Каганов Б.С., Шарафетдинов Х.Х. и др. Определение пищевого статуса пациентов с метаболическим синдромом с помощью современных методов нутриметабономики // *Вопр. питания.* – 2010. – Т. 79, № 3. – С. 30–35.
3. Джанашия П.Х., Диденко В.А. Является ли гиперурикемия компонентом метаболического синдрома? // *Рос. кардиол. журн.* – 2001. – № 1. – С. 29–34.
4. Дмитриевская М.Н., Погожева А.В., Васильев А.В. и др. Использование диетотерапии, разработанной на основе комплексной оценки пищевого статуса, у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями и ожирением // *Вопр. питания.* – 2007. – Т. 76, № 3. – С. 24–28.
5. Донсков А.С., Балкаров И.М., Дадина З.М. и др. Уратное поражение почек и метаболические сдвиги у пациентов с артериальной гипертонией // *Тер. арх.* – 1999. – Т. 71, № 6. – С. 53–56.
6. Конь И.Я., Волкова Л.Ю., Коростелева М.М. и др. Распространенность ожирения у детей дошкольного и школьного возраста в Российской Федерации // *Вопр. дет. диетологии.* – 2011. – Т. 9, № 4. – С. 5–8.
7. Павловская Е.В., Багаева М.Э., Сурков А.Г. и др. Ожирение у детей – критерии диагностики и клинические проявления // *Вопр. дет. диетологии.* – 2012. – Т. 10, № 3. – С. 18–22.
8. Петеркова В.А., Ремизов О.В. Ожирение в детском возрасте // *Ожирение: этиология, патогенез, клинические аспекты* / Под ред. И.И. Дедова, Г.А. Мельниченко. – М.: Медицинское информационное агентство, 2006. – С. 312–329.
9. Шарафетдинов Х.Х., Зыкина В.В., Плотнокова О.А., Каганов Б.С. Современные подходы к оценке пищевого статуса у детей и взрослых // *Вопр. дет. диетологии.* – 2007. – Т. 5, № 3. – С. 26–31.
10. Barlow S.E., Dietz W.H. Obesity evaluation and treatment: Expert Committee recommendations. The Maternal and Child Health Bureau, Health Resources and Services Administration and the Department of Health and Human Services // *Pediatrics.* – 1998. – Vol. 102. – P. e29.
11. Binkin N., Spinelli A., Baglio G., Lamberti A. What is common becomes normal: The effect of obesity prevalence on maternal perception // *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* – 2013. – Vol. 23, N 5. – P. 410–416.
12. Bosy-Westphal A., Wolf A., Vbhrens F. et al. Familial influences and obesity-associated metabolic risk factors contribute to the variation in resting energy expenditure: the Kiel Obesity Prevention Study // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2008. – Vol. 87, N 6. – P. 1695–701.
13. Branca F., Nikogosian H., Lobstein T. Проблема ожирения в Европейском регионе ВОЗ и стратегии ее решения. – ВОЗ, 2009. – 408 с.
14. Fernandez J.R., Redden D.T., Pietrobelli A., Allison D.B. Waist circumference percentiles in nationally representative samples of African-American, European-American, and Mexican-American children and adolescents // *J. Pediatr.* – 2004. – Vol. 145, N 4. – P. 439–444.
15. Flatt J.P. The difference in the storage capacities for carbohydrate and for fat, and its implications in the regulation of body weight // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* – 1987. – Vol. 499. – P. 104–123.
16. Freitas D., Beunen G., Maia J. et al. Tracking of fatness during childhood, adolescence and young adulthood: a 7-year follow-up study in Madeira Island, Portugal // *Ann. Hum. Biol.* – 2012. – Vol. 39, N 1. – P. 59–67.

17. *Galgani J.E., Heilbronn L.K., Azuma K. et al.* Metabolic flexibility in response to glucose is not impaired in people with type 2 diabetes after controlling for glucose disposal rate // *Diabetes*. – 2008. – Vol. 57. – P. 841–845.
18. *Galgani J., Ravussin E.* Energy metabolism, fuel selection and body weight regulation // *Int. J. Obes. (Lond.)*. – 2008. – Vol. 32(Suppl. 7). – S109–S119.
19. *Ge S., Kubota M., Nagai A. et al.* Retrospective individual tracking of body mass index in obese and thin adolescents back to childhood // *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* – 2011. – Vol. 20, N 3. – P. 432–437.
20. *Giel K.E., Zipfel S., Schweizer R. et al.* Eating disorder pathology in adolescents participating in a lifestyle intervention for obesity: associations with weight change, general psychopathology and health-related quality of life // *Obes. Facts*. – 2013. – Vol. 6, N 4. – P. 307–316.
21. *Hill J.O., Peters J.C., Reed G.W. et al.* Nutrient balance in humans: effects of diet composition // *Am. J. Clin. Nutr.* – 1991. – Vol. 54. – P. 10–17.
22. *Hitze B., Boky-Westphal A., Bielfeldt F. et al.* Determinants and impact of sleep duration in children and adolescents: data of the Kiel Obesity Prevention Study // *Eur. J. Clin. Nutr.* – 2009. – Vol. 63, N 6. – P. 739–746.
23. *Hosking J., Metcalf B.S., Jeffery A.N. et al.* Little impact of resting energy expenditure on childhood weight and body composition: a longitudinal study (EarlyBird 47) // *Nutr. Res.* – 2011. – Vol. 31, N 1. – P. 9–13.
24. *Juhola J., Magnussen C.G., Viikari J.S. et al.* Tracking of serum lipid levels, blood pressure, and body mass index from childhood to adulthood: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study // *J. Pediatr.* – 2011. – Vol. 159, N 4. – P. 584–590.
25. *Kuczumski R.J., Ogden C.L., Grummer-Strawn L.M. et al.* CDC Growth Charts: United States. Advance Data from Vital and Health Statistics. N 314. National Center for Health Statistics. – Hyattsville, MD, 2000.
26. *Lee S., Arslanian S.A.* Fat oxidation in black and white youth: a metabolic phenotype potentially predisposing black girls to obesity // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2008. – Vol. 93, N 11. – P. 4547–4551.
27. *Nathan B.M., Moran A.* Metabolic complications of obesity in childhood and adolescence: more than just diabetes // *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.* – 2008. – Vol. 15, N 1. – P. 21–29.
28. *Pavlovskaya E.V., Surkov A.G., Bogdanov A.R. et al.* Resting energy expenditure and nutrient oxidation in children with nonalcoholic fatty liver disease. Falk Symposium 171, Liver and Metabolic Syndrome. – Hannover, 2009. – P. 20.
29. *Russek M.* Participation of hepatic glucoreceptors in the control of intake of food // *Nature*. – 1963. – Vol. 197. – P. 79–80.
30. *Schrauwen P., van Marken Lichtenbelt W.D., Saris W.H., Westerterp K.R.* Changes in fat oxidation in response to a high-fat diet // *Am. J. Clin. Nutr.* – 1997. – Vol. 66. – P. 276–282.
31. *Schrauwen P., Westerterp K.R.* The role of high-fat diets and physical activity in the regulation of body weight // *Br. J. Nutr.* – 2000. – Vol. 84. – P. 417–427.
32. *Seidell J.C., Muller D.C., Sorkin J.D., Andres R.* Fasting respiratory exchange ratio and resting metabolic rate as predictors of weight gain: the Baltimore Longitudinal Study on Aging // *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* – 1992. – Vol. 16. – P. 667–674.
33. *Sipola-Leppanen M., Hovi P., Andersson S. et al.* Resting energy expenditure in young adults born preterm—the Helsinki study of very low birth weight adults // *PLoS One*. – 2011. – Vol. 6, N 3. – P. e17700.
34. *Smith S.R., de Jonge L., Zachwieja J.J. et al.* Fat and carbohydrate balances during adaptation to a high-fat // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2000. – Vol. 72. – P. 450–457.
35. *Stenholm S., Harris T.B., Rantanen T. et al.* Sarcopenic obesity—definition, etiology and consequences // *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*. – 2008. – Vol. 11, N 6. – P. 693–700.
36. *Tataranni P.A., Harper I.T., Snitker S. et al.* Body weight gain in free-living Pima Indians: effect of energy intake vs expenditure // *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* – 2003. – Vol. 27. – P. 1578–1583.
37. *Ukropcova B., Sereda O., de Jonge L. et al.* Family history of diabetes links impaired substrate switching and reduced mitochondrial content in skeletal muscle // *Diabetes*. – 2007. – Vol. 56. – P. 720–727.
38. *Zurlo F., Lillioja S., Esposito-Del Puente A. et al.* Low ratio of fat to carbohydrate oxidation as predictor of weight gain: study of 24-h RQ // *Am. J. Physiol.* – 1990. – Vol. 259. – P. E650–E657.

Для корреспонденции

Суханов Борис Петрович – доктор медицинских наук, профессор кафедры гигиены питания и токсикологии ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, старший научный сотрудник лаборатории энзимологии питания ФГБУ «НИИ питания» РАМН
 Адрес: 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14
 Телефон: (495) 698-53-49
 E-mail: sukhanov@ion.ru

А.С. Петренко^{1, 2}, М.Н. Пономарева², Б.П. Суханов^{1, 3}

Законодательное регулирование обращения биологически активных добавок к пище в Европейском союзе и отдельных странах Европы. Часть 2

Regulation of food supplements in the European Union and its member States. Part 2

A.S. Petrenko^{1, 2}, M.N. Ponomareva², B.P. Sukhanov^{1, 3}

¹ ФГБУ «НИИ питания» РАМН, Москва

² EAS Консалтинг СНГ, Москва

³ ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России

¹ Institute of Nutrition of Russian academy of medical sciences, Moscow

² EAS Strategic Advice CIS, Moscow

³ I.M. Sechenov First Moscow State Medical University

В обзорной статье обсуждаются современные проблемы наднационального и национального регулирования оборота биологически активных добавок (БАД) к пище в странах Европы [законодательство Европейского союза (ЕС) и отдельных стран Европы]; применения в составе БАД к пище растительных ингредиентов и минорных биологически активных веществ пищи; обсуждаются правила маркировки продукции, содержащей эти ингредиенты; описывается принцип взаимного признания между странами ЕС; обсуждаются проблемы гармонизации требований к БАД к пище в рамках ЕС; приводятся определения понятий «новый вид пищевых продуктов» и «новый ингредиент»; описывается процедура вывода на рынок нового пищевого продукта и нового ингредиента; рассматриваются принципы формирования заявлений об эффективности БАД к пище.

Ключевые слова: Европейский союз, маркировка биологически активных добавок (БАД) к пище, принцип взаимного признания, понятия «новый вид пищевых продуктов» и «новый ингредиент», заявления об эффективности БАД к пище

The article discusses various aspects of the regional (the European Union) and national (European countries) regulation related to food supplements. The use of botanicals and minor bioactive substances in food supplements, and their labelling are studied. The EU principle of mutual recognition is described in the

context of current challenges that exist in the regulatory harmonisation between the EU member states. The concept of novel foods and novel ingredients is also presented, and the procedure of their pre-market approval is described in detail. Basic principles of using claims for food supplements are also outlined.

Key words: *the European Union, labelling of food supplements, mutual recognition, novel foods, novel ingredient, pre-market approval of novel foods, claims*

6. Ингредиенты растительного происхождения и минорные биологически активные вещества

Как упоминалось [1]*, в Европейском союзе (ЕС) отсутствует гармонизированный подход в регулировании использования ингредиентов растительного происхождения (например, лекарственных трав и продуктов их переработки) при производстве биологически активных добавок (БАД) к пище. Отдельные страны – члены ЕС приняли в этом направлении свои национальные нормы. Так, в Бельгии и Италии существуют списки веществ растительного происхождения, разрешенных к использованию в БАД к пище [3, 8].

Бельгийский королевский указ о растениях и растительных препаратах, принятый в 1997 г. [3], ввел в действие списки разрешенных и запрещенных к использованию в составе БАД к пище растений и их компонентов. В 2012 г. эти списки были дополнены путем внесения в них более подробных условий использования, ограничений в использовании и требований к маркировке для отдельных растений. В частности, согласно этому указу, для ряда растений, разрешенных к использованию в составе БАД к пище, были введены запретительные оговорки, которые должны быть включены в маркировку БАД к пище, содержащих эти растения. Например, маркировка большинства БАД к пище, содержащих растительные компоненты, должна содержать предупреждение о недопустимости их использования беременными и кормящими женщинами. Для отдельных растений указаны противопоказания их применения при определенных заболеваниях и состояниях. Например, листья флелодиума (*Polypodium leucatomos*) включены в список разрешенных растительных компонентов при условии, что маркировка БАД к пище на их основе содержит предупреждение о том, что продукт нельзя использовать людям с заболеваниями сердечно-сосудистой системы. Применение БАД к пище, содержащих можжевельник (*Juniperus communis* L.), не рекомендуется людям с заболеваниями почек.

В настоящее время Франция, Бельгия и Италия разрабатывают общий список ингредиентов

растительного происхождения, разрешенных к использованию в составе БАД к пище [7].

Ввиду отсутствия на наднациональном уровне ЕС списков ингредиентов растительного происхождения и биологически активных веществ, разрешенных или запрещенных к использованию в составе БАД к пище, на рынке ЕС наблюдается разнообразие подходов в регулировании этого вопроса. Данная ситуация имеет как положительное, так и отрицательное влияние на отрасль производства БАД к пище.

Необходимо отметить, что в основе гармонизации законодательств между странами ЕЭС лежит принцип взаимного признания, изложенный в ст. 34, 35 и 36 базового Договора о деятельности Европейского Союза** [5], который обеспечивает свободное передвижение товаров по территории стран ЕС. Принцип «взаимного признания» является нормой прямого действия, обязательной к соблюдению всеми 28 государствами – членами ЕС.

Согласно этому принципу любое государство – член ЕС обязуется допускать на свою территорию товары, законным образом произведенные и/или обращаемые в другом государстве – члене ЕС, на которые не распространяются гармонизированные на уровне ЕС законодательные нормы, даже в тех случаях, когда такие товары не соответствуют национальным требованиям, предъявляемым к безопасности продукции в данном государстве.

Как отмечалось выше, в отношении БАД к пище до сих пор не гармонизированными в рамках ЕС остаются следующие законодательные нормы:

- максимально и минимально допустимые уровни содержания витаминов и минеральных веществ в разовой или суточной порции БАД к пище;
- использование в составе добавок к пище иных ингредиентов (в том числе растительного происхождения – пищевых и лекарственных растений, нетрадиционных продуктов моря), кроме витаминов и минеральных веществ, в пищевых или физиологических целях.

Принцип взаимного признания имеет свои исключения. В соответствии со ст. 36 базового Договора TFEU [5], государство – член ЕС имеет

* Часть 1 данной статьи опубликована в журнале «Вопросы питания» № 3, 2014 [1].

** TFEU – Treaty of the Functioning of the European Union (Договор о функционировании Европейского Союза).

право запретить распространение на своей территории товара в том случае, если сможет доказать, что это необходимо, например, в целях охраны здоровья и жизни людей. В этом случае государство – член ЕС обязано также продемонстрировать, что данная мера накладывает наименьшее из всех возможных ограничений на свободную торговлю.

Применительно к пищевым продуктам исключения из принципа взаимного признания, как правило, обосновываются соображениями пищевой безопасности (возможным наличием прямого или косвенного риска, который продукт может представлять для здоровья человека).

С целью расширения практики применения данного принципа был принят Регламент ЕС 764/2008 Европейского парламента и Совета Европы [9], устанавливающий процедуры применения национальных требований к продукции, законно введенной в обращение в другом государстве – члене ЕС.

Регламент ЕС 764/2008 описывает процедурные требования, применяемые в том случае, если какое-либо из государств – членов ЕС намеревается отказать в применении принципа взаимного признания в отношении какого-либо товара на своей территории. Кроме того, документ устанавливает механизм принятия решения государственных органов в отношении любого товара, если прямым или косвенным следствием такого решения станет запрет свободного обращения товара, изменение его характеристик, дополнительное тестирование или отзыв из обращения (п. 1 ст. 2 Регламента 764/2008) [9]. Любой компетентный орган страны – участника ЕС, намеревающийся принять подобное решение, обязан соблюдать процедурные требования, изложенные в директиве.

Однако на практике компании, апеллирующие к принципу взаимного признания с целью распространения БАД к пище, по-прежнему сталкиваются с серьезными препятствиями. Например, отдельные экстракты лекарственных трав и другие продукты их переработки используются как в составе БАД к пище, так и при производстве лекарственных средств. В результате имеют место пограничные ситуации, при которых определенный продукт в одних государствах – членах ЕС разрешен к распространению в качестве пищевого продукта, а в других – исключительно в качестве лекарственного средства. Например, в Бельгии в список разрешенных к использованию в БАД к пище растений включен зверобой [3]. В то время как в соседней Франции это растение отнесено к фармацевтическим субстанциям и разрешено только для лекарственного применения.

В большинстве случаев отнесение ингредиента к той или иной категории требует детального рассмотрения с учетом всех его характеристик. В то же время необходимо отметить, что в практике ЕС одно и то же вещество (или комбинация веществ, напри-

мер, растительный экстракт) может одновременно являться как пищевым ингредиентом, разрешенным для использования в составе пищевых продуктов и БАД к пище, так и фармацевтической субстанцией, используемой в составе лекарственных средств.

7. Регламент ЕС о новых видах пищевых продуктов

В соответствии с Регламентом ЕС 258/97 Европейского парламента и Совета Европы [10] некоторые БАД к пище или их ингредиенты могут быть признаны новыми видами пищевых продуктов или новыми ингредиентами. Область применения Регламента охватывает пищевые продукты и ингредиенты, используемые в их составе, которые не имели истории пищевого применения в государствах – членах ЕС на момент вступления регламента в силу (15 мая 1997 г.) и которые можно отнести к одному из нижеперечисленных типов:

- пищевые продукты и ингредиенты с новым или намеренно измененным первоначальным составом или структурой;
- пищевые продукты и ингредиенты, состоящие или выделенные из микроорганизмов, грибов (плесени) или водорослей;
- пищевые продукты и ингредиенты, состоящие или выделенные из растений, а также ингредиенты пищевых продуктов, выделенные из животных, за исключением пищевых продуктов и ингредиентов, полученных традиционными методами размножения или разведения и имеющих историю безопасного использования в качестве пищевых продуктов;
- пищевые продукты и ингредиенты, при производстве которых применялся процесс, не используемый до настоящего времени, который приводит к значительным изменениям в составе или структуре пищевого продукта, оказывает действие на его пищевую ценность, метаболизм или уровень содержания в организме человека вредных веществ.

Регламент ЕС 258/97 предлагает широкое толкование понятия «новые виды пищевых продуктов». В частности в него включены растительные экстракты, не производившиеся или не распространявшиеся в странах ЕС на момент вступления директивы в силу. В общем случае новым ингредиентом может быть признан растительный экстракт даже в той ситуации, если растение, из которого он получен, не считается новым.

Перед выводом на рынок государства – члена ЕС каждый новый вид пищевого продукта или новый ингредиент должен пройти индивидуальную процедуру дорыночного контроля – регистрацию. Производитель обязан подать заявку на одобрение в соответствующий национальный компетентный орган, представив научную информацию о про-

дукте или ингредиенте и отчет об оценке его безопасности. После предварительного рассмотрения заявки в государстве – члене ЕС продукт или ингредиент может быть одобрен к распространению, если не последует возражений со стороны других государств – членов ЕС. При наличии подобных возражений дело передается на рассмотрение компетентного органа ЕС по безопасности пищевых продуктов (EFSA – European Food Safety Authority)*. Как показывает опыт, в большинстве случаев эта процедура рассмотрения в рамках ЕС является дорогостоящей и может занимать в среднем от 2 до 3 лет.

Отдельные новые типы пищевых продуктов или новые ингредиенты могут подпадать под упрощенную процедуру регистрации в рамках понятия «существенного сходства». В таких случаях необходимо представить доказательства того, что новый вид пищевого продукта или новый ингредиент сравним с существующими продуктами или ингредиентами по качеству, безопасности, составу, пищевой ценности, метаболизму, области применения и уровню содержания побочных веществ. В подобных случаях допускается уведомительный порядок вывода нового продукта на рынок (нотификация).

8. Заявления о пищевой ценности и влиянии биологически активных добавок к пище на здоровье человека

В основе европейского подхода к регулированию информации для потребителя и рекламы БАД к пище лежат стандарты Кодекса Алиментариус, в частности Руководство Кодекса по использованию заявлений о пищевой ценности и эффективности CAC/GL 29-1997 [2]. Руководствуясь этим документом, в 2006 г. Европарламент и ЕС приняли Регламент 1924/2006 [11], который впервые в истории ЕС гармонизировал ключевые аспекты использования заявлений об эффективности и положительном влиянии пищевых продуктов на здоровье человека на наднациональном уровне. Регламент устанавливает условия использования заявлений о пищевой ценности и положительном влиянии на здоровье при маркировке, презентации продукции для потребителей и рекламе пищевой продукции.

Принимая во внимание, что «целый ряд нутриентов и пищевых веществ, включая витамины, минеральные вещества, аминокислоты, эссенциальные жирные кислоты, пищевые волокна, растительные экстракты, которые могут обладать пищевой ценностью или положительным влиянием на здоровье, входят в состав самых разных категорий и видов пищевых продуктов», область применения Регламента 1924/2006 распространяется на все категории пищевой продукции, включая и БАД к пище.

В терминологии европейского законодательства разделяют заявления о пищевой ценности (nutrition claims) и заявления о влиянии на здоровье (health claim).

Заявление о пищевой ценности определяется как любая информация, которая содержит утверждение, предположение или указание на то, что пищевой продукт обладает пищевой ценностью ввиду определенного количества энергии (калорий) и/или ввиду пищевого вещества, которое в нем содержится или не содержится в установленном количестве.

Заявление о влиянии на здоровье (health claim) – это информация, в рамках которой утверждается, предполагается или описывается связь между употреблением целой категории пищевых продуктов или отдельного пищевого продукта, или ингредиента, входящего в состав продукта, со здоровьем человека. Заявления о влиянии на здоровье условно подразделяют на заявления о функциональном действии, т.е. о положительном влиянии на те или иные функции организма человека (functional claims), и заявления, связанные со снижением риска развития заболеваний (reduction of disease risk claims). Схожая терминология применяется в США, где широкое распространение получили заявления о влиянии добавок на структуры или функции организма [12].

Заявление, указывающее на снижение риска заболеваний, – это один из видов заявлений о влиянии на здоровье, в рамках которого утверждается, предполагается или описывается действие пищевого продукта или ингредиента, входящего в его состав, направленное на существенное снижение рисков развития определенного заболевания**.

Для того чтобы использовать то или иное заявление, необходимо:

1. Продемонстрировать, что вещество/ингредиент, для которого делается заявление, на самом

* Европейское управление безопасности пищевой продукции (EFSA) является экспертным органом, который не принимает решений о регистрации или одобрении новых продуктов. В то же время экспертная оценка EFSA является определяющей при принятии таких решений.

** В Регламенте ЕС 1924/2006 заявления о положительном влиянии на здоровье человека регулируются соответствующими разделами:

- заявления о функциональном действии (положительном влиянии на те или иные функции организма человека) БАД к пище (ст. 13.1);
- заявления, основанные на новых научных данных (ст. 13.5);
- заявления, связанные со снижением риска развития заболеваний (ст. 14.1а);
- заявления, связанные с положительным влиянием на развитие и здоровье детей (ст. 14.1б).

деле обладает пищевой ценностью и/или положительным влиянием на здоровье. Доказательная база должна быть основана прежде всего на результатах эпидемиологических и клинических исследований. С целью обеспечения единства подходов в оценке представленной доказательной базы EFSA уполномочено проводить экспертизу доказательной базы в процессе одобрения заявлений об эффективности.

2. Подтвердить наличие вещества/ингредиента в пищевом продукте в заявляемом количестве, а также в биодоступной форме, необходимого для проявления заявляемого эффекта.

3. Убедиться, что заявление не создает впечатление о необходимости отказа от нормального питания в пользу потребления определенных пищевых продуктов для достижения заявляемого эффекта.

4. Убедиться в том, что информация в заявлении понятна среднестатистическому потребителю или представителям той группы населения, для которой предназначен пищевой продукт.

В 2012 г. был принят Регламент 1048/2012 [4], согласно которому все заявления, связанные со снижением риска развития заболеваний, должны проходить так называемый дорыночный контроль (на основе принципа «все, что не разрешено, запрещено»).

В специальном реестре Европейской комиссии содержатся подробные сведения:

- о 29 разрешенных формулировках заявлений о пищевой ценности продуктов [11], а также условиях их использования;
- об одобренных формулировках заявлений о функциональном действии (ст. 13.1) и о снижении риска развития заболеваний (ст. 14.1), условиях их использования и возможных ограничениях. В 2013 г. список заявлений, одобренных по ст. 13.1, включал 228 заявления и 9 заявлений, одобренных по ст. 14.1;
- о не одобренных формулировках заявлений о лечебных свойствах продуктов и причинах отказа в их одобрении;
- о необходимости пройти оценку и получить одобрение EFSA в процессе рассмотрения

индивидуальной заявки всех новых заявлений, классифицируемых по ст. 13.5 или 14;

- об одобрении EFSA в 2012 г. только 4 новых заявлений из 37 заявок. В большинстве случаев причиной отказа агентство посчитало недостаточность доказательной базы, предоставленной заявителем.

Одним из наиболее острых вопросов в Евросоюзе на сегодняшний день остается регулирование заявлений об эффективности для БАД к пище на основе растительных ингредиентов. К 2013 г. в EFSA было подано более 2000 заявок, причем большинство из них находится на рассмотрении уже длительное время, и решение по ним отложено на неопределенный срок.

Заключение

Спустя 10 лет после принятия Директивы ЕС о БАД к пище [6] отдельные аспекты законодательства в этой области по-прежнему остаются в сфере национального регулирования стран – членов ЕС. Очевидно, что даже в таком высокоинтегрированном объединении стран, как ЕС, полная гармонизация законодательства в области безопасности пищевой продукции остается пока еще не выполнимой задачей. В частности, страны ЕС не могут прийти к общему мнению об определении максимально и минимально допустимых уровней содержания витаминов и минеральных веществ в пищевой продукции, а также в выработке общего подхода в использовании ингредиентов растительного происхождения и других минорных компонентов пищи в БАД к пище. Инициированная недавно дискуссия на тему обоснованности заявлений о положительном влиянии на здоровье ингредиентов растительного происхождения вновь может поставить на повестку дня вопрос о необходимости дальнейшей гармонизации законодательства ЕС в этой сфере. Поскольку данные вопросы остаются неразрешенными, в ближайшие 10 лет можно ожидать новых законодательных инициатив и подходов в области регламентирования БАД к пище в рамках ЕС.

Сведения об авторах

Петренко Алексей Сергеевич – кандидат химических наук, соискатель ФГБУ «НИИ питания» РАМН, директор EAS Консалтинг (Москва)

E-mail: alexeypetrenko@eas-cis.com

Пономарева Марина Николаевна – ведущий эксперт компании EAS Консалтинг СНГ по международному законодательству в области обращения пищевой продукции (Москва)

E-mail: marinaponomareva@eas-cis.com

Суханов Борис Петрович – доктор медицинских наук, профессор ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России, старший научный сотрудник лаборатории энзимологии питания ФГБУ «НИИ питания» РАМН (Москва)

E-mail: sukhانov@ion.ru

Литература

1. *Петренко А.С., Пономарева М.Н., Суханов Б.П.* Законодательное регулирование обращения биологически активных добавок к пище в Европейском Союзе и отдельных странах Европы. Часть 1. // *Вопр. питания.* – 2014. – Т. 83, № 3. – С. 32–40.
2. Руководство Кодекса по использованию заявлений о пищевой ценности и эффективности, Комиссия Кодекса Алиментариус, CAC/GL23, 1997. – P. 1–7.
3. ARRETE ROYAL du 29 AOUT 1997 relatif a la fabrication et au commerce de denrees alimentaires composees ou contenant des plantes ou preparations de plantes (M.B. 21.XI.1997) 30898-30920.
4. COMMISSION REGULATION (EU) No 1048/2012 of 8 November 2012 on the authorisation of a health claim made on foods and referring to the reduction of disease risk, Official Journal of the European Union, L310, 2012. – P. 38–40.
5. CONSOLIDATED VERSION OF THE TREATY ON THE FUNCTIONING OF THE EUROPEAN UNION // Official Journal of the European Union, C83, 2010. – P. 47–199.
6. DIRECTIVE 2002/46/EC OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 10 June 2002 on the approximation of the laws of the Member States relating to food supplements // Official Journal of the European Union, L183, 2002. – P. 51–57.
7. Geelen J. Harmonizing the Evaluation of Botanicals in Supplements in the European Union, 14th Euroforum Jahrestagung, Nhrungserganzungsmittel 2014. – 33 slides.
8. MINISTERO DELLA SALUTE DECRETO 9 luglio 2012 Disciplina dell'impiego negli integratori alimentary di sostanze e preparati vegetali // *Gazzetta Ufficiale*, 21.07.2012. – P. 1–58.
9. REGULATION (EC) No 764/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 9 July 2008 laying down procedures relating to the application of certain national technical rules to products lawfully marketed in another Member State // Official Journal of the European Union, L218, 2008. – P. 21–29.
10. Regulation (EC) No 258/1997 of the European Parliament and of the Council of 27 January 1997 concerning novel foods and novel food ingredients // Official Journal of the European Communities, L43, 1997. – P. 1–6.
11. REGULATION (EC) No 1924/2006 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 20 December 2006 on nutrition and health claims made on foods // Official Journal of the European Union, L12, 2007. – P. 3–18.
12. Regulations of Statements Made for Dietary Supplements Concerning the Effect of the Product on the Structure or the Function of the Body, Final FDA rule. Federal Register. – Washington, 2000. – Vol. 64, N 4. – P. 999–1050.

Для корреспонденции

Гмошинский Иван Всеволодович – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий ФГБУ «НИИ питания» РАМН
 Адрес: 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14
 Телефон: (495) 698-53-71
 E-mail: gmosh@ion.ru

А.А. Шумакова, Л.И. Авреньева, Г.В. Гусева, Л.В. Кравченко, С.Х. Сото, И.В. Ворожко, Т.Б. Сенцова, И.В. Гмошинский, С.А. Хотимченко, В.А. Тутельян

Токсикологическая оценка наноструктурного диоксида кремния. II. Энзимологические, биохимические показатели, состояние системы антиоксидантной защиты

Toxicological assessment of nanostructured silica. II. Enzymatic, biochemical indices, state of antioxidative defence

A.A. Shumakova, L.I. Avrenyeva, G.V. Guseva, L.V. Kravchenko, S.Kh. Soto, I.V. Vorozhko, T.B. Sentzova, I.V. Gmoshinsky, S.A. Khotimchenko, V.A. Tutelyan

ФГБУ «НИИ питания» РАМН, Москва
 Institute of Nutrition of Russian Academy of Sciences, Moscow

Наноструктурный диоксид кремния (SiO₂) типа «Аэросил» с размером первичных наночастиц (НЧ) 5–30 нм в виде водной суспензии, обработанной ультразвуком, вводили крысам с исходной массой тела 80±4 г в течение первых 30 сут внутрижелудочно через зонд и далее в течение 62 сут в составе рациона в дозах 0,1; 1,0; 10 и 100 мг/кг массы тела в день. Животные контрольной группы получали носитель наноматериала (НМ) – деионизованную воду. Определяли содержание общих цитохромов P450 и b5 в микросомальной фракции печени, активность (V_{max}) микросомальных монооксигеназ со смешанной функцией изоформ CYP1A1, 1A2 и 2B1 по их специфическим субстратам, активность конъюгирующих ферментов печени глутатион-S-трансферазы и УДФ-глюкуронозилтрансферазы в микросомальной фракции и цитозоле, общую и неседиментируемую активность лизосомальных гидролаз β-глюкуро니다зы, β-галактозидазы, арилсульфатаз А и В. В плазме крови измеряли содержание диеновых конъюгатов полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) и малонового диальдегида, а в эритроцитах – активность ферментов антиоксидантной защиты (глутатионпероксидазы, супероксиддисмутазы, глутатионредуктазы, каталазы). Изучали комплекс стандартных биохимических показателей сыворотки крови (общий белок, альбумин, глюкоза, креатинин, мочевиная кислота, мочевиная, активность аланинаминотрансферазы и аспаратаминотрансферазы, суммарной щелочной фосфатазы). В результате проведенных исследований выявлены изменения ряда молекулярных маркеров, которые могли быть интерпретированы как неблагоприятные. В их числе снижение активности изоформы CYP2B1 при дозе НМ 1–10 мг/кг массы тела, снижение содержания в сыворотке крови общего белка, альбумина и глюкозы в интервале доз от 0,1 до 10 мг/кг. Указанные изменения отсутствовали при максимальной дозе НМ, что не позволило однозначно установить зависимость «доза–ответ». Другие изученные показатели организма

животных оставались в пределах нормы или испытывали изменения, которые не могли быть интерпретированы как токсические.

Ключевые слова: диоксид кремния, наночастицы, крысы, подострая токсичность, микросомы, цитохром P450, лизосомы, неседиментируемая активность, ПОЛ

Nanostructured silica (SiO₂) «Aerosil» with the size of the primary nanoparticles (NPs) of 5–30 nm, in the form of ultrasound treated water suspension was administered to rats of 80±4 g initial body weight for the first 30 days by intragastric gavage and then for 62 days with diets consumed in doses of 0,1; 1,0; 10 and 100 mg/kg body weight per day. The control group received vehicle of nanomaterial (NM) – deionized water. There were measured in liver of animals the content of total cytochromes P450 and b5 in the microsomal fraction of liver, activity (V_{max}) of microsomal monooxygenases with the mixed function of isoforms CYP1A1, 1A2 and 2B1 on their specific substrates, the activity of conjugating liver enzymes glutathione-S-transferase and UDP-glucuronosyl-transferase in microsomal fraction and cytosol, the total and non sedimentable activity of lysosomal hydrolases (β-glucuronidase, β-galactosidase, arylsulphatase A, B). The content of PUFA's diene conjugates and TBA-reactive substances in the blood plasma and the activity of antioxidative enzymes (glutathionperoxidase, superoxidisedismutase, glutathionreductase, katalase) in erythrocytes were estimated. A set of standard biochemical parameters of blood serum was also examined (total protein, albumin, glucose, creatinine, urea, uric acid, activities of hepatic transaminases). The studies revealed changes of a number of molecular markers that could be interpreted as unfavorable. These include isoforms of CYP2B1 activity decrease at a dose HM 1–10 mg/kg of body weight, decrease in the serum content of total protein, albumin and glucose levels in a dose range of 0,1–10 mg/kg. These changes were absent at the maximum dose of NM, which did not allow to clearly establish the dose-response. The remaining studied figures resided in the normal range or experienced changes that could not be interpreted as toxic.

Key words: silica, nanoparticles, rats, subacute toxicity, microsomes, CYP450, lysosomes, non sedimentable activity, lipid peroxidation

Аморфный диоксид кремния (SiO₂) с первичными частицами размером менее 100 нм, известный также под техническим наименованием «Аэросил» (ГОСТ 14922-77), используется в настоящее время в пищевой промышленности в качестве пищевой добавки, а также в составе биологически активных добавок к пище, ароматизаторов, технологических вспомогательных средств и большого числа лекарственных препаратов. Содержание этого НМ в указанных видах продукции в настоящее время не нормируется, несмотря на имеющиеся данные о его токсичности в системах *in vitro* [18, 26, 29, 35–37] и *in vivo* [5, 6, 28, 30, 31]. В нашей предыдущей работе [13] было охарактеризовано влияние перорального введения в течение 92 сут наноструктурного SiO₂ на интегральные показатели организма, проницаемость кишечного барьера, уровень тканевых тиолов, окислительное повреждение ДНК и когнитивную функцию у растущих крыс. При этом значительных эффектов, которые могли бы быть интерпретированы как вредные (токсические), не выявлено в дозе SiO₂

до 100 мг/кг массы тела. **Целью** настоящей работы является дальнейшее исследование возможных изменений в организме этих животных на уровне молекулярных маркеров токсического действия [содержание, активность и межфракционное распределение ключевых микросомальных и лизосомальных ферментов, состояние процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), активность компонентов системы антиоксидантной защиты, биохимические показатели сыворотки крови].

Материал и методы

Использован коммерческий высокодисперсный аморфный SiO₂, полученный методом газофазного гидролиза химически чистого тетрахлорсилана, под торговым наименованием «Орисил 300» по ТУ 24.1-31695418-002-2003 (ООО «Силика», Россия, Московская обл., г. Долгопрудный). По данным изготовителя, продукт соответствовал ГОСТ 14922-77. Согласно представленным

в предыдущей публикации [13] данным исследованием образца методами трансмиссионной электронной микроскопии, атомно-силовой микроскопии, спектроакустики и динамического лазерного светорассеяния, образец представлял собой НМ, образованный непрочно агрегированными наночастицами (НЧ) размерами от 5 до 60 нм.

Эксперимент проведен на 75 крысах-самцах линии Вистар исходной массой 80 ± 4 г, полученных из питомника РАМН «Столбовая». Дизайн и условия эксперимента были подробно изложены в предыдущей публикации [13]. Все животные были разделены на 5 групп равной численности, животные 1-й группы (контроль) получали носитель – деионизованную воду, а 2–5-й группы – SiO_2 в дозах 0,1; 1,0; 10 и 100 мг на 1 кг массы тела ежедневно. В течение первых 30 сут обработанную ультразвуком суспензию НМ вводили внутривентрикулярно через зонд, а затем добавляли к рациону. Общая продолжительность эксперимента ставила 92 сут.

Выведение животных из эксперимента осуществляли на 93-и сут опыта путем обескровливания из нижней полой вены под эфирной анестезией. Кровь отбирали дробно на антикоагулянт (0,01% по массе трикалийевой соли ЭДТА) для проведения анализа показателей ПОЛ и активности антиоксидантных ферментов эритроцитов и в стерильную сухую пробирку для отделения сыворотки. Выделяли печень, разрезали на кусочки размером 0,5–1 см, троекратно промывали 0,1 М Трис-НСI буфером pH 7,4, охлажденным до $0 \dots +2$ °C, и далее гомогенизировали в том же буфере в соотношении 1:4 по массе. Гомогенат подвергали фракционированию методом дифференциально-центрифугирования на препаративной ультрацентрифуге «L7-65» («Beckman», США) с получением микросомальной и цитозольной фракций. В микросомальной фракции определяли концентрацию цитохромов P450 и b5 спектрофотометрически [27]. Содержание изоформ микросомальных монооксигеназ со смешанной функцией оценивали, используя специфические субстраты, по величине активности: этоксирезорифин-деалкилазная (изоформа CYP1A1), 7-метоксирезорифин-О-деметилазная (CYP1A2) и 7-пентоксирезорифин-О-деалкилазная (CYP2B1) [15, 23].

Активность лизосомальных ферментов β -глюкуронидазы, β -галактозидазы, арилсульфатаз А и В исследовали согласно [4], в цельном гомогенате печени (общая активность) и во фракции цитозоля (неседиментируемая активность). Активность конъюгирующих ферментов глутатион-S-трансферазы и УДФ-глюкуронозилтрансферазы определяли суммарно в микросомах и цитозоле по методам [14, 21]. Все измерения ферментативных активностей проводили в условиях насыщения ферментов субстратами ($[S] \gg K_m$).

Биохимические показатели сыворотки крови [общий белок, альбумин, глюкоза, креатинин, мочевая кислота, мочевины, активность трансаминаз печени (аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ), а также суммарной щелочной фосфатазы (ЩФ)] определяли на биохимическом анализаторе («Kopelab», Финляндия) по стандартным методикам.

Исследования показателей системы антиоксидантной защиты проводили на биохимическом анализаторе «ФП-901» («Labsystems OY», Финляндия). В эритроцитах определяли активность глутатионредуктазы на основе метода Tillotson и соавт. (1971) в адаптации, согласно [9], глутатионпероксидазы по методу Mille в модификации [10], каталазы согласно Oshino и соавт. в модификации [8], супероксиддисмутазы на основе метода Niashikimi и соавт. в модификации [8]. В плазме крови определяли содержание малонового диальдегида (МДА) по методу Mihara и соавт. [24] и диеновых конъюгатов ПНЖК спектрофотометрическим методом Placer в модификации [3].

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета SPSS 18.0 с помощью критерия Стьюдента, непараметрического рангового критерия Манна–Уитни и критерия ANOVA. Различия признавали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

Показатели системы детоксикации ксенобиотиков в печени

Как следует из данных, представленных в табл.1, показатели, характеризующие состояние системы детоксикации ксенобиотиков в печени крыс опытных групп, в ряде случаев достоверно отличались от значений для 1-й (контрольной) группы. Так, в 5-й группе, получавшей наибольшую дозу SiO_2 , отмечалось достоверное ($p < 0,05$) повышение содержания общего хромопротеина цитохрома b5 и активности изоформы CYP1A1 соответственно на 17 и 32%. Однако величина и направленность этих изменений не свидетельствовали о наличии токсического эффекта. Активность изоформы CYP2B1, напротив, снижалась у животных, получавших SiO_2 , причем наиболее выраженным (на 46%) и достоверным ($p < 0,05$) это снижение было в 3-й группе (доза 1 мг на 1 кг массы тела). Вместе с тем при наибольшей дозе НМ подобный эффект, как видно из полученных данных, не наблюдался. Активность глутатион-S-трансферазы также менялась немонотонно с ростом дозы SiO_2 , достигая максимума во 2-й и 4-й группах (рост на 25 и 28% в сравнении с контролем, $p < 0,05$).

Таблица 1. Содержание цитохромов P450 и b5 и активность (V_{max}) ферментов 1-й и 2-й фазы детоксикации ксенобиотиков в печени крыс

Группа	Число крыс	Показатель, $M \pm m$						
		цитохром P450, нмоль/мг белка	цитохром b5, нмоль/мг белка	активность СУР1А1, пмоль/(мин·мг белка)	активность СУР1А2, пмоль/(мин·мг белка)	активность СУР2В1, пмоль/(мин·мг белка)	глутатион-S-трансфераза, мкмоль/мин·мг белка	УДФ глюконозил-трансфераза, нмоль/мин·мг белка
1-я	6	0,60±0,04	0,59±0,03	5,80±0,32	56,6±9,1	14,6±1,5	1,09±0,04	19,8±0,7
2-я	6	0,69±0,01	0,67±0,02	6,82±0,98	49,5±6,3	13,0±2,6	1,36±0,09	23,3±2,4
3-я	6	0,62±0,07	0,64±0,04	5,87±0,59	46,4±5,9	7,8±1,3	1,17±0,07	20,1±1,8
4-я	6	0,72±0,05	0,61±0,03	7,62±0,97	54,5±13,9	9,0±1,6	1,39±0,09	20,1±1,6
5-я	6	0,65±0,03	0,69±0,03	7,67±0,57	54,0±9,4	14,2±1,4	1,20±0,06	17,3±1,2
1–5-я группы, ANOVA, p		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	0,030	0,029	>0,05
Достоверность различия при сравнении с группой 1, p	2-я группа	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	0,022/0,037	>0,05/>0,05
	3-я группа	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	0,006/0,016	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05
	4-я группа	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	0,030/0,037	0,010/0,010	>0,05/>0,05
	5-я группа	>0,05/>0,05	0,046/>0,05	0,017/0,030	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05

Примечание. Здесь и в табл. 2–4. * – критерий t Стьюдента (числитель); непараметрический критерий Манна–Уитни (знаменатель).

Подобные выявленным, немонотонные изменения показателей системы детоксикации ксенобиотиков под действием НМ, вводимых перорально, были известны ранее. Так, в работе [32] было обнаружено аналогичное изменение активности глутатион-S-трансферазы и изоформы СУР1А1 при средних (но не максимальных) дозах фуллеренола C_{60} . Немонотонным было изменение активности глутатион-S-трансферазы и с ростом дозы немодифицированного фуллерена C_{60} [12]. Такой характер изменения изучаемых показателей ферментативной активности (зависящей как от общего содержания ферментного белка, так и от его функционального состояния) указывает на их зависимость от комплекса факторов, т.е. при различных вводимых дозах НМ эффект может реализоваться как на уровне экспрессии гена [16, 20], так и за счет посттрансляционных эффектов воздействия на конформацию белка и структуру биологических мембран [34]. Для выяснения этих механизмов необходимы дополнительные исследования с привлечением постгеномных и протеомных технологий.

Общая и неседиментируемая активность лизосомальных гидролаз

Данные табл. 2 свидетельствуют о том, что у крыс, получавших SiO_2 в дозах 1 и 100 мг/кг, отмечалось небольшое по абсолютной величине (на 23 и 19%), но достоверное повышение активности общих лизосомальных арилсульфатаз А и В. Эти лизосомальные гидролазы ответственны за протекание в организме комплекса катаболических процес-

сов, и при их недостаточности возможно развитие некоторых лизосомальных болезней накопления, проявляющихся, в частности, в отложении в тканях животных липофусцина [22]. В случае воздействия наноструктурного SiO_2 направленность и абсолютная величина изменения активности арилсульфатаз при максимальной дозе НМ свидетельствовала, скорее, о развитии адаптивной реакции и не могла рассматриваться как признак токсического действия. Остальные показатели, представленные в табл. 2, достоверно не отличались у животных опытных групп от контроля. В частности, это относится к процентной доле неседиментируемых активностей лизосомальных ферментов, что указывает на отсутствие значимого влияния наноматериала на стабильность лизосомальных мембран. Таким образом, неблагоприятные изменения в общей и неседиментируемой активности лизосомальных гидролаз не отмечались при дозе наноструктурного SiO_2 до 100 мг на 1 кг массы тела.

Показатели перекисного окисления липидов и системы антиоксидантной защиты

Результаты определения продуктов ПОЛ (диеновых конъюгатов ПНЖК и малонового диальдегида) в плазме крови, а также активности ферментов системы антиоксидантной защиты в эритроцитах приведены в табл. 3. Анализ этих показателей представляет особый интерес, поскольку, по данным ряда исследований, в системах *in vitro* токсический эффект НЧ SiO_2 может реализоваться за счет усиления гетерофазной каталитической генерации реакционноспособных форм кислорода

Таблица 2. Активность лизосомальных гидролаз и доля их неседиментируемой активности в печени крыс

Группа	Число крыс	Показатель, $M \pm m$					
		арилсульфатазы А и В общие, мкмоль/мин на г ткани	арилсульфатазы А и В неседиментируемые, % от общей	β -галактозидаза общая, мкмоль/мин на г ткани	β -галактозидаза неседиментируемая, % от общей	β -глюкуронидаза общая, мкмоль/мин на г ткани	β -глюкуроидаза неседиментируемая, % от общей
1-я	6	2,53±0,13	8,34±0,50	2,30±0,09	6,63±0,67	2,44±0,09	4,80±0,23
2-я	6	3,04±0,24	8,34±0,55	2,29±0,12	6,24±0,50	2,60±0,13	5,13±0,46
3-я	6	3,12±0,23	7,55±0,37	2,39±0,14	6,55±0,62	2,66±0,12	5,08±0,53
4-я	6	3,11±0,27	8,59±0,75	2,43±0,16	6,14±0,76	2,62±0,12	4,93±0,36
5-я	6	3,01±0,13	7,75±0,33	2,21±0,12	6,18±0,52	2,68±0,09	4,72±0,32
1–5-я группы, ANOVA, p		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
Достоверность* различия при сравнении с 1-й группой, p	2-я группа	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05
	3-я группа	0,049 >0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05
	4-я группа	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05
	5-я группа	0,030/0,037	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05

Таблица 3. Показатели перекисного окисления липидов и активность (V_{max}) ферментов системы антиоксидантной защиты в плазме крови и эритроцитах крыс

Группа	Число крыс	Показатель, $M \pm m$					
		содержание диеновых конъюгатов ПНЖК в плазме, нмоль/мл	содержание малонового альдегида в плазме, нмоль/мл	активность глутатионпероксидазы, мкмоль/мин на мл эритроцитов	активность супероксиддисмутазы, усл. ед./мл эритроцитов	активность глутатионредуктазы, мкмоль/мин на мл эритроцитов	активность каталазы, кУ/мл эритроцитов
1-я	6	3,00±0,13	3,88±0,19	25,1±2,2	1,83±0,19	1364±29	294±23
2-я	6	2,54±0,08	4,40±0,18	24,3±3,0	1,76±0,19	1398±26	239±25
3-я	6	2,60±0,19	3,87±0,41	26,9±2,9	1,52±0,12	1398±31	282±30
4-я	6	2,19±0,22	4,17±0,34	26,7±0,9	1,92±0,19	1458±52	276±9
5-я	6	3,20±0,44	3,92±0,36	22,0±0,9	2,09±0,20	1418±67	286±18
1–5-я группы, ANOVA, p		>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
Достоверность* различия при сравнении с 1-й группой, p	2-я группа	0,014/0,013	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05
	3-я группа	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05
	4-я группа	0,011/0,016	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05
	5-я группа	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05	>0,05/>0,05

(оксидантов) [17, 25, 33]. Как следует из полученных данных, в условиях *in vivo* при пероральном введении этого НМ какого-либо усиления процессов ПОЛ не наблюдалось. Напротив, при дозах SiO_2 0,1 и 10 мг/кг имело место небольшое по абсолютной величине (на 15 и 27%), но достоверное ($p < 0,05$) снижение образования диеновых конъюгатов ПНЖК. Остальные изученные показатели, включая активность ферментов антиоксидантной защиты эритроцитов, в опытных группах животных оставались без изменений. Таким образом, пероральное введение наноструктурного SiO_2 в дозе до 100 мг/кг массы тела, во всяком случае

не приводит, судя по изученным показателям, к усилению ПОЛ и ослаблению антиоксидантной защиты.

Биохимические показатели сыворотки крови

Результаты определения биохимических показателей сыворотки крови крыс представлены в табл. 4. При оценке этих показателей и их возможной связи с предполагаемой токсичностью НМ следует учитывать не только величину и направленность их изменений, но и соотношение с величиной нормальных значений для животных данного вида, пола и возраста. Соответствующие данные,

полученные из доступных источников литературы, а также из результатов собственных исследований на протяжении 2008–2012 гг. (внутрилабораторная норма) также приведены в табл. 4.

Как следует из представленных данных, активность АЛТ была достоверно повышена во 2-й группе по сравнению с контролем при минимальной дозе НМ. Однако среднее значение этого показателя находилось вблизи или даже ниже известных нижних значений его нормы и тем самым не свидетельствовало о значимом усилении деструктивных процессов в ткани печени. Содержание общего белка и альбумина во всех опытных группах было снижено незначительно по абсолютной величине (максимум на 10 и 9% соответственно) и приблизительно равномерно, не демонстрируя какой-либо зависимости от дозы НМ. Видно, что по некоторым данным литературы эти изменения незначительно выйдут за пределы нижней границы нормы. Причина этих изменений, возможно, состоит в тормозящем действии НМ, обладающего высокой сорбционной способностью, на всасывание в кишке некоторых эссенциальных пищевых факторов, участвующих в синтезе белка. В то же время их биодоступность в наименьшей степени зависит и от состава рациона и поэтому возможные эффекты требуют дополнительного изучения при варьирующих уровнях определенных макро- и миконутриентов в диете.

Уровень мочевины в крови был достоверно повышен в сравнении с контролем у крыс 2-й группы (на 27%) и 5-й группы (на 11%), однако при этом он оставался вблизи нижней границы нормы и тем самым не свидетельствовал о развитии токсического эффекта.

У крыс 3-й группы при дозе НМ 1 мг/кг отмечалось достоверное ($p < 0,05$) снижение уровня глюкозы на 16% по сравнению с контролем; при этом данный показатель выходил за пределы интервала нормальных значений. Однако при более высоких дозах НМ данный эффект не воспроизводился, т.е. зависимость «доза–ответ» отсутствовала. Остальные изученные биохимические показатели у крыс опытных групп достоверно не отличались от контроля и находились в пределах изменений, характерных для здоровых животных.

Обсуждение

Для частиц наноразмерного SiO_2 характерно наличие свойств цитотоксичности *in vitro*, проявляющихся в отношении ряда линий клеток животных и человека [18, 26, 29, 35–37]. Механизм этих эффектов, как и в случае других видов оксидных НЧ (диоксида титана, оксида алюминия и др.), крайне мало растворимых в биологических средах, является, скорее всего, неспецифическим и опосредуемым продукцией цитотоксических

Таблица 4. Биохимические показатели сыворотки крови у крыс

Группа	Число крыс	Показатель, $M \pm m$								
		АЛТ, ед/л	АСТ, ед/л	альбумин, г/л	белок общий, г/л	глюкоза, ммоль/л	креатинин, мкмоль/л	мочевая кислота, мкмоль/л	мочевина, мкмоль/л	ЩФ, ед/л
1-я	6	19,4±6,2	67,0±22,0	35,5±0,3	70,6±0,3	5,50±0,30	59,6±1,8	46,6±1,6	4,34±0,07	79,1±6,2
2-я	6	39,1±3,8	96,7±12,7	32,4±0,3	63,6±0,9	4,85±0,12	55,4±0,9	43,6±2,7	5,55±0,35	104,8±13,9
3-я	6	26,8±7,1	65,6±11,2	32,8±1,1	64,0±1,8	4,61±0,20	56,1±1,6	42,4±3,4	4,99±0,35	87,4±13,9
4-я	6	26,5±5,5	86,2±16,1	34,1±0,6	65,3±1,7	4,93±0,15	56,0±2,5	48,0±0,8	5,07±0,35	74,1±8,9
5-я	6	25,5±5,0	83,2±13,1	33,1±0,9	66,2±2,0	5,17±0,17	57,3±2,0	44,0±2,9	4,85±0,16	89,4±7,2
1–5-я группы, ANOVA, p		>0,05	>0,05	0,020	0,013	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
Достоверность* различия при сравнении с 1-й группой, p	2-я группа	0,023/0,016	>0,05/ >0,05	<0,001/0,004	<0,001/0,004	>0,05/ >0,05	>0,05/ >0,05	>0,05/ >0,05	0,017/0,006	>0,05/ >0,05
	3-я группа	>0,05/ >0,05	>0,05/ >0,05	0,036/0,025	0,014/0,006	0,035/ >0,05	>0,05/ >0,05	>0,05/ >0,05	>0,05/ >0,05	>0,05/ >0,05
	4-я группа	>0,05/ >0,05	>0,05/ >0,05	>0,05/ >0,05	0,026/ 0,006	>0,05/ >0,05	>0,05/ >0,05	>0,05/ >0,05	>0,05/ >0,05	>0,05/ >0,05
	5-я группа	>0,05/ >0,05	>0,05/ >0,05	0,027/ 0,037	>0,05/ >0,05	>0,05/ >0,05	>0,05/ >0,05	>0,05/ >0,05	0,015/ 0,037	>0,05/ >0,05
Референтные значения (норма) для крыс	**	39–115	134–294	30,6–39,4	60,4–76,7	5,08–7,39	29,3–75,4	74–185	4,8–8,1	–
	[1] (самки)	72–196	110–140	–	98–108	8,8–16,3	68–104	–	8–14	–
	[7]	–	–	–	70,1–73,9	5,9–7,1	55–56	218–220	4,8–5,5	–
	[11]	99–123	159–193	–	62,6–67,0	5,8–6,6	–	–	–	–

Примечание. ** – собственные данные за 2008–2012 гг. (внутрилабораторная норма).

реакционноспособных форм кислорода на межфазных границах [33]. Вместе с тем с учетом низких величин биодоступности НЧ SiO₂ (как и других нерастворимых оксидных НЧ) в желудочно-кишечном тракте остается неясным, могут ли такие эффекты проявляться *in vivo*. Данные ранее проведенных экспериментов по оценке острой и подострой токсичности НЧ SiO₂ дали противоречивые результаты [2, 5, 6]. При этом по своим характеристикам примененные в этих работах НМ значительно различались между собой и не соответствовали наноструктурному SiO₂ типа «Аэросил», используемому в пищевой и фармацевтической промышленности [13]. В нашей работе был использован максимально чистый образец наноструктурного SiO₂, с размером подавляющей доли частиц в суспензии менее 100 нм, который в наибольшей степени отвечал по своим характеристикам продукту такого рода, применяемому в качестве пищевой добавки. Как показано в предыдущей работе [13], этот НМ при пероральном введении крысам в течение 3 мес в дозе до 100 мг/кг массы тела не оказывал дозозависимого неблагоприятного воздействия на интегральные и физиологические показатели организма животных, повреждение ДНК, уровень тканевых тиолов и когнитивную функцию. Как следует

из данных, представленных в настоящей статье, в интервале доз 0,1–100 мг/кг массы тела в течение 92 сут опыта наноструктурный SiO₂ способен оказывать отдельные воздействия, которые можно интерпретировать как неблагоприятные (снижение активности CYP2B1, уровня общего белка, альбумина, глюкозы в сыворотке крови). Впрочем, для всех этих показателей не удалось установить однозначную зависимость доза – эффект. Для уточнения токсиколого-гигиенической характеристики изучаемого НМ необходимо изучение альтернативных биомаркеров, связанных с предполагаемыми процессами развития его токсического действия. Они могут реализоваться, во-первых, на тканевом уровне, после проникновения НЧ во внутреннюю среду организма и возможного захвата клетками [19]. Наиболее вероятными мишенями такого воздействия являются быстрообновляемые клетки организма, в первую очередь входящие в состав системы кроветворения и иммунной системы. Во-вторых, токсический эффект НЧ может реализоваться опосредованно, за счет их влияния на видовой состав, численность и активность компонентов кишечного микробиоценоза. Данные о возможности проявления указанных эффектов под действием наноструктурного SiO₂ будут представлены в последующих публикациях.

Сведения об авторах

ФГБУ «НИИ питания» РАМН (Москва):

Шумакова Антонина Александровна – младший научный сотрудник лаборатории пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий, аспирант

E-mail: antonina.shumakova@gmail.com

Авреньева Людмила Ивановна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории энзимологии питания

E-mail: avrenyeva@ion.ru

Гусева Галина Владимировна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории энзимологии питания

E-mail: mailbox@ion.ru

Кравченко Лидия Васильевна – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории энзимологии питания

E-mail: kravchenko@ion.ru

Сото Селада Хорхе – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории метаболического и протеомного анализа

E-mail: jsotoc@mail.ru

Ворожко Илья Викторович – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории клинической биохимии, иммунологии и аллергологии Клиники лечебного питания

E-mail: bio45@inbox.ru

Сенцова Татьяна Борисовна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией клинической биохимии, иммунологии и аллергологии Клиники лечебного питания

E-mail: bio45@inbox.ru

Гмошинский Иван Всеволодович – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий

E-mail: gmosh@ion.ru

Хотимченко Сергей Анатольевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий

E-mail: hotimchenko@ion.ru

Тутельян Виктор Александрович – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, директор

E-mail: tutelyan@ion.ru

Литература

1. Ананич И.В., Дерхо М.А. Биохимические показатели крови крыс // Ветеринар. клиника. – 2008. – № 10. – С. 18–19.
2. Верников В.М., Распопов Р.В., Арианова Е.А. и др. Токсиколого-гигиеническая оценка препаратов наноструктурированного диоксида кремния в эксперименте на лабораторных животных // Инновационные технологии в управлении, образовании, промышленности «АСТИНТЕХ-2010». – Астрахань: Астраханский университет, 2010. – С. 4–7.
3. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лаб. дело. – 1983. – № 3. – С. 33–35.
4. Дингл Д. Лизосомы. Методы исследования: Пер. с англ. – М.: Мир, 1980. – 342 с.
5. Зайцева Н.В., Землянова М.А., Звездин В.Н., Саенко Е.В. Токсиколого-гигиеническая оценка безопасности водной суспензии нанодисперсного диоксида кремния, синтезированного методом жидкокристаллического темплатирования // Анализ риска здоровью. – 2013. – № 1. – С. 65–72.
6. Зайцева Н.В., Землянова М.А., Лебединская О.В. и др. Влияние нанодисперсного диоксида кремния на структурные особенности внутренних органов экспериментальных животных // Морфология. – 2013. – Т. 144, № 5. – С. 78–79.
7. Кавешникова С.В., Иванов В.М. Биохимические особенности крови крыс линии Вистар в постнатальном онтогенезе при интоксикации их оксидами азота // Вестн. Ставропольского гос. ун-та. – 2011. – Т. 74, № 1. – С. 100–105.
8. Мальцев Г.Ю., Васильев А.В. Способ определения активности каталазы и супероксиддисмутазы эритроцитов на анализаторе открытого типа. // Вопр. мед. химии. – 1994. – № 2. – С. 56–58.
9. Мальцев Г.Ю., Орлова Л.А. Оптимизация определения активности глутатионредуктазы эритроцитов человека на полуавтоматическом анализаторе // Вопр. мед. химии. – 1994. – № 2. – С. 59–61.
10. Мальцев Г.Ю., Тышко Н.В. Методы определения содержания глутатиона и активности глутатионпероксидазы в эритроцитах // Гиг. и сан. – 2002. – № 2. – С. 69–72.
11. Толстикова Т.Г., Жукова Н.А., Семенов Д.Е. и др. Биохимические показатели крови и количество гепатоцитов в печени крыс с токсическим гепатитом при действии аланинамида бетулоновой кислоты // Фундаментальные исследования (Fundamental Research). – 2012. – № 5. – С. 120–123.
12. Шипелин В.А., Арианова Е.А., Трушина Э.Н. и др. Токсиколого-гигиеническая характеристика фуллерена C60 при его введении в желудочно-кишечный тракт крыс // Гиг. и сан. – 2012. – № 2. – С. 90–94.
13. Шумакова А.А., Арианова Е.А., Шипелин В.А. и др. Токсикологическая оценка наноструктурного диоксида кремния. I. Интегральные показатели, аддукты ДНК, уровень тиоловых соединений и апоптоз клеток печени // Вопр. питания. – 2014. – Т. 83, № 3. – С. 52–62.
14. Burchell B., Weatherill P. 4-Nitrophenol UDP-glucuroniltransferase (rat liver) // Methods Enzymol. – 1981. – Vol. 77. – P. 169–176.
15. Burke M.D., Thompson S., Elcombe C.R. et al. Ethoxy-, pentoxy- and benzyloxyphenoxazones and homologues: a series of substrates to distinguish between different induced cytochromes P-450 // Biochem. Pharmacol. – 1985. – Vol. 34, N 18. – P. 3337–3345.
16. Dhawan A., Taurozzi J.S., Pandey A.K. et al. Stable colloidal dispersions of C60 fullerenes in water: Evidence for genotoxicity // Environ. Sci. Technol. – 2006. – Vol. 40, N 23. – P. 7394–7401.
17. Eom H.J., Choi J. Oxidative stress of silica nanoparticles in human bronchial epithelial cell, Beas-2B // Toxicol. In Vitro. – 2009. – Vol. 23, N 7. – P. 1326–1332.
18. Eom H.J., Choi J. Nanoparticles induced cytotoxicity by oxidative stress in human bronchial epithelial cell, Beas-2B // Environ. Health Toxicol. – 2011. – Vol. 26. – P. e2011013.
19. Fisichella M., Dabboue H., Bhattacharyya S. et al. Mesoporous silica nanoparticles enhance MTT formazan exocytosis in HeLa cells and astrocytes 2009 // Toxicol. In Vitro. – 2009. – Vol. 23, N 4. – P. 697–703.
20. Fujita K., Morimoto Y., Endoh S. et al. Identification of potential biomarkers from gene expression profiles in rat lungs intratracheally instilled with C60 fullerenes // Toxicology. – 2010. – Vol. 274, N 1–3. – P. 34–41.
21. Habig W.H., Pabst M.J., Jakoby W.B. Glutathione-S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation // J. Biol. Chem. – 1974. – Vol. 249, N 22. – P. 7130–7139.
22. Jolly R.D., Walkley S.U. Lysosomal storage diseases of animals: an essay in comparative pathology // Vet. Pathol. – 1997. – Vol. 34, N 6. – P. 527–548.
23. Lake B.G. Preparation and characterization of microsomal fractions for studies on xenobiotic metabolism // Biochemical Toxicology. A Practical Approach / Eds K. Snell, B. Mullock. – Oxford, UK: IRL Press, 1990. – P. 183–215.
24. Mihara M., Uchiyama M., Fukuzawa K. Thiobarbituric acid value on fresh homogenate of rat as a parameter of lipid per-

- oxidation in aging, CCl₄ intoxication and vitamin E deficiency // *Biochem. Med.* – 1980. – Vol. 23, N 3. – P. 302–311.
25. *Nabeshi H., Yoshikawa T., Matsuyama K. et al.* Amorphous nanosilica induce endocytosis-dependent ROS generation and DNA damage in human keratinocytes // *Part. Fibre Toxicol.* – 2011. – Vol. 8, N 1. – P. 1–10.
26. *Napierska D., Thomassen L.C., Rabolli V. et al.* Size-dependent cytotoxicity of monodisperse silica nanoparticles in human endothelial cells // *Small.* – 2009. – Vol. 5, N 7. – P. 846–853.
27. *Omura T., Sato R.* The carbon monoxide binding pigment of liver microsomes. I. Evidence for its hemoprotein nature // *Biol. Chem.* – 1964. – Vol. 239, N 7. – P. 2370–2377.
28. *Park E.J., Park K.* Oxidative stress and pro-inflammatory responses induced by silica nanoparticles in vivo and in vitro // *Toxicol. Lett.* – 2009. – Vol. 184, N 1. – P. 18–25.
29. *Park M.V., Annema W., Salvati A. et al.* In vitro developmental toxicity test detects inhibition of stem cell differentiation by silica nanoparticles // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2009. – Vol. 240, N 1. – P. 108–116.
30. *Rossi E.M., Pytkknen L., Koivisto A.J. et al.* Airway exposure to silica-coated TiO₂ nanoparticles induces pulmonary neutrophilia in mice // *Toxicol. Sci.* – 2010. – Vol. 113, N 2. – P. 422–433.
31. *Sayes C.M., Reed K.L., Glover K.P. et al.* Changing the dose metric for inhalation toxicity studies: short-term study in rats with engineered aerosolized amorphous silica nanoparticles // *Inhal. Toxicol.* – 2010. – Vol. 22, N 4. – P. 348–354.
32. *Shipelin V.A., Trushina E.N., Avreneva L.I. et al.* Toxicological and sanitary characteristics of fullereneol (hydroxylated fullerene C₆₀) in 28-day in vivo experiment // *Nanotechnologies in Russia.* – 2013. – Vol. 8, N 11–12. – P. 799–809.
33. *Thomassen L.C., Aerts A., Rabolli V. et al.* Synthesis and characterization of stable mono-disperse silica nanoparticle sols for in vitro cytotoxicity testing // *Langmuir.* – 2010. – Vol. 26, N 1. – P. 328–335.
34. *Ueng T.H., Kang J.J., Wang H.W. et al.* Suppression of microsomal cytochrome P450-dependent monooxygenases and mitochondrial oxidative phosphorylation by fullereneol, a polyhydroxylated fullerene C₆₀ // *Toxicol. Lett.* – 1997. – Vol. 93, N 1. – P. 29–37.
35. *Yang H., Wu Q., Tang M. et al.* In vitro study of silica nanoparticle-induced cytotoxicity based on real-time cell electronic sensing system // *J. Nanosci. Nanotechnol.* – 2010. – Vol. 10, N 1. – P. 561–568.
36. *Yang X., Liu J., He H.* SiO₂ nanoparticles induce cytotoxicity and protein expression alteration in HaCaT cells // *Part. Fibre Toxicol.* – 2010. – Vol. 7, N 1. – P. 1–10.
37. *Ye Y., Liu J., Xu J. et al.* Nano-SiO₂ induces apoptosis via activation of p53 and Bax mediated by oxidative stress in human hepatic cell line // *Toxicol. In Vitro.* – 2010. – Vol. 24, N 3. – P. 751–758.

Для корреспонденции

Александров Александр Александрович – доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории профилактики хронических неинфекционных заболеваний у детей и подростков ФГБУ «Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины» Минздрава России
 Адрес: 101990, г. Москва, Петроверигский переулок, д. 10
 Телефон: (495) 623-86-36, (499) 553-69-38
 E-mail: aalexandrov@gnicpm.ru

А.А. Александров, Г.И. Порядина, М.Б. Котова, Е.И. Иванова

Особенности пищевого поведения детей и подростков крупных городов (на примере школьников Москвы и Мурманска)

The specificity of schoolchildren's eating habits in Moscow and Murmansk

A.A. Alexandrov, G.I. Poryadina, M.B. Kotova, E.I. Ivanova

ФГБУ «Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины» Минздрава России, Москва
 National Research Centre for Preventive Medicine, Moscow

Цель исследования – оценка особенностей пищевого поведения школьников двух крупных городов – Москвы и Мурманска. В Москве в обследовании приняли участие 443 ребенка (222 мальчика и 221 девочка, средний возраст $14,1 \pm 1,9$ года); в Мурманске – 342 ребенка (183 мальчика и 159 девочек, средний возраст $14,1 \pm 1,8$ года). Проводили анкетный опрос детей: оценивали кратность питания в сутки, частоту потребления фруктов и овощей, продукции фастфуда, горячей пищи, безалкогольных газированных напитков, мясной, молочной, рыбной продукции, копченой продукции, частоту питания в школьной столовой, регулярность завтраков. Родители отвечали на вопросы, касающиеся материального обеспечения семьи, образования. Выявлено, что больше половины (64,4%) школьников Москвы и Мурманска питаются нерегулярно (3 раза в сутки и реже), только половина (50,9%) детей получает горячее питание несколько раз в день. Каждый 3-й ребенок (31,6%) испытывает недостаток в рационе овощей и фруктов, 11,8% – мясных блюд. Только половина (51,4%) детей ежедневно потребляют молочную продукцию 1 или несколько раз в день. При этом несколько раз в неделю и чаще каждый 5-й ребенок (19,5%) потребляет продукцию фастфуда, 42,2% – газированные напитки, а 22,7% – копченую продукцию. Регулярно питаются в школьной столовой только 45,7% детей, 32,5% не посещают школьную столовую совсем и 21,9% питаются там нерегулярно. Достоверных различий между показателями мурманский и московских детей, а также различий по полу не получено. При этом нравится школьное питание только 23,4% детей (26,3% в Москве, достоверно меньше в Мурманске – 19,3%, $p=0,032$), а не нравится – 38,7%, затруднились ответить 37,9% детей. При анализе частоты питания было выявлено, что дети с ожирением ежедневно завтракают реже (54,0%), чем дети, не страдающие ожирением (75,4%, $p=0,019$). При анализе взаимосвязи между образованием матерей и характером питания детей было выявлено, что у матерей с высшим и неоконченным высшим образованием дети более регулярно (3–4 раза

в неделю и чаще) получают в рационе мясные блюда (89,4%), чем у матерей со средним, средним специальным и неполным средним образованием (81,9%, $p=0,034$). Питание детей зачастую является нерегулярным, нерациональным и плохо сбалансированным. Некоторые из обследованных детей уже страдают избытком массы тела (20,7%), что может привести к развитию метаболических и сердечно-сосудистых осложнений в молодом и зрелом возрасте.

Ключевые слова: рацион питания, частота потребления, дети, подростки

Objective of the study is to evaluate the specificity of schoolchildren's eating behavior in the cities of Moscow and Murmansk. Dietary habits of 785 children 10–17 years old residing in two cities – Moscow (222 boys and 221 girls, 14,1±1,9 years old) and Murmansk (183 and 159 correspondingly, 14,1±1,8 years old) – were analyzed. The questionnaire included data on the meals ratio per day, frequency of vegetables and fruit intake, fast-food intake, hot meals, soft drinks, meat, fish and milk intake, usage of school cafeteria, regularity of breakfasts. Parents responded to questions concerning the material support of family and education. It was found that more than half of schoolchildren (64,4%) had meals irregularly (3 times per day or less), only 50,9% received hot meals several times a day. Every third child (31,6%) has insufficient intake of vegetables and fruit, 11,8% – insufficient intake of meat dishes. Only 51,4% of schoolchildren consumed dairy products daily (one or several times a day). At the same time 19,5% of children used fast-food products several times a week or more often, 42,2% – carbonated drinks, and 22,7% – smoked food. Only 45,7% of schoolchildren regularly ate at school cafeteria; 21,9% did it irregularly and 32,5% – did not attend school canteen at all. There were no significant differences between Moscow and Murmansk children as well as gender differences in the usage of school cafeteria. At the same time only 23,4% of children [26,3% in Moscow and 19,3% in Murmansk (significantly less, $p=0,032$)] liked cafeteria food, 38,7% did not like and 37,9% had no certain answer. Less obese children (54,0%) have breakfast everyday than children with normal weight (75,4%, $p=0,019$). Children of mothers with high and incomplete high education (89,4%) have more regular meat intake (3–4 times per week or more often) than the children of mothers with secondary, incomplete secondary and secondary special education (81,9%, $p=0,034$). Schoolchildren feeding is often irregular, irrational and poorly balanced. Some of examined schoolchildren already had excessive body mass (20,7%), that may lead to metabolic and cardiovascular disturbances in young adult and mature age.

Key words: ration, frequency of consumption, schoolchildren, adolescents

Питание детей и подростков тесно сопряжено с процессами обмена веществ в организме и является одним из ключевых факторов, определяющих темпы роста ребенка, его гармоничное развитие, способность к различным формам обучения, адекватную иммунную реакцию, устойчивость к действию инфекций и других неблагоприятных влияний внешней среды [9]. В последние десятилетия питание в целом и детей в том числе стало изменяться, особенно это заметно в крупных городах. Повысилась распространенность продукции предприятий быстрого приготовления, сладких безалкогольных напитков, значительно доступней стали различные кондитерские изделия и так называемые сладости,

чаще употребляются в пищу полуфабрикаты, копченые продукты и т.д. Это неизбежно приводит к росту числа заболеваний, таких как ожирение, сахарный диабет типа 2, желудочно-кишечные расстройства в детском возрасте, омоложению метаболической и сердечно-сосудистой патологии. Обследование детей 3 регионов России показало, что индекс массы тела у детей, часто употребляющих кондитерские изделия, продукты быстрого приготовления, сладкие безалкогольные, в том числе газированные, напитки, был значительно выше [5]. Группой экспертов в области общественного здравоохранения, питания и медицины Европейского региона ВОЗ [16] отмечается, что риск избыточной массы тела повышают рационы

питания с высокой энергетической плотностью (с высоким содержанием жира или сахара и с низким содержанием клетчатки), напитки с высоким содержанием сахара или еда большими порциями. Также они обращают внимание на необходимость ежедневного потребления овощей и фруктов, поскольку они имеют низкую энергетическую плотность и содержат много клетчатки, что способствует насыщению. В своих рекомендациях по питанию Американская кардиологическая ассоциация отмечает, что в питании старших школьников произошли значимые нежелательные изменения. Они включают уменьшение частоты регулярных завтраков, увеличение потребления продуктов питания, приготовленных не дома, рост общей энергетической ценности рациона за счет перекусов, большее потребление жареных и имеющих низкую пищевую ценность продуктов, значительное увеличение размера порций при каждом приеме пищи, рост потребления подслащенных напитков наряду со снижением потребления молочных продуктов, содержащих клетчатку овощей и фруктов и общего потребления фруктов и овощей, за исключением картофеля [12]. По данным многочисленных исследований, рацион большинства детей в России относится к числу недостаточно сбалансированных. Среди современных школьников отмечается снижение потребления продуктов животного происхождения (мяса, молока, рыбы), овощей и фруктов при одновременном увеличении потребления хлеба, круп и макаронных изделий [13].

Цель исследования – оценка особенностей пищевого поведения школьников в 2 крупных городах – Москве и Мурманске.

Материал и методы

В обследовании приняли участие 785 детей в возрасте от 10 до 17 лет – 405 мальчиков и 380 девочек, средний возраст составил $14,1 \pm 1,8$ года. В Москве в обследовании приняли участие 443 ребенка (222 мальчика и 221 девочка, средний возраст $14,1 \pm 1,9$ года), в Мурманске – 342 ребенка (183 мальчика и 159 девочек, средний возраст $14,1 \pm 1,8$ года).

Обследование включало анкетирование школьников и их родителей, антропометрию и измерение АД детям, анализ медицинской документации [медицинская карта ребенка (ф.26/у-2000) для образовательных учреждений].

Поскольку не все анкеты содержали ответы на каждый вопрос, в целом анкетирование позволило получить ответы на различные поставленные вопросы от 638–708 детей. Антропометрия включала измерение роста, массы тела, длины окружности талии, окружности бедер, расчет индекса массы

тела (индекса Кетле, $\text{кг}/\text{м}^2$, ИМТ). Для постановки диагноза «избыточная масса тела» и «ожирение» использовали таблицы со значениями ИМТ у детей и подростков в возрасте от 2 до 18 лет, соответствующими критериям ИМТ у взрослых $25 \text{ кг}/\text{м}^2$ и $30 \text{ кг}/\text{м}^2$ (ожирение) [13].

В анкетах дети отвечали на следующие вопросы: кратность питания в сутки, частота потребления фруктов и овощей, продукции фастфуда, частота потребления горячей пищи, газированных напитков, мясной, молочной, рыбной продукции, копченых продуктов, питание в школьной столовой, регулярность завтраков. Анкета для родителей включала вопросы, касающиеся семейного положения, образования матери и материального обеспечения семьи.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета прикладных программ SPSS-20 («SPSSInc.», США). Данные анализировали на соответствие распределения значений изучаемого признака закону нормального распределения. В зависимости от вида распределения мерами центральной тенденции и рассеяния служили среднее значение (M) и стандартное отклонение (SD). При сравнении средних значений, или медиан, применяли t -критерий Стьюдента. Для оценки различий категориальных переменных в подгруппах использовали критерий χ^2 . Достоверным считали уровень значимости при $p < 0,05$.

Результаты

Всего детей с избыточной массой тела и ожирением было выявлено 20,7%, избыток массы тела был выявлен у 17,0% обследованных детей, а ожирение – у 3,7%. В Мурманске количество детей с избыточной массой тела и ожирением (24,6%) превышало таковое в Москве (17,7%, $p = 0,03$). Число мальчиков с ожирением и избыточной массой тела (24,9%) также было больше, чем девочек (16,1%, $p = 0,005$).

Анкетирование показало, что лишь примерно пятая часть детей имеет адекватное 4–5-разовое питание в течение дня; есть даже школьники, питающиеся всего 1 раз в сутки. 17,9% детей не имеют регулярной кратности питания (табл. 1). Достоверной разницы по показателям частоты приема пищи в зависимости от половой принадлежности, а также между московскими и мурманскими школьниками не выявлено.

Нельзя назвать вполне благополучной ситуацию с потреблением школьниками овощей и фруктов: только половина обследованных получают их ежедневно, еще меньшее число – несколько раз в день (табл. 2). Достоверной разницы между показателями московских и мурманских детей, а также разницы по полу не получено.

Что касается продукции фастфуда, то многие дети употребляют ее по несколько раз в неделю; при этом отмечается разница по полу – мальчики (23%) чаще девочек (15,8%, $p=0,01$). Мурманские дети достоверно чаще потребляли продукцию предприятий быстрого питания (26,4%), чем московские (14,7%, $p<0,001$) (табл. 3).

Только половина детей получали горячую пищу несколько раз в день и треть – 1 раз в день; 16% детей питались горячей пищей крайне редко – несколько раз в неделю и реже, а 2,1% – редко или не получали совсем (табл. 4). Достоверных различий по этому показателю между московскими и мурманскими школьниками, а также между мальчиками и девочками не получено.

При анализе частоты потребления газированных напитков было выявлено, что 51,4% мальчиков употребляли их несколько раз в неделю и чаще, причем частота потребления среди них достоверно выше, чем среди девочек, – 32,1% ($p<0,001$).

В целом почти половина детей (42,2%) потребляют газированные напитки несколько раз в неделю и чаще, из них 3,3% – несколько раз в день, 5,5% – ежедневно, 33,4% – несколько раз в неделю. 57,8% пьют газированные напитки относительно редко, из них 34,6% – несколько раз в месяц, 12,8% – несколько раз в год, и только 10,5% не потребляют совсем. Достоверных различий между мурманскими и московскими школьниками не получено.

При рассмотрении вопроса о потреблении мясной, рыбной и молочной продукции обнаружено, что всего 88,2% детей потребляли мясную продукцию 3–4 раза в неделю и чаще, из них 42,1% – ежедневно и чаще, 46,1% – 3–4 раза в неделю (табл. 5). Практически каждый 10-й ребенок (11,8%) потреблял мясные продукты крайне редко: 1 раз в неделю – 10,2%, не употребляют совсем – 1,6%. Достоверно больше московских школьников потребляли мясные продукты 3–4 раза в неделю и чаще (91,5%) по сравнению

Таблица 1. Кратность приемов пищи школьниками Москвы и Мурманска

Кратность приема пищи	Обследованные		
	Мурманск	Москва	всего
1 раз в день	3 (1,0%)	7 (1,7%)	10 (1,4%)
2 раза в день	48 (16,4%)	53 (12,8%)	101 (14,3%)
3 раза в день	138 (47,3%)	205 (49,6%)	343 (48,7%)
4–5 раз в день	42 (14,4%)	83 (20,1%)	125 (17,7%)
По-разному	61 (20,9%)	65 (15,8%)	126 (17,9%)
Итого	292	413	705

Таблица 2. Частота потребления фруктов и овощей школьниками Москвы и Мурманска

Частота	Обследованные		
	Мурманск	Москва	всего
Несколько раз в день	54 (18,6%)	72 (17,5%)	126 (17,9%)
Ежедневно	143 (49,1%)	212 (51,5%)	355 (50,5%)
4–5 раз в неделю	51 (17,5%)	65 (15,8%)	116 (16,5%)
2–3 раза в неделю	29 (10,0%)	45 (10,9%)	74 (10,5%)
Несколько раз в месяц	12 (4,1%)	11 (2,7%)	23 (3,3%)
Очень редко/не употребляю	2 (0,7%)	7 (1,6%)	9 (1,3%)
Итого	291	412	703

Таблица 3. Частота потребления продукции фастфуда школьниками Москвы и Мурманска

Частота	Обследованные		
	Мурманск	Москва	всего
Несколько раз в день	4 (1,4%)	1 (0,2%)	5 (0,7%)
Ежедневно	8 (2,8%)	5 (1,2%)	13 (1,8%)
Несколько раз в неделю	65 (22,2%)	55 (13,3%)	120 (17,0%)
Несколько раз в месяц	97 (33,1%)	200 (48,4%)	297 (42,1%)
Несколько раз в год	74 (25,2%)	124 (30,1%)	198 (28,1%)
Не употребляю	45 (15,3%)	28 (6,8%)	73 (10,3%)
Итого	293	413	706

Таблица 4. Частота приема горячей пищи школьниками Москвы и Мурманска

Частота	Обследованные		
	Мурманск	Москва	всего
Несколько раз в день	157 (53,6%)	202 (48,9%)	359 (50,9%)
1 раз в день	93 (31,7%)	143 (34,6%)	236 (33,4%)
Несколько раз в неделю	31 (10,6%)	49 (11,9%)	80 (11,3%)
Несколько раз в месяц	7 (2,4%)	9 (2,2%)	16 (2,3%)
Редко/не употребляют	5 (1,7%)	10 (2,4%)	15 (2,1%)
Итого	293	413	706

Таблица 5. Частота потребления мясной, рыбной и молочной продукции школьниками Москвы и Мурманска

Частота	Мясная продукция		Рыбная продукция		Молочная продукция	
	обследованные					
	Мурманск	Москва	Мурманск	Москва	Мурманск	Москва
1 раз в день и чаще	121 (41,2%)	177 (42,9%)	23 (7,9%)	15 (3,6%)	154 (53,1%)	208 (50,1%)
3–4 раза в неделю	124 (42,2%)	202 (48,9%)	66 (22,7%)	87 (21,0%)	99 (34,1%)	155 (37,5%)
1 раз в неделю	41 (13,9%)	31 (7,5%)	143 (49,1%)	238 (57,5%)	24 (8,3%)	40 (9,5%)
Не употребляют	8 (2,7%)	3 (0,7%)	59 (20,3%)	74 (17,9%)	13 (4,5%)	12 (2,9%)
Итого	294	413	291	414	290	415

с мурманскими (83,4%, $p=0,001$). Также среди мальчиков их доля (92,2%) достоверно выше, чем среди девочек (83,9%, $p=0,001$). При этом более частое потребление мясных продуктов мальчиками по сравнению с девочками выявлено как в Мурманске (88,4% против 76,9%, $p=0,009$), так и в Москве (95,2% против 88,4%, $p=0,01$). Рыбную продукцию в группе в целом относительно часто (3–4 раза в неделю и чаще) потребляли только 27,1% детей, из них 5,4% – ежедневно и чаще, 21,7% – 3–4 раза в неделю (табл. 5). 72,9% рыбную продукцию потребляли редко, из них 54,0% – 1 раз в неделю и 18,9% не употребляли совсем. Достоверных различий между частотой потребления рыбных продуктов среди мурманских и московских школьников не получено, хотя логично было предположить, что мурманские школьники, живущие у моря, должны рыбу есть чаще. В группах московских и мурманских школьников достоверных различий по признаку пола по этому показателю не получено. Молоко и молочную продукцию получали 3–4 раза в неделю и чаще 87,4% опрошенных детей; только половина детей (51,4%) потребляли молоко ежедневно и чаще, а 36,0% – 3–4 раза в неделю (см. табл. 5). 12,6% потребляли молочные продукты 1 раз в неделю и реже: 9,1% – 1 раз в неделю, а 3,6% не употребляли совсем. Достоверных различий в частоте потребления молока у мурманских и московских школьников, а также у мальчиков и девочек не получено (см. табл. 5).

Три раза в неделю и чаще употребляли в пищу копченые продукты 22,7% детей, 63,0% ели копчености реже, а 14,3% затруднились ответить;

мальчики (28,7%) ели такие продукты достоверно чаще, чем девочки (16,1%, $p<0,001$). Достоверных различий по регионам не получено.

Регулярно питались в школьной столовой только 45,7% детей, 32,5% не посещали школьную столовую совсем и 21,9% питались в столовой нерегулярно. Достоверных различий между мурманскими и московскими детьми, а также различий по полу не получено. При этом нравилось школьное питание только 23,4% детей [26,3% в Москве, достоверно меньше ($p=0,032$) – 19,3% – в Мурманске], а не нравилось – 38,7%, затруднились ответить 37,9% детей. Различий по полу по этому показателю не выявлено.

Всего по группе две трети детей завтракали каждый день (табл. 6), хотя около 5% не завтракали совсем. Мурманские школьники завтракали ежедневно достоверно реже, чем московские ($p=0,001$). В целом по группе выявлена тенденция к более частым ежедневным завтракам среди мальчиков (76,5%) по сравнению с девочками (70,9%, $p=0,06$).

По данным анкетирования родителей обследованных школьников было выявлено, что 66,4% матерей имеют высшее образование, 5,9% – неоконченное высшее, 27,2% – среднее или среднее специальное и 0,5% – неполное среднее. Высшее и неоконченное высшее образование в Москве имеют 82,3% матерей, в Мурманске – 58,1% ($p<0,001$).

Материальное обеспечение семей обследованных школьников оценивали по следующим показателям: живут от зарплаты до зарплаты 14,1% семей, 7,4% семей денег хватает на продук-

Таблица 6. Частота завтраков у школьников Москвы и Мурманска

Частота завтраков	Обследованные		
	Мурманск	Москва	Всего
Ежедневно	199 (67,9%)	326 (78,6%)	525 (74,2%)
В будние дни	20 (6,8%)	11 (2,7%)	31 (4,4%)
В выходные дни	15 (5,1%)	13 (3,1%)	28 (3,9%)
Редко	43 (14,7%)	45 (10,8%)	88 (12,4%)
Не завтракают	16 (5,5%)	20 (4,8%)	36 (5,1%)
Итого	293	415	708

ты, но покупка одежды затруднительна, 11,3% – денег в основном хватает, но приобретение товаров длительного пользования затруднительно, 42,0% семей денег хватает на покупку телевизора, холодильника, но недостаточно для приобретения квартиры, 23,0% ни в чем себе не отказывают; отметили ответ «другое» 2,3% матерей. Первые 3 пункта нами были оценены как средняя материальная обеспеченность, 4-й и 5-й пункты – как хорошая. В Москве хорошее материальное положение имели 72,4% семей, что достоверно выше, чем в Мурманске – 58,4% ($p < 0,001$).

При анализе частоты питания было выявлено, что дети, страдающие ожирением, ежедневно завтракают реже (54,0%), чем дети без ожирения (75,4%, $p = 0,019$). При анализе взаимосвязи между образованием матерей и характером питания детей было выявлено, что у матерей с высшим и неоконченным высшим образованием дети чаще получают в рационе мясные блюда (89,4%), чем у матерей со средним, средним специальным и неполным средним образованием (81,9%, $p = 0,034$).

При анализе связи материального обеспечения и особенностей питания было выявлено, что в Мурманске в школьной столовой питались 62,0% детей из семей со средним уровнем материальной обеспеченности и 44,6% из семей с хорошим материальным достатком ($p = 0,012$). По Москве достоверных различий не получено.

Обсуждение

Проведенное нами обследование выявило ряд особенностей пищевого поведения школьников, которые приводят к существенным нарушениям режима и рациона питания. Так, в Москве и Мурманске большинство детей и подростков испытывают недостаток в рационе овощей и фруктов, что может привести к дефициту некоторых витаминов, минеральных веществ, пищевых волокон, нарушению работы желудочно-кишечного тракта. Вероятно, дефицит фруктов и овощей является результатом стереотипа неправильного пищевого поведения детей и подростков в целом, неправильной организации режима питания, а также

тем, что продукты с высокой пищевой плотностью вытесняются из рациона продуктами предприятий быстрого питания, которые технически проще использовать как перекусы в условиях современной активной жизни детей и подростков в крупных городах. L.K. Fraser и соавт. [15] указывают, что частое потребление продукции фастфуда становится причиной избыточной массы тела и ожирения, распространенность которых принимает характер эпидемии.

Овощи и фрукты в достаточном количестве должны быть обязательной составляющей пищевого рациона, поскольку, обеспечивая организм некоторыми витаминами, антиоксидантами и пищевыми волокнами, они играют важную роль в формировании здоровья [1]. Диета, богатая овощами и фруктами, ассоциируется с более низкой частотой сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний, а недостаточное потребление фруктов и овощей объясняет 12,9% общей смертности [2].

Важную роль играет то, как часто ребенок завтракает, поскольку это является частью здорового питания. Все реже дети регулярно завтракают дома. При обследовании подростков 12–16 лет, проведенном в ЮЗАО г. Москвы [8], было выявлено 49% ежедневно завтракающих детей, что значительно меньше данных, полученных в нашем обследовании московских и мурманских школьников. Этот факт, возможно, связан с тем, что в нашу выборку были включены дети более младшего возраста, которые имеют правильный рацион питания за счет того, что лучше контролируются родителями. При обследовании, проведенном С. Currie с соавт. в 2009–2010 гг., была установлена прямая зависимость между регулярностью приема пищи утром и частотой развития ожирения, курения и даже девиантного поведения [14].

В обоих городах у школьников отмечается дефицит горячего питания, что довольно характерно для крупных городов с большими расстояниями, так как дети подросткового возраста, особенно старшекласники, часто имеют дополнительные занятия, посещают различные секции, что уменьшает время их пребывания дома и возможность получить горячую домашнюю пищу. Подобные

результаты были получены в Казани [11]. Авторы отмечают, что охват регулярным горячим питанием детей младшего школьного возраста составляет 71,9%, а ближе к подростковому возрасту число таких детей значительно уменьшается. Питание школьников москвичей и мурманчан является недостаточно регулярным. В то же время регулярность питания влияет на здоровье ребенка и на показатели качества жизни в физической и психологической сфере [10].

Кроме дефицита овощей и фруктов в питании школьников Москвы и Мурманска мы отметили также недостаток в рационе мясной, рыбной и молочной продукции. Это может привести к нехватке белка, незаменимых аминокислот, ненасыщенных жирных кислот, кальция, витаминов, а также может стать причиной нарушения роста, ухудшения иммунитета и пр. По уровню материальной обеспеченности не выявлено достоверных различий в числе детей, регулярно потребляющих мясные продукты, что подтверждает важность привычек или стереотипов пищевого поведения, а не цены пищевых продуктов при составлении рациона питания. Мальчики потребляют больше мясной продукции по сравнению с девочками, что, вероятно, отражает общую ситуацию в популяции. Москвичи потребляют мясные блюда чаще мурманчан; возможно, это говорит о большей распространенности представлений о здоровом образе жизни в столице. Также потребление мясной продукции оказалось несколько чаще в семьях, где матери имеют высшее и неоконченное высшее образование. Возможно, это связано, как мы упоминали выше, с большей приверженностью к здоровому образу жизни у этой категории людей и с большим достатком. По частоте потребления рыбной продукции не получено достоверных различий в Мурманске и Москве, несмотря на разные географические особенности городов. Интересно отметить, что более 76% красноярских школьников ежедневно получали молоко [3], что отличается от полученных результатов нашего обследования московских и мурманских детей, где ежедневно потребляли молоко лишь половина школьников. Столь высокий показатель красноярского исследования, вероятно, связан с проводимой в городе програм-

мой «Школьное молоко», предусматривающей бесплатное обеспечение молоком всех учащихся общеобразовательных школ.

Как показывают многие исследования особенностей пищевого поведения школьников, очевидный недостаток в рационе питания овощей, фруктов, молочных, мясных, рыбных блюд восполняется, к сожалению, избытком продукции предприятий быстрого приготовления, безалкогольных газированных напитков, копченых продуктов. Эта продукция содержит избыток жиров, углеводов и искусственные усилители вкуса, поэтому неудивительно, что дети и подростки отдают им предпочтение. Они вкуснее школьного питания и удобны в качестве перекусов в течение дня. Однако эта продукция относится к гиперкалорийной и содержит избыток веществ, нежелательных для включения в детское питание. Газированные напитки могут неблагоприятно сказываться на обеспечении организма ребенка необходимыми микронутриентами, такими как кальций, вследствие содержания в них фосфатов. Мальчики более склонны к употреблению вредных продуктов по сравнению с девочками. При обследовании 12–13-летних школьников Ярославля [4] у значительной части детей установлено нарушение режима и качественного состава питания, в том числе отсутствие завтрака, поздний ужин, недостаточное потребление натурального мяса, рыбы, овощей и фруктов, повышенное потребление продукции фастфуда. Аналогичные нарушения были выявлены при обследовании молдавских детей [6]. Серьезные нарушения в рационе питания (недостаточное число детей завтракающих, достаточно потребляющих овощи и фрукты) выявлены среди польских [18] и словацких [17] детей.

Таким образом, среди школьников Москвы и Мурманска отмечаются нарушения пищевого поведения, приводящие к тому, что питание детей зачастую является нерегулярным, нерациональным и плохо сбалансированным, что может сказываться на состоянии их здоровья. Так, часть обследованных детей страдает артериальной гипертензией, ожирением и избыточной массой тела, что может привести к развитию метаболических и сердечно-сосудистых осложнений у них в молодом и зрелом возрасте.

Сведения об авторах

ФГБУ «Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины» Минздрава России (Москва):

Александров Александр Александрович – доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории профилактики хронических неинфекционных заболеваний у детей и подростков

E-mail: aalexandrov@gnicpm.ru

Порядина Галина Ивановна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории профилактики хронических неинфекционных заболеваний у детей и подростков

E-mail: porjadina1@yandex.ru

Котова Марина Борисовна – кандидат психологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории профилактики хронических неинфекционных заболеваний у детей и подростков

E-mail: mkotova@gnicprn.ru

Иванова Елена Ильинична – научный сотрудник лаборатории профилактики хронических неинфекционных заболеваний у детей и подростков

E-mail: eivanova@gnicprn.ru

Литература

1. *Бородулина Т.В., Суржик А.В.* Значение овощей и фруктов в питании детей: пищевые волокна // *Вопр. дет. диетологии.* – 2008. – Т. 6, № 4. – С. 73–76.
2. Всемирный банк. Рано умирать: проблемы высокого уровня заболеваемости и преждевременной смертности от неинфекционных заболеваний и травм в Российской Федерации и пути их решения. – М.: Алекс, 2006. – 170 с.
3. *Грицинская В.Л.* Характеристика физического развития и питания школьников городского и сельского населения Красноярского края // *Вопр. дет. диетологии.* – 2012. – Т. 10, № 5. – С. 8–11.
4. *Иванова И.В., Черная Н.Л., Николаев А.Г., Сенягина Е.И.* Особенности и стереотипы питания современных школьников г. Ярославля // *Вопр. дет. диетологии.* – 2008. – Т. 6, № 1. – С. 25–28.
5. *Конь И.Я., Волкова Л.Ю., Санникова Н.Е. и др.* Связь между избыточной массой тела и фактическим потреблением кондитерских изделий, продуктов быстрого приготовления (fast food) и сладких безалкогольных газированных напитков (мультицентровое исследование российских школьников) // *Вопр. питания.* – 2010. – Т. 79, № 1. – С. 1–4.
6. *Мэтрэгунэ Н.Г., Ревенко, Н.Е., Бикир-Тхорак Л. и др.* Роль питания в развитии артериальной гипертензии у детей с избыточной массой тела и ожирением // *Вопр. дет. диетологии.* – 2012. – Т. 10, № 6. – С. 57–59.
7. *Онищенко Г.Г.* Задачи и стратегия школьного питания в современных условиях // *Вопр. питания.* – 2009. – Т. 8, № 1. – С. 16–22.
8. *Пивень Е.А., Дрожжина Н.А.* Особенности питания школьников города Москвы. Российский университет дружбы народов // *Материалы XIV конгр. «Питание и здоровье».* – М., 2012. – С. 67.
9. *Детское питание. Руководство для врачей / Под ред. В.А. Тутельяна, И.Я. Коня.* – М., 2009.
10. *Рычкова С.В.* Влияние режима питания и массы тела у детей старшего школьного возраста на качество жизни // *Вопр. дет. диетологии.* – 2008. – Т. 6, № 5. – С. 28–32.
11. *Сайтгалеева Ф.И., Идиатуллова С.Ф., Степанова Н.В. и др.* Значение школьного питания в формировании здорового организма. Казанский государственный медицинский университет // *Материалы XI Всерос. конгр. диетологов и нутрициологов «Питание и здоровье».* – М., 2009. – С. 137.
12. *Branca F., Nikogosian H., Lobstein T.* Проблема ожирения в Европейском Регионе ВОЗ и стратегии ее решения. – Copenhagen, Denmark: WHO Regional Office for Europe, 2009.
13. *Cole T.J., Bellizzi M.C., Flegal K.M., Dietz W.H.* Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: International survey // *BMJ.* – 2000. – Vol. 320 (7244). – P. 1–6.
14. *Currie C. et al. (eds).* Social determinants of health and well-being among young people. Health Behaviour in School-aged Children (HBSC) study: International report from the 2009/2010 survey. – Copenhagen: WHO Regional Office for Europe, 2012 (Health Policy for Children and Adolescents)
15. *Fraser L.K., Clarke G.P., Cade J.E., Edwards K.L.* Fast food and obesity: A spatial analysis in a large United Kingdom population of children aged 13–15 // *Am. J. Prev. Med.* – 2012. – Vol. 42, N 5. – P. 77–85.
16. *Gidding S.S., Dennison B.A., Leann L.* Dietary recommendations for children and adolescents. A guide for practitioners // *Circulation.* – 2005. – Vol. 112. – P. 2375.
17. *Vitariusova E., Babinska K. et al.* The physical activity and free time activities of children in Slovakia // *Pediatrica Prax.* – 2009. – Vol. 10, N 2. – P. 94–98.
18. *Woynarowska B., Malkowska-Szkutnik A., Mazur J. et al.* School meals and policy on promoting healthy eating in schools in Poland // *Med. Wieku Rozwoj.* – 2011. – Vol. 15, N 3. – P. 232–239.

Для корреспонденции

Быков Илья Михайлович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фундаментальной и клинической биохимии ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России
 Адрес: 350063, г. Краснодар, ул. Седина, д. 4
 Телефон: (861) 268-02-30
 E-mail: ilyamb@ksma.ru

И.М. Быков¹, А.А. Басов¹, М.И. Быков¹, Р.А. Ханферьян²

Сравнительная оценка антиокислительной активности и содержания прооксидантных факторов у различных групп пищевых продуктов

Comparative evaluation of antioxidant activity and content of prooxidant factors in different classes of foods

I.M. Bykov¹, A.A. Basov¹, M.I. Bykov¹, R.A. Khanferyan²

¹ ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Краснодар

² ФГБУ «НИИ питания» РАМН, Москва

¹ Kuban State Medical University, Krasnodar

² Institute of Nutrition of Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

Изучение в лабораторных условиях антиоксидантных и прооксидантных показателей различных групп пищевых продуктов с помощью биофизических методов [хемилюминесценция (ХЛ), амперометрия] позволяет выполнять оценку их прооксидантно-антиоксидантного потенциала. У части пищевых продуктов преобладает способность оказывать прооксидантное воздействие (in vitro) за счет кратковременной индукции процессов свободнорадикального окисления (СРО). Так, среди свежевыжатых соков увеличение максимума вспышки ХЛ выявлено у соков из авокадо (1080,89%) и груши (136,33%), тогда как наименьшая способность к повышению интенсивности свободнорадикальных процессов отмечена для соков из граната (1,63%), апельсина (9,68%) и яблока (12,84%), а среди молочных продуктов – у ряженки (9,06%) и йогуртов (15,11–16,02%), что позволяет применять последние для коррекции прооксидантно-антиоксидантного баланса пищевого рациона у людей с потенциальной опасностью усиления перекисных процессов, например при особых физиологических состояниях, занятиях спортом, ментальных и эмоциональных перегрузках. Способность повысить интенсивность СРО также выявлена у продуктов, используемых для перекуса (печенье, хлебные палочки и др.), что указывает на риск формирования окислительного стресса в организме при их длительном употреблении. Для плавленых сыров и творожных сырков обнаружено увеличение площади хемилюминесценции на 2,1–20,7%, указывающее на преобладание оксидативных факторов с пролонгированным эффектом, что свидетельствует о возможности развития дисбаланса в функционировании прооксидантно-антиоксидантной системы при длительном их использовании в пищевом рационе даже в небольших количествах, особенно у лиц с пониженным потенциалом антиоксидантного звена системы неспецифической защиты организма. Исследование антиокси-

дантной активности пищевых продуктов выявило существенное преобладание восстановительных эквивалентов у всех свежевыжатых и некоторых пакетированных фруктовых соков, молочных продуктов (кефир, йогурт, ряженка), что свидетельствует об их потенциальной способности повышать емкость восстановительных компонентов системы неспецифической защиты. Наличие у ряда продуктов, используемых для перекуса (чипсы, воздушный рис), достаточно высоких показателей антиокислительной активности указывает на содержание веществ, выступающих в роли донатора протона и обладающих существенной восстанавливающей способностью. При этом достаточно высокая энергетическая ценность таких продуктов говорит о возможности вовлечения их восстановительных факторов в пластические процессы с последующим усилением, например липогенеза, что может являться предпосылкой для развития ожирения, атеросклероза и других патологических процессов. Использование комплексного подхода позволит своевременно и адекватно корректировать соотношение прооксидантных и антиоксидантных показателей пищевого рациона в целях повышения адаптационных возможностей организма при патологических или особых физиологических состояниях, сопровождающихся нарушениями окислительного метаболизма.

Ключевые слова: антиоксидантная система, прооксиданты, пищевые продукты, хемилюминесценция, свободнорадикальное окисление

By using the biophysical methods (chemiluminescence, amperometry) in laboratory in vitro experiments it was demonstrated that the study of antioxidant and pro-oxidant activities of different food groups allows to perform a preliminary assessment of their pro-oxidant-antioxidant capacity. It has been shown that some food prevails ability to exert pro-oxidant effects (in vitro) due to the short-term induction of free radical oxidation. Thus, among the fresh juices the increase of the maximum of flash chemiluminescence has been detected in avocado (1080,89%) and pear juices (136,33%), whereas the lowest ability to enhance the intensity of free radical processes has been marked for pomegranate (1,63%), orange (9,68%) and apples juices (12,84%). Among milk products it has been marked for sour milk (9,06%) and yogurt (15,11–16,02%), that allows the use of the past to correct pro-oxidant-antioxidant balance diet for people with potential danger gain peroxide processes, such as special physiological states, sport endurance, mental and emotional overload. The ability to increase the intensity of free radical oxidation have been also identified for snacks, especially buns, biscuits, bread sticks, showing the risk of formation of oxidative stress in the body during their prolonged use, particularly under the above described conditions. In some cases, foods (processed cheese and cheese curds) showed dominance factors sustained oxidative effect (in 2,1–20,7%), that indicates the possibility of an imbalance in the pro-oxidant-antioxidant system after its prolonged use in the diet, even in small quantities, especially in individuals with a reduced level of antioxidant potential of the nonspecific defense system. Investigation of antioxidant activity of foods revealed significant predominance of reducing equivalents in all freshly squeezed and some packaged fruit juices, as well as dairy products, indicating their possibility to increase the capacity of reducing components of nonspecific protection system. The presence in a number of products used for snacking (chips, puffed rice) of sufficiently high levels of antioxidant activity demonstrates the content of substances that act as proton donor having significant reducing ability. It is sufficient for high energy value of such products, indicating on the possibility of involvement of their recovery factors in plastic processes with subsequent enhancement, such as lipogenesis, that may be a prerequisite for the development of obesity, atherosclerosis and other pathological processes. Using an integrated approach will enable a timely and appropriate to correct the ratio of pro- and antioxidant indicators of diet in order to improve the adaptive capacity of the organism in a particular physiological or pathological conditions involving oxidative metabolism disorders.

Key words: antioxidant system, pro-oxidants, food, chemiluminescence, peroxidation

Постоянное воздействие на организм человека разнообразных агрессивных факторов внешней среды физической, химической и биологической природы, а также высокая распространенность вредных привычек (курение, алкоголизм, наркомания) создают условия для снижения адаптационных возможностей организма, следствием чего является изменение окислительного метаболизма и прежде всего увеличение интенсивности процессов свободнорадикального окисления (СРО) с последующим неферментативным окислением биосубстратов, в результате которых образуются различные продукты окислительной модификации, снижающие устойчивость мембран, нарушаю-

щие работу ферментов и ускоряющие разрушение клеток, в том числе путем стимуляции апоптоза [6]. Кроме того, в результате усиления реакций СРО в организме формируется окислительный стресс (ОС), являющийся типовым патологическим процессом и встречающийся при многих заболеваниях (сахарном диабете, атеросклерозе, онкологии, ревматической, нейродегенеративной и другой патологии), значительно сокращающих продолжительность жизни населения. Учитывая универсальность течения ОС, представляется возможным уменьшение его отрицательных эффектов, в том числе с помощью своевременной терапии, включающей не только лекарственные препараты, но

и биологически активные добавки к пище и пищевые продукты с высоким содержанием нутриентов с антиоксидантной направленностью. Использование пищевых продуктов в целях коррекции дисбаланса прооксидантно-антиоксидантной системы является актуальным, так как известно, что диетотерапия может оказывать выраженное влияние на продолжительность жизни, запуская метаболическую перестройку за счет перераспределения энергетических потоков, сопровождающихся уменьшением продукции активных форм кислорода [1, 5, 2, 12]. Также в литературе описана способность ряда лекарственных препаратов и биодобавок оказывать прооксидантное и антиоксидантное воздействие на организм в зависимости от дозировки, способа применения и функциональной активности эндогенной системы неспецифической защиты, что необходимо учитывать при использовании этих средств с профилактической и лечебной целью. В связи с этим представляется обоснованным предварительное изучение показателей антиоксидантной активности и прооксидантных свойств у нутриентов и пищевых продуктов, что повысит эффективность разрабатываемых способов нутриционной коррекции дисбаланса прооксидантно-антиоксидантной системы.

Учитывая вышеописанное, **целями** исследования являлись определение общей антиоксидантной активности (АОА) и оценка содержания прооксидантных факторов в различных группах пищевых продуктов в тест-системах *in vitro*.

Материал и методы

Объектом исследования послужили пищевые продукты, приобретенные в оптово-розничной сети Краснодар, в количестве 10 проб для каждого изученного продукта. Всего были изучены 10 разных видов свежесжатых соков (фрешей), 2 пакетированных сока (производства ОАО «Лебедянский», Россия), 2 йогурта [ОАО «Вимм-Билль-Данн» (1) и ООО «Данон Индустрия» (2)], кефир и ряженка российского производства, 6 плавленых сыров [ООО «Лакталис Истра» (1, 2, 3) и «Хохланд Руссланд» (4, 5, 6)], 3 творожных сырка [ОАО «Вимм-Билль-Данн» (1 и 2) и ЗАО «Кореновский МКК» (3)], 2 вида чипсов [бекон (1), зеленый лук (2)], 2 вида попкорна, воздушный рис, вафли, киевские сдобные сухари, соломка соленая, хлебные палочки с сыром, изделие хлебобулочное (плюшка «Московская»), 3 вида печенья [ореховое (1), «Мария» традиционное (2), «Кубаночка» (3)].

Интенсивность СРО определяли с помощью хемилюминесцентного метода, путем оценки вспышки хемилюминесценции (ХЛ), с определением ее максимума (МВХЛ) и площади (ПВХЛ)

по люминол-зависимой H_2O_2 -индуцированной ХЛ на хемилюминотестере «ЛТ-01» (НПО «Люмин», г. Ростов-на-Дону, РФ) по методике [3] и выражали в процентах по отношению к МВХЛ в контрольных пробах (без опытного материала), а также в единицах площади (ед. пл.) по отношению к ПВХЛ контрольных проб.

Определение АОА проводили амперометрически на анализаторе антиоксидантной активности «Яуза-01-AAA» (ОАО НПО «Химвтоматика», РФ) на основании методики [8], по которой сначала при определенном потенциале (1,3 В) измеряли электрический ток, возникающий при окислении на поверхности рабочего электрода стандарта (аскорбиновой кислоты в концентрации от 0,1 до 8,0 мг/л), на основании полученных данных выполняли построение калибровочного графика. Исследуемые пищевые продукты гомогенизировали и растворяли в элюенте (2,2 мМ раствор ортофосфорной кислоты) в соотношении 1:10–1:1000, для нежидких пищевых продуктов предварительно проводили стандартизованную подготовку (гомогенизацию) с последующим растворением в элюенте (с разведением 1 г продукта в 9 мл элюента). Далее измеряли электрический ток, возникающий при окислении опытного образца (в условиях, идентичных калибровке), и сравнивали полученные данные с калибровочным графиком, результаты выражали в аскорбиновых эквивалентах (мг/л vit C). Исследование выполнено в соответствии с заданием Минобрнауки России (проект № 4.1755.2011).

Статистическую обработку полученных данных осуществляли методами вариационной статистики при помощи ЭВМ с использованием свободного программного обеспечения – системы статистического анализа R («R Development Core Team», Австрия, 2008, достоверным считали различие при $p < 0,05$).

Результаты и обсуждение

В результате проведенных исследований установлено, что среди изученных пищевых продуктов отмечены существенные различия в показателях АОА и содержании прооксидантных факторов как между разными классами пищевых продуктов, так и среди однотипных. При этом наиболее высокая АОА отмечена для ряда свежесжатых соков, полученных из гранта > авокадо > мандарина > апельсина, которая была значительно больше (в 1,95–3,98 раза) АОА свежесжатых соков из яблока и хурмы. В то же время количество факторов, обладающих прооксидантным воздействием на организм, у этих же соков характеризовалось определенными особенностями, характеризующимися в том числе отсутствием обратной взаимосвязи между интенсивностью ХЛ и показателя-

ми АОА исследованных соков. Так, способность свежевыжатого сока авокадо увеличивать МВХЛ и ПВХЛ была существенно больше, чем у остальных соков, особенно сильно превышая аналогичные показатели гранатового, апельсинового и яблочного фрешей (табл. 1). Следует отметить, что АОА и содержание прооксидантных факторов у изученных пакетированных соков также значительно отличались от величин, ожидаемых при наличии обратной корреляции между интенсивностью ХЛ и показателями АОА указанных соков. При этом у апельсинового сока АОА и МВХЛ были сопоставимы с показателями апельсинового фреша, тогда как АОА пакетированного яблочного сока была меньше на 47,2% в сравнении с яблочным фрешем, а показатели МВХЛ и ПВХЛ, наоборот, оказались повышенными соответственно на 46,9 и 275,7%, что в данном случае отражает существенно меньшие возможности пакетированного сока снижать дисбаланс в работе прооксидантно-антиоксидантной системы при использовании его в пищевом рационе по сравнению с большинством свежевыжатых соков (см. табл. 1).

При изучении молочных продуктов установлено, что антиоксидантный потенциал кефира, йогуртов и ряженки в несколько раз превосходит АОА плавленых сыров и творожных сырков. Кроме того, среди данной категории продуктов у ряженки отмечена наименьшая способность увеличивать интенсивность СРО, что объясняется незначительным содержанием в ней прооксидантных факторов краткосрочного и пролонгированного действия, которые на 40–55% ниже даже при сравнении с соответствующими показателями йогуртов и кефира и значительно меньше аналогичных значений у изученных плавленых сыров и творожных сырков (табл. 2). В целом необходимо отметить достаточно высокую способность плавленых сыров и творожных сырков усиливать интенсивность свободнорадикальных про-

цессов, в связи с чем необходимо периодическое ограничение их использования в повседневном пищевом рационе, особенно у лиц с пониженным потенциалом антиоксидантного звена системы неспецифической защиты организма при патологических и особых физиологических состояниях (беременности, занятиях спортом, ментальных и эмоциональных перегрузках), сопровождающихся развитием дисбаланса в прооксидантно-антиоксидантной системе.

Следует учитывать, что в ряде исследований, проведенных разными научными группами, показана возможность увеличения продолжительности жизни за счет изменения пищевого рациона, например при ограничении энергетической ценности пищевого рациона [9, 11], реализуемого в том числе путем повышения экономичности метаболизма и снижения продукции активных форм кислорода и свободных радикалов при неизменной потребности в кислороде [10, 12]. Описанные метаболические процессы позволяют замедлить старение организма путем уменьшения скорости накопления негативных изменений в клетках, что необходимо для поддержания стационарного гомеостаза и повышения адаптационных возможностей организма, поэтому становится понятно, почему при систематическом поступлении нутриентов с преобладанием прооксидантных факторов возможно смещение равновесия в сторону избыточного образования свободных радикалов и сокращение продолжительности жизни. Другим не менее важным механизмом, регулирующим старение, является функциональная активность репаративных механизмов, которые ликвидируют клеточные повреждения, возникающие в результате активной жизнедеятельности. В связи с этим снижение потенциала антиоксидантного звена системы неспецифической защиты, которое может возникнуть при недостаточном содержании факторов с антиоксидантной направленностью

Таблица 1. Антиоксидантная активность и содержание прооксидантных факторов в свежевыжатых и пакетированных соках

Наименование	АОА, мг/л vit C	МВХЛ, %	ПВХЛ, ед. пл.
Гранат (фреш)	3,412±0,597	1,63±0,14	2,40±0,08
Авокадо (фреш)	2,051±0,283	1080,89±6,27	1245,56±9,49
Киви (фреш)	1,446±0,174	48,43±1,08	28,22±1,56
Яблоко (фреш)	0,928±0,252	12,84±0,61	2,80±0,35
Хурма (фреш)	0,857±0,213	13,25±0,74	6,44±0,87
Груша (фреш)	1,046±0,157	136,33±3,92	96,48±5,24
Апельсин (фреш)	1,812±0,369	9,68±0,79	0,04±0,01
Мандарин (фреш)	1,873±0,425	20,19±1,26	10,16±0,82
Лимон (фреш)	1,720±0,309	19,78±1,51	7,13±0,60
Помело (фреш)	1,689±0,182	15,09±1,04	9,55±1,18
Сок апельсиновый (пакетированный)	2,116±0,096	12,54±1,10	10,52±0,76
Сок яблочный (пакетированный)	0,490±0,152	18,86±1,75	13,93±2,08

Таблица 2. Антиоксидантная активность и содержание прооксидантных факторов в некоторых молочных продуктах

Продукт	АОА, мг/л vit C	МВХЛ, %	ПВХЛ, ед. пл.
Йогурт 1	3,045±0,219	16,02±0,75	28,78±1,67
Йогурт 2	3,426±0,181	15,11±0,43	28,15±1,39
Кефир	4,989±0,250	16,76±1,09	35,72±2,26
Ряженка	2,087±0,176	9,06±0,48	16,68±0,71
Плавленный сыр 1 (ветчина)	0,536±0,047	67,50±2,93	74,88±3,27
Плавленный сыр 2 (грибы)	0,228±0,012	42,77±1,46	59,53±1,86
Плавленный сыр 3 (сливочный)	0,357±0,039	45,15±0,83	60,62±2,04
Плавленный сыр 4 (ветчина)	0,259±0,016	54,49±2,04	69,99±3,58
Плавленный сыр 5 (грибы)	0,130±0,007	43,96±1,65	60,97±3,31
Плавленный сыр 6 (сливочный)	0,203±0,011	60,91±2,79	81,62±5,62
Творожный сырок 1	0,307±0,028	63,75±3,14	65,89±1,77
Творожный сырок 2	0,154±0,009	71,81±2,16	78,38±3,94
Творожный сырок 3	0,543±0,067	67,04±4,52	79,45±4,29

Таблица 3. Антиоксидантная активность и содержание прооксидантных факторов в некоторых продуктах, использующихся для перекуса

Продукт	АОА, мг/л vit C	МВХЛ, %	ПВХЛ, ед. пл.
Чипсы 1	0,033±0,006	21,91±0,95	1272,84±32,59
Чипсы 2	0,031±0,004	18,27±1,06	2546,62±147,50
Попкорн 1	0,016±0,001	6,63±0,48	1115,39±64,71
Попкорн 2	0,049±0,015	42,26±3,62	658,51±42,54
Воздушный рис	0,022±0,09	15,76±0,88	2262,72±197,06
Вафли	0,056±0,018	75,74±6,13	920,35±72,41
Киевские сдобные сухари	0,028±0,011	24,01±1,59	782,69±60,52
Соломка соленая	0,029±0,07	34,62±2,63	1031,26±105,18
Хлебные палочки с сыром	0,064±0,020	61,68±4,76	550,33±29,64
Изделие хлебобулочное (плюшка)	0,114±0,23	112,60±5,08	834,82±57,39
Печенье 1	0,092±0,27	92,81±2,91	650,37±51,70
Печенье 2	0,040±0,008	47,32±3,87	1204,89±124,98
Печенье 3	0,051±0,014	44,33±2,10	1197,05±73,56

в пищевом рационе, способно привести к преждевременной гибели клеточных структур даже при физиологической интенсивности образования метаболитов радикальной природы, что будет сопровождаться в том числе ускорением старения организма.

При анализе показателей антиоксидантной активности и содержания прооксидантных факторов в пищевых продуктах, использующихся для перекуса, было установлено, что при их употреблении возможно нарушение прооксидантно-антиоксидантного равновесия с превалированием прооксидантного звена. Последнее объясняется достаточно высокими показателями вспышки и ПВХЛ, в 10 и более раз превышающими аналогичные данные соков и молочных продуктов (табл. 3), особенно выраженные у чипсов, попкорна, воздушного риса, некоторых сортов печенья. Кроме того, необходимо отметить значительно более низкие показатели антиоксидантной активности у данной категории

продуктов, которые были в несколько раз меньше АОА всех свежавыжатых и пакетированных соков, а также существенно уступали показателям АОА у исследованных молочных продуктов.

Следует указать, что присутствие восстановительных факторов, установленное с помощью амперометрического метода, в использующихся для перекуса продуктах (печенье, попкорн, вафли, чипсы), также обладающих достаточно высокой энергетической ценностью, можно рассматривать и как неблагоприятный фактор, что объясняется способностью эндогенных компонентов антиоксидантной системы [например, никотинамидадениндинулеотидфосфата (NADPH+H)] участвовать в условиях избыточного образования макроэргов в пластических процессах, в том числе липогенезе, приводя при чрезмерном потреблении продуктов с высокой энергетической ценностью к развитию ожирения, являющегося одной из социально значимых патологий современного общества [7].

Заключение

Таким образом, на основании проведенных исследований можно сделать вывод о том, что совместное применение хемилюминесцентного и амперометрического методов позволяет одновременно получить информацию как о содержании прооксидантных факторов, так и о суммарной АОА в пищевых продуктах, способных оказывать противоположное влияние на состояние прооксидантно-антиоксидантной системы в организме. Также полученные результаты указывают на существенное преобладание восстановительных эквивалентов у свежесжатых и некоторых пакетированных фруктовых соков, молочных продуктов, что свидетельствует об их потенциальной способности повышать емкость восстановительных компонентов системы неспецифической защиты организма. Следует отметить, что наличие достаточно высоких показателей АОА у ряда продуктов, используемых для перекуса (чипсы, воздушный рис), может указывать на способность последних выступать в роли донатора протона, т.е. в качестве восстанавливающих

факторов. При этом достаточно высокая энергетическая ценность этой категории продуктов говорит о возможности вовлечения поступающих восстановительных факторов в пластические процессы с последующим усилением, например, липогенеза, что может стать предпосылкой для развития ожирения, атеросклероза и других патологических процессов. Поэтому при формировании пищевого рациона в целях замедления процесса старения целесообразно отдавать предпочтение продуктам с более высокой АОА, меньшим содержанием прооксидантных факторов пролонгированного действия и, насколько это возможно, меньшей энергетической ценностью.

Кроме того, использование комплексного подхода с преклинической оценкой прооксидантно-антиоксидантного потенциала нутриентов позволит своевременно и адекватно корректировать пищевой рацион в целях повышения адаптационных возможностей организма при патологических или особых физиологических состояниях, сопровождающихся нарушением окислительного метаболизма.

Сведения об авторах

Быков Илья Михайлович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фундаментальной и клинической биохимии ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России (Краснодар)

E-mail: ilyamb@ksma.ru

Басов Александр Александрович – кандидат медицинских наук, доцент кафедры фундаментальной и клинической биохимии ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России (Краснодар)

E-mail: son_sunytch@mail.ru

Быков Михаил Ильич – кандидат медицинских наук, доцент кафедры хирургии № 1 факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России (Краснодар)

E-mail: bikov_mi@mail.ru

Ханферьян Роман Авакович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией спортивного питания с группой алиментарной патологии ФГБУ «НИИ питания» РАМН (Москва)

E-mail: khanferyan@ion.ru

Литература

1. Басова А.А., Быков И.М. Изменение антиоксидантного потенциала крови экспериментальных животных при нутриционной коррекции окислительного стресса // *Вопр. питания.* – 2013. – Т. 82, № 6. – С. 75–81.
2. Басова А.А., Быков И.М. Сравнительная характеристика антиоксидантного потенциала и энергетической ценности некоторых пищевых продуктов // *Вопр. питания.* – 2013. – Т. 82, № 3. – С. 77–80.
3. Басов А.А., Павлюченко И.И., Плаксин А.М., Федосов С.Р. Использование аналогово-цифрового преобразователя в составе системы сбора и обработки информации с хемилюминестером LT-01 // *Вестн. новых мед. технологий.* – 2003. – Т. 10, № 4 – С. 67–68.
4. Басов А.А., Федосов С.Р., Канус И.С. и др. Современные способы стандартизации антиоксидантных лекарственных средств и биологически активных добавок // *Соврем. пробл. науки и образования.* – 2006. – № 4. – Прил. 1. – С. 149.
5. Новосельцев В.Н., Новосельцева Ж.А. Ограничение диеты увеличивает продолжительность жизни у стерильных и нестерильных самок *D. melanogaster*: системный анализ // *Успехи геронтологии.* – 2010. – Т. 23, № 2. – С. 186–195.

6. Северин Ф.Ф., Скулачёв В.П. Запрограммированная клеточная смерть как мишень борьбы со старением организма // Успехи геронтологии. – 2009. – Т. 22, № 1. – С. 37–48.
7. Симонова Г.И., Тутельян В.А., Погожева А.В. Питание и атеросклероз // Бюл. СО РАМН. – 2006. – Т. 2. – С. 80–85.
8. Яшин А.Я. Инжекционно-проточная система с амперометрическим детектором для селективного определения антиоксидантов в пищевых продуктах и напитках // Рос. хим. журн. – 2008. – Т. LII, № 2. – С. 130–135.
9. Chapman T., Partridge L. Female fitness in *Drosophila melanogaster*: an interaction between the effect of nutrition and encounter rate with males // Proc. R. Soc. Lond. – 1996. – Vol. 263. – P. 755–759.
10. Hulbert A. J., Clancy D. J., Mair W. et al. Metabolic rate is not reduced by dietary restriction or by lowered insulin/IGF-1 signalling and is not correlated with individual lifespan in *Drosophila melanogaster* // Exp. Gerontol. – 2004. – Vol. 39. – P. 1137–1143.
11. Mair W., Goymer P., Pletcher S.D., Partridge L. Demography of dietary restriction and death in *Drosophila* // Science. – 2003. – Vol. 301. – P. 1731–1733.
12. Ross R.E. Age-specific decrease in aerobic efficiency associated with increase in oxygen free radical production in *Drosophila melanogaster* // J. Insect. Physiol. – 2000. – Vol. 46. – P. 1477–1480.

Для корреспонденции

Архипенко Юлия Александровна – аспирант кафедры
 продуктов питания и пищевой биотехнологии
 ФГБОУ ВПО «Омский государственный аграрный
 университет им. П.А. Столыпина»
 Адрес: 644008, г. Омск-8, Институтская площадь, д. 2
 Телефон: (3812) 65-11-46
 E-mail: arhipenkoya@mail.ru

В.Е. Высокогорский, Н.Б. Гаврилова, Ю.А. Архипенко

Интенсивность липопероксидации и окислительной модификации белков козьего и коровьего молока

Intensity of lipid peroxidation
 and protein oxidative
 modification of goat
 and cow milk

V.E. Vysokogorsky, N.B. Gavrilova,
 Yu.A. Arkhipenko

ФГБОУ ВПО «Омский государственный аграрный университет
 им. П.А. Столыпина»
 Omsk State Agrarian University under P.A. Stolypin

Определены показатели свободнорадикального окисления: интенсивность липопероксидации и окислительной модификации белков козьего и коровьего молока определенных пород лесостепной зоны Омской области. Полученные результаты свидетельствуют о том, что процессы перекисного окисления липидов и окислительной деструкции белков в козьем и коровьем молоке разных пород проходят с различной степенью интенсивности. Содержание карбонильных производных белков в козьем молоке зааненской породы ниже в сравнении с коровьим молоком черно-пестрой породы [1,4 (0,95; 1,5) против 4,6 (1,1; 6,0) единицы окислительного индекса на 1 мл, $p=0,005$], что может быть обусловлено большим содержанием тиоловых групп белков данного вида молока и меньшим количеством аминокислотных остатков, легко подверженных карбонилированию. Это молоко отличается достоверно более высоким содержанием сульфгидрильных групп белков, превышающим этот показатель молока коров черно-пестрой породы на 31% и козьего молока швейцарской породы на 20% ($p=0,005$). Содержание кетодиенов и сопряженных триенов в изопропанольной фазе липидного экстракта козьего молока швейцарской породы на 30% ($p=0,005$) ниже коровьего молока. В изопропанольной фазе липидных экстрактов молока, содержащих фосфолипиды, уровень шиффовых оснований не различался. Полученные результаты свидетельствуют, о том, что козье молоко содержит меньше белков, подверженных окислительной модификации.

Ключевые слова: липопероксидация, молоко, козье молоко, окислительная модификация белков, сульфгидрильные группы

Indices of free-radical peroxidation have been estimated: intensity of lipid peroxidation and protein oxidative modification of goat and cow milk of specific breeds of forest-steppe zone of Omsk region. The obtained results indicate that processes of lipid peroxidation and protein oxidative destruction in goat and cow milk of different breeds occur with different gradation. The content of carbonile derivatives in goat milk of Saan breed 1,4 (0,95; 1,5) u/ml was lower than in cow's milk of black-and-white breed 4,6 (1,1; 6,0) u/ml ($p=0,005$) what could be caused by large content of protein thiol groups of this kind of milk and lower

quantity of amino acid residues that are available for carbonylation. This kind of milk is characterized by higher SH-group content than cow milk for 31% and Switzerland goat milk for 20% ($p=0,005$). The content of cetodien and attached triens in isopropanol phase of the lipid extract of goat milk of Swiss breed is lower by 30% than in cow milk. In isopropanol phase of the milk lipid extracts containing phospholipids the level of Schiff grounding did not differ. The results obtained prove that goat milk contain less protein subjected to oxidative modification

Key words: *lipid peroxidation, milk, goat milk, oxidative modification of proteins, sulfhydryl groups*

Высокие пищевые свойства козьего молока, отличающие его от коровьего молока, обусловлены особенностями состава его компонентов [8]. Козье молоко характеризуется иным фракционным составом белков в сравнении с коровьим молоком [15]. Существенно различаются между собой козье и коровье молоко по химическому составу молочного жира и соотношению его компонентов [4].

Особенностью козьего молока является не только сравнительно малый размер жировых глобул, но и высокий уровень насыщенных жирных кислот с короткой и средней длиной цепи [16]. Содержание полиненасыщенных жирных кислот как субстратов свободнорадикального окисления в козьем молоке, по данным одних авторов, ниже [11], а по данным других авторов – даже несколько выше или практически не отличается [12, 17]. Развитие свободнорадикальных процессов определяется и уровнем антиоксидантов, содержание которых в козьем молоке выше, чем в коровьем. Так, уровень ретинола, аскорбиновой кислоты выше в козьем молоке при одинаковом содержании токоферола [11].

В предыдущих исследованиях было установлено [3], что значения хемилюминесценции натурального козьего молока ниже аналогичных данных коровьего молока, однако после стерилизации светосумма и другие показатели хемилюминесценции существенно повышаются. Так как интенсивность хемилюминесценции зависит от различных факторов [13], требует выяснения вопрос, насколько интенсивно подвергаются свободнорадикальному окислению не только липиды, но и белковые структуры [1, 14]. При действии активных форм кислорода происходит нарушение нативной конформации белков с образованием крупных белковых агрегатов или фрагментация белковой молекулы. Гидроксильный радикал чаще всего вызывает агрегацию белков, а в комбинации с супероксид-анионом – фрагментацию с образованием низкомолекулярных фрагментов. Модификация белков делает их более чувствительными к протеолизу [7].

Таким образом, можно предположить, что различия в интенсивности свободнорадикального окисления могут проявиться как в отличиях процессов

липเปอร์оксидации, так и в особенностях проявления процессов окислительной модификации белков.

Цель работы – сравнить интенсивность перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков коровьего и козьего молока.

Материал и методы

Для исследования использовали сырое натуральное молоко, полученное ранней весной от коз зааненской и швейцарской породы и коров черно-пестрой породы лесостепной зоны Омской области, нормализованное по массовой доле жира до 2,5%.

Содержание первичных, вторичных и конечных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) определяли с помощью экстракционно-спектрометрического метода с отдельной регистрацией липопероксидов в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта молока. Липидный экстракт получали с использованием гептан-изопропанольной смеси (1:1 по объему), затем его разделяли с помощью водного раствора соляной кислоты на гептановую и водно-спиртовую фазу, последнюю обезвоживали добавлением NaCl [2, 6]. Относительное содержание шиффовых оснований определяли спектрофотометрически (400 нм) [6]. Содержание продуктов свободнорадикального окисления липидов выражали в единицах окислительного индекса (е.о.и.): E_{232}/E_{220} – первичные, E_{278}/E_{220} – вторичные, E_{400}/E_{220} – конечные.

Продукты окислительной модификации белков (ОМБ) определяли по уровню карбонильных производных [5], доступные тиоловые группы белков молока – по методике [10]. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0. Статистическая значимость межгрупповых различий оценивалась по критерию Манна-Уитни (U). Проверку статистических гипотез проводили при критическом уровне значимости $p=0,05$. Результаты представлены в виде медианы, нижнего и верхнего квартиля [Me (Q_1 ; Q_3)].

Результаты и обсуждение

Известно, что в гептан экстрагируются в основном нейтральные липиды, а в изопропанол – фосфолипиды, которые являются важнейшими субстратами перекисидации липидов [2]. Определение продуктов ПОЛ показало, что содержание первичных продуктов липоперекисидации (диеновых конъюгатов) в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта молока коз швейцарской и зааненской пород существенно не отличается от показателей коровьего молока (табл. 1, 2).

Однако содержание кетодиенов и сопряженных триенов в изопропанольной фазе липидного экстракта козьего молока швейцарской породы на 30% ниже коровьего молока. Результаты определения конечных продуктов липоперекисидации в гептановой фазе липидного экстракта свидетельствуют о некотором увеличении содержания шиффовых оснований козьего молока зааненской породы по сравнению с коровьим и козьим молоком швейцарской породы, что может быть обусловлено некоторым повышением интенсивности их окисления на последнем этапе. В противоположность этому в изопропанольной фазе, содержащей фосфолипиды, уровень шиффовых оснований не повышался во всех видах молока, что указывает на одинаковую скорость липоперекисидации.

При сравнении параметров ОМБ установлено, что содержание карбонильных производных в козьем молоке зааненской породы значительно ниже в сравнении с коровьим молоком черно-пестрой породы (табл. 3). Это молоко отличается и достоверно более высоким содержанием сульфгидрильных

групп белков (см. табл. 3), превышающих этот показатель молока коров черно-пестрой породы на 31% и козьего молока швейцарской породы на 20%.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что начальные этапы ПОЛ не отличаются во всех исследуемых видах молока, отмечается только некоторое повышение интенсивности образования конечного продукта ПОЛ в козьем молоке зааненской породы.

Более выраженные различия обнаружены в интенсивности окислительной модификации белков различных видов молока. Содержание карбонильных производных белков в коровьем молоке значительно выше, чем в козьем. Меньший уровень ОМБ в козьем молоке зааненской породы в сравнении с козьим молоком швейцарской породы и коровьим молоком черно-пестрой породы может быть обусловлен большим содержанием белковых сульфгидрильных групп, которые являются важным компонентом антиокислительной защиты молока и молочных продуктов, а их уровень обусловлен особенностями химического состава белков молока [9].

Кроме того, нельзя исключить и того, что эти различия ОМБ могут быть обусловлены как более высоким содержанием в молоке витаминов-антиоксидантов, так и меньшим уровнем аминокислотных остатков лизина, аргинина, пролина и треонина, с которыми происходят реакции карбонилирования [7].

Таким образом, на основании полученных данных можно сделать вывод о том, что козье молоко, особенно коз зааненской породы, содержит меньше белков, подверженных окислительной модификации, в сравнении с белками коровьего молока, а уровень первичных и вторичных продуктов ПОЛ в исследуемых видах молока практически одинаков.

Таблица 1. Относительное содержание продуктов перекисного окисления липидов в гептановой фазе липидного экстракта [Me (Q₁; Q₃)]

Молоко	Содержание в гептановой фазе, е.о.и.		
	диеновые конъюгаты	кетодиены и сопряженные триены	шиффовые основания
Коров черно-пестрой породы (n=10)	0,90 (0,70; 0,94)	0,14 (0,10; 0,34)	0,000 (0,000; 0,001)
Коз швейцарской породы (n=10)	0,89 (0,860; 0,95) <i>p</i> ₁ =0,579	0,13 (0,100; 0,140) <i>p</i> ₁ =0,680	0,000 (0,000; 0,020) <i>p</i> ₁ =0,970
Коз зааненской породы (n=10)	0,93 (0,89; 1,07) <i>p</i> ₁ =0,143 <i>p</i> ₂ =0,393	0,075 (0,060; 0,580) <i>p</i> ₁ =0,684 <i>p</i> ₂ =0,579	0,035 (0,004; 0,030) <i>p</i> ₁ =0,0001 <i>p</i> ₂ =0,010

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3: *p*₁ – статистическая значимость отличий от показателя коровьего молока черно-пестрой породы; *p*₂ – статистическая значимость отличий от показателя козьего молока швейцарской породы.

Таблица 2. Относительное содержание продуктов перекисного окисления липидов в изопропанольной фазе липидного экстракта [Me (Q₁; Q₃)]

Молоко	Содержание в изопропанольной фазе, е.о.и.		
	диеновые конъюгаты	кетодиены и сопряженные триены	шиффовые основания
Коров черно-пестрой породы (n=10)	0,48 (0,35; 0,54)	0,46 (0,38; 0,59)	0,004 (0; 0,04)
Коз швейцарской породы (n=10)	0,45 (0,4; 0,54) <i>p</i> ₁ =0,796	0,32 (0,25; 0,32) <i>p</i> ₁ =0,05	0,0002 (0; 0,018) <i>p</i> ₁ =0,529
Коз зааненской породы (n=10)	0,70 (0; 1,35) <i>p</i> ₁ =0,684 <i>p</i> ₂ =0,739	0,73 (0,00; 0,93) <i>p</i> ₁ =0,528 <i>p</i> ₂ =0,84	0,000 (0,000; 0,014) <i>p</i> ₁ =0,529 <i>p</i> ₂ =0,684

Таблица 3. Содержание продуктов окислительной модификации белков и сульфгидрильных групп белков молока [Me (Q₁; Q₃)]

Молоко	ОМБ, е.о.и. на 1 мл	SH группы белков молока, ммоль/л
Коров черно-пестрой породы (n=10)	4,6 (1,1; 6,0)	0,61 (0,47; 0,74)
Коз швейцарской породы (n=10)	2,6 (1,6; 4,0) $\rho_1=0,68$	0,70 (0,35; 0,80) $\rho_1=0,74$
Коз зааненской породы (n=10)	1,4 (0,95; 1,5) $\rho_1=0,05$ $\rho_2=0,03$	0,88 (0,77; 1,04) $\rho_1=0,01$ $\rho_2=0,04$

Сведения об авторах

ФГБОУ ВПО «Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина»:

Высокогорский Валерий Евгеньевич – доктор медицинских наук, профессор кафедры продуктов питания и пищевой биотехнологии

E-mail: vve-bio@mail.ru

Гаврилова Наталья Борисовна – доктор технических наук, профессор кафедры продуктов питания и пищевой биотехнологии

E-mail: gavrilo@omgau.ru

Архипенко Юлия Александровна – аспирант кафедры продуктов питания и пищевой биотехнологии

E-mail: arhipenkoya@mail.ru

Литература

1. Белоногов Р.Н., Титова Н.М., Дыхно Ю.А. и др. Окислительная модификация белков и липидов плазмы крови больных раком легкого // Сибир. онкол. журн. – 2009. – № 4. – С. 48–53.
2. Волчегорский И.А., Налимов А.Г., Яровинский Б.Г., Лившиц Р.И. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изоропанольных экстрактах крови // Вопр. мед. химии. – 1989. – № 1. – С. 127–131.
3. Высокогорский В.Е., Веселов П.В. Оценка антиокислительных свойств козьего и коровьего молока // Вопр. питания. – 2010. – Т. 79, № 1. – С. 56–58.
4. Горбатова К.К. Биохимия молока и молочных продуктов. 3-е изд., перераб. и доп. – СПб.: ГИОРД, 2004. – 320 с.
5. Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О., Ходов Д.А., Поротов Г.Е. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения // Вопр. мед. химии. – 1995. – Т. 41, № 1. – С. 24–26.
6. Львовская Е.И., Волчегорский И.А., Шемяков С.Е., Лившиц Р.И. Спектрофотометрическое определение конечных продуктов перекисного окисления липидов // Вопр. мед. химии. – 1991. – № 4. – С. 92–93.
7. Муравлева Л.Е., Молотов-Лучанский В.Б., Ключев Д.А. и др. Окислительная модификация белков: проблемы и перспективы исследования // Фундаментальные исследования. – 2010. – № 1 – С. 74–78.
8. Протасова Д.Г. Свойства козьего молока // Мол. пром-сть. – 2001. – № 8. – С. 25–26.
9. Радаева И.А. Увеличения срока хранения молочных продуктов путем использования антиоксидантов // Мол. пром-сть. – 2006. – № 7. – С. 54–56.
10. Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М., 1977. – С. 223–228.
11. Симоненко С.В., Лесь Г.М., Хованова И.В. и др. Особенности состава козьего молока как компонента продуктов питания // Биохимия. Труды БГУ. – 2009. – Т. 4, ч. 1. – С. 109–116.
12. Скурихин И.М., Волгарев М.Н. (ред.). Химический состав пищевых продуктов. Справочник. Кн. 2. – М.: Агропромиздат, 1987. – 600 с.
13. Шидловская В.П., Юрова Е.А. Антиоксидантная активность ферментов // Мол. пром-сть. – 2011. – № 12. – С. 48–49.
14. Dean R.T., Hunt J.V., Grant A.J. et al. Free radical damage to proteins: The influence of the relative localization of radical generation, antioxidants and target proteins // Free Radic. Biol. Med. – 1991. – Vol. 11, N 12. – P. 161–165.
15. Miutra H., Bosnjak J.J., Tripaldi C. Possible exploitation of milk protein genetic polymorphisms to improve dairy traits in sheep and goats: a review // Small Rumin. Res. – 1998. – Vol. 27. – P. 185–195/
16. Park Y.W., Juarez M., Ramos M., Haenlein G.F.W. Physicochemical characteristics of goat and sheep milk // Small Rumin. Res. – 2007. – Vol. 68. – P. 88–113.
17. Yangilar F. As a potentially functional food: goats' milk and products // J. Food Nutr. Res. – 2013. – Vol. 1, N 4. – P. 68–81.

Для корреспонденции

Белова Людмила Васильевна – доктор медицинских наук, профессор кафедры профилактической медицины и охраны здоровья населения ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России
Адрес: 191015, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41
Телефон: (812) 543-19-80, 303-50-00 (доб. 8382)
E-mail: mechnik@gmail.com

Л.В. Белова, В.В. Карцев

Рецензия на книгу Н.Р. Ефимочкиной «Микробиология пищевых продуктов и современные методы детекции патогенов»

Review of N.R. Efimochkinoy's
book «Microbiology
of foodstuff and modern
methods of detection
of pathogens»

L.V. Belova, V.V. Kartsev

ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург
I.I. Mechnikov Northwestern State Medical University, Saint-Petersburg

В представленной рецензии на книгу Н.Р. Ефимочкиной «Микробиология пищевых продуктов и современные методы детекции патогенов» обращено внимание на узловые вопросы обеспечения безопасности пищевых продуктов для потребителя, мониторинговые исследования их по микробиологическим показателям. Уделено внимание ответственному контролю качества и безопасности продовольствия на всех этапах – от сырья до стола потребителя и показано значение наблюдений за контаминацией микроорганизмами продовольствия. Значительное внимание уделено механизмам генетической регуляции экспрессии факторов патогенности бактерий, стратегиям уклонения от воздействия неблагоприятных факторов внешней среды и иммунной системы макроорганизма для сохранения жизнеспособности бактериальных патогенов. Заслуживает внимания наглядная схема микробиологического исследования пищевых продуктов. Особо подчеркнута роль молекулярной биологии для определения этиологической роли патогена. Данные о новых родах и видах возбудителей, приведенные автором, важны для практической деятельности специалистов. Подробно изложены современные взгляды на способность бактериальных популяций к формированию биопленок, что может сказываться на эффективности санитарных режимов обработки и элиминации контаминантов в условиях пищевых производств. При прогнозировании степени риска и обеспечения безопасности пищи показана роль антропогенных и техногенных воздействий для ликвидации экологических или микробных последствий от контаминантов. С позиций современных суждений подробно освещен раздел микроорганизмов – индикаторов патогенов, и показаны стрессовые ответы микроорганизмов на химические, физические и биовоздействия, а также некультивируемые формы бактерий, представлена математическая модель микробиологических процессов. Подробно описаны положения об эмерджентных патогенах, с особым акцентом значимости на энтерогеморрагические кишечные палочки. Представлены современные методы исследования, в том числе иммунологические тесты, гель-диффузная преципитация, реак-

ции агрегат-агглютинации и латекс-агглютинации, описаны методы молекулярной детекции пищевых патогенов. Материалы данного труда могут быть использованы для практической деятельности специалистов лабораторий при условии оснащения современной базой. Мы предлагаем расширить список микроорганизмов порчи пищевых продуктов в следующем издании. Материалы фундаментального труда имеют большое значение для совершенствования знаний специалистов по профилактике пищевых отравлений и кишечных инфекций с алиментарным фактором передачи и современным методам исследований.

Ключевые слова: безопасность пищевых продуктов, эмерджентные патогены, детекция, молекулярная биология, стрессовые воздействия, экологические ниши

In the present review of the book N.R. Efimochkina «Microbiology of food and modern methods of pathogen detection» attention is drawn on the key issues of food safety for consumers, monitoring research on microbiological indicators. Attention is paid to efficient control requirements of the legislation of food at all stages: from raw materials to the consumer's table and the value of the observations on food contamination by microorganisms has been demonstrated. Considerable attention is paid to the mechanisms of genetic regulation of pathogenicity factors of bacteria, avoidance strategies from adverse environmental factors and the immune system to maintain the viability of the microorganism bacterial pathogens. Illustrative scheme of microbiological testing of food products deserves attention. The role of molecular biology to determine the etiological role of the pathogen has been emphasized. Data on new genera and species of pathogens listed by the author, are important for the practical activities of experts. Modern views on the ability of bacterial populations to the formation of biofilms, which can affect the effectiveness of sanitary regime of processing and elimination of contaminants in terms of food manufacturing are detailed. When predicting the risk and safety of foods the role of anthropogenic and technogenic impacts to eliminate microbial or environmental effects of contaminants is shown. The section on microorganisms-indicators of pathogens is detailed and the stress responses of microorganisms to chemical, physical and biological influence as well as non-cultivated forms of bacteria, mathematical model of microbiological processes are shown. From the standpoint of modern judgments the position about emergent pathogens is described, with particular emphasis on Enterohaemorrhagic Escherichia coli. Modern research methods, including immunoassays, gel diffusion precipitation, unit and latex agglutination reactions, molecular detection of foodborne pathogens are presented. The materials of this work can be used for the practical activity of the specialists of the laboratories equipped with modern facilities. We propose to expand the list of microorganisms of food product spoilage in the next edition. Materials of the fundamental work are of great importance for improving the knowledge of experts in the prevention of food poisonings and intestinal infections with alimentary factor of transmission and modern methods of research.

Key words: food safety, emergent pathogens, detection, molecular biology, exposure to stress, ecological niches

Наиболее актуальными на современном этапе являются вопросы обеспечения биологической безопасности, в том числе безопасности производства и поставок продуктов питания, особенно в контексте участия России в ВТО. В связи с этим повышается значимость мониторинговых исследований продуктов питания. Число биопатогенов, которые могут вызывать заболевания людей и животных, сегодня превышает 3,5 тыс. [3]. Учи-

таявая это, мы считаем, что выход рецензируемого труда весьма своевременен.

В книге доктора биологических наук, ведущего научного сотрудника лаборатории санитарно-пищевой микробиологии и микроэкологии ФГБУ «НИИ питания» РАМН Н.Р. Ефимочкиной (М.: Изд-во РАМН, 2013. – 518 с.) нашли отражение самые насущные проблемы санитарно-пищевой микробиологии, направленные на обеспечение

безопасности пищевых продуктов для потребителей. Обеспечение безопасности пищевых продуктов, прежде всего по микробиологическим показателям, немислимо без действенного контроля пищевой продукции на всех этапах ее производства, хранения, транспортирования, переработки, реализации. Очень важны постоянные наблюдения и инвентаря, что серьезно сказывается на эффективности санитарных режимов обработки, рассчитанных на элиминацию свободных микробных контаминантов, в том числе возбудителей пищевых инфекций. Биопленочная форма существования бактерий стала объектом пристального интереса специалистов, работа которых связана с микробной патологией. Более 60% всех бактериальных инфекций человека являются биопленочными. Биопленки оказывают негативное воздействие на инфекционный процесс (рецидивирующее течение, склонность к хронизации, резистентность к традиционным препаратам антимикробной терапии), что отражено в современных публикациях [5].

Обширный материал книги нацелен именно на научное обоснование этих актуальных задач. Книга состоит из введения, 10 глав, заключения, списка литературы (71 ссылка на отечественные публикации и 577 – на зарубежные), 108 таблиц и 39 рисунков, 23 цветных вкладок, которые наглядно отражают характер роста патогенов на различных плотных и жидких питательных средах.

Автор обращает внимание на поведение патогенов в условиях окружающей среды, в своем большинстве отличающееся от персистенции в клеточных системах макроорганизмов при пищевых инфекциях. В связи с этим совершенно правильно поставлен вопрос о всестороннем изучении биохимических и генетических аспектов существующей проблемы. Уделено внимание оценке приоритетных факторов, оказывающих влияние на поведение пищевых патогенов, показана их эпидемическая значимость. Предложенные автором схемы исследования патогенов в пищевых продуктах составлены с учетом высокоэффективных методов детекции микроорганизмов. Подробно и с учетом нового отражены достижения молекулярной биологии, позволяющие выявлять возбудителей в исследуемых образцах продуктов и достоверно определять их этиологическую роль в возникновении инфекции.

В работе нашли отражение современные методы исследования ДНК-типирования, изучения протеомных профилей, что чрезвычайно важно для проведения эффективного санитарно-эпидемиологического контроля пищевых производств. В главе 2 «Микрофлора пищевых продуктов» в разделе «Номенклатура микроорганизмов» обоснованно отмечено их соответствие требованиям спецификаций «Международного кодекса номенклатуры бактерий». В тексте и табличном материале отражены новые роды и виды микроорганизмов, в том числе значимые для пищевой микробиологии.

В разделе «Источники и пути контаминации пищевых продуктов» наглядно показана роль продуктов животного и растительного происхождения, воздушной среды, почвы, воды,

пищевых ингредиентов, оборудования как возможных факторов этой контаминации. Положительным моментом этого раздела является анализ достаточно спорных вопросов формирования биопленок на основе прикрепления бактериальных клеток к поверхностям оборудования и инвентаря, что серьезно сказывается на эффективности санитарных режимов обработки, рассчитанных на элиминацию свободных микробных контаминантов, в том числе возбудителей пищевых инфекций. Биопленочная форма существования бактерий стала объектом пристального интереса специалистов, работа которых связана с микробной патологией. Более 60% всех бактериальных инфекций человека являются биопленочными. Биопленки оказывают негативное воздействие на инфекционный процесс (рецидивирующее течение, склонность к хронизации, резистентность к традиционным препаратам антимикробной терапии), что отражено в современных публикациях [5].

Дан анализ комплекса антропогенных и техногенных воздействий, оказывающих влияние на формирование экологических ниш микробных контаминантов. Это важная задача при прогнозировании степени риска и обеспечения микробиологической безопасности пищи.

В подразделе 2.4. «Микроорганизмы – индикаторы бактериальных патогенов» подробно изложены основные критерии отбора индикаторных санитарно-показательных групп микроорганизмов и показаны особенности роста и персистенции микроорганизмов в пищевых продуктах. Хорошо представлены вопросы концепции стрессовых ответов микроорганизмов на химические, физические и биологические воздействия, вопросы толерантности и некультивируемых форм бактерий, математические модели микробиологических процессов и закономерностей развития микрофлоры в условиях производства, что очень важно и актуально при подходах в обеспечении безопасности пищевых продуктов.

При рассмотрении основной канвы главы 3 «Микробиологический контроль пищевых продуктов: принципы и методы» обращает на себя внимание упоминание о единой научно-методической базе для оценки безопасности пищи, сформировавшейся в своде пищевых международных стандартов Кодекс Алиментариус (Codex Alimentarius), принятом международной комиссией ФАО/ВОЗ.

Вместе с тем в перечне гигиенических нормативов по микробиологическим показателям в рубрике «микроорганизмы порчи» хотелось бы расширить список значимых микроорганизмов в этом процессе.

На наш взгляд, микробиологическая стойкость ряда пищевых продуктов должна оцениваться не только по перечисленным показателям, данным в книге, но и по показателям КМАФАнМ КОЕ/г(мл),

особенно в продуктах, хранящихся при нерегулируемой температуре (20 ± 5 °С). В оценочных показателях отсутствуют указания на термофильные бактерии, а, как известно, эти агенты могут вызывать разнообразные изменения консервированных продуктов, особенно хранящихся и реализуемых в условиях повышенных температур (плескочислую и сероводородную порчу, бомбаж). Как показали специальные лабораторные исследования рыбы и морепродуктов, к числу психотрофных микроорганизмов, характеризующих стойкость продуктов при хранении, могут быть отнесены бактерии рода *Pseudomonas*. Не случайно на *Pseudomonas* spp как на показатель порчи было обращено внимание в МУК 4.2.1847-04 [4]. Анализ этого показателя проводится при выдаче заключений о сроках годности охлажденных мясных, птичьих, рыбных полуфабрикатов, масложировых продуктов пониженной жирности.

Не исключается роль бактерий рода *Aeromonas* в процессе порчи рыбных изделий, к тому же наличие этих возбудителей в этой группе продуктов, и готовых к употреблению в пищу, в количестве 10^6 в 1 г и выше может быть опасно для потребителей. В перечне возбудителей порчи нельзя не учитывать и некоторых других представителей мезофильной микрофлоры, в частности бактерий рода *Proteus*, а также представителей бациллярных форм – *B. sporogenes*, *B. polymixa* (консервы), *B. subtilis* (хлебобулочные изделия). Порчу продукции на сыродельных предприятиях способны вызывать бактериофаги из-за лизиса молочнокислых бактерий заквасок [1].

В главах 4–10 описаны заболевания, вызываемые микробными контаминантами пищевых продуктов, дана исчерпывающая характеристика грамотрицательным и грамположительным бактериальным патогенам, микроскопическим грибам, вирусам, бактериофагам, новым и эмерджентным патогенам. Особое внимание автор уделил значимости энтерогеморрагических *E. coli* (EHEC) в возникновении эмерджентных пищевых зоонозов и вопросам их лабораторной диагностики.

Традиционные методы выделения и идентификации пищевых патогенов (количественные и качественные) подробно освещаются в ряде разделов книги.

Положительным моментом является включение в схемы идентификации патогенов иммунологических тестов, основанных на гель-диффузной преципитации, реакции агрегат-агглютинации, латекс-агглютинации, иммуномагнитной сепарации, иммуноферментного анализа и др.

Подробно и на высоком профессиональном уровне изложены вопросы молекулярной детекции пищевых патогенов как методов молекулярно-генетического анализа нового поколения. Рассматриваются методы гибридизации ДНК, полимеразной цепной реакции (ПЦР), изотермаль-

ной амплификации, генотипирования пищевых патогенов и др.

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека уделяет большое внимание мерам по совершенствованию эпидемиологического надзора за индикацией возбудителей инфекционных болезней, что также согласуется с данными автора. В центрах гигиены и эпидемиологии в субъектах Российской Федерации для ускорения и экспресс-диагностики широко используются иммуноферментные методы [автоматические и полуавтоматические анализаторы, полимеразная цепная реакция (ПЦР) с гибридной детекцией в реальном времени]. Комплексы для идентификации микроорганизмов на основе автоматических экспресс-анализаторов уже появились в ряде центров [3].

Материал по современным методам детекции патогенов в пищевых продуктах, изложенный в данном издании, может быть с успехом применен в практической деятельности при условии хорошего оснащения лабораторной приборной базой.

Положительно оценивая представленный труд Н.Р. Ефимочкиной, необходимо еще раз подчеркнуть, что многие новые воззрения и положения, а также методы лабораторной диагностики будут полезными и для врачей-гигиенистов, работающих в сфере обеспечения качества и безопасности пищевых продуктов, и для специалистов ветеринарного надзора, занимающихся вопросами профилактики и борьбы с зоонозными инфекциями.

Ранее мы дали положительную оценку на монографию Н.Р. Ефимочкиной «Эмерджентные бактериальные патогены в пищевой микробиологии» [2], поэтому при рецензировании нового труда, включающего большой раздел, посвященный этой проблеме, не стали его повторно анализировать, к тому же он был дополнен новыми научными данными.

В целом положения представленного труда направлены на:

- обеспечение микробиологической безопасности пищевых продуктов, охрану здоровья населения;
- анализ эволюционных свойств пищевых патогенов в условиях антропогенной трансформации внешней среды;
- формирование новых представлений о пищевых патогенах;
- использование возможностей и преимуществ современных достижений в области молекулярно-гигиенической диагностики для обнаружения и идентификации патогенов в пище;
- совершенствование методической базы микробиологического контроля.

Данные, представленные в книге, актуальны, они должны способствовать совершенствованию знаний специалистов по профилактике и лабораторной диагностике пищевых отравлений и кишечных инфекций с алиментарным фактором передачи.

Сведения об авторах

Белова Людмила Васильевна – доктор медицинских наук, профессор кафедры профилактической медицины и охраны здоровья населения ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России (Санкт-Петербург)

E-mail: profnutr07@mail.ru

Карцев Владимир Васильевич – ассистент кафедры профилактической медицины и охраны здоровья населения ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России (Санкт-Петербург)

E-mail: mechnik@gmail.com

Литература

1. *Белова Л.В., Карцев В.В.* Профилактическая и клиническая медицина. – 2011. – № 1 (38). – С. 22–25.
2. *Ефимочкина Н.Р.* Эмерджентные бактериальные патогены в пищевой микробиологии. – М.: Изд-во РАМН, 2008. – 256 с.
3. *Онищенко Г.Г., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В. и др.* Меры по совершенствованию эпидемиологического надзора за индикацией возбудителей инфекционных болезней // Журн. микробиол. – 2013. – № 6. – С. 20–30.
4. Санитарно-эпидемиологическая оценка обоснованности сроков годности и условия хранения пищевых продуктов // Методическое указание. МУК.4.2.1847-04.
5. *Чеботарь И.В., Маянский А.Н., Кончакова Е.Д.* Нейтрофилы и бактериальные биопленки: диалектика взаимоотношений // Журн. микробиол. – 2013. – № 6. – С. 105–112.

А.Ю. Иванова, Е.Н. Радченко, А.А. Низов, С.Б. Акстентьев

Динамика селенового статуса и возможности его диетической коррекции у больных с острым Q-инфарктом миокарда*

ГБОУ Рязанской области «Областная клиническая больница»

Острый инфаркт миокарда (ОИМ) является одним из самых опасных заболеваний в современном мире. Хотя уровень смертности от ишемической болезни сердца (ИБС) снижается, в последнее время увеличивается распространенность ожирения и сахарного диабета – предикторов роста заболеваемости ИБС. Данные литературы о связи уровня селена в крови и острого коронарного синдрома (ОКС) весьма противоречивы, а изучение влияния микроэлементов на течение острых форм ИБС пока ограничивается экспериментальными исследованиями.

Цель исследования – изучение в динамике селенового статуса больных с ОКС с подъемом сегмента ST (ОКС↑ST) с исходом в острый инфаркт миокарда с зубцом Q (Q-ОИМ) на разных стадиях заболевания и возможности его диетической коррекции.

Материал и методы. В течение 1 мес наблюдали 72 больных (46 мужчин и 16 женщин в возрасте от 40 до 75 лет, средний возраст $58,3 \pm 1,1$ года) с Q-ОИМ, находившихся на лечении в отделении неотложной кардиологии с блоком палат реанимации и интенсивной терапии на базе регионального сосудистого центра ГБУ Рязанской области «Областная клиническая больница». Средний уровень селена у всей когорты наблюдавшихся пациентов на 2–3-и сутки от начала развития ОИМ составил $75,5 \pm 1,8$ мкг/л, что статистически достоверно отличается от значений в популяции жителей средней полосы России и ниже оптимальных значений. Согласно дизайну исследования, у 60 пациентов проводилось дальнейшее динамическое определение уровня селена сыворотки крови спустя 2 нед и через 1 мес от начала развития ОИМ. Методом случайной выборки наблюдавшиеся пациенты были разделены на 2 группы по 30 человек: группу сравнения (22 мужчин и 8 женщин, средний возраст $60,5 \pm 8,7$ года) и основную группу (23 мужчин и 7 женщин, средний возраст $59,9 \pm 8,7$ года). Обе группы наблюдавшихся пациентов были сопоставимы по гендерно-возрастным критериям, факторам риска, видам и тяжести инфаркта миокарда, а также тактике лечения в стационаре. После выписки больные продолжали амбулаторное наблюдение.

Больные основной группы получали диетический лечебный селеносодержащий продукт, а контрольной – стандартную диету. Содержание селена в сыворотке крови определяли в ФГБУ «НИИ питания» РАМН микрофлуориметрическим методом с использованием международного аттестованного стандарта сыворотки крови человека «Seroporm» (Дания). При оценке степени селеновой недостаточности использованы рекомендации классификации А.В. Пырочкина (2009) и Н.А. Голубкиной (2006), согласно которой содержание сывороточного селена в крови 115–120 мкг/л – оптимальное, 114–90 мкг/л – субоптимальное, 89–70 мкг/л – дефицит, менее 70 мкг/л – критическое.

Результаты. Исходный уровень селена в сыворотке крови был сопоставимым у больных обеих групп: в основной группе он составил в среднем $75,5 \pm 2,2$ мкг/л, а в контрольной – $71,3 \pm 2,3$ мкг/л (различия статистически недостоверны: $p > 0,16$).

Больные основной группы получали в течение 30 дней (со 2–3-го дня ОИМ) в дополнение к стандартной терапии диетический продукт – джем из морской капусты с курагой, обогащенный селеном, в суточной дозе 20 г. Джем разработан РГУП ВНИРО и содержит морскую капусту (ламинария), курагу, селеносодержащий ферментализат пищевых дрожжей. Пищевая ценность 100 г продукта: белок – 1 г, углеводы – 40 г, пищевые волокна – 10 г, йод – 1700 мкг, селен – 400 мкг, калорийность – 164 ккал. По показаниям безопасности исследованные образцы продукции соответствуют Гигиеническим требованиям безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов СанПиН 2.3.2.1078-01. Суточная доза селена в органической форме составляла таким образом 80 мкг.

Все больные, употреблявшие обогащенный органической формой селена джем, отмечали его хорошую переносимость и высокие органолептические свойства. За период клинических испытаний

* Дополнение к материалам XV Всероссийского конгресса диетологов и нутрициологов с международным участием «Здоровое питание: от фундаментальных исследований к инновационным технологиям» (2–4 июня 2014 г., Москва), опубликованным в Приложении к журналу «Вопросы питания» № 3, 2014.

не было ни одного случая диспептических проявлений, аллергических реакций и других неблагоприятных побочных эффектов. В основной группе использование диетического продукта уже спустя 2 нед привело к статистически закономерному повышению концентрации селена в сыворотке крови с $75,5 \pm 2,2$ мкг/л до $88,7 \pm 2,5$ мкг/л ($p < 0,05$). При этом ни у одного из обследуемых больных не выявлено критического уровня содержания селена в крови, а почти у половины из них – 13 человек (44,8%) – достигнут субоптимальный уровень селена.

Спустя месяц содержание селена в сыворотке крови было определено по техническим причинам у 25 из 30 обследуемых больных. При этом еще больше увеличилось среднее содержание микроэлемента в крови, которое составило $96,7 \pm 2,1$ мкг/л, достоверно отличаясь от предыдущего измерения ($p < 0,014$). При этом у 4 человек выявлены оптимальные значения уровня селена в сыворотке крови, а субоптимальные – у 12 (48%) человек; у остальных 9 (37,5%) человек концентрация селена стала выше 73,6 мкг/л. Таким образом, использование в диете джема привело к росту содержания селена по сравнению с исходными данными через 2 нед и месяц в среднем соответственно на 15 и 22%.

В контрольной группе спустя 2 нед уровень селена был определен у 27 из 30 человек. В этой выборке установлено, что исходно средний уровень микроэлемента составил $69,7 \pm 2,1$ мкг/л (минимальный – 52,1 мкг/л, максимальный – 130,5 мкг/л). Спустя 2 нед на фоне стандартной медикаментозной терапии уровень селена вырос до $74,9 \pm 2,0$ мкг/л, т.е. прирост составил 7,5%, что было статистически достоверно ($p < 0,05$). Первоначально критический уровень селена был выявлен у 15 человек, через 2 нед – только у 10 человек, что составило соответственно 56 и 37% от общего числа больных. У 10 из 27 больных установлен исходный дефицит селена, а в подострую стадию заболевания – у 15 человек, что составило 37 и 56%. У 2 больных с исходно субоптимальным содержанием микроэлемента уровень остался прежним. Таким образом, мы наблюдали небольшое увеличение уровня селена сыворотки крови, однако этот прирост не был существенным, так как пациенты остались в группах критического и селендефицитного уровней. Ни у одного из больных не было оптимального уровня содержания селена ни в острую, ни в подострую стадию инфаркта миокарда.

Полученные данные свидетельствуют о понижении селенового статуса у больных на разных стадиях инфаркта миокарда, хорошо корригируемого включением в диету исследуемого продукта.

Выводы. Полученные данные свидетельствуют о снижении уровня селена в сыворотке крови у больных с Q-инфарктом миокарда, усугубляющимся на 14-й день ОИМ. Установлено существенное улучшение селенового статуса при назначении диетического лечебного продукта, обогащенного органической формой селена.

Е.Н. Радченко¹, А.А. Низов¹, Ю.С. Сидорова², А.Ю. Иванова¹, С.В. Лобанов¹

Обеспеченность селеном больных острым инфарктом миокарда с зубцом Q в Рязанском регионе

¹ ГБУ Рязанской области «Областная клиническая больница»

² ФГБУ «НИИ питания» РАМН, Москва

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ), а также их основные осложнения (инфаркт миокарда, мозговые инсульты) остаются основной причиной смертности населения развитых стран, и Россия в этом плане занимает одно из лидирующих положений. Согласно данным официальной статистики, около 40% людей в России умирают в активном трудоспособном возрасте (25–64 года), а удельный вес заболеваний сердечно-сосудистой системы (ССС) в структуре смертности составляет 49,3%.

Среди множества известных обстоятельств, приведших к проблемам кардиоваскулярной патологии, недооценена и недостаточно изучена роль дефицита некоторых эссенциальных микроэлементов, участвующих в важнейших биологических реакциях, обеспечивающих антиоксидантную защиту организма. В частности с нутритивным селеновым статусом связаны адаптивные возможности организма и электрическая стабильность миокарда.

Изучение содержания селена в крови больных острыми коронарными катастрофами и его динамики в процессе развития заболевания представляет не только научный, но и практический интерес. Из-за значимых антиоксидантных свойств селена выдвинута гипотеза о его способности предотвращать многие заболевания и влиять на их течение, чему посвящены многочисленные клинические исследования.

Большинство имеющихся данных наблюдательных исследований в странах с недостаточным диетическим потреблением селена демонстрируют связь между низким уровнем селена в плазме крови и ССЗ. Недостаток и дефицит селена распространены в России и в Рязанской области.

Цель исследования – изучить обеспеченность селеном больных острым инфарктом миокарда (ОИМ) с зубцом Q.

Материал и методы. С сентября 2011 г. по декабрь 2013 г. проведено открытое исследование 72 больных с острым коронарным синдромом с подъемом сегмента ST (ОКС↑ST), находившихся на лечении в отделении неотложной кардиологии с блоком палат реанимации и интенсивной терапии на базе регионального сосудистого центра ГБУ Рязанской области «Областная клиническая больница». Диагноз ОКС↑ST основывался на общепринятых клинических, электрокардиографических и лабораторных показателях, в частности маркерах некроза миокарда, с обязательным выполнением Эхо-КГ с целью получения данных о нарушении функций миокарда левого желудочка.

Исследование проведено с соблюдением всех правил GCP.

Критерии включения: давность ОКС не более 72 ч с исходом в Q-ОИМ, подписанное информированное согласие, возраст от 40 до 75 лет, достаточная комплайентность и приверженность больных к лечению.

Критерии исключения: обострение язвенной болезни желудка или двенадцатиперстной кишки, беременность и лактация; любые заболевания и состояния с неблагоприятным, по мнению врача, краткосрочным прогнозом; фибрилляция предсердий, наличие электрокардиостимулятора (ЭКС); необходимость проведения плановых хирургических вмешательств в течение 30 дней после включения в исследование; злоупотребление алкоголем, употребление наркотиков или психические расстройства; непереносимость компонентов диетического продукта.

Содержание селена в сыворотке крови определяли в лаборатории физиологии и биохимии пищеварения ФГБУ «НИИ питания» РАМН микрофлуориметрическим методом по Alfthan с использованием международного аттестованного стандарта сыворотки крови человека «Seronorm» (Дания).

Результаты. Согласно рекомендациям ВНОК по лечению ОКС↑ST, пациенты в условиях кардиологического отделения получали стандартную терапию, включавшую прием антикоагулянтов, дезагрегантов, β-блокаторов, статинов, ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (ИАПФ), нитратов. Выполнялась диагностическая коронароангиография (КАГ), в показанных случаях – тромболитическая терапия (ТЛТ) и чрескожные коронарные вмешательства (ЧКВ). На протяжении всего исследования больные соблюдали разработанную для ССЗ диету; проводилась лечебная физкультура.

Методом случайной выборки сформирована группа пациентов из 72 человек (46 мужчин и 16 женщин, средний возраст 58,3±1,1 года). Все больные находились в стационаре в среднем 14 койко-дней (из них в БРИТе 2–3 дня) в соответствии со стандартами продолжительности госпитализации больных с ОКС↑ST.

При оценке степени селеновой недостаточности использованы рекомендации классификации А.В. Пырочкина (2009) и Н.А. Голубкиной (2006), согласно которой содержание сывороточного селена в крови 115–120 мкг/л – оптимальное, 114–90 мкг/л – субоптимальное, 89–70 мкг/л – дефицит, менее 70 мкг/л – критическое. Уровень селена в сыворотке крови определяли на 2–3-й день от начала развития ОИМ. Среднее содержание селена в сыворотке крови у наблюдавшихся пациентов составило 75,5±1,8 мкг/л, что статистически достоверно отличается от значений в популяции жителей средней полосы России. Минимальный уровень селена был 52,1 мкг/л, а максимальный – 130,5 мкг/л. Снижение уровня селена, согласно полученным данным, характерно для всей когорты больных: у 40 человек установлен дефицит микроэлемента, у 33 – критическое значение его содержания, что соответственно составило 42 и 40% от всего числа наблюдаемых. Только у 2 (3%) из 72 больных концентрация селена оказалась в пределах оптимального уровня, а у 7 (10%) пациентов уровень его был субоптимальным.

Таким образом, у всех больных с ОКС↑ST имеет место снижение уровня селена в сыворотке крови ниже оптимального и более чем у 90% – ниже субоптимального уровня. С.В. Селезнев с соавт. (2011) исследовал содержание сывороточного селена у больных хронической сердечной недостаточностью различной этиологии (ИБС, хроническая ревматическая болезнь сердца, дилатационная кардиомиопатия), проживающих в Рязанской области, и установил дефицит этого микроэлемента у 93% из 116 обследованных, в том числе более чем у половины (51%) – глубокий дефицит со средним значением 67,8 мкг/л. Возможно, причина селеновой недостаточности связана с геохимическими особенностями региона, недостатком его в диете больных или механизмами формирования сердечной патологии.

Выводы. У больных Рязанского региона с ОКС↑ST с исходом в Q-ОИМ в подавляющем большинстве случаев имеет место снижение селенового статуса ниже субоптимального уровня. С учетом имеющихся сведений аналогичное снижение содержания селена наблюдается и при другой патологии ССС.

При направлении статьи в редакцию в редакцию журнала «**Вопросы питания**» необходимо соблюдать следующие правила:

- Представленные в работе данные должны быть оригинальными. Не допускается направление в редакцию работ, которые дублируются в других изданиях или посланы для публикации в другие редакции. Редакция не несет ответственность 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 представляется отпечатанным в 2 экземплярах и в электронном виде (дискета, диск). Текст на электронных носителях должен быть полностью идентичен прилагаемой принтерной распечатке. Каждый файл на дискете (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 прилагайте отсканированное сопроводительное письмо (см. выше).

- Объем оригинальной статьи не должен превышать 8–10, обзорной – 10–12 печатных страниц. В основной части оригинальной статьи должны быть 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** (фамилии), должность, ученая степень, ученое звание **каждого автора (авторов)**; принадлежность каждого автора к соответствующему учреждению; **e-mail каждого автора** (если таковых не имеется, указывается e-mail учреждений); **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) на русском языке и английском языке** (объем – 1 печатная страница). В резюме необходимо отразить **цель, материал и методы**, а также основные **результаты** исследования с приведением конкретного цифрового материала.

- В статье **на русском и английском языке** должны быть указаны ключевые слова и полное название учреждения, на базе которого выполнена работа.

- Каждый иллюстративный материал (графики, диаграммы, рисунки, фотографии, таблицы) представля-

ется отдельным файлом на электронных носителях в формате tif или eps, текст-подпись – отдельно в формате Word (с соответствующей нумерацией).

- Графики, диаграммы должны быть только черно-белыми! Представляются 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 tif. Размер изображения в представляемом файле должен быть равен его окончательному физическому размеру (в миллиметрах), 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.

- При использовании цитат, приводимых в статье, в сноске указывается источник цитаты (название издания, год, выпуск, 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 приставленным списком литературы, в котором авторы перечисляются в алфавитном порядке (сначала отечественные, затем зарубежные). В списке цитируемой литературы указываются:

- а) для книг – фамилия и инициалы автора, полное название работы, место и год издания, количество страниц в книге или ссылка на конкретные страницы;

- б) для журнальных статей – фамилия и инициалы автора, название статьи, название журнала, год, том, номер, ссылка на конкретные страницы;

- в) для диссертаций – указывается только автореферат данной диссертации (фамилия и инициалы автора, докторская или кандидатская, полное название работы, год, место издания).

В список литературы не включаются неопубликованные работы и учебники. При цитировании электронных материалов необходима ссылка на соответствующие интернет-ресурсы – электронные документы, базы данных, порталы, сайты, веб-страницы и т.д. В списке литературы должно не более 2–3 электронных источников.

Автор несет ответственность за правильность данных, приведенных в указателе литературы.

Статьи, оформленные не по данным правилам, к рассмотрению не принимаются и авторам не возвращаются.

Плата за публикации рукописей не взимается.

Статьи отправлять по адресу:

109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14, НИИ питания РАМН, **редакция журнала «Вопросы питания», для Вржесинской Оксаны Александровны**

Уважаемые читатели!

Подписаться на журнал «Вопросы питания» можно непосредственно в редакции издательской группы «ГЭОТАР-Медиа»

Редакционная подписка – это:

- Льготная цена
- Подписка с любого номера
- Гарантированная и своевременная доставка

Стоимость подписки:

для физических лиц

полгода (3 номера) – 900 рублей

год (6 номеров) – 1800 рублей

для юридических лиц

полгода (3 номера) – 1200 рублей

год (6 номеров) – 2400 рублей

Извещение	Форма №ПД-4
	ООО Торговый Дом «Медкнигасервис»
	(наименование получателя платежа)
	7705619040
	(ИНН получателя платежа)
	№ 40702810800260000097
	(номер счета получателя платежа)
	В ОАО Банк ВТБ г. Москвы
	(наименование банка и банковские реквизиты)
	к/с 30101810700000000187
БИК 044525187	
Подписка на журнал «Вопросы питания»	
год (6 номеров)/полгода (3 номера) (нужное подчеркнуть)	
(наименование платежа)	
Дата _____ Сумма платежа: _____ руб.00 коп.	
Информация о плательщике: _____	
(ФИО, адрес, телефон)	
Плательщик (подпись) _____	
кассир	
Извещение	Форма №ПД-4
	ООО Торговый Дом «Медкнигасервис»
	(наименование получателя платежа)
	7705619040
	(ИНН получателя платежа)
	№ 40702810800260000097
	(номер счета получателя платежа)
	В ОАО Банк ВТБ г. Москвы
	(наименование банка и банковские реквизиты)
	к/с 30101810700000000187
БИК 044525187	
Подписка на журнал «Вопросы питания»	
год (6 номеров)/полгода (3 номера) (нужное подчеркнуть)	
(наименование платежа)	
Дата _____ Сумма платежа: _____ руб.00 коп.	
Информация о плательщике: _____	
(ФИО, адрес, телефон)	
Плательщик (подпись) _____	
Кассир	

ИНФОРМАЦИЯ

Периодичность выхода журнала – 1 раз в два месяца.

Оформить подписку очень просто. Разборчивым почерком впишите в квитанцию оплачиваемый период подписки (полгода или год), сумму, ФИО получателя, телефон, точный почтовый адрес для доставки журнала. Оплатите квитанцию в любом отделении Сбербанка России. Подтвердите оплату по телефону/факсу (495) 921-39-07 (доб. 137) или по электронной почте: bookpost@medknigaservis.ru (информация для отдела подписки).



<p><u>Оборотная сторона</u> Информация о плательщике</p> <p>_____</p> <p>(Ф.И.О., адрес плательщика)</p> <p>_____</p> <p>(ИНН налогоплательщика)</p> <p>№ _____</p> <p>(номер лицевого счета (код) плательщика)</p>	
<p><u>Оборотная сторона</u> Информация о плательщике</p> <p>_____</p> <p>(Ф.И.О., адрес плательщика)</p> <p>_____</p> <p>(ИНН налогоплательщика)</p> <p>№ _____</p> <p>(номер лицевого счета (код) плательщика)</p>	