

Министерство здравоохранения Российской Федерации

ФГБНУ «НИИ питания»

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ВОПРОСЫ ПИТАНИЯ

VOПРОSY PITANIЯ
(PROBLEMS OF NUTRITION)

Основан в 1932 г.

ТОМ 83

№ 5, 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 (г. Москва)

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

Ханферьян Роман Авакович (г. Москва)

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

Вржесинская Оксана Александровна (г. Москва)

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

Арчаков Александр Иванович (г. Москва)

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

Батурин Александр Константинович (г. Москва)

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

Бойцов Сергей Анатольевич (г. Москва)

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

Валента Рудольф – Rudolf Valenta (Австрия)

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

Видадь Сесилио – Cecilio Vidal (Испания)

профессор, руководитель департамента биохимии Университета г. Мурсия

Гаппаров Минкаил Магомед Гаджиевич (г. Москва)

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

Георгиев Павел Георгиевич (г. Москва)

академик РАН, ФГБНУ «Институт биологии гена» РАН

Голухова Елена Зеликовна (г. Москва)

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

Григорьев Анатолий Иванович (г. Москва)

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

Дил Фридрих – Friedhelm Diel (ФРГ)

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

Зайцева Нина Владимировна (г. Пермь)

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

Исаков Василий Андреевич (г. Москва)

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

Кочеткова Алла Алексеевна (г. Москва)

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

Лисицын Андрей Борисович (г. Москва)

академик РАН, директор ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт мясной промышленности им. В.М. Горбатова» Россельхозакадемии

Медведева Ирина Васильевна (г. Тюмень)

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

Нареш Маган – Magan Naresh (Великобритания)

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

Онищенко Геннадий Григорьевич (г. Москва)

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

Попова Анна Юрьевна (г. Москва)

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

Попова Тамара Сергеевна (г. Москва)

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

Савенкова Татьяна Валентиновна (г. Москва)

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

Суханов Борис Петрович (г. Москва)

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 (г. Москва)

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

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Бакиров А. Б. (Уфа, Россия)

Бессонов В.В. (Москва, Россия)

Боровик Т.Э. (Москва, Россия)

Бранко Ф. (Швейцария, ВОЗ)

Быков И.М. (Краснодар, Россия)

Васильев А.В. (Москва, Россия)

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

Застенская И.А. (Германия)

Коденцова В.М. (Москва, Россия)

Конь И.Я. (Москва, Россия)

Корешков В.Н. (Москва, Россия)

Кузьмин С.В. (Екатеринбург, Россия)

Мазо В.К. (Москва, Россия)

Макаров В.Н. (Мичуринск, Россия)

Маскелюнас И. (Литва)

Погожева А.В. (Москва, Россия)

Проданчук Н.Г. (Украина)

Скрябин К.Г. (Москва, Россия)

Спиричев В.Б. (Москва, Россия)

Сычик С.И. (Республика Беларусь)

Хенсел А. (Германия)

Шабров А.В. (Санкт-Петербург, Россия)

Шарманов Ш. (Казахстан)

Шевелева С.А. (Москва, Россия)

Шевырева М.П. (Москва, Россия)

Эллер К.И. (Москва, Россия)

Научно-практический журнал «Вопросы питания» № 5, 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,

ФГБНУ «НИИ питания»,

редакция журнала «Вопросы питания»

Телефон: (495) 698-53-60, 698-53-46

Факс: (495) 698-53-79

Научный редактор

Вржесинская О.А.: (495) 698-53-47,

red@ion.ru

Подписные индексы

(каталог агентства «Роспечать»):

71422 – для индивидуальных подписчиков,

71423 – для организаций и предприятий

Сайт журнала: <http://vp.geotar.ru>

Издатель

ООО Издательская группа

«ГЭОТАР-Медиа»

115035, г. Москва,

ул. Садовническая, д. 9, стр. 4

Телефон: (495) 921-39-07

www.geotar.ru

Выпускающий редактор:

Красникова Ольга, krasnikova@geotar.ru

Корректор: Силина Ольга

Верстка: Килимник Арина

Отдел подписки:

Хабибулина Зульфия, habibulina@geotar.ru

Тираж 3000 экземпляров.

Формат 60x90 1/8.

Печать офсетная.

Печ. л. 12,5.

Отпечатано

в ООО «Центр полиграфических

услуг «Радуга»»: 115280, г. Москва,

ул. Автозаводская, д. 25.

Заказ № 96.

© ООО Издательская группа

«ГЭОТАР-Медиа», 2014

СОДЕРЖАНИЕ

ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ ПИТАНИЯ

Аксенов И.В., Трусов Н.В., Авренева Л.И., Гусева Г.В., Лашнева Н.В., Кравченко Л.В., Тутельян В.А. 4

Влияние рутина на активность ферментов антиоксидантной защиты и метаболизма ксенобиотиков в печени крыс при разном содержании жира в рационе

Селезнева К.С., Исаков В.А., Эллер К.И., Горяинов С.В., Кириллова О.О., Сенцова Т.Б. 12

Изомерспецифический анализ метаболитов арахидоновой кислоты при неалкогольном стеатогепатите и алкогольном поражении печени у больных ожирением

Сидорова Ю.С., Бекетова Н.А., Вржесинская О.А., Коденцова В.М., Кошелева О.В., Зорин С.Н., Селифанов А.В., Мазо В.К. 20

Влияние витаминной обеспеченности на протекание общего адаптационного синдрома у растущих крыс

Чернуха И.М., Богатырев А.Н., Дыдыкин А.С., Асланова М.А., Федулова Л.В. 26

Влияние полипептидов, выделенных из сычуга крупного рогатого скота, на регенераторные процессы желудка крыс

ГИГИЕНА ПИТАНИЯ

Ефимочкина Н.Р., Быкова И.Б., Батищева С.Ю., Минаева Л.П., Маркова Ю.М., Короткевич Ю.В., Шилов Г.Ю., Шевелева С.А. 33

Изучение особенностей микробной контаминации свежих овощей и листовых салатов промышленного изготовления

Басов А.А., Быков И.М., Барышев М.Г., Джимаков С.С., Быков М.И. 43

Концентрация дейтерия в пищевых продуктах и влияние воды с модифицированным изотопным составом на показатели свободнорадикального окисления и содержание тяжелых изотопов водорода у экспериментальных животных

МИКРОЭЛЕМЕНТЫ В ПИТАНИИ

Кекина Е.Г., Голубкина Н.А., Тульчинская О.В. 51

Значение рыбы для обеспеченности йодом и селеном жителей Москвы и Московской области

Зорин С.Н., Сидорова Ю.С., Зилова И.С., Мазо В.К. 58

Комплекс цинка с ферментализатом белка селезенки свиньи – исследование *in vivo*

ЛЕЧЕБНОЕ ПИТАНИЕ

Рахманов Р.С., Истомин А.В., Нарутдинов Д.А., Кропачев В.Ю. 64

Оценка эффективности использования натурального низкокалорийного белково-растительного продукта в питании пациентов с избыточной массой тела и гипертонической болезнью

Селезнева К.С., Исаков В.А., Сенцова Т.Б., Кириллова О.О. 72

Анализ эффективности диетотерапии неалкогольного стеатогепатита у больных ожирением с использованием низкокалорийного или изокалорийного рационов

Шостак Н.А., Мурадянц А.А., Кондрашов А.А., Денисова С.Н. 79

Клиническая эффективность быстрорастворимого козьего молока в комплексной терапии и профилактике остеопороза у больных ревматоидным артритом

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ

Перова И.Б., Жогова А.А., Полякова А.В., Эллер К.И., Раменская Г.В., Самылина И.А. 86

Биологически активные вещества плодов кизила (*Cornus mas* L.)

ИСТОРИЯ МЕДИЦИНЫ

Коньшев И.С., Адаменко А.М., Кошелев В.П. 95

Основы организации питания в русской армии по Воинскому уставу Петра Великого

К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ

Вопросы питания. Том 83, № 5, 2014

CONTENTS

PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY NUTRITION

Aksenov I.V., Trusov N.V., Avreneva L.I., Guseva G.V., Lashneva N.V., Kravchenko L.V., Tutelyan V.A. 4

Effects of rutin on the activity of antioxidant enzymes and xenobiotic-metabolizing enzymes in liver of rats fed diets with different level of fat

Selezneva K.S., Isakov V.A., Eller K.I., Goryainov S.V., Kirillova O.O., Sentsova T.B. 12

Isomeric specific analysis of hydroxyeicosatetraenoic acid in blood samples from obese patients with non-alcoholic and alcoholic steatohepatitis

Sidorova Yu.S., Beketova N.A., Vrzhesinskaya O.A., Kodentsova V.M., Kosheleva O.V., Zorin S.N., Selifanov A.V., Mazo V.K. 20

Effect of vitamin sufficiency on adaptation syndrome in growing rats

Chernukha I.M., Bogatyrev A.N., Dydykin A.S., Aslanova M.A., Fedulova L.V. 26

Effect of polypeptides isolated from cattle abomasum on stomach regenerative processes in rats

HYGIENE OF NUTRITION

Efimochkina N.R., Bykova I.B., Batisheva S.Yu., Minaeva L.P., Markova Yu.M., Korotkevich Yu.V., Shilov G.Yu., Sheveleva S.A. 33

Study of microbial contamination of processed fresh vegetables and lettuce

Basov A.A., Bykov I.M., Baryshev M.G., Dzhimak S.S., Bykov M.I. 43

Determination of deuterium concentration in foods and influence of water with modified isotopic composition on oxidation parameters and heavy hydrogen isotopes content in experimental animals

TRACE ELEMENTS IN NUTRITION

Kekina H.G., Golubkina N.A., Tulchinskaya O.V. 51

Contribution of fish consumption to human iodine and selenium status in Moscow and Moscow Region

Zorin S.N., Sidorova Yu.S., Zilova I.S., Mazo V.K. 58

Complex of zinc with enzymatic hydrolysate of pigspleen protein – *in vivo* investigation

DIET TREATMENT

Rakhmanov R.S., Istomin A.V., Narutdinov D.A., Kropachev V.Yu. 64

Efficiency of usage of natural low caloric protein-vegetable product by patients with excess body weight and hypertension

Selezneva K.S., Isakov V.A., Sentsova T.B., Kirillova O.O. 72

An analysis of the efficacy of low-calorie and isocaloric diets in obese patients with nonalcoholic steatohepatitis

Shostak N.A., Muradyants A.A., Kondrashov A.A., Denisova S.N. 79

Clinical efficacy instant goat milk in the complex therapy and prevention of osteoporosis in patients with rheumatoid arthritis

BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN FOODS

Perova I.B., Zhogova A.A., Polyakova A.V., Eller K.I., Ramenskaya G.V., Samylina I.A. 86

Biologically active substances of cornelian cherry fruits (*Cornus mas* L.)

HISTORY OF MEDICINE

Konyshev I.S., Adamenko A.M., Koshelev V.P. 95

Catering services bases in the Russian army under military regulation of Peter the Great

INFORMATION FOR AUTHORS

3

Для корреспонденции

Аксенов Илья Владимирович – кандидат медицинских наук,
старший научный сотрудник лаборатории энзимологии питания
ФГБНУ «НИИ питания»

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

Телефон: (495) 698-53-65

E-mail: aksenov@ion.ru

И.В. Аксенов, Н.В. Трусов, Л.И. Авреньева, Г.В. Гусева, Н.В. Лашнева, Л.В. Кравченко,
В.А. Тутельян

Влияние рутина на активность ферментов антиоксидантной защиты и метаболизма ксенобиотиков в печени крыс при разном содержании жира в рационе

Effects of rutin on the activity of antioxidant enzymes and xenobiotic-metabolizing enzymes in liver of rats fed diets with different level of fat

I.V. Aksenov, N.V. Trusov,
L.I. Avreneva, G.V. Guseva,
N.V. Lashneva, L.V. Kravchenko,
V.A. Tutelyan

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

Исследования проведены на 6 группах крыс-самцов линии Вистар, которые в течение 28 дней получали полусинтетические рационы: 1-я и 4-я группы – безжировой; 2-я и 5-я группы – стандартный (10% жира по весу, 26% – по калорийности; ляд/подсолнечное масло – 1/1); 3-я и 6-я группы – высокожировой (30% жира по весу, 56% – по калорийности). В течение последних 14 дней эксперимента крысы 4, 5 и 6-й групп получали рутин в дозе 40 мг/кг массы тела в сутки. Была изучена общая антиоксидантная активность (АОА) плазмы крови, содержание в ней малонового диальдегида (МДА), активность в ней параоксоназы-1. В печени наряду с показателями антиоксидантного статуса (уровнем МДА, активностью параоксоназы-1, хинонредуктазы, гемоксигеназы-1) исследовали активность ферментов метаболизма ксенобиотиков (ФМК) (СУР1А1, СУР1А2, СУР3А1, СУР2В1, UDP-глюкуронозилтрансферазы и глутатион-трансферазы), а также неседиментируемую активность лизосомальных ферментов (арилсульфатаз А и В, β-галактозидазы и β-глюкуронидазы). Было установлено возрастание активности ферментов антиоксидантной защиты и ФМК при увеличении количества жира в рационе. Рутин не оказывал выраженного влияния на показатели антиоксидантного статуса и снижал неседиментируемую активность лизосомальных ферментов независимо от содержания жира в рационе. Рутин в составе стандартного рациона стимулировал в разной степени активность всех изученных ФМК, но практически не влиял на их активность при использовании безжирового и высокожирового рационов. Полученные результаты позволяют заключить, что независимо от уровня жира в рационе крыс рутин в дозе, сопоставимой с дозами, применяемыми в клинических исследованиях, не оказывает существенного влияния на активность антиоксидантных ферментов, в то время как снижение или увеличе-

ние содержания жира модулирует (подавляет) действие рутина на активность ФМК.

Ключевые слова: рутин, безжировой рацион, высокожировой рацион, ферменты метаболизма ксенобиотиков, ферменты антиоксидантной защиты, ферменты лизосом

The study has been carried out on 6 groups of male Wistar rats, which received semi-synthetic diets within 28 days. Rats of 1st and 4th group received fat-free diet, 2nd and 5th – diet containing standard amount of fat (10% by weight, 26% by caloric content; lard/sunflower oil – 1/1); 3rd and 6th group – a high-fat diet (30% by weight, 56% by caloric content). During the last 14 days of the experiment rats received rutin in the dose of 40 mg/kg b.w. AOA, MDA level and the activity of paraoxonase 1 have been evaluated in blood serum. In rat liver along with the parameters of the antioxidant status (MDA level, activity of paraoxonase 1, quinone reductase, heme oxygenase-1) the activity of xenobiotic-metabolizing enzymes (XME) (CYP1A1, CYP1A2, CYP3A1, CYP2B1, UDP-glucuronosyl transferase and glutathione transferase) and the activity of lysosomal enzymes (arylsulfatase A and B, β -galactosidase and β -glucuronidase) have been investigated. Elevation of the activity of antioxidant enzymes and XME in liver with the increase of diet fat content has been noted. Rutin administration had no effect on parameters of antioxidant status and decreased unsedimentable activity of lysosomal enzymes that did not depend on fat content in the diet. Rutin receiving increased the activity of all studied XME in rats fed standard diet, but practically did not effect on their activity in rats fed by fat-free and high-fat diets. Thus, rutin in pharmacological dose has no effect on the activity of antioxidant enzymes that doesn't depend on the level of fat in the diet, while the decrease or increase of diet fat content modulates (weakens) the influence of rutin on the XME activity.

Key words: rutin, fat-free diet, high-fat diet, antioxidant enzymes, xenobiotic-metabolizing enzymes, lysosomal enzymes

Согласно данным эпидемиологических исследований, регулярное употребление в пищу растительных продуктов, богатых флавоноидами, способствует снижению риска развития сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний. Одним из наиболее распространенных в природе флавоноидов является кверцетин. В пищевых продуктах кверцетин находится, как правило, в виде гликозидов, среди которых рутин (кверцетин-3-О-рутинозид) относится к числу основных. Источники рутина в питании человека – фрукты (яблоки), овощи (помидоры, чеснок, лук), ягоды (черника, клюква и др.), чай, гречиха. Рутин в отличие от кверцетина не всасывается в верхних отделах желудочно-кишечного тракта и в неизменном виде поступает в толстую кишку, где подвергается действию бактериальных β -глюкозидаз и α -рамнозидазы с образованием кверцетина. Полагают, что благоприятное действие рутина на здоровье связано в основном с его антиоксидантными свойствами и, возможно, с его влиянием на активность ферментов метаболизма ксенобиотиков (ФМК). Включение в корм крыс рутин в количестве 1,0% от рациона в течение 20 дней приводило

к снижению содержания в печени продукта перекисного окисления липидов (ПОЛ) – малонового диальдегида (МДА) и повышению общей антиоксидантной активности (АОА) [18], а в количестве 0,4% от рациона в течение 14 дней – к возрастанию активности хинонредуктазы в печени и АОА плазмы крови [5]. Введение крысам рутина в дозе 60 мг/кг массы тела на протяжении 5 дней вызвало повышение активности CYP1A1 [22]. Усиление экспрессии белка CYP1A1 в печени крыс обнаруживали при введении им кверцетина в дозе 60 мг/кг массы тела в течение 3 дней [21].

Имеются данные о том, что состав рациона может значительно влиять на эффекты биологически активных компонентов пищи. Так, в наших предыдущих исследованиях было показано, что изменение количества и качества липидного компонента рациона модулирует индуцибельность индол-3-карбинолом ФМК в печени крыс [4].

Исходя из вышеизложенного **целью** работы явилось изучение влияния рутина на активность ферментов антиоксидантной защиты и ФМК в печени крыс, получавших рационы с разным содержанием жира.

Материал и методы

В работе придерживались нормативов содержания лабораторных животных в соответствии с Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых в экспериментах и других научных целях (Совет Европы, Страсбург, 1986 г.).

Исследования проводили на 6 группах (по 8 животных в группе) крыс-самцов линии Вистар со средней массой тела $88,6 \pm 0,8$ г, которые в течение 28 дней получали полусинтетические рационы с разным содержанием жира (состав рационов см. [3]). Крысы 1-й и 4-й групп получали безжировой рацион, в котором содержание липидов (1% по массе, 3% по калорийности) обеспечивалось за счет липидов казеина, крахмала и смеси жирорастворимых витаминов. Рацион крыс 2-й и 5-й групп содержал стандартное (оптимальное) количество жира – 10% по массе (26% – по калорийности; лярд/подсолнечное масло – 1/1), а высокожировой рацион 3-й и 6-й групп содержал 30% жира по массе (56% – по калорийности; лярд/подсолнечное масло – 1/1). В течение последних 14 дней эксперимента крысы 4, 5 и 6-й групп получали рутин («LIANYUNGANG SAMIN FOOD ADDITIVES CO. LTD», Китай) в дозе 40 мг/кг массы тела в сутки, которая с учетом коэффициента конверсии [29] была эквивалентна для человека массой тела 70 кг употреблению 454 мг рутина. Такая доза примерно соответствовала количеству флавоноида, использованному при изучении его антиоксидантных свойств в исследовании на добровольцах [9].

В плазме крови и печени крыс определяли содержание МДА [26, 28] и активность параоксоназы-1 [6]. АОА плазмы крови оценивали в тест-системе Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) [8]. В микросомах, выделенных из печени крыс [23], определяли этоксирезорифиндеалкилазную (ЭРОД) активность CYP1A1 [27], метоксирезорифиндеалкилазную (МРОД) активность CYP1A2 и пентоксирезорифиндеалкилазную (ПРОД) активность CYP2B1 [11], 6 β -тестостеронгидроксилазную (6 β -ТГ) активность CYP3A [34], активность UDP-глю-

куронозилтрансферазы [10] и гемоксигеназы-1 [25]. Наряду с этим в цитозоле печени [23] изучали активность хинонредуктазы [7] и глутатионтрансферазы [20], а также неседиментируемую активность ферментов лизосом [2]: арилсульфатаз А и В, β -глюкуронидазы и β -галактозидазы.

Статистическую обработку полученных данных проводили методом дисперсионного анализа ANOVA. Различия считали достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Как видно из табл. 1, снижение уровня жира в рационе крыс 1-й группы приводило к уменьшению суточных прибавок массы (на 23%) и конечной массы тела (на 16%) по сравнению со 2-й группой, получавшей рацион со стандартным содержанием жира (10%). Увеличение содержания жира в рационе крыс 3-й группы вызывало повышение суточных прибавок массы (на 12%) и конечной массы тела (на 7%). Относительная масса печени у крыс 1–3-й групп достоверно не различалась. Рутин не оказывал влияния на зависимые от рациона изменения массы тела, а также на относительную массу печени крыс 4–6-й групп.

Не было установлено достоверных различий в уровнях МДА, АОА и активности параоксоназы-1 в плазме крови крыс 1-й и 2-й групп (табл. 2). В печени крыс 1-й группы было выявлено снижение содержания МДА на 17%, активности параоксоназы-1 на 18%, хинонредуктазы на 43%, гемоксигеназы-1 на 20% по сравнению с показателями животных 2-й группы. В плазме крови крыс 3-й группы возрастало содержание МДА (на 14%), АОА и активность параоксоназы-1 достоверно не отличались от таковых у животных 2-й группы. В печени при этом повышались уровень МДА (на 17%) и активность параоксоназы-1 (на 28%), активность хинонредуктазы и гемоксигеназы-1 достоверно не изменялась по сравнению с параметрами 2-й группы. Рутин не оказывал статистически значимого влияния на изученные показатели антиоксидантного статуса в плазме крови

Таблица 1. Масса тела и относительная масса печени крыс, получавших рационы с разным содержанием жира ($M \pm m$)

Показатель	Группа животных (содержание жира в рационе, %)					
	1-я (1)	2-я (10)	3-я (30)	4-я (1 + рутин)	5-я (10 + рутин)	6-я (30 + рутин)
Масса тела, г						
исходная	$87,6 \pm 2,5$	$89,6 \pm 2,7$	$88,1 \pm 1,5$	$87,0 \pm 1,3$	$91,5 \pm 2,7$	$88,0 \pm 1,7$
конечная	216 ± 7^a	257 ± 4^b	276 ± 7^c	220 ± 6^a	260 ± 6^{bc}	274 ± 6^{bc}
Прибавка массы тела, г/сут	$4,53 \pm 0,27^a$	$5,88 \pm 0,15^b$	$6,60 \pm 0,24^c$	$4,70 \pm 0,19^a$	$5,91 \pm 0,20^b$	$6,55 \pm 0,22^c$
Относительная масса печени, %	$3,74 \pm 0,10$	$3,88 \pm 0,15$	$3,71 \pm 0,11$	$3,71 \pm 0,09$	$3,80 \pm 0,11$	$3,97 \pm 0,11$

Примечание. Здесь и в табл. 2–4 различия между значениями, обозначенными разными буквами (a, b, c и др.), статистически достоверны ($p < 0,05$).

Таблица 2. Содержание малонового диальдегида, антиоксидантная активность и активность ферментов антиоксидантной защиты у крыс, получавших рационы с разным содержанием жира ($M \pm m$)

Показатель	Группа животных (содержание жира в рационе, %)					
	1-я (1)	2-я (10)	3-я (30)	4-я (1 + рутин)	5-я (10 + рутин)	6-я (30 + рутин)
<i>Плазма крови</i>						
МДА, нмоль/мл	3,25±0,20 ^a	3,66±0,13 ^{ab}	4,18±0,21 ^c	3,41±0,13 ^{ab}	3,85±0,15 ^{bc}	3,80±0,19 ^{bc}
АОА, мМ Fe ²⁺ эквивалентов	0,36±0,02	0,34±0,01	0,35±0,01	0,35±0,02	0,34±0,01	0,35±0,01
Параоксоназа-1, мкмоль/мин×мл	108±6	111±7	101±3	113±6	101±5	116±7
<i>Печень</i>						
МДА, нмоль/г ткани	86±2 ^a	104±5 ^{bc}	122±6 ^d	98±2 ^{ab}	114±3 ^{cd}	148±9 ^e
Параоксоназа-1, мкмоль/мин×мг белка	5,35±0,20 ^a	6,56±0,35 ^b	8,40±0,54 ^c	6,23±0,37 ^{ab}	7,35±0,25 ^{bc}	8,46±0,50 ^c
Хинонредуктаза, нмоль/мин×мг белка	142±11 ^a	249±25 ^b	211±33 ^b	186±19 ^{ab}	235±23 ^b	148±15 ^a
Гемоксигеназа-1, пмоль/мин×мг белка	12,9±0,5 ^a	16,2±0,6 ^b	14,2±0,7 ^{ab}	14,9±1,0 ^{ab}	15,2±1,2 ^{ab}	15,3±1,3 ^{ab}

Таблица 3. Активность ферментов метаболизма ксенобиотиков в печени крыс, получавших рационы с разным содержанием жира ($M \pm m$)

Показатель	Группа животных (содержание жира в рационе, %)					
	1-я (1)	2-я (10)	3-я (30)	4-я (1 + рутин)	5-я (10 + рутин)	6-я (30 + рутин)
ЭРОД (СУР1А1), пмоль/мин×мг белка	8,25±0,73 ^{ab}	8,00±0,56 ^b	10,76±0,92 ^c	8,88±0,54 ^{ab}	10,04±0,40 ^{ac}	9,20±0,57 ^{abc}
МРОД (СУР1А2), пмоль/мин×мг белка	63,5±8,0 ^a	61,0±6,2 ^a	92,2±11,4 ^b	68,2±5,8 ^{ac}	71,4±5,3 ^{abc}	87,4±8,1 ^{bc}
ПРОД (СУР2В1), пмоль/мин×мг белка	9,14±0,75 ^{ab}	6,96±0,23 ^a	10,8±0,77 ^b	9,47±0,68 ^b	9,20±1,18 ^{ab}	10,45±0,75 ^b
6β-ТГ (СУР3А), нмоль/мин×мг белка	0,41±0,05 ^a	0,58±0,08 ^{ab}	0,83±0,10 ^{cd}	0,48±0,06 ^{ab}	0,63±0,06 ^{bc}	0,87±0,11 ^d
UDP-глюкуронозилтрансфераза, нмоль/мин×мг белка	9,81±0,59 ^a	11,63±0,65 ^{ab}	13,25±0,59 ^b	9,82±0,38 ^a	18,13±1,73 ^c	19,17±1,38 ^c
Глутатионтрансфераза, мкмоль/мин×мг белка	0,86±0,02 ^a	1,15±0,05 ^b	1,34±0,05 ^{cd}	0,93±0,06 ^a	1,22±0,04 ^{bc}	1,40±0,06 ^d

и печени крыс, рацион которых содержал минимальное (4-я группа) или стандартное (5-я группа) количество жира. У крыс 6-й группы, получавших рутин в составе высокожирового рациона, повышался уровень МДА (на 21% относительно 3-й группы) и снижалась активность хинонредуктазы (на 30%) в печени, другие показатели антиоксидантного статуса в печени, а также в плазме крови достоверно не изменялись.

Активность изученных ФМК в печени крыс 1-й группы, получавших безжировой рацион, существенно не отличалась от показателей 2-й группы, за исключением активности глутатионтрансферазы, которая снижалась на 25% (табл. 3). Значительное возрастание активности ФМК было обнаружено в печени крыс 3-й группы, получавших высокожировой рацион: активность ЭРОД возросла на 35%, МРОД – на 51%, ПРОД – на 55%, 6β-ТГ – на 43%, глутатионтрансферазы – на 16%, UDP-глюкуронозилтрансферазы – на 14% ($p=0,09$) по сравнению с показателями животных 2-й группы. Рутин в составе рациона со стандартным содержанием жира (5-я группа) приводил к возрастанию по сравнению со 2-й группой активности всех изученных ФМК в печени, но только для ЭРОД

(на 26%) и UDP-глюкуронозилтрансферазы (на 56%) изменения носили статистически достоверный характер. У крыс 4-й группы, получавших безжировой рацион, рутин не оказывал влияния на активность изученных ФМК в печени: достоверных различий от параметров животных 1-й группы не выявлено. Рутин в составе высокожирового рациона (6-я группа) вызывал существенное возрастание активности только UDP-глюкуронозилтрансферазы – на 45% относительно уровня у крыс 3-й группы.

Неседиментируемая активность ферментов лизосом печени крыс 1-й и 3-й групп не отличалась достоверно от показателей 2-й группы крыс, получавших рацион со стандартным содержанием жира (табл. 4). При этом можно отметить некоторую общую тенденцию к снижению (статистически недостоверному) неседиментируемой активности всех изученных ферментов лизосом печени крыс при увеличении содержания жира в их рационе. Введение рутина приводило к существенному снижению неседиментируемой активности лизосомальных ферментов, которое практически не зависело от уровня жира в рационе. Так, в печени крыс 5-й группы, получавших рутин в соста-

Таблица 4. Неседиментируемая активность лизосомальных ферментов печени крыс, получавших рационы с разным содержанием жира ($M \pm m$)

Показатель	Группа животных (содержание жира в рационе, %)					
	1-я (1)	2-я (10)	3-я (30)	4-я (1 + рутин)	5-я (10 + рутин)	6-я (30 + рутин)
Арилсульфатазы А и В	9,53±0,28 ^a	9,01±0,34 ^{ab}	8,49±0,51 ^{abc}	7,75±0,50 ^c	8,09±0,43 ^{bc}	8,00±0,45 ^{bc}
β-Галактозидаза	6,38±0,35 ^a	5,99±0,42 ^{ab}	5,71±0,34 ^{ab}	5,33±0,24 ^{bc}	4,74±0,19 ^{cd}	4,16±0,30 ^d
β-Глюкуронидаза	9,56±0,46 ^a	9,42±0,69 ^a	8,88±0,50 ^a	7,13±0,44 ^b	6,95±0,53 ^b	6,35±0,43 ^b

ве рациона со стандартным содержанием жира, неседиментируемая активность β-галактозидазы снижалась на 21% по сравнению с таковой у крыс 2-й группы, β-глюкуронидазы – на 26%. В 4-й группе крыс, которые получали рутин в составе безжирового рациона, активность в печени арилсульфатаз уменьшалась на 19% по сравнению с показателем 1-й группы, β-галактозидазы – на 16%, β-глюкуронидазы – на 25%. В 6-й группе, крысы которой получали рутин в составе высокожирового рациона, активность β-галактозидазы в печени уменьшалась на 27%, β-глюкуронидазы – на 28% относительно активности ферментов у крыс 3-й группы.

Таким образом, проведенные исследования показали, что уровень жира в рационе может оказывать существенное влияние на активность ферментов антиоксидантной защиты и ФМК. Эти результаты подтверждают данные наших предыдущих работ [3], а также данные других исследователей [1, 13, 14], согласно которым у крыс, получавших высокожировой рацион, отмечалось повышение в печени активности ферментов антиоксидантной защиты (параоксоназы-1, гемоксигеназы-1, каталазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы), а также возрастание активности ФМК (ЭРОД, МРОД, UDP-глюкуронозилтрансферазы, глутатионтрансферазы) по сравнению с безжировым рационом. Анализ данных литературы позволяет предположить, что возрастание активности ферментов антиоксидантной защиты при увеличении содержания жира в рационе является следствием некоторого усиления ПОЛ и увеличения накопления МДА в печени. Как отмечалось ранее [3], более высокая активность ФМК у крыс, получавших высокожировой рацион, может быть результатом изменения состава и свойств микросомальных мембран, а также следствием усиления синтеза ферментов, опосредованного активацией полиненасыщенными жирными кислотами транскрипционных факторов PPAR и HNF4α [19, 30].

При оптимальном содержании жира в рационе рутин не оказывал статистически значимого воздействия на исследованные показатели антиоксидантного статуса как в плазме, так и в печени крыс. Результаты изучения влияния рутина на активность антиоксидантных ферментов на фоне безжирового (4-я группа) и высокожирового

рациона (6-я группа) не выявили значительного изменения ферментативной активности (исключая хинонредуктазу) относительно 5-й группы, получавшей стандартный рацион. Данные литературы об антиоксидантном действии рутина и его агликона кверцетина носят неоднозначный характер. Результаты ряда исследований свидетельствуют об отсутствии существенного влияния рутина и кверцетина на антиоксидантный статус организма. Так, введение крысам рутина в дозе 100 мг/кг массы тела в течение 60 дней не влияло на содержание в печени МДА, гидроперекисей липидов и диеновых конъюгатов [31]. Рутин также не вызывал достоверных изменений активности каталазы и глутатионпероксидазы при длительном введении в дозе 50 мг/кг массы тела [24]. Не обнаружено влияния кверцетина на уровень МДА, активность каталазы, глутатионпероксидазы, супероксиддисмутазы и хинонредуктазы в печени крыс при его включении в рацион в количестве 0,2% в течение 22 дней [36]. Прием добровольцами рутина однократно и в течение 42 дней в количестве 500 мг не оказывал влияния на АОА плазмы крови и уровень МДА в ней [9]. В то же время, как уже отмечалось, результаты других работ свидетельствуют о выраженном действии рутина на показатели антиоксидантного статуса у экспериментальных животных. Так, у крыс поступление с рационом рутина в высокой концентрации (1% от рациона) в течение 20 дней приводило в печени к повышению АОА, снижению содержания МДА, возрастанию активности супероксиддисмутазы [18]. По данным [5], включение в корм крыс рутина в количестве 0,4% в течение 2 нед стимулировало активность хинонредуктазы в печени, повышало АОА плазмы крови и снижало в ней уровень МДА.

Особый интерес представляют результаты влияния рутина на активность ФМК в печени при разном содержании жира в рационе. Рутин в составе полноценного рациона (5-я группа) стимулировал в разной степени активность всех изученных ФМК, но практически не влиял на их активность при использовании безжирового (4-я группа) и высокожирового (6-я группа) рационов (исключение составляла активность UDP-глюкуронозилтрансферазы). Имеющиеся в литературе эксперимен-

тальные данные о влиянии рутина на ФМК носят противоречивый характер. Как один из возможных механизмов индукции рутином активности ФМК рассматривают способность его агликона кверцетина стимулировать экспрессию их генов [35] в результате активации транскрипционного фактора AhR [17]. Так, введение крысам кверцетина (60 мг/кг массы тела, 3 дня) приводило к индукции в печени экспрессии белка CYP1A1 [21]. Повышение ЭРОД активности CYP1A1 обнаруживали у крыс, получавших в течение 5 дней ту же дозу рутина [22]. В других исследованиях кверцетин ингибировал активность ФМК или не оказывал на нее действие. Например, в работе *in vitro* с использованием изолированного цитохрома P450 человека было отмечено ингибирование кверцетином активности CYP3A4 [16]. По данным [12, 32], включение в рацион крыс кверцетина в количестве 0,3% в течение 14 дней не оказывало значимого влияния на ЭРОД активность CYP1A1, ПРОД актив-

ность CYP2B1, а также активность CYP3A, глутатионтрансферазы и UDP-глюкуронозилтрансферазы в печени. У добровольцев, получавших кверцетин в количестве 500 мг на протяжении 13 дней, было установлено ингибирование активности CYP1A2 при использовании кофеина в качестве субстрата [15].

Следует отметить выявленное снижение неседиментируемой активности лизосомальных ферментов в печени крыс, получавших рутин, что подтверждает данные о его мембраностабилизирующем действии [33].

Полученные результаты позволяют заключить, что независимо от уровня жира в рационе крыс рутин в количестве, сопоставимом с применяемыми в клинических исследованиях дозами, не оказывает существенного влияния на активность антиоксидантных ферментов, в то время как снижение или увеличение содержания жира модулирует (подавляет) действие рутина на активность ФМК.

Сведения об авторах

ФГБНУ «НИИ питания» (Москва):

Аксенов Илья Владимирович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории энзимологии питания

E-mail: aksenov@ion.ru

Трусов Никита Вячеславович – научный сотрудник лаборатории энзимологии питания

E-mail: nikkitosu@yandex.ru

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

E-mail: avreneva@ion.ru

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

E-mail: mailbox@ion.ru

Лашнева Нина Васильевна – кандидат медицинских наук, ведущий 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

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

E-mail: tutelyan@ion.ru

Литература

1. Герич О.Х., Пентюк О.О. Влияние перегрузки рациона жирами на энзиматические системы метаболизма у крыс // Укр. биохим. журн. – 2008. – Т. 80, № 1. – С. 73–82.
2. Дингл Д. Лизосомы. Методы исследования. – М., 1980. – 344 с.
3. Кравченко Л.В., Аксенов И.В., Трусов Н.В. и др. Влияние количества жира в рационе на активность ферментов метаболизма ксенобиотиков и антиоксидантной защиты у крыс // Вопр. питания. – 2012. – Т. 81, № 1. – С. 24–29.
4. Тутельян В.А., Трусов Н.В., Гусева Г.В. и др. Индукция индол-3-карбинолом активности и экспрессии генов CYP1A1, CYP1A2 и CYP3A1 в печени крыс при разном содержании жира в их рационе // Бюл. exper. биол. – 2012. – Т. 154, № 8. – С. 215–220.
5. Ускова М.А., Кравченко Л.В., Авреньева Л.И., Тутельян В.А. Влияние пробиотика *Lactobacillus casei* 114001 на биологическую активность рутина // Бюл. exper. биол. – 2010. – Т. 149, № 5. – С. 510–515.
6. Beltowski J., Jamroz-Wisniewska A., Borkowska E., Wycicka G. Differential effect of antioxidant treatment on plasma and tissue paraoxonase activity in hyperleptinemic rats // Pharmacol. Res. – 2005. – Vol. 51. – P. 523–532.

7. Benson A.M., Hunkeler M.J., Talalay P. Increase of NAD(P)H:quinone reductase by dietary antioxidants: possible role in protection against carcinogenesis and toxicity // Proc. Natl Acad. Sci. USA. – 1980. – Vol. 77, N 9. – P. 5216–5220.
8. Benzie I.F.F., Strain J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of «antioxidant power»: the FRAP assay // Anal. Biochem. – 1996. – Vol. 239. – P. 70–76.
9. Boyle S.P., Dobson V.L., Duthie S.J. et al. Bioavailability and efficiency of rutin as an antioxidant: a human supplementation study // Eur. J. Clin. Nutr. – 2000. – Vol. 54, N 10. – P. 774–782.
10. Burchell B., Weatherill P. 4-Nitrophenol UDPglucuronyltransferase (rat liver) // Methods Enzymol. – 1981. – Vol. 77. – P. 169–177.
11. Burke M.D., Mayer R.T. Differential effects of phenobarbitone and 3-methylcholanthrene induction on the hepatic microsomal metabolism and cytochrome P-450-binding of phenoxazone and a homologous series of its n-alkyl ethers (alkoxyresorufins) // Chem. Biol. Interact. – 1983. – Vol. 45, N 2. – P. 243–258.
12. Canivenc-Lavier M.C., Vernevaux M.F., Totis M. et al. Comparative effects of flavonoids and model inducers on drug-metabolizing enzymes in rat liver // Toxicology. – 1996. – Vol. 114. – P. 19–27.
13. Chen H.W., Tsai C.W., Yang J.J. et al. The combined effects of garlic oil and fish oil on the hepatic antioxidant and drug-metabolizing enzymes of rats // Br. J. Nutr. – 2003. – Vol. 89, N 2. – P. 189–200.
14. Chen H.W., Yang J.J., Tsai C.W. et al. Dietary fat and garlic oil independently regulate hepatic cytochrome P(450)2B1 and the placental form of glutathione S-transferase expression in rats. // J. Nutr. – 2001. – Vol. 131, N 5. – P. 1438–1443.
15. Chen Y., Xiao P., Ou-Yang D.S. et al. Simultaneous action of the flavonoid quercetin on cytochrome P450 (CYP) 1A2, CYP2A6, N-acetyltransferase and xanthine oxidase activity in healthy volunteers // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. – 2009. – Vol. 36, N 8. – P. 828–833.
16. Choi J.S., Piao Y.J., Kang K.W. Effects of quercetin on the bioavailability of doxorubicin in rats: role of CYP3A4 and P-gp inhibition by quercetin // Arch. Pharm. Res. – 2011. – Vol. 34, N 4. – P. 607–613.
17. Ciolino H.P., Daschner P.J., Yeh G.C. Dietary flavonols quercetin and kaempferol are ligands of the aryl hydrocarbon receptor that affect CYP1A1 transcription differentially // Biochem. J. – 1999. – Vol. 340, Pt 3. – P. 715–722.
18. Gao Z., Xu H., Chen X., Chen H. Antioxidant status and mineral contents in tissues of rutin and baicalin fed rats // Life Sci. – 2003. – Vol. 73, N 12. – P. 1599–1607.
19. Gonzalez F.J. Regulation of hepatocyte nuclear factor 4 α -mediated transcription // Drug Metab. Pharmacokinet. – 2008. – Vol. 23, N 1. – P. 2–7.
20. Habig W.H., Pabst W.J., Jacoby W.B. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation // J. Biol. Chem. – 1974. – Vol. 249, N 22. – P. 7130–7139.
21. Hodek P., Hanustiak P., Krizkova J. et al. Toxicological aspects of flavonoid interaction with biomacromolecules // Neuro Endocrinol. Lett. – 2006. – Vol. 27, suppl. 2. – P. 14–17.
22. Krizkova J., Burdova K., Stiborova M. et al. The effects of selected flavonoids on cytochromes P450 in rat liver and small intestine // Interdiscip. Toxicol. – 2009. – Vol. 2, N 3. – P. 201–204.
23. Lake B.G. Preparation and characterisation of microsomal fractions for studies on xenobiotic metabolism // Biochemical Toxicology: A Practical Approach. – Oxford, 1987. – P. 183–215.
24. Mahmoud A.M. Influence of rutin on biochemical alterations in hyperammonemia in rats // Exp. Toxicol. Pathol. – 2012. – Vol. 64, N 7–8. – P. 783–789.
25. McNally S.J., Ross J.A., James Garden O., Wigmore S.J. Optimization of the paired enzyme assay for heme oxygenase activity // Anal. Biochem. – 2004. – Vol. 332, N 2. – P. 398–400.
26. Mihara M., Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test // Anal. Biochem. – 1978. – Vol. 86. – P. 271–278.
27. Nakajima M., Nakamura S., Tokudome S. et al. Azelastine N-demethylation by cytochrome P-450 (CYP)3A4, CYP2D6, and CYP1A2 in human liver microsomes: evaluation of approach to predict the contribution of multiple CYPs // Drug Metab. Dispos. – 1999. – Vol. 27, N 12. – P. 1381–1391.
28. Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction // Anal. Biochem. – 1979. – Vol. 95, N 2. – P. 351–358.
29. Reagan-Shaw S., Nihal M., Ahmad N. Dose translation from animal to human studies revisited // FASEB J. – 2008. – Vol. 22, N 3. – P. 659–661.
30. Runge-Morris M., Kocarek T.A. Regulation of sulfotransferase and UDP-glucuronosyltransferase gene expression by the PPARs // PPAR Res. – 2009. – Vol. 2009. – N 728941.
31. Shenbagam M., Nalini N. Dose response effect of rutin a dietary antioxidant on alcohol-induced prooxidant and antioxidant imbalance – a histopathologic study // Fundam. Clin. Pharmacol. – 2011. – Vol. 25, N 4. – P. 493–502.
32. Siess M.H., Guillermic M., Le Bon A.M., Suschetet M. Induction of monooxygenase and transferase activities in rat by dietary administration of flavonoids // Xenobiotica. – 1989. – Vol. 19, N 12. – P. 1379–1386.
33. Stanely Mainzen Prince P., Priya S. Preventive effects of rutin on lysosomal enzymes in isoproterenol induced cardio toxic rats: biochemical, histological and in vitro evidences // Eur. J. Pharmacol. – 2010. – Vol. 649. – P. 229–235.
34. Umegaki K., Saito K., Kubota Y. et al. Ginkgo biloba extract markedly induces pentoxifyllin O-dealkylase activity in rats // Jpn. J. Pharmacol. – 2002. – Vol. 90, N 4. – P. 345–351.
35. Vrba J., Kren V., Vacek J. et al. Quercetin, quercetin glycosides and taxifolin differ in their ability to induce AhR activation and CYP1A1 expression in HepG2 cells // Phytother. Res. – 2012. – Vol. 26, N 11. – P. 1746–1752.
36. Wiegand H., Boesch-Saadatmandi C., Regos I. et al. Effects of quercetin and catechin on hepatic glutathione-S transferase (GST), NAD(P)H quinone oxidoreductase 1 (NQO1), and antioxidant enzyme activity levels in rats // Nutr. Cancer. – 2009. – Vol. 61, N 5. – P. 717–722.

References

1. Gerych E.F., Pentyuk A.A. Influence of ration overload by fats on the enzymic systems of metabolism in rats // Ukr. Biokhim. Zh. – 2008. – Vol. 80, N 1. – P. 73–82.
2. Dingle J.T. Lysosomes: a Laboratory Handbook. – Moscow, 1980. – 344 p.
3. Kravchenko L.V., Aksenov I.V., Trusov N.V. et al. Effects of dietary fat level on the xenobiotic metabolism enzymes activity and antioxidant enzymes in rats // Vopr. Pitan. – 2012. – Vol. 81, N 1. – P. 24–29.
4. Tutelyan V.A., Trusov N.V., Guseva G.V. et al. Indole-3-carbinol induction of CYP1A1, CYP1A2, and CYP3A1 activity and gene expression in rat liver under conditions of different fat content in the diet // Bull. Exp. Biol. Med. – 2012. – Vol. 154, N 8. – P. 215–220.
5. Uskova M.A., Kravchenko L.V., Avrenjeva L.I., Tutelyan V.A. Effect of Lactobacillus casei 114001 probiotic on bioactivity of rutin // Bull. Exp. Biol. Med. – 2010. – Vol. 149, N 5. – P. 510–515.
6. Beltowski J., Jamroz-Wisniewska A., Borkowska E., Wyjicka G. Differential effect of antioxidant treatment on plasma and tissue paraoxonase activity in hyperleptinemic rats // Pharmacol. Res. – 2005. – Vol. 51. – P. 523–532.
7. Benson A.M., Hunkeler M.J., Talalay P. Increase of NAD(P)H:quinone reductase by dietary antioxidants: possible role in protection

- against carcinogenesis and toxicity // Proc. Natl Acad. Sci. USA. – 1980. – Vol. 77, N 9. – P. 5216–5220.
8. Benzie I.F.F., Strain J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of «antioxidant power»: the FRAP assay // Anal. Biochem. – 1996. – Vol. 239. – P. 70–76.
 9. Boyle S.P., Dobson V.L., Duthie S.J. et al. Bioavailability and efficiency of rutin as an antioxidant: a human supplementation study // Eur. J. Clin. Nutr. – 2000. – Vol. 54, N 10. – P. 774–782.
 10. Burchell B., Weatherill P. 4-Nitrophenol UDPglucuronyltransferase (rat liver) // Methods Enzymol. – 1981. – Vol. 77. – P. 169–177.
 11. Burke M.D., Mayer R.T. Differential effects of phenobarbitone and 3-methylcholanthrene induction on the hepatic microsomal metabolism and cytochrome P-450-binding of phenoxazone and a homologous series of its n-alkyl ethers (alkoxyresorufins) // Chem. Biol. Interact. – 1983. – Vol. 45, N 2. – P. 243–258.
 12. Canivenc-Lavier M.C., Vernevaux M.F., Totis M. et al. Comparative effects of flavonoids and model inducers on drug-metabolizing enzymes in rat liver // Toxicology. – 1996. – Vol. 114. – P. 19–27.
 13. Chen H.W., Tsai C.W., Yang J.J. et al. The combined effects of garlic oil and fish oil on the hepatic antioxidant and drug-metabolizing enzymes of rats // Br. J. Nutr. – 2003. – Vol. 89, N 2. – P. 189–200.
 14. Chen H.W., Yang J.J., Tsai C.W. et al. Dietary fat and garlic oil independently regulate hepatic cytochrome P(450)2B1 and the placental form of glutathione S-transferase expression in rats // J. Nutr. – 2001. – Vol. 131, N 5. – P. 1438–1443.
 15. Chen Y., Xiao P., Ou-Yang D.S. et al. Simultaneous action of the flavonoid quercetin on cytochrome P450 (CYP) 1A2, CYP2A6, N-acetyltransferase and xanthine oxidase activity in healthy volunteers // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. – 2009. – Vol. 36, N 8. – P. 828–833.
 16. Choi J.S., Piao Y.J., Kang K.W. Effects of quercetin on the bioavailability of doxorubicin in rats: role of CYP3A4 and P-gp inhibition by quercetin // Arch. Pharm. Res. – 2011. – Vol. 34, N 4. – P. 607–613.
 17. Ciolino H.P., Daschner P.J., Yeh G.C. Dietary flavonols quercetin and kaempferol are ligands of the aryl hydrocarbon receptor that affect CYP1A1 transcription differentially // Biochem. J. – 1999. – Vol. 340, Pt 3. – P. 715–722.
 18. Gao Z., Xu H., Chen X., Chen H. Antioxidant status and mineral contents in tissues of rutin and baicalin fed rats // Life Sci. – 2003. – Vol. 73, N 12. – P. 1599–1607.
 19. Gonzalez F.J. Regulation of hepatocyte nuclear factor 4 α -mediated transcription // Drug Metab. Pharmacokinet. – 2008. – Vol. 23, N 1. – P. 2–7.
 20. Habig W.H., Pabst W.J., Jacoby W.B. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation // J. Biol. Chem. – 1974. – Vol. 249, N 22. – P. 7130–7139.
 21. Hodek P., Hanustiak P., Krhzková J. et al. Toxicological aspects of flavonoid interaction with biomacromolecules // Neuro Endocrinol. Lett. – 2006. – Vol. 27, suppl. 2. – P. 14–17.
 22. Krizkova J., Burdova K., Stiborova M. et al. The effects of selected flavonoids on cytochromes P450 in rat liver and small intestine // Interdiscip. Toxicol. – 2009. – Vol. 2, N 3. – P. 201–204.
 23. Lake B.G. Preparation and characterisation of microsomal fractions for studies on xenobiotic metabolism // Biochemical Toxicology: A Practical Approach. – Oxford, 1987. – P. 183–215.
 24. Mahmoud A.M. Influence of rutin on biochemical alterations in hyperammonemia in rats // Exp. Toxicol. Pathol. – 2012. – Vol. 64, N 7–8. – P. 783–789.
 25. McNally S.J., Ross J.A., James Garden O., Wigmore S.J. Optimization of the paired enzyme assay for heme oxygenase activity // Anal. Biochem. – 2004. – Vol. 332, N 2. – P. 398–400.
 26. Mihara M., Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test // Anal. Biochem. – 1978. – Vol. 86. – P. 271–278.
 27. Nakajima M., Nakamura S., Tokudome S. et al. Azelastine N-demethylation by cytochrome P-450 (CYP)3A4, CYP2D6, and CYP1A2 in human liver microsomes: evaluation of approach to predict the contribution of multiple CYPs // Drug Metab. Dispos. – 1999. – Vol. 27, N 12. – P. 1381–1391.
 28. Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction // Anal. Biochem. – 1979. – Vol. 95, N 2. – P. 351–358.
 29. Reagan-Shaw S., Nihal M., Ahmad N. Dose translation from animal to human studies revisited // FASEB J. – 2008. – Vol. 22, N 3. – P. 659–661.
 30. Runge-Morris M., Kocarek T.A. Regulation of sulfotransferase and UDP-glucuronosyltransferase gene expression by the PPARs // PPAR Res. – 2009. – Vol. 2009, N 728941.
 31. Shenbagam M., Nalini N. Dose response effect of rutin a dietary antioxidant on alcohol-induced prooxidant and antioxidant imbalance – a histopathologic study // Fundam. Clin. Pharmacol. – 2011. – Vol. 25, N 4. – P. 493–502.
 32. Siess M.H., Guillermic M., Le Bon A.M., Suschetet M. Induction of monooxygenase and transferase activities in rat by dietary administration of flavonoids // Xenobiotica. – 1989. – Vol. 19, N 12. – P. 1379–1386.
 33. Stanelly Mainzen Prince P., Priya S. Preventive effects of rutin on lysosomal enzymes in isoproterenol induced cardio toxic rats: biochemical, histological and in vitro evidences // Eur. J. Pharmacol. – 2010. – Vol. 649. – P. 229–235.
 34. Umegaki K., Saito K., Kubota Y. et al. Ginkgo biloba extract markedly induces pentoxifyresorufin O-dealkylase activity in rats // Jpn. J. Pharmacol. – 2002. – Vol. 90, N 4. – P. 345–351.
 35. Vrba J., Kren V., Vacek J. et al. Quercetin, quercetin glycosides and taxifolin differ in their ability to induce AhR activation and CYP1A1 expression in HepG2 cells // Phytother. Res. – 2012. – Vol. 26, N 11. – P. 1746–1752.
 36. Wiegand H., Boesch-Saadatmandi C., Regos I. et al. Effects of quercetin and catechin on hepatic glutathione-S transferase (GST), NAD(P)H quinone oxidoreductase 1 (NQO1), and antioxidant enzyme activity levels in rats // Nutr. Cancer. – 2009. – Vol. 61, N 5. – P. 717–722.

Для корреспонденции

Селезнева Ксения Сергеевна – аспирант ФГБНУ «НИИ питания»
(отделение гастроэнтерологии и гепатологии)
Адрес: 115446, г. Москва, Каширское шоссе, д. 21
Телефон: (499) 613-17-13
E-mail: Xusha82@yandex.ru

К.С. Селезнева¹, В.А. Исаков¹, К.И. Эллер¹, С.В. Горяинов^{1, 2}, О.О. Кириллова¹, Т.Б. Сенцова¹

Изомерспецифический анализ метаболитов арахидоновой кислоты при неалкогольном стеатогепатите и алкогольном поражении печени у больных ожирением

Isomeric specific analysis of hydroxyeicosatetraenoic acid in blood samples from obese patients with non-alcoholic and alcoholic steatohepatitis

K.S. Selezneva¹, V.A. Isakov¹, K.I. Eller¹, S.V. Goryainov^{1, 2}, O.O. Kirillova¹, T.B. Sentsova¹

¹ ФГБНУ «НИИ питания», Москва

² ФГБОУ ВПО «Российский университет дружбы народов», Москва

¹ Institute of Nutrition, Moscow

² People's Friendship University of Russia, Moscow

Цель исследования – определить изомерный состав метаболитов арахидоновой кислоты в крови пациентов с ожирением с алкогольным поражением печени и с неалкогольным стеатогепатитом (НАСГ). В исследование были включены 69 пациентов с ожирением и стеатогепатитом, установленным по данным ультразвукового исследования печени, а также стойкого увеличения (более 6 мес) активности АЛТ в крови. Из них у 39 употребление алкоголя было исключено на основании вопросов CAGE и AUDIT, и они составили группу больных с НАСГ, у оставшихся 30 пациентов отмечалось употребление алкоголя, в связи с чем они были включены в группу пациентов со стеатогепатитом алкогольного генеза (метаболического и алкогольного) (АСГ). Идентификацию и количественное определение 5(S)-гидроксиэйкозатетраеновой кислоты (5-НЕТЕ), 15-НЕТЕ, а также продукта неэнзиматического окисления 11-НЕТЕ в плазме крови проводили с помощью ВЭЖХ-времетрающей масс-спектрометрии (MS-TOF) с использованием 2-гидроксиоктановой кислоты в качестве внутреннего стандарта. Положение гидроксильной группы в НЕТЕ было установлено с помощью ВЭЖХ-танDEMной масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС/МС). Переходы МС/МС были для 15-НЕТЕ m/z 319 → m/z 219; для 11-НЕТЕ m/z 319 → m/z 167; для 5-НЕТЕ m/z 319 → m/z 115. Для оценки пищевого статуса изучали состав тела с помощью биоимпедансометрии, уровень энергозатрат покоя методом непрямой калориметрии и фактического питания с использованием программы «Анализ состояния питания человека» (версия 1.2 ГУ «НИИ питания» РАМН, 2003–2005 гг.), которая позволяет автоматически рассчитать среднесуточную калорийность и химический состав рациона питания больного. Содержание в крови 15-НЕТЕ ($21,6 \pm 20,2$ против $11,9 \pm 13,7$ мкг/мл, $p=0,02$) и 11-НЕТЕ ($20,8 \pm 21,3$ против $11,2 \pm 12,9$ мкг/мл, $p=0,03$) оказалось достоверно выше у пациентов с НАСГ по сравнению с пациентами, страдающими АСГ. При этом

содержание 8+12-НЕТЕ достоверно не различалось. По данным изучения состава тела пациенты исследованных групп не различались по значению индекса массы тела (ИМТ) и массы жировой ткани, однако у пациентов с АСГ отмечались достоверно большие значения тощей (68,1±10,6 против 57,9±9,8 кг, $p<0,001$) и мышечной массы (39,3±6,1 против 33,2±6,8 кг, $p<0,04$). Исследуемые группы не различались по показателю энергозатрат покоя, однако в группе пациентов с АСГ отмечалась более высокая скорость окисления белка (98,5±31 против 76,2±21,1 г/сут, $p=0,02$). Не найдено различий в потреблении пациентами обеих групп общего жира, равно как насыщенных и ненасыщенных жиров, однако имелась тенденция к различиям в соотношении их потребления между группами (2,3±0,2 при НАСГ против 1,4±0,3 при АСГ). Не было также найдено достоверных различий в содержании в крови холестерина и липопротеидов высокой и низкой плотности между группами. Метаболизм арахидоновой кислоты различается у больных ожирением, страдающих НАСГ и АСГ, с преобладанием у первых более токсичных метаболитов (15-НЕТЕ и 11-НЕТЕ). Найденные отличия в метаболизме арахидоновой кислоты могут быть обусловлены как разным патогенезом заболеваний, так и различиями в нутритивном статусе пациентов, которые требуют дальнейшего изучения.

Ключевые слова: неалкогольная жировая болезнь печени, неалкогольный стеатогепатит, алкогольный стеатогепатит, ожирение, арахидоновая кислота, 5(S)-гидроксиэйкозатетраеновая кислота

The aim of the study was to perform isomeric analysis of hydroxyeicosatetraenoic acid (HETE) in blood samples from obese patients with non-alcoholic (NASH) and alcoholic (ASH) steatohepatitis. Sixty nine obese patients with liver steatosis according to abdominal US data and chronic ALT elevation were assign into two groups according to the evaluation of alcohol consumption by GAGE and AUDIT questionnaires: NASH – 39 patients and ASH – 30 patients. The identification and quantification of 5(S)-hydroxyeicosatetraenoic acid (5-HETE), 15-HETE and also non-enzymatic oxidation product 11-HETE in blood plasma were carried out by HPLC-MS-TOF with using 2-hydroxyoctanoic acid as internal standard. The position of hydroxyl group in HETE was elucidated by HPLC-MS/MS. The MS/MS transitions were for 15-HETE m/z 319 → m/z 219; for 11-HETE m/z 319 → m/z 167; for 5-HETE m/z 319 → m/z 115. Patients' body composition was evaluated by bioelectrical impedance, resting energy expenditures (REE) were assessed by indirect calorimetry and nutrition pattern was examined by food frequency questionnaire. Mean age, BMI and ALT serum level were similar in patients from ASH and NASH groups. Blood plasma 8+12-HETE concentration was also similar in both groups of patients, but concentration of 15-HETE (21,6±20,2 vs 11,9±13,7 µg/ml, $p=0,02$) and 11-HETE (20,8±21,3 vs 11,2±12,9 µg/ml, $p=0,03$) was significantly higher in NASH patients. ASH patients demonstrated higher lean body mass (68,1±10,6 vs 57,9±9,8 kg, $p<0,001$) and muscle mass (39,3±6,1 vs 33,2±6,8 kg, $p<0,04$) and higher rate of protein oxidation (98,5±31 vs 76,2±21,1 g/day, $p=0,02$) recalculated from REE. There were no differences found in blood lipids content as well as in consumption of total dietary fat, however, there was a trend to difference in saturated/unsaturated fatty acids ratio between groups (2,3±0,2 in NASH and 1,4±0,3 in ASH patients). In conclusion, the rate of production of eicosatetraenoic acid metabolites by lipoxygenase pathway is different in NASH and ASH overweight patients. It means that possibly different mechanisms are responsible for formation of potentially toxic fatty acids metabolites in these two types of patients. It seems likely that differences in fatty acids consumption pattern are related to this metabolic pathway.

Key words: non-alcoholic fatty liver disease, non-alcoholic steatohepatitis, alcoholic steatohepatitis, obesity, arachidonic acid, 5(S)-hydroxyeicosatetraenoic acid

В настоящее время большое значение придается нутриметаболическим исследованиям, в частности нутрилипидным [1], в контексте которых изучают возможную связь незаменимых для человека жиров и их метаболитов с патогенезом целого ряда широко распространенных заболеваний, которые традиционно относят к заболеваниям, связанным с нарушением в жировом обмене. Среди них особое место занимает стеатогепатит. В последние 30 лет в экономически развитых и развивающихся странах наблюдается тенденция увеличения числа больных стеатогепатитом, при этом заболеваемость стеатогепатитом алкогольной природы остается стабильной на протяжении

многих лет, так как она обусловлена уровнем потребления алкоголя в популяции. В связи с этим основной прирост числа новых случаев заболевания приходится на неалкогольный стеатогепатит (НАСГ) [2]. Полагают, что к 2030 г. цирроз печени в исходе НАСГ будет основным показанием к трансплантации печени в США и других экономически развитых странах, что делает данное заболевание важной социальной проблемой [10]. Эти изменения в эпидемиологических показателях связывают в первую очередь с широким распространением ожирения в развитых, а также в последние годы в развивающихся странах, так как при ожирении триглицериды (ТГ) накапливаются

ся в гепатоцитах, вызывая стеатоз печени. Однако у значительного числа больных ожирением, у которых выявляется стеатоз печени, стеатогепатит не развивается. Механизмы развития НАСГ у таких пациентов остаются до конца неясными, что делает диагностику, лечение и прогнозирование исходов этого заболевания проблематичным. Термин «неалкогольный стеатогепатит» был предложен J. Ludwig в 1980 г., когда он впервые описал морфологическую картину поражения печени, не отличимую от таковой при алкогольном стеатогепатите (АСГ) у женщины, не употреблявшей алкоголь [4]. В связи с этим дифференциальная диагностика основывается на исключении употребления алкоголя лицами с характерной гистологической картиной в ткани печени или изменениями в активности аминотрансфераз в сыворотке крови и исключении других причин гепатита. Этиология НАСГ неизвестна, полагают, что в основе лежат нарушения обмена веществ, связанные с ожирением, характерной для него инсулинорезистентностью и нарушением метаболизма жирных кислот (ЖК) в печени, приводящим к стеатозу, а затем и повреждению гепатоцитов эндотоксинами или токсическими метаболитами ЖК [5]. В случае же алкогольного гепатита гепатоциты повреждаются в результате токсического действия метаболитов алкоголя, в частности ацетальдегида, однако, учитывая высокую степень стеатоза печени при алкогольном гепатите, вариант ее повреждения метаболитами ЖК также не исключен.

В связи с этим **целью** исследования было изучение метаболизма арахидоновой кислоты у пациентов с АСГ и НАСГ на фоне ожирения.

Материал и методы

В исследование были включены 69 пациентов (28 женщин и 41 мужчина) с ожирением (ИМТ ≥ 30 кг/м²) и хроническим гепатитом (в анамнезе увеличение активности АЛТ на протяжении как минимум 6 мес), находившихся в отделении гастроэнтерологии и гепатологии ФГБУ «НИИ питания» РАМН. Протокол исследования был одобрен этическим комитетом ФГБУ «НИИ питания» РАМН. Перед включением в исследование все пациенты подписали информированное согласие. У 39 пациентов (26 женщин и 13 мужчин, средний возраст – 47,8 \pm 13,7 года), составлявших 1-ю группу, был установлен диагноз НАСГ на основании следующих критериев: хроническое увеличение активности АЛТ в сыворотке крови, признаки жирового гепатоза при УЗИ печени, отсутствие маркеров вирусных гепатитов в сыворотке крови (анти-HCV, HBsAg и анти-HAV класса IgM), отсутствие маркеров аутоиммунного поражения печени (антигладкомышечные и антимиохондриальные

антитела в диагностическом титре не определялись), отсутствие в анамнезе приема потенциально гепатотоксичных лекарственных препаратов или биологически активных добавок (БАД) к пище, отсутствие употребления алкоголя в анамнезе (<8 баллов AUDIT; отрицательные ответы на все вопросы опросника CAGE). Во 2-ю группу вошли 30 пациентов (2 женщины и 28 мужчин, средний возраст – 45,1 \pm 10,4 года) со стеатогепатитом смешанного генеза (алкогольный + метаболический), у которых в отличие от пациентов 1-й группы имелись указания на хроническое употребление алкоголя в анамнезе и положительные значения тестов на употребление алкоголя (>8 баллов AUDIT; хотя бы 1 положительный ответ на вопросы опросника CAGE).

Оценку количества употребляемого алкоголя проводили несколькими способами:

- подробный сбор анамнеза, беседы с родственниками: потребление чистого этанола более 20 мл/нед у женщин и более 40 мл/нед у мужчин свидетельствовало о факте злоупотребления алкоголем;
- использование опросников на выявление факта злоупотребления алкоголем: AUDIT (The Alcohol Use Disorders Identification Test): >8 баллов – вероятное злоупотребление алкоголем; CAGE (Cut-Annoyed-Guilty-Eye): в случае хотя бы одного положительного ответа – вероятное злоупотребление алкоголем.

Для оценки функционального состояния печени у обследованных пациентов определяли следующие показатели с помощью биохимического анализатора «Konelab30i» («Thermo scientific», Финляндия): активность АЛТ (норма 0–40 МЕ/л), АСТ (норма 0–35 МЕ/л), щелочной фосфатазы (норма 50–128 МЕ/л), гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТП) (норма 0–40 МЕ/л), уровень общего билирубина (норма 0–20,0 мкмоль/л), прямого билирубина (норма 0–5,0 мкмоль/л).

Для оценки состояния углеводного обмена определяли уровень глюкозы крови натощак (норма 3,3–5,8 ммоль/л) с помощью биохимического анализатора «Konelab30i», инсулина (норма 2,0–25,0 мкЕд/мл) и С-пептида (норма 0,5–3,2 нг/мл) с использованием стандартных наборов («DRGEIisa», Германия).

Индекс инсулинорезистентности (ИИР) определяли расчетным методом по формуле (D.R. Matthews и соавт.):

$$\text{ИИР НОМА} = \frac{\text{гликемия натощак (ммоль/л)} \times \text{инсулин (мкЕд/мл)}}{22,5}$$

где ИИР НОМА – индекс инсулинорезистентности НОМА.

Липидный обмен оценивали по содержанию в сыворотке крови общего холестерина (ОХС) (норма до 5,2 ммоль/л), холестерина (ХС) липо-

протеинов высокой плотности (ЛПВП) (норма от 1,15 ммоль/л), ХС липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) (норма до 3,80 ммоль/л), ТГ (норма до 1,70 ммоль/л).

Для оценки состояния белкового обмена определяли в сыворотке крови содержание общего белка (норма 64–83 г/л), мочевой кислоты (норма 200–420 мкмоль/л). Определение всех показателей проводили на биохимическом анализаторе «Konelab30i».

Показатели общего анализа крови оценивали с помощью анализатора «Becman Coulter LH 750 Analyzer» («Becman Coulter», США).

Определение уровня изомеров гидроксипарахиноновой кислоты проводили следующим образом.

Экстракция липидов из плазмы крови. К каждому образцу плазмы (5 мл) предварительно добавляли 100 мкл раствора бутилгидрокситолуола (БГТ) с концентрацией 500 мкМ в качестве антиоксиданта. Для экстракции липидов в пробирку объемом 20 мл добавляли 1 мл плазмы, 100 мкл водного раствора внутреннего стандарта (2-гидроксиоктановая кислота) с концентрацией 8 мкг/мл, 4 мл насыщенного водного раствора сульфата аммония, 5 мл н-гексана, 5 мл ацетона, встряхивали на вортексе в течение 5 мин. Аликвоту (5 мл) верхнего липидного слоя упаривали досуха в токе азота. К остатку добавляли 1 мл 1 н. раствора гидроксида натрия, проводили омыление в течение 1 ч при 20–22 °С. рН реакционной смеси доводили до 2–3 добавлением примерно 100 мкл 97% водного раствора муравьиной кислоты (А). Свободные ЖК экстрагировали 600 мкл н-гексана, гексановый экстракт упаривали в токе азота и переращивали в 100 мкл компонента В подвижной фазы (ацетонитрил-метанол 65:35).

ВЭЖХ-МС анализ. Идентификацию и количественный анализ изомерных гидроксизететрановых кислот (НЕТЕ) осуществляли с помощью метода ВЭЖХ-МС. В работе использовали систему ВЭЖХ «Agilent 1100» («Agilent Technologies», США), оснащенную бинарным насосом, дегазатором и термостатируемым автосэмплером. В качестве детектора использовали времяпролетный масс-детектор «Agilent 6210-TOF». Условия ВЭЖХ-разделения: колонка ProtecoIC 18 4,6×250 мм, 5 мкм, подвижная фаза – 0,1% водный раствор муравьиной кислоты (А) и смесь метанол-ацетонитрил (35:65) (В). Скорость подачи элюента – 0,8 мл/мин, режим градиента: 30–55% В – 10 мин; 55–75% В – 15 мин; 75–100% В – 5 мин; 100% В – 10 мин. Объем вводимой в инжектор пробы 10 мкл. Детектирование проводили в режиме ионизации электрораспылением и регистрации отрицательных ионов, поток газа-осушителя – 9 л/мин, температура газа-осушителя – 325 °С, напряжение на фрагменторе – 175 В, на скиммере – 65 В, на капилляре – 3500 В.

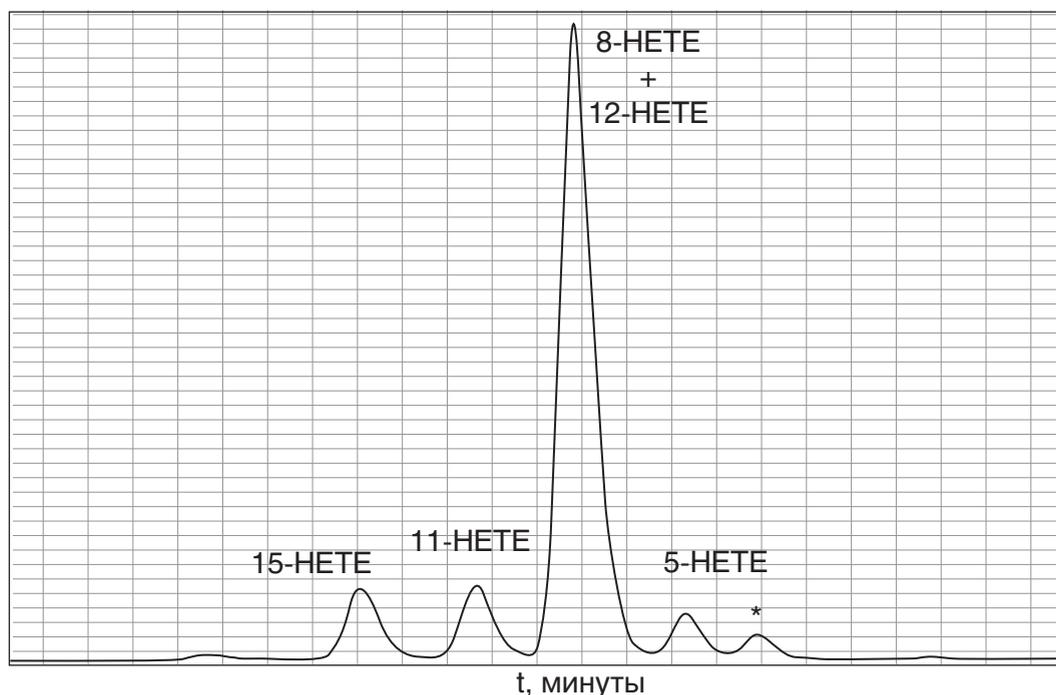
Количественное определение содержания НЕТЕ осуществляли в режиме селективного ионного детектирования по соответствующим депротонированным молекулярным ионам изомеров НЕТЕ [(М-Н) m/z 319] и внутреннего стандарта (m/z 159). Корреляцию порядка выхода изомеров НЕТЕ при ВЭЖХ с положением гидроксильных групп в молекулах изомеров НЕТЕ устанавливали с помощью ВЭЖХ-МС/МС по характерным переходам: 5-НЕТЕ (m/z 319 → m/z 115), 8-НЕТЕ (m/z 319 → m/z 163), 11-НЕТЕ (m/z 319 → m/z 167), 12-НЕТЕ (m/z 319 → m/z 179) и 15-НЕТЕ (m/z 319 → m/z 219). Порядок выхода изомеров НЕТЕ при ВЭЖХ представлен на рисунке.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программы Statistica for Windows 8.0 («StatSoft, Inc.», США).

Результаты

По данным исследования антропометрических показателей пациентов с НАСГ и АСГ оказалось, что масса тела пациентов, ИМТ и количество жировой массы достоверно не различались между группами. Количество общей жидкости оказалось достоверно больше у пациентов с НАСГ. В то же время количество мышечной и тощей массы было достоверно больше у пациентов с АСГ соответственно на 71 и 64% (табл. 1). Причина таких различий лежит, очевидно, не в разнице физической активности, а, скорее, в различии в питании между указанными группами пациентов. При исследовании уровня основного обмена, а также скорости окисления жиров (СОЖ) и углеводов (СОУ) достоверных различий между обследуемыми группами пациентов выявлено не было. Однако скорость окисления белка (СОБ) была достоверно выше у пациентов с АСГ в среднем на 20 г/сут (табл. 2), что, по-видимому, связано с увеличенным потреблением белка по сравнению с пациентами с НАСГ. При анализе фактического потребления пищи пациентами обеих групп различий по потреблению общего жира, насыщенных ЖК (НЖК) и полиненасыщенных ЖК (ПНЖК) не выявлено (табл. 3). Однако соотношение потребления НЖК и ПНЖК между группами было близко к достоверным различиям (2,3±0,2 при НАСГ против 1,4±0,3 при АСГ, $p=0,058$).

При изучении содержания в крови пациентов метаболитов арахидоновой кислоты оказалось, что содержание 15-НЕТЕ и 11-НЕТЕ достоверно в 2 раза выше у пациентов с НАСГ (табл. 4). При этом содержание 8+12-НЕТЕ и эпоксиэкозатриеновой кислоты (ЕЕТ) достоверно между собой не различались. Также не достоверными были различия в содержании 5-НЕТЕ между группами (см. табл. 4).



Порядок выхода изомерных гидроксикозатетраеновых кислот. Пик с маркировкой «*» обозначает эпоксиэкозатриеновую кислоту

Таблица 1. Антропометрические данные пациентов с неалкогольным стеатогепатитом и стеатогепатитом алкогольного генеза ($M \pm \sigma$)

Показатель	НАСГ ($n=39$)	АСГ ($n=30$)	p
Масса тела, кг	103,5±17	105±27	NS
ИМТ, кг/м ²	36,6±7,1	35,3±6,5	NS
Жировая масса, кг	44,7±14,5	39,4±16,8	NS
Общая вода, л	42,5±7,1	39,4±6,8	0,02
Мышечная масса, кг	33,2±6,8	39,3±6,1	0,04
Тощая масса, кг	57,9±9,8	68,1±10,6	0,01
Обхват талии/обхват бедер	1±0,06	0,9±0,05	NS

Примечание. Здесь и в табл. 2–4: NS – различия недостоверны.

Таблица 2. Показатели основного обмена пациентов с неалкогольным стеатогепатитом и стеатогепатитом алкогольного генеза ($M \pm \sigma$)

Показатель	НАСГ ($n=39$)	АСГ ($n=30$)	p
Уровень основного обмена, ккал/сут	1849,9±274,1	2002±364,2	NS
СОЖ, г/сут	108,7±46,6	114,4±42,7	NS
СОУ, г/сут	147,2±80,6	146,4±88,8	NS
СОБ, г/сут	76,2±21,1	98,5±31	0,02

Таблица 3. Показатели липидного спектра крови и потребления жиров пациентов с неалкогольным стеатогепатитом и стеатогепатитом алкогольного генеза ($M \pm \sigma$)

Показатель	НАСГ ($n=39$)	АСГ ($n=30$)	p
Общий жир, г/сут	144,1±68,8	149,4±67,5	NS
НЖК, г/сут	47±24,5	50,4±26,8	NS
ПНЖК, г/сут	33,8±15,3	30,4±14,1	NS
ОХС, ммоль/л	5,6±1,1	5,5±1,4	NS
ТГ, ммоль/л	2,04±1,01	2,5±1,6	NS
ЛПНП, ммоль/л	3,4±1	3,1±0,9	NS
ЛПВП, ммоль/л	1,2±0,3	1,2±0,4	NS

Таблица 4. Содержание метаболитов жирных кислот (мкг/мл) в крови пациентов с неалкогольным стеатогепатитом и стеатогепатитом алкогольного генеза ($M \pm \sigma$)

Показатель	НАСГ (n=39)	АСГ (n=30)	p
15-НЕТЕ	21,6±20,2	11,9±13,7	0,02
11-НЕТЕ	20,8±21,3	11,2±12,9	0,03
8+12-НЕТЕ	100,5±102,9	85±176,3	NS
5-НЕТЕ	23,8±24,4	16,4±21,4	NS
ЕЕТ	24,3±23,4	33,3±54,4	NS

Обсуждение

В нашем исследовании впервые были показаны различия в метаболизме арахидоновой кислоты у больных с НАСГ и АСГ. Это чрезвычайно интересно, поскольку гистологически, как было показано ранее, изменения печени при этих заболеваниях идентичны [4, 6]. Следовательно, можно сказать, что нами впервые установлены важные и, скорее всего, патогенетические различия между НАСГ и АСГ. В пользу этого говорит тот факт, что, хотя накопление жира в гепатоцитах наблюдается при обоих заболеваниях, имеет место разный механизм патологического процесса. В случае с НАСГ накопление жира связано с тем, что основной путь окисления арахидоновой кислоты (β -окисление в митохондриях) нарушается в результате изменений метаболизма углеводов и жиров, обусловленных инсулинорезистентностью. В связи с этим скорость β -окисления арахидоновой кислоты уменьшается и усиливается метаболизм арахидоновой кислоты, осуществляющийся посредством альтернативных путей с участием липооксигеназы и неэнзиматическим путем [3]. В пользу этого говорит обнаруженное нами у пациентов с НАСГ почти двукратное увеличение гидроксиарахидоновой кислоты с расположением гидроксильной группы в 15-м и 11-м положениях. Преимущественно такие метаболиты образуются при окислении арахидоновой кислоты с помощью липооксигеназы. Эти метаболиты являются более токсичными по сравнению с гидроокисями арахидоновой кислоты с расположением гидроксильных групп в 5-, 8+12-м положениях. Более того, именно 15- и 11-НЕТЕ являются предшественниками лейкотриенов и других биологически активных веществ, стимулирующих воспаление и способствующих апоптозу гепатоцитов, вызванному цитотоксическими лимфоцитами [5], таким образом, они непосредственно участвуют в патогенезе НАСГ. Напротив, при АСГ β -окисление в значительной мере не страдает, в связи с этим содержание 15- и 11-НЕТЕ у этих больных в среднем в 2 раза ниже, чем у пациентов с НАСГ (см. табл. 4). При этом повреждение гепатоцитов у данной категории пациентов происходит в основном за счет трансформации клеточных мембран продуктом

окисления алкоголя – ацетальдегидом, которая приводит к тому, что лимфоциты начинают распознавать эти изменения мембраны как чужеродные и повреждают клетки, что сопровождается их гибелью [7]. Таким образом, при изучении гистологических срезов печени больных с НАСГ и АСГ морфолог видит одни и те же гистологические изменения в ткани печени, однако их причины и последовательность событий, приводящих к ним, у этих больных совершенно разные.

Имеют ли установленные нами закономерности какое-то значение не только для понимания патогенеза НАСГ и АСГ, но и для лечения? Что касается АСГ, то единственным эффективным способом лечения является абстиненция, поскольку при ней исчезает избыток ацетальдегида в печени, гепатоциты перестают повреждаться, процессинг жиров восстанавливается и, вслед за воспалением в печени, уменьшается и стеатоз. Что касается больных НАСГ, то здесь возможно применение в лечении заболевания подходов на основе установленных нами закономерностей. Анализ фактического питания пациентов показал, что в отличие от больных НАСГ больные АСГ получают больше животных жиров, на что указывает и большее потребление ими белка, достоверно большее количество у них тощей массы и большая скорость окисления белка в основном обмене. При этом общее потребление жира между этими двумя группами больных не различалось. Нам также не удалось выявить различия в потреблении НЖК и ПНЖК (см. табл. 3), однако при подсчете соотношения НЖК/ПНЖК они оказались существенными. Следует отметить, что процесс окисления ЖК в печени зависит от двух условий – активности фермента и количества субстрата для окисления. В связи с этим может быть выдвинута гипотеза о том, что обнаруженный феномен увеличения содержания в крови 11- и 15-НЕТЕ у больных НАСГ может быть обусловлен не только преимущественно альтернативным путем окисления арахидоновой кислоты, но также определенным соотношением субстратов – различных ЖК, поступающих с пищей. В пользу такой гипотезы указывают данные, согласно которым гипокалорийная диета с уменьшенным содержанием жиров дает худшие результаты и реже приводит к ремиссии НАСГ, нежели изокалорий-

ная диета с адекватным потреблением жира [9]. Учитывая полученные нами данные, результаты этих исследований можно объяснить тем, что пул ЖК, захваченных печенью из кровотока, состоит из двух компонентов: ЖК, образующихся в результате липолиза периферической жировой ткани, который усилен при НАСГ вследствие инсулинорезистентности, и ЖК, которые попали в кровоток из кишечника, фактически из принятой пациентом жирной пищи. Безусловно, по химическому составу оба эти компонента различны, так как при периферическом липолизе образуются в основном ТГ, включая среднецепочечные ЖК. В то же время пул ЖК, поступающих с пищей, может быть различен и включать в себя как длинноцепочечные ЖК, так и мононенасыщенные ЖК (МНЖК) и ПНЖК. Исходя из этого весьма вероятно, что соотношение различных ЖК в крови влияет на скорость и темпы метаболизма их в печени. Таким образом, при гипокалорийной диете со сниженным содержанием жиров в крови доминируют ЖК, практически полностью поступающие за счет липолиза периферической жировой ткани, а в случае с изокалорийной диетой – имеется смесь разных ЖК. В последнем случае, вероятнее всего, гораздо меньше задействован липооксигеназный путь, что приводит к уменьшению образования 11- и 15-НЕТЕ, снижению общей липотоксичности этих продуктов и уменьшению образования провоспалительных веществ из арахидоновой кислоты. Результатом этого является довольно быстрое уменьшение воспаления печени в виде достаточно быстрой нормализации уровня АЛТ, что и было показано в цитируемых исследованиях.

Напротив, при гипокалорийной диете в течение месяца содержание АЛТ не только не снижалось, но и у части пациентов оказалось выше исходного [8]. Таким образом, для подтверждения этой гипотезы требуется проспективное исследование содержания метаболитов арахидоновой кислоты на фоне диеты, содержащей разное количество МНЖК и ПНЖК. При этом, учитывая накопленные данные, можно предположить, что эффект можно будет получить достаточно быстро – в течение 1–2 мес при условии соблюдения соответствующей диеты. Интересно, что в процессе изучения липидного спектра у пациентов с АСГ и НАСГ не обнаружено достоверного различия в уровнях ОХС, ТГ, ЛПВП, ЛПНП. Однако, если учесть, что установленные нами различия реализуются на стадии окисления ЖК (внутри митохондрий или комплекса Гольджи), то отсутствие изменений в указанных показателях липидного спектра не выглядит удивительным, так как транспортная система обеспечивает формирование липопротеидов, происходящее в другой области гепатоцита. Это подтверждается отсутствием различий показателей в липидном спектре у больных с НАСГ и без такового (см. табл. 3).

Таким образом, нами впервые выявлены различия в метаболизме ЖК при НАСГ и АСГ, которые, несмотря на то что приводят к аналогичным гистологическим изменениям в печени, представляют собой совершенно разные с биохимической точки зрения процессы. Обнаруженные нами закономерности могут стать основой для разработки совершенно нового подхода к диетотерапии НАЖБ и, в частности, НАСГ.

Сведения об авторах

Селезнева Ксения Сергеевна – аспирант ФГБНУ «НИИ питания» (Москва)

E-mail: xusha82@yandex.ru

Исаков Василий Андреевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением гастроэнтерологии и гепатологии клиники ФГБНУ «НИИ питания» (Москва)

E-mail: vasily.isakov@gmail.com

Эллер Константин Исаакович – доктор химических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории протеомного и метаболомного анализа ФГБНУ «НИИ питания» (Москва)

E-mail: eller@ion.ru

Горяинов Сергей Владимирович – младший научный сотрудник лаборатории протеомного и метаболомного анализа ФГБНУ «НИИ питания», заведующий лабораторией масс-спектрометрии и ядерного магнитного резонанса центра коллективного пользования ФГБОУ ВПО «Российский университет дружбы народов» (Москва)

E-mail: goryainovs@list.ru

Кириллова Ольга Олеговна – аспирант клиники ФГБНУ «НИИ питания» (Москва)

E-mail: bio45@inbox.ru

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

E-mail: bio45@inbox.ru

Литература

1. Васильев А.В., Шаранова Н.Э., Кулакова С.Н. Нутриметабономика – новый этап развития биохимии питания. Роль нутрилипидомных исследований // *Вопр. питания.* – 2014. – Т. 83, № 1. – С. 4–11.
2. Argo C.K., Caldwell S.H. Epidemiology and natural history of non-alcoholic steatohepatitis // *Clin. Liver Dis.* – 2009. – Vol. 13, N 4. – P. 511–531.
3. Bechmann L.P., Hannivoort R.A., Gerken G. et al. The interaction of hepatic lipid and glucose metabolism in liver diseases // *J. Hepatol.* – 2012. – Vol. 56, N 4. – P. 952–964.
4. Ludwig J., Viggiano T.R., McGill D.B., Oh B.J. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease // *Mayo Clin. Proc.* – 1980. – Vol. 55, N 7. – P. 434–438.
5. Neuschwander-Tetri B.A. Hepatic lipotoxicity and the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis: the central role of nontriglyceride fatty acid metabolites // *Hepatology.* – 2010. – Vol. 52, N 2. – P. 774–788.
6. Pinto H.C., Baptista A., Camilo M.E. et al. Nonalcoholic steatohepatitis. Clinicopathological comparison with alcoholic hepatitis in ambulatory and hospitalized patients // *Dig. Dis. Sci.* – 1996. – Vol. 41, N 1. – P. 172–179.
7. Ribeiro P.S., Cortez-Pinto H., Sola S. et al. Hepatocyte apoptosis, expression of death receptors, and activation of NF-kappaB in the liver of nonalcoholic and alcoholic steatohepatitis patients // *Am. J. Gastroenterol.* – 2004. – Vol. 99, N 9. – P. 1708–1717.
8. Selezneva K., Kirillova O., Vorozhko I. et al. Short-term effect of low-calorie diet versus isocalorie diet on to blood aminotransferases level and lipids profile in patients with non-alcoholic steatohepatitis // *J. Hepatol.* – 2014. – Vol. 60, N 1. – P. 353.
9. Topilskaya N., Isakov V., Kaganov B. Diet therapy of non-alcoholic fatty liver disease // *J. Hepatol.* – 2012. – Vol. 56, N 2. – P. 522.
10. Vernon G., Baranova A., Younossi Z.M. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults // *Aliment. Pharmacol. Ther.* – 2011. – Vol. 34, N 3. – P. 274–285.

References

1. Vasilyev A.V., Sharanova N.E., Kulakova S.N. Nutrimetabolomic – new phase of development of biochemical nutrition // *Voпр. Pitan.* – 2014. – Vol. 83, N 1. – P. 4–11.
2. Argo C.K., Caldwell S.H. Epidemiology and natural history of non-alcoholic steatohepatitis // *Clin. Liver Dis.* – 2009. – Vol. 13, N 4. – P. 511–531.
3. Bechmann L.P., Hannivoort R.A., Gerken G. et al. The interaction of hepatic lipid and glucose metabolism in liver diseases // *J. Hepatol.* – 2012. – Vol. 56, N 4. – P. 952–964.
4. Ludwig J., Viggiano T.R., McGill D.B., Oh B.J. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease // *Mayo Clin. Proc.* – 1980. – Vol. 55, N 7. – P. 434–438.
5. Neuschwander-Tetri B.A. Hepatic lipotoxicity and the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis: the central role of nontriglyceride fatty acid metabolites // *Hepatology.* – 2010. – Vol. 52, N 2. – P. 774–788.
6. Pinto H.C., Baptista A., Camilo M.E. et al. Nonalcoholic steatohepatitis. Clinicopathological comparison with alcoholic hepatitis in ambulatory and hospitalized patients // *Dig. Dis. Sci.* – 1996. – Vol. 41, N 1. – P. 172–179.
7. Ribeiro P.S., Cortez-Pinto H., Sola S. et al. Hepatocyte apoptosis, expression of death receptors, and activation of NF-kappaB in the liver of nonalcoholic and alcoholic steatohepatitis patients // *Am. J. Gastroenterol.* – 2004. – Vol. 99, N 9. – P. 1708–1717.
8. Selezneva K., Kirillova O., Vorozhko I. et al. Short-term effect of low-calorie diet versus isocalorie diet on to blood aminotransferases level and lipids profile in patients with non-alcoholic steatohepatitis // *J. Hepatol.* – 2014. – Vol. 60, N 1. – P. 353.
9. Topilskaya N., Isakov V., Kaganov B. Diet therapy of non-alcoholic fatty liver disease // *J. Hepatol.* – 2012. – Vol. 56, N 2. – P. 522.
10. Vernon G., Baranova A., Younossi Z.M. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults // *Aliment. Pharmacol. Ther.* – 2011. – Vol. 34, N 3. – P. 274–285.

Для корреспонденции

Сидорова Юлия Сергеевна – младший научный сотрудник
лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных
продуктов ФГБНУ «НИИ питания»

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

Телефон: (495) 698-53-71

E-mail: sidorovaulia28@mail.ru

Ю.С. Сидорова, Н.А. Бекетова, О.А. Вржесинская, В.М. Коденцова, О.В. Кошелева,
С.Н. Зорин, А.В. Селифанов, В.К. Мазо

Влияние витаминной обеспеченности на протекание общего адаптационного синдрома у растущих крыс

Effect of vitamin sufficiency
on adaptation syndrome
in growing rats

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

Yu.S. Sidorova, N.A. Beketova,
O.A. Vrzhesinskaya, V.M. Kodentsova,
O.V. Kosheleva, S.N. Zorin,
A.V. Selifanov, V.K. Mazo

Исследовано влияние витаминной обеспеченности растущих крыс-самцов линии Вистар ($n=21$) с исходной массой тела $53,5\pm 0,9$ г на их устойчивость к однократному стрессу – воздействию электрическим током. Крысы контрольной группы в течение 21 дня получали полноценный полусинтетический рацион, обеспечивающий поступление витаминов в адекватном количестве. Полигиповитаминоз у крыс опытной группы вызывали уменьшением в 5 раз в корме количества витаминной смеси и полным исключением из нее витамина Е. На 21-й день, за сутки до забоя, крыс обеих групп подвергали стрессорному воздействию (электрокожное раздражение лап, сила тока 0,4 мА в течение 8 с) и помещали в метаболические клетки для сбора мочи на 16 ч. К концу эксперимента животные с сочетанным дефицитом витаминов отставали в росте. Содержание в печени у крыс этой группы витаминов В₂, А, В₁ и Е уменьшалось в 1,6, 2,3, 4,4 и 15 раз. Концентрация в плазме крови ретинола достоверно снижалась на 18%, α -токоферола – в 5 раз, экскреция с мочой рибофлавина и метаболита витамина В₆ – 4-пиридоксидовой кислоты достоверно уменьшалась в 6,5 и 2,46 раза. Концентрации малонового диальдегида (МДА) в плазме крови и соотношение окисленной и неокисленной формы 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозина в моче у крыс обеих групп практически не различались. Экскреция с мочой стресс-биомаркера и стресс-медиатора кортикостерона у крыс с полигиповитаминозом в 2,5 раза превышала его выведение у обеспеченных витаминами крыс. Таким образом, снижение витаминной обеспеченности приводило к увеличению содержания в моче стрессированных крыс кортикостерона, характеризующего интенсивность протекания общего адаптационного синдрома. Этот факт свидетельствует о важной роли оптимальной обеспеченности организма витаминами в неспецифической (общей) резистентности к стрессорным воздействиям.

Ключевые слова: дефицит витаминов, стресс, электрокожное раздражение, кортикостерон, крысы

The influence of vitamin supply of growing male Wistar rats ($n=21$) with an initial body weight $53,5\pm 0,9$ g on their resistance to a single distress induced by the electric shock has been investigated. Control rats within 21 days received a complete semisynthetic diet, providing adequate amounts of vitamins. Combined vitamin deficiency in experimental rats was caused by 5-fold decrease of vitamin mixture amount in the feed and the total vitamin E exclusion from the mixture. On the 21st day, one day before the end of the experiment, both groups of rats were subjected to stress impact (electrocuteaneous irritation on paws, 0,4 mA for 8 sec) and then animals were placed in metabolic cages to collect urine. By the end of the experiment, the animals with the combined vitamin deficiency lag behind in growth. Vitamin B₂, A, B₁ and E liver content decreased in experimental rats by 1,6, 2,3, 4,4 and 15 fold accordingly. Retinol plasma concentration was significantly reduced by 18%, α -tocopherol level – by 5 fold, urinary excretion of riboflavin and 4-pyridoxic acid (vitamin B₆ metabolite) was significantly reduced by 6,5 and 2,46 times accordingly. MDA blood plasma concentration and the urinary ratio of oxidized and not oxidized form of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine did not differ in both groups of rats. Urinary excretion of stress biomarker corticosterone in rats with combined vitamin deficit was 2,5-fold higher than in control rats. Thus, reducing of vitamins supply resulted in an increase of urine corticosterone in stressed rats, that characterized the intensity of general adaptation syndrome. This fact shows the importance of optimal sufficiency with vitamins in nonspecific (general) resistance to stress.

Key words: *vitamin deficiency, stress, electrocuteaneous irritation, corticosterone, rats*

Сопrotивляемость организма к самым разнообразным повреждающим воздействиям в значительной степени определяется его обеспеченностью макро- и микронутриентами. Не вызывает сомнений участие в процессах регуляции и адаптации витаминов как естественных метаболитов, способных усиливать функции защитных систем организма при стрессе [13, 15]. Так, уровень стресс-биомаркера и стресс-медиатора кортикостерона в плазме крови крыс при дефиците витамина А увеличивался на 38% [16]. Как при изолированном дефиците витаминов С, А, Е, В₁, В₆, так и при сочетанном недостатке в рационе всех витаминов повреждающее действие на систему антиоксидантной защиты организма носит более выраженный характер по сравнению с ответом на стресс у животных, обеспеченных витаминами [11]. Диетическая коррекция витаминного статуса способствует восстановлению адаптационного потенциала организма – неспецифической (общей) способности сопротивляться неблагоприятным факторам различной природы [17]. Развитие стресса в свою очередь приводит к ухудшению витаминного статуса организма (витамины Е, А, С) [11]. Например, истощающая физическая нагрузка в ходе интенсивных тренировок и спортивных соревнований может усиливать окислительный метаболизм, сопровождающийся в организме окислительным стрессом и повышенным расходом витаминов-антиоксидантов [3]. К сожалению, в современ-

ных условиях среди населения России достаточно часто встречается одновременная недостаточность сразу нескольких витаминов [8]. Такого рода поливитаминная необеспеченность может быть промоделирована в экспериментах *in vivo* с использованием лабораторных животных (растущих крыс) [6].

Целью исследования была оценка влияния недостаточной витаминной обеспеченности на некоторые показатели протекания общего адаптационного синдрома в условиях стресса, моделируемого воздействием электрическим током.

Материал и методы

Исследования выполнены на растущих крысах-самцах линии Вистар ($n=21$) с исходной массой тела $53,5\pm 0,9$ г (47,0–60,5 г), полученных из питомника НЦБМТ РАМН «Столбовая». Содержание лабораторных 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 крысы содержались индивидуально в клетках из прозрачного полимерного материала (высокотемпературного полисульфона) при приглушенном естественном освещении (средняя продолжительность светового дня составила 12,1 ч), относительной влажности воздуха 40–60%, температуре 23 ± 2 °С. Животные

получали корм *ad libitum* и имели постоянный доступ к воде. Животные были рандомизированы по массе тела на 2 группы: контрольную ($n=10$) и опытную ($n=11$). Продолжительность эксперимента составила 22 сут.

В течение первых 3 сут все животные получали полноценный полусинтетический рацион [4], содержащий 20% казеина по ГОСТ 53667-2009 (содержание белка 82–84%), 64% кукурузного крахмала, 9% жира (смесь подсолнечного масла и лярда 1:1), 3,5% стандартной солевой смеси, 2% микрокристаллической целлюлозы, 1% сухой витаминной смеси, 0,30% L-цистеина, 0,25% холина битартрата.

В течение последующих 18 сут крысы контрольной группы продолжали получать полноценный полусинтетический рацион, обеспечивающий поступление с рационом витаминов в адекватном количестве. Полигиповитаминоз у крыс опытной группы вызывали уменьшением в корме количества витаминной смеси в 5 раз и полным исключением из нее витамина Е [6]. Поступление витамина Е крысам опытной группы обеспечивалось за счет естественного содержания токоферолов в подсолнечном масле и составило 2,2 МЕ на 100 г рациона, т.е. 32,8% от содержания этого витамина в рационе контрольной группы [9]. Аналитически определенное поступление витаминов В₁ и В₂ с витаминдефицитным рационом (за счет витаминной смеси и казеина) составило 24% от их потребления крысами контрольной группы. Контроль массы тела животных проводили 2 раза в неделю.

На 21-й день, за сутки до завершения эксперимента, крыс подвергали стрессорному воздействию, используя установку («PanLab», Испания), представляющую собой большое освещенное белое отделение и маленькое черное отделение, разделенные опускаемыми моторизованными воротами. Решетчатый пол малого темного отделения электрифицирован. Крысу помещали в светлый отсек камеры спиной к темному отсеку. Как только крыса переходила в темный отсек камеры, она получала электрокожное раздражение лап (сила тока 0,4 мА в течение 8 с).

Животных, подвергнутых стрессу, помещали на 16 ч в метаболические клетки для сбора мочи. По окончании сбора мочу хранили при -20 °С. Предварительно анестезированных эфиром крыс выводили из эксперимента путем декапитации. Собранную с гепарином после декапитации животного кровь центрифугировали в течение 15 мин при 500 g, отбирали плазму и хранили при -20 °С.

Содержание витаминов А (ретинол и пальмитат ретинола) и Е (токоферолы) в плазме крови и в печени, а также в подсолнечном масле определяли методом ВЭЖХ, витаминов В₁ и В₂ в печени,

моче и казеине – флуориметрически, 4-пиридоксильной кислоты в моче – флуориметрически, как описано ранее [2, 5, 10, 14].

Интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по содержанию в сыворотке крови малонового диальдегида (МДА) – вторичного продукта ПОЛ [1].

Содержание в моче кортикостерона определяли методом ВЭЖХ согласно [22] с некоторыми модификациями. К 0,75 мл мочи добавляли 0,1 мл раствора внутреннего стандарта (дексаметазон) с концентрацией 10 мкг/мл, затем 5,0 мл этилового спирта. Пробу встряхивали в течение 30 мин при комнатной температуре, фильтровали через шприцевой фильтр с диаметром пор 0,45 мкм, затем упаривали на роторном испарителе. Анализируемый образец растворяли в 0,5 мл 50% этилового спирта и вводили на колонку с помощью петли объемом 0,1 мл. Хроматографический анализ проводили на колонке «Нуклеосил С18» (250×5 мм, 5 мкм) в условиях линейного градиента концентрации ацетонитрила (в воде) 20–60% в течение 45 мин при скорости элюирования 0,75 мл/мин. В качестве детектора использовали спектрофотометрический проточный детектор «UV/VIS-151» («GILSON», США) при длине волны 254 нм.

Концентрацию окисленной и неокисленной формы 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозина в моче определяли с помощью обращеннофазовой ВЭЖХ [7, 18] на колонке «Supersphere 100 RP18» (125×2 мм, 4 мкм) с предколонкой «Supersphere 100 RP18» (10×2 мм) («Merck», Германия), уравновешенной 10 мМ ацетат-аммонийным буфером, pH 4,3, в градиенте концентрации метанола 1–80%. В качестве детектора использовали трехуровневый квадрупольный масс-спектрометр «API 3000» («PE Biosystems», Германия), на котором определяли содержание иона с $M/Z=168$. Подготовку пробы проводили, как указано в работе [12].

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

Результаты и обсуждение

Среднесуточное потребление корма крысами, получавшими витаминдефицитный рацион, было достоверно ниже ($p=0,002$) и составило 85,8% от соответствующего показателя для животных контрольной группы (табл. 1).

Таблица 1. Общая характеристика групп крыс ($M \pm m$)

Показатель	Контрольная группа (n=10)	Опытная группа (n=11)
Масса тела крыс: конечная, г	54±2	53±1
	172±8	140±5*
Масса печени: относительная, %	6,5±0,4	5,3±0,3*
	3,8±0,1	3,8±0,1
Прирост массы тела, г/сут	5,6±0,4	4,1±0,2*
Поедаемость корма, г/сут	14,1±0,4	12,1±0,5*
Эффективность рациона, г прироста массы тела/г корма	0,40±0,03	0,34±0,02

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3: * – достоверность отличия от показателя контрольной группы $p \leq 0,05$.

Таблица 2. Содержание витаминов и малонового диальдегида в плазме крови и печени крыс ($M \pm m$)

Показатель	Контрольная группа (n=10)	Опытная группа (n=11)
Витамин А: ретинол, мкг РЭ/100 мл плазмы крови пальмитат ретинола, мкг РЭ/г печени	38,1±3,1	31,2±1,4*
	14,2±1,2	6,1±0,5*
Витамин Е (α-токоферол): мг/100 мл плазмы крови мкг/г печени	1,14±0,08	0,23±0,02*
	31,7±1,6	2,1±0,4*
Витамин В ₁ , мкг/г печени	10,85±0,47	2,46±0,35*
Витамин В ₂ , мкг/г печени	31,4±0,9	19,4±1,5*
МДА, нм/мл плазмы крови	4,05±0,12	3,89±0,05

Примечание. РЭ – ретиноловый эквивалент.

Таблица 3. Выведение с мочой крыс некоторых метаболитов за 16 ч ($M \pm m$)

Экскреция	Контрольная группа (n=10)	Опытная группа (n=11)
Рибофлавин, мкг	54,2±4,4	8,3±2,0*
4-пиридоксильная кислота, мкг	19,0±2,5	7,7±0,8*
8-гидрокси-2'-дезоксигуанозин, окисленная форма/неокисленная форма	0,0111±0,0024	0,0094±0,0031
Кортикостерон, нг	49,9±18,3	122,8±30,6*

Нахождение на витаминдефицитном рационе достоверно замедлило рост крыс на 10-е сутки ($p=0,036$) и через 21 день привело к снижению массы тела ($p=0,006$) и абсолютной массы печени ($p=0,010$) примерно на 19%, прироста массы тела – на 26,8% ($p=0,005$) по сравнению с показателями животных контрольной группы (см. табл. 1) и не отражалось на относительной массе печени. Вследствие худшей поедаемости витаминдефицитного рациона по сравнению с рационом с нормальным содержанием витаминов различия их эффективности, выражаемой в граммах прироста массы тела на 1 г корма, были недостоверны. Внешние признаки развития недостаточности витаминов (выпадение шерсти, алопеция и дерматит) не проявлялись.

Снижение содержания витаминов в рационе приводило к развитию выраженного полигиповитаминоза [6], о чем свидетельствует достоверное уменьшение концентрации витаминов в печени и плазме крови (табл. 2), а также экскреции

с мочой рибофлавина и метаболита витамина В₆ – 4-пиридоксильной кислоты (табл. 3).

8-гидрокси-2'-дезоксигуанозин – это модифицированное нуклеозидное основание, представляющее побочный продукт повреждения ДНК, экскретируемый с мочой при репарации ДНК. Соотношение его окисленной и неокисленной форм является маркером окислительного повреждения ДНК и окислительного стресса. Обнаруженное в нашем исследовании отсутствие сколько-нибудь значимых различий этого показателя у животных сравниваемых групп (см. табл. 3) может свидетельствовать в пользу предположения о том, что снижение обеспеченности животных опытной группы витаминами-антиоксидантами существенно не усиливало окислительное повреждение ДНК. Выяснение вопроса о том, влияет ли само по себе электрокожное раздражение на окислительное повреждение ДНК должно стать предметом дальнейшего исследования. В данном эксперименте

показатели ПОЛ сыворотки крови также не имели достоверных различий для сравниваемых групп. Однако о положительном влиянии адекватной витаминной обеспеченности на адаптационную устойчивость животных к стрессу, моделируемому электрокожным раздражением, свидетельствует достоверное повышение в 2,5 раза экскреции кортикостерона с мочой животных опытной группы с полигиповитаминозом (см. табл. 3). В пользу этого предположения свидетельствуют данные о том, что при глубоком дефиците витамина А уровень свободного кортикостерона в плазме крови крыс увеличивался на 38% [16], 20-кратное обогащение диеты витамином Е само по себе вызывало достоверное снижение уровня кортикостерона в сыворотке крови у мышей [21], а у подвергнутых воздействию стресса крыс дополнительный прием витамина Е снижал концентрацию этого гормона в сыворотке крови [19],

а также предотвращал вызванное гипероксией увеличение его секреции [20].

Таким образом, резюмируя результаты исследования, отметим, что адекватная витаминная обеспеченность ограничивала характерное для общего адаптационного синдрома увеличение в крови крыс важнейшего для этих животных кортикостероидного гормона – стресс-биомаркера и стресс-медиатора – кортикостерона. Это свидетельствует о снижении интенсивности протекания общего адаптационного синдрома, вызванного стрессом, моделируемым воздействием электрического тока. Полученный результат подтверждает важную роль оптимальной обеспеченности организма витаминами в неспецифической (общей) резистентности к стрессорным воздействиям и обосновывает необходимость коррекции витаминного статуса, в том числе путем включения витаминов в состав специализированных продуктов адаптогенного действия.

Сведения об авторах

ФГБНУ «НИИ питания» (Москва):

Сидорова Юлия Сергеевна – младший научный сотрудник лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов

E-mail: sidorovaulia28@mail.ru

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

Зорин Сергей Николаевич – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов

E-mail: zorin@ion.ru

Селифанов Александр Васильевич – младший научный сотрудник лаборатории химии пищевых продуктов

E-mail: avselifanov@mail.ru.

Мазо Владимир Кимович – доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов

E-mail: mazo@ion.ru

Литература

1. Андреева Л.И., Кожемякин Л.А., Кишкун А.А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 41–43.
2. Бекетова Н.А., Вржесинская О.А., Коденцова В.М. и др. Сравнение методов определения 4-пиридоксильной кислоты в моче // Вопр. питания. – 1992. – № 4. – С. 67–69.
3. Богдан А.С., Еншина А.Н., Ивко Н.А. Подходы к разработке дифференцированных норм потребления витаминов спортсменами // Вопр. питания. – 2007. – Т. 76, № 4. – С. 49–53.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. *Жанатаев А.К., Дурнев А.Д., Середенин С.Б.* Перспективы определения 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина в качестве биомаркера окислительного стресса в эксперименте и клинике // *Вестн. РАМН.* – 2002. – № 2. – С. 45–49.
 8. *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.
 9. *Коденцова В.М., Бекетова Н.А., Вржесинская О.А.* Витаминный состав экспериментальных рационов крыс // *Вопр. питания.* – 2012. – Т. 81, № 4. – С. 65–70.
 10. *Коденцова В.М., Вржесинская О.А., Спиричев В.Б.* Об использовании величин экскреции витаминов и их метаболитов в качестве показателей обеспеченности витаминами В2, В6 и РР // *Вопр. мед. химии.* – 1992. – № 1. – С. 22–24.
 11. *Коденцова В.М., Вржесинская О.А., Мазо В.К.* Витамины и окислительный стресс // *Вопр. питания.* – 2013. – Т. 82, № 3. – С. 11–18.
 12. *Распопов Р.В., Верников В.М., Шумакова А.А. и др.* Токсикологическая характеристика наночастиц диоксида титана, вводимых в виде дисперсии в желудочно-кишечный тракт крыс. Сообщение 1. Интегральные, биохимические и гематологические показатели, степень всасывания макромолекул в тонкой кишке, повреждение ДНК // *Вопр. питания.* – 2010. – Т. 79, № 4. – С. 21–30.
 13. *Тутельян В.А., Гаппаров М.Г.* Стресс и питание человека // *Руководство по реабилитации лиц, подвергшихся стрессовым нагрузкам* / Под ред. В.И. Покровского. – М.: Медицина, 2004. – С. 81–85.
 14. *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.
 15. *Яременко К.В.* Оптимальное состояние организма и адаптация. – СПб.: Элби-СПб, 2007. – 130 с.
 16. *Bonhomme D., Minni A. M., Alfos S. et al.* Vitamin A status regulates glucocorticoid availability in Wistar rats: consequences on cognitive functions and hippocampal neurogenesis? // *Front. Behav. Neurosci.* – 2014. – Vol. 8. – P. 20.
 17. *Da Costa L.A., Badawi A., El-Sohehy A.* Nutrigenetics and modulation of oxidative stress // *Ann. Nutr. Metab.* – 2012. – Vol. 60, suppl. 3. – P. 27–36.
 18. *De Martinis B.S., Bianchi M.L.P.* Methodology for urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine analysis by HPLC with electrochemical detection // *Pharmacol. Res.* – 2002. – Vol. 46, N 2. – P. 129–131.
 19. *Ibrahim A.A.I., Kamisah Y., Nafeeza M.I., Nur Azlina M.F.* The effects of palm vitamin E on stress hormone levels and gastric lesions in stress-induced rats // *Arch. Med. Sci.* – 2012. – Vol. 8, N 1. – P. 22–29.
 20. *Kobayashi N., Machida T., Takahashi T. et al.* Elevation by oxidative stress and aging of hypothalamic-pituitary-adrenal activity in rats and its prevention by vitamin E // *J. Clin. Biochem. Nutr.* – 2009. – Vol. 45, N 2. – P. 207–213.
 21. *Lim T.S., Putt N., Safranski D. et al.* Effect of vitamin E on cell-mediated immune responses and serum corticosterone in young and maturing mice // *Immunology.* – 1981. – Vol. 44, N 2. – P. 289–295.
 22. *Quillfeld P., Poisbleau M.* Measuring corticosterone in seabird egg yolk and the presence of high yolk gestagen concentrations // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 2011. – Vol. 173. – P. 11–14.

References

1. *Andreeva L.I., Kozhemjakin L.A., Kishkun A.A.* Modification of the method for determining the lipid peroxide in the test with thiobarbituric acid // *Lab. Business.* – 1988. – N 11. – P. 41–43.
2. *Beketova N.A., Vrzhesinskaya O.A., Kodentsova V.M. et al.* Comparison of methods for determination of 4-piridoksilovoy acid in urine // *Vopr. Pitan.* – 1992. – N 4. – P. 67–69.
3. Bogdan A., Enshina A.N., Ivko NA. Approaches to the development of differentiated norms of consumption of vitamins athletes // *Vopr. Pitan.* – 2007. – Vol. 76, N 4. – P. 49–53.
4. *Beketova N.A., Vrzhesinskaya O.A., Kodentsova V.M. et al.* The effect of vitamin-deficient diet enriched with polyunsaturated fatty acids omega-3 on biomarkers of rat vitamin and antioxidant status // *Vopr. Pitan.* – 2013. – Vol. 82, N 1. – P. 45–52.
5. *Vrzhesinskaya O.A., Kodentsova V.M., Spirichev V.B. et al.* Evaluation riboflavin status of the organism using a variety of biochemical methods // *Vopr. Pitan.* – 1994. – Vol. 63, N 6. – P. 9–12.
6. *Vrzhesinskaya O.A., Kodentsova V.M., Beketova N.A. et al.* The experimental model of alimentary polyhypovitaminosis of different degree in rats // *Vopr. Pitan.* – 2012. – Vol. 81, N 2. – P. 51–56.
7. *Zhanatan A.K Durnev A.D., Seredenin S.B.* Prospects determination of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine as a biomarker of oxidative stress in experimental and clinical // *Vestn. Ross. Akad. Med. Nauk.* – 2002. – N 2. – P. 45–49.
8. *Kodentsova V.M., Vrzhesinskaya O.A., Spirichev V.B.* The alteration of vitamin status of adult population of the Russian federation in 1987–2009 (To the 40th anniversary of the Laboratory of vitamins and minerals of Institute of Nutrition at Russian Academy of Medical Sciences) // *Vopr. Pitan.* – 2010. – Vol. 79, N 3. – P. 68–72.
9. *Kodentsova V.M., Beketova N.A., Vrzhesinskaya O.A.* Vitamins in rat experimental diets // *Vopr. Pitan.* – 2012. – Vol. 81, N 4. – P. 65–70.
10. *Kodentsova V.M., Vrzhesinskaya O.A., Spirichev V.B.* On the use of excretion quantities of vitamins and their metabolites as indicators of supply of vitamins B₂, B₆ and РР // *Vopr. Med. Khim.* – 1992. – N 1. – P. 22–24.
11. *Kodentsova V.M., Vrzhesinskaya O.A., Mazo V.K.* Vitamins and oxidative stress // *Vopr. Pitan.* – 2013. – Vol. 82, N 3. – P. 11–18.
12. *Raspopov R.V., Vernikov V.M., Shumakova A.A. et al.* Toxicological-hygienic characteristics of nanoparticles of titanium dioxide introduced as a dispersion in the gastrointestinal tract of rats. Message 1. Integral, biochemical and hematological parameters, the extent of absorption in the small intestine of macromolecules, DNA damage // *Vopr. Pitan.* – 2010. – Vol. 79, N 4. – P. 21–30.
13. *Tutelian V.A., Gapparov M.G.* Stress and human nutrition // *Handbook on Rehabilitation of Persons Exposed to Stress Conditions* / Ed V.I. Pokrovsky. – Moscow: Medicine, 2004. – P. 81–85.
14. *Yakushina L.M., Beketova N.A., Bender E.D., Kharitonchik L.A.* Using the HPLC method for determination of vitamins in biological fluids and foods // *Vopr. Pitan.* – 1993. – N 1. – P. 43–48.
15. *Jaremenko K.V.* The optimum condition of the body and adaptation. – St. Petersburg: Albee-SPb, 2007. – 130 p.
16. *Bonhomme D., Minni A. M., Alfos S. et al.* Vitamin A status regulates glucocorticoid availability in Wistar rats: consequences on cognitive functions and hippocampal neurogenesis? // *Front. Behav. Neurosci.* – 2014. – Vol. 8. – P. 20.
17. *Da Costa L.A., Badawi A., El-Sohehy A.* Nutrigenetics and modulation of oxidative stress // *Ann. Nutr. Metab.* – 2012. – Vol. 60, suppl. 3. – P. 27–36.
18. *De Martinis B.S., Bianchi M.L.P.* Methodology for urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine analysis by HPLC with electrochemical detection // *Pharmacol. Res.* – 2002. – Vol. 46, N 2. – P. 129–131.
19. *Ibrahim A.A.I., Kamisah Y., Nafeeza M.I., Nur Azlina M.F.* The effects of palm vitamin E on stress hormone levels and gastric lesions in stress-induced rats // *Arch. Med. Sci.* – 2012. – Vol. 8, N 1. – P. 22–29.
20. *Kobayashi N., Machida T., Takahashi T. et al.* Elevation by oxidative stress and aging of hypothalamic-pituitary-adrenal activity in rats and its prevention by vitamin E // *J. Clin. Biochem. Nutr.* – 2009. – Vol. 45, N 2. – P. 207–213.
21. *Lim T.S., Putt N., Safranski D. et al.* Effect of vitamin E on cell-mediated immune responses and serum corticosterone in young and maturing mice // *Immunology.* – 1981. – Vol. 44, N 2. – P. 289–295.
22. *Quillfeld P., Poisbleau M.* Measuring corticosterone in seabird egg yolk and the presence of high yolk gestagen concentrations // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 2011. – Vol. 173. – P. 11–14.

Для корреспонденции

Чернуха Ирина Михайловна – доктор технических наук, профессор, заместитель директора по научной работе ГНУ «Всероссийский НИИ мясной промышленности им. В.М. Горбатова» Россельхозакадемии
 Адрес: 109316, г. Москва, ул. Талалихина, д. 26
 Телефон: (499) 676-72- 11
 E-mail: imcher@inbox.ru

И.М. Чернуха, А.Н. Богатырев, А.С. Дыдыкин, М.А. Асланова, Л.В. Федулова

Влияние полипептидов, выделенных из сычуга крупного рогатого скота, на регенераторные процессы желудка крыс

Effect of polypeptides isolated from cattle abomasum on stomach regenerative processes in rats

I.M. Chernukha, A.N. Bogatyrev, A.S. Dydykin, M.A. Aslanova, L.V. Fedulova

ГНУ «Всероссийский НИИ мясной промышленности им. В.М. Горбатова» Россельхозакадемии, Москва
 The V.M. Gorbatov All-Russian Meat Research Institute, Moscow

Изучено влияние полипептидов из сычуга крупного рогатого скота на регенераторные процессы желудка крыс при моделировании аспиринового повреждения слизистой оболочки желудка (СОЖ). Исследования проведены на крысах-самцах стока Вистар с исходной массой тела 230 ± 20 г. Продолжительность эксперимента – 22 дня. Крысы были распределены на 4 равные группы ($n=11$). 1-я (контрольная) группа состояла из интактных животных, животным 2–4-й опытных групп с 1-х по 7-е сутки эксперимента проводили моделирование аспиринового повреждения СОЖ путем ежедневного внутрижелудочного введения ацетилсалициловой кислоты (300 мг/100 г массы тела). С 8-х по 22-е сутки животным ежедневно внутрижелудочно вводили по 2 мл: 2-й группе животных – дистиллированную воду; 3-й группе – нативный экстракт сычуга; 4-й группе – термообработанный экстракт сычуга, полученный экстрагированием 0,87% водным раствором хлорида натрия измельченного сычуга, с массовой долей белка 1,3 г/100 г, с высоким содержанием глутаминовой кислоты (15,5 г/100 г белка) и витаминов группы В. Электрофоретическое исследование экстракта выявило несколько высокомолекулярных фракций в диапазоне от 72 до 55 кДа, наиболее заметными были полосы с молекулярными массами 52, 43, 40, 37, 34, 26, 17 кДа, а также в области 12 кДа и в диапазоне ниже 10 кДа. В результате проведенных исследований показано, что экстракты сычуга как в нативном, так и в термообработанном виде оказывают терапевтическое действие на организм животных при моделировании аспиринового повреждения СОЖ, обладают хорошей противоязвенной и гастропротективной активностью при воздействии химических повреждающих агентов на СОЖ. При анализе гематологических показателей крови у животных 3-й и 4-й группы, которым после моделирования вводили экстракт сычуга, была выявлена нормализация содержания лейкоцитов, лимфоцитов, гранулоцитов и моноцитов, что косвенно свидетельствует о восстановлении крыс после перенесенного заболевания. В сыворотке крови этих животных произошло снижение концентраций общего билирубина, холестерина, триглицеридов,

активности гамма-глутаминтрансферазы, аспаратамиотрансферазы, щелочной фосфатазы по сравнению с показателями животных с моделью повреждения СОЖ; повышение содержания общего белка, в том числе альбуминовой фракции, а также снижение глюкозы. При исследовании внутренних органов животных 3-й и 4-й групп показано, что слизистая и подслизистая оболочка желудка складчатая, отсутствуют явления отека, гиперемии, каких-либо изменений слизистой, покровного и железистого эпителиев не отмечалось.

Ключевые слова: полипептиды, экстракт сычуга, крысы, гастрит

The effect of polypeptides isolated from cattle abomasum on regenerative processes of rat stomach upon simulating stomach mucosal damage caused by aspirin was studied. Experimental research was carried out on male Wistar rats with initial body weight of 230 ± 20 g. The duration of the experiment was 22 days. The rats were divided into 4 equal groups ($n=11$). The first (control) group consisted of the intact animals; animals from experimental groups 2–4 were intragastrically administered acetylsalicylic acid from the 1st to the 7th day for simulating stomach mucosal damage caused by aspirin (300 mg/100 g body weight). From day 8 to day 22, the animals were intragastrically administered the tested samples in the quantity of 2 ml per animal according to the scheme: the 2nd group – distilled water, the 3rd group – native abomasum extract; the 4th group – thermally treated abomasum extract. Abomasum extract was obtained by extraction with 0,87% aqueous sodium chloride crushed abomasum and represented a liquid of cream color with protein mass content of 1,3 g/100 g of the product with high content of glutamic acid (15,5 g/100 g protein) and B-group vitamins. Electrophoretic analysis of the extract revealed several high molecular weight fractions in the range of 72 to 55 kDa. The bands with molecular masses 52, 43, 40, 37, 34, 26, 17 kDa were most pronounced; the intensive bands in the area 12 kDa and in the range lower than 10 kDa were revealed. The results of the conducted study show that the abomasum extracts both in the native and thermally treated form exert therapeutic action on animal with stomach mucosal damage caused by aspirin, have good antiulcer and gastroprotective activities upon stomach mucosa exposure to chemical damaging agents. The analysis of the hematological indices of the animals from the 3rd and 4th groups, which received the test samples after simulation, revealed the normalization of leukocyte, lymphocyte, granulocyte and monocyte content. This suggests the recovery of the animals after the disease. In the blood serum of these animals concentration of total bilirubin, cholesterol, triglycerides and glucose and the activity of gamma-glutamine transferase, ASAT and alkaline phosphatase decreased compared with those in animals with the model of stomach mucosal injury; while the total protein content, including the albumin fraction increased. The examination of the internal organs of the animals from the 3rd and 4th groups showed that the mucosal and submucosal membrane of the stomach were plicate, the signs of edema were absent, the hyperemia, any changes in mucosa, surface and glandular epithelium were not observed.

Key words: polypeptides, abomasum extracts, rats, gastritis

Болезни органов пищеварения в структуре общей заболеваемости, особенно у детей, занимают одно из первых мест в мире, и общая тенденция к их росту сохраняется [4]. Медико-социальное значение указанной патологии определяется не только значительным распространением в наиболее ответственные периоды роста и развития ребенка, но и хроническим рецидивирующим

течением, снижающим качество жизни, формированием осложненных форм заболеваний, в ряде случаев приводящих к инвалидизации. В структуре хронических заболеваний органов пищеварения у детей школьного возраста гастриты занимают второе место [2, 5].

Ведущая роль в профилактике и лечении данного заболевания принадлежит диетотерапии, основ-

ные функции которой – устранение дефектов слизистой оболочки желудка (СОЖ) и восстановление ее нормальных функций. Наряду с диетотерапией в последние 10–15 лет появились новые методы лечения гастрита, основанные на применении полипептидов, обладающих тканеспецифическим действием и способных восстанавливать до оптимального уровня метаболизм в клетках тех тканей, из которых они выделены [5, 6].

Поскольку важным продуцентом биоактивных полипептидов является желудок крупного рогатого скота, так называемый железистый желудок-сычуг, **целью** исследования была оценка влияния полипептидов, полученных в результате обработки сычуга, на восстановительные процессы слизистой оболочки желудка лабораторных животных с моделью острого аспиринового повреждения слизистой оболочки желудка.

Материал и методы

Технология выделения биоактивных полипептидов заключалась в измельчении сычуга в промышленной мясорубке «Mainca» PM-70/PM-12 (Испания) с диаметром отверстий решетки 2–3 мм, экстрагировании в физиологическом растворе (содержание хлорида натрия 0,87%) при температуре 22–24 °С в течение 22 ч в лабораторной диспергирующей установке, с верхнеприводной мешалкой и внешней охлаждающей рубашкой (ЛДУ, «Лаботекс», РФ) с частотой вращения 500 об/мин. Далее экстракт фильтровали через ватно-марлевый фильтр и центрифугировали на настольной центрифуге «СМ-6М» («ELMI», Латвия) в течение 8 мин при частоте вращения 3500 об/мин с целью отделения осадка. Полученный экстракт представлял собой жидкость кремового цвета с массовой долей белка 1,3 г/100 г продукта.

Исследование аминокислотного состава показало высокое содержание глутаминовой кислоты (15,5 г/100 г белка), которая является строительным материалом и поставщиком энергии для СОЖ, усиливает иммунный барьер слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта и препятствует проникновению через нее микроорганизмов. В экстракте содержатся витамины (мг/100 г продукта): В₆ (0,83±0,04), В₁ (0,03±0,002), РР (2,61±0,13). Срок годности 24 ч при 0–4 °С.

Анализ электрофоретического исследования экстракта выявил несколько высокомолекулярных фракций в диапазоне от 72 до 55 кДа. Наиболее заметными были полосы с молекулярными массами 52, 43, 40, 37, 34, 26, 17 кДа; выявлена интенсивная полоса в области 12 кДа и в диапазоне ниже 10 кДа.

Возможно, это указывает на присутствие в экстрактах различных эндопротеиназ [ренина

(37 кДа), пепсина (32,7 кДа), трипсина и химотрипсина (25 кДа)], проферментов или зимогенов [например, пепсиногена, трипсиногена (42,5 кДа)], гормонов [гастрин, холицистин, секретин (от 4,2 до 2 кДа)].

Экспериментальные исследования проведены на 44 половозрелых белых крысах-самцах стока Вистар (масса тела 230±20 г), полученных из филиала «Андреевка» ГУ НЦБМТ РАМН (Московская область, Солнечногорский район, п. Андреевка). Содержание, питание, уход за животными и выведение их из эксперимента осуществляли в соответствии с требованиями «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных», Международных рекомендаций (этический кодекс) по проведению медико-биологических исследований с использованием животных. Животные содержались в клетках TECNIPLAST тип IV S в стандартных условиях вивария при сходных условиях в отношении температуры (23±2 °С), влажности (48±2%), освещения (с 6.00 до 18.00), при свободном доступе к воде и пище [3].

Эксперимент длился 22 дня; в течение этого срока животные получали полноценный стандартный рацион вивария по ГОСТ Р 50258-92. Крысы были рандомизированно по массе распределены на 4 группы (контрольная и 3 опытных). 1-я группа состояла из интактных животных, потреблявших на протяжении всего эксперимента стандартный рацион вивария. Животным 2–4-й опытных групп с 1-х по 7-е сутки эксперимента проводили моделирование аспиринового повреждения СОЖ по классической схеме, путем внутрижелудочного введения ацетилсалициловой кислоты из расчета 300 мг/100 г массы тела 1 раз в сутки [7, 8].

После завершения моделирования, с 8-х по 22-е сутки, животным внутрижелудочно через зонд вводили исследуемые образцы по 2 мл/сут на голову по схеме: 2-й группе животных – дистиллированную воду; 3-й группе – нативный экстракт сычуга; 4-й группе – термообработанный экстракт сычуга.

На протяжении всего эксперимента вели наблюдение за состоянием животных (поедаемостью корма, поведением, состоянием шерстного покрова, наличием или отсутствием диареи) и массой их тела, которую определяли с помощью электронных технических весов «Ohaus» («Adventure Pro», США) с точностью ±0,1 г. По окончании эксперимента производили забор крови и патологоанатомическое вскрытие. Макроскопически оценивали состояние внутренних органов, определяли абсолютную массу печени, почек, селезенки, сердца путем взвешивания на электронных весах («AcculabVicon», США) с точностью ±0,001 г, после чего рассчитывали относительную массу внутренних органов (в % от общей массы тела животного [8, 9]).

Общее клиническое исследование проб крови проводили на автоматическом ветеринарном гематологическом анализаторе «Abacusjuniorvet 2.7» («Diatron Messtechnik GmbH», Австрия), используя наборы реактивов («Diatron», Австрия). В крови животных определяли 18 показателей, представленных в табл. 1.

Биохимические исследования проводили на полуавтоматическом биохимическом анализаторе («Bio Chem SA», США), используя наборы реактивов («High Technology», США). В крови животных определяли: содержание общего белка, альбумина, билирубина общего, билирубина прямого, креатинина, мочевины, холестерина, триглицеридов, активность АСТ, АЛТ, ЛДГ, щелочной фосфатазы.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программы Statistica 6.0, с применением *t*-критерия Стьюдента, статистически достоверными считали различия при $p < 0,05$. Математическая обработка данных включала расчет средних значений со стандартными ошибками ($M \pm m$).

Результаты и обсуждение

Наблюдения за интактными животными (1-я группа) не выявили никаких отклонений – состояние животных на протяжении всего эксперимента находилось в пределах физиологической нормы.

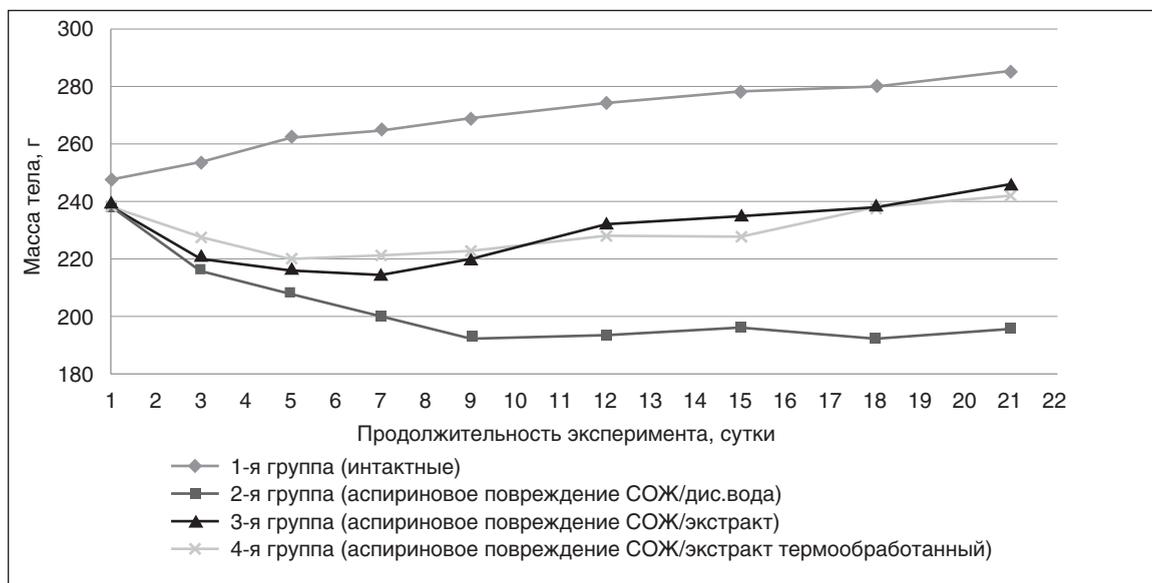
При моделировании аспиринового повреждения СОЖ у животных 2–4-й групп начиная с 3-х суток отмечалось угнетенное состояние, снижение двигательной активности, размягчение кала и частая дефекация, в остальном состояние животных находилось в пределах физиологической нормы.

На 7-е сутки моделирования был произведен забой 5 крыс из 2–4-й групп выборочно, при проведении аутопсии наблюдалось вздутие желудочно-кишечного тракта, в особенности желудка и тонкого кишечника, макроскопическое исследование органов желудочно-кишечного тракта выявило наличие точечных геморрагий в пилорической части и дна желудка размером 0,3–0,6 мм.

Наблюдение за динамикой изменения массы тела лабораторных животных в ходе эксперимента (рис.) показало, что животные 1-й группы (интактные) набирали массу тела в среднем по 3–5 г/сут. Животные 2-й группы, не получавшие лечения после моделирования аспиринового повреждения СОЖ, с 1-х по 7-е сутки теряли в массе тела (до 10 г/сут), начиная с 9-х суток и до окончания эксперимента наблюдалось некоторое увеличение массы тела. У животных 3-й и 4-й групп начиная с первых суток отмечено аналогичное снижение массы тела, при этом, начиная с 9-х суток, животные этих групп достаточно стабильно набирали массу тела, на 21-е сутки масса тела животных незначительно превышала первоначальный показатель.

Максимальный прирост массы тела отмечен у интактных животных (1-я группа) – 15,2%. У животных 3-й группы он составил 3,3%, у крыс 4-й группы – 2,05%. У животных с моделью аспиринового повреждения СОЖ по окончании эксперимента был отмечен отрицательный прирост массы тела (-18,2%).

Анализ результатов гематологического исследования крови животных 2-й группы, которым после воспроизведения заболевания вводили дистиллированную воду, показал увеличение количества лейкоцитов, лимфоцитов, моноцитов, гранулоцитов. Содержание эритроцитов, гемоглобина



Динамика изменения массы тела животных в процессе эксперимента

и тромбоцитов достоверно не отличалось от показателей интактных животных. При анализе гематологических показателей крови животных 3-й и 4-й группы, которым после моделирования вводили исследуемые образцы полипептидов, была выявлена нормализация содержания лейкоцитов, лимфоцитов, гранулоцитов и моноцитов, что косвенно свидетельствует о восстановлении состояния животных после перенесенного заболевания (табл. 1).

Результаты биохимического исследования сыворотки крови крыс представлены в табл. 2. У животных 2-й группы после моделирования аспиринового повреждения СОЖ в сыворотке крови (табл. 2) отмечены достоверно сниженные уровни общего белка на 7% и альбумина на 25%, а содержание глюкозы, общего билирубина, холестерина, триглицеридов и активность щелочной фосфатазы, гамма-глутаминтрансферазы очень высокое. Снижение содержания белка, в том числе альбуминовой фракции, косвенно указывает на обезвоживание организма, являющееся следствием диареи. Увеличение активности АСТ, щелочной фосфатазы и гамма-глутаминтрансферазы в 1,3–1,4 раза и концентрации глюкозы, общего билирубина, холестерина и триглицеридов можно связать с повреждающим фактором аспириновой кислоты на печень экспериментальных животных [10].

При сравнительном анализе основных биохимических показателей сыворотки крови животных, в рацион которым вводили исследуемые образцы (3-я и 4-я группы), относительно показателей животных 2-й группы можно отметить положи-

тельную тенденцию. Так, отмечено снижение концентрации общего билирубина, холестерина, триглицеридов, активности гамма-глутаминтрансферазы, АСТ, щелочной фосфатазы у животных 2-й и 3-й групп по сравнению с показателями животных с моделью повреждения СОЖ; нормализация содержания общего белка, в том числе альбуминовой фракции, а также глюкозы (табл. 2). Эти данные, по-видимому, свидетельствует о нивелировании патологических процессов, а также о нормализации метаболизма в организме животных, которым вводили как нативный, так и термообработанный экстракт сычууга.

Патологоанатомическое исследование животных 1-й группы не продемонстрировало никаких внешних проявлений воспалительных или иных патологических процессов во внутренних органах (пищеварительном тракте, поджелудочной железе и печени, дыхательной системе, органах кровообращения и кроветворения, мочевыделительной системе). Печень и селезенка имели однородный насыщенный бордовый цвет и упругую консистенцию. У животных с аспириновым повреждением СОЖ, получавших дистиллированную воду (2-я группа), выявлены следующие макроскопические изменения: слизистая оболочка желудка отечная, сглаженная, гиперемизированная, в 100% случаях обнаруживаются точечные кровоизлияния в области дна желудка, в 70–60% – эрозии, сохраняются язвенные дефекты. Исследование внутренних органов животных 3-й и 4-й групп показало, что слизистая и подслизистая оболочка желудка складчатая, явления отека, гиперемии отсутствовали, каких-либо изменений

Таблица 1. Показатели общего анализа крови животных

Показатель	Группа животных			
	1-я	2-я	3-я	4-я
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	7,9 \pm 0,5	13,3 \pm 1,9*	7,3 \pm 0,4#	8,2 \pm 0,4+
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	7,2 \pm 1,4	8,60 \pm 0,14*	6,5 \pm 0,6#	6,3 \pm 0,7+
Содержание смеси моноцитов, эозинофилов, базофилов и незрелых клеток, $\times 10^9/\text{л}$	0,10 \pm 0,001	0,30 \pm 0,002*	0,20 \pm 0,001	0,20 \pm 0,001
Гранулоциты, $\times 10^9/\text{л}$	1,8 \pm 0,3	4,5 \pm 0,2*	1,4 \pm 0,5 #	1,8 \pm 0,2+
Лимфоциты, %	79,1 \pm 1,8	55,7 \pm 5,1*	71,9 \pm 8,4#	68,7 \pm 2,3+
Моноциты, %	0,76 \pm 0,06	1,22 \pm 0,24*	0,65 \pm 0,08#	0,78 \pm 0,04
Относительное содержание гранулоцитов, %	20,3 \pm 1,8	34,6 \pm 2,9*	25,5 \pm 5,2	24,4 \pm 1,3+
Эритроциты, $\times 10^{12}/\text{л}$	8,7 \pm 0,1	8,6 \pm 0,2	8,3 \pm 0,2	8,3 \pm 0,4
Гемоглобин, г/л	148,7 \pm 1,5	144,0 \pm 2,5	146,8 \pm 2,2	145,6 \pm 4,0
Гематокрит, %	43,7 \pm 1,3	38,9 \pm 1,2*	41,6 \pm 1,4#	40,4 \pm 1,0
Среднее содержание гемоглобина в эритроците, пг	17,0 \pm 0,1	17,5 \pm 0,4*	16,9 \pm 0,2	17,0 \pm 0,3
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$	707,3 \pm 52,5	732,5 \pm 43,2	763,8 \pm 25,1	752,8 \pm 15,1
Тромбокрит, %	0,5 \pm 0,1	0,5 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1#	0,7 \pm 0,2

Примечание. Здесь и в табл. 2 и 3: * – достоверность различий между показателями у животных интактной и 2-й группы ($p < 0,05$); # – достоверность различий между показателями у животных 2-й и 3-й групп ($p < 0,05$); + – достоверность различий между показателями у животных 2-й и 4-й групп ($p < 0,05$); ^ – достоверность различий между показателями у животных 3-й и 4-й групп ($p < 0,05$).

Таблица 2. Биохимические показатели сыворотки крови крыс

Показатель	Группа животных			
	1-я	2-я	3-я	4-я
Общий белок, г/л	67,2±1,4	62,6±0,8*	67,3±2,3#	65,2±2,8^
Альбумин, г/л	37,8±2,3	28,5±2,3*	36,7±1,6#	34,3±3,3
Глюкоза, ммоль/л	7,9±0,9	10,7±0,1*	7,4±0,7#	7,5±1,1+
Билирубин (общий), мкмоль/л	2,4±0,4	3,2±0,2*	2,9±0,2	2,7±0,4+,^
Креатинин, мкмоль/л	65,0±4,2	62,6±5,0	62,8±4,6	61,7±4,8
Мочевина, ммоль/л	8,0±0,5	7,1±0,6	7,3±0,3	6,9±0,5
АСТ, Ед/л	98,7±9,4	129,4±13,2*	111,8±18,8#	116,3±9,7+
АЛТ, Ед/л	72,0±7,2	71,1±6,1	69,2±3,3	66,7±5,1
Щелочная фосфатаза, Ед/л	184,9±25,6	239,7±22,8*	200,2±39,3	159,6±27,8+
Гамма-глутаминтрансфераза, Ед/л	4,4±0,5	6,2±0,4	5,6±0,7	5,6±0,3+
ЛДГ, Ед/л	305,6±24,6	237,3±48,0*	235,7±19,8	232,6±55,1
Холестерин, ммоль/л	1,4±0,2	1,9±0,03*	1,5±0,2#	1,7±0,2
Триглицериды, ммоль/л	0,6±0,1	0,9±0,5*	0,8±0,1	0,8±0,1

Таблица 3. Относительная масса внутренних органов крыс

Группа животных	Масса органа, % от массы тела			
	селезенка	почка	печень	сердце
1-я	0,24±0,04	0,37±0,07	3,38±0,08	0,35±0,06
2-я	0,28±0,06	0,35±0,01	3,39±0,16	0,33±0,06
3-я	0,28±0,05	0,33±0,02	3,27±0,11	0,34±0,02
4-я	0,26±0,04	0,32±0,03	3,34±0,22	0,35±0,03

слизистой, покровного и железистого эпителия не отмечалось.

В результате проведенных исследований показано, что экстракты сычуга как в нативном, так и в термообработанном виде оказывают терапевтическое действие на организм животных при моделировании аспиринового повреждения СОЖ. Экстракты способствуют нормализации биохимических показателей крови, сохранению складчатости слизистой, предотвращают дальнейшее развитие деструктивных изменений покровного и железистого эпителия:

оказывают стимулирующее влияние на регенераторные процессы структурно-функциональной организации СОЖ.

Выявленный нами терапевтический эффект экстрактов сычуга при воздействии химических повреждающих агентов на СОЖ, возможно, обусловлен содержанием в экстрактах целого комплекса биологически активных веществ, в том числе проферментов. Дополнительным фактором является усиление местного синтеза простагландинов, способных улучшать микроциркуляцию в слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта.

Сведения об авторах

ГНУ «Всероссийский НИИ мясной промышленности им. В.М. Горбатова» Россельхозакадемии (Москва):
Чернуха Ирина Михайловна – доктор технических наук, профессор, заместитель директора по научной работе

E-mail: dpitanie@vniimp.ru

Богатырев Андрей Николаевич – доктор технических наук, профессор, член-корреспондент РАСХН, научный консультант

E-mail: svn1412@mail.ru

Дыдыкин Андрей Сергеевич – кандидат технических наук, доцент, заведующий лабораторией технологии детских, лечебно-профилактических и специализированных продуктов

E-mail: dpitanie@vniimp.ru

Асланова Мариэтта Арутюновна – кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории технологии детских, лечебно-профилактических и специализированных продуктов

E-mail: dpitanie@vniimp.ru

Федулова Лилия Вячеславовна – кандидат технических наук, заведующая экспериментальной клиникой-лабораторией биологически активных веществ животного происхождения
E-mail: dpitanie@vniimp.ru

Литература

1. *Александрова Ю.Н.* О системе цитокинов // Педиатрия – 2007. – Т. 86, № 3. – С. 124–128.
2. *Баранов А.А., Щербатов П.Л.* Актуальные вопросы детской гастроэнтерологии // Вопр. соврем. педиатрии. – 2002. – Т. 1, № 1. – С. 12.
3. *Бекетова Н.А., Кравченко Л.В., Кошелева О.В. и др.* Влияние биологически активных соединений индол-3 карбинола и рутина на обеспеченность крыс витаминами А и Е при различном содержании жира в рационе // Вопр. питания. – 2013. – Т. 82, № 2. – С. 23–30.
4. *Волков А.И., Усанова Е.П.* Динамика эпидемиологических показателей заболеваемости органов пищеварения у детей // Тезисы докладов Всероссийского совещания «Детская гастроэнтерология: настоящее и будущее». – М., 2002. – С. 54–55.
5. *Вольнец Г.В., Гаранжа Т.А., Сперанский А.И. и др.* Этиологическая характеристика основных типов хронического гастрита у детей // Рус. мед. журн. – 2005. – Т. 13, № 18. – С. 1208–1214.
6. *Ерпулева Ю.В.* Смеси на основе пептидов у больных с патологией желудочно-кишечного тракта: современные позиции // Лечащий врач. – 2008. – № 2. – С. 80–82.
7. *Максарова Д.Д.* Оценка эффективности действия цеолита на течение аспиринового повреждения слизистой оболочки желудка у крыс // Вестник Бурятского государственного университета – 2009. Вып. 4. Биология, география. – С. 83–85.
8. *Максарова Д.Д.* Модифицированное фитобактериальное средство при аспириновом повреждении слизистой оболочки желудка белых крыс // Вестник Бурятского государственного университета – 2012. Вып. 4. – С. 220–225.
9. *Полтырев С.С., Курцин И.Т.* Физиология пищеварения. – М.: Высшая школа, 1980. – С. 256.
10. *Самонина Г.Е., Копылова Г.Н., Герман С.В. и др.* Эндогенные пептиды и гомеостаз слизистой оболочки желудка // Патофизиология органов и систем. Типовые патологические процессы (экспериментальные и клинические аспекты). Материалы I Российского конгресса по патофизиологии. – М., 9–12 окт. 2000. – С. 133.
11. *Сурменёв Д.В., Баженов С.М., Дубенская Л.И., Ермачкова Е.Н.* Показатели периферической крови как маркёры хронических воспалительных заболеваний верхних отделов пищеварительного тракта // Математическая морфология. Электронный математический и медико-биологический журнал. – 2010. – Т. 9, вып. 3. – С. 12.

References

1. *Alexandrova Yu.N.* About cytokine system // *Pediatrics*. – 2007. – Vol. 86, N 3. – P. 124–128.
2. *Baranov A.A., Scherbakov P.L.* Topical issues of pediatric gastroenterology // *Issues of Modern Pediatrics*. – 2002. – Vol. 1, N 1. – P. 12.
3. *Beketova N.A., Kravchenko L.V., Kosheleva O.V. et al.* Effect of inclusion of indole-3-carbinol and rutin in the diet of rats with different fat content on vitamins a and e status // *Vopr. Pitan.* – 2013. – Vol. 82, N 2. – P. 23–30.
4. *Volkov A.I., Usanova E.P.* Dynamics of epidemiological indicators of morbidity of digestive system organs in children // *Pediatric Gastroenterology: Present and Future*. – M., 2002. – P. 54–55.
5. *Volynets G.V., Garanzha T.A., Speransky A.I. et al.* Etiological characteristics of main types of chronic gastritis in children // *Russian Medical Journal*. – 2005. – Vol. 13, N 18. – P. 1208–1214.
6. *Erpuleva Yu.V.* Mixtures on the basis of peptides in patients with pathology of gastroenteric tract: current positions // *Treating Physician*. – 2008. – N 2. – P. 80–82.
7. *Maksarova D.D.* Assessment of the efficiency of zeolite on the course of stomach mucosal damage caused by aspirin in rats // *Bulletin of the Buryat State University*. – 2009. – Issue 4. *Biology, Geography*. – P. 83–85.
8. *Maksarova D.D.* Modified phyto-bacterial preparation upon stomach mucosal 2012. – damage caused by aspirin in white rats // *Bulletin of the Buryat State University*. – 2009. – Issue 4. – P. 220–225.
9. *Poltyrev S.S., Kurtsyn I.T.* *Physiology of Digestion*. – Moscow: Higher school, 1980. – P. 256.
10. *Samonina G.E., Kopylova G.N., German S.V. et al.* Endogenous peptides and homeostasis of stomach mucosa // *Pathophysiology of organs and systems. Typical pathological processes (experimental and clinical aspects)*. Proceedings of the 1st Russian Congress on Pathophysiology. – Moscow, Oct. 9–12 2000. – P. 133.
11. *Surmenev D.V., Bazhenov S.M., Dubenskaya L.I., Ermachkova E.N.* Indices of peripheral blood as markers of chronic inflammatory diseases of upper digestive tract // *Mathematical Morphology. Electronic Mathematical and Medico-Biological Journal*. – 2010. – Vol. 9, Issue 3. – P. 12.

Для корреспонденции

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

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

Телефон: (495) 698-53-83

E-mail: karlikanova@ion.ru

Н.Р. Ефимочкина¹, И.Б. Быкова¹, С.Ю. Батищева¹, Л.П. Минаева¹, Ю.М. Маркова¹,
Ю.В. Короткевич¹, Г.Ю. Шилов², С.А. Шевелева¹

Изучение особенностей микробной контаминации свежих овощей и листовых салатов промышленного изготовления

Study of microbial contamination of processed fresh vegetables and lettuce

N.R. Efimochkina¹, I.B. Bykova¹,
S.Yu. Batisheva¹, L.P. Minaeva¹,
Yu.M. Markova¹, Yu.V. Korotkevich¹,
G.Yu. Shilov², S.A. Sheveleva¹

¹ ФГБНУ «НИИ питания», Москва

² ЗАО «Белая Дача Трейдинг» Московская область, Котельники

¹ Institute of Nutrition, Moscow

² Belaya Dacha Trading, Moscow Region, Kotel'niki

Проведены микробиологические исследования уровней контаминации и видового состава бактерий семейства Enterobacteriaceae в свежих овощах и листовых салатах. Объектами исследования были образцы новых видов сырых овощных продуктов – салаты 8 видов, нарезанные овощи и их смеси, отобранные на основных этапах производства, включая антимикробную обработку гипохлоритом натрия, мойку и упаковку продукции в пленки под вакуумом. Анализ уровня загрязненности овощной и салатной продукции энтеробактериями показал, что их удельный вес в общей сумме микробных контаминантов достаточно высок. Содержание энтеробактерий варьировало в пределах от 2,14 до 3,34 lg КОЕ/г, достигая в отдельных пробах значений 4,38–4,74 lg, сопоставимых с общим количеством посторонней бактериальной микрофлоры (КМАФАнМ) в тех же пробах. Установлено значительное видовое разнообразие микрофлоры, контаминирующей овощную продукцию. В пробах были обнаружены бактерии родов Enterobacter, Pantoea, Citrobacter, Serratia, Pseudomonas, Kluyvera, Klebsiella, Escherichia, Rahnella, Acinetobacter. Наиболее часто в салатах и овощах резаных обнаруживались Enterobacter spp. – 37% культур и Pantoea spp. – 25%. Полученные данные о характере микробной контаминации овощной и салатной продукции свидетельствуют о необходимости контроля не только санитарно-показательных групп колиформных бактерий, являющихся традиционно индикатором фекального загрязнения сырья, но и о целесообразности нормирования всей группы Enterobacteriaceae.

Ключевые слова: овощи и салаты листовые промышленного изготовления, микробная контаминация, энтеробактерии, бактерии группы кишечных палочек, пищевые патогены, антимикробная обработка

Investigations of microbial contamination and species composition of the Enterobacteriaceae family in fresh vegetables and lettuce has been conducted. The objects of study were new types of fresh ready-to-eat vegetable foods – salads, sliced vegetables and mixtures thereof, sampled at the main stages of production, including washing, antimicrobial treatment with sodium hypochlorite, and packaging in the film under vacuum. Quantitative analysis of Enterobacteriaceae levels in fresh and packaged vegetables and salads showed that their part in the total amount of microbial contaminants is large enough. Average Enterobacteriaceae content ranged from 2,14 to 3,34 lg cfu/g, reaching in some samples values 4,38–4,74 lg, comparable with the levels of total bacteria. Considerable species diversity of microflora contaminating ready-to-eat vegetable products has been found. Bacteria of the genera Enterobacter, Pantoea, Citrobacter, Serratia, Pseudomonas, Kluyvera, Klebsiella, Escherichia, Rahnella, Acinetobacter were found in the salads and sliced vegetables. In the tested samples most frequently detected Enterobacter spp. – 37% of identified strains and Pantoea spp – 25% of strains. The data on the composition and levels of microbial contaminants in vegetable and salad products highlight not only the need to monitor coliform bacteria – traditional indicators of faecal contamination of raw materials, but also the need to introduce criteria for the amount of Enterobacteriaceae.

Key words: ready-to-eat vegetable foods, microbial contamination, enterobacteria, coliform bacteria, antimicrobial treatment, foodborne pathogens

В последние годы регистрируется значительное число вспышек пищевых токсикоинфекций, связанных с употреблением свежих овощных салатов, пророщенных семян злаковых и бобовых культур, непастеризованных фруктовых соков, загрязненных в процессе сбора урожая, приготовления и хранения готовой продукции [10, 13–15, 18]. Возрастающая значимость этих продуктов как потенциальных факторов передачи возбудителей пищевых токсикоинфекций показала необходимость детального изучения характера микробной контаминации блюд из сырых овощей, предназначенных для непосредственного употребления в пищу [8, 9, 11, 12, 16, 19, 20]. Появление на российском потребительском рынке новой группы пищевой продукции – листовых салатов, свежих резаных овощей – определили целесообразность детального анализа микробиологических рисков, возникающих на этапах обработки, упаковки, транспортировки и хранения этих продуктов. Актуальность исследований обусловлена также необходимостью оценки влияния на микрофлору таких продуктов новых технологий антимикробной обработки сырья, автоматизированной нарезки и мойки продукции, упаковки свежих салатов и овощей в герметизированную тару.

Действующие в настоящее время микробиологические нормативы безопасности овощной продукции были разработаны с учетом традиционных подходов к заготовке, хранению, переработке и реализации сельскохозяйственной продукции. Они предназначались в первую очередь для свежих

цельных овощей (в том числе листовых салатов) или для бланшированных и быстрозамороженных овощей. При обосновании этих нормативов не учитывались микробиологические риски, связанные со значительным увеличением сроков годности свежих резаных салатов и овощей, с применением режимов холодильного хранения и новых видов упаковки, ограничивающих доступ кислорода.

В данной работе проведено изучение фактической микробной контаминации новой группы растительных продуктов – свежих овощей и салатов, готовых к употреблению, – на основных этапах обработки сырья, производства и хранения готовой продукции. Микробиологические исследования включали количественное определение мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов, бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, включая колиформы и *Escherichia coli*. В задачи исследования также входила оценка видового состава микрофлоры, контаминирующей эти виды продукции, и его изменений под влиянием технологической обработки.

Материал и методы

Объектами исследования стали пробы свежих салатов и овощей резаных, отобранные в условиях действующего производства на этапах получения сырья, обработки, упаковки, транспортирования, хранения и реализации. Исследованные виды продукции включали салат Айсберг резаный, смесь листовых салатов и резаной мор-

кови, лук репчатый резаный. Всего исследовано 200 проб продукции.

Подготовку проб к анализу проводили по ГОСТ ISO 7218-2011 и ГОСТ 26669-85 [1, 2]. Общее количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) определяли по ГОСТ 10444.15-94 [3]. Бактерии семейства *Enterobacteriaceae* определяли по ГОСТ Р 54005-2010 [4] с использованием селективной дифференциально-диагностической среды для выделения и учета энтеробактерий в пищевых продуктах – глюкозного агар с кристаллическим фиолетовым, нейтральным красным и желчью (VRBD-агар, «Мерк», Германия), видовую принадлежность выделенных штаммов энтеробактерий устанавливали при использовании биохимических тест-систем «API 20E», «Rapid 20E», «API 10S», «API 50 CHE» («БиоМерье», Франция).

Бактерии группы кишечных палочек (БГКП) и *Escherichia coli* определяли по ГОСТ Р 52816-2007, ГОСТ 30726-2001, ГОСТ Р 52830-2007 и с использованием биохимических тест-систем «API 20E», «Rapid 20E» («БиоМерье», Франция).

Для определения общего количества бактерий семейства *Enterobacteriaceae* и, отдельно, уровней загрязнения колиформными бактериями проводили параллельно посев десятикратных разведений продуктов на поверхность селективных дифференциально-диагностических сред VRBD-агар и агар Эндо с подсчетом всех типичных колоний (энтеробактерии на VRBD-агаре – красно-фиолетовые колонии с зоной преципитации, лактозоположительные БГКП на агаре Эндо – красные, малиновые и с металлическим блеском колонии).

Антимикробную обработку салатной и овощной продукции проводили в ваннах контактной очистки и охлаждения с применением хлорсодержащих дезинфицирующих средств на основе гипохлорита натрия с концентрацией активного хлора в растворе для мытья 50–150 мг/дм³.

Количественные уровни микроорганизмов в исследуемых образцах выражали в КОЕ/г продукта, полученные значения переводили в логарифми-

ческие единицы (lg КОЕ/г). Данные о присутствии колиформных бактерий, в том числе *E.coli*, в определенной массе продукта, выраженные в альтернативной форме («обнаружены» или «не обнаружены»), переводили в число КОЕ/г согласно D. Mossel [17]. Изменения количества микрофлоры выражали в величинах прироста уровня lg КОЕ/г как разницу между предыдущим и текущим значением среднего арифметического (M) каждой выборки проб.

Результаты

Оценку уровней микробной контаминации проводили в процессе технологической обработки сырья, полуфабрикатов и в готовой продукции, определяя общее количество микрофлоры – КМАФАнМ (табл. 1).

Количественная оценка микробной загрязненности проб сырья показала, что салаты и овощи до обработки характеризовались высокой гетерогенностью контаминации – показатель КМАФАнМ в исследованных пробах колебался от 2,85 до 7,07 lg КОЕ/г, при этом в отдельных видах полуфабрикатов средние значения также достигали значительного уровня (6,45±0,20 lg КОЕ/г).

После предварительной мойки и антимикробной обработки уровень КМАФАнМ для листовых салатов снижался в среднем на 1 порядок. В то же время снижение КМАФАнМ после обработки гипохлоритом овощных полуфабрикатов (корнеплодов) было менее выраженным в сравнении с листовыми салатами и составляло для моркови 0,44 Δlg КОЕ/г, а для лука репчатого только 0,13 Δlg КОЕ/г.

Исследования готовой продукции на момент окончания технологического процесса показали 100% соответствие проанализированных проб установленному нормативу по показателю КМАФАнМ (5×10⁵ КОЕ/г или 5,7 lg КОЕ/г, не более). При этом величины КМАФАнМ для двух видов – салата Айсберг и лука репчатого после вакуумирования не превышали 4,0 lg КОЕ/г. Значительная

Таблица 1. Изменение содержания мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов в овощной и салатной продукции в процессе производства (lg КОЕ/г)

Продукт	Этап производства			Норматив для готовой продукции
	сырье до обработки (n=6)	после мытья и антимикробной обработки (n=6)	после вакуумирования (готовый продукт) (n=6)	
Салат листовой резаный	4,41±0,40	3,08±0,28	3,84±0,30	5,7 (не более 5×10 ⁵ КОЕ/г)
Лук резаный	3,86±0,26	3,73±0,24	3,89±0,17	
Смесь листовых салатов (полуфабрикат)	5,85±0,14	4,72±0,23	–	–
Морковь резаная (полуфабрикат)	4,62±0,34	4,18±0,26	–	
Салат «Ассорти» многокомпонентный	5,64±0,23	4,83±0,19	4,70±0,24	5,7 (не более 5×10 ⁵ КОЕ/г)

исходная обсемененность сырьевых компонентов салатов, а также недостаточная эффективность дезобработки определили изначально высокий уровень микробной загрязненности многокомпонентной салатной смеси, среднее значение для которой после вакуумирования составило 4,70 lg КОЕ/г.

Полученные данные показали целесообразность анализа влияния условий и длительности хранения на показатели микробной контаминации готовой овощной продукции. С этой целью были проведены исследования образцов нескольких партий продукции в процессе хранения в двух вариантах: 1) в условиях постоянного контроля температуры и при отсутствии транспортировки (в лаборатории); 2) в процессе продвижения продукции от склада изготовителя до мест реализации. В табл. 2 приведены сравнительные данные изменения величин КМАФАнМ овощной и салатной продукции в процессе хранения.

При хранении в обоих вариантах происходит повышение уровня общей микробной обсемененности всех видов салатной продукции. Если после 2-суточного хранения все исследованные пробы соответствовали установленным требованиям по данному показателю (величины lg КОЕ/г не превышали 5,7), то после 4 сут уровень КМАФАнМ превышал норматив в 7 из 18 образцов (38,9%). После 7 сут хранения число забракованных проб составляло 50%, а величины загрязненности на 1–1,5 логарифмических порядка превышали норму.

Интенсивность нарастания микробных популяций в процессе хранения салатов и овощей при заданных температурных режимах (в условиях лаборатории) показаны в табл. 3. Наиболее интенсивно изменение величины КМАФАнМ происходит на 3–4-е сутки хранения – в среднем в 10 раз, а при дальнейшем хранении образцов увеличения количества микрофлоры уже не происходит: к 7-м суткам наблюдений величина $\Delta \lg$ КОЕ/г была отрицательной и составляла –0,22. Это свидетельствует о переходе популяций в стационарную фазу роста.

Сопоставление скорости изменения уровней контаминации в двух вариантах хранения (на оптовом складе и в местах реализации в сравнении с контрольными лабораторными пробами) показало, что величины КМАФАнМ в исследованных образцах нарастали практически одинаково (рис. 1).

Результаты определения количества бактерий семейства *Enterobacteriaceae* и колиформных бактерий в салатах и овощах резаных, отобранных на основных этапах производства, представлены в табл. 4 (средние величины по группам продукции).

Энтеробактерии, и в том числе БГКП, обнаруживались в большинстве образцов сырья в количестве, превышающем норматив (менее 100 КОЕ/г): из 30 исследованных проб салатов и овощей *Enterobacteriaceae* были обнаружены в 23 образцах (77%), а БГКП – в 22 (73%). Наиболее высокая степень контаминации энтеробактериями была выявлена

Таблица 2. Изменение содержания мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (lg КОЕ/г) в овощной и салатной продукции в процессе хранения

Период хранения	В контролируемых лабораторных условиях	При транспортировании и хранении на оптовом складе и в местах реализации	Норматив
<i>Салат листовой резаный (n=6)</i>			
Фон (после вакуумирования)	3,84±0,30		5,7 (не более 5×10 ⁵ КОЕ/г)
2 сут	4,03±0,56	3,89±0,61	
4 сут	5,30±0,52	5,05±0,41	
7 сут	5,66±0,32	4,23±0,70	
Число проб, не соответствующих нормативу, %	44,4	11,1	
<i>Лук резаный (n=6)</i>			
Фон	3,89±0,17		5,7 (не более 5×10 ⁵ КОЕ/г)
2 сут	4,23±0,21	4,34±0,16	
4 сут	5,25±0,33	5,15±0,21	
7 сут	4,27±1,09	5,81±0,52	
Число проб, не соответствующих нормативу, %	22,2	22,2	
<i>Салат «Ассорти» многокомпонентный (n=6)</i>			
Фон	4,70±0,24		5,7 (не более 5×10 ⁵ КОЕ/г)
2 сут	4,79±0,49	4,93±0,16	
4 сут	5,47±0,68	5,27±0,96	
7 сут	5,42±0,79	6,08±0,28	
Число проб, не соответствующих нормативу, %	33,3	44,4	

Таблица 3. Изменение уровней общей бактериальной обсемененности растительных продуктов в процессе хранения

Продукт	Прирост показателя М ($\Delta \lg$ КОЕ/г) в процессе хранения			
	фон	через 2 сут	через 4 сут	через 7 сут
Салат «Айсберг»	3,84	+0,19	+1,27	+0,36
Лук резаный	3,89	+0,34	+1,02	-0,98
Салат «Ассорти» многокомпонентный	4,7	+0,09	+0,68	-0,05
М $\Delta \lg$ КОЕ/г	–	+0,21	+0,99	-0,22

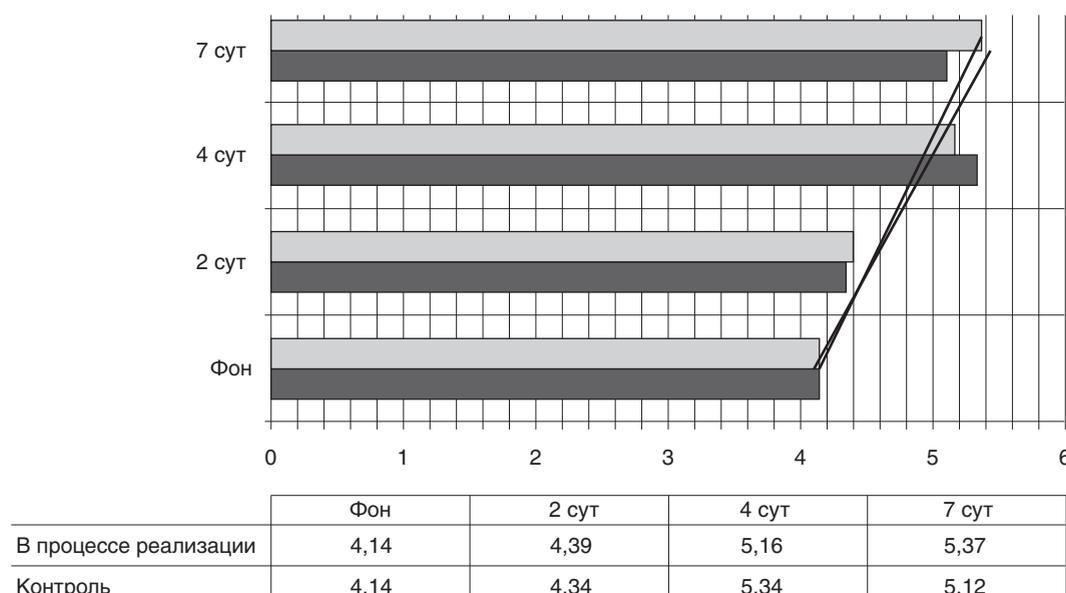


Рис. 1. Изменение КМАФАнМ в процессе хранения овощной продукции

Таблица 4. Изменение количества бактерий семейства *Enterobacteriaceae* в процессе производства (lg КОЕ/г)

Продукт	Бактерии семейства <i>Enterobacteriaceae</i>			Бактерии группы кишечных палочек (БГКП)			Число проб (%), не соответствующих нормативу (<2,0)
	сырье до обработки	после анти-микробной обработки	после вакуумирования	сырье до обработки	после анти-микробной обработки	после вакуумирования	
Салат «Айсберг»	3,01±0,43	2,14±0,10	2,51±0,28	2,97±0,53	2,25±0,13	2,26±0,17	33,3
Лук резаный	2,79±0,25	2,76±0,28	3,34±0,17	2,79±0,28	2,89±0,37	2,98±0,23	83,3
Смесь листовых салатов	3,69±0,39	2,89±0,39	–	3,78±0,41	2,35±0,37	–	–
Морковь резаная	2,92±0,50	2,44±0,26	–	2,61±0,30	2,38±0,61	–	–
Салат «Ассорти» многокомпонентный	3,46±0,27	3,04±0,21	2,81±0,40	3,53±0,28	2,98±0,22	2,93±0,47	50,0

в смеси листовых салатов (3,69±0,39 lg КОЕ/г); в среднем величина этого показателя для компонентов салата «Ассорти» составила 3,46±0,27 lg КОЕ/г. Колиформные бактерии выявлялись в сырье с той же частотой во всех исследованных группах продукции.

При оценке эффективности воздействия раствора гипохлорита натрия на энтеробактерии при обработке овощного сырья было показано, что их численность снижалась в среднем на 0,44 lg КОЕ/г, а содержание колиформ – на 0,28 lg. При этом

были отмечены те же различия в воздействии на овощи и листовые салаты, что и для показателя КМАФАнМ: обработка лука и моркови фактически не приводила к достоверному снижению количества энтеробактерий, в том числе БГКП, а обработка листовых салатов была более эффективной, так как позволяла снизить уровни энтеробактерий практически в 10 раз (в среднем на 0,96 lg).

Количество бактерий семейства *Enterobacteriaceae* в исследованных пробах готовой продукции (после вакуумирования) колебалось в пре-

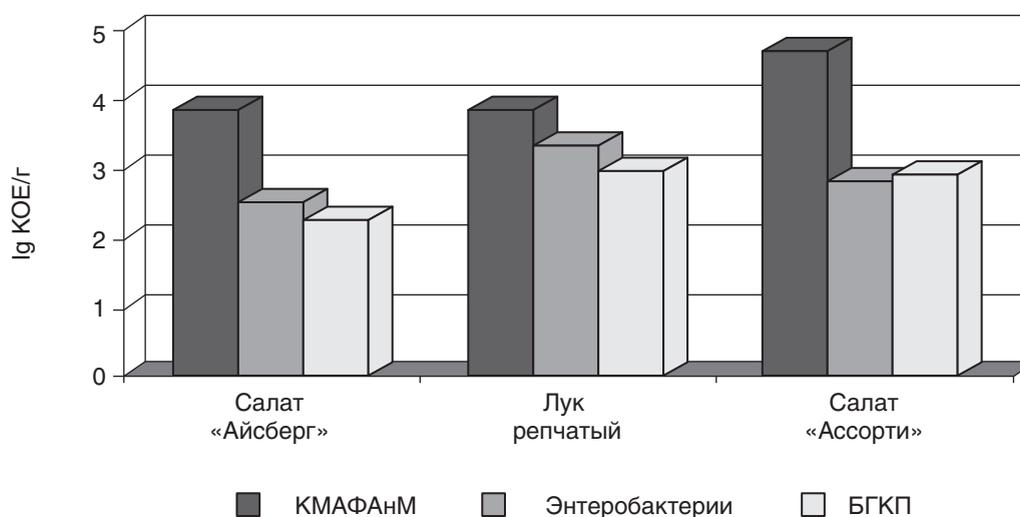


Рис. 2. Уровни микробной контаминации овощной продукции

делах от 100 КОЕ/г до 1×10^5 КОЕ/г и достигало высоких значений независимо от вида продукта; значения M для салатов «Айсберг», «Ассорти» и лука составили 2,51, 2,81 и 3,34 lg КОЕ/г соответственно.

По показателю количества колиформных бактерий большинство исследованных проб не отвечали требованиям, установленным для овощной и салатной продукции: при нормативе отсутствия БГКП в 0,01 г (менее 2,0 lg КОЕ/г) этим значениям соответствовали только 8 проб из 18 образцов (44,4%). Наиболее высокая степень загрязненности колиформами была выявлена при исследовании лука репчатого: в 5 пробах из 6 были обнаружены БГКП.

В целом анализ уровня загрязненности овощной и салатной продукции бактериями семейства *Enterobacteriaceae* показал, что их удельный вес в общей сумме микробных контаминантов достаточно высок. На рис. 2, иллюстрирующем сопоставление уровней контаминации готовых салатных смесей и лука репчатого по показателям КМАФАНМ, *Enterobacteriaceae* и БГКП, показано, что среднее содержание энтеробактерий находилось в пределах от 2,14 до 3,34 lg КОЕ/г, достигая в отдельных пробах значений 4,38–4,74 lg, сопоставимых с уровнем КМАФАНМ в тех же пробах.

Учитывая повсеместное возрастание рисков для здоровья, обусловленных потреблением сырой и минимально обработанной овощной продукции, загрязненной патогенными энтеробактериями [5–7], данные результаты свидетельствуют о необходимости ревизии применяемых технологических режимов обработки и мойки овощного сырья, в первую очередь о целесообразности подбора средств деконтаминации овощной продукции более эффективных в отношении микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae*.

Результаты исследований по показателям содержания бактерий семейства *Enterobacteriaceae* и БГКП упакованной под вакуумом салатной и овощной продукции в процессе хранения в двух вариантах (в контролируемых условиях и в процессе реализации) представлены в табл. 5.

В процессе хранения в течение 7 сут во всех видах овощной и салатной продукции наряду с повышением уровня общей микробной обсемененности (табл. 3) происходило и нарастание количества энтеробактерий. Усредненные по группам продукции результаты анализа контрольных проб на наличие *Enterobacteriaceae* (1 вариант хранения) представлены на рис. 3.

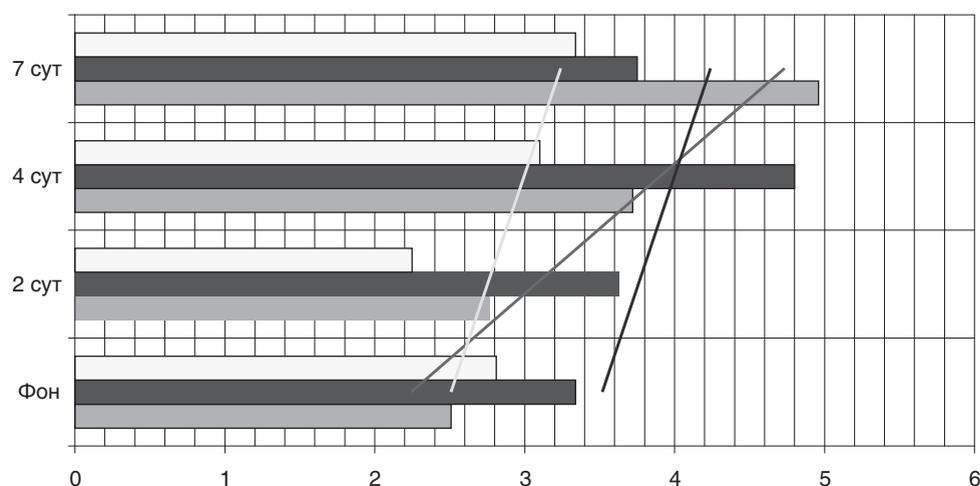
Полученные для колиформных бактерий результаты при их количественной оценке (выраженной в lg КОЕ/г) также достаточно четко совпадали с тенденцией нарастания общего микробного числа (рис. 4).

Микробиологический анализ образцов растительных продуктов, отобранных в процессе хранения на оптовом складе и в местах реализации, не выявил существенных различий с аналогичными пробами салатов и овощей, хранившихся в контролируемых лабораторных условиях как по абсолютным величинам контаминации кишечной микрофлорой на 2, 4 и 7-е сутки наблюдения, так и по значениям прироста этих показателей Δ lg КОЕ/г (рис. 5).

Таким образом, использованные технологии производства, упаковки и хранения свежих овощей, листовых салатов и их смесей не обеспечивают полную деконтаминацию и не предотвращают размножение микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae*, в том числе БГКП. Численность этих микроорганизмов после 2-суточного хранения увеличивалась в среднем на порядок как в лабора-

Таблица 5. Изменение содержания бактерий семейства *Enterobacteriaceae* в салатной и овощной продукции в процессе хранения (lg КОЕ/г)

Период хранения	Бактерии семейства <i>Enterobacteriaceae</i>		Бактерии группы кишечных палочек		Норматив
	в контролируемых условиях	при транспортировании, хранении на оптовом складе и в местах реализации	в контролируемых условиях	при транспортировании, хранении на оптовом складе и в местах реализации	
<i>Салат «Айсберг»</i>					
Фон	2,51±0,28		2,45±0,22		<2,0 (БГКП в 0,01 г не допускаются)
2 сут	2,77±0,12	2,99±0,51	3,44±0,26	2,48±0,28	
4 сут	3,72±0,50	2,99±0,12	3,91±0,17	3,57±0,43	
7 сут	4,96±0,49	2,53±0,27	5,00±0,32	3,23±0,03	
<i>Лук репчатый</i>					
Фон	3,34±0,17		2,98±0,23		<2,0
2 сут	3,63±0,24	4,13±0,29	3,25±0,48	2,73±0,40	
4 сут	4,80±0,21	3,36±0,70	3,70±0,87	3,53±0,84	
7 сут	3,75±1,16	4,58±0,31	3,54±0,40	4,34±0,10	
<i>Салат «Ассорти»</i>					
Фон	2,81±0,40		2,93±0,47		<2,0
2 сут	2,25±0,25	3,20±0,11	2,40±0,27	2,00±0,0	
4 сут	3,10±1,10	4,33±0,49	3,76±0,89	4,39±0,47	
7 сут	3,45±0,89	4,40±0,59	3,64±0,24	4,24±0,72	



	Фон	2 сут	4 сут	7 сут
□ Салат «Ассорти»	2,81	2,25	3,1	3,34
■ Лук репчатый	3,34	3,63	4,8	3,75
▒ Салат «Айсберг»	2,51	2,77	3,72	4,96

Рис. 3. Изменение количества энетеробактерий в процессе хранения овощной продукции в контролируемых условиях

торных, так и в промышленных условиях оптовых складов. По-видимому, этому способствует изначально высокий уровень загрязнения колиформами (55,6% проб непосредственно после выработки содержали более 100 КОЕ/г).

Выделенные в ходе исследований растительных продуктов энетеробактерии по комплексу морфологических и культурально-биохимических признаков были идентифицированы как аэробные

грамотрицательные микроорганизмы семейств *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadoceae* и соответствовали таксономическим характеристикам родов *Enterobacter*, *Pantoea*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Kluuvera*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Rahnella*, *Acinetobacter*, то есть наряду с колиформами из данной продукции выделяли представителей других групп энетеробактерий, в том числе не ферментирующих лактозу.

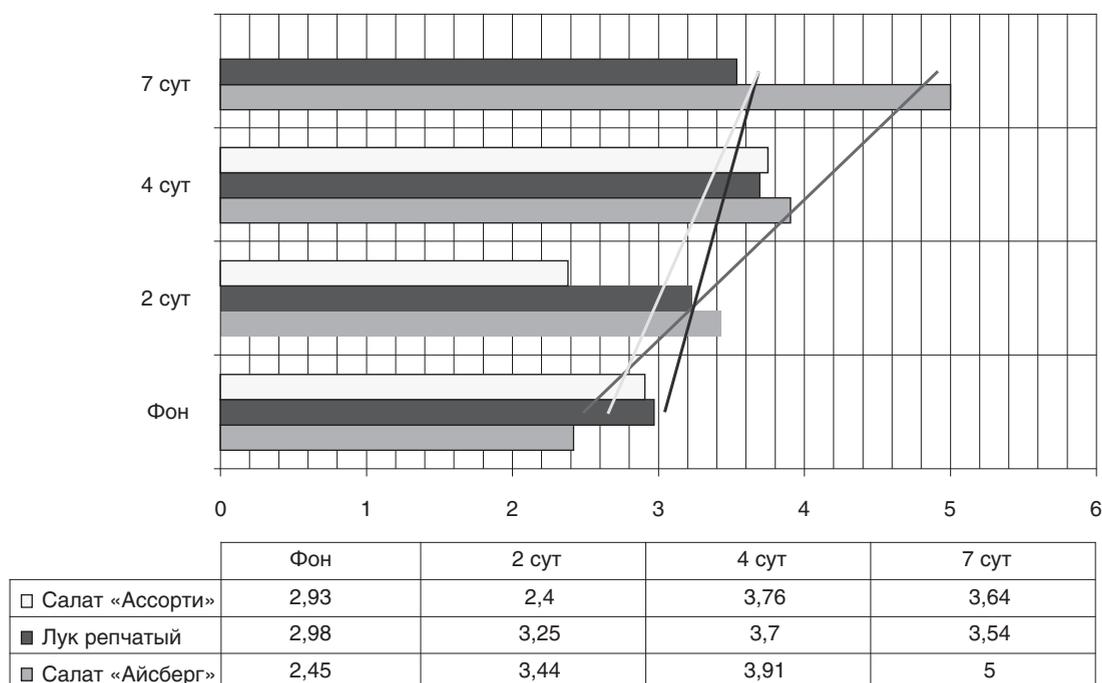


Рис. 4. Изменение количества БГКП в процессе хранения овощной продукции в контролируемых условиях

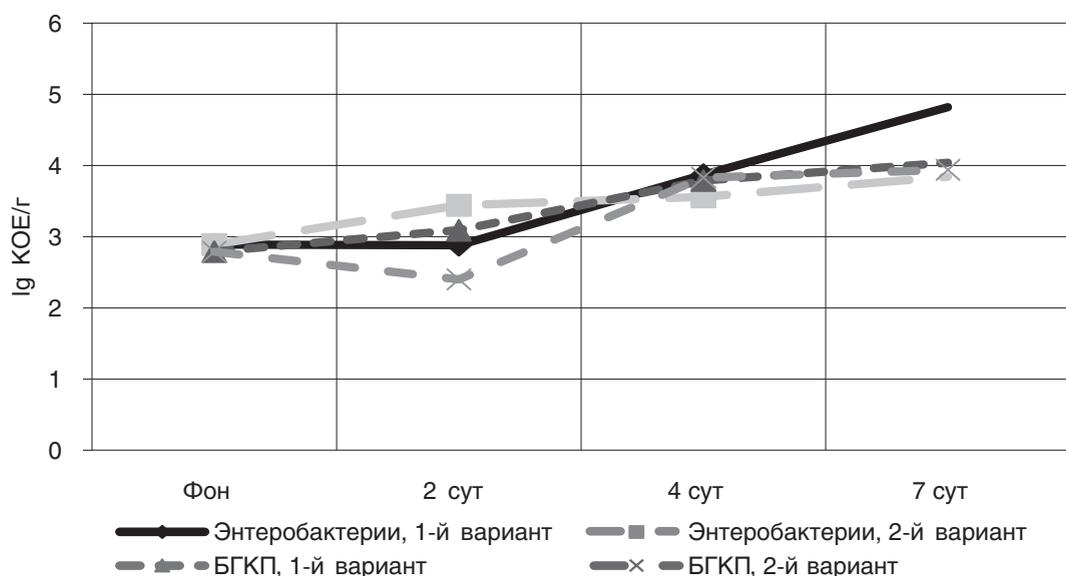


Рис. 5. Изменение общего количества энтеробактерий и числа БГКП в 2 вариантах хранения овощной продукции

Наиболее часто в салатах и овощах обнаруживались бактерии рода *Pantoea* – 25% культур и колиформные *Enterobacter cloacae* – 21,6%. Достаточно широко были представлены и другие виды условно-патогенных колиформных бактерий, такие как *S. freundii* (10,2%), *E. aerogenes* (6,8%) и *E. vulneris* (5,7%). Бактерии рода *Pseudomonas* выявлялись в 9,1% образцов. Бактерии *Escherichia coli* были обнаружены в 1 пробе смеси листовых салатов после обработки гипохлоритом (в 0,1 г продукта, частота их обнаружения в данном исследовании составила 0,75%). Однако обращает на себя внимание

факт выделения *E. coli* из салатов после обработки гипохлоритом, поскольку, как правило, высокой устойчивостью в окружающей среде отличаются эшерихии, обладающие факторами патогенности.

В целом полученные данные о характере микробной контаминации овощной и салатной продукции свидетельствуют не только о необходимости контроля группы колиформных бактерий, являющихся традиционно индикатором фекального загрязнения сырья, но и о целесообразности нормирования всей группы *Enterobacteriaceae*, многие представители которой, относящиеся к условно-

патогенным и патогенным видам бактерий, обладают способностью длительного вегетирования в растительных экосистемах.

Результаты проведенных исследований послужили обоснованием разработки проекта Дополнений в Технический регламент Таможенного союза «О безопасности пищевой продукции». В проекте устанавливаются требования безопасности по микробиологическим показателям для новой группы пищевой

продукции – овощей и салатов свежих охлажденных промышленного производства, упакованных в полимерные пленки и готовых к употреблению. Данным документом для овощной и салатной продукции свежей промышленного производства в герметичной упаковке предусмотрено введение новых показателей безопасности – нормативов отсутствия *E. coli* в 1 г продукта и количества бактерий семейства *Enterobacteriaceae* взамен БГКП.

Сведения об авторах

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

E-mail: karlikanova@ion.ru

Быкова Ирина Борисовна – научный сотрудник лаборатории биобезопасности и анализа нутримикробиома ФГБНУ «НИИ питания» (Москва)

E-mail: bykova@ion.ru

Батищева Светлана Юрьевна – научный сотрудник лаборатории биобезопасности и анализа нутримикробиома ФГБНУ «НИИ питания» (Москва)

E-mail: batisheva@ion.ru

Минаева Людмила Павловна – кандидат технических наук, старший научный сотрудник лаборатории биобезопасности и анализа нутримикробиома ФГБНУ «НИИ питания» (Москва)

E-mail: Liuminaeva-ion@mail.ru

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

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

Короткевич Юлия Владимировна – младший научный сотрудник лаборатории биобезопасности и анализа нутримикробиома ФГБНУ «НИИ питания» (Москва)

E-mail: ulya_korotkevich@mail.ru

Шилов Гурий Юрьевич – кандидат технических наук, заместитель директора ЗАО «Белая Дача Трейдинг» (Московская область, Котельники)

E-mail: guriy81@mail.ru

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

E-mail: sheveleva@ion.ru

Литература

- ГОСТ ISO 7218-2011 «Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям».
- ГОСТ 26669-85 «Продукты пищевые и вкусовые. Подготовка проб для микробиологических анализов».
- ГОСТ 10444.15 «Продукты пищевые. Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов».
- ГОСТ Р 54005-2010 «Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий семейства Enterobacteriaceae».
- Ефимочкина Н.Р.* Микробиология пищевых продуктов и современные методы детекции патогенов. – М.: Издательство РАМН, 2013. – 517 с.
- Ефимочкина Н.Р., Шевелева С.А., Куваева И.Б. и др.* Индикация и серологический скрининг условно-патогенных энтеробактерий, выделенных из продуктов питания и объектов внешней среды // *Вопр. питания.* – 2002. – № 6. – С. 29–34.
- Шевелева С.А.* Микробиологическая безопасность пищевых продуктов и факторы окружающей среды // *Вестн. РАМН.* – 2006. – № 5. – С. 56–62.
- Breidt F., Caldwell J.M.* Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in cucumber fermentation brines // *J. Food Sci.* – 2011. – Vol. 76, N 3. – P. 198–203.
- Cruz A.T., Cazacu A.C., Allen C.H.* *Pantoea agglomerans*, a plant pathogen causing human disease // *J. Clin. Microbiol.* – 2007. – Vol. 45, N 6. – P. 1989–1992.
- Curran B. et al.* Commercial mushrooms and bean sprouts are a source of *Pseudomonas aeruginosa* // *J. Clin. Microbiol.* – 2005. – Vol. 43. – P. 5830.
- EFSA Panel on Biological Hazards. Scientific Opinion on the risk posed by Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and other pathogenic bacteria in seeds and sprouted seeds // *EFSA J.* – 2011. – Vol. 9, N 11. – P. 2424–2524.
- Frank C. et al.* Epidemic profile of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 outbreak in Germany – preliminary report // *N. Engl. J. Med.* – 2011 [e-pub, цит. по <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1106483>].
- Gorny J.R.* Microbial contamination of fresh fruits and vegetables // *Microbiology of Fruits and Vegetables* / Eds J.M. Sapers, J.R. Gorny, A.E. Yousef. – Boca Raton, FL: CRC Press, 2006. – P. 3.

14. Januszkiewicz A., Szych J., Rastawicki W. et al. Molecular epidemiology of shiga-toxin producing *Escherichia coli* household outbreak in Poland due to secondary transmission of STEC O104:H4 from Germany // *J. Med. Microbiol.* – 2011. – Vol. 60, Pt 12. – P. 1717–1881.
15. Monecke S., Mariani-Kurkdjian P., Bingen E. et al. Presence of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* ST678/O104:H4 in France Prior to 2011 // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2011. – Vol. 77, N 24. – P. 8784–8786.
16. Moosekian S.R., Jeongb S., Ryser E.T. Inactivation of sanitizer-injured *Escherichia coli* O157:H7 on baby spinach using X-ray irradiation // *Food Control.* – 2014. – Vol. 36, Issue 1. – P. 243–247.
17. Mossel D.A.A., van Nhtten P. Microbiological reference values for foods: a European perspective // *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* – 1991. – Vol. 74, N 2.
18. Rangel J.M., Sparling P.H., Crowe C. et al. Epidemiology of *Escherichia coli* O157:H7 Outbreaks, United States, 1982–2002. *CDC // Emerg. Infect. Dis.* – 2005. – Vol. 11, N 4. – P. 603–609.
19. Shah D.H., Shringri S., Besser T.E., Call D.R. *Escherichia // Molecular Detection of Foodborne Pathogens / Ed. L. Dongyou. – USA etc.: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2010. – 879 p.*
20. Tauxe R.V. Emerging foodborne diseases: An evolving public health challenge // *Emerg. Infect. Dis.* – 1997. – Vol. 3, N 4.

References

1. National Standard ISO 7218-2011 Microbiology of foods and animal feed. General requirements and guide for microbiological research.
2. National Standard 26669-85 Food-stuffs and food additives. Preparation of samples for microbiological analyses/
3. National Standard 10444.15 Food products. Methods for determination quantity of mesophilic aerobes and facultative anaerobes.
4. National Standard P 54005-2010 Food products. Methods for detection and quantity determination of family Enterobacteriaceae.
5. Efimochkina N.R. Food microbiology and modern methods of detection of foodborne pathogens. – Moscow: Publishing House of Russian Academy of Medical Sciences, 2013. – 517 p.
6. Efimochkina N.R., Sheveleva S.A., Kuvaeva I.B. et al. Detection and serological screening of the enterobacteria isolated from food products and the environment // *Vopr. Pitaniia.* – 2002. – Vol. 71, N 6. – P. 29–34.
7. Sheveleva S.A. Microbiological food safety and environmental factors // *Vestn. Ross. Akad. Med. Nauk.* – 2006. – N 5. – P. 56–62.
8. Breidt F., Caldwell J.M. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in cucumber fermentation brines // *J. Food Sci.* – 2011. – Vol. 76, N 3. – P. 198–203.
9. Cruz A.T., Cazacu A.C., Allen C.H. *Pantoea agglomerans*, a plant pathogen causing human disease // *J. Clin. Microbiol.* – 2007. – Vol. 45, N 6. – P. 1989–1992.
10. Curran B. et al. Commercial mushrooms and bean sprouts are a source of *Pseudomonas aeruginosa* // *J. Clin. Microbiol.* – 2005. – Vol. 43. – P. 5830.
11. EFSA Panel on Biological Hazards. Scientific Opinion on the risk posed by Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and other pathogenic bacteria in seeds and sprouted seeds // *EFSA J.* – 2011. – Vol. 9, N 11. – P. 2424–2524.
12. Frank C. et al. Epidemic profile of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 outbreak in Germany – preliminary report // *N. Engl. J. Med.* – 2011 [e-pub, цит. по <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1106483>].
13. Gorny J.R. Microbial contamination of fresh fruits and vegetables // *Microbiology of Fruits and Vegetables / Eds J.M. Sapers, J.R. Gorny, A.E. Yousef. – Boca Raton, FL: CRC Press, 2006. – P. 3.*
14. Januszkiewicz A., Szych J., Rastawicki W. et al. Molecular epidemiology of shiga-toxin producing *Escherichia coli* household outbreak in Poland due to secondary transmission of STEC O104:H4 from Germany // *J. Med. Microbiol.* – 2011. – Vol. 60, Pt 12. – P. 1717–1881.
15. Monecke S., Mariani-Kurkdjian P., Bingen E. et al. Presence of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* ST678/O104:H4 in France Prior to 2011 // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2011. – Vol. 77, N 24. – P. 8784–8786.
16. Moosekian S.R., Jeongb S., Ryser E.T. Inactivation of sanitizer-injured *Escherichia coli* O157:H7 on baby spinach using X-ray irradiation // *Food Control.* – 2014. – Vol. 36, Issue 1. – P. 243–247.
17. Mossel D.A.A., van Nhtten P. Microbiological reference values for foods: a European perspective // *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* – 1991. – Vol. 74, N 2.
18. Rangel J.M., Sparling P.H., Crowe C. et al. Epidemiology of *Escherichia coli* O157:H7 Outbreaks, United States, 1982–2002. *CDC // Emerg. Infect. Dis.* – 2005. – Vol. 11, N 4. – P. 603–609.
19. Shah D.H., Shringri S., Besser T.E., Call D.R. *Escherichia // Molecular Detection of Foodborne Pathogens / Ed. L. Dongyou. – USA etc.: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2010. – 879 p.*
20. Tauxe R.V. Emerging foodborne diseases: An evolving public health challenge // *Emerg. Infect. Dis.* – 1997. – Vol. 3, N 4.

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

А.А. Басов¹, И.М. Быков¹, М.Г. Барышев², С.С. Джимаков^{2, 3}, М.И. Быков¹

Концентрация дейтерия в пищевых продуктах и влияние воды с модифицированным изотопным составом на показатели свободнорадикального окисления и содержание тяжелых изотопов водорода у экспериментальных животных

Determination of deuterium concentration in foods and influence of water with modified isotopic composition on oxidation parameters and heavy hydrogen isotopes content in experimental animals

A.A. Basov¹, I.M. Bykov¹, M.G. Baryshev², S.S. Dzhimak^{2, 3}, M.I. Bykov¹

- ¹ ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Краснодар
- ² ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный университет», Краснодар
- ³ ФГБУН «Южный научный центр» РАН, Ростов-на-Дону
- ¹ Kuban State Medical University, Krasnodar
- ² Kuban State University, Krasnodar
- ³ Southern Scientific Center, Rostov-on-Don

В статье представлены результаты исследования содержания дейтерия (D) в пищевых продуктах, а также влияния воды с модифицированным изотопным составом со сниженным содержанием дейтерия (ВМИС ССД) на концентрацию тяжелых изотопов водорода в крови и лиофилизированных тканях крыс. Наиболее существенное различие в содержании D выявлено при изучении образцов картофеля и свиного жира, у которых показатели стандартного дельта-обозначения (δD) в промилле, привязанные к международному стандарту SMOW (Standard Mean Ocean Water), составили соответственно $-83,2\%$ и $-250,7\%$ ($p < 0,05$). Среди исследованных образцов воды концентрация D колебалась от $-75,5\%$ («Нарзан») до $+72,1\%$ («Кубай»), что свидетельствует о способности ряда пищевых продуктов увеличивать содержание тяжелых атомов водорода в организме. При экспериментальном моделировании пищевого рациона крыс-самцов линии Вистар в возрасте 5–6 мес (масса тела 235 ± 16 г) путем использования ВМИС ССД ($\delta D = -743,2\%$) вместо питьевой воды ($\delta D = -37,0\%$) с идентичным минеральным составом показано, что через 2 нед возможно достоверное ($p < 0,05$) формирование изотопного (дейтерий-протий, D/H) гради-

ента в организме. Изменения направленности изотопного D/H градиента у лабораторных животных в сравнении с его физиологическими показателями (72–127‰, «плазма»>>«ткани») обусловлено различной скоростью реакций изотопного обмена в плазме крови и тканях (печени, почки, сердца), что объясняется поступлением в составе модифицированного пищевого рациона органических субстратов с большей, чем у ВМИС ССД, концентрацией D, которые участвуют в построении клеточных структур и приводят в итоге к перераспределению D и смене направленности D/H градиента «плазма»<<«ткани» от 87,29‰ (плазма–почка) до 188,72‰ (плазма–сердце), что сопровождается изменением адаптационных возможностей организма. Подобное применение пищевых веществ с модифицированным изотопным составом, направленным на уменьшение содержания тяжелых нерадиоактивных атомов, позволит проводить целенаправленную нутриционную коррекцию прооксидантно-антиоксидантного статуса у населения в регионах с неблагоприятной экологической обстановкой, стимулируя работу цитопротективных механизмов за счет создаваемого изотопного D/H градиента, который оказывает влияние на различные компоненты системы неспецифической защиты, включая процессы свободнорадикального окисления. Кроме того, периодическая оценка изотопного состава нутриентов позволит осуществлять мониторинг качества потребляемых населением пищевых продуктов, а при необходимости производить определение географической локации их происхождения.

Ключевые слова: дейтерий, пищевые продукты, вода со сниженным содержанием дейтерия, хемилюминесценция, лиофилизированные ткани, крысы

The article presents the results of the study of the deuterium (D) content in food products, as well as the influence of deuterium depleted water (DDW) on the concentration of heavy hydrogen isotopes in the blood and lyophilized tissues of rats. The most significant difference in the content of D was found between potato and pork fat, which indexes the standard delta notation (δ) D in promille, related to the international standard SMOW (Standard Mean Ocean of Water) amounted to -83,2‰ and -250,7‰, respectively ($p < 0,05$). Among the investigated samples of water deuterium concentration ranged from -75,5‰ (Narzan) to +72,1‰ (Kubai), that indicates the ability of some food products to increase the concentration of heavy hydrogen atoms in the body. The data obtained in the experimental modeling of the diet of male Wistar rats in the age of 5–6 mo (weight 235 ± 16 g) using DDW ($\delta D = -743,2$ ‰) instead of drinking water ($\delta D = -37,0$ ‰) with identical mineral composition showed that after 2 weeks significant ($p < 0,05$) formation of isotopic (deuterium-protium, D/H) gradient in the body is possible. Changing the direction of isotopic D/H gradient in laboratory animals in comparison with its physiological indicators (72–127‰, «plasma»>>«tissue») is due to different rates of isotopic exchange reactions in plasma and tissues (liver, kidney, heart), which can be explained by entering into the composition of a modified diet of organic substrates with more than DDW concentration D, which are involved in the construction of cellular structures and eventually lead to a redistribution of D and change direction of D/H gradient «plasma»<<«tissue» from 87,29‰ (plasma–kidney) to 188,72‰ (plasma–heart), which can be explained by a change in the adaptation of the body. This use of nutrients with modified isotopic composition, aimed at reducing the level of heavy non-radioactive atoms will allow the targeted nutritional correction of prooxidant-antioxidant status of the population in areas with adverse environmental conditions, stimulating by created isotopic D/H gradient cytoprotective mechanisms influencing the various components of nonspecific protection, including free radical oxidation processes. And then again, periodic assessment of the isotopic composition of nutrients will monitor the quality of food consumed by the population, and if necessary, to the definition of the geographical location of their origin.

Key words: deuterium, food products, deuterium depleted water, chemiluminescence, lyophilized tissue, rats

Изучение распространенности изотопов различных химических элементов в биосистемах представляет собой одну из актуальных проблем современной биологии и медицины, что связано со способностью более тяжелых атомов существенно влиять на скорость метаболических процессов в живых организмах, а следовательно, изменять их адаптационные возможности и выживаемость в меняющихся условиях внешней среды [6, 19, 22]. Одним из ключевых механизмов, приводящих к увеличению количества тяжелых изотопов в организме в результате усиления реакций изотопного обмена, является их поступление в составе пищевого рациона, что связано с различной сте-

пенью кумуляции тяжелых атомов в пищевых продуктах в зависимости от их химического состава. Этим объясняется также возможность проведения корректирующих мероприятий по изменению процентного содержания тяжелых изотопов *in vivo* при введении в пищевой рацион продуктов с модифицированным изотопным составом. Подобные возможности появились в связи с развитием технологий получения пищевых веществ с заданным соотношением легких и тяжелых изотопов [12, 24].

Известно, что самым распространенным тяжелым изотопом в биообъектах является дейтерий (D), количество которого в плазме крови в несколько раз превышает показатели калия, кальция,

магния и намного больше содержания многих микроэлементов (фтора, йода, меди, марганца и кобальта). В работе [7] было показано, что в плазме крови человека концентрация D выше, чем в принимаемой им питьевой воде, являющейся основным источником тяжелых изотопов водорода, однако, поскольку последний входит в состав не только воды, но и органических молекул, из которых состоят белки, жиры и углеводы, можно предположить, что колебания содержания D в тканях обусловлены составом пищевого рациона в целом. Вода с модифицированным изотопным составом со сниженным содержанием дейтерия (ВМИС ССД) – изотополог воды $^1\text{H}_2^{16}\text{O}$, образованный легкими стабильными изотопами входящих в его состав элементов, содержание которого в природной воде составляет 99,73–99,76 мол.% (молекулярных процента). Как моноизотопная композиция $^1\text{H}_2^{16}\text{O}$ является предельным случаем изотопной чистоты, которой в естественных условиях не существует. Для ее получения ведут тонкую многостадийную очистку природных вод или синтезируют из исходных элементов $^1\text{H}_2$ и ^{16}O . В то же время природная вода представляет собой многокомпонентную смесь изотопологов, где на 10^6 молекул воды в среднем содержится 311 молекул $^1\text{H}_2^{16}\text{O}$. Весовые количества изотопологов в природной воде рассчитаны на основании данных прямого определения их содержания методом молекулярной спектроскопии [20]. Концентрация молекул воды, содержащих тяжелые изотопы водорода, в природной воде колеблется в пределах, зафиксированных в основном международном стандарте изотопного состава гидросферы – SMOW, который определен по изотопному составу глубинной воды Мирового океана, и содержание дейтерия у него в соответствии с показателями стандартного дельта-обозначения (δD , в промилле) составляет 0,0‰. При этом положительная величина отклонения характеризует обогащение анализируемого образца тяжелыми изотопами (D) по отношению к стандарту, а отрицательная указывает на обогащение анализируемого образца легкими изотопами (протий, H).

Все возрастающий интерес медико-биологической научной общественности к соотношению изотопов водорода объясняется рядом биологических эффектов, которые наблюдаются при изменении соотношения D и H в организме. ВМИС ССД может изменять скорость деления различных клеточных культур [10, 13, 16, 23], в том числе регулируя апоптоз. Согласно данным литературы, такие воздействия сопровождаются повышением адаптивных возможностей и структурными перестройками иммунных органов (тимуса и селезенки) у экспериментальных животных [5, 14], в том числе было показано, что ВМИС ССД обладает радиопротекторными свойствами [9]. В ряде работ

продемонстрировано ее влияние на состояние прооксидантно-антиоксидантной системы крови в физиологических условиях и при моделировании патологических процессов [2, 18]. Однако, несмотря на столь широкое внимание ученых разных стран к уникальным свойствам ВМИС ССД, до сих пор нет единого мнения о механизмах ее влияния на биологические объекты.

Принимая во внимание все вышеизложенное, **целью** исследования являлось изучение изотопного состава некоторых пищевых продуктов, а также оценка влияния ВМИС ССД на показатели свободнорадикального окисления (СРО) и концентрацию тяжелых атомов водорода в плазме крови и тканях печени, почки и сердца в эксперименте на лабораторных животных.

Материал и методы

Объектом исследования были пищевые продукты, а также кровь и лиофилизированные внутренние органы (печень, почки, сердце) 20 крыс-самцов линии Вистар в возрасте 5–6 мес (масса тела 235 ± 16 г, колебание массы тела по группе ± 12 г). Исследуемые пищевые продукты и воду приобретали в оптово-розничной сети г. Краснодара. Для определения изотопного состава продуктов питания и лиофилизированных органов брали органический образец массой от 0,5 до 3 мг, что связано с различной плотностью образцов, который далее высушивали сублимацией в соответствии с методом [15], после чего отбирали 50 ± 10 мкг вещества для анализа и проводили изучение его изотопного состава с использованием масс-спектрометра «DELTAplus», снабженного периферийным устройством для пробоподготовки к изотопному анализу водорода «H/Device» («Finnigan», Германия) по методике [25] в собственной модификации [12].

ВМИС ССД получали на установке, разработанной в Кубанском государственном университете, исходный показатель δD в получаемой воде составлял (-743,2‰), минерализацию полученной воды производили путем добавления минеральных солей для получения физиологически полноценного минерального состава питьевой воды (минерализация 314–382 мг/л: гидрокарбонаты 144–180 мг, сульфаты менее 1 мг, хлориды 60–76 мг, кальций 6 мг, магний 3 мг, натрий 50–58 мг, калий 50–58 мг). Минеральный состав ВМИС ССД ($\delta\text{D} = -743,2\text{‰}$) и воды ($\delta\text{D} = -37,0\text{‰}$) был идентичен.

Определение концентрации дейтерия в воде и плазме крови было проведено с помощью спектрометра ядерного магнитного резонанса (ЯМР) «JEOL JNM-ECA» 400MHz («Jeol», Япония), по методике [1] на базе Центра коллективного

пользования «Диагностика структуры и свойств наноматериалов» ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный университет» (г. Краснодар), при финансовой поддержке гранта Президента РФ для государственной поддержки молодых российских ученых МК-1568.2014.4.

Изучение влияния ВМИС ССД на изотопный состав плазмы крови и тканей, а также оценку интенсивности СРО проводили на крысах, которые были разделены на 2 группы: животные 1-й группы (опытная группа, $n=10$) в течение 2 нед получали виварный рацион и ВМИС ССД (-743,2‰), 2-й группы (интактная группа, $n=10$) – виварный рацион и минерализованную питьевую воду (-37,0‰). Все животные содержались в виварии при сходных условиях в отношении температуры, влажности, освещения.

Для оценки интенсивности СРО в плазме крови был использован метод люминол-зависимой H_2O_2 -индуцированной хемилюминесценции, максимум вспышки хемилюминесценции (МВХЛ) измеряли на хемилюминотестере ЛТ-01 («Норос», Joint Venture Soviet-Swedish Company, РФ) по методике [4], результаты выражали в виде МВХЛ в условных единицах (усл. ед.). Измерение уровня свободных радикалов в гомогенатах тканей (печени, почки и сердца) проводили с помощью электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) на спектрометре «JES Fa 300» («JEOL», Япония) в X-диапазоне (СВЧ мощность 1 мВт, частота микроволнового излучения 9144 МГц, амплитуда высокочастотной модуляции 0,1 мТл), образцы тканей предварительно подвергали лиофилизации (в лиофильной сушилке «ЛС-1000» («Проинтех», РФ), концентрацию парамагнитных центров (ПМЦ) в пересчете на 1 г образца (ПМЦ/г) определяли путем сравнения с сигналом стандартного образца (TEMPO) по методу [12]. Исследование проводили в рамках задания Министерства образования и науки РФ (проект № 1269).

Статистическую обработку полученных данных осуществляли методами вариационной статистики с использованием свободного программного обеспечения – системы статистического анализа R (R Development Core Team, 2008). Оценку достоверности найденных отличий средних величин (M) между группами проводили с помощью непараметрического U -критерия Манна–Уитни (для независимых групп, достоверным считали различие при $p<0,05$).

Результаты и обсуждение

Содержание D в воде, поступающей в водопроводную сеть г. Краснодара, составило -35,7‰, т.е. было несколько ниже международного стан-

дарта изотопного состава гидросферы SMOW, что позволяет говорить об отсутствии антропогенного загрязнения ее тяжелыми изотопами водорода и невозможности избыточного поступления дейтерия в организм при употреблении такой воды населением.

При анализе данных о содержании D в пищевых продуктах (табл. 1) выявлено его существенное отличие от содержания в водопроводной воде, особенно в свином и говяжьем жире, сливочном масле, концентрация D в которых была меньше на 22,3, 19,1 и 16,5% соответственно ($p<0,05$). Менее значимые различия отмечены при изучении мясных продуктов: с концентрацией D на 7,9–8,6% ниже, чем у воды в этом регионе. В свою очередь данные по содержанию D в овощах и зерне были меньше показателей водопроводной воды лишь на 5,1–5,8%. При оценке содержания D в дистиллированной и бидистиллированной воде, полученных из водопроводной воды, не было найдено статистически значимых отличий в сравнении с уровнем D в последней (табл. 2), тогда как в некоторой бутилированной воде содержание D значительно отличалось. При этом в ряде проб выявлено превышение стандарта SMOW на 0,8–7,2%, что может приводить к избыточному поступлению D в организм при употреблении такой воды населением.

В то же время среди бутилированных образцов воды отмечено и заметно меньшее содержание D в сравнении со стандартом SMOW (см. табл. 2): наиболее значимо отличалась вода «Нарзан», показатели D в которой были ниже значения SMOW на 7,6%, а в сравнении с водопроводной водой на 4,1%, что говорит о целесообразности ее применения в пищевом рационе с целью снижения содержания тяжелых изотопов водорода в организме. Актуальность этого вопроса обусловлена тем, что одной из важных задач Концепции здорового питания населения Российской Федерации является формирование региональных программ здорового питания [11], в том числе учитывающих распределение тяжелых изотопов в пищевых продуктах, особенно в регионах с неблагоприятной экологической обстановкой, что позволило бы уменьшить воздействие неблагоприятных факторов на организм человека.

Кроме того, полученные результаты позволяют проводить не только сравнительную оценку изотопной нагрузки по D/H у населения при формировании пищевого рациона, но и учитывать перемещение людей в различных регионах, что возможно использовать в судебно-медицинских исследованиях. Так, в исследовании, проведенном в 2 регионах США – East Greenbush (New York) и Fairbanks (Alaska), – было показано, что содержание D в волосном покрове и моче коррелирует с его содержанием в пищевом рационе [17]. Причем при перемещении человека между регионами

Таблица 1. Содержание дейтерия в некоторых пищевых продуктах растительного и животного происхождения

Продукт растительного происхождения	$\delta D, \text{‰}$	Продукт животного происхождения	$\delta D, \text{‰}$
Морковь	-87,2±2,9#	Мясо свиньи	-113,7±2,2#
Капуста	-84,8±3,6#	Говяжье мясо	-115,4±1,6#
Картофель	-82,9±0,7#	Куриное мясо	-119,8±0,9#
Зерно пшеницы	-85,1±2,5#	Свиной жир	-250,4±3,7#
Зерно овса	-92,3±1,4#	Говяжий жир	-219,8±2,1#
		Масло сливочное	-195,2±3,0#

Примечание. Здесь и в табл. 2: # – достоверность различий ($p < 0,05$) в сравнении с показателями водопроводной воды (-35,7±0,9‰).

Таблица 2. Содержание дейтерия в различных образцах воды

Вода	$\delta D, \text{‰}$	Вода	$\delta D, \text{‰}$	Вода	$\delta D, \text{‰}$
Водопроводная вода	-35,7±0,9	«Эссентуки №4»	-24,2±1,6	«Архыз»	1,52±0,9 #
Дистиллированная вода	-35,1±0,8	«Джермук»	-23,5±1,1	Vittel	7,94±0,9 #
Бидистиллированная вода	-36,4±1,3	«Пилигрим»	-4,3±1,1 #	Evian	-4,9±0,5 #
«Горячий ключ», скважина 934	-17,7±0,8 #	«Нарзан»	-75,5±0,6 #	Aqua Minerale	-43,4±1,2 #
«Серебряный источник»	-15,0±0,7 #	«Меркурий»	-62,7±1,8 #	Miniliya	20,8±0,7 #
«Горячий ключ Арома-юг»	-24,2±1,4	«Кубай»	72,1±0,6 #	Bonaqua	-30,6±0,8

Таблица 3. Содержание дейтерия в плазме крови и лиофилизированных органах экспериментальных животных (на 14-е сутки эксперимента, $M \pm m$)

Биологический материал	$\delta D, \text{‰}$	
	1-я группа	2-я группа
Плазма крови	-370,81±7,70*	-10,68 ±3,85
Печень	-206,48±3,22*	-82,59±4,46
Почка	-283,52±2,57*	-137,79±3,71
Сердце	-182,09±4,51*	-97,35±5,78

Примечание. * – достоверность отличий ($p < 0,05$) от показателя интактной 2-й группы.

концентрация D в моче изменяется в соответствии с его концентрацией в пищевом рационе. Авторы предлагали использовать подобные исследования для учета географических перемещений человека. Аналогичные подходы применимы и в биологии для учета географической локации и миграции различных представителей фауны.

Изучение влияния ВМИС ССД на изотопный состав плазмы крови и тканей в эксперименте *in vivo* показало, что при ее использовании происходит выраженное в различной степени снижение концентрации D во всех органах. В опытной группе наиболее существенное изменение уровня D характерно для почки, который через 2 нед эксперимента был на 10,8% ниже содержания D в печени и на 14,2% меньше показателей D в сердце (табл. 3). Еще более значительное понижение концентрации D наблюдалось в плазме крови, что сопровождалось сменой направленности изотопного D/H градиента («плазма»>ткани»

на «плазма<<ткани»). Описанные изменения обусловлены низкой скоростью обмена дейтерия на протий в тканях: в углерод-водородных связях (R_3C-D) в составе органических субстратов, не имеющих атомов с неподеленной электронной парой, т.е. неспособных образовывать в отличие от гидроксильных ($-O-H$), сульфгидрильных ($-S-H$), первичных ($-NH_2$) и вторичных ($=N-H$) аминокрупп комплексы с водородными связями, которые могут быстро обмениваться атомами D при поступлении с водой преимущественно протия в составе пищевого рациона.

Наблюдающиеся изменения изотопного состава тканей вызывают неспецифические изменения в метаболической и функциональной активности защитных систем, связанные, по-видимому, с субстрессовым воздействием изотопного D/H градиента, в том числе на отдельные звенья иммунной и прооксидантно-антиоксидантной систем. Так, при формировании изотопного

градиента на 14-е сутки эксперимента у крыс 1-й опытной группы наблюдалось повышение уровня хемилюминесценции в плазме крови на 4,3% при сравнении с показателями у интактных животных 2-й контрольной группы [МВХЛ₍₁₎=2,109±0,089 усл.ед., МВХЛ₍₂₎=2,021±0,057 усл.ед., $p=0,049$] и увеличение СРО в лиофилизированной почке на 6,5%, что отражало повышение количества ПМЦ в пересчете на 1 г ткани при сравнении с показателями интактной группы [ЭПР_{почки (1)}=833,91±16,95 ПМЦ/г, ЭПР_{почки (2)}=782,56±34,92 ПМЦ/г, $p=0,028$], тогда как в лиофилизированных печени и сердце отмечена тенденция к повышению уровня ПМЦ, но достоверных изменений в сравнении с показателями интактной группы не выявлено [ЭПР_{печени (1)}=1683,07±37,26 ПМЦ/г, ЭПР_{печени (2)}=1603,71±94,20 ПМЦ/г, $p=0,070$; ЭПР_{сердца (1)}=4316,38±189,63 ПМЦ/г, ЭПР_{сердца (2)}=3850,62±138,92 ПМЦ/г, $p=0,096$].

Это может подтверждать рассуждения некоторых авторов о механизмах активации иммунной системы организма посредством воздействия ВМИС ССД на кинетику реакции генерации H₂O₂ изолированными митохондриями [8], при этом ими установлено, что снижение концентрации D относительно природного уровня приводит к достоверному ускорению исследованной реакции. В других исследованиях показано, что различные метаболические процессы приводят к фракционированию изотопов водорода и углерода в разной степени [21], а следовательно, изменяют термодинамические характеристики макромолекул и кинетику ферментативных процессов.

В целом полученные результаты указывают на возможность нутриционной коррекции изотопного обмена в плазме крови и тканях с помощью продуктов с модифицированным изотопным составом, а также перспективность использования диетотерапии с повышенным показателем соотношения легких изотопов к тяжелым изотопам при дисбалансе в работе прооксидантно-антиоксидантной и других защитных систем организма [3, 10].

Заключение

На основании выполненных исследований необходимо отметить, что концентрация D в пищевых продуктах существенно различается. Наибольшие уровни D отмечены у некоторых образцов бутилированной воды («Кубай», Miniliya), которые на 5,9–11,2% превышали показатели D в водопроводной воде, потребляемой населением в регионе, в то время как наименьшие показатели содержания D установлены для воды марки «Нарзан» (-75,5‰), что позволяет использовать последнюю для коррекции изотопного состава пищевого рациона у населения в экологически неблагоприятных по содержанию тяжелых атомов водорода областях. Среди других пищевых продуктов наиболее низкое содержание D отмечено в свином и говяжьем жире, сливочном масле, что объясняется преобладанием углерод-водородных связей в их составе, неспособных обмениваться в реакциях изотопного обмена D и протием.

Применение ВМИС ССД (особенно с показателем $\delta D \leq -743,2\text{‰}$) позволяет в течение достаточно короткого времени проводить изменение направленности изотопного градиента по содержанию D в плазме крови и органах, что сопровождается умеренной стимуляцией процессов СРО в почках и повышением МВХЛ в плазме, отражающего активацию функционирования прооксидантной системы организма. Поэтому можно использовать ВМИС ССД с профилактической целью для повышения адаптационных возможностей организма при отсутствии развития острых патологических состояний в период проведения указанных превентивных мероприятий, что в дальнейшем ведет к регулируемому изменению ряда показателей гуморальных и клеточных систем неспецифической защиты.

Кроме того, изучение изотопного состава пищевого рациона и биологических жидкостей можно применять для учета географических перемещений человека и оценки миграционных потоков в биологии.

Сведения об авторах

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

E-mail: son_sunytych@mail.ru

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

Барышев Михаил Геннадьевич – доктор биологических наук, профессор кафедры радиофизики и нанотехнологий ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный университет» (Краснодар)

E-mail: science-pro@kubsu.ru

Джимак Степан Сергеевич – кандидат биологических наук, доцент кафедры радиофизики и нанотехнологий ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный университет» (Краснодар), научный сотрудник лаборатории проблем природных и новых материалов ФГБУН «Южный научный центр» РАН (Ростов-на-Дону)
E-mail: jimack@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

Литература

1. Барышев М.Г., Болотин С.Н., Фролов В.Ю. и др. Способы получения воды с пониженным содержанием дейтерия // Экологический вестник научных центров Черноморского экономического сотрудничества. – 2013. – № 1. – С. 13–17.
2. Басов А.А., Барышев М.Г., Джимак С.С. и др. Влияние воды с модифицированным изотопным составом на показатели свободнорадикального окисления in vivo // Физиол. журн. – 2013. – Т. 59, № 6. – С. 50–57.
3. Басов А.А., Быков И.М. Сравнительная характеристика антиоксидантного потенциала и энергетической ценности некоторых пищевых продуктов // Вопр. питания. – 2013. – Т. 82, № 3. – С. 77–80.
4. Басов А.А., Павлюченко И.И., Плаксин А.М., Федосов С.Р. Использование аналогового-цифрового преобразователя в составе системы сбора и обработки информации с хемилюминистером LT-01 // Вестн. новых медицинских технологий. – 2003. – Т. 10, № 4. – С. 67–68.
5. Григоренко Д.Е., Сапин М.Р., Федоренко Б.С. Влияние бездейтериевой легкой воды на состояние лимфоидной ткани селезенки у мышей в постлучевой период // Вестн. новых медицинских технологий. – 2010. – Т. XVII, № 1. – С. 9–11.
6. Киркина А.А., Лобышев В.И., Лопина О.Д. и др. Изотопные эффекты малых концентраций дейтерия воды в биологических системах // Биофизика. – 2014. – Т. 59, вып. 2. – С. 399–407.
7. Лобышев В.Н., Калиниченко Л.П. Изотопные эффекты D₂O в биологических системах. – М.: Наука, 1978.
8. Помыткин И.А., Колесова О.Е. Влияние естественной концентрации тяжелых изотопологов воды на скорость генерации H₂O₂ митохондриями // Бюл. эксп. биол. – 2006. – № 11. – С. 514–516.
9. Раков Д.В., Ерофеева Л.М., Григоренко Д.Е. и др. Влияние воды с пониженным содержанием тяжелого стабильного изотопа водорода дейтерия и кислорода (¹⁸O) на развитие лучевых повреждений при гамма-облучении в низкой дозе // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2006. – Т. 46, № 4. – С. 475–479.
10. Сапин М.Р., Григоренко Д.Е., Федоренко Б.С. Отдаленные последствия воздействия воды, очищенной от дейтерия, на лимфоидную ткань селезенки мышей в пострadiационный период // Вестн. лимфологии. – 2010. – № 3. – С. 40–45.
11. Тутельян В.А., Суханов Б.П., Керимова М.Г. Предпосылки и факторы формирования региональной политики в области здорового питания в России // Вопр. питания. – 2007. – Т. 76, № 6. – С. 39–43.
12. Baryshev M.G., Basov A.A., Bolotin S.N. et al. NMR, EPR, and mass spectroscopy estimates of the antiradical activity of water with modified isotope composition // Bulletin of the Russian Academy of Sciences: Physics. – 2012. – Vol. 76, N 12. – P. 1349–1352.
13. Bild W., Nastasa V., Haulica I. In vivo and in vitro research on the biological effects of deuterium-depleted water: 1. Influence of deuterium-depleted water on cultured cell growth // Rom. J. Physiol. – 2004. Vol. 41, N 1–2. – P. 53–67.
14. Bild W., Stefanescu I., Haulica I. Research concerning the radio-protective and immunostimulating effects of deuterium-depleted water // Rom. J. Physiol. – 1999. – Vol. 36, N 3–4. – P. 205–218.
15. Bowen G.J., Chesson L., Nielson K. et al. Treatment methods for the determination of ²H and ¹⁸O of hair keratin by continuous-flow isotope-ratio mass spectrometry // Rapid Commun. Mass Spectrom. – 2005. – Vol. 19. – P. 2371–2378.
16. Cong F., Zhang Y.-R., Sheng H.-C. et al. Deuterium-depleted water inhibits human lung carcinoma cell growth by apoptosis // Exp. Ther. Med. – 2010. – N 1. – P. 277–283.
17. O'Brien D.M., Wooler M.J. Tracking human travel using stable oxygen and hydrogen isotope analyses of hair and urine // Rapid Commun. Mass Spectrom. – 2007. – Vol. 21. – P. 2422–2430.
18. Olariu L., Petcu M., Cuna S. The role of deuterium depleted water (DDW) administration in blood deuterium concentration in Cr (VI) intoxicated rats // Lucrari stiintifice medicina veterinara. – 2010. – Vol. 43, N 2. – P. 193–196.
19. Pricope F., Titescu S.G., Caraus I., Ureche D. Effect of deuterium-depleted water on reproduction of rainbow trout // Environ. Chem. Lett. – 2003. – Vol. 1. – P. 149–151.
20. Rothman L.S., Barbe A., Benner D.C. et al. The HITRAN Molecular Spectroscopic Database: Edition of 2000 including update through 2001 // J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer. – 2003. – Vol. 82, N 1–4. – P. 5–44.
21. Smith B.N., Epstein S. Biogeochemistry of the stable isotopes of hydrogen and carbon in salt marsh // Plant Physiol. – 1970. – Vol. 46, N 5. – P. 738–742.
22. Soleyman-Jahi S., Zendehtdel K., Akbarzadeh K. et al. In vitro assessment of antineoplastic effects of deuterium depleted water // Asian Pac. J. Cancer Prev. – 2014 – Vol. 15, Issue 5. – P. 2179–2183.
23. Wang H., Zhu B., He Z. et al. Deuterium-depleted water (DDW) inhibits the proliferation and migration of nasopharyngeal carcinoma cells in vitro // Biomed. Pharmacother. – 2013. – Vol. 67. – P. 489–496.
24. Yeh H.-M. Recovery of deuterium from water-isotopes in thermal diffusion columns connected in series // Prog. Nuclear Energy. – 2010. – Vol. 52. – P. 516–522.
25. Zimmermann U., Cegla U. Der Deuterium-und Sauerstoff-18-Gehalt der Körperflüssigkeit des Menschen und seine Änderung bei Ortswechsel // Natur. wissenschaften. – 1973. – Vol. 60, Issue 5. – P. 243–246.

References

1. Baryshev M.G., Bolotin S.N., Frolov V.Yu. et al. Methods of preparing deuterium depleted water // Ecological Bulletin of Research Centers of the Black Sea Economic Cooperation. – 2013. – N 1. – P. 13–17.
2. Basov A.A., Baryshev M.G., Dzhimak S.S. et al. The effect of consumption of water with modified isotope content on the parameters of free radical oxidation in vivo // Fiziol. Zh. – 2013. – Vol. 59, N 6. – С. 50–57.
3. Basov A.A., Bykov I.M. Comparative characteristics of antioxidant capacity and energy content of some foods // Voпр. Pitaniia. – 2013. – Vol. 82, N 3. – P. 77–80.

4. *Basov A.A., Pavluchenko I.I., Plaksin A.M., Fedosov S.R.* Application of analog-to-digital converter becoming a part of the system of the chemoluminotester LT-01 // *Journal of New Medical Technologies.* – 2003. – Vol. 10, N 4. – P. 67–68.
5. *Grigorenko D.E., Sapin M.R., Fedorenko B.S.* The influence of the light water on status of the lymphoid tissue of the spleen after using gamma-rays period at mice // *Journal of New Medical Technologies.* – 2010. – Vol. 17, N 1. – P. 9–11.
6. *Kirkina A.A., Lobyshev V.I., Lopina O.D. et al.* Isotopic effects of low concentration of deuterium in water on biological systems // *Biophysics.* – 2014. – Vol. 59, Issue 2. – P. 399–407.
7. *Lobyshev V.I., Kalinichenko L.P.* Isotopic effects of D₂O in biological systems. – Moscow: Nauka, 1978.
8. *Pomytkin I.A., Kolesova O.E.* Relationship between natural concentration of heavy water isotopologs and rate of H₂O₂ generation by mitochondria // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* – 2006. – Vol. 142, Issue 5. – P. 570–572.
9. *Rakov D. V., Erofeeva L. M., Grigorenko D. E. et al.* The Influence of the Water with Decreased Content of Heavy Stable Hydrogen and Oxygen (¹⁸O) Isotope on Development of Radiation Injuries at γ -Radiation // *Radiats. Biol. Radioecol.* – 2006. – Vol. 46, N 4. – P. 475–479.
10. *Sapin M.R., Grigorenko D.E., Fedorenko B.S.* Long-term consequences of water influence on lymphoid tissue of mice spleen, purified from deuterium in postirradiational period // *Vestn. Limfologii.* – 2010. – N 3. – P. 40–45.
11. *Tutelyan V.A., Sukhanov B.P., Kerimova M.G.* Preconditions and factors of farming a regional policy in healthy nutrition in Russia // *Vopr. Pitan.* – 2007. – Vol. 76, N 6. – P. 39–43.
12. *Baryshev M.G., Basov A.A., Bolotin S.N. et al.* NMR, EPR, and mass spectroscopy estimates of the antiradical activity of water with modified isotope composition // *Bulletin of the Russian Academy of Sciences: Physics.* – 2012. – Vol. 76, N 12. – P. 1349–1352.
13. *Bild W., Nastasa V., Haulica I.* In vivo and in vitro research on the biological effects of deuterium-depleted water: 1. Influence of deuterium-depleted water on cultured cell growth // *Rom. J. Physiol.* – 2004. Vol. 41, N 1–2. – P. 53–67.
14. *Bild W., Stefanescu I., Haulica I.* Research concerning the radioprotective and immunostimulating effects of deuterium-depleted water // *Rom. J. Physiol.* – 1999. – Vol. 36, N 3–4. – P. 205–218.
15. *Bowen G.J., Chesson L., Nielson K. et al.* Treatment methods for the determination of $\delta^2\text{H}$ and $\delta^{18}\text{O}$ of hair keratin by continuous-flow isotope-ratio mass spectrometry // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* – 2005. – Vol. 19. – P. 2371–2378.
16. *Cong F., Zhang Y.-R., Sheng H.-C. et al.* Deuterium-depleted water inhibits human lung carcinoma cell growth by apoptosis // *Exp. Ther. Med.* – 2010. – N 1. – P. 277–283.
17. *O'Brien D.M., Wooler M.J.* Tracking human travel using stable oxygen and hydrogen isotope analyses of hair and urine // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* – 2007. – Vol. 21. – P. 2422–2430.
18. *Olariu L., Petcu M., Cuna S.* The role of deuterium depleted water (DDW) administration in blood deuterium concentration in Cr (VI) intoxicated rats // *Lucrari stiintifice medicina veterinara.* – 2010. – Vol. 43, N 2. – P. 193–196.
19. *Pricope F., Titescu S.G., Caraus I., Ureche D.* Effect of deuterium-depleted water on reproduction of rainbow trout // *Environ. Chem. Lett.* – 2003. – Vol. 1. – P. 149–151.
20. *Rothman L.S., Barbe A., Benner D.C. et al.* The HITRAN Molecular Spectroscopic Database: Edition of 2000 including update through 2001 // *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer.* – 2003. – Vol. 82, N 1–4. – P. 5–44.
21. *Smith B.N., Epstein S.* Biogeochemistry of the stable isotopes of hydrogen and carbon in salt marsh // *Plant Physiol.* – 1970. – Vol. 46, N 5. – P. 738–742.
22. *Soleyman-Jahi S., Zendehehdel K., Akbarzadeh K. et al.* In vitro assessment of antineoplastic effects of deuterium depleted water // *Asian Pac. J. Cancer Prev.* – 2014 – Vol. 15, Issue 5. – P. 2179–2183.
23. *Wang H., Zhu B., He Z. et al.* Deuterium-depleted water (DDW) inhibits the proliferation and migration of nasopharyngeal carcinoma cells in vitro // *Biomed. Pharmacother.* – 2013. – Vol. 67. – P. 489–496.
24. *Yeh H.-M.* Recovery of deuterium from water-isotopes in thermal diffusion columns connected in series // *Prog. Nuclear Energy.* – 2010. – Vol. 52. – P. 516–522.
25. *Zimmermann U., Cegla U.* Der Deuterium-und Sauerstoff-18-Gehalt der Körperflüssigkeit des Menschen und seine Änderung bei Ortswechsel // *Natur. wissenschaften.* – 1973. – Vol. 60, Issue 5. – P. 243–246.

Для корреспонденции

Кекина Елена Геннадьевна – кандидат биологических наук,
научный сотрудник Агрохимического центра ГНУ «Всероссийский
НИИ селекции и семеноводства овощных культур»

Адрес: 143080, Московская обл., Одинцовский район,
пос. ВНИИССОК, ул. Селекционная, д. 14

Телефон: (498) 595-72-03

E-mail: lena.kekina@mail.ru

Е.Г. Кекина¹, Н.А. Голубкина¹, О.В. Тульчинская²

Значение рыбы для обеспеченности йодом и селеном жителей Москвы и Московской области

Contribution of fish
consumption to human iodine
and selenium status in Moscow
and Moscow Region

H.G. Kekina¹, N.A. Golubkina¹,
O.V. Tulchinskaya²

¹ Агрохимический центр ГНУ «Всероссийский НИИ селекции
и семеноводства овощных культур», Московская область,
Одинцовский район

² МУЗ «Детская поликлиника» г.о. Власиха, Московская область

¹ VNISSOK Agrochemical Research Center, Moscow Region

² Children's Polyclinic of Vlasikha, Moscow Region

Известно, что рыба является богатым источником йода (I) и селена (Se) для человека. Целью исследования было установление значимости рыбы в рационе жителей среднего достатка Москвы и Московской области в обеспеченности I и Se населения. Обследовано 400 жителей Москвы и Московской области: 100 детей в возрасте от 2 до 6 лет, 100 взрослых в возрасте от 20 до 35 лет, 100 студентов 18–22 лет и 100 лиц старшего возраста (50–75 лет.) Содержание I определяли вольтамперометрически, обеспеченность Se оценивали с помощью полуколичественного перекисного теста. Показано, что при маргинальной недостаточности Se (79–90% обследованных имели отрицательные показатели перекисного теста, соответствующие уровню Se в сыворотке крови более 90 мкг/л) показатели йодурии соответствуют среднему (Московская область, медиана йодурии 52,5 мкг/л) и умеренному (Москва, медиана йодурии 67 мкг/л) дефициту I в организме обследованных. Основные виды рыб, используемых населением (горбуша, форель, семга), хотя и содержат высокие концентрации I (187 ± 66 , 290 ± 102 и 330 ± 116 мкг/кг) и Se (505 ± 46 , 376 ± 32 , 413 ± 22 мкг/кг), однако не могут значимо поддерживать высокий I и Se статус жителей ввиду малого использования. Уровень поступления I при потреблении рыбы 1 раз в неделю составил 21 мкг/нед, Se – 35 мкг/нед. До 40% студентов и до 28% людей старшего возраста рыбу не едят. К особой группе экологического риска дефицита I относятся дети 2–6 лет Московской области, у которых глубокий дефицит I (уровень йодурии менее 20 мкг/л) наблюдается в 3 раза чаще, чем у детей, проживающих в Москве.

Ключевые слова: йодурия, селен, Москва, Московская область, потребление рыбы

Fish is known to be a significant source of iodine and selenium for human beings. The aim of the present work was evaluation of iodine and selenium consumption levels with fish by residents of Moscow Region and Moscow.

400 Residents of Moscow and Moscow Region (100 children of 2–6 years age, 100 adults of 20–35 years age, 100 students of 18–22 years age and 100 elderly persons of 50–75 years age were inspected using values of ioduria and Se status determination. I concentration was determined by voltamperometric method, Se – via semiquantitative peroxide test. The values of ioduria for the inhabitants corresponded to moderate (Moscow Region, ioduria median 52,5 µg/l) and light (Moscow, ioduria mediane 67 µg/l) I deficiency with marginal Se deficiency in both cases (79–90% of persons had a negative peroxide test parameters, corresponding to serum Se level >90 µg/l). Though main fish species used by the population (humpback, trout, steelhead) contain relatively high levels of Se (505±46, 376±32, 413±22 µg/kg) and I (187±66, 290±102, 330±116 µg/kg), they are not able to maintain high I and Se status of the inhabitants due to low consumption level. I consumption with fish, being used once per week, reached 21 µg, Se – 35 µg per week. Up to 40% of students and 28% of elderly do not eat fish at all. Children of 2–6 years old residing in Moscow Region compose a special group of ecological risk of I deficiency possessing significant I deficiency 3 times more frequently than children from Moscow.

Key words: ioduria, selenium, Moscow, Moscow Region, fish consumption

Результаты эпидемиологических обследований указывают на широкое распространение среди детского и взрослого населения России дефицита микронутриентов, важнейшими из которых являются йод (I) и селен (Se) [2, 12]. В целом недостаточное потребление этих микроэлементов широко распространено не только в России, но и во многих странах мира [1, 20]. Положение усугубляется тем, что метаболизм I и Se неразрывно связан друг с другом, определяя необходимость осуществления совместной коррекции существующих дефицитов. Se активно участвует в метаболизме тиреоидных гормонов: трийодтиронина (Т3) и тироксина (Т4), входя в состав активного центра трийодтиронин деиодиназ [28]. Нарушение работы щитовидной железы, таким образом, оказывается неразрывно связанным с дисбалансом в организме двух элементов: I и Se. Между тем оптимизацию йодного и селенового статуса населения до сих пор осуществляли отдельно, используя, например, йодированную соль [4, 5, 7, 12] или обогащая продукты растениеводства Se путем внесения в почву селеносодержащих удобрений [16].

Среди продуктов питания, богатых одновременно I и Se, особый интерес представляет морская и пресноводная рыба. В связи с этим важным представляется установление значимости этих продуктов для поддержания обеспеченности населения I и Se.

Целью работы явилась оценка роли морской и пресноводной рыбы в обеспеченности I и Se жителей Москвы и Московской области.

Материал и методы

Проведена оценка обеспеченности I и Se 400 жителей среднего достатка г. Москвы и Московской

области [100 детей от 2 до 6 лет, 100 взрослых от 20 до 35 лет, 100 студентов от 18–22 лет и 100 лиц старшего возраста (50–75 лет)] по показателям йодурии и полуколичественного перекисного теста, позволяющего косвенно установить средние уровни Se в сыворотке крови по реакции кожи на 17,5% перекись водорода [11]. Отдельно осуществляли определение I и Se в суточных рационах школьников, а также пробах рыбы и рыбопродуктов. Содержание I в моче и пищевых продуктах оценивали вольтамперометрическим методом на анализаторе ТА-4 («Томьаналит», РФ) [8]. Концентрацию Se определяли флуориметрически [14], используя в качестве референс-стандарта лиофилизированную мышечную ткань (сельскохозяйственный центр Финляндии) с регламентированным содержанием Se 394 мкг/кг.

Для установления уровня потребления рыбы и рыбных предпочтений использовали анкетирование, а также годовые отчетные формы пищеблоков по СанПиН 2.4.5.2409-08, СанПиН 2.3.2.1940-05.

Статистическую обработку результатов осуществляли с использованием компьютерной статистической программы Excel, версия 2007.

Результаты и обсуждение

Поскольку различий в обеспеченности I и Se между мужчинами и женщинами не выявлено, ниже приводятся объединенные данные.

Оценка уровня экскреции I с мочой позволила выявить как возрастные различия, так и влияние места проживания. Медианы йодурии жителей Москвы оказались достоверно выше ($p < 0,05$), чем у жителей Московской области (67 мкг/л

и 52,5 мкг/л соответственно), подтверждая существование умеренного дефицита I в Московской области и слабого в Москве. Эти показатели оказались достоверно ниже, чем средние уровни йодурии населения Москвы и области в 2009 г. (соответственно 104,5 и 74,2 мкг/л) [10]. При этом наибольшие различия в показателе йодурии между населением Москвы и области наблюдались для детей 2–6 лет (1,73 раза, $p < 0,001$), были умеренными для взрослого населения (1,25 раз, $p < 0,001$), невелики для студентов (1,14 раз, $p < 0,01$) и не различались для лиц старшего возраста ($p > 0,5$). Обращает внимание, что если для жителей Подмосковья оптимальный уровень обеспеченности I (уровень йодурии более 100 мкг/л) был зарегистрирован у 2% жителей независимо от возраста, то в Москве такие показатели характерны для 2% лиц старшего возраста и студентов, в то время как около 18% детей в возрасте от 2 до 6 лет и 16% взрослого населения имели оптимальную обеспеченность I. Показательно, что

в Московской области около 12% детей из семей среднего достатка страдали от глубокого дефицита I (уровень йодурии менее 20 мкг/л), в то время как в Москве эта величина не превышала 4%.

Как видно из данных табл. 1, группу риска глубокого дефицита I как в Москве, так и области составляют студенты и лица старшего возраста. Так, среди студентов глубокий дефицит I зарегистрирован у 24–29%, среди лиц старшего возраста – у 12–16%.

Невысокие показатели обеспеченности I жителей Москвы и Московской области резко контрастируют с данными для жителей европейских стран, в частности Франции и Италии, где за последние 10 лет йодный статус населения достиг оптимального уровня (показатель йодурии увеличился с 60 до 120 мкг/л) (табл. 2) [13, 22].

Более благоприятная обстановка у жителей Москвы и области наблюдается по селеновому статусу. Приведенные в табл. 3 данные свидетельствуют

Таблица 1. Уровень йодурии у жителей среднего достатка Москвы и Московской области

Регион	Возраст обследованных, годы	Медиана йодурии, мкг/л	Доля лиц с йодурией, %			
			<20 ¹	20–49 ²	50–99 ³	100–199 ⁴
Московская область	2–6	45	12	50,0	36,0	2,0
	20–35	57,5	6,0	44,0	48,0	2,0
	18–22 (студенты)	52,5	29	23,0	46,0	2,0
	50–75	55	16,0	34,0	48,0	2,0
Москва	2–6	78	4,0	36,0	42,0	18,0
	20–35	72	2,0	36,7	45,0	16,3
	18–22 (студенты)	60	24,0	24,0	50,0	2,0
	50–75	58	12,0	34,0	52,0	2,0

Примечание. ¹ – тяжелый дефицит, ² – умеренный дефицит, ³ – слабый дефицит, ⁴ – оптимальный уровень.

Таблица 2. Показатели йодурии у жителей некоторых стран мира

Страна	Группа обследованных	Медиана, мкг/л	Доля лиц с йодурией, %		Литература
			<100 мкг/л	<50 мкг/л	
Бельгия	Дети	80	67	19	[19, 20]
Босния и Герцеговина	Дети	–	70	34	[24]
Болгария	Дети	111	66–91	14–52	[26, 29]
Хорватия	Дети	168	30–59	5–22	[15]
	Взрослые	140	24,7–32,8	5,7–11,9	
Чехия	Дети	136	–	–	[18]
	Взрослые	114	–	–	[35]
Дания	Дети	16–59	–	–	[31]
	Взрослые	38–110	–	–	[32]
Франция, Германия	Дети	148	27	7	[33]
	Дети	85	–	15–23	[22, 23]
Италия	Дети	122	–	14	[13, 17]
Нидерланды	Дети	154	0	0	[34]
Турция	Дети	14–62	–	–	[21]

о наличии лишь маргинальной недостаточности обеспеченности Se населения, причем низкие показатели, соответствующие малой активности селенозависимой глутатионпероксидазы, выявлены лишь у лиц старшего возраста (7% по области и 1% по Москве).

Учитывая, что рыба считается значимым источником I и Se для человека, нами была проведена оценка рыбных предпочтений среди населения среднего достатка Москвы и Московской области и установлены средние уровни микроэлементов в образцах рыбы (табл. 4).

Было показано, что большинство опрошенных предпочитает использовать в питании горбушу,

форель, семгу и треску. Меньшим спросом пользуются мойва, минтай, карп, путассу, и наименее востребованы сельдь, скумбрия, лимонема и тилапия. Анализ содержания I и Se в указанных образцах рыбы показал, что рыба, относящаяся к первой группе, содержит относительно высокие концентрации микроэлементов: от 140 до 330 мкг йода/кг и от 280 до 505 мкг селена/кг (табл. 4).

С другой стороны, анкетирование жителей позволило установить крайне низкие уровни потребления рыбы населением (табл. 5). Особую группу риска в этом отношении составляют студенты и лица старшего возраста, среди которых рыбу вовсе не потребляют соответственно 40 и 28%

Таблица 3. Показатели селенового статуса жителей Москвы и Московской области

Регион	Возраст, годы	Доля лиц с уровнем Se, %		
		>90 мкг/л	80–90 мкг/л	<80 мкг/л
Москва	2–6	89	10	1
	20–35	81	19	0
	18–22 (студенты)	79	21	0
	50–75	83	10	1
Московская область	2–6	90	10	0
	20–35	85	15	0
	18–22 (студенты)	80	20	0
	50–75	89	10	7

Примечание. Уровень Se в сыворотке крови: >90 мкг/л – хорошая обеспеченность Se; 80–90 мкг/л – средняя обеспеченность Se; <80 мкг/л – низкая обеспеченность Se.

Таблица 4. Содержание йода и селена в различных видах рыбы

Вкусовые предпочтения		Содержание I, мкг/кг	Содержание Se, мкг/кг
<i>Наиболее предпочитаемые виды</i>			
Горбуша	<i>Oncorhynchus gorbuscha</i>	187±66	505±46
Форель	<i>Salmo trutta</i>	290±102	376±32
Семга	<i>Salmo salar</i>	330±116	413±22
<i>Рыба умеренного потребления</i>			
Треска	<i>Gadus morhua</i>	145±51	282±24
Мойва	<i>Mallotus villosus</i>	27±10	299±21
Судак	<i>Stizostedion</i>	470±165	109±8
Минтай	<i>Theragra chalcogramma</i>	76±27	312±26
Путассу	<i>Micromesistius</i>	157±55	229±18
Карп	<i>Cyprinus carpio</i>	150±53	130±8
Корюшка	<i>Osmerus eperlanus</i>	77±27	315±29
Морской окунь	<i>Sebastes cuvier</i>	195±69	415±40
Морской язык	<i>Solea</i>	99±35	600±56
Зубатка	<i>Anarhichas lupus</i>	590±207	535±49
<i>Редко используемая рыба</i>			
Камбала	<i>Platichthys flesus</i>	220±77	370±32
Сельдь	<i>Clupea harengus</i>	36±13	271±22
Скумбрия	<i>Scomber scombrus</i>	538±188	381±41
Лимонема	<i>Laemonema longipes</i>	91±32	212±6
Тилапия	<i>Tilapia</i>	80±28	152±12

Таблица 5. Частота потребления рыбы разными возрастными группами обследованных, % от суммы

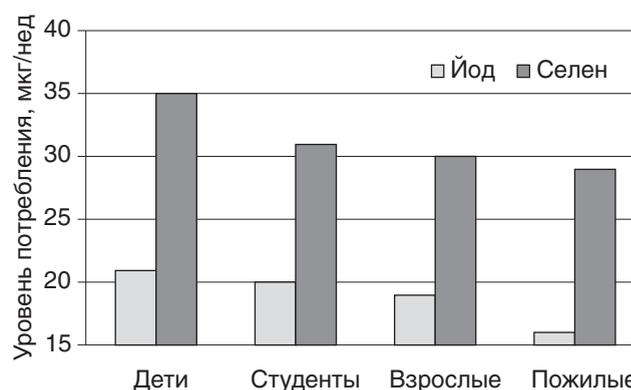
Группа обследованных	Частота потребления, раз в неделю					
	0	1	2	3	4	5
Мамы и дети (3–6 лет)	0	12	36	52	0	0
Студенты	40	37	21	0	0	2
Взрослые (20–35 лет)	20	55	20	5	0	0
Пожилые (50–75 лет)	28	60	10	2	0	0

обследованных. Напротив, около половины мам с маленькими детьми употребляют рыбу 3 раза в неделю. С этим фактом, скорее всего, связаны более высокие показатели йодурии у детей, чем у пожилых людей и студентов ($p < 0,001$, см. табл. 1).

Тем не менее расчет потребляемого количества I и Se в неделю с рыбными продуктами для обследованных групп населения показал крайне низкие уровни I и Se, поступающие в организм человека с рыбой (см. рисунок).

В самом деле, студенты, взрослые и пожилые люди чаще всего используют рыбу 1 раз в неделю, что соответствует потреблению до 20 мкг I и до 30 мкг Se в неделю при суточной потребности 150 и 70 мкг соответственно. Но даже та доля детей, которым дают рыбу 3 раза в неделю, получают за 7 дней всего 63 мкг I и 105 мкг Se. Очевидно, что даже с учетом рыбных предпочтений при существующем уровне потребления в исследуемом регионе невозможно решить проблему обеспеченности I и Se населения только за счет рыбопродуктов.

Что касается поступления I с рыбопродуктами с рационом детей дошкольных детских учреждений, то при потреблении рыбы 1–2 раза в неделю (это преимущественно минтай, горбуша, а также комбинированные салаты из морепродуктов и морской капусты) с учетом размера порции (75–100 г) и величины потерь I при кулинарной обработке [6], эта величина составит интервал от 7,5 до 151 мкг I в неделю в зависимости от используемых продуктов (110–151 мкг – за счет супа из рыбы и салата из морской капусты; 7,5–20,7 мкг – за счет рыбных палочек и рыбы припущенной; 36,5–132 мкг –



Уровень поступления йода и селена за счет потребления рыбы 1 раз в неделю

в составе салата комбинированного из морепродуктов и морской капусты). Уровень потребления Se при этом составляет от 4,0 до 60 мкг/нед. Таким образом, и для этой группы населения рыбопродукты не могут восполнить потребность организма в I и Se.

В целом результаты проведенного исследования указывают на невысокие уровни поступления I и Se с рыбой в организм жителей среднего достатка Москвы и Московской области. При умеренном и слабом уровне дефицита I и маргинальной недостаточности Se потребление рыбы крайне низко у студентов и в несколько меньшей степени у лиц старшего возраста. К третьей группе экологического риска дефицита I относятся дети 2–6 лет Московской области, у которых глубокий дефицит I зарегистрирован в 12% случаев.

Сведения об авторах

Кекина Елена Геннадьевна – кандидат биологических наук, научный сотрудник Агрохимического центра ГНУ «Всероссийский НИИ селекции и семеноводства овощных культур» (Московская область)

E-mail: lena.kekina@mail.ru

Голубкина Надежда Александровна – доктор сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник Агрохимического центра ГНУ «Всероссийский НИИ селекции и семеноводства овощных культур» (Московская область)

E-mail: segolubkina@rambler.ru

Тульчинская Ольга Валерьевна – главный врач МУЗ «Детская поликлиника» г.о. Власиха (Московская область)

E-mail: rigik_74@mail.ru

Литература

1. Голубкина Н.А., Папазян Т.Т. Селен в питании. Растения, животные, человек. – М.: Печатный город, 2006. – 254 с.
2. Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Петеркова В.А. Результаты эпидемиологических исследований йоддефицитных заболеваний в рамках проекта «Тиромобиль» // Пробл. эндокринологии. – 2005. – № 5. – С. 32.
3. Ермаков В.В. Геохимическая экология как следствие системного изучения биосферы // Проблемы биогеохимии и геохимической экологии. – М.: Наука, 1999. – С. 152–182.
4. Жукова Г.Ф., Савчик С.А., Хотимченко С.А. Йод. Содержание в пищевых продуктах и суточное потребление с рационом питания // Микроэлементы в медицине. – 2004. – Т. 5, № 3. – С. 1–16.
5. Истомина А.В., Елисева Ю.В., Сергеева С.В., Елисеев Ю.Ю. Гигиенические аспекты йодного дефицита у детского населения Саратовской области // Вопр. питания. – 2014. – Т. 83, № 3. – С. 63–68.
6. Кекина Е.Г., Носкова Г.Н., Солдатенкова Н.А. Определение йода в рыбе методом инверсионной вольтамперометрии // Аналитические методы измерений и приборы в пищевой промышленности. – М., 2006. – С. 62–66.
7. Лосева Т.А., Голубкина Н.А., Кекина Е.Г. Потребление йодированной соли подростками семей со средним достатком // Микроэлементы в медицине. – 2012. – Т. 2. – С. 25–28.
8. МУК 31-07/04 «Томьяналит» Методика выполнения измерений массовых концентраций общего йода, иодид-ионов и иодат-ионов в пищевых продуктах, продовольственном сырье, пищевых и биологически активных добавках.
9. Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 14 июня 2013 г. N 31 г. Москва «О мерах по профилактике заболеваний, обусловленных дефицитом микронутриентов, развитию производства пищевых продуктов функционального и специализированного назначения».
10. Трошина Е.А., Платонова Н.М., Свириденко Н.Ю. и др. Алгоритмы обследования и лечения пациентов в эндокринологии // Заболевания щитовидной железы / Под ред. Г.А. Мельниченко. – М.: Медэкспертпресс, 2009. – 48 с.
11. Сенькевич О.А., Голубкина Н.А., Ковальский Ю.Г. и др. Обеспеченность селеном жителей Хабаровского края // Дальневосточ. мед. журн. – 2009. – № 1. – С. 82–84.
12. Шарухо Г.В., Суплотова Л.А. Первые результаты пилотного проекта по сочетанной профилактике йод- и железодефицитных состояний в Тюменской области // Клин. и Экспер. тиреологическая. – 2010. – № 4. – С. 40–45.
13. Aghini-Lombardi F., Antonangeli L., Martino E. et al. The spectrum of thyroid disorders in an iodine-deficient community: the Pescoporgano survey // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 1999. – Vol. 84. – P. 561–566.
14. Alfthan G.V. A micromethod for the determination of selenium in tissues and biological fluids by single-test-tube fluorimetry // Anal. Chim. Acta. – 1984. – Vol. 65. – P. 187–194.
15. Antonic K., Brkic I., Kaic-Rak A. et al. Public health significance of iodine deficiency disorders in Croatia. Results of the 1997–99 eradication program. – Zagreb: Croatia National Institute of Public Health, 2000. – P. 1–30.
16. Aro A., Alfthan G. Effect of supplementation of fertilizers on human selenium status in Finland // Analyst. – 1995. – Vol. 120. – P. 841–843.
17. Costante G., Grasso L., Ludovico O. et al. The statistical analysis of neonatal TSH results from congenital hypothyroidism screening programs provides a useful tool for the characterization of moderate iodine deficiency regions // J. Endocrinol. Invest. – 1997. – Vol. 20. – P. 251–256.
18. Delange F., de Benoist B., Pretell E., Dunn J. Iodine deficiency in the world: where do we stand at the turn of the century // Thyroid. – 2001. – Vol. 11. – P. 437–447.
19. Delange F., Benker G., Caron P. et al. Thyroid volume and urinary iodine in European schoolchildren: standardization of values for assessment of iodine deficiency // Eur. J. Endocrinol. – 1997. – Vol. 136. – P. 180–187.
20. Delange F., Van Onderbergen A., Shabana W. et al. Silent iodine prophylaxis in Western Europe only partly corrects iodine deficiency: the case of Belgium // Eur. J. Endocrinol. – 2000. – Vol. 143. – P. 189–196.
21. Erdogan G., Erdogan M.F., Emral R. et al. Iodine status and goitre prevalence in Turkey before mandatory iodination // J. Endocrinol. Invest. – 2002. – Vol. 25. – P. 224–228.
22. Hampel R., Kuhlberg T., Zollner H. et al. Jodmangel in Deutschland ein „Dauerbrenner“? // Der Kassenarzt. – 1995. – N 29/30. – S. 33–35.
23. Hampel R., Beyersdorf-Radeck B., Below H. et al. Urinary iodine excretion in German school children within normal range (Abstract) // The thyroid and brain. Merck European Thyroid Symposium. – Sevilla, 2002.
24. Tahirovic H., Toromanovic A., Hadzibegic N. et al. Assessment of the current status of iodine prophylaxis in Bosnia and Herzegovina Federation // J. Pediatr. Endocrinol. Metab. – 2001. – Vol. 14. – P. 1139–1144.
25. Ivanova I., Lozanov B., Timcheva Z. et al. Urinary iodine in IDD monitoring in Bulgaria // 8th World Salt Symposium / Ed. R.M. Geertman. – Amsterdam: Elsevier, 2000. – P. 1249–1250.
26. Karanfilski B., Bogdanova V., Vaskova O. et al. Iodine deficiency in the F.Y. Republic of Macedonia. – Skopje: University Sts. Cyril and Methodius, 1998. – P. 1–120.
27. Knudsen N., Jorgensen T., Rasmussen S. et al. The prevalence of thyroid dysfunction in a population with borderline iodine deficiency // Clin. Endocrinol. – 1999. – Vol. 51. – P. 361–367.
28. Larsen P.R. Update on the human iodothyronine selenodeiodinases, the enzymes regulating the activation and inactivation of thyroid hormone // Biochem. Soc. Trans. – 1997. – Vol. 25. – P. 588–592.
29. Lozanov B. Control of iodine deficiency in Bulgaria towards the 21st. century (Abstract). // Endocrinologia (Sofia). – 2001. – Vol. 6. – P. 41–42.
30. Munkner T. Urinary excretion of 127-iodine in the Danish population // Scan. J. Clin. Lab. Invest. – 1969. – Vol. 110 (Suppl.). – P. 134–139.
31. Nohr S.B., Laurberg P., Borlum K.G. et al. Iodine status in neonates in Denmark: regional variations and dependency on maternal iodine supplementation // Acta Paediatr. – 1994. – Vol. 83. – P. 578–582.
32. Pedersen K.M., Laurberg P., Nohr S. et al. Iodine in drinking water varies by more than 100-fold in Denmark. Importance for iodine content of infant formulas // Eur. J. Endocrinol. – 1999. – Vol. 140. – P. 400–403.
33. Valeix M., Zarebska M., Preziosi P. et al. Iodine deficiency in France // Lancet. – 1999. – Vol. 353. – P. 1766–1767.
34. Wiersinga W.H., Podoba J., Srbecky M. et al. A survey of iodine intake and thyroid volume in Dutch schoolchildren: reference values in an iodine-sufficient area and the effect of puberty // Eur. J. Endocrinol. – 2001. – Vol. 144. – P. 595–611.
35. Zamrazil V. Iodine deficiency (Abstract) // Abstracts of the 1st EFES Regional Polish-Slovak-Czech-Hungarian Postgraduate course in clinical endocrinology. – Polanczyk, Poland, 2000.

References

1. Golubkina N.A., Papazyan T.T. Selenium in Nutrition. Plants, animals, human beings. – Moscow: Pechatny Gorod, 2006. – 254 p.
2. Dedov I.I., Melnichenko G.A., Petrakova V.A. Epidemiological data of iodine deficiency? Tyromobile project // Endocrinology Problems. – 2005. – N 5. – P. 32.

3. *Ermakov V.V.* Geochemical ecology as a consequence of systemic investigation of biosphere // *Problems of Biogeochemistry and Geochemical Ecology*. – Moscow: Science, 1999. – P. 152–182.
4. *Zucova G.F., Savchik S.A., Khotimchenko S.A.* Iodine. Content in food products and daily consumption level // *Trace Elements in Medicine*. – 2004. – Vol. 5, N 3. – P. 1–16.
5. *Istomin A.V., Eliseeva J.V., Sergeeva S.V., Eliseev J.J.* Hygienic aspects of iodine deficiency in children of Saratov region // *Vopr. Pitan.* – 2014. – Vol. 83, N 1. – P. 63–38.
6. *Kekina E.G., Noskova G.N., Soldatenkova N.A.* Iodine determination in fish by inversional voltamperometry method // *Analytical Methods and Equipment in Food Industry*. – Moscow, 2006. – P. 62–66.
7. *Loseva T.A., Golubkina N.A., Kekina E.G.* Consumption of iodinated salt by teenagers in families with moderate income // *Trace Elements in Medicine*. – 2012. – Vol. 2. – P. 25–28.
8. МУК 31-07/04 «Томаналит» Method of total iodine, iodide and iodate ions content in food products and biologically active supplements.
9. Decision of the main state Russian Federation sanitary physician, June, 14 2013 N 31, Moscow «Measures for prophylactics of Diseases caused by micronutrients deficiencies, development of functional food products production».
10. *Troshin E.A., Platonova N.M., Sviridenko N.J. et al.* Algorithms of investigations and treatment of patients in endocrinology // *Diseases of Thyroid Gland* / Ed. G.A. Melnichenco. – Moscow, 2009. – 48 p.
11. *Senkevich O.A., Golubkina N.A., Kovalsky J.G. et al.* The human selenium status in Khabarovsk land // *Far-Eastern Medical Journal*. – 2009. – N 1. – P. 82–84.
12. *Sharukho G.V., Suplotova L.A.* The first results of project of iodine-iron deficiency prophylactics in Tumen region // *Clinical and Experimental Thyreodology*. – 2010. – N 4. – P. 40–45.
13. *Aghini-Lombardi F., Antonangeli L., Martino E. et al.* The spectrum of thyroid disorders in an iodine-deficient community: the Pescoporgano survey // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 1999. – Vol. 84. – P. 561–566.
14. *Alfthan G.V.* A micromethod for the determination of selenium in tissues and biological fluids by single-test-tube fluorimetry // *Anal. Chim. Acta*. – 1984. – Vol. 65. – P. 187–194.
15. *Antonic K., Brkic I., Kaic-Rak A. et al.* Public health significance of iodine deficiency disorders in Croatia. Results of the 1997–99 eradication program. – Zagreb: Croatia National Institute of Public Health, 2000. – P. 1–30.
16. *Aro A., Alfthan G.* Effect of supplementation of fertilizers on human selenium status in Finland // *Analyst*. – 1995. – Vol. 120. – P. 841–843.
17. *Costante G., Grasso L., Ludovico O. et al.* The statistical analysis of neonatal TSH results from congenital hypothyroidism screening programs provides a useful tool for the characterization of moderate iodine deficiency regions // *J. Endocrinol. Invest.* – 1997. – Vol. 20. – P. 251–256.
18. *Delange F., de Benoist B., Pretell E., Dunn J.* Iodine deficiency in the world: where do we stand at the turn of the century // *Thyroid*. – 2001. – Vol. 11. – P. 437–447.
19. *Delange F., Benker G., Caron P. et al.* Thyroid volume and urinary iodine in European schoolchildren: standardization of values for assessment of iodine deficiency // *Eur. J. Endocrinol.* – 1997. – Vol. 136. – P. 180–187.
20. *Delange F., Van Onderbergen A., Shabana W. et al.* Silent iodine prophylaxis in Western Europe only partly corrects iodine deficiency: the case of Belgium // *Eur. J. Endocrinol.* – 2000. – Vol. 143. – P. 189–196.
21. *Erdogan G., Erdogan M.F., Emral R. et al.* Iodine status and goitre prevalence in Turkey before mandatory iodination // *J. Endocrinol. Invest.* – 2002. – Vol. 25. – P. 224–228.
22. *Hampel R., Kuhlberg T., Zollner H. et al.* Jodmangel in Deutschland ein „Dauerbrenner“? // *Der Kassenarzt*. – 1995. – N 29/30. – S. 33–35.
23. *Hampel R., Beyersdorf-Radeck B., Below H. et al.* Urinary iodine excretion in German school children within normal range (Abstract) // *The thyroid and brain. Merck European Thyroid Symposium*. – Sevilla, 2002.
24. *Tahirovic H., Toromanovic A., Hadzibegic N. et al.* Assessment of the current status of iodine prophylaxis in Bosnia and Herzegovina Federation // *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* – 2001. – Vol. 14. – P. 1139–1144.
25. *Ivanova I., Lozanov B., Timcheva Z. et al.* Urinary iodine in IDD monitoring in Bulgaria // *8th World Salt Symposium* / Ed. R.M. Geertman. – Amsterdam: Elsevier, 2000. – P. 1249–1250.
26. *Karanfilski B., Bogdanova V., Vaskova O. et al.* Iodine deficiency in the F.Y. Republic of Macedonia. – Skopje: University Sts. Cyril and Methodius, 1998. – P. 1–120.
27. *Knudsen N., Jorgensen T., Rasmussen S. et al.* The prevalence of thyroid dysfunction in a population with borderline iodine deficiency // *Clin. Endocrinol.* – 1999. – Vol. 51. – P. 361–367.
28. *Larsen P.R.* Update on the human iodothyronine selenodeiodinases, the enzymes regulating the activation and inactivation of thyroid hormone // *Biochem. Soc. Trans.* – 1997. – Vol. 25. – P. 588–592.
29. *Lozanov B.* Control of iodine deficiency in Bulgaria towards the 21st century (Abstract). // *Endocrinologia (Sofia)*. – 2001. – Vol. 6. – P. 41–42.
30. *Munkner T.* Urinary excretion of 127-iodine in the Danish population // *Scan. J. Clin. Lab. Invest.* – 1969. – Vol. 110 (Suppl.). – P. 134–139.
31. *Nohr S.B., Laurberg P., Borlum K.G. et al.* Iodine status in neonates in Denmark: regional variations and dependency on maternal iodine supplementation // *Acta Paediatr.* – 1994. – Vol. 83. – P. 578–582.
32. *Pedersen K.M., Laurberg P., Nohr S. et al.* Iodine in drinking water varies by more than 100-fold in Denmark. Importance for iodine content of infant formulas // *Eur. J. Endocrinol.* – 1999. – Vol. 140. – P. 400–403.
33. *Valeix M., Zarebska M., Preziosi P. et al.* Iodine deficiency in France // *Lancet*. – 1999. – Vol. 353. – P. 1766–1767.
34. *Wiersinga W.H., Podoba J., Srbecky M. et al.* A survey of iodine intake and thyroid volume in Dutch schoolchildren: reference values in an iodine-sufficient area and the effect of puberty // *Eur. J. Endocrinol.* – 2001. – Vol. 144. – P. 595–611.
35. *Zamrazil V.* Iodine deficiency (Abstract) // *Abstracts of the 1st EFES Regional Polish-Slovak-Czech-Hungarian Postgraduate course in clinical endocrinology*. – Polanczyk, Poland, 2000.

Для корреспонденции

Зорин Сергей Николаевич – старший научный сотрудник
лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных
продуктов ФГБНУ «НИИ питания»

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

Телефон: (495) 698-53-71

E-mail: zorin@ion.ru

С.Н. Зорин, Ю.С. Сидорова, И.С. Зилова, В.К. Мазо

Комплекс цинка с ферментоллизатом белка селезенки свиньи – исследование *in vivo*

Complex of zinc with enzymatic hydrolysate of pigspleen protein – *in vivo* investigation

S.N. Zorin, Yu.S. Sidorova, I.S. Zilova, V.K. Mazo

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

*В лабораторных условиях с применением ультра- и нанофильтрационной технологии получен комплекс цинка с ферментативным гидролизатом белка селезенки свиньи (Zn-ФГСС), исследован его состав, проведены исследования *in vivo* в эксперименте с использованием половозрелых крыс-самцов Вистар (масса тела $132 \pm 2,4$ г), которые в течение 18 сут получали *ad libitum* питье и цинкдефицитный рацион (ЦДР) «Zinc Deficient Diet, Egg White Base», содержащий не более 1,3 мг цинка/кг корма. Животные были разделены на 3 группы по 10 особей в каждой: 1-я группа получала ЦДР и дистиллированную воду; 2-я группа получала ЦДР и водный раствор сернокислого цинка ($ZnSO_4$) с концентрацией цинка 16,3 мкг/мл, 3-я группа – ЦДР и водный раствор комплекса Zn-ФГСС с концентрацией цинка 16,3 мкг/мл. Животных ежедневно осматривали и фиксировали объем выпитой воды. Перед началом эксперимента крыс тестировали на проявление безусловного рефлекса (фотофобии), определяя время перехода из освещенного отделения в темное на специальной установке. Оценивали прирост массы тела крыс (ΔW), устойчивость безусловного рефлекса у этих животных и их обучаемость воспроизведению условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) после болевого раздражения электрическим током на лапы. На 18-е сутки через 16 ч после болевого воздействия электрическим током в сыворотке крови определяли активность щелочной фосфатазы (ЩФ) и содержание кортикостерона. Показано, что использованная технология получения Zn-ФГСС приводит к относительно незначительному изменению распределения пептидных фракций по молекулярным массам и практически полному удалению свободных ионов металла из конечного продукта. В исследовании *in vivo* показано, что за экспериментальный период ΔW по группам составил соответственно 23, 87 и 82% ($p < 0,05$); активность ЩФ – $1,70 \pm 0,06$; $3,10 \pm 0,25$; $4,19 \pm 0,26$ мкмоль/л/с ($p < 0,05$); содержание кортикостерона – $20,7 \pm 7,2$; $21,5 \pm 6,3$ и $22,1 \pm 6,5$ нг/мл ($p < 0,05$). На 14-е сутки выявлено достоверное ($p < 0,05$) ухудшение в проявлении безусловного рефлекса (фотофобии) в 1-й группе по сравнению с остальными группами [латентный период (ЛП) – $50,9 \pm 12,0$ против $18,1 \pm 16,0$ и $16,0 \pm 4,2$ с], а также по сравнению с исходным тестированием ($16,8 \pm 8,0$ с). Результаты по ЛП после болевого воздействия элект-*

рическим током показали у всех групп сохранение УРПИ через 24 и 96 ч после болевого воздействия. Полученные данные позволяют говорить о высокой биодоступности новой органической формы цинка Zn-ФГСС и возможности ее использования в составе специальных пищевых продуктов.

Ключевые слова: ферментативный гидролиз, ультра- и нанофильтрационные технологии, эссенциальные микроэлементы, цинк, селезенка свиньи, условный рефлекс пассивного избегания

Experimental sample of complex zinc with enzymatic hydrolysate of pigspleen protein (Zn-EHPS) was produced in laboratory with ultra- and nanofiltration technologies; its composition was analyzed; male rats Wister (initial body weight $132 \pm 2,4$ g) were under observation in vivo: rats were given zinc-deficient ration (ZDR) «Zinc Deficient Diet, Egg White Base», containing not more than 1,3 mg zinc/kg, and water ad libitum during 18 days. Animals were divided into 3 groups (10 in each): group 1 was given ZDR and distilled water; group 2 – ZDR and water zinc sulphate solution ($ZnSO_4$) with zinc concentration of 16,3 mcg/ml; group 3 – ZDR and water Zn-EHPS solution with zinc concentration of 16,3 mcg/ml. All rats were daily observed with registration of water consumption. Unconditioned reflex (photophobia) or crossing time from light to darkness on special system before the beginning of experiment was tested out. An increase of body weight (ΔW) during the experiment, unconditioned reflex stability and training to conditioned passive avoidance reflex (CPAR) after paw painful electric stimulation were studied. On 18 day in 16 hours after paw painful electric stimulation alkaline phosphatase activity (AP) and corticosterone concentration in rat blood serum were examined. Insignificant changes in distribution of peptide fractions according its molecular mass and practical complete remove of free metal ions from final product were observed when Zn-EHPS-technology were used. During experiment in all groups correspondently ΔW was 23, 87 and 82% ($p < 0,05$); AP activity – $1,70 \pm 0,06$; $3,10 \pm 0,25$; $4,19 \pm 0,26$ mcmol/l/s ($p < 0,01$); corticosterone concentration – $20,7 \pm 7,2$; $21,5 \pm 6,3$; $22,1 \pm 6,5$ ng/ml ($p > 0,1$) were observed. Significant ($p < 0,05$) worse change of unconditioned reflex (photophobia) in group 1 (ZDR) in comparison with group 2 and group 3 (latent period – LP, s: $50,9 \pm 12,0$; $18,2 \pm 16,0$; $16,0 \pm 4,2$) as well as to initial test (LP, s – $16,8 \pm 8,0$) was found on the 14th day of the experiment. According to LP-test CPAR in all groups in 24 and in 96 hours after paw painful electric stimulation was found to be maintained. Data obtained let to suggest high bioavailability of new zinc organic form – Zn-EHPS and its usage possibility in fortification of special foods.

Key words: enzymatic hydrolysis, ultra-and nanofiltration technology, essential microelement, zinc, pig spleen, passive avoidance

Глобальная проблема недостаточной микронутриентной обеспеченности населения различных регионов определяет необходимость научного обоснования, разработки инновационных технологических подходов, а также комплексной медико-биологической оценки безопасности и эффективности использования в питании новых пищевых источников микронутриентов, включая эссенциальные микроэлементы (ЭМ). Возможность эффективного использования в питании человека новых источников ЭМ в значительной степени определяется их способностью всасываться в пищеварительном тракте и ассимилироваться в организме. С общебиологи-

ческих позиций, учитывающих эволюционный фактор, очевидна целесообразность использования в питании человека преимущественно органических форм микроэлементов [7, 8], в том числе связанных с пептидами. В серии работ нами были определены оптимальные условия ферментативного гидролиза пищевых белков различного происхождения: концентрата белков коровьего молока, белка куриного яйца, изолята соевых белков и некоторых других белковых источников и показана эффективность использования реакции их комплексования с различными ЭМ-антиоксидантами (цинк, медь, марганец) для получения их органически связанных форм [2, 3].

Проведенные доклинические исследования *in vitro* и *in vivo* с использованием физико-химических, иммунохимических, физиолого-биохимических подходов и методов экспериментальной аллергологии, а также исследования биодоступности и влияния комплексов цинка с некоторыми ферментативными гидролизатами пищевых белков на состояние кишечного барьера у лабораторных животных показали перспективность безопасного и эффективного использования полученных комплексов микроэлементов в профилактическом и лечебном питании для восполнения микроэlementной недостаточности.

В то же время использованные нами ранее для получения ферментоллизатов пищевые белки достаточно дорогостоящи, уже давно востребованы сами по себе и успешно применяются в пищевой промышленности. Встает вопрос о поиске новых пищевых белков и их ферментоллизатов для получения органических форм ЭМ, так как необходимо иметь максимально широкий выбор ферментативных гидролизатов [5] с учетом возможной непереносимости некоторых из них отдельными лицами. Это может быть достигнуто, в частности, разработкой технологии с использованием ферментоллизатов различного белоксодержащего сырья животного происхождения за счет дешевых отходов мясоперерабатывающей промышленности, например, селезенки свиньи.

Цели исследования – получить в лабораторных условиях комплекс цинка с ферментативным гидролизатом белка селезенки свиньи (Zn-ФГСС), оценить *in vivo* усвояемость полученной органической формы цинка и его влияние на ростовые показатели и устойчивость рефлексов.

Материал и методы

Для получения Zn-ФГСС использовали ферментативный гидролизат белка селезенки свиньи (ФГСС), представленный ООО «Петрохим» (РФ). Содержание белка (Nx6,25) в ФГСС составляло 79%, золы – 10%, влаги – 5%. Zn-ФГСС получали в результате реакции комплексообразования ФГСС с хлористым цинком (ZnCl₂ семиводный) при их определенных весовых соотношениях и pH 7,0 с последующей микрофильтрацией (мембрана 0,65 мкм) и нанофильтрацией на лабораторной установке («Владисарт», РФ). После концентрирования и двукратной отмывки дистиллированной водой собранную высокомолекулярную фракцию высушивали на сублимационной сушке ЛС-500 («Проинтех», РФ).

Анализ молекулярно-массового распределения белково-пептидных фракций в составе ФГСС и Zn-ФГСС проводили методом эксклюзионной жидкостной хроматографии среднего давления [4].

Исследования *in vivo* усвояемости полученной органической формы цинка и его влияния на рос-

товые показатели, активность щелочной фосфатазы и устойчивость условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) проведены в эксперименте с использованием половозрелых крыс-самцов линии Вистар. Животные после их поступления из питомника «Столбовая» в течение 7 дней проходили адаптацию, получая в этот период времени стандартный рацион вивария.

Перед началом эксперимента крыс взвешивали и тестировали на проявление безусловного рефлекса пассивного избегания на установке («PanLab», Испания) в виде камеры из двух отсеков: большое освещенное белое и маленькое черное отделения, разделенные опускаемыми автоматическими воротами. Крысу однократно помещали в светлый отсек камеры спиной к темному отсеку, в который животное стремилось зайти в силу врожденного предпочтения темных участков пространства и исследовательского поведения. Латентный период (ЛП) перехода из светлого отсека камеры в темный регистрировали (тест 1, табл. 4), а затем крыс переводили в индивидуальные клетки. Исходя из данных тестирования в эксперимент были отобраны животные, ЛП перехода которых не превышал 120 с (2 мин); животные были равномерно распределены по группам с учетом значения ЛП и массы тела.

Исследования проведены на 30 животных со средней массой 132–133 г, которые в течение 18 сут получали *ad libitum* питье и коммерческий цинкдефицитный рацион (ЦДР) «Zinc Deficient Diet, Egg White Base» («MP Biomedicals, LLC», Франция), содержащий следовые количества цинка (не более 1,3 мг цинка/кг корма).

На 14-е сутки эксперимента у всех животных вырабатывали УРПИ: регистрировали ЛП перехода из светлого отсека установки в темный (тест 2, табл. 4), и как только крыса переходила в темный отсек камеры, она получала болевое электрокожное раздражение на лапы (ток 0,4 мА). Затем крысу сразу же переводили в жилую клетку. В результате проведенного обучения животное должно избегать перехода в темную камеру при повторном тестировании, т.е. должно находиться в светлом отсеке [1]. Проверки сохранения УРПИ (воспроизведения рефлекса) состояли в повторном помещении животного в освещенный отсек на 15-е и 18-е сутки эксперимента (через 24 и 96 ч после обучения УРПИ). В данном исследовании тестирование завершали, когда животное входило в темный отсек или если не делало этого в течение 3 мин (тесты 3 и 4, табл. 4).

В предпоследний день эксперимента за 16 ч до выведения из эксперимента животных подвергали стрессорному воздействию электрическим током, для этого крысу принудительно помещали в темный отсек камеры для УРПИ, где она получала болевое электрокожное раздражение на лапы (ток 0,4 мА в течение 8 с).

На 19-е сутки животных выводили из эксперимента декапитацией под легким эфирным наркозом в соответствии с приказом Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 23.08.2010 № 708н «Об утверждении правил лабораторной практики».

Кровь животных собирали и центрифугировали при $t=4$ °С в течение 25 мин при 1500 об./мин на центрифуге J-6B («Beckman», Австрия) для получения сыворотки. Образцы отобранной сыворотки крови хранили в замороженном состоянии. Об усвояемости цинка косвенно судили по активности щелочной фосфатазы (ЩФ) в сыворотке крови, определяемой с использованием коммерческого набора реактивов («BioLaTest», Чешская Республика). В сыворотке крови иммуноферментным методом с использованием коммерческого набора «Corticosterone EIA kit» определяли содержание кортикостерона («Immunodiagnostic System», Великобритания).

Величины определяемых показателей приведены в виде $M \pm m$, где M – выборочное среднее измеряемых величин, m – стандартная ошибка среднего. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета программ SPSS Statistics 20, используя непараметрический ранговый критерий Манна–Уитни и критерий Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Полученный комплекс Zn-ФГСС представляет собой мелкодисперсный порошок коричневого цвета со слабым мясным запахом и вкусом; практически полностью растворимый в воде и содержащий в среднем 8,8% цинка (88 мг/г). Результаты исследования молекулярно-массового распределения пептидных фракций представлены в табл. 1.

Из приведенных результатов следует, что стадия наночистоты приводит к относительно незначительному изменению распределения фракций по молекулярным массам и практически полному удалению свободных ионов металла из конечного продукта.

Ежедневный осмотр животных в течение эксперимента (19 сут) показал, что их общее состояние в опытных группах (2-й и 3-й) было удовлетворительным по внешнему виду, качеству шерстного покрова, потреблению корма и воды, поведению и скорости роста (табл. 2).

На 4-е сутки у животных 1-й группы (цинк-дефицит), не получавших дополнительно цинка с водой, отмечались покраснения кожного покрова, расчесы, язвочки, изменение цвета и качества шерстного покрова. Масса тела и прирост массы тела у животных 1-й группы на 4-е сутки были достоверно ниже, чем у крыс 2-й и 3-й групп, получав-

ших неорганическую соль цинка или Zn-ФГСС, а после 8 сут и до окончания эксперимента масса тела животных 1-й группы практически не увеличивалась (прирост составил всего 3%). Во 2-й и 3-й группах прирост массы тела за период эксперимента составил соответственно 87 и 82% и достоверно не отличался друг от друга. Полученные результаты позволяют с достаточным основанием предположить, что на протяжении первых 7–8 дней эксперимента дефицит цинка в корме крыс 1-й группы компенсировался за счет физиологической способности организма снижать эндогенные потери цинка при его недостаточном поступлении с пищей.

О выраженной недостаточной обеспеченности цинком животных 1-й группы, т.е. о снижении их цинкового статуса, свидетельствуют результаты определения активности ЩФ (табл. 3), которая, являясь цинкзависимым ферментом, наиболее адекватно, по мнению ряда исследователей, реагирует на обеспеченность организма животного цинком [9, 10].

Активность ЩФ в сыворотке крови крыс 1-й группы оказалась почти в 2,5 и в 1,8 раза ниже ($p < 0,05$) аналогичного показателя для крыс 3-й и 2-й групп, которые соответственно получали органическую или неорганическую формы цинка. Одновременно активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови крыс 2-й группы была достоверно ниже по сравнению с таковой у животных 3-й группы ($p < 0,05$), получавших Zn-ФГСС. Этот результат при практически одинаковом потреблении цинка с водой животными 2-й и 3-й групп (разница недостоверна, $p > 0,05$) (табл. 4) свидетельствует о лучшем, на наш взгляд, усвоении органической формы цинка, что может служить дополнительным аргументом в пользу преимуществ потребления органических соединений этого микроэлемента.

Данные тестирования рефлексов по длительности ЛП перехода животными в темный отсек представлены в табл. 4.

Как свидетельствуют представленные результаты при 2-м тестировании, нахождение на цинкдефицитном рационе привело к достоверному увеличе-

Таблица 1. Молекулярно-массовое распределение пептидных фракций ФГСС и Zn-ФГСС

№ фракции	Диапазон молекулярных масс, кДа	ФГСС	Zn-ФГСС
1	>149	0,7	0,0
2	149–46,5	1,1	0,8
3	46,5–21,1	4,1	4,4
4	21,1–11,3	19,2	23,3
5	11,3–5,9	26,3	33,1
6	5,9–2,4	21,3	18,4
7	<2,4	27,3	20,0

Таблица 2. Изменение массы тела животных (г) за период эксперимента

Группа животных	1-я группа (n=10)	2-я группа (n=10)	3-я группа (n=10)
Сутки	Масса крыс, г		
0	132,0±2,5 (100%)	132,7±2,4 (100%)	132,2±2,4 (100%)
4	149,7±3,7 (113%)	163,3±2,5* (123%)	162,8±2,1* (123%)
8	158,0±3,4 (120%)	188,0±3,5* (142%)	187,2±2,5* (142%)
14	160,1±3,4 (121%)	228,8±3,1* (172%)	225,7±5,3* (171%)
18	162,2±3,2 (123%)	247,5±2,9* (187%)	240,8±4,6* (182%)
Прирост массы, %	23,0±1,7	86,9±3,1*	82,3±3,0*

Примечание. * – достоверность отличий ($p < 0,05$) от показателя животных 1-й группы согласно критерию Стьюдента и непараметрическому ранговому критерию Манна–Уитни.

Таблица 3. Активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови крыс

Группа животных	Потребление цинка, мкг/сут	Щелочная фосфатаза, мкмоль/л/с
1-я	Следы (14,1)	1,70±0,06 (100%)
2-я	314,7	3,10±0,25* (182%)
3-я	341,8	4,19±0,26* ** (247%)

Примечание. * – достоверность отличий ($p < 0,05$) от показателя животных 1-й группы, согласно критерию Стьюдента и непараметрическому ранговому критерию Манна–Уитни; ** – достоверность отличий ($p < 0,05$) от показателя животных 2-й группы, согласно критерию Стьюдента и непараметрическому ранговому критерию Манна–Уитни.

Таблица 4. Результаты прохождения тестирования рефлексов (латентный период в секундах)

Группа животных	Тест 1	Тест 2	Тест 3, через 24 ч	Тест 4, через 96 ч
1-я	16,8±8,0	50,9±12,0*	Более 180	166,4±13,6
2-я	14,2±3,6	18,1±16,0**	Более 180	163,7±16,3
3-я	13,6±2,4	16,0±4,2**	Более 180	157,6±15,7

Примечание. * – достоверность отличий ($p < 0,05$) результатов теста 2 по сравнению с тестом 1, согласно критерию Стьюдента и непараметрическому ранговому критерию Манна–Уитни; ** – достоверность отличий ($p < 0,05$) от показателей теста животных 1-й группы, согласно критерию Стьюдента и непараметрическому ранговому критерию Манна–Уитни.

нию латентного периода перехода в темный отсек для животных контрольной, 1-й, группы. Очевидно, потребление крысой в течение 14 сут цинкдефицитного корма, приводящее к резкому снижению обеспеченности животного цинком, ухудшает воспроизведение безусловного рефлекса (фотофобии). У животных опытных 2-й и 3-й групп, потреблявших цинк в количествах, обеспечивающих физиологическую потребность в этом ЭМ, безусловный рефлекс сохранялся в полном объеме.

Согласно полученным на третьем этапе данным тестирования УРПИ можно судить о том, что приобретенный крысами навык пассивного избегания остается сохранным через 24 ч после обучения для животных всех групп (ни одно животное не вошло в клетку) независимо от количества и формы потребляемого микроэлемента. В процедуре угасания через 96 ч после обучения (18-е сутки эксперимента) также наблюдалось длительное сохранение воспроизведения условного рефлекса на сформированном уровне у животных всех групп.

Содержание кортикостерона в сыворотке крови стрессированных на 18-е сутки крыс достоверно не отличалось во всех группах и составило соответственно 20,7±7,2; 21,5±6,3 и 22,1±6,5 нг/мл.

Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии влияния обеспеченности цинком и вида потребленного цинка на изученные показатели УРПИ и содержание кортикостерона в крови стрессированных животных в условиях проведенного эксперимента.

Проведенные исследования подтверждают опубликованные нами ранее данные по биодоступности некоторых новых пищевых источников органически связанных форм цинка, обобщенные в монографии [6]. В этих публикациях было показано достоверное снижение цинкового статуса, в том числе задержка в росте массы тела крыс, получавших корм с выраженным дефицитом цинка. Также было показано, что при последующем добавлении в корм цинка в виде комплекса с ферментативным гидролизатом белков коро-

всього молока в течение 14 дней (восстановительное 2-недельное кормление) обеспеченность животных этим ЭМ возрастала, что приводило к увеличению массы тела. При этом у животных другой группы, получавших параллельно в тех же условиях сульфат цинка, масса тела была достоверно ниже, а содержание цинка в костях определялось на том же уровне, что и у крыс, полу-

чавших дефицитный по цинку рацион в течение 28 дней [7].

Таким образом, установленная в опытах *in vivo* высокая биодоступность полученного комплекса Zn-ФГСС свидетельствует о его перспективности для использования в биологически активных добавках к пище и специализированных пищевых продуктах, предназначенных для восполнения микроэлементной недостаточности.

Сведения об авторах

ФГБНУ «НИИ питания» (Москва):

Зорин Сергей Николаевич – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов

E-mail: zorin@ion.ru

Сидорова Юлия Сергеевна – младший научный сотрудник лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов

E-mail: sidorovaulia28@mail.ru

Зилова Ирина Сергеевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории спортивного питания с группой алиментарной патологии

E-mail: zilova@ion.ru

Мазо Владимир Кимович – доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов

E-mail: mazo@ion.ru

Литература

1. Буреш Ян. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. – М.: Высшая школа, 1991. – Гл. 3. – С. 182–186.
2. Зорин С.Н. Ферментативные гидролизаты пищевых белков и органические комплексы эссенциальных микроэлементов на их основе // *Вопр. питания.* – 2009. – Т. 78, № 6. – С. 60–66.
3. Зорин С.Н., Баяржаргал М. Получение ферментативных гидролизатов пищевых белков с использованием некоторых коммерческих ферментных препаратов и различных схем проведения гидролиза // *Биомедицинская химия.* – 2009. – Т. 55, вып. 1. – С. 73–80.
4. Зорин С.Н., Баяржаргал М., Бурдза Е.А., Мазо В.К. Получение и характеристика ферментативного гидролизата изолята соевых белков // *Вопр. питания.* – 2006. – Т. 76, № 1. – С. 10–12.
5. Зорин С.Н., Сидорова Ю.С., Смирнова А.А. и др. Оптимизация аминокислотного состава белково-пептидных продуктов, используемых при изготовлении функциональных напитков // *Вопр. питания.* – 2012. – Т. 81, № 3. – С. 30–34.
6. Мазо В.К., Гмошинский И.В., Ширина Л.И. Новые пищевые источники эссенциальных микроэлементов-антиоксидантов. – М., 2009. – 207 с.
7. Баяржаргал М., Мазо В.К., Гмошинский И.В. Изучение биодоступности нового пищевого источника цинка // *Вопр. детской диетологии.* – 2007. – Т. 5, № 2. – С. 11–14.
8. Mazo V.K., Gmshinski I.V., Zorin S.N. New food sources of essential trace elements produced by biotechnology facilities // *Biotechnol. J.* – 2007. – Vol. 2, Issue 10. – P. 1297–1305.
9. Prasad A.S. Laboratory diagnosis of zinc deficiency // *J. Am. Coll. Nutr.* – 1985. – Vol. 4, N 6. – P. 591–598.
10. Windisch W. Development of zinc deficiency in 65Zn labeled, fully grown rats as a model for adult individuals // *J. Trace Elem. Med. Biol.* – 2003. – Vol. 17, N 2. – P. 91–96.

References

1. Bures Jan. Methods and basic experiments for the study of brain and behavior. – Moscow: Ed. of «High School», 1991. – Ch. 5. – P. 182–186.
2. Zorin S.N. Enzymatic hydrolyzats food protens and organic complexes essential trace elements on their basis // *Vopr. Pitan.* – 2009. – Vol. 78, N 6. – P. 60–66.
3. Zorin S.N., Baiargargal M. Preparation of food proteins enzymatic hydrolysates of dietary proteins using some commercial enzyme preparations and various schemes of hydrolysis // *Biomedical Chemistry.* – 2009. – Vol. 55, N 1. – P. 73–80.
4. Zorin S.N., Bayarjargal M., Burdza E.A., Mazo V.K. Enzymatic hydrolystate of soy protein isolate. Preparation and characterization // *Vopr. Pitan.* – 2006. – Vol. 76, N 1. – P. 10–12.
5. Zorin S.N., Sidorova Yu.S., Smirnova E.A. et al. Optimization of amino-acid profile of protein-peptide products used by preparation for functional drink // *Vopr. Pitan.* – 2012. – Vol. 81, N 3. – P. 30–34.
6. Mazo V.K., Gmshinskij I.V., Chirina L.I. New Food Sources Essencial Microcells – Antioxidants. – Moscow, 2009. – 207 p.
7. Bayarzhargal M., Mazo V.K., Gmshinskiy I.V. An evaluation of bio-availability of a new food source of zinc // *Problems of Pediatric Nutritiology.* – 2007. – Vol. 5, N 2. – P. 11–14.
8. Mazo V.K., Gmshinski I.V., Zorin S.N. New food sources of essential trace elements produced by biotechnology facilities // *Biotechnol. J.* – 2007. – Vol. 2, Issue 10. – P. 1297–1305.
9. Prasad A.S. Laboratory diagnosis of zinc deficiency // *J. Am. Coll. Nutr.* – 1985. – Vol. 4, N 6. – P. 591–598.
10. Windisch W. Development of zinc deficiency in 65Zn labeled, fully grown rats as a model for adult individuals // *J. Trace Elem. Med. Biol.* – 2003. – Vol. 17, N 2. – P. 91–96.

Для корреспонденции

Рахманов Рофаиль Салыхович – доктор медицинских наук, профессор, директор ФБУН «Нижегородский НИИ гигиены и профпатологии» Роспотребнадзора

Адрес: 603950, г. Нижний Новгород, ул. Семашко, д. 20

Телефон: (831) 4-196-194

E-mail: raf53@mail.ru

Р.С. Рахманов¹, А.В. Истомин², Д.А. Нарутдинов¹, В.Ю. Кропачев¹

Оценка эффективности использования натурального низкокалорийного белково-растительного продукта в питании пациентов с избыточной массой тела и гипертонической болезнью

Efficiency of usage of natural low caloric protein-vegetable product by patients with excess body weight and hypertension

R.S. Rakhmanov¹, A.V. Istomin², D.A. Narutdinov¹, V.Yu. Kropachev¹

¹ ФБУН «Нижегородский НИИ гигиены и профессиональной патологии» Роспотребнадзора

² ФГУН «Федеральный научный центр гигиены имени Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, Московская область, Мытищи

¹ Nizhny Novgorod Research Institute of Hygiene and Occupational Pathology at Rospotrebnadzor

² Erisman Federal Research Center of Hygiene at Rospotrebnadzor, Mytischki, Moscow Region

Проведена оценка эффективности использования натурального низкокалорийного концентрированного пищевого продукта (НКПП) из белково-растительного сырья 23 пациентами с избыточной массой тела в возрасте 30–44 лет (1-я группа) и 30 больными гипертонической болезнью в стадии ремиссии и избыточной массой тела и ожирением в возрасте 45–59 лет (2-я группа). По энергетическим затратам все обследованные мужчины относились к II группе физической активности: коэффициент физической активности составил соответственно $1,35 \pm 0,14$ и $1,34 \pm 0,22$. В рационах питания отмечался избыток белка (до 20,1%), жиров (до 17,2%) и превышение калорийности суточного рациона над суточными энергетическими затратами организма, что приводило к увеличению массы тела, на фоне которого регистрировались метаболические нарушения и нарушение функции печени. Исходно у пациентов 1-й группы индекс массы тела составлял $29,9 \pm 0,6$ и $36,2 \pm 0,4$ кг/м² у 2-й группы. В питании обследуемых групп использовался НКПП, включающий творог обезжиренный, яичный белок, отруби ржаные, курагу, ламинарию, лист зеленого чая и лист брусники и изготовленный по криогенной технологии. НКПП назначали 2 раза в день (по 35 г) вместо завтрака и ужина в течение 15 сут. Поступление белка с 1 порцией НКПП составило 5,2 г, жира – 3,8 г, углеводов – 16,8 г, энергетическая ценность – 122 ккал. При использовании НКПП редукция калорийности суточного рациона достигала 1225,5 ккал в 1-й и 1071,3 ккал во 2-й группе, энергетическая ценность рациона составила соответственно в среднем 1420 и 1560 ккал/сут. В ходе исследований на фоне постоянства белковых показателей сыворотки крови отмечено снижение уровней

глюкозы (на 15,3–18%), холестерина (на 18,8–19%), холестерина липопротеидов низкой плотности (на 13,9–15,8%) и триглицеридов (на 20–26,3%), активности аланинаминотрансферазы (на 39,7–41,4%) и аспаратаминотрансферазы (на 40,6–40,7%), что доказывает положительное влияние НКПП из белково-растительного сырья на жировой и углеводный обмен и функционирование печени. Доказательством эффективности явилось также снижение индекса атерогенности на 1,45–1,5 ед. Снижение показателей систолического артериального давления (на 12,9%) и диастолического артериального давления (на 20,7%) у пациентов с гипертонической болезнью в стадии ремиссии и избыточной массой тела и ожирением свидетельствует о позитивном влиянии редукации калорийности питания за счет использования НКПП на функцию сердечно-сосудистой системы данной категории обследуемых.

Ключевые слова: избыточная масса тела, ожирение, низкокалорийный пищевой продукт из белково-растительного сырья, белковый, жировой, углеводный обмен, сердечно-сосудистые заболевания

The efficiency of the usage of natural low caloric concentrated protein-vegetable food product (LCCF) by 23 persons with excess body weight at the age of 30–44 years (the 1st group) and 30 hypertensive patients at remission stage and overweight at age 45–59 years old (the 2nd group) has been assessed. According to energy expenditure, all examined male persons were classified to II group of physical activity: Physical Activity Coefficient (PAC) was 1,35±0,14 and 1,34±0,22 respectively. As for dietary intake, authors revealed an excess of protein (up to 20,1%), fat (up to 17,2%) and daily caloric content over daily energy expenditure that led to an increase of body weight along with metabolic and liver function disorders. Initially, body mass index (BMI) was 29,9±0,6 kg/m² in the 1st group and 36,2±0,4 kg/m² in the 2nd group. LCCFP was administrated to persons in studied groups and consisted of fat-free curd, egg white, rye bran, dried apricots, laminaria, leaves of green tea and cowberry. The product was made by cryogenic technology. LCCFP (35 g) was administrated two times per day instead of breakfast and supper during 15 days. Protein content in 1 portion of LCCFP was 5.2 g, fats – 3.8 g, carbohydrates – 16.8 g; energy value – 122 kcal. The decrease of daily caloric content was 1225,5 kilocalories (kcal) in the 1st group and 1071,3 kcal in the 2nd group during period of LCCFP administration; the energy value of the diet amounted to an average of 1420 and 1560 kcal per day. During the study, authors found serum protein indices were constant, but revealed the decrease of the level of glucose (by 15,3–18%), cholesterol (18,8–19%), low density lipoprotein cholesterol (13,9–15,8%), triglycerides (20–26,3%) and alanine aminotransferase (39,7–41,4%) and asparagine aminotransferase (40,6–40,7%) activity. This provided evidence of positive influence of the natural protein-vegetable LCCFP on fat and carbohydrate metabolisms as well as liver function. Also, the decrease of atherogenicity index (1,45–1,5 units) gave evidence of effectiveness of used method. The decrease of systolic arterial pressure (by 12,9%) and diastolic arterial pressure (by 20,7%) in patients with hypertension at remission stage and body weight provided evidence of positive influence of caloric content decrease due to LCCFP administration on function of cardiovascular system in this category of examined persons.

Key words: excess body weight, obesity, low calorie protein-vegetable food product, protein/fat/carbohydrate metabolisms, liver function, cardiovascular disease

В современных условиях в большинстве экономически развитых стран мира приоритетной медицинской проблемой стало широкое распространение хронических неинфекционных заболеваний. При этом среди причин инвалидизации и

смертности населения ведущее место продолжают занимать сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) [31].

Среди факторов риска развития болезней сердца и сосудов важнейшими являются гиперлипидемия,

ожирение, курение, низкая физическая активность, злоупотребление алкоголем, сахарный диабет и др. Таким образом, устранение причин алиментарного характера – одно из актуальных направлений профилактики этих заболеваний [1, 3, 15, 27].

Снижение энергетических затрат сопровождается столь же резким снижением и потребности в энергетической ценности рациона. Нарушение энергетического баланса организма оказывает выраженное влияние на состояние липидного и углеводного обмена, уровень артериального давления. В то же время потребность в других жизненно важных веществах, в частности микронутриентах, изменилась незначительно. Таким образом, современный человек не может даже теоретически с адекватным рационом из обычных натуральных продуктов получить микронутриенты в необходимых количествах [2, 7, 8, 24–26, 28].

Компенсация микронутриентной недостаточности и дефицита минорных компонентов в XXI в. возможна с применением обогащенных и функциональных продуктов, биологически активных добавок к пище [5–8, 11, 14, 16, 17, 30].

Крайне важным представляется также включение в рацион пищевых продуктов «направленного» действия – натуральных продуктов с определенной пищевой ценностью и повышенным содержанием тех или иных микронутриентов и минорных компонентов с научно доказанным благоприятным влиянием на физиологические функции организма [21, 22]. Рецептуры таких продуктов создаются на основе изучения патогенеза заболеваний и данных о содержании тех или иных нутриентов и минорных компонентов в исходном сырье (фрукты, ягоды, зелень, овощи; продукты, содержащие животные белки). Так, нами был показан профилактический эффект при использовании в питании больных ССЗ продуктов с повышенным содержанием биологически активных веществ [18–20, 29].

Целью исследования стала оценка эффективности использования натурального низкокалорийного концентрированного пищевого продукта (НКПП) из белково-растительного сырья пациентами с избыточной массой тела, а также больными гипертонической болезнью в стадии ремиссии с избыточной массой тела и ожирением.

Материал и методы

Наблюдения проведены в двух возрастных группах населения. В соответствии с классификацией ВОЗ это были лица зрелого возраста (30–44 года) – 1-я группа и средней возрастной группы (45–59 лет) – 2-я группа. В 1-ю группу вошли здоровые мужчины ($n=23$) с избыточной массой тела, 2-ю группу составили мужчины ($n=30$), страдающие гипертонической болезнью

в стадии ремиссии, с избыточной массой тела и ожирением. Представители обеих групп осуществляли свою обычную профессиональную деятельность. При этом обследуемые 2-й группы находились на динамическом диспансерном наблюдении; лекарственных препаратов в ходе исследования они не принимали. Участие в исследовании осуществлялось на основе информированного добровольного согласия.

Фактическое питание оценивали методом 24-часового воспроизведения питания за 1 нед. В ходе обследования определяли массу и длину тела, толщину кожно-жировой складки, рассчитывали индекс массы тела (ИМТ), по которому оценивали статус питания. Был проведен хронометраж суточного бюджета времени с расчетом расхода энергии на каждый вид деятельности и определением коэффициента физической активности [12, 23].

Питание пациентов групп наблюдения до исследования и в период его проведения осуществлялось в индивидуальном порядке в домашних условиях. В рацион питания обследуемых групп включали НКПП из белково-растительного сырья, включающего творог обезжиренный, яичный белок, отруби ржаные, курагу, ламинарию, лист зеленого чая и лист брусники (Декларация соответствия № РОСС RU. АИ03.Д12022 от 29.09.2011), изготовленного по криогенной технологии (ЗАО «Гранде», РФ) [4]. Пищевая ценность 100,0 г НКПП составила: 14,8 г белка, 10,8 г жиров и 48,0 г углеводов, энергетическая ценность – 348 ккал.

НКПП назначали 2 раза в день взамен завтрака и ужина в течение 15 сут. Способ приготовления: 35 г продукта вносили в стакан, заливали 100 мл горячей кипяченой воды, перемешивали, перед употреблением настаивали в течение 20–30 мин. Прием пищи в обед у обследуемых оставался таким же, как и раньше.

Для оценки аноректического эффекта испытуемые заполняли анкету, в которой отмечали свое ощущение чувства голода перед завтраком и обедом. Оно выражалось в баллах: наличие перед едой чувства невыносимого голода (5 баллов); голода с чувством беспокойства (4 балла); чувства голода (3 балла); прием пищи с аппетитом (2 балла); без аппетита (1 балл); испытывал отвращение к еде (0 баллов) [13].

По данным биохимических исследований определяли состояние обменных процессов [10]: белковый обмен оценивали по определению в сыворотке крови общего белка (биуретовый метод) и мочевины (уреазный глютаматдегидрогеназный кинетический метод); жировой обмен – по содержанию триглицеридов (энзиматический колориметрический метод Триндера), общего холестерина, холестерина ЛПНП и ЛПВП (энзиматический колориметрический метод с предварительным осаждением);

углеводный обмен – по концентрации глюкозы (энзиматический колориметрический глюкозооксидазный метод); определяли активность трансаминаз – аланин- (АЛТ) и аспаратаминотрансферазы (АСТ) (энзиматический кинетический метод). Определение производили на биохимическом автоматическом анализаторе «KONELAB 20» («Thermo Fisher Scientific Oy», Финляндия).

Функциональное состояние сердечно-сосудистой системы оценивали по данным определения систолического (САД) и диастолического артериального давления (ДАД) и частоты сердечных сокращений (ЧСС).

В соответствии с методическими рекомендациями [9] использовалась «зависимая» выборка наблюдения с периодами сравнения до и после приема НКПП. Полученные данные подвергали статистической обработке с помощью программы Statistica 6.0: при этом значимость различий средних значений показателей в динамике для абсолютных величин определяли с помощью *t*-критерия Стьюдента, достоверность различий между процентными долями двух выборок определяли по критерию Фишера.

Результаты и обсуждение

В ходе исследований установлено, что среднесуточные энергетические затраты обследуемых составили $2521,0 \pm 85,1$ ккал (1-я группа) и $2429,5 \pm 44,5$ ккал (2-я группа). Таким образом, в соответствии с фактическими энерготратами все наблюдаемые относились ко II группе физической активности: коэффициент физической активности равен $1,35 \pm 0,14$ и $1,34 \pm 0,22$ соответственно.

В рационе питания лиц обеих групп отмечался избыток белка на 14,1 и 20,1% соответственно; количество жиров также было превышено на 12,1 и 17,2%, а углеводов – находилось

в пределах нормы. Превышение в рационе жиров животного происхождения на 17,1% было отмечено у 78,6% обследуемых 1-й группы и на 14,8% – у 81,3% лиц 2-й группы. Количество жиров растительного происхождения было снижено на 6,7% и 25,1% соответственно. Приведенные данные свидетельствуют о превышении калорийности суточного рациона над суточными энергетическими затратами организма.

При назначении НКПП редукция калорийности суточного рациона достигала 1225,5 ккал в 1-й группе и 1071,3 ккал во 2-й; таким образом, энергетическая ценность фактического питания обследуемых составила в среднем 1420 ккал и 1560 ккал, соответственно.

В первые 3 дня перед завтраком 3,3% лиц 1-й группы отметили значительное чувство голода (4 балла), 89,1% – умеренное чувство голода (3 балла) и остальные – незначительное (2 балла). Перед обедом в первые 3 дня умеренное чувство голода отметили 56,1% обследованных (3 балла) и 43,9% – незначительное (2 балла). В дальнейшем чувство голода перед приемами пищи было незначительным. Оценка аноректического эффекта составила $1,42 \pm 0,1$ балла.

Во 2-й группе чувство голода было более выраженным: в первые 3 дня перед завтраком 14,3% пациентов отметили значительное чувство голода (4 балла), 57,1% – умеренное чувство голода (3 балла), остальные – незначительное чувство (2 балла). Перед обедом в первые 3 дня 57,1% обследованных отметили умеренное (3 балла), 42,9% – незначительное (2 балла). В дальнейшем чувство голода, как и в 1-й группе, было незначительным. Оценка аноректического эффекта составила $1,35 \pm 0,2$ балла.

Исходно ИМТ у пациентов 2-й группы был на 21,1% выше, чем у лиц 1-й группы ($p=0,001$). На фоне приема НКПП, как видно из табл. 1,

Таблица 1. Антропометрические показатели пациентов до и после приема натурального низкокалорийного концентрированного пищевого продукта ($M \pm m$)

Показатель	1-я группа	2-я группа
Масса тела, кг:		
до приема	99,8 \pm 1,5	116,2 \pm 1,4**
после приема	95,0 \pm 1,1*	110,2 \pm 1,1*
Изменение, %	4,8 \pm 1,1	5,2 \pm 0,9
Толщина кожно-жировой складки, мм:		
до приема	62,0 \pm 2,4	77,2 \pm 1,5
после приема	39,3 \pm 2,0*	56,4 \pm 2,5*
Изменение, %	36,6 \pm 3,2	26,9 \pm 3,2**
ИМТ, кг/м ² :		
до приема	29,9 \pm 0,6	36,2 \pm 0,4**
после приема	28,5 \pm 0,5*	34,3 \pm 0,3*
Изменение, %	4,7 \pm 1,6	5,2 \pm 0,8

Примечание. * – достоверность различий ($p < 0,05$) от показателя до приема НКПП; ** – достоверность различий ($p < 0,05$) от показателя 1-й группы.

снижение массы тела у лиц 1-й обследуемой группы составило от 3,1 до 6,2 кг ($p=0,013$), толщина кожно-жировой складки живота уменьшилась от 14,0 до 32,1 мм ($p=0,001$). Во 2-й группе уменьшение достигало соответственно от 4,1 до 7,9 кг ($p=0,001$) и от 14,6 до 29,6 мм ($p=0,001$). При этом снижение толщины кожно-жировой складки у лиц 1-й группы было более значимым, чем во 2-й группе, на 9,7% ($p=0,04$).

Перед началом коррекции статуса питания у ряда лиц 1-й возрастной группы были определены нарушения липидного обмена: высокий уровень холестерина и триглицеридов, пограничный уровень холестерина ЛПНП и холестерина ЛПВП (табл. 2). Кроме того, у 21,7% обследованных лиц уровень глюкозы превышал референтные границы.

После приема НКПП показатели, отражающие состояние углеводного и белкового обмена, находились в пределах референтных границ при достоверном снижении уровня глюкозы на 15,3%. Значимые изменения были выявлены в липидном обмене. Так, снизилось содержание холестерина на 18,8%. При этом если исходно у 39,1% лиц его уровень был выше нормы, то после приема продукта он нормализовался. До нормальных значений снизилось содержание триглицеридов (на 20,0%) и холестерина ЛПНП (на 15,8%)

при исходном превышении уровня нормы триглицеридов и холестерина ЛПНП у 30,4% обследуемых. Индекс атерогенности снизился на 1,5 единицы (с 4,8 до 3,3). Также было отмечено снижение в пределах референтных границ уровней трансаминаз: АЛТ – на 39,7%, АСТ – на 40,6%.

САД, ДАД и ЧСС в период наблюдения находились в нормальных диапазонах. При этом ДАД и ЧСС на фоне приема НКПП достоверно не изменялись, а САД снизилось с $132,4 \pm 0,9$ до $123,1 \pm 1,2$ мм. рт.ст. (на 7,0%, $p=0,001$).

У лиц 2-й группы, так же как и в 1-й, уровни общего белка и мочевины были в пределах референтных границ и достоверных изменений не претерпевали. Уровень глюкозы крови до приема НКПП был выше нормы у 28,6% обследованных лиц, к концу приема ее содержание снизилось до нормальных величин. Исходно содержание холестерина было превышено у 85,7% обследованных, после курса приема – лишь у 8,7% ($p=0,000$). Достоверно в 2 раза снизилась доля лиц с высоким уровнем триглицеридов (28,6% против 57,1% лиц) и в 1,25 раза с повышенным содержанием холестерина ЛПНП (57,1% против 71,4%). Индекс атерогенности среди пациентов данной группы уменьшился на 1,45 (с 4,7 до 3,25). Определено снижение уровня АЛТ на 9,1–70,3% (в среднем по группе – на 41,4%) и АСТ на 6,0–54,1% (40,7%).

Таблица 2. Динамика биохимических показателей крови пациентов при приеме натурального низкокалорийного концентрированного пищевого продукта ($M \pm m$)

Показатель	До приема	После приема	Изменение, %	<i>p</i>
Глюкоза, ммоль/л:				
1-я группа	5,9±0,3	5,0±0,2	15,3±3,3	0,016
2-я группа	6,1±0,4	5,0±0,3	18,0±4,9	0,032
Общий белок, г/л:				
1-я группа	88,8±1,1	85,6±1,2	3,6±1,3	0,056
2-я группа	90,6±0,4	87,3±0,3	3,6±0,3	0,058
Мочевина, ммоль/л:				
1-я группа	7,9±0,3	7,4±0,2	6,3±2,5	0,173
2-я группа	6,7±0,4	5,8±0,3	13,4±4,4	0,077
Триглицериды, ммоль/л:				
1-я группа	1,95±0,15	1,56±0,1	20,0±5,1	0,036
2-я группа	1,9±0,2	1,4±0,2	26,3±3,3	0,001
Холестерин, ммоль/л:				
1-я группа	6,4±0,5	5,2±0,3	18,8±4,6	0,046
2-я группа	6,3±0,5	5,1±0,3	19,0±4,7	0,044
Холестерин ЛПВП, ммоль/л:				
1-я группа	1,1±0,1	1,2±0,2	9,1±0,1	0,657
2-я группа	1,1±0,1	1,2±0,2	9,1±0,1	0,657
Холестерин ЛПНП, ммоль/л:				
1-я группа	3,8±0,2	3,2±0,2	15,8±1,2	0,04
2-я группа	3,6±0,2	3,1±0,1	13,9±1,8	0,029
АЛТ, МЕ/л:				
1-я группа	26,2±2,3	15,8±1,2	39,7±0,4	0,001
2-я группа	25,1±3,2	14,7±2,3	41,4±0,9	0,011
АСТ, МЕ/л:				
1-я группа	27,6±3,1	16,4±2,4	40,6±0,8	0,007
2-я группа	26,3±4,9	15,6±3,4	40,7±1,2	0,049

Показатели САД и ДАД, ЧСС были выше референтных границ и исходно составили $148,2 \pm 1,5$ и $93,4 \pm 2,0$ мм. рт.ст. соответственно. К концу приема НКПП отмечено достоверное снижение САД (на 12,9%, $p=0,000$) и ДАД (на 20,7%, $p<0,000$). Рассматриваемые показатели вошли в границы нормы.

Заключение

Таким образом, превышение пищевой и энергетической ценности рационов питания при низкой физической активности приводит к увеличению массы тела, на фоне которого регистрируются метаболические нарушения. При этом нарушения липидного обмена у больных гипертонической болезнью в стадии ремиссии и избыточной массой тела и ожирением более выражены,

чем у группы пациентов с избыточной массой тела.

На фоне постоянства белковых показателей сыворотки крови отмечена нормализация уровней глюкозы, холестерина, холестерина ЛПНП и триглицеридов, что доказывает положительное влияние натурального низкокалорийного продукта из белково-растительного сырья на жировой и углеводный обмен. Доказательством эффективности использованного продукта явилось также снижение индекса атерогенности.

Нормализация показателей САД и ДАД у больных гипертонической болезнью в стадии ремиссии с избыточной массой тела и ожирением, а также САД у пациентов с избыточной массой тела свидетельствует о позитивном влиянии редукации калорийности питания за счет использования НКПП на функцию сердечно-сосудистой системы обследуемых.

Сведения об авторах

Рахманов Рафаиль Салыхович – доктор медицинских наук, профессор, директор ФБУН «Нижегородский НИИ гигиены и профпатологии» Роспотребнадзора

E-mail: raf53@mail.ru

Истомин Александр Викторович – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник отдела здорового и безопасного питания НИИ комплексных проблем гигиены ФГУН «Федеральный научный центр гигиены имени Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора (Московская область, Мытищи)

E-mail: erisman-istomin@yandex.ru

Нарутдинов Денис Алексеевич – младший научный сотрудник ФБУН «Нижегородский НИИ гигиены и профпатологии» Роспотребнадзора

E-mail: den007-19@mail.ru

Кропачев Виталий Юрьевич – доктор медицинских наук, старший научный сотрудник ФБУН «Нижегородский НИИ гигиены и профпатологии» Роспотребнадзора

E-mail: ipz@sandy.ru

Литература

1. Батурин А.К., Погожева А.В., Акользина С.Е. и др. Особенности витаминного статуса у мужчин и женщин с сердечно-сосудистыми заболеваниями и ожирением // *Вопр. питания.* – 2012. – Т. 81, № 4. – С. 58–64.
2. Богданов А.Р., Дербенева С.А., Строкова Т.В. и др. Изучение состояния сердечно-сосудистой системы у больных с избыточной массой тела и ожирением // *Вопр. питания.* – 2012. – Т. 81, № 1. – С. 69–74.
3. Государственная политика здорового питания населения: задачи и пути реализации на региональном уровне: Руководство для врачей / Под ред. В.А. Тутельяна, Г.Г. Онищенко. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 281 с.
4. Груздева А.Е. Высокоэффективные технологии «Биофит» для «Родника здоровья»: Питание и здоровье – проблемы и пути решения: Продукты «Биофит» – 10 лет на Российском рынке: Материалы науч.-практ. конф. – Н. Новгород, 2004. – С. 24–27.
5. Дадали В.А. Минорные компоненты пищевых растений как регуляторы детоксикационных и метаболических систем организма // *Вестник Санкт-Петербургской академии им. И.И. Мечникова.* – 2001. – № 1. – С. 24–30.
6. Доценко В.А., Мосийчук Л.В. Оценка эффективности использования БАД – источника биологически активных веществ – при ожирении // *Вопр. питания.* – 2012. – Т. 81, № 5. – С. 33–36.
7. Коденцова В.М., Вржесинская О.А. К обоснованию уровня обогащения витаминами и минеральными веществами пищевых продуктов массового потребления // *Вопр. питания.* – 2011. – Т. 80, № 5. – С. 64–70.
8. Коденцова В.М., Вржесинская О.А., Сокольников А.А. Витаминизация пищевых продуктов массового потребления: история и перспективы // *Вопр. питания.* – 2012. – Т. 81, № 5. – С. 66–78.
9. Кочетов А.Г., Лянг О.В., Масенко В.П. и др. Методы статистической обработки медицинских данных: Методические рекомендации. – М.: РКНПК, 2012. – 42 с.
10. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. В.В. Меньшикова. – М., 1987. – 360 с.
11. 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.
12. Мартинчик А.Н., Маев И.В., Янушевич О.О. Общая нутрициология. – М.: Медпресс-информ, 2005. – 392 с.

13. МУК 2.3.2.721-98. 2.3.2. Пищевые продукты и пищевые добавки. Определение безопасности и эффективности биологически активных добавок к пище. Методические указания (утв.: Главным государственным санитарным врачом РФ 15.10.1998г.).
14. Муравьев С.А., Оконежникова Н.С., Дмитриева О.А., Макарова Г.А. Оценка влияния разгрузочно-диетической терапии на состояние больных, страдающих артериальной гипертензией и ожирением // Вопр. питания. – 2010. – Т. 79, № 6. – С. 52–56.
15. Ожирение: этиология, патогенез, клинические аспекты / Под ред. И.И. Дедова, Г.А. Мельниченко. – М.: МИА, 2006. – 456 с.
16. Погожева А.В. Основы рациональной диетотерапии при сердечно-сосудистых заболеваниях // Клиническая диетология. – 2004. – Т. 1, № 2. – С. 17–29.
17. Погожева А.В., Дербенева С.А., Богданов А.Р., Каганов Б.С. Система многоуровневой диагностики и коррекции нарушений пищевого статуса пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями // Вопр. питания. – 2009. – Т. 78, № 3. – С. 43–51.
18. Рахманов Р.С., Кропачев В.Ю. Оптимизация рационов питания населения продуктами повышенной биологической ценности // Проблемы гигиенической безопасности и управления факторами риска для здоровья населения: Науч. тр. ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана. – Н. Новгород, 2004. – Вып. 14. – С. 366–367.
19. Рахманов Р.С., Груздева А.Е., Басалыга В.Н. и др. Нутриционная профилактика дислипидемии // Мед. академ. журн. – 2006. – Т. 7, № 1. – С. 77–78.
20. Рахманов Р.С., Колдунов И.Н. Эффективность использования в питании больных с гипертензией и ишемической болезнью сердца низкокалорийной биологически активной добавки к пище // Вопр. питания. – 2010. – Т. 79, № 6. – С. 42–46.
21. Рахманов Р.С., Груздева А.Е. Продукты направленного действия – новое направление в нутрициологии. – Н. Новгород, 2011. – Ч. 1. – 117 с.
22. Рахманов Р.С., Груздева А.Е. Продукты направленного действия – новое направление в нутрициологии. – Н. Новгород, 2012. – Ч. 2. – 130 с.
23. Соколов А.И. Методика оценки энергетических затрат организма // Сердце. – 2005. – № 5. – С. 13–15.
24. Спиричев В.Б. Научное обоснование применения витаминов в профилактических и лечебных целях. Сообщение 1. Недостаток витаминов в рационе современного человека: причины, последствия и пути коррекции // Вопр. питания. – 2010. – Т. 79, № 5. – С. 4–14.
25. Спиричев В.Б. Научные и практические аспекты патогенетически обоснованного применения витаминов в профилактических и лечебных целях. Сообщение 2. Дефицит витаминов – фактор, осложняющий течение заболеваний и снижающий эффективность лечебно-профилактических мероприятий // Вопр. питания. – 2011. – Т. 80, № 1. – С. 4–13.
26. Спиричева Т.В., Спиричев В.Б., Коденцова В.М. и др. Эффективность использования в профилактическом питании пищевых продуктов с сочетанным содержанием пектина и витаминов // Вопр. питания. – 2011. – Т. 80, № 4. – С. 47–55.
27. Тутельян В.А. Концепция оптимального питания // Государственная концепция «Политика здорового питания в России»: Материалы конгресса. – М., 2003. – С. 524–525.
28. Тутельян В.А., Гаппаров М.М.Г., Каганов Б.С. и др. Лечебное питание: современные подходы к стандартизации диетотерапии. – М.: Медицина, 2007. – 304 с.
29. Умнягина И.А., Рахманов Р.С., Кувшинов М.В. и др. Оценка эффективности применения натурального пищевого продукта растительного происхождения в питании больных с гипертонической болезнью // Вопр. питания. – 2010. – Т. 79, № 6. – С. 47–51.
30. Шаррафетдинов Х.Х., Плотникова О.А., Зыкина В.В. и др. Влияние гипокалорийной диеты с включением витаминно-минерального комплекса на состояние больных ожирением II–III степени // Вопр. питания. – 2011. – Т. 80, № 4. – С. 62–67.
31. Широков Е.Л. Идеология современной системы профилактики инсульта // Клиническая медицина. – 2014. – № 3. – С. 5–10.

References

1. Baturin A.K., Pogozeva A.V., Akolzin S.E. et al. Features of the vitamin status in men and women with cardiovascular disease and obesity // Voпр. Pitan. – 2012. – Vol. 81, N 4. – P. 58–64.
2. Bogdanov A.R., Dербенева S.A., Strokova T.V. et al. The study of the cardiovascular system in patients with overweight and obesity // Voпр. Pitan. – 2012. – Vol. 81, N 1. – P. 69–74.
3. Public policy of healthy nutrition: problems and ways of implementation at the regional level: Guide for physicians / Eds V.A. Tutelian, G.G. Onishchenko. – Moscow: GEOTAR-Media, 2009. – 281 p.
4. Gruzdeva A.E. Enabling technologies «Biofit» for the «Spring of Health»: Nutrition and Health - Problems and Solutions: Products «Biofit» – 10 years in the Russian market: Abstracts of scientific-practical conference. – Nizhny Novgorod, 2004. – P. 24–27.
5. Dadali V.A. Minor components of food plants as regulators of metabolic and detoxification systems of the body // Herald St. Petersburg Academy I.I. Mechnikov. – 2001. – N 1. – P. 24–30.
6. Dotsenko V.A., Mosiyshuk L.V. Evaluating the effectiveness of dietary supplements – a source of biologically active substances – obesity // Voпр. Pitan. – 2012. – Vol. 81, N 5. – P. 33–36.
7. Kodentsova V.M., Vrzhesinskaya O.A. On the proof of the level of enrichment with vitamins and minerals food consumer // Voпр. Pitan. – 2011. – Vol. 80, N 5. – P. 64–70.
8. Kodentsova V.M., Vrzhesinskaya O.A., Sokolnikov A.A. Fortification of food products of mass consumption: history and prospects // Voпр. Pitan. – 2012. – Vol. 81, N 5. – P. 66–78.
9. Kochetov A.G., Liang O.V., Masenko V.P. et al. The statistical treatment of medical data: Methodological guidance. – Moscow: Cardiology, 2012. – 42 p.
10. Laboratory Methods in the clinic: Directory / Ed. V.V. Menshikov. – Moscow, 1987. – 360 p.
11. Mazo V.K., Kodentsova V.M., Vrzhesinskaya O.A., Zilova I.S. Fortified and functional foods: similarities and differences // Voпр. Pitan. – 2012. – Vol. 81, N 1. – P. 63–68.
12. Martinchik A.N., Maes I.V., Yanushkevich O.O. General Nutrition. – Moscow: MEDpress-Inforn, 2005 – 392 p.
13. Methodological guidelines for the control 2.3.2.721-98. 2.3.2. Foods and dietary supplements. - Definition of the safety and efficacy of dietary supplements to food. Methodical instructions (approved: Chief State Sanitary Doctor of Russia 15.10.1998).
14. Muravev S.A., Okonechnikova N.S., Dmitrieva O.A., Makarova G.A. Assessing the impact of fasting-diet therapy for the condition of patients suffering from hypertension and obesity // Voпр. Pitan. – 2010. – Vol. 79, N 6. – P. 52–56.
15. Obesity: etiology, pathogenesis, clinical aspects / Eds I.I. Dedova, G.A. Melnichenko. – Moscow: MIA, 2006. – 456 p.
16. Pogozeva A.V. Fundamentals of rational diet therapy in cardiovascular diseases // Voпр. Clinic Dietology. – 2004. – Vol. 1, N 2. – P. 17–29.
17. Pogozeva A.V., Dербенева S.A., Bogdanov A.R., Kaganov B.S. The system of multi-level diagnostics and correction of violations of the nutritional status of patients with cardiovascular disease // Voпр. Pitan. – 2009. – Vol. 78, N 3. – P. 43–51.
18. Rakhmanov R.S., Kropachev V.Y. Optimizing diets population with food increased bioavailability // Problems hygienic safety and risk management for public health: Scientific articles of FSCH nam. by F.F. Erismana. – Nizhny Novgorod, 2004. – Is. 14. – P. 366–367.

19. *Rakhmanov R.S., Gruzdeva A.E., Basalyga V.N. et al.* Nutritional prevention of dyslipidemia // *Medical Academic Journal.* – 2006. – Vol. 7, N 1. – P. 77–78.
20. *Rakhmanov R.S., Koldunov I.N.* Efficiency of the use of the nutrition of patients with hypertension and coronary heart disease low-calorie dietary food supplements // *Vopr. Pitan.* – 2010. – Vol. 79, N 6. – P. 42–46.
21. *Rakhmanov R.S., Gruzdeva A.E.* Products directional – a new direction in Nutrition. – N. Novgorod, 2011. – Pt 1. – 117 p.
22. *Rakhmanov R.S., Gruzdeva A.E.* Products directional – a new direction in Nutrition. – N. Novgorod, 2012. – Pt 2. – 130 p.
23. *Sokolov A.I.* Method of estimating energy expenditure of the body // *Heart.* – 2005. – N 5. – P. 13–15.
24. *Spirichev V.B.* The scientific rationale for the use of vitamins in the prophylactic and therapeutic purposes. Message 1. The lack of vitamins in the diet of modern man: causes, consequences and correction // *Vopr. Pitan.* – 2010. – Vol. 79, N 5. – P. 4–14.
25. *Spirichev V.B.* Scientific and practical aspects pathogenetically sound application of vitamins for prophylactic and therapeutic purposes. Message 2. Deficiency of vitamins – a factor complicating the course of disease and reduces the effectiveness of treatment and prevention // *Vopr. Pitan.* – 2011. – Vol. 80. – N 1. – P. 4–13.
26. *Spiricheva T.V., Spirichev V.B., Kodentsova V.M., Beketov N.A.* Use efficiency in preventive nutrition foods with co-pectin and vitamins // *Vopr. Pitan.* – 2011. – Vol. 80, N 4. – P. 47–55.
27. *Tutelian V.A.* The concept of optimal nutrition // *State the concept of «healthy eating policy in Russia»: Abstracts of Congress.* – Moscow, 2003. – P. 524–525.
28. *Tutelian V.A., Gapparov M.G., Kaganov B.S. et al.* Therapeutic nutrition: current approaches to standardization of diet therapy. – Moscow: Medicine, 2007. – 304 p.
29. *Umnyagina I.A., Rakhmanov R.S., Kuvshinov M.V. et al.* Evaluating the effectiveness of natural plant foods in the diet of patients with essential hypertension // *Vopr. Pitan.* – 2010. – Vol. 79, N 6. – P. 47–51.
30. *Sharafetdinov H.H., Plotnikov O.A., Zikina V.V. et al.* Influence of hypocaloric diet with addition of a vitamin-mineral complex on status of patients with obesity 1st and 2nd degrees // *Vopr. Pitan.* – 2011. – Vol. 80, N 4. – P. 62–67.
31. *Shirokov E.L.* The ideology of the modern system of prevention of stroke // *Clinical Medicine.* – 2014. – N 3. – P. 5–10.

Для корреспонденции

Селезнева Ксения Сергеевна – аспирант ФГБНУ «НИИ питания»
(отделение гастроэнтерологии и гепатологии)
Адрес: 115446, г. Москва, Каширское шоссе, д. 21
Телефон: (499) 613-17-13
E-mail: Xusha82@yandex.ru

К.С. Селезнева, В.А. Исаков, Т.Б. Сенцова, О.О. Кириллова

Анализ эффективности диетотерапии неалкогольного стеатогепатита у больных ожирением с использованием низкокалорийного или изокалорийного рационов

An analysis of the efficacy of low-calorie and isocaloric diets in obese patients with nonalcoholic steatohepatitis

K.S. Selezneva, V.A. Isakov, T.B. Sentsova, O.O. Kirillova

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

Цель исследования – оценить эффективность изокалорийного и гипокалорийного рациона питания на показатели аланинаминотрансферазы (АЛТ), липидного обмена, приверженности к этой терапии и изменения состава тела у больных неалкогольным стеатогепатитом (НАСГ). В исследование было включено 174 пациента с НАСГ [86 женщины ($39,4 \pm 1,5$ года) и 88 мужчин ($41,7 \pm 2,0$ года), средний индекс массы тела $36,8 \pm 0,8$ кг/м²], которые были рандомизированы на 2 группы: пациенты 1-й группы (n=58) получали модифицированный вариант стандартной низкокалорийной диеты (1600–1700 ккал/сут); 2-й группы (n=116) – модифицированный вариант стандартной изокалорийной диеты (2500–2700 ккал/сут) в течение 1 мес. Состав тела изучали методом биоимпедансометрии, активность АЛТ, аспаратаминотрансферазы, уровень общего холестерина, триглицеридов, липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), липопротеинов высокой плотности – в начале терапии и по результатам 2 видов диетотерапии через 1 мес. В 1-й группе снижение массы тела пациентов и уменьшение тощей массы было достоверно более выражено по сравнению с таковыми у больных 2-й группы ($9,3 \pm 1,8$ против $6,2 \pm 1,7$ кг; $6,6 \pm 0,4$ против $1,4 \pm 0,6$ кг соответственно, $p < 0,05$). Однако уменьшение жировой массы было более выражено у пациентов 2-й группы, получавших изокалорийный рацион ($4,8 \pm 0,7$ против $2,7 \pm 0,8$ кг, $p < 0,05$). У больных 2-й группы активность АЛТ достоверно уменьшилась (с $98,8 \pm 45,7$ до $77,5 \pm 41,7$ Ед/л, $p = 0,001$), в то время как у пациентов 1-й группы средние показатели трансаминаз не изменились, а у 72% было отмечено увеличение их абсолютных значений. В обеих группах пациентов отмечалось достоверное ($p < 0,05$) уменьшение всех показателей липидного обмена, за исключением ЛПНП. Индекс приверженности пациентов к назначенному рациону питания составил 85% во 2-й группе и 54% в 1-й группе. Таким образом, применение изокалорийного рациона у больных НАСГ приводит к нормализации АЛТ у большинства больных, лучшей приверженности к рациону,

достоверно большей утрате жировой массы тела и не сопровождается значимой утратой тощей массы тела по сравнению с использованием низкокалорийного рациона.

Ключевые слова: неалкогольная жировая болезнь печени, неалкогольный стеатогепатит, ожирение, гипокалорийная диета, изокалорийная диета

Diet modification is widely used for the treatment of non-alcoholic steatohepatitis (NASH). Caloric restriction was shown to be effective in normalizing blood lipid profile, increasing insulin sensitivity and subsequent normalization of aminotransferases blood level. The aim of the study was to compare low-calorie diet (LCD) with isocaloric diet (ICD) in patients with NASH. 174 NASH patients [86 females (39,43±1,53 years old) and 88 males (41,7±2,0), BMI 36,8±0,8 kg/m²] were randomly assigned (as 1:2) for LCD (1600–1700 kcal/day) or ICD (2500–2700 kcal/day) calculated according to patients' sex, age, resting energy expenditures and daily physical activity. Caloric restriction was achieved by decreasing consumption of carbohydrates and fat in LCD, whereas for ICD the caloric consumption was established according to the recommended daily values for proteins, fat and carbohydrates for ideal BMI for every patient. Blood chemistry and body composition were assessed at baseline and after 1 mo of prescribed diets. Compliance for the diet was also evaluated using previously validated questionnaire. After 1 mo of dietetic interventions total body mass and lean mass significantly decreased in both groups, but in LCD group it was significantly more prominent decrease in compare to ICD group (9,3±1,8 vs 6,2±1,7 kg and 6,6±0,4 vs 1,4±0,6 kg, p<0,05), whereas fat mass decreased better in ICD group (4,8±0,7 vs 2,7±0,8 kg, p<0,05). Mean ALT level was decreased in ICD group (77,5±41,7 vs 98,8±45,7, p<0,01), but not in LCD group (81,2±50,6 vs 77,2±31,8, p=NS) whereas blood cholesterol, triglycerides, high density lipoprotein were significantly decreased in both groups. Moreover, during the diet intervention in 72% of patients from LCD group ALT increased. Compliance index was much higher in ICD group, than in LCD group (85% vs 54%). Thus, one month of ICD leads to decrease in ALT activity in majority of NASH patients, higher loss of fat mass, lower loss of lean mass and associated with better compliance in compare to LCD.

Key words: non-alcoholic fatty liver disease, non-alcoholic steatohepatitis, obesity, low-calorie diet, isocaloric diet

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) относится к наиболее распространенным невирусным поражениям печени как в развитых, так и в развивающихся странах [3]. НАЖБП представлена в виде двух клинических форм – стеатоза и стеатогепатита, при этом последний является прогрессирующим заболеванием, в исходе которого формируются цирроз печени и печеночная недостаточность. По данным, полученным в развитых странах, к 2025 г. большинство трансплантаций печени в США будут выполняться по поводу цирроза в исходе неалкогольного стеатогепатита [7]. Таким образом, эффективное и своевременное лечение НАЖБП имеет важное социально-экономическое значение, так как может привести к снижению заболеваемости и прогрессированию неалкогольного стеатогепатита (НАСГ) и смертности, связанной с его осложнениями.

Оптимальное лечение НАЖБП до настоящего времени не определено. Широко изучалась эффективность различных диет и их комбинаций с физическими упражнениями, применением препаратов, влияющих на инсулинорезистентность, а также использование различных гепатопротекторов, в частности витамина Е и его сочетаний с другими витаминами [4]. Оптимальный состав диетического рациона для лечения больных стеатогепатитом не определен. С одной стороны, известно, что диета, приводящая к снижению массы жировой ткани на 5–10%, сопровождается уменьшением активности аланинаминотрансферазы (АЛТ), с другой стороны, в настоящее время все больше внимания уделяют не столько снижению калорийности рациона, сколько изменению его состава, полагая, что манипуляция соотношением макронутриен-

тов в рационе может дать больший эффект при лучшей приверженности и переносимости рациона питания пациентами [8].

Материал и методы

В исследование были включены 174 пациента (86 женщин и 88 мужчин) с неалкогольным стеатогепатитом, находившихся в отделении гастроэнтерологии и гепатологии ФГБУ «НИИ питания» РАМН. Протокол исследования был одобрен этическим комитетом ФГБУ «НИИ питания» РАМН. Перед включением в исследование все пациенты подписали информированное согласие. Средний возраст пациентов составил: у мужчин 41,7±2,0 года, у женщин 39,4±1,5 года, средний ИМТ (36,8±0,8 кг/м²) соответствовал ожирению II степени (62% больных) по классификации ВОЗ.

Диагноз неалкогольного стеатогепатита был установлен на основании следующих критериев: хроническое увеличение активности АЛТ в сыворотке крови, признаки жирового гепатоза при УЗИ печени, отсутствие маркеров вирусных гепатитов в сыворотке крови (анти-HCV, HBsAg и анти-HAV класса IgM), отсутствие маркеров аутоиммунного поражения печени (антигладкомышечные и антимитохондриальные антитела в диагностическом титре не определялись), отсутствие в анамнезе приема потенциально гепатотоксичных лекарственных препаратов или БАД, отсутствие употребления алкоголя в анамнезе и негативные значения тестов на употребление алкоголя CAGE (Cut-Annoyed-Guilty-Eye: в случае хотя бы одного положительного ответа – вероятное злоупотребление алкоголем) и AUDIT (The Alcohol Use Disorders Identification Test: >8 баллов – вероятное злоупотребление алкоголем).

Методом рандомизации пациенты были разделены на 2 группы: пациенты 1-й группы получали модифицированный вариант стандартного низкокалорийного рациона питания – НКД (согласно приказу Минздрава России от 2003 г. № 330) [2]: 1600–1700 ккал/сут: белок – 94–96 г/сут; жиры – 70–75 г/сут; углеводы – 150–160 г/сут); 2-я группа больных получала модифицированный вариант

стандартного изокалорийного рациона – ОВД: 2500–2700 ккал/сут: белок – 95–97 г/сут; жиры – 83–88 г/сут; углеводы – 358–380 г/сут. Редукция калорийности рациона питания у пациентов 1-й группы осуществлялась путем уменьшения количества общего жира и углеводов в рационе, в то время как у пациентов 2-й группы, получавших ОВД, количество жиров и углеводов соответствовало физиологическим нормам потребления (в расчете на идеальную массу тела). Количество белка в рационе питания было одинаковым в группах обследуемых и соответствовало физиологической квоте.

Группы пациентов не различались по возрасту, антропометрическим показателям, уровню основного обмена, уровню ежедневной физической активности, составу тела, наличию основного и сопутствующих заболеваний (табл. 1).

В исследование были включены пациенты 1-й и 2-й групп интенсивности труда (согласно МР 2.3.1.2432-08 «Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации»): в 1-й группе 85% пациентов относятся к 1-й группе интенсивности труда, 15% – ко 2-й; во 2-й группе 89% пациентов относятся к 1-й группе интенсивности труда, 11% – ко 2-й. Таким образом, пациенты обеих групп не различались и по среднему значению энерготрат в течение суток.

Продолжительность клинического наблюдения составила 1 мес. До начала диетотерапии и через 1 мес пациентам проводили:

- измерение антропометрических показателей [масса тела, обхват талии (ОТ), обхват бедер (ОБ), ОТ/ОБ, ИМТ] по стандартной методике: массу тела измеряли в утренние часы, натощак; ОТ измеряли в горизонтальной плоскости, на 5–6 см выше подвздошного гребня; ОБ измеряли в горизонтальной плоскости, под ягодичной складкой; ИМТ (индекс Кетле-II) рассчитывали по формуле Кетле;
- оценку фактического питания методом частотного анализа с использованием компьютерной программы «Анализ состояния питания человека» НИИ питания РАМН, 2003–2005 гг., которая позволяет автоматически рассчитать средне-

Таблица 1. Сравнительная характеристика групп пациентов, включенных в исследование (M±m)

Показатель	Больные НАСГ		p
	1-я группа (n=58)	2-я группа (n=116)	
Возраст, годы	40,55±1,83	41,68±1,99	>0,05
Масса тела, кг	103,7±1,52	104,5±1,44	>0,05
ИМТ, кг/м ²	36,2±0,15	37,49±0,18	>0,05
Соотношение ОТ/ОБ	0,96±0,02	0,97±0,01	>0,05
Уровень энерготрат покоя, ккал/сут	1840±1,2	1859±1,5	>0,05
Жировая масса, кг	46,16±0,42	48,23±0,83	<0,05

суточную калорийность и химический состав рациона питания больного [1];

- оценку состава тела (содержание жировой массы) методом биоимпедансометрии с помощью программного обеспечения «ABC01-036» анализатора «ABC-01» («МЕДАСС», РФ).

Исследование проводили натощак или не ранее чем через 2 ч после приема пищи в положении больного лежа на спине. На кожу тыльной поверхности правой кисти и стопы наклеивали по 2 одноразовых электрода, к которым прикрепляли клеммы прибора. Руки, туловище и обе ноги не соприкасались. Использовалась схема измерения от запястья до щиколотки по одной стороне тела:

- оценку липидного профиля проводили с помощью биохимического анализатора «Konelab30i» («Thermo scientific», Финляндия): содержание в сыворотке крови общего холестерина (ОХС, норма до 5,2 ммоль/л), холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП, норма до 3,80 ммоль/л), холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП, норма от 1,15 ммоль/л) триглицеридов (ТГ, норма до 1,70 ммоль/л);
- активность печеночных ферментов определяли с помощью биохимического анализатора «Konelab30i»: АЛТ (норма 0–40 МЕ/л), аспартат-аминотрансферазы (АСТ, норма 0–35 МЕ/л).

Один раз за время клинического наблюдения, в начале терапии, пациентам проводили оценку уровня энерготрат покоя методом непрямой респираторной калориметрии с помощью портативного калориметра «Fitmate» (COSMED, Italy). Исследование проводили утром, натощак, сразу после пробуждения, в положении больного лежа на спине. В основе исследования лежит измерение количества кислорода в выдыхаемом воздухе газовым анализатором, встроенным в прибор (содержание O_2 во вдыхаемом воздухе 20,93% на уровне моря (не измеряется), содержание O_2 в выдыхаемом воздухе вычисляется газоанализатором по формуле: $VO_2 = (20,93 - FeO_2) \times VE$), в течение 15 мин, с использованием одноразовой силиконовой маски. Первые 5 мин исследования прибор калибруют, в течение последующих 10 мин измеряют потребление кислорода. По истечении данного времени в протоколе исследования, который сразу же распечатывается, по средней величине минутного потребления VO_2 , полученной методом наименьших квадратов, вычисляли величину ЭП по формуле: $ЭП (ккал) = (3,9 + 1,1 \times 0,85) \times VO_2 (л/сут)$ и указывали ее расхождение с расчетными значениями (по Харрису–Бенедикту) в процентах:

Мужчины

$$БЭП (ккал) = 66,47 + (13,75 \times W) + (5,0 \times H) - (6,77 \times A);$$

$$БЭП (кДж) = 278 + (57,5 \times W) + (20,92 \times H) - (28,37 \times A).$$

Женщины

$$БЭП (ккал) = 655 + (9,56 \times W) + (1,85 \times H) - (4,67 \times A);$$

$$БЭП (кДж) = 274,1 + (40,0 \times W) + (7,74 \times H) - (19,68 \times A),$$

где W – фактическая масса тела (кг); H – рост (см); A – возраст (годы); 1 ккал = 4,184 кДж; кДж = 0,239 ккал.

Через 1 мес от начала терапии оценивали индекс приверженности пациентов к назначенному лечению (рациону питания), который представлял собой отношение числа пациентов, соблюдавших назначенный рацион, к общему числу пациентов, выраженный в процентах.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программы Statistica for Windows 8.0 (StatSoft, Inc. USA). Оценку достоверности отличий проводили с использованием непараметрического критерия Вилкоксона и критерия МакНемара.

Результаты

Оценку соответствия химического состава назначенных рационов питания физиологическим нормам питания для различных групп взрослого населения проводили с учетом следующих критериев: пол, возраст, ИМТ, характер труда (степень ежедневной физической нагрузки). Вариант диеты (1600–1700 ккал/сут), которую получали пациенты 1-й группы, являлся низкокалорийным для 100% обследованных. Второй вариант диеты (2500–2700 ккал/сут) для 60% пациентов являлся изокалорийным, т.е. полностью соответствовал их физиологическим потребностям, согласно нормам потребления, для 30% пациентов рацион являлся гипокалорийным (на 100–200 ккал/сут), для 10% – гиперкалорийным (на 200–400 ккал/сут).

Через 1 мес диетотерапии активность АЛТ и АСТ достоверно снизились у 86% пациентов 2-й группы, получавших изокалорийный рацион, напротив, у пациентов 1-й группы, получавшей низкокалорийный рацион, снижения уровней АЛТ и АСТ не произошло ни у одного пациента. При этом активность АЛТ, наоборот, повысилась у 72% пациентов 1-й группы через 1 мес лечения. Анализ показателей липидного профиля показал достоверное снижение уровня ОХС, ТГ и ЛПНП в обеих группах (табл. 2).

Анализ состава тела пациентов до и после лечения показал достоверно большую потерю тощей массы тела у пациентов 1-й группы по сравнению с таковой у больных 2-й группы, с чем, скорее всего, связано увеличение активности АЛТ на фоне лечения; уменьшение жировой массы тела было достоверно в 1,8 раза больше выраженным у больных из 2-й группы (табл. 3).

Таблица 2. Биохимические показатели крови пациентов в динамике ($M \pm \sigma$)

Показатель	1-я группа (n=58)		p	2-я группа (n=116)		p
	1-й день	30-й день		1-й день	30-й день	
АЛТ, Ед/л	77,2±31,8	81,2±50,6	0,75	98,8±45,7	77,5±41,7	0,001
АСТ, Ед/л	52,7±23,6	52,8±34,7	0,98	49,6±41,5	38,6±27,3	0,001
ОХС, ммоль/л	5,39±1,02	4,2±1,1	0,001	5,64±1,02	5,23±0,88	0,001
ТГ, ммоль/л	1,73±0,67	1,33±0,4	0,004	2,27±1,29	1,69±0,81	0,001
ХС ЛПНП, ммоль/л	3,44±0,84	2,76±0,91	0,001	3,40±1,01	3,31±0,86	0,31
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,24±0,35	0,94±0,15	0,001	1,21±0,27	1,14±0,26	0,02

Таблица 3. Изменение показателей состава тела после лечения ($M \pm \sigma$)

Показатель	Больные НАСГ		p
	1-я группа (n=58)	2-я группа (n=116)	
Снижение массы тела, кг	9,3±1,8	6,2±1,7	<0,05
Уменьшение жировой массы, кг	2,7±0,8	4,8±0,7	<0,05
Уменьшение тощей массы, кг	6,6±0,4	1,4±0,6	<0,05

Таблица 4. Сравнительная характеристика показателей фактического питания в начале и через 1 мес лечения ($M \pm \sigma$)

Показатель	1-я группа		p	2-я группа		p
	начало лечения	через 1 мес лечения		начало лечения	через 1 мес лечения	
Энергетическая ценность, ккал/сут	2592±465	2487±325	>0,05	1723±312	2610±256	<0,05
Белок, г/сут	96±3	95±4	>0,05	94±4	101±13	<0,05
Жиры, г/сут	85±5	87±4	>0,05	73±6	96±9	<0,05
НЖК, г/сут	46±5	43±8	>0,05	28±7	45±5	<0,05
ПНЖК, г/сут	30±5	33±6	>0,05	29±4	20±5	<0,05
ПНЖК-6, г/сут	27±6	25±4	>0,05	24±5	18±3	<0,05
ПНЖК-3, г/сут	5,4±2,1	7,2±1,8	>0,05	4,0±2,2	2,1±2,6	<0,05
ХС, мг/сут	368±16	354±18	>0,05	285±14	340±20	<0,05
Углеводы, г/сут	372±42	358±56	>0,05	155±37	335±47	<0,05
Пищевые волокна, г/сут	10,2±3,1	11,3±4,8	>0,05	8±2,2	4,2±1,8	<0,05

Индекс приверженности пациентов к назначенному лечению (рациону питания) был гораздо выше в 2-й группе, в отличие от 1-й группы: 85% пациентов из 2-й группы при повторном проведении оценки фактического питания показали те же результаты, что и в начале терапии, в 1-й группе лишь 54% пациентов оставались привержены назначенному рациону. Отсюда можно сделать вывод, что изокалорийный рацион питания с физиологической квотой белка, жиров и углеводов переносился пациентами гораздо комфортнее, чем низкокалорийный рацион (табл. 4).

Обсуждение

В нашем исследовании удалось показать влияние рациона на изменение состава тела у больных НАСГ. Традиционно считается, что снижение массы

тела в результате диетотерапии на 5–10% сопровождается уменьшением активности АЛТ, так как такое снижение массы тела обычно сопровождается значимым уменьшением жировой массы и уменьшением инсулинорезистентности, которой придают важное значение в патогенезе НАСГ [6].

Действительно, при использовании гипокалорийного рациона, снижение массы тела практически достигло 9% за 1 мес диетотерапии. В то же время при применении изокалорийного рациона снижение массы тела достигло практически 6%. Интересным оказалось то, что уменьшение жировой массы тела было почти в 2 раза больше в группе, получавшей изокалорийный рацион, при этом большая утрата массы тела у больных 1-й группы произошла за счет уменьшения тощей массы (см. табл. 3). Объяснений этому факту может быть несколько. Первое связано с мобилизацией тканей в процессе снижения калорийности рациона. В пер-

вую очередь мобилизации подвергаются запасы гликогена в печени, а также белок скелетных мышц. Именно в связи с этим уменьшение тощей массы тела у пациентов 1-й группы почти в 4 раза превосходило утрату тощей массы у больных из 2-й группы. Второе объяснение полученных данных связано с различием состава рациона у этих двух групп больных. Содержание белка в рационе этих групп не различалось, однако потребность в энергии у больных 1-й группы существенно превосходила общую калорийность назначенного им рациона питания. В среднем в домашних условиях больные обеих групп потребляли 3500–4000 ккал/сут. Вследствие этого среднее снижение калорийности от привычного для пациентов рациона в случае 1-й группы составило около 2300 ккал/сут, а во 2-й группе – всего лишь 1500 ккал/сут. Таким образом, даже того количества белка и других макронутриентов в рационе больных 1-й группы не хватало, чтобы предотвратить утрату мышечной массы. В то же время во 2-й группе больных изокалорийный рацион оказался ближе к физиологически требуемым для них, о чем свидетельствуют данные уровня энерготрат покоя, которые в обеих группах составили 1840–1860 ккал/сут (см. табл. 1). Таким образом, энергетическая ценность низкокалорийного рациона у части больных 1-й группы была даже ниже их энерготрат покоя. Из полученных данных можно сделать вывод, что у больных НАСГ при планировании диетических рационов их энергетическая ценность не должна быть ниже уровня энерготрат покоя, а в идеале превышать их на 20–25%. Только в этом случае удастся достичь оптимальных изменений в составе тела – минимальной утраты тощей массы и наибольшей утраты жировой массы тела.

При анализе результатов применения двух различных диетических рационов у больных НАСГ было показано, что использование изокалорийного рациона приводило к снижению активности АЛТ у большинства пациентов за 1 мес (см. табл. 2). У пациентов 1-й группы активность АЛТ и АСТ достоверно не изменилась (табл.2), однако у 72% больных было отмечено хоть и незначительное, но

повышение абсолютных показателей АЛТ. Таким образом, можно констатировать, что использование низкокалорийного рациона не помогло достигнуть у большинства пациентов основного критерия эффективности диетотерапии НАСГ – нормализации активности АЛТ и АСТ за 1 мес диетотерапии. Причина этого может крыться, с одной стороны, в резкой мобилизации липидов из гепатоцитов с образованием высокотоксичных метаболитов жирных кислот, с усилением так называемой липотоксичности [5], а также в связи с увеличением активности АЛТ за счет утилизации мышечной ткани и разрушения миоцитов.

Следует отметить, что применение низкокалорийного рациона было связано с более выраженной динамикой показателей общего холестерина, триглицеридов, липопротеидов по сравнению с таковыми у пациентов, получавших изокалорийный рацион, хотя эти показатели у них также достоверно снизились, за исключением ЛПНП, но не так выражено, как у больных 1-й группы. Более глубокие изменения в составе липидов крови у обследованных из 1-й группы, очевидно, связано с очень низкой калорийностью рациона и включением циркулирующих липидов в энергообмен.

Учитывая, что НАСГ – хроническое прогрессирующее заболевание метаболической природы, одним из компонентов успешного лечения является высокая приверженность больных к нему. В этом смысле изокалорийный рацион в значительной степени превосходил низкокалорийный по индексу приверженности к нему пациентов. Так, в конце первого месяца применения только 54% пациентов смогли соблюдать низкокалорийный рацион, в то время как во 2-й группе 85% больных были привержены назначенному рациону питания.

Таким образом, нам удалось продемонстрировать, что изокалорийный рацион у больных НАСГ приводит к нормализации активности АЛТ у большинства больных, не вызывает значимую утрату тощей массы и приводит к достоверно большей утрате жировой массы по сравнению с использованием низкокалорийного рациона.

Сведения об авторах

Селезнева Ксения Сергеевна – аспирант клиники ФГБНУ «НИИ питания» (отделение гастроэнтерологии и гепатологии) (Москва)

E-mail: xusha82@yandex.ru

Исаков Василий Андреевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением гастроэнтерологии и гепатологии клиники ФГБНУ «НИИ питания» (Москва)

E-mail: vasily.isakov@gmail.com

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

E-mail: bio45@inbox.ru

Кириллова Ольга Олеговна – аспирант клиники ФГБНУ «НИИ питания» (Москва)

E-mail: bio45@inbox.ru

Литература

1. Гаппарова К.М., Никитюк Д.Б., Зайнудинов З.М. и др. Особенности пищевого статуса, антропометрических и клинико-биохимических показателей у профессиональных спортсменов, занимающихся различными видами спорта // *Вопр. питания.* – 2011. – Т. 80, № 6. – С. 76–81.
2. Тутельян В.А., Шарифетдинов Х.Х., Погожева А.В., Плотникова О.А. Анализ нормативно-методической базы по организации лечебного питания в медицинских организациях Российской Федерации // *Вопр. питания.* – 2013. – Т. 82, № 3. – С. 19–29.
3. Masuoka H.C., Chalasani N. Nonalcoholic fatty liver disease: an emerging threat to obese and diabetic individuals // *Hepatology.* – 2013. – N 1281. – P. 106–122.
4. Marra F., Lotersztajn S. Pathophysiology of NASH: perspectives for a targeted treatment. HAL Archives Ouvertes – France, Author manuscript. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3984586/?report=printable>
5. Neuschwander-Tetri B.A. Hepatic lipotoxicity and the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis: the central role of nontriglyceride fatty acid // *Hepatology.* – 2010. – Vol. 52, N 2. – P. 774–788.
6. Promrat K., Kleiner D.E., Niemeier H.M. et al. Randomized controlled trial testing the effects of weight loss on nonalcoholic steatohepatitis // *Hepatology.* – 2010. – Vol. 51, N 1. – P. 121–129.
7. Serfaty L., Lemoine M. Definition and natural history of metabolic steatosis: clinical aspects of NAFLD, NASH and cirrhosis // *Diabetes Metab.* – 2008. – Vol. 34. – P. 634–637.
8. Torres D.M., Harrison S.A. Diagnosis and therapy of nonalcoholic steatohepatitis // *Gastroenterology.* – 2008. – Vol. 134. – P. 1682–1698.

References

1. Gapparova K.M., Nikitiuk D.B., Zainudinov Z.M. et al. The features nutritional status, anthropometric, clinical and biochemical indicators of professional athletes, engaged in different sports // *Vopr. Pitan.* – 2011. – Vol. 80, N 6. – P. 76–81.
2. Tutelyan V.A., Sharafetdinov H.H., Pogozeva A.V., Plotnikova O.A. Analysis of normative-methodical base for organization clinical nutrition in medical organization of Russian Federation // *Vopr. Pitan.* – 2013. – Vol. 82, N 3. – P. 19–29.
3. Masuoka H.C., Chalasani N. Nonalcoholic fatty liver disease: an emerging threat to obese and diabetic individuals // *Hepatology.* – 2013. – N 1281. – P. 106–122.
4. Marra F., Lotersztajn S. Pathophysiology of NASH: perspectives for a targeted treatment. HAL Archives Ouvertes – France, Author manuscript. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3984586/?report=printable>
5. Neuschwander-Tetri B.A. Hepatic lipotoxicity and the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis: the central role of nontriglyceride fatty acid // *Hepatology.* – 2010. – Vol. 52, N 2. – P. 774–788.
6. Promrat K., Kleiner D.E., Niemeier H.M. et al. Randomized controlled trial testing the effects of weight loss on nonalcoholic steatohepatitis // *Hepatology.* – 2010. – Vol. 51, N 1. – P. 121–129.
7. Serfaty L., Lemoine M. Definition and natural history of metabolic steatosis: clinical aspects of NAFLD, NASH and cirrhosis // *Diabetes Metab.* – 2008. – Vol. 34. – P. 634–637.
8. Torres D.M., Harrison S.A. Diagnosis and therapy of nonalcoholic steatohepatitis // *Gastroenterology.* – 2008. – Vol. 134. – P. 1682–1698.

Для корреспонденции

Мурадянц Анаида Арсентьевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры факультетской терапии им. акад. А.И. Нестерова лечебного факультета ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России
 Адрес: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1
 Телефон: (495) 536-96-12
 E-mail: elitarsoft@list.ru

Н.А. Шостак, А.А. Мурадянц, А.А. Кондрашов, С.Н. Денисова

Клиническая эффективность быстрорастворимого козьего молока в комплексной терапии и профилактике остеопороза у больных ревматоидным артритом

Clinical efficacy instant goat milk in the complex therapy and prevention of osteoporosis in patients with rheumatoid arthritis

N.A. Shostak, A.A. Muradyants, A.A. Kondrashov, S.N. Denisova

ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва
 Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow

Проведено исследование минерального и костного метаболизма у больных ревматоидным артритом (РА) с остеопеническим синдромом, а также оценена эффективность комплексной терапии и профилактики остеопороза (ОП) при дополнительном введении в рацион сухого козьего молока «Амалтея®». В исследование были включены 42 пациента с достоверным диагнозом РА (АКР, 1987), из них 23 мужчины (средний возраст 59 лет) и 19 женщин в постменопаузе (средний возраст 62 года) с ОП и остеопенией по данным двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии. 21 (50%) больной РА (основная группа) получал стандартную антиостеопоротическую терапию (алендронат 70 мг/нед + кальций 1000 мг/сут + витамин D₃ 800 МЕ/сут) и сухое молоко «Амалтея®» (400 мл/сут). Контрольная группа (21 пациент с РА) получала только стандартную антиостеопоротическую терапию. Период наблюдения составил 6 мес. Концентрация общего кальция в крови у больных РА составила в среднем 2,33 ммоль/л, ионизированного Ca – 1,18 ммоль/л и неорганического P – 1,09 ммоль/л, что соответствует нормальным значениям. Дефицит витамина D обнаружен у 17,5% больных, а недостаточность – у 32,5% больных РА. За период лечения выявлена тенденция к снижению b-CrossLaps в крови в обеих группах при значимом снижении маркера костеобразования остеокальцина через 6 мес в группе, не получавшей дополнительно козье молоко (p=0,02). Также на фоне проводимой комбинированной терапии несколько повышалась концентрация 25(OH)D и 1,25(OH)₂D в сыворотке крови (на 18,5–28,2% в основной группе и на 8,0–17,9% в контрольной), однако различия не достигали уровня достоверной значимости. Таким образом, сниженный уровень витамина D в крови характерен для 50% больных РА с остеопеническим синдромом при нормальных показателях кальций-фосфорного обмена. Комбинированная терапия и профилактика остеопороза у больных РА с дополнительным включением в рацион ежедневного при-

ема 400 мл козьего молока «Амалтея®» оказывают положительное влияние на состояние костного метаболизма.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, остеопороз, комплексная терапия, козье молоко

Osteoporosis (OP) in rheumatoid arthritis (RA) refers to a secondary immune-mediated metabolic osteopathy characterized by periarticular and systemic decreased bone mass, impaired bone strength and increased risk of fractures. According to some studies, adding milk in the diet helps to increase bone mineral density and to reduce the risk of osteoporosis and maintain normal levels of vitamin D. To study the state of mineral and bone metabolism in RA patients with osteopenic syndrome and to evaluate the effectiveness of treatment and prevention of OP by adding dry goat milk «Amaltea» in the diet. The study included 42 patients with a documented diagnosis of RA (ACR, 1987) – 23 men (mean age 59 years) and 19 postmenopausal women (mean age 62 years) with the presence of osteoporosis and osteopenia according to the dual-energy X-ray absorptiometry. 21 (50%) RA patients (main group) received standard antiosteoporotic therapy (alendronate 70 mg/week + calcium 1000 mg/day + Vitamin D₃ 800 IU/day) and milk powder Amaltea® (400 ml/day). The control group (21 patients with RA) received only standard antiosteoporotic therapy. Follow-up lasted for 6 months. The concentration of total calcium in the blood of RA patients was on average 2.33 mmol/l, ionized Ca – 1,18 mmol/l and inorganic P – 1,09 mmol/l, which corresponds to normal values. Vitamin D deficiency was found in 17,5% of patients, and failure – in 32,5% of patients with RA. After 6 months of the treatment it was found that b-CrossLaps levels tend to be reducing in both of the groups and with reduction of bone formation marker osteocalcin in the group not receiving goat milk. Also, due to the background of ongoing combinative therapy it was clear that concentrations of 1,25(OH)₂D and 25(OH)D in the blood serum are increasing (by 18,5-28,2% at the main group and by 8,0-17,9% at the control group), however, inter-group differences was below the level of the reliable importance. It was strongly marked in the group who received goat's milk «Amaltea®». Reduced levels of vitamin D in the blood is typical for 50% of RA patients with osteopenic syndrome with normal values of calcium-phosphorus metabolism. Combination therapy and prevention of osteoporosis in patients with RA with an additional inclusion in the diet of the daily administration of 400 ml of goat's milk «Amaltea®» has a positive impact on bone metabolism.

Key words: rheumatoid arthritis, osteoporosis, complex therapy, goat's milk

Остеопороз (ОП) при ревматоидном артрите (РА) относится к вторичным иммуноопосредованным метаболическим остеопатиям, характеризующимся периартикулярным и системным снижением костной массы, нарушением прочности кости и увеличением риска переломов. Развитие ОП является одним из наиболее тяжелых осложнений РА, определяющим неблагоприятное течение и прогноз болезни. У больных РА ОП встречается в 2–3 раза чаще, а частота переломов в 1,5–2,5 раза выше, чем в общей популяции [7]. Развитие остеопоротических переломов сопряжено с инвалидизацией и высокой смертностью лиц пожилого возраста, что ставит данную проблему в число приоритетных.

Среди лекарственных средств, рекомендованных для лечения и профилактики ОП, бис-

фосфонаты (БФ) являются препаратами первого выбора. Механизм их действия обусловлен непосредственным воздействием на остеокласты (подавление их активности, индукция апоптоза), связыванием с гидроксиапатитом на резорбтивной поверхности и стимуляцией образования костной ткани. Алендронат является препаратом выбора из группы БФ с доказанной эффективностью и безопасностью как в профилактике, так и при лечении ОП [2].

Процессы ремоделирования кости и ее минерализация тесно связаны с кальций-фосфорным обменом. По данным метаанализа, ежедневное употребление 1500 мг кальция и 800 МЕ витамина D лицами старше 50 лет достоверно снижает риск развития остеопоротических переломов на 10–15% [9]. Доказано, что достаточное количество

во кальция, поступающего с пищей, также уменьшает риск переломов [4, 6].

Молоко и молочные продукты – основные источники кальция. Установлено, что дополнительное введение в рацион молока более 1 порции в сутки приводит к увеличению минеральной плотности кости (МПК), снижению риска ОП и поддержанию нормального уровня 25(OH) витамина D [5]. Козье молоко обладает рядом преимуществ перед коровьим, его отличают [1, 10]:

- высокое содержание витамина D (250 нг/мл) по сравнению с коровьим (63,0 нг/мл);
- высокое содержание лизина и цистеина, способствующих образованию хелатных комплексов с железом, что улучшает его всасывание;
- высокая усвояемость жиров козьего молока за счет меньшего размера глобул жира по сравнению с коровьим молоком и высокого содержания коротко- и среднецепочечных триглицеридов;
- отсутствие высокоаллергенного белка альфа-S1-казеина.

«Амалтея®» – быстрорастворимое козье молоко, обогащенное железом, йодом, селеном, витамином С, фолиевой кислотой, содержит L-карнитин и кальций в легкоусвояемой форме. 1 стакан такого козьего молока содержит 240 мг кальция.

Целями работы были изучение состояния кальций-фосфорного обмена и костного метаболизма у больных РА с остеопеническим синдромом и оценка эффективности комплексной терапии и профилактики ОП при дополнительном введении в рацион сухого козьего молока «Амалтея®».

Материал и методы

В исследование были включены 42 пациента с достоверным диагнозом РА (по критериям Американской коллегии ревматологов, 1987), из них 23 мужчин (средний возраст 59 лет) и 19 женщин в постменопаузе (средний возраст 62 года) с ОП и остеопенией по данным двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии. Длительность РА составила 6,1 [2,5; 12] года. 33 (78,6%) больных были серопозитивны по ревматоидному фактору (РФ), 42,8% больных имели внесуставные проявления, 30,9% – переломы в анамнезе и 24 (57,1%) получали глюкокортикоиды (ГК). Клиническая характеристика больных представлена в табл. 1.

Все больные были разделены на 2 группы:

- основную группу составил 21 (50%) пациент с РА, который получал стандартную антиостеопоротическую терапию (алендронат 70 мг/нед + кальций 1000 мг/сут + витамин D₃ 800 МЕ/сут) и козье молоко «Амалтея®» (400 мл/сут);
- в контрольную группу вошел 21 пациент с РА; эти больные получали только стандартную антиостеопоротическую терапию (алендронат 70 мг/нед + кальций 1000 мг/сут + витамин D₃ 800 МЕ/сут).

Срок наблюдения – 6 мес. Завершили исследование 25 (59,5%) пациентов. Состояние кальций-фосфорного обмена оценивали по уровням общего кальция (Са), фосфора (Р), ионизированного Са в сыворотке крови и их экскреции в суточной моче. Содержание общего Са и Р в сыворотке крови и моче определяли с помощью реагентов «Каль-

Таблица 1. Клиническая характеристика больных ревматоидным артритом [Ме [25%; 75%] и в абс. (%)]

Показатель	В целом (n=42)	Мужчины	Женщины
Возраст, годы	59 [56; 65]	59 [55; 64]	62 [56; 70]
Рост, см	167 [160; 176]	173 [170; 180]	160 [157; 164]
Масса тела, кг	72 [61; 80]	78 [71; 87]	60,5 [57; 68]
ИМТ, кг/м ²	24,9 [22,9; 27,1]	24,6 [23,7; 28,7]	25,4 [21,9; 26,6]
Длительность РА, мес	73 [30; 144]	48 [24; 86]	120 [60; 180]
РФ+	33 (78,6 %)	17 (40,5)	14 (0, 78,6)%
Внесуставные проявления	18 (42,8%)	9 (21,4%)	9 (21,4%)
DAS28	4,81 [3,64; 5,34]	4,42 [3,24; 5,34]	5,05 [3,84; 5,34]
Рентгенологическая стадия:			
I–II	17 (40,5%)	10 (23,8%)	7 (16,7%)
III–IV	25 (59,5%)	14 (33,3%)	11 (26,2%)
ФК:			
I–II	29 (69%)	17 (40,5%)	12 (28,6%)
III–IV	13 (30,9%)	6 (28,6)	7 (35%)
HAQ	1,38 [0,875; 2,125]	1,37 [0,625; 2,125]	1,4 [1,0; 1,7]
ГК+	18 (42,9%)	7 (16,7%)	11 (26,9%)
Переломы в анамнезе	13 (30,9%)	4 (9,5%)	9 (21,4)
Риск переломов (основных) по FRAX	12 [7,75; 17]	8,7 [7; 10]	17 [14; 30]

Примечание. ФК – функциональный класс, HAQ – анкета оценки здоровья (Health Assessment Questionnaire), ГК+ – прием глюкокортикоидов.

ций-Витал» и «Фосфор-Витал» («Витал-Диагностикс СПб», РФ) для анализатора Konelab 60i («Thermo Clinical LabSystems», Финляндия) и калибраторов «Кальций-Витал» и «Фосфор-Витал» («Витал-Диагностикс СПб», РФ). Ионизированный Са тестировали в гепаринизированной сыворотке на биохимическом анализаторе Konelab 60i с помощью ионоселективных проточных электродов.

В качестве специфических маркеров костного метаболизма определяли содержание остеокальцина, щелочной фосфатазы и С-концевого телопептида (b-CrossLaps) сыворотки крови. Также исследовали паратиреоидный гормон (ПТГ), активные метаболиты витамина D – кальцитриол (1,25-дигидроксивитамин D) и альфа-кальцидол (25-гидроксивитамин D). Маркеры костного обмена, ПТГ и активных метаболитов витамина D исследовали методом иммуноферментного анализа с использованием наборов фирмы «Immunodiagnostic Systems Ltd.» («IDS», США) к автоматическому многоканальному фотометру ELx808 для микропланшетов («BioTek Instruments», США).

Дефицит витамина D определяли при концентрации 25(OH)D <20 нг/мл, недостаточность витамина D – при уровне 21–29 нг/мл [8].

Всем пациентам выполняли двухэнергетическую рентгеновскую абсорбциометрию (DXA) с оценкой композиционного состава тела (Whole body) и МПК поясничного отдела позвоночника и проксимального отдела бедра на денситометре «STRATOS dR» (DMS, Франция). При оценке результатов денситометрии использовали рекомендации ВОЗ (1994), согласно которым снижение МПК по Т-критерию более чем на -1,0 стандартное отклонение (SD) рассматривается как остеопения, а более -2,5 SD – как ОП.

Статистический анализ проводили при помощи пакета программ Statistica 7.0 («Statsoft», США). При описании признаков применялись медиана и интерквартильный интервал (25-й; 75-й процентиля). Для сравнения двух независимых групп по количественным признакам использовали непараметрический метод – критерий Манна–Уитни.

Анализ взаимосвязи двух признаков проводили с использованием непараметрического корреляционного анализа по методу Спирмена. Для всех видов анализа различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

По данным исследования МПК, у 78,6% больных РА наблюдалась остеопения и у 21,4% больных – ОП с преимущественным снижением МПК в поясничном отделе позвоночника (табл. 2).

Результаты оценки композиционного состава тела представлены в табл. 3. Тощая масса (ТМ) тела и конечностей была значимо ниже у лиц женского пола по сравнению с мужчинами. У 17 (40,5%) больных РА диагностирована саркопения в соответствии с индексом ТМ [суммарная ТМ верхних и нижних конечностей (кг)/рост (м²)], предложенным R. Baumgartner и соавт. (1998) [3].

Концентрация общего Са в крови у больных РА составила в среднем 2,33 ммоль/л, ионизированного Са – 1,18 ммоль/л и неорганического Р – 1,09 ммоль/л, что соответствует нормальным значениям (табл. 4). Только у 5 (12,5%) больных выявлена умеренная гипокальциемия, а у 12 (30%) больных – повышенный уровень ПТГ. Дефицит витамина D обнаружен у 17,5% больных, а недостаточность – у 32,5% больных РА.

Выявлена значимая ($p < 0,05$) отрицательная корреляционная зависимость между МПК L1–L4 и уровнем ПТГ ($r = -0,3$), а также содержанием ионизированного Са ($r = -0,32$) в крови (табл. 5). Уровень ПТГ отрицательно коррелировал с серопозитивностью по РФ, количеством болезненных суставов, индексом массы тела и возрастом пациентов. Маркер костеобразования остеокальцин отрицательно коррелировал ($p < 0,05$) с такими показателями заболевания, как рентгенологическая стадия ($r = -0,32$), функциональный класс ($r = -0,47$) и РФ ($r = -0,38$), а содержание 1,25(OH)₂

Таблица 2. Состояние минеральной плотности кости у больных ревматоидным артритом (n=42)

Показатель	Больные РА	Женщины	Мужчины
Шейка бедра: МПК, г/см ² Т-критерий (SD)	0,77 [0,7; 0,875] -1,7 [-2,1; -0,8]	0,68 [0,62; 0,88] -1,9 [-2,5; -0,5]	0,81 [0,74; 0,89] -1,4 [-1,9; -1]
Все бедро (total hip): МПК, г/см ² Т-критерий (SD)	0,94 [0,85; 1,04] -0,95 [-1,4; -0,5]	0,85 [0,75; 0,92] -1,3 [-2,1; -0,8]	0,98 [0,94; 1,06] -0,8 [-1,1; -0,4]
Поясничный отдел позвоночника: МПК, г/см ² Т-критерий (SD)	0,86 [0,81; 0,94] -1,9 [-2,2; -1,2]	0,83 [0,77; 0,92] -2,1 [-2,6; -1,3]	0,9 [0,82; 0,98] -1,5 [-2; -1]
Остеопения, абс (%)	33 (78,6%)	11	21
Остеопороз, абс. (%)	9 (21,4%)	7	2

Таблица 3. Композиционный состав тела у больных ревматоидным артритом

Показатель	Больные РА	Женщины	Мужчины
СКМ, %	2,91 [2,6; 3,2]	2,7 [2,5; 2,9]	3,1 [2,8; 3,5]
ЖМ, %	35,4 [28,4; 38,6]	38,1 [36,9; 41,2]	28,7 [25,6; 34,1]
ТМ, %	61,8 [58,4; 68,3]	58,4 [56,1; 60,3]	68,1 [62,8; 71]
ТМ верхних конечностей, кг	4,7 [3,6; 6,4]	3,68 [3,4; 3,9]	5,9 [5,4; 6,8]
ТМ нижних конечностей, кг	13 [10,8; 16,4]	11,04 [10,2; 12,2]	15,8 [13,1; 17,6]
Суммарная ТМ конечностей, кг	16,87 [14,1; 21,8]	14,76 [13,7; 16,2]	21,7 [16,9; 23,6]
ТМ общая, кг	44,4 [33,3; 49,2]	33,1 [30,9; 37,6]	48,05 [45,3; 53,4]
ЖМ общая, кг	22,7 [18,9; 27,2]	23,8 [21,1; 27,9]	21,5 [16,6; 26,7]

Примечание. ТМ – тощая масса, ЖМ – жировая масса, СКМ – содержание костного минерала.

Таблица 4. Состояние костного метаболизма, кальций-фосфорного обмена и витамина D у больных ревматоидным артритом исходно и через 6 мес антиостеопоротической терапии

Показатель	1-я группа (молоко +)	2-я группа (молоко -)	p_{1-2}	1-я группа* (через 6 мес)	p_{1-1}^*	2-я группа* (через 6 мес)	p_{2-2}^*
Кальций общий, ммоль/л	2,29 [2,24; 2,36]	2,36 [2,25; 2,5]	0,1	2,3 [2,15; 2,61]	0,6	2,36 [2,3; 2,37]	1
Кальций ионизированный, ммоль/л	1,16 [1,13; 1,21]	1,18 [1,13; 1,21]	0,3	1,15 [1,11; 1,2]	0,6	1,14 [1,13; 1,17]	1
Фосфор неорганический, ммоль/л	1,09 [1,01; 1,13]	1,08 [0,98; 1,16]	0,9	0,93 [0,85; 1,0]	0,3	1,0 [0,99; 1,03]	0,5
Кальций (в моче), ммоль/сут	5,35 [3,9; 7,4]	3,0 [2,4; 4,9]	0,01	5,2 [3,2; 8,4]	0,5	3,8 [3,3; 7,8]	0,7
Фосфор неорганический (в моче), ммоль/сут	21,85 [11,1; 35,0]	22,65 [12,0; 28,15]	0,9	9,18 [2,7; 25,2]	0,3	24,8 [20,7; 29,0]	0,7
Щелочная фосфатаза, ед/л	77,0 [64,5; 88,0]	84,0 [69,0; 96,5]	0,6	–	–	–	–
Остеокальцин, нг/мл	3,7 [2,4; 5,3]	4,0 [2,5; 7,2]	0,7	2,2 [2,0; 4,4]	0,5	2,0 [2,0; 2,9]	0,02
b-CrossLaps, нг/мл	0,33 [0,2; 0,4]	0,37 [0,2; 0,4]	0,4	0,22 [0,1; 0,29]	0,1	0,29 [0,2; 0,37]	0,7
ПТГ, пг/мл	54 [49,4; 79,5]	59,3 [45,7; 115,0]	0,3	60,8 [43,0; 108,0]	0,3	46,3 [39,1; 65,8]	0,7
1,25(OH) ₂ D, пг/мл	33,05 [26,77; 42,06]	31,91 [24,21; 42,77]	0,9	42,36 [34,87; 45,01]	0,4	37,63 [30,23; 40,12]	0,7
25(OH)D, нг/мл	31,06 [26,13; 40,12]	27,93 [22,77; 37,62]	0,4	36,82 [30,24; 38,03]	0,4	30,16 [28,41; 33,24]	0,7
Тестостерон, нг/мл	9,53 [5,92; 16,31]	5,24 [3,76; 9,2]	0,1	7,07 [5,74; 8,35]	0,8	4,27 [3,83; 4,62]	1

витамина D было ассоциировано с продолжительностью утренней скованности и наличием внесуставных показателей.

Показатели кальций-фосфорного обмена исходно и через 6 мес лечения не выходили за пределы нормативных значений. Различий в обследуемых группах не отмечено, за исключением более высокого исходного уровня суточной экскреции кальция с мочой в основной группе ($p=0,01$), который был в последующем нивелирован на фоне проводимой терапии (см. табл. 4). За период лечения выявлено незначительное повышение b-CrossLaps в крови пациентов из обеих групп при значимом снижении маркера костеобразования остеокальцина через 6 мес в группе, не получавшей дополнительно козьего молока ($p=0,02$). Также на фоне проводимой комбинированной терапии несколько повышалась концентрация 25(OH)D и 1,25(OH)₂D в сыворотке крови (на 18,5–28,2% в основной

группе и на 8,0–17,9% в контрольной), однако различия не достигали уровня достоверной значимости.

В группе больных, получавших дополнительно к стандартной антиостеопоротической терапии молочную диету, симптомов непереносимости или аллергических реакций не отмечено. Все пациенты отмечали приятный вкус продукта.

Выводы

1. Состояние кальций-фосфорного обмена у больных РА с остеопеническим синдромом характеризуется недостаточным уровнем витамина D у 50% больных при нормальном содержании кальция и фосфора в сыворотке крови, что свидетельствует о сохранности компенсаторных механизмов поддержания кальций-фосфорного гомеостаза.

Таблица 5. Корреляционная связь между показателями кальций-фосфорного обмена, костного метаболизма и значениями минеральной плотности кости, состава тела и основными характеристиками ревматоидного артрита

Показатель	Са общ., ммоль/л	Са иониз., ммоль/л	Фосфор, ммоль/л	ПТГ, пкг/мл	В-CrossLaps	Остеокальцин, нг/мл	Тестостерон общий, нг/дл
Возраст	0,134	-0,108	-0,063	-0,333	-0,064	-0,039	-0,118
ИМТ, кг/м ²	0,275	0,118	-0,084	0,335	-0,239	0,148	-0,505
% кости	-0,34	-0,254	-0,177	-0,084	0,079	0,087	0,329
% тканей	-0,29	-0,175	-0,338	-0,173	0,049	0,027	0,438
% жира	0,286	0,176	0,33	0,165	-0,055	-0,028	-0,438
МПК L1–L4, г/см ²	-0,135	-0,294	0,147	-0,312	-0,016	0,068	0,173
МПК L1–L4 (Т-критерий)	-0,129	-0,315	0,11	-0,33	-0,032	0,076	0,174
ЖМ конечностей, кг	0,288	0,323	0,284	0,183	-0,014	0,23	-0,048
ТМ общая, кг	-0,106	-0,312	-0,223	0,034	-0,251	0,022	-0,313
ЖМ общая, кг	0,305	-0,053	0,098	0,199	-0,386	-0,024	-0,537
Количество болезненных суставов из 28	0,013	-0,07	-0,044	-0,343	-0,295	-0,079	-0,145
Активность, DAS28	0,043	0,15	0,093	0,031	-0,072	-0,089	0,158
Рентгенологическая стадия	-0,197	-0,258	-0,138	0,067	-0,213	-0,317	0,244
ФК	-0,108	-0,107	-0,107	0,034	-0,227	-0,469	0,082
Наличие РФ	0,088	0,076	0,241	-0,36	0,132	0,428	-0,074
Прием ГК	0,096	0,065	0,067	0,100	0,177	0,236	0,27
РФ, МЕ/мл	0,159	-0,096	-0,364	0,135	-0,352	-0,384	-0,034

2. Выявленные корреляции между отдельными клинико-рентгенологическими показателями РА (количество болезненных суставов, утренняя скованность, внесуставные проявления, серопозитивность по РФ) и уровнем ПТГ, остеокальцина, витамина D в сыворотке крови свидетельствуют о возможном влиянии заболевания на состояние костного метаболизма.

3. Комбинированная терапия и профилактика остеопороза у больных РА с дополнитель-

ным включением в рацион ежедневного приема 400 мл козьего молока «Амалтея®» оказывают положительное влияние на состояние костного метаболизма в виде снижения уровня костной резорбции.

4. Полученные данные указывают на перспективность и целесообразность применения диетического продукта на основе сухого козьего молока «Амалтея®» у больных РА в качестве дополнительного компонента к стандартной антирезорбтивной терапии и профилактике остеопороза.

Сведения об авторах

Шостак Надежда Александровна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой факультетской терапии им. акад. А.И. Нестерова лечебного факультета ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России (Москва)

E-mail: shostakkaf@yandex.ru

Мурадянц Анаида Арсентьевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры факультетской терапии им. акад. А.И. Нестерова лечебного факультета ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России (Москва)

E-mail: elitarsoft@list.ru

Кондрашов Артем Александрович – ассистент кафедры факультетской терапии им. акад. А.И. Нестерова лечебного факультета ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России (Москва)

E-mail: kaartem@gmail.com

Денисова Светлана Николаевна – доктор медицинских наук, профессор кафедры факультетской терапии им. акад. А.И. Нестерова лечебного факультета ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, врач-педиатр ГБУЗ «Детская городская клиническая больница № 9 им. Г.Н. Сперанского» Департамента здравоохранения г. Москвы

Телефон: (499) 259-01-08

Литература

1. *Конь И.Я.* Козье молоко в питании детей раннего возраста // Детский доктор. – 2000, № 2. – С. 55–58.
2. *Шостак Н.А., Мурадянц А.А.* Остеопороз в практике амбулаторного врача: вопросы диагностики и лечения // Справочник поликлинического врача. – 2012, № 9. – С. 18–25.
3. *Baumgartner R.N., Koehler K.M., Gallagher D. et al.* Epidemiology of sarcopenia among the elderly in New Mexico // Am. J. Epidemiol. – 1998. – Vol. 47. – 755–763.
4. *Feskanich D., Willett W.C., Colditz G.A.* Calcium, vitamin D, milk consumption, and hip fractures: a prospective study among postmenopausal women // Am. J. Clin. Nutr. – 2003. – Vol. 77. – P. 504–511.
5. *Hong H., Eun-Kyung Kim, Jung-Sug Lee.* Effects of calcium intake, milk and dairy product intake, and blood vitamin D level on osteoporosis risk in Korean adults: analysis of the 2008 and 2009 Korea National Health and Nutrition Examination Survey // Nutr. Res. Pract. – 2013. – Vol. 7, N 5. – P. 409–417.
6. Institute for Clinical Systems Improvement (ICSI) Health Care Guideline: Diagnosis and Treatment of Osteoporosis. – 3rd edition, July 2004. www.icsi.org
7. *Kim S.Y., Schneeweiss S., Liu J. et al.* Risk of osteoporotic fracture in a large population-based cohort of patients with rheumatoid arthritis // Arthr. Res. Ther. – 2010. – Vol. 12. – P. 154.
8. *Rizzoli R., Boonen S., Brandi M.L. et al.* Vitamin D supplementation in elderly or postmenopausal women: a 2013 update of the 2008 recommendations from the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO) // Curr. Med. Res. Opin. – 2013. – Vol. 29, N 4. – P. 1–9.
9. *Tang B.M., Elick G.D., Nowson C. et al.* Use of calcium or calcium in combination with vitamin D supplementation to prevent fractures and bone loss in people aged 50 years and older: a meta-analysis // Lancet. – 2007. – Vol. 25, N 370. – P. 657–666.
10. *Tenness R.* Composition and characteristics of goats milk // J. Dairy Sci. – 1990. – Vol. 63. – P. 1605–1630.

References

1. *Kon' I.Ya.* Goat's milk in the diet of young children // Detskiy doktor. – 2000, № 2. – С. 55–58.
2. *Shostak N.A., Muradyants A.A.* Osteoporosis in outpatient physician practice: issues of diagnosis and treatment // Spravochnik poliklinicheskogo vracha. – 2012, № 9. – С. 18–25.
3. *Baumgartner R.N., Koehler K.M., Gallagher D. et al.* Epidemiology of sarcopenia among the elderly in New Mexico // Am. J. Epidemiol. – 1998. – Vol. 47. – 755–763.
4. *Feskanich D., Willett W.C., Colditz G.A.* Calcium, vitamin D, milk consumption, and hip fractures: a prospective study among postmenopausal women // Am. J. Clin. Nutr. – 2003. – Vol. 77. – P. 504–511.
5. *Hong H., Eun-Kyung Kim, Jung-Sug Lee.* Effects of calcium intake, milk and dairy product intake, and blood vitamin D level on osteoporosis risk in Korean adults: analysis of the 2008 and 2009 Korea National Health and Nutrition Examination Survey // Nutr. Res. Pract. – 2013. – Vol. 7, N 5. – P. 409–417.
6. Institute for Clinical Systems Improvement (ICSI) Health Care Guideline: Diagnosis and Treatment of Osteoporosis. – 3rd edition, July 2004. www.icsi.org
7. *Kim S.Y., Schneeweiss S., Liu J. et al.* Risk of osteoporotic fracture in a large population-based cohort of patients with rheumatoid arthritis // Arthr. Res. Ther. – 2010. – Vol. 12. – P. 154.
8. *Rizzoli R., Boonen S., Brandi M.L. et al.* Vitamin D supplementation in elderly or postmenopausal women: a 2013 update of the 2008 recommendations from the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO) // Curr. Med. Res. Opin. – 2013. – Vol. 29, N 4. – P. 1–9.
9. *Tang B.M., Elick G.D., Nowson C. et al.* Use of calcium or calcium in combination with vitamin D supplementation to prevent fractures and bone loss in people aged 50 years and older: a meta-analysis // Lancet. – 2007. – Vol. 25, N 370. – P. 657–666.
10. *Tenness R.* Composition and characteristics of goats milk // J. Dairy Sci. – 1990. – Vol. 63. – P. 1605–1630.

Для корреспонденции

Перова Ирина Борисовна – младший научный сотрудник лаборатории метаболического и протеомного анализа ФГБНУ «НИИ питания», соискатель научной степени кандидата фармацевтических наук кафедры фармацевтической и токсикологической химии фармацевтического факультета ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России
 Адрес: 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14
 Телефон: (495) 698-53-92
 E-mail: Erin.Feather@yandex.ru, Erin.Feather@gmail.com

И.Б. Перова^{1,2}, А.А. Жогова^{1,2}, А.В. Полякова¹, К.И. Эллер¹, Г.В. Раменская², И.А. Самылина²

Биологически активные вещества плодов кизила (*Cornus mas* L.)

Biologically active substances
of cornelian cherry fruits
(*Cornus mas* L.)

I.B. Perova^{1,2}, A.A. Zhogova^{1,2},
A.V. Polyakova¹, K.I. Eller¹,
G.V. Ramenskaya², I.A. Samylina²

¹ ФГБНУ «НИИ питания», Москва

² ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России

¹ Institute of Nutrition, Moscow

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University

Десять образцов свежесамороженных плодов кизила обыкновенного (Cornus mas L.), собранных в Тамбовской области и в Кавказском регионе, исследованы на содержание и состав основных биологически активных веществ: антоцианинов, проантоцианидинов, дигидроксикоричных кислот, иридоидов, органических кислот, моно- и дисахаридов, а также антирадикальную активность в DPPH-тесте in vitro. Содержание полифенольных соединений, определенное по методу Фолина-Чокальтеу, составило 150–400 мг/100 г свежих плодов. Содержание олигомерных проантоцианидинов, определенное по методу Бейта-Смита, варьировалось от 20–25 мг/100 г в недозрелых плодах кизила до 80–430 мг/100 г в зрелых. Суммарное содержание антоцианинов оценивали методом pH-дифференциальной спектрофотометрии. Количество мономерных антоцианинов менялось от 11,2 мг/100 г в недозрелых плодах кизила до 92,2 мг/100 г в зрелых плодах кизила. В качестве основных антоцианинов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) со спектрофотометрическим и масс-спектрометрическим (МС) детектированием идентифицированы 3-галактозиды цианидина (19,0–80,3%) и пеларгонидина (15,1–75,6%). Разработана оригинальная методика определения иридоидов кизила методом ВЭЖХ с УФ- и МС-детектированием. В качестве основных иридоидов обнаружены логаниновая кислота, логанин, сверозид и корнузид. Суммарное содержание иридоидов составило 130–400 мг/100 г, причем во всех образцах преобладала логаниновая кислота (87,6–94,8%). Обнаружено минорное количество производных гидроксикоричных кислот (<10 мг/100 г). Среди органических кислот, общее содержание которых варьировало в диапазоне от 0,4 до 2,8%, преобладала яблочная кислота. Обнаружено высокое содержание аскорбиновой кислоты (35,0–60,0 мг/100 г). Профиль углеводов кизила представлен фруктозой (2,2–3,8%) и глюкозой (2,5–7,0%). 70% водно-этанольные экстракты плодов кизила обыкновенного показали выраженную антирадикальную активность в DPPH-тесте (470,5–932,0 мг ТЭ/100 г). Полученные данные о специфических минорных биологически активных веществах

могут быть использованы при стандартизации и оценке потенциальной активности экстрактов и биологически активных добавок к пище на основе плодов кизила.

Ключевые слова: кизил обыкновенный (*Cornus mas L.*), полифенольные соединения, проантоцианидины, антоцианины, иридоиды, органические кислоты, DPPH

10 samples of fresh-frozen cornelian cherry fruits (*Cornus mas L.*), collected in the Tambov and the Caucasus regions, were investigated for the total amount and composition of the main biologically active substances (BAS): anthocyanins (AC), proanthocyanidins (OPC), dihydroxycinnamic acids (DHCA), iridoids, organic acids, mono- and disaccharides and antiradical activity in the DPPH-test *in vitro*. Total phenolics content determined by Folin-Ciocalteu method, was 150–400 mg/100 g fresh fruit weight. The OPC content, estimated by Bate–Smith method, varied from 20–25 mg/100 g of unripe cornelian cherries to 80–430 mg/100 g of mature cornelian cherries. Total AC amount evaluated by pH-differential spectrophotometry was minimal in unripe fruits (11,2 mg/100 g), and maximal in mature fruits (92,2 mg/100 g). Profile of individual AC was determined by HPLC with UV/Vis and ESI-TOF-MS detections. 3-galactosides of cyanidin (19,0–80,3%) and pelargonidin (15,1–75,6%) were found as main anthocyanins. An original methodology for iridoid determination based on HPLC with UV and ESI-TOF-MS detection was developed. The main iridoids were identified as loganic acid, loganin, sweroside and cornuside. Total iridoids content was 130–400 mg/100 g, and loganic acid was predominant in all samples (87,6–94,8%). Only minor amount of the DHCA derivatives (<10 mg/100 g) were found. The malic acid was predominant among organic acids, the total content of which varied from 0,4 to 2,8%. Relatively high amount of ascorbic acid (35–60 mg/100 g) was found. The carbohydrates profile of cornelian cherries was represented by fructose (2,2–3,8%) and glucose (2,5–7,0%). 70% water-ethanol extracts of *Cornus mas* fruits have showed pronounced antiradical activity in DPPH-test (470,5–932,0 mg TE/100 g). The data on specific minor BAS can be used in the standardization and evaluation of potential biological activity of extracts and dietary supplements based on the cornelian cherry fruits.

Key words: cornelian cherry (*Cornus mas L.*), polyphenols, proanthocyanidins, anthocyanins, iridoids, organic acids, DPPH

Кизил – род древесных и кустарниковых растений семейства кизиловые (*Cornaceae*), включающий около 50 видов. В России наиболее распространен кизил обыкновенный (*Cornus mas L.*). В диком виде кизил обыкновенный произрастает на Кавказе, широко культивируется в южных областях России.

Плоды кизила обыкновенного имеют давнюю традицию пищевого применения как в свежем виде, так и в виде джемов, соков, мармелада, сиропов, соусов и настоек. В традиционной медицине плоды кизила применяются для лечения лихорадки, диареи, заболеваний почек. Изучение биологической активности экстрактов плодов кизила показало наличие выраженной антиоксидантной, противовоспалительной, антимикробной активности. В доклинических и клинических исследованиях показано антидиабетическое, антиатероскле-

ротическое, гиполипидемическое действие плодов кизила [6, 14, 19].

Широкий спектр биологической активности плодов кизила обыкновенного обусловлен комплексом биологически активных веществ: полифенольных соединений (антоцианов, проантоцианидинов), иридоидов, органических кислот. Так, антоцианы, выделенные из плодов кизила обыкновенного, в опытах *in vitro* и *in vivo* стимулировали секрецию инсулина β -клетками поджелудочной железы, снижали инсулинорезистентность клеток и концентрацию триглицеридов в печени [11, 15]. Показано антигенотоксическое, нейропротекторное, антидиабетическое действие иридоидов кизила *in vitro* [8, 12, 13, 19]. Иридоиды, характерные для кизила обыкновенного, выделенные из других растений, обладали противовоспалительной, антибактериальной, анти-

грибковой, спазмолитической (логанин, сверозид) активностью [9].

Целью работы явилось определение основных минорных биологически активных веществ плодов отечественного дикорастущего и культивируемого кизила обыкновенного и их содержания (антоцианов, олигомерных проантоцианидинов, иридоидов, органических кислот, моно- и дисахаридов), а также определение антирадикальной активности в тесте *in vitro*.

Материал и методы

Исследовано 10 образцов свежемороженых плодов кизила обыкновенного, из них 8 сортов выведены в Мичуринске и заготовлены в Тамбовской области в 2012 г. (№ 1–8 в таблицах); 2 образца дикорастущего кизила из Кавказского региона (зрелые ягоды – № 9, незрелые ягоды – № 10).

Экстракцию полифенольных соединений и олигомерных проантоцианидинов проводили метанолом в отношении 1:100. Антоцианины, иридоиды извлекали 70% водным этанолом, гидроксикоричные кислоты – 50% водным этанолом в отношении 1:100. Органические кислоты и сахара из растительного сырья экстрагировали дистиллированной водой в отношении 1:100.

Суммарное содержание полифенольных соединений в пересчете на галловую кислоту определяли с помощью модифицированного метода Фолина–Чокальтеу, содержание суммы проантоцианидинов – модифицированным методом Бейта–Смита [5].

Определение суммы антоцианинов в пересчете на цианидин-3-глюкозид проводилось методом pH-дифференциальной спектрофотометрии [2, 5] на спектрофотометре «UV-1800 Shimadzu» («Shimadzu Corporation», Япония) с диапазоном длин волн 190–1100 нм.

Состав антоцианинов и иридоидов определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с фотометрическим и масс-спектрометрическим (МС) детектированием на жидкостном хроматографе «Agilent 1100 series» («Agilent Technologies», США) с диодно-матричным спектрофотометрическим детектором «Agilent 1100 Series Diode Array», времяпролетным масс-селективным детектором «Agilent 6200 TOF LC/MS» с ионизацией электрораспылением.

Условия ВЭЖХ для определения антоцианинов: колонка Phenomenex Luna C18 250×4,6 мм 5 мкм; бинарная подвижная фаза: А – 4% водный раствор ортофосфорной кислоты (pH 2,1), В – ацетонитрил (0 мин – 10% В, 10 мин – 15% В, 15 мин – 20% В); температура колонки 40 °С; скорость потока растворителя 1,0 мл/мин; объем вводимой пробы 10 мкл; фотометрическое детектирование при

$\lambda=520$ нм. Для ВЭЖХ-МС: А – 1% водный раствор муравьиной кислоты, В – ацетонитрил (0 мин – 10% В, 10 мин – 15% В, 20 мин – 20% В); температура колонки 40 °С; скорость потока растворителя 0,5 мл/мин. Сканирование масс – в режиме регистрации положительных ионов в диапазоне m/z 100–1000; напряжение на капилляре – 3,5 кВ, поток газа-осушителя (азот) – 9 л/мин, температура – 325 °С, давление на распылителе – 0,27 МПа.

Условия ВЭЖХ для определения иридоидов: колонка ProteCol C18 НРН125 250×4,6 мм, 5 мкм; подвижная фаза А – 0,1% водный раствор муравьиной кислоты, В – метанол (0 мин – 5% В, 40 мин – 80% В); температура колонки – 30 °С; скорость потока растворителя – 0,5 мл/мин. Объем вводимой пробы – 5 мкл. Фотометрическое детектирование при $\lambda=235$ нм. Параметры масс-детектирования описаны нами ранее [3].

Содержание гидроксикоричных кислот определяли методом ВЭЖХ с УФ-спектрофотометрическим детектированием [4].

Содержание органических кислот и аскорбиновой кислоты определяли методом ВЭЖХ [1, 5].

Содержание свободных моно- и дисахаридов определяли методом капиллярного электрофореза на системе «Agilent 7100» («Agilent Technologies», США) с диодно-матричным спектрофотометрическим детектором на кварцевом капилляре Agilent L=72 см, ID=50 мкм, буфер – Agilent Basic Anion Buffer. Температура термостата 25 °С, напряжение – 30 кВ. Косвенное фотометрическое детектирование проводили при длине волны 350 нм, контрольная длина волны – 275 нм.

Антирадикальную активность оценивали в DPPH-тесте (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил) *in vitro* и выражали в мг тролоксового эквивалента (ТЭ) на 100 г плодов [7].

Результаты и обсуждение

Содержание основных групп полифенольных соединений кизила обыкновенного (мг/100 г свежих плодов) представлено в табл. 1.

Содержание полифенольных соединений варьировало в диапазоне от 150 до 400 мг/100 г свежих плодов. Содержание олигомерных проантоцианидинов составило 20–25 мг/100 г в незрелых плодах кизила и 80–430 мг/100 г в зрелых.

Антоцианины. Суммарное содержание мономерных антоцианинов отечественного кизила составило от 10 до 92 мг/100 г (см. табл. 1). Наибольшее количество антоцианинов найдено в образце № 8, наименьшее – в образце № 10. Полученные результаты сопоставимы с данными литературы по содержанию антоцианинов в плодах кизила обыкновенного из других регионов. Так, в плодах кизила, собранных в Словакии, содержание анто-

Таблица 1. Содержание полифенольных соединений (мг/100 г) и антирадикальная активность плодов кизила обыкновенного ($M \pm m$, $n=5$)

Образец	Содержание полифенольных соединений, мг/100 г			DPPH, мг ТЭ/100 г
	сумма антоцианинов	сумма олигомерных проантоцианидинов	сумма полифенолов в пересчете на галловую кислоту	
№ 1	24,1±0,7	176,3±7,8	310,5±10,4	887,1±9,5
№ 2	31,3±0,5	89,1±4,7	310,2±8,6	866,0±12,7
№ 3	28,2±1,5	198,0±7,2	295,0±12,7	904,2±5,0
№ 4	22,0±0,8	80,0±3,4	262,1±9,8	648,0±11,6
№ 5	16,4±0,9	98,2±4,9	194,4±8,2	591,7±6,6
№ 6	25,2±1,6	245,5±7,5	330,2±11,5	894,6±5,5
№ 7	14,1±0,6	102,3±5,2	150,1±7,0	470,5±9,4
№ 8	92,2±0,5	430,0±11,7	398,0±15,7	932,0±8,7
№ 9	38,4±1,4	92,2±5,1	230,3±10,3	910,1±12,0
№ 10	11,2±1,8	22,4±2,5	183,1±6,5	512,9±4,5

цианинов составило 29–111 мг/100 г, в Польше – 50 мг/100 г, в Турции – 65 мг/100 г [10, 16–18].

Впервые установлен профиль индивидуальных антоцианов отечественного кизила. В качестве основных антоцианов в отечественных плодах кизила найдены 3-галактозиды цианидина и пеларгонидина. Минорные антоцианины идентифицированы как 3-глюкозиды дельфинидина, цианидина и пеларгонидина соответственно (рис. 1).

Параметры удерживания, максимумы поглощения в видимой области и результаты масс-спектрометрического анализа антоцианов представлены в табл. 2.

Состав антоцианов во всех образцах идентичен, при этом варьирует только относительное содержание антоцианов. В плодах кизила № 1, 3–5 преобладает пеларгонидин-3-галактозид (56,6–75,6% от суммы антоцианов), в плодах кизила №2, 9 и 10 – цианидин-3-галактозид (61,0–80,3% от суммы антоцианов), а в образцах №6–8 цианидин-3-галактозид и пеларгонидин-3-галактозид содержатся в отношении приблизительно 1:1 (табл. 3).

Иридоиды. Разработана оригинальная методика определения иридоидов кизила методом ВЭЖХ с УФ- и МС-детектированием. В качестве основных иридоидов плодов кизила обыкновенного обнаружены 2 иридоидных гликозида (логаниновая кислота и логанин) и 2 секоиридоидных гликозида (сверозид и корнузид), что соответствует данным литературы [8].

Параметры удерживания, максимумы поглощения в УФ-области и результаты МС-анализа иридоидов представлены в табл. 4.

ВЭЖХ-МС хроматограмма выделенных ионов $[M+Na]$ иридоидов кизила обыкновенного представлена на рис. 2. Спектрофотометрическое детектирование при ВЭЖХ иридоидов проводили при длине волны 235 (± 2) нм, соответствующей основному максимуму поглощения иридоидов в УФ-области (рис. 3).

Результаты количественного определения иридоидов в образцах плодов кизила обыкновенного представлены в табл. 5.

Суммарное содержание иридоидов в кизиле обыкновенном составило 130–400 мг/100 г. Во всех исследованных образцах среди иридоидов преобладает логаниновая кислота, составляя от 87,6% (образец № 4) до 94,8% (образец № 3) от суммарного содержания иридоидов.

Гидроксикоричные кислоты. Содержание производных гидроксикоричных кислот в плодах кизила составило 7,3–11,4 мг/100 г в пересчете на хлорогеновую кислоту.

Органические кислоты. Содержание органических кислот в плодах кизила колебалось от 417 до 2793 мг/100 г (0,4–2,8%). В качестве основных были найдены яблочная (400–2730 мг/100 г) и лимонная (16–80 мг/100 г) кислоты. Во всех образцах превалирует яблочная кислота, составляя от 95,9 до 97,8% от суммарного содержания органических кислот.

Аскорбиновая кислота. В исследованных образцах плодов кизила обыкновенного обнаружено довольно высокое содержание аскорбиновой кислоты – 35,0–60,0 мг/100 г, сопоставимое с ее содержанием в апельсинах (53 мг/100 г), красной смородине (58–81 мг/100 г), клубнике (29–57 мг/100 г), малине (23–32 мг/100 г) [20].

Моно- и дисахариды. Электрофореграмма сахаров плодов кизила обыкновенного представлена на рис. 4.

Во всех исследованных образцах найдены фруктоза в количестве 2210–3880 мг/100 г (2,2–3,8%) и глюкоза – 2530–6970 мг/100 г (2,5–7,0%). Соотношение глюкоза/фруктоза в образцах составило 1,1–1,5, за исключением образцов № 7 и 5 (соотношение – 2,2–2,3).

DPPH-тест. В результате проведенных нами исследований показано, что антирадикальная активность плодов кизила обыкновенного, в DPPH-тесте *in vitro* варьировавшая в диапазоне

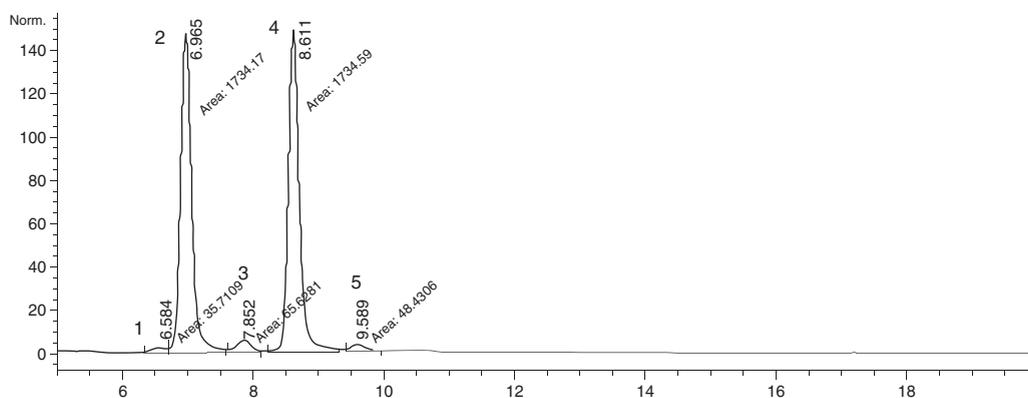
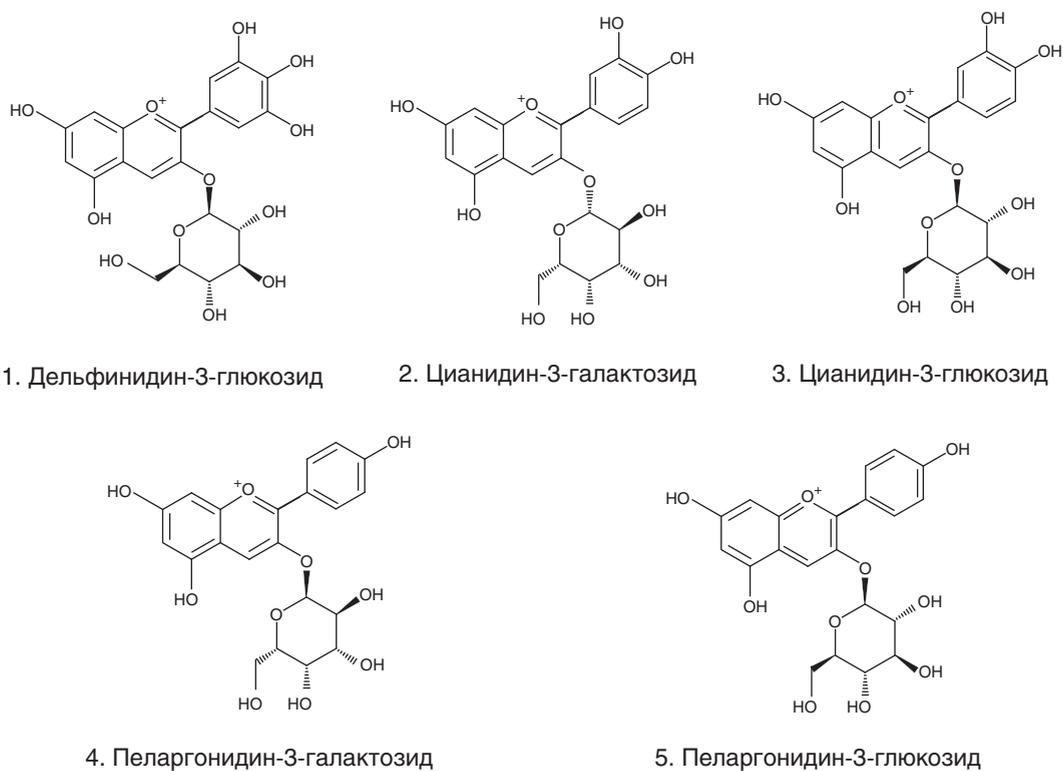


Рис. 1. ВЭЖХ экстракта из плодов кизила обыкновенного № 8 при $\lambda=520$ нм

1 – дельфинидин-3-глюкозид, 2 – цианидин-3-галактозид, 3 – цианидин-3-глюкозид, 4 – пеларгонидин-3-галактозид, 5 – пеларгонидин-3-глюкозид.

Таблица 2. Результаты ВЭЖХ-анализа антоцианов кизила обыкновенного

№	Антоцианин	К	λ_{\max} , нм	Детектируемый ион	Детектируемая масса
1	Дельфинидин-3-глюкозид	1,30	524	$[M+H]^+$ $[M-glu+H]^+$	465,10 303,06
2	Цианидин-3-галактозид	1,56	520	$[M+H]^+$ $[M-gal+H]^+$	449,10 287,05
3	Цианидин-3-глюкозид	1,92	520	$[M+H]^+$ $[M-glu+H]^+$	449,10 287,05
4	Пеларгонидин-3-галактозид	2,30	502	$[M+H]^+$ $[M-gal+H]^+$	433,11 271,06
5	Пеларгонидин-3-глюкозид	2,80	502	$[M+H]^+$ $[M-glu+H]^+$	433,11 271,06

Примечание. К – коэффициент емкости.

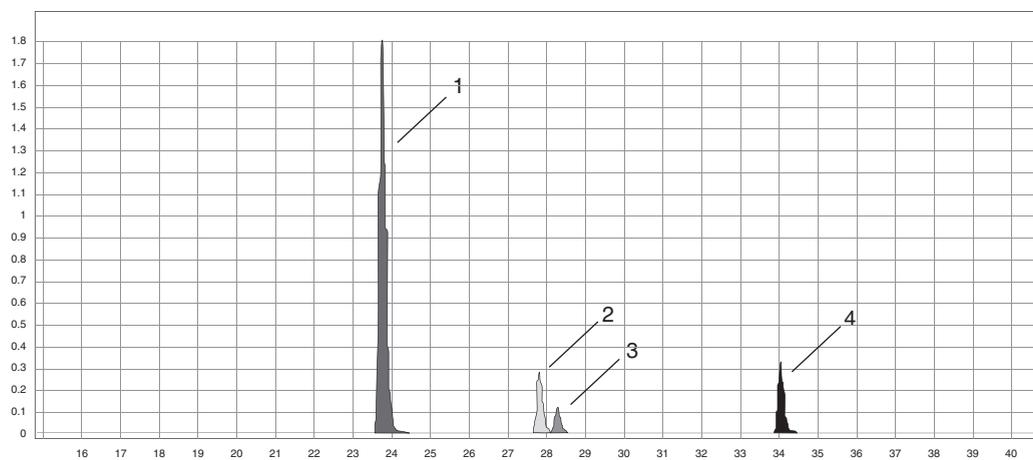
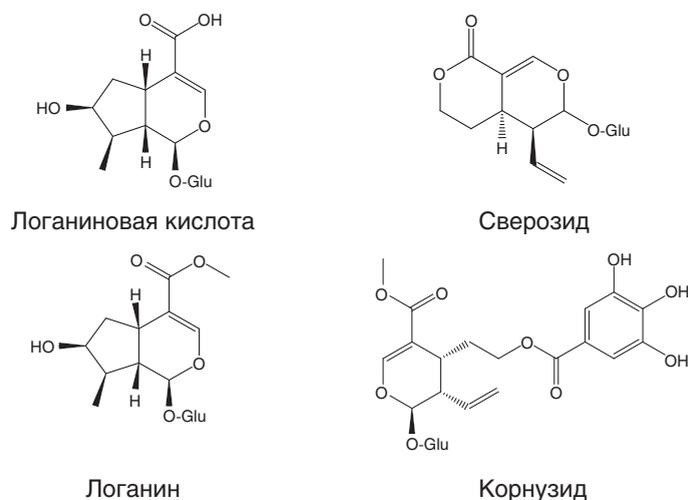
Таблица 3. Относительное содержание антоцианинов в плодах кизила ($M \pm m$, $n=5$)

Антоцианин	Содержание, %									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Дельфинидин-3-глюкозид	0,5±0,1	1,4±0,2	0,9±0,1	0,4±0,1	1,1±0,1	1,6±0,2	1,8±0,2	1,0±0,1	0,5±0,1	4,4±0,3
Цианидин-3-галактозид	19,0±0,3	70,1±0,5	29,3±0,3	20,6±0,2	39,5±0,3	47,9±0,3	50,1±0,4	48,5±0,3	80,3±0,6	61,0±0,5
Цианидин-3-глюкозид	1,1±0,1	4,3±0,2	5,7±0,2	1,2±0,2	1,3±0,1	2,3±0,2	2,6±0,3	2,0±0,2	4,0±0,3	6,5±0,2
Пеларгонидин-3-галактозид	75,6±0,5	23,3±0,3	57,4±0,4	75,2±0,4	56,6±0,2	46,7±0,3	44,0±0,3	47,5±0,2	15,1±0,1	26,9±0,3
Пеларгонидин-3-глюкозид	3,7±0,2	0,8±0,1	6,6±0,3	2,6±0,1	1,4±0,1	1,5±0,1	1,4±0,1	0,9±0,1	0,2±0,1	1,1±0,1

Таблица 4. Результаты ВЭЖХ-УФ/МС анализа иридоидов кизила обыкновенного

Иридоид	К	УФ λ_{\max} , нм	М	Детектируемый ион	Детектируемая масса
Логаниновая кислота	2,90	235	376,36	[M+Na] ⁺	399,12
Сверозид	3,58	235	358,34	[M+Na] ⁺	381,11
Логанин	3,65	235	390,39	[M+Na] ⁺	413,14
Корнузид	4,64	218; 235; 275	542,49	[M+Na] ⁺	565,15

Примечание. К – коэффициент емкости, М – молекулярная масса.

Рис. 2. ВЭЖХ-МС хроматограмма выделенных ионов [M+Na]⁺ иридоидов кизила обыкновенного

1 – логаниновая кислота, 2 – сверозид, 3 – логанин, 4 – корнузид.

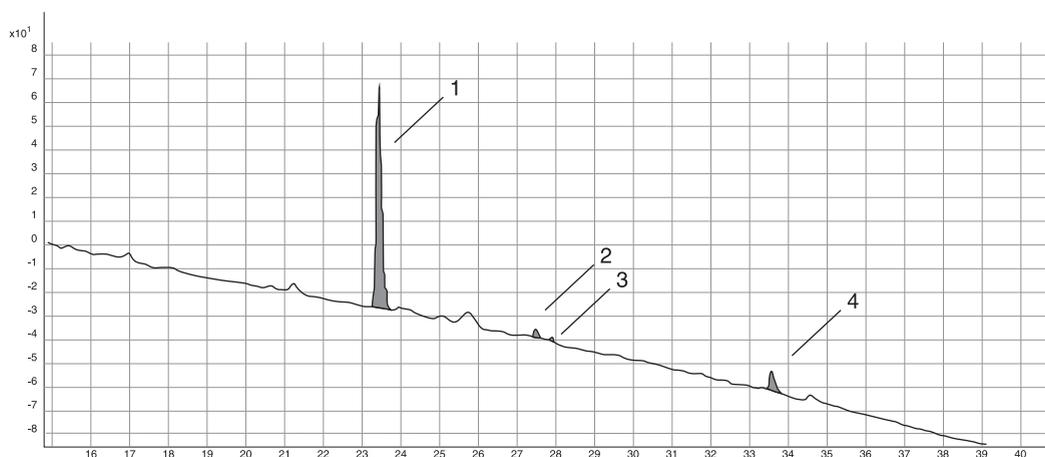


Рис. 3. ВЭЖХ-УФ экстракта плодов кизила обыкновенного

1 – логаниновая кислота, 2 – сверозид, 3 – логанин, 4 – корнузид.

Таблица 5. Содержание иридоидов в плодах кизила обыкновенного ($M \pm m$, $n=3$)

Иридоид	Содержание в образце, мг/100 г									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Логаниновая кислота	148,1±3,1	240,2±5,1	281,0±5,9	151,3±3,2	379,0±8,0	202,6±4,2	303,4±6,4	258,3±5,4	129,4±2,7	117,0±2,5
Сверозид	6,7±0,3	2,6±0,1	4,2±0,2	8,6±0,4	14,7±0,7	8,9±0,4	10,7±0,5	5,0±0,3	3,4±0,2	3,4±0,2
Логанин	4,1±0,2	0,7±0,1	5,2±0,3	3,4±0,2	3,9±0,2	4,1±0,2	2,0±0,1	4,9±0,3	1,5±0,1	1,3±0,1
Корнузид	7,6±0,4	12,2±0,6	5,9±0,3	9,5±0,5	8,8±0,4	11,4±0,6	17,0±0,9	9,1±0,5	7,0±0,4	8,5±0,4
Суммарное содержание	166,5±4,3	255,7±6,6	296,3±7,7	172,8±4,5	406,4±10,6	227,0±5,9	333,1±8,7	277,3±7,2	141,3±3,7	130,2±3,4

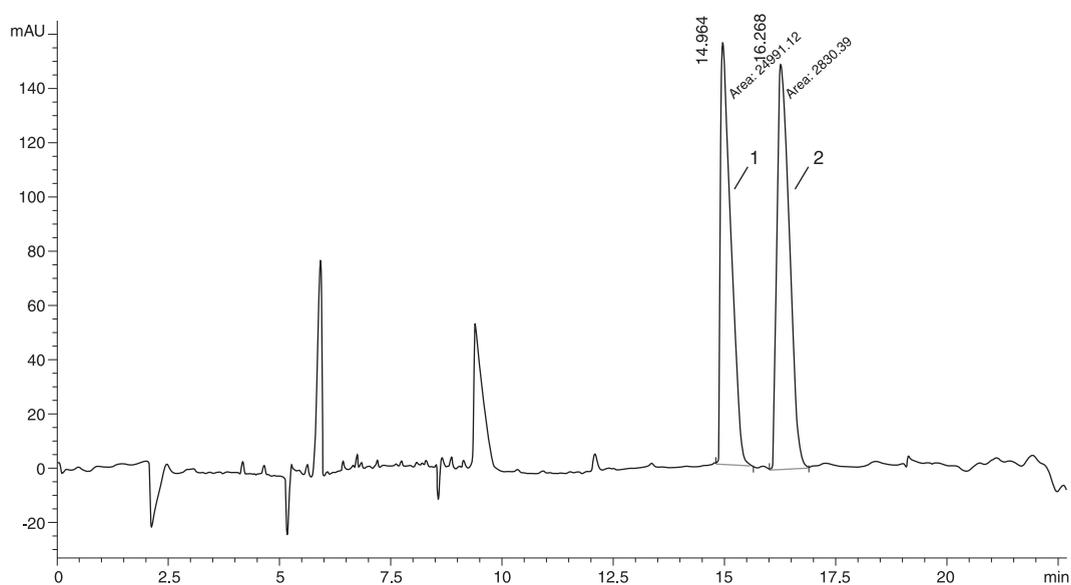


Рис. 4. Электрофореграмма свободных моно- и дисахаридов плодов кизила обыкновенного

1 – фруктоза, 2 – глюкоза.

от 470 до 932 мг ТЭ/100 г (см. табл. 1), примерно эквивалентна антирадикальной активности клюквы (409 мг ТЭ/100 г), брусники (709 мг/100 г), черной смородины (474–987 мг ТЭ/100 г) и черники (680–1200 мг/100 г). Прослеживается прямая зависимость антирадикальной активности плодов кизила от общего содержания и содержания отдельных групп полифенольных соединений и аскорбиновой кислоты (см. табл. 1).

Заключение

На основе разработанных оригинальных аналитических методик впервые систематически

исследованы основные показатели, характеризующие пищевую ценность и содержание биологически активных веществ плодов кизила обыкновенного (*Cornus mas* L.): общее содержание и профиль органических кислот, углеводов, полифенольных соединений (антоцианинов, проантоцианидинов, гидроксикоричных кислот), иридоидов, а также антирадикальная активность экстрактов в DPPH-тесте *in vitro*.

Полученные результаты могут быть использованы для оценки пищевой и биологической ценности, потенциальной фармакологической активности, установления хемотаксономических индикаторов и стандартизации продуктов на основе плодов кизила.

Сведения об авторах

Перова Ирина Борисовна – младший научный сотрудник лаборатории метаболомного и протеомного анализа ФГБНУ «НИИ питания», соискатель научной степени кандидата фармацевтических наук кафедры фармацевтической и токсикологической химии фармацевтического факультета ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Москва)
E-mail: Erin.Feather@yandex.ru, Erin.Feather@gmail.com

Жогова Анастасия Александровна – младший научный сотрудник лаборатории метаболомного и протеомного анализа ФГБНУ «НИИ питания», аспирант кафедры фармакогнозии фармацевтического факультета ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Москва)

E-mail: zhogovaaa@yandex.ru

Полякова Анна Валентиновна – инженер 1-й категории лаборатории метаболомного и протеомного анализа ФГБНУ «НИИ питания» (Москва)

E-mail: rannav@mail.ru

Эллер Константин Исаакович – доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией метаболомного и протеомного анализа ФГБНУ «НИИ питания» (Москва)

E-mail: eller@ion.ru

Раменская Галина Владиславовна – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующая кафедрой фармацевтической и токсикологической химии фармацевтического факультета ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России

E-mail: ramenskaia@mail.ru

Самылина Ирина Александровна – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующая кафедрой фармакогнозии фармацевтического факультета ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России

E-mail: laznata@mail.ru

Литература

1. ГОСТ 31643-2012 Продукция соковая. Определение аскорбиновой кислоты методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.
2. ГОСТ Р 53773-2010 Продукция соковая. Методы определения антоцианинов.
3. Жогова А.А., Эллер К.И., Самылина И.А. ВЭЖХ-масс-спектрометрия в анализе индикаторных иридоидов растительного сырья // Фармация. – 2012. – № 7. – С. 14–17.
4. Медведев Ю.В., Передеряев О.И., Арзамасцев А.П. и др. Определение гидроксикоричных кислот в лекарственном растительном сырье и объектах растительного происхождения // Вопр. биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2010. – № 3. – С. 25–31.
5. Методы анализа минорных биологически активных веществ пищи / Под ред. В.А. Тутельяна, К.И. Эллера. – М.: Династия, 2010. – С. 28–40.
6. Asgary S., Kelishadi R., Rafieian-Kopaei M. et al. Investigation of the Lipid-Modifying and Antiinflammatory Effects of *Cornus mas* L. Supplementation on dyslipidemic children and adolescents // *Pediatr. Cardiol.* – 2013. – 34 (7). – 1729–1735.
7. Bondet V., Brand-Williams W., Berset C. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH• Free Radical Method // *Lebensm.-Wiss. Technol.* – 1997. – Vol. 30. – P. 609–615.
8. Deng S., West B.J., Jensen C.J. UPLC-TOF-MS Characterization and Identification of Bioactive Iridoids in *Cornus mas* Fruit // *J. Anal. Methods Chem.* – 2013. – Vol. 2013. – P. 1–7.

9. Dinda B., Debnath S., Harigaya Y. Naturally occurring secoiridoids and bioactivity of naturally occurring iridoids and secoiridoids. A review, part 2 // Chem. Pharm. Bull. – 2007. – Vol. 55, N 5. – P. 689–728.
10. Gunduz K., Saracoglu O., Usgen M. et al. Antioxidant, physical and chemical characteristics of cornelian cherry fruits (Cornus mas L.) at different stages of ripeness // Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus. – 2013. – Vol. 12, N 4. – P. 59–66.
11. Jayaprakasam B., Olson L.K., Schutzki R.E. et al. Amelioration of obesity and glucose intolerance in high-fat-fed C57BL/6 mice by anthocyanins and ursolic acid in Cornelian cherry (Cornus mas) // J. Agric. Food Chem. – 2006. – Vol. 54, N 1. – P. 243–248.
12. Jeong E. J. Kim T.B., Yang H. et al. Neuroprotective iridoid glycosides from Cornus officinalis fruits against glutamate-induced toxicity in HT22 hippocampal cells // Phytomedicine. – 2012. – Vol. 19, N 3. – P. 317–321.
13. Lee K.Y., Sung S.H., Kim S.H. et al. Cognitive-enhancing activity of loganin isolated from Cornus officinalis in scopolamine-induced amnesic mice // Arch. Pharm. Res. – 2009. – Vol. 32. – P. 677–683.
14. Mirbadalzadeh R., Shirdel Z. Antihyperglycemic and antihyperlipidemic effects of Cornus mas extract in diabetic rats compared with glibenclamide // Elixir (Hormo. & Signal). – 2012. – Vol. 47. – P. 8969–8972.
15. Nair M. G., Jayaprakasam B., Olsom L.K. et al. Insulin secretion by anthocyanins and anthocyanidins: nat. 7737121 США. 2010.
16. Paulovicsova B., Turianica I., Jurikova T. et al. Antioxidant properties of selected less common fruit species // Lucrari stiintifice Zootehnie si Biotehnologii. Timisoara. – 2009. – Vol. 42, N 1.
17. Pyrkosz-Biardzka K., Kucharska A.Z., Sokol-Letowska A. et al. A comprehensive study on antioxidant properties of crude extracts from fruits of Berberis vulgaris L., Cornus mas L. and Mahonia aquifolium Nutt // Pol. J. Food Nutr. Sci. – 2014. – Vol. 64, N 2. – P. 6–17.
18. Vareed S.K., Reddy M.K., Schutzki R.E. et al. Anthocyanins in Cornus alternifolia, Cornus controversa, Cornus kousa and Cornus florida fruits with health benefits // Life Sci. – 2006. – Vol. 78. – P. 777–784.
19. Yamabe N., Noh J.S., Park S.H. et al. Evaluation of loganin, iridoid glycoside from Corni Fructus, on hepatic and renal glucolipototoxicity and inflammation in type 2 diabetic db/db mice // Eur. J. Pharmacol. – 2010. – Vol. 648, N 1. – P. 179–187.
20. URL: <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/> USDA National Nutrient Database for Standard reference.

References

1. GOST 31643-2012 Juice products. Determination of ascorbic acid by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) method.
2. GOST R 53773-2010 Juice products. Methods for determination of Anthocyanins.
3. Zhogova A.A., Eller K.I., Samylina I.A. Application of HPLC-mass spectrometry for the analysis of indicator iridoids in plant raw material // Pharmacia. – 2012. – N 7. – P. 14–17.
4. Medvedev Yu.V., Perederyaev O.I., Arzamastsev A.P. et al. Determination of hydroxycinnamic acids in raw medicinal plant materials and plant extracts // Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry. – 2010. – N 3. – P. 25–31.
5. Metody analiza minornykh biologicheskii aktivnykh veschestv pischi / Eds V.A. Tutelyan, K.I. Eller. – Moscow: Dinastiya, 2010. – P. 28–40.
6. Asgary S., Kelishadi R., Rafieian-Kopaei M. et al. Investigation of the Lipid-Modifying and Antiinflammatory Effects of Cornus mas L. Supplementation on Dyslipidemic Children and Adolescents // Pediatr. Cardiol. – 2013. – 2013. – Vol. 34 (7). – P. 1729–1735.
7. Bondet V., Brand-Williams W., Berset C. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH• Free Radical Method // Lebensmittel-Wiss. Technol. – 1997. – Vol. 30. – P. 609–615.
8. Deng S., West B.J., Jensen C.J. UPLC-TOF-MS Characterization and Identification of Bioactive Iridoids in Cornus mas Fruit // J. Anal. Methods Chem. – 2013. – Vol. 2013. – P. 1–7.
9. Dinda B., Debnath S., Harigaya Y. Naturally occurring secoiridoids and bioactivity of naturally occurring iridoids and secoiridoids. A review, part 2 // Chem. Pharm. Bull. – 2007. – Vol. 55, N 5. – P. 689–728.
10. Gunduz K., Saracoglu O., Usgen M. et al. Antioxidant, physical and chemical characteristics of cornelian cherry fruits (Cornus mas L.) at different stages of ripeness // Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus. – 2013. – Vol. 12, N 4. – P. 59–66.
11. Jayaprakasam B., Olson L.K., Schutzki R.E. et al. Amelioration of obesity and glucose intolerance in high-fat-fed C57BL/6 mice by anthocyanins and ursolic acid in Cornelian cherry (Cornus mas) // J. Agric. Food Chem. – 2006. – Vol. 54, N 1. – P. 243–248.
12. Jeong E. J. Kim T.B., Yang H. et al. Neuroprotective iridoid glycosides from Cornus officinalis fruits against glutamate-induced toxicity in HT22 hippocampal cells // Phytomedicine. – 2012. – Vol. 19, N 3. – P. 317–321.
13. Lee K.Y., Sung S.H., Kim S.H. et al. Cognitive-enhancing activity of loganin isolated from Cornus officinalis in scopolamine-induced amnesic mice // Arch. Pharm. Res. – 2009. – Vol. 32. – P. 677–683.
14. Mirbadalzadeh R., Shirdel Z. Antihyperglycemic and antihyperlipidemic effects of Cornus mas extract in diabetic rats compared with glibenclamide // Elixir (Hormo. & Signal). – 2012. – Vol. 47. – P. 8969–8972.
15. Nair M. G., Jayaprakasam B., Olsom L.K. et al. Insulin secretion by anthocyanins and anthocyanidins: nat. 7737121 США. 2010.
16. Paulovicsova B., Turianica I., Jurikova T. et al. Antioxidant properties of selected less common fruit species // Lucrari stiintifice Zootehnie si Biotehnologii. Timisoara. – 2009. – Vol. 42, N 1.
17. Pyrkosz-Biardzka K., Kucharska A.Z., Sokol-Letowska A. et al. A comprehensive study on antioxidant properties of crude extracts from fruits of Berberis vulgaris L., Cornus mas L. and Mahonia aquifolium Nutt // Pol. J. Food Nutr. Sci. – 2014. – Vol. 64, N 2. – P. 6–17.
18. Vareed S.K., Reddy M.K., Schutzki R.E. et al. Anthocyanins in Cornus alternifolia, Cornus controversa, Cornus kousa and Cornus florida fruits with health benefits // Life Sci. – 2006. – Vol. 78. – P. 777–784.
19. Yamabe N., Noh J.S., Park S.H. et al. Evaluation of loganin, iridoid glycoside from Corni Fructus, on hepatic and renal glucolipototoxicity and inflammation in type 2 diabetic db/db mice // Eur. J. Pharmacol. – 2010. – Vol. 648, N 1. – P. 179–187.
20. URL: <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/> USDA National Nutrient Database for Standard reference.

Для корреспонденции

Коньшев Иван Сергеевич – доктор медицинских наук, профессор кафедры медико-профилактических дисциплин Института усовершенствования врачей ФКУ «Медицинский учебный научный клинический центр им. П.В. Мандрыка» Минобороны России
 Адрес: 107392, г. Москва, ул. Малая Черкизовская, д. 7
 Телефон: (499) 168-96-60

И.С. Коньшев, А.М. Адаменко, В.П. Кошелев

Основы организации питания в русской армии по Воинскому уставу Петра Великого

Catering services bases in the Russian army under military regulation of Peter the Great

I.S. Konyshev, A.M. Adamenko, V.P. Koshelev

At Peter I the regular army was organized and the system of target state deliveries to troops of the food is created. Provisioning and fodder was normalized as portion and ration. Portion was contained the products for people food, and ration – fodder for horses food who were used by the serviceman. Portion and ration unit was identical to all categories of the military personnel. Difference in food level consisted in that, how many portions and rations serviceman received. Up to the end of existence of Russian army in 1918 in each rota there were contractor and the cook who were engaged in foodstuff and cooking under sergeant-major and one of rota officers supervision. According to the Charter it was necessary to carry with respect and attention to officers and soldiers, their needs, including in the field of supply and catering services and providing with the food. Despite the lack of scientific justification, soldiers' nutrition was sufficient to provide fighting capacity of the Russian army.

Key words: Russian army, catering services, portion, ration

Институт усовершенствования врачей ФКУ «Медицинский учебный научный клинический центр им. П.В. Мандрыка» Минобороны России, Москва

Institute of Advanced Medical Training at Medical Clinical Research Center named after P.V. Mandryka, Moscow

При Петре I было организовано регулярное войско и создана система целевых государственных поставок продовольствия в войска. Снабжение продовольствием и фуражом нормировалось как порцион и рацион. К порциону относились продукты, выдаваемые для питания людей, а к рациону – фураж для питания лошадей, которых использовал военнотружущий. Единица порциона и рациона для всех категорий военнотружущих была одинакова. Разница в уровне питания заключалась в том, сколько порционов и рационов получал военнотружущий. Вплоть до конца существования русской армии в 1918 г. в каждой роте избирались артельщик и кашевар, которые занимались пищевыми продуктами и приготовлением пищи под надзором фельдфебеля и одного из офицеров роты. В соответствии с Уставом полагалось с уважением и вниманием относиться к офицерам и солдатам, их нуждам, в том числе в области снабжения и организации питания и обеспечения продовольствием. Несмотря на отсутствие научного обоснования, питание солдат было достаточным, для того чтобы обеспечить боеспособность русской армии.

Ключевые слова: русская армия, организация питания, порцион, рацион

Во все века и на уровне государственного управления, и в отдельных хозяйствах вопросы продовольственного обеспечения занимали значительное место. Так, в трактате «Домострой» (1540 г.) много внимания уделено опрятности и чистоте, особенно в обращении с пищевыми продуктами.

Издвевле борьба за источники питания, запасы продовольствия и их сохранение зачастую влияла на цель и исход войны. В Средние века исход военных походов определяли не только оружие или численность, но и продовольственный паек солдат. Цинга убила больше британских

моряков, чем враги, стала причиной значительных потерь французов в Трафальгарской битве. В ходе Семилетней войны (1756–1763 гг.) британский флот докладывал о потере 184 899 моряков, причем из них 133 708 – от болезни. Основной причиной была продовольственная недостаточность, вследствие которой возникали голод, цинга, инфекционные и другие заболевания.

История военных столкновений показала, что тыл, организация и внимание к его проблемам во многом зависят от понимания руководителями общественной жизни, а также командирами воинских частей значимости данного направления по созданию условий для высокой боеспособности личного состава войск и устойчивости сопротивления населения вражескому напору.

В осажденных крепостях отсутствие продуктов открывало ворота для неприятеля. Недороды урожая и падеж скота, внезапные похолодания или высокие температуры воздуха приводили к дефициту продовольствия и массовой гибели населения от голода. Военные кампании заканчивались или приостанавливались из-за нехватки продуктов.

Организации питания войск Российского государства в XVII–XVIII вв. всегда уделялось значительное внимание как в мирное, так и в военное время. Но именно при Петре I было организовано регулярное войско и создана система целевых государственных поставок продовольствия для военнослужащих. Первое нормирование продовольственного обеспечения введено Указом от 18.02.1705. Петр I лично в течение месяца испытывал на себе солдатский паек, прежде чем утвердить его. Внутри страны воину на месяц полагалось полуосьмины муки (около 24 кг), малый четвертак круп (около 3,5 кг), на остальные приварочные продукты выдавались деньги. За пределами России дополнительно предусматривалось на человека в день: 2 фунта хлеба, 1 фунт мяса, 2 чарки вина, 1 гарнец пива. В течение месяца дополнительно было положено 2 фунта соли, 1,5 гарнца круп.

Воинский устав русской армии, утвержденный в 1716 г., окончательно определил не только главные направления воинской жизни и деятельности армии, но и нормы питания военнослужащих всех чинов. Устав требовал от командиров внимательного и заботливого отношения к организации снабжения войск продовольствием и фуражом: «Пропитание как людям, так и скоту – наиглавнейшие дела суть, о чем мудрый и осмотрительный генерал всегда мыслить должен, ежели хочет, чтоб сущее под его командою войско в том никакого недостатку не имело и всегда в добром состоянии пребыло». По Уставу непосредственно вопросами обеспечения продовольствием и фуражом занимался Главный комиссариат.

В Уставе задачи комиссариата в области продовольственного обеспечения поставлены следующим образом: «Комиссариат, который всепорядочное и прилежное старание иметь должен, дабы войско ни в чем как в пропитании, так и фураже никакова недостатку не имело, где б оное ни обреталось. А особливо надлежит того смотреть, чтоб как хлеб, так и мука гнилая и вонючая не была, дабы из того никакой болезни в войске не произошло. Также надлежит над полевыми хлебниками доброе надзирание иметь, чтоб они хлеб надлежащим образом выпекали».

В каждой группировке войск, действующей самостоятельно на определенном операционном направлении, имелся обер-комиссар в ранге полковника, ведавший наряду с другими вопросами тылового обеспечения и делами продовольственными. В полку продовольственным обеспечением занимался полковой провиантмейстер – военный служащий унтер-офицерского ранга. Он получал от вышестоящего комиссара продукты, контролировал их качество и раздавал в роты.

Уставом определялось, что военнослужащие обеспечивались натуральным продовольствием только в заграничных походах, а на территории России – только кормом для лошадей. В остальном определялись, как сказано в Уставе: «Впрочем, должны оные жалованьем своим, и что для пропитания их определено, тем довольствоваться. В неприятельской же земле обыкновенно они при жалованье и порции получают по указу, сколько оным давать определится. А когда полк или рота в походе на квартиры поставлены имеют быть, тогда офицерам надлежит прилежно того смотреть, чтоб квартирмейстеры за назначенные квартиры денег не брали и в оных столько людей ставили, сколько оным от земского комиссара определено, и чтоб постоями не щадили и далее б не маршировали в такие места, куды указу нет, а без указу никакой город, село и деревня не должны без квартирных ассигнаций кого в дом принять, и каждый город и место смотрят на репартиции, которые о квартирах чрез отправленных земских комиссаров определены и назначены».

Снабжение продовольствием и фуражом нормировалось как порцион и рацион. К порциону относились продукты, выдаваемые для питания людей, а к рациону – фураж для питания лошадей, которых использовал военнослужащий. Единица порциона и рациона для всех категорий военнослужащих была одинакова. Разница в уровне питания заключалась в том, сколько порционов и рационов получал военнослужащий (см. таблицу). По-видимому, количество порционов, выделяемых согласно должности, определялось тем, сколько помощников у представителя этой должности по Уставу должно было быть.

В те времена в России не знали картофеля и макаронных изделий, русская кухня в основном состояла из различных овощных супов (щей), каш и пирогов. Недостающие для нормального питания овощи солдаты должны были покупать на свое жалование.

Уставом предусматривалось, что обеспечением войск остальными продуктами, не предусмотренными снабжением от казны, занимаются за деньги частные торговцы, следующие при войске, именуемые маркетентерами (позднее это слово стало произноситься как маркитанты). Уставом определялось, что эти торговцы должны находиться при каждой роте и полку, а соответствующие командиры должны брать их под опеку и защиту, обеспечивать им возможность заниматься своим делом. Для этого им выделялись требуемые помещения и квартиры. В Уставе об этом сказано следующее: «Также надлежит генералу-квартирмейстеру всегда маркетентерам (или харчевникам) при новом обозе особое место за войском определить, где бы они способнее стояли и торговать безопаснее отправлять могли. Если больным деревня или местечко какое на шпиталь определено не будет, то они принуждены будут за войском следовать, а особливо в неприятельской земле, то должен генерал-квартирмейстер также способное место на оный шпиталь определить, где бы оные люди в палатах своих наилучшую выгоду иметь могли». И еще: «И понеже недовольно, чтоб при войске токмо один хлеб был, но надлежит и иные припасы съестные и питье всемерно иметь, и того ради зело изрядно и потребно есть, когда многие маркетентеры при войске обретаются, тогда надлежит оных сколько возможно в привозе и отвозе защищать».

Любопытно, что Сухопутный устав, в отличие от Морского, не регламентировал раскладку продуктов по дням недели и приемам пищи, тут все отдавалось на усмотрение ротных командиров. Известно, что вплоть до конца существования русской армии в 1918 г. в каждой роте избирались артельщик и кашевар, которые занимались продуктами и приготовлением пищи под надзором фельдфебеля и одного из офицеров роты. Естественно, в различных условиях и в разных ротах организация питания могла значительно различаться.

Устав определял при нахождении роты на постое: «Также смотреть того, чтоб те, которые вместе стоят, равное довольство в пище и питии имели, как и те, которые порознь стоят. И для того велеть мужикам свозить их порции и рационы к ним, где стоят». И существенное дополнение: «Также зело потребно, чтоб при всякой дивизии (когда стоит на поле или в квартирах) учрежден был шпиталь, в котором больных лежащих лечити, и дабы оные хлебом, мясом, пивом и уксусом удовольствованы быть могли».

Порции и рационы в русской армии (выдержки из Воинского устава 1716 г.)

Порции и рационы в чужой земле, а в своей только рационы давать надлежит посему:

Должность	Порцион	Рацион
Генерал-фельдмаршал	200	200
Генерал от кавалерии	100	80
Генерал от инфантерии	100	80
Генерал-кригс-комиссар	180	100
Генерал-лейтенант	70	50
Генерал-майор	60	40
Обер-комиссар	26	18
Обер-квартирмейстер	12	8
Фельд-медикус	16	10
Полевой аптекарь	10	6
Аптекарские гезеля	2	2
Штаб-лекарь	4	4
Полковой лекарь	3	3
Полковой писарь	2	2
<i>Рота драгунская</i>		
Капитан	15	7
Поручик	9	6
Подпоручик	7	5
Прапорщик	5	4
Вахмистр	3	3
Фуриер	2	2
Ротный писарь	2	1
Ротный фельдшер	2	1
Ротный кузнец	1	1
Ротный седельник	1	1
<i>Полковой штаб от инфантерии</i>		
Полковник	50	17
Подполковник	25	11
Примизр-майор	19	11
Секунд-майор	17	8
Полковой квартирмейстер	5	4
Полковой аудитор	3	3
Полковой поп	3	3
Полковой комиссар	4	4
Полковой адъютант	4	4
Полковой провиантмейстер	2	2
Полковой лекарь	3	3
Полковой обозный	2	2
Полковой писарь	2	2
Полковой фискал	2	2
<i>В пехотной роте</i>		
Капитан	15	5
Поручик	9	4
Подпоручик	7	3
Прапорщик	5	3
Сержант	3	
Подпрапорщик	2	
Каптенармус	2	
Фуриер	2	
Ротный писарь	2	
Ротный фельдшер	2	
Солдат	1	

Один порцион состоит: в день хлеба 2 фунта, мяса 1 фунт, вина 2 чарки, пива 1 гарнец.

На месяц: соли 2 фунта, круп 1,5 гарнца. «Сверх того в квартирах дается сервиз, то есть укус, дрова, свечи, постеля. А по случаю прибавляются и прочие употребляемые вещи к пище».

Один рацион на сутки: овса 2 гарнца, сена 16 фунтов, сечки 2 гарнца, соломы 1 сноп.

Меры веса и объема того времени: 1 фунт – 409,5 г, 1 золотник – около 4 г, 1 ведро – 12 л, 1 чарка – 120 г, 1 гарнец – 3,28 л.

О размахе тылового обеспечения в армии Петра I можно судить по докладу адмирала Ф.М. Апраксина об организации походного магазина на 2069 подводках, доставлявшего 4160 четвертей сухарей, 384 четверти круп, 1200 четвертей овса и 22 713 пудов сена (в сумме около 1300 тонн). Это сравнимо с современными возможностями бортового транспорта насыщенной

мобильной техникой бригады материального обеспечения.

Таким образом, изучая составленный в далеком прошлом документ, определяющий жизнь и многие воинские успехи русской армии, мы можем сделать следующие выводы:

1. В соответствии с Уставом полагалось с уважением и вниманием относиться к офицерам и солдатам, их нуждам, в том числе и в области снабжения и организации питания и обеспечения продовольствием.

2. Несмотря на отсутствие научного обоснования, питание солдат определялось из опыта военных кампаний и было достаточным для обеспечения боеспособности русской армии.

3. Многие уроки организации питания личного состава войск своевременны и в настоящее время, особенно в вопросах, касающихся затруднений управления и тылового, в том числе продовольственного обеспечения.

Сведения об авторах

Институт усовершенствования врачей ФКУ «Медицинский учебно-научный клинический центр им. П.В. Мандрыка» (Москва):

Коньшев Иван Сергеевич – доктор медицинских наук, профессор кафедры медико-профилактических дисциплин

Телефон: (499) 168-96-60

Адаменко Александр Михайлович – доктор медицинских наук, доцент кафедры организации и тактики медицинской службы

Телефон: (499) 168-96-60

Кошелев Виктор Петрович – доктор медицинских наук, доцент кафедры организации и тактики медицинской службы

Телефон: (915) 345-05-49

Литература

1. Уставъ воинской сухопутной. Напечатался повельнием Царскаго Величества. Въ СанктПетербургской типографии, 1716 г.
2. История питания защитника государства Российского. В 5 т. Т. 1. Питание российских воинов до середины XIX века. – СПб.: ЛИО Редактор, 2000. – С. 43–52.
3. *Исаков В.И., Булгаков Д.В., Смирнов А.А., Шумихина Л.В.* Тыл Вооруженных Сил. 300 лет. – М.: Защитники Отчизны, 2000. – 336 с.
4. Общая и военная гигиена: учебник. – СПб.: СпецЛит, 2012. – С. 20–24, 337–389.
5. *Агус Д.* Правила здоровой и долгой жизни. Пер. с англ. – М.: Эксмо, 2013. – 384 с.

References

1. Charter military land. Printed by order of the Imperial Majesty. The St. Petersburg printing house, 1716.
2. The story of the power of the defender of the Russian state. In 5 vol. Vol. 1. The power of the Russian soldiers until the mid-nineteenth century. – St. Petersburg: Editor, 2000. – P. 43–52.
3. *Isakov V.I., Bulgakov A.I., Smirnov A.A., Shumikhin L.V.* Rear of the Armed Forces. 300 years. – M.: Defenders of the Motherland, 2000. – 336p.
4. General and military hygiene: tutorial – St. Petersburg: SpecLit, 2012. – S. 20–24, 337–389.
5. *Agus D.* Rules for a healthy and long life: Transl. from Eng. – M.: Eksmo, 2013. – 384 p.

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

- Работы данные должны быть оригинальными. Не принимаются в редакцию работы, которые дублируются в других изданиях или отправлены для публикации в другие редакции. Редакция не несет ответственности за достоверность собственных клинических исследований авторов статей. Все присланные работы подвергаются научному рецензированию. Редакция оставляет за собой право сокращения публикуемых материалов и адаптации их к рубрикам журнала.

- Текстовый материал предоставляется отпечатанным в 2 экземплярах и в электронном виде (диск). Текст на электронных носителях должен быть полностью идентичен прилагаемой распечатке. Каждый файл на диске необходимо проверить на отсутствие вирусов.

- Текст печатается в текстовом редакторе Word шрифтом Times, кеглем 12, через 1,5 интервала на листе А4.

- Статья должна иметь сопроводительное письмо (на бланке, заверенное печатью), подписанное руководителем учреждения, в котором была выполнена работа, или его заместителем. В письме должно быть указано, что материал статьи публикуется впервые.

- Материалы можно присылать в электронном виде на адрес red@ion.ru. Обязательно прикладывайте 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**, должность, ученая степень, ученое звание **каждого автора**; принадлежность каждого автора к соответствующему учреждению; **e-mail каждого автора** (если такового не имеется, указывается e-mail учреждения); **полное название на русском и английском языке**, адреса и телефоны **учреждений**, на базе которых выполнено исследование; инициалы и фамилия руководителя кафедры, клиники, отдела, лаборатории; подписи всех авторов. Необходимо полностью указать фамилию, имя и отчество, телефон и e-mail автора, с которым можно вести переговоры и переписку по поводу представленного в редакцию материала.

- Статья должна содержать **расширенную аннотацию (резюме) на русском 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 должны быть даны ключевые слова **на русском и английском языке**.

- Каждый иллюстративный материал (графики, диаграммы, рисунки, фотографии) представляется 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! Они предоставляются либо отдельным файлом в векторном виде в формате eps (шрифты – в кривых), либо

созданными в программе Word (использование текстур и художественных заливок не допускается). Фотографии, рисунки, рентгенограммы (только черно-белые!) представляются отдельным файлом в формате tif. Размер изображения в представляемом файле должен быть равен его окончательному физическому размеру (в миллиметрах) с разрешением 300 dpi. **Цветные иллюстрации и диаграммы, а также их экранные копии в работу не принимаются.**

- Однотипные иллюстрации должны быть одинаковыми по размеру, масштабу, характеру представления информации.

- При использовании цитат, приводимых в статье, в сноске указывается их источник (название издания, год, выпуск, страница).

- При описании лекарственных препаратов указывается 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).

Для публикации статей в научных периодических изданиях, входящих в международные базы данных, **авторы должны предоставлять 2 списка литературы: традиционный – все публикации на родном языке (русские слова – кириллицей, иностранные – латиницей) и References – описание русскоязычных источников латиницей (фамилии авторов и названия источников публикаций транслитерируются, названия самих работ – переводятся на английский язык).**

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 быть 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, ФГБНУ «НИИ питания», **редакция журнала «Вопросы питания»**, для **Вржесинской Оксаны Александровны**



Клиническая диетология



В.П. Шевченко

Под ред. В.Т. Ивашкина

- Руководство обобщает многолетнюю работу автора, а также опубликованные данные исследований по изучению статуса питания человека при различных патологических состояниях. Даны рекомендации, как выбирать лечебные мероприятия по его оптимизации, применяя методы диетотерапии, в частности парентеральное и энтеральное питание. Приведена информация о потребностях организма в питательных веществах и энергообеспечении в зависимости от состояния хирургических, терапевтических и других больных.
- Подробно описаны современные средства для парентерального и энтерального питания, а также особенности методики и техники его осуществления. Указаны показания и противопоказания к этим видам искусственного питания. В разделе о традиционных методах диетотерапии подробно излагаются вопросы лечебного питания при заболеваниях органов пищеварения, сердечно-сосудистой системы, почек, при ожирении, сахарном диабете и др.
- Предназначено терапевтам, гастроэнтерологам, абдоминальным хирургам, реаниматологам, диетологам, врачам отделений клинической диетологии.

2014. — 256 с.

Контакты

Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа»
115035, Москва,
ул. Садовническая, д. 9, стр. 4.
Тел./факс: (495) 921-39-07,
(499) 246-39-47.
www.geotar.ru

Интернет-магазин «Медкнигасервис»:
www.medknigaservis.ru
Тел.: 8-800-555-999-2.

Фирменные магазины «Медицинская литература»:

м. «Фрунзенская»
г. Москва, Комсомольский
просп., д. 28 (здание Московского
дворца молодежи).
Тел.: 8 (916) 877-06-84,
(499) 685-12-47;

м. «Коньково»,
м. «Юго-Западная»
г. Москва, ул. Островитянова, д. 1.
Тел.: (495) 434-55-29;

м. «Новокузнецкая»
(по раб. дням с 9-00 до 18-00)
г. Москва, ул. Садовническая,
д. 9, стр. 4.
Тел.: (495) 921-39-07,
(495) 228-09-74;
м. «Цветной бульвар»
г. Москва, ул. Садовая-Самотечная,
д. 13, стр. 1.
Тел.: (495) 684-32-65,
8 (985) 387-14-57.