

лий развития у детей наиболее часто встречаются пороки развития костно-мышечной системы (вывих бедра, кривошея, деформации грудной клетки, деформации нижних конечностей). Хронические заболевания органов пищеварения диагностируются у 3,8–7,3% детей в ДООУ, до 7% дошкольников имеет болезни мочеполовой системы, при этом данная патология чаще встречается у девочек 5–7 лет.

Проведенные исследования выявили ухудшение состояния здоровья детей в ДООУ по сравнению с нашими данными 10-летней давности, что подтверждается ростом морфофункциональных отклонений и хронической патологии у современных дошкольников.

УДК 613.169.16:577.391 615.32:615:9:576.5

А.С. Богдан, А.М. Бондарук, В.Г. Цыганков, Н.П. Варавина,
Л.Н.Журихина, З.П. Кузнецова, Л.М. Лобанок,** Л.А. Русяев,**
Т.Н. Свинтилова, , А.А. Чаховский**

БИОЛОГИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ МНОГОКОМПОНЕНТНЫХ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ ПИЩЕВЫХ ДОБАВОК НА ОСНОВЕ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

Создание пищевых добавок лечебно-профилактического назначения (ЛПД) – один из элементов алиментарной профилактики отрицательных последствий хронического воздействия на человека загрязнителей окружающей среды различной природы, подавляющая часть которых попадает в организм трансалиментарным путем. Десятилетний опыт нашей работы в рамках Госпрограммы по минимизации и преодолению последствий катастрофы на ЧАЭС свидетельствует о целесообразности использования для этой цели растительного сырья. В настоящее время научные изыскания в этой области ведутся в двух направлениях. Во-первых, в направлении выделения из растительного сырья биологически активных комплексов, обладающих направленным фармакологическим эффектом, и создания на их основе препаратов. Во-вторых, в направлении использования биологически активных комплексов растений в их естественном сочетании и создания на их основе ЛПД.

Фармпрепараты обеспечивают быстрый клинический эффект. Однако их создание требует длительного времени и больших материальных затрат. К тому же при производстве таких препаратов в процессе выделения из растительного сырья действующего начала, проявляющего активность при одном заболевании, в отход уходит масса сопутствующих веществ, зачастую являющихся биологически и фармакологически активными при других

* Институт радиобиологии, НАНБ, г. Минск, Беларусь.

**Центральный ботанический сад, НАНБ, г. Минск, Беларусь.

заболеваниях. Поэтому, не отрицая целесообразности получения фармпрепаратов, считаем также перспективным создание ЛПД путем использования биологически активных комплексов растений и сопутствующих им веществ в их естественном сочетании, сбалансированном в процессе эволюции самой природой.

Такие добавки способны повышать радиорезистентность организма, действуя и как собственно протекторы, и как блокаторы, и как декорпоранты. Кроме того, обладая широким спектром фармакологического действия, они способны корректировать биомедицинские последствия воздействия ионизирующей радиации на организм.

ЛПД на основе природного растительного сырья переносятся организмом лучше синтетических препаратов, дают меньше нежелательных побочных эффектов и пригодны для длительного, перорального приема. Их создание требует меньших материальных затрат, чем создание фармпрепаратов.

По результатам биологического скрининга вегетативных и генеративных органов 14 видов растений семейства барбарисовых, брусничных, лимонниковых и розоцветных, осуществленного с использованием методов экспресс-биотестирования на *Tetrahymena rugiformis* и изучения их радиомодифицирующих свойств на теплокровных животных, отобраны виды и органы растений, перспективные в качестве сырья для получения ЛПД [1].

С учетом содержания биологически активных веществ в растительном сырье разработаны 4 рецептуры лечебно-профилактических пищевых добавок:

ЛПД-1. В рецептуру этой добавки входят плоды барбариса обыкновенного (*Berberis vulgaris*), рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia*), ирги колосистой (*Amelanchier spicata*), боярышника мягковатого (*Crataegus submollis*).

ЛПД-2. В рецептуру входят плоды лимонника китайского (*Schizandra chinensis*), *Sorbus aucuparia*, *Amelanchier spicata*, *Crataegus submollis*.

ЛПД-3. В рецептуру входят листья *Schizandra chinensis*, плоды *Sorbus aucuparia*, *Amelanchier spicata*, *Crataegus submollis*.

ЛПД-4. В рецептуру которой входят плоды *Berberis vulgaris*, *Sorbus aucuparia*, *Crataegus submollis*, клюквы крупноплодной (*Vaccinium macrocarpon* Ait.).

Комплексная биологическая оценка пищевых добавок с учетом комбинированного действия входящих в их рецептуру компонентов и протекторных свойств при физико-химических воздействиях осуществлена в остром, подостром, хроническом и пролонгированном экспериментах на *Tetrahymena rugiformis* [2, 3, 4, 5, 6, 7]. Радиомодифицирующие свойства при гамма-радиации и инкорпорировании ^{131}Cs изучены в экспериментах на белых крысах.

По результатам определения средней смертельной дозы (LD_{50}) в острых экспериментах лечебно-профилактические пищевые добавки ЛПД-1 и ЛПД-3 относятся к 4 классу токсичности, то есть, являются мало токсичными соединениями. Пищевые добавки ЛПД-2 и ЛПД-4 относятся к 3 классу токсичности, проявляя умеренную токсичность (табл. 1).

По результатам подострых экспериментов пищевая добавка ЛПД-4 проявляет умеренно выраженные кумулятивные свойства; пищевая добавка ЛПД-2 обладает слабо выраженной кумулятивностью; пищевая добавка ЛПД-1 – выраженной (табл. 1).

По результатам оценки в хронических экспериментах на популяции *Tetrahymena pyriformis* пищевые добавки ЛПД-1, ЛПД-2, ЛПД-3 и ЛПД-4 не вызвали видимых морфологических и функциональных нарушений у тест-объекта; не проявили мутагенной активности.

Пищевые добавки ЛПД-1, ЛПД-2 и ЛПД-3 не проявили сенсibiliзирующей активности. Пищевая добавка ЛПД-4 в концентрациях 5 и 10 мг/мл оказала слабо выраженное аллергенное действие, оцененное в 1 балл по 5-балльной шкале.

Пищевая добавка ЛПД-1 проявила умеренно выраженный адаптогенный эффект, не превышающий 11%; пищевая добавка ЛПД-2 снизила адаптационный потенциал популяции на 11% – 52%; пищевые добавки ЛПД-3 и ЛПД-4 вызвали фазовые колебания адаптационного потенциала популяции.

Изучение и оценка комбинированного действия компонентов, входящих в рецептуру лечебно-профилактических пищевых добавок, по токсичности в остром эксперименте и по функциональному показателю в хроническом эксперименте выявила для ЛПД-1: по токсичности – аддитивное действие (суммация токсических эффектов), по кумуляции – гетероаддитивное, по функциональному показателю ($K_{ад}$) – менее чем аддитивное (антагонизм); для ЛПД-2: по токсичности – более чем аддитивное (потенцирование токсических эффектов), по кумуляции – менее чем аддитивное (антагонизм), по функциональному показателю ($K_{ад}$) – менее чем аддитивное (антагонизм); для ЛПД-3: по токсичности – более чем аддитивное (потенцирование токсических эффектов), по кумуляции – более чем аддитивное, по функциональному показателю ($K_{ад}$) – более чем аддитивное; для ЛПД-4: по токсичности – более чем аддитивное, по кумуляции – гетероаддитивное, по функциональному показателю ($K_{ад}$) – менее чем аддитивное (табл. 1).

Таблица 1

Оценка комбинированного действия многокомпонентных ЛПД

ЛПД-1

Показатели	<i>Amelanchier spicata</i>	<i>Berberis vulgaris</i>	<i>Crataegus submollis</i>	<i>Sorbus aucuparia</i>	ЛПД-1
ЛД ₅₀ , мг/мл	53,5±0,02	10,0±0,02	97,8±0,015	37,0±0,02	39,7±0,02
Класс токсичности	4	3	4	4	4
$K_{к.д.}$ по ЛД ₅₀	1,0±0,001	Комбинированное действие аддитивное (суммация)			
$K_{кум.}$	5,64	0,80	3,00	2,87	2,44
$K_{Д}$ по $K_{кум.}$	Комбинированное действие гетероаддитивное				
$K_{к.д.}$	0,82±0,009	2,60±0,103	1,00±0,006	1,27±0,018	1,20±0,012
$K_{к.д.}$ по $K_{ан.}$	0,89±0,012 Комбинированное действие менее чем аддитивное (антагонизм)				

ЛПД-2

Показатели	<i>Amelanchier spicata</i>	<i>Schizandra Chinensis</i>	<i>Crataegus submollis</i>	<i>Sorbus aucuparia</i> , Невежизская	ЛПД-2
ЛД ₅₀ , мг/мл	53,5±0,02	13,9±0,02	97,8±0,015	36,9±0,06	13,1±0,04
Класс токсичности	4	3	4	4	3
K _{к.л.} по ЛД ₅₀	4,4±0,012 Комбинированное действие более чем аддитивное (потенцирование)				
Ккум.	5,64	4,80	3,00	5,86	8,20
КД по K _{кум.}	Комбинированное действие менее чем аддитивное (антагонизм)				
K _{ад.}	0,82±0,009	0,98±0,004	1,00±0,006	0,87±0,010	0,82±0,015
K _{к.л.} по K _{ад.}	0,89±0,012 Комбинированное действие менее чем аддитивное (антагонизм)				

ЛПД-3

Показатели	<i>Amelanchier spicata</i> , плоды	<i>Schizandra chinensis</i> , листья	<i>Crataegus submollis</i> , плоды	<i>Sorbus aucuparia</i> , Невежизская плоды	ЛПД-3
ЛД ₅₀ , мг/мл	53,5±0,02	59,3±0,032	97,8±0,015	36,9±0,06	27,2±0,01
Класс токсичности	4	4	4	4	4
K _{к.л.} по ЛД ₅₀	1,3±0,001 Комбинированное действие более чем аддитивное (потенцирование)				
Ккум.	5,64	3,45	3,00	5,86	1,9
КД по K _{кум.}	Комбинированное действие более чем аддитивное (потенцирование)				
K _{ад.}	0,82±0,009	0,85±0,006	1,00±0,006	0,87±0,010	1,10±0,000
K _{к.л.} по K _{ад.}	1,24±0,000 Комбинированное действие более чем аддитивное (потенцирование)				

ЛПД-4

Показатели	<i>Vaccinium macrocarpon</i>	<i>Berberis vulgaris</i>	<i>Crataegus submollis</i>	<i>Sorbus aucuparia</i> , Невежизская	ЛПД-4
ЛД ₅₀ , мг/мл	21,2±0,03	10,0±0,02	97,8±0,015	36,9±0,06	13,9±0,00
Класс токсичности	4	3	4	4	3
K _{к.л.} по ЛД ₅₀	1,62±0,007 Комбинированное действие более чем аддитивное (потенцирование)				
Ккум.	3,87	0,80	3,00	5,86	3,60
КД по K _{кум.}	Комбинированное действие гетероаддитивное				
K _{ад.}	1,15±0,032	2,60±0,103	1,00±0,006	0,87±0,010	1,27±0,044
K _{к.л.} по K _{ад.}	0,90±0,031 Комбинированное действие менее чем аддитивное (антагонизм)				

Таким образом, оценка 4 рецептур многокомпонентных пищевых добавок в остром, подостром и хроническом экспериментах по характеру комби-

нированного действия входящих в их рецептуру компонентов показала, что наиболее перспективной для дальнейшего исследования является рецептура ЛПД-1. Эта добавка малотоксична, обладает аддитивным комбинированным действием по токсичности и умеренным адаптогенным эффектом при хроническом воздействии.

ЛПД-1 соответствует требованиям, предъявляемым к БАД парафармацевтикам по содержанию токсичных элементов, долгоживущих хлорорганических пестицидов и микробному обсеменению. Она характеризуется высоким содержанием важных для организма макро- и микронутриентов: калия, марганца, железа, фруктозы, аскорбиновой кислоты, рибофлавина, ниацина, каротиноидов, антоцианов, флавонолов.

Изучена биологическая активность ЛПД-1 в хроническом и пролонгированном экспериментах. Установлено, что ЛПД-1 при пролонгированном воздействии на популяцию *Tetrachymena rugiformis* в концентрациях 5×10^{-18} , 5×10^{-12} , 5×10^{-9} , 5×10^{-6} , 5×10^{-3} , 5×10^{-1} мг/мл вызывает фазовые изменения скорости ее роста с преобладанием периодов стимуляции. В результате, в среде культивирования, содержащей ЛПД-1 в указанных концентрациях, сменилось больше поколений, чем в контроле. ЛПД-1 в концентрациях 5×10^0 , 10^1 мг/мл вызывает угнетение скорости роста при пролонгированном воздействии на популяцию и ее гибель (табл. 2).

Фазовые изменения скорости роста популяции *Tetrachymena rugiformis* под влиянием ЛПД-1 являются отражением адаптационных изменений в организме инфузорий под действием биологически активных веществ, содержащихся в лечебно-профилактической добавке.

Количественная оценка адаптогенных свойств ЛПД-1 показала, что пищевая добавка, воздействующая на 7 жизненных циклов *Tetrachymena rugiformis* в концентрациях 5×10^{-12} – 5×10^{-1} мг/мл, повысила адаптационный потенциал популяции до 42% и кислотную резистентность организмов до 80% по сравнению с контролем. Длительное воздействие на популяцию ЛПД-1 в концентрациях 5×10^{-3} – 5×10^{-1} мг/мл не привело к истощению ее адаптационных резервов (табл. 2).

ЛПД-1 во всех исследованных концентрациях не проявила мутагенной и в концентрациях 5×10^{-18} – 5×10^{-3} мг/мл сенсibiliзирующей активности на *Tetrachymena rugiformis*. В концентрации 5×10^{-1} мг/мл эта пищевая добавка при повторных воздействиях на *Tetrachymena rugiformis* оказала умеренное аллергенное действие величиной в 2 балла (табл. 2).

Результаты изучения протекторных свойств ЛПД-1 при физико-химических воздействиях показали, что она оказывает выраженный защитный эффект при остром и подостром воздействии на *Tetrachymena rugiformis* ультрафиолетовой ионизирующей радиации, а также при хроническом индивидуальном, комбинированном и сочетанном воздействии наиболее распространенных загрязнителей окружающей среды: тяжёлых металлов (свинца азотнокислого), нитратов (нитрита натрия) (табл. 3).

Биологическое действие ЛПД-1 на *Tetrahymena pyriformis*

ЛПД-1, мг/мл	Число по- колений	Кад. ₂₄₋₉₆	Кад. ₄₈₋₃₃₆	Кад. ₃₁₂₋₃₈₄	Рад	Кислот- ная ре- зистент- ность	Аллерген- ное дей- ствие, в баллах	Реакция на мута- генность
0	39,53±	1,00±	1,00±	1,00±	1,00±	1,0±	0	Отрица- тельная
Контроль	0,295	0,038	0,009	0,018	0,018	0,00		
5x10 ⁻¹⁸	40,17±	1,42±	1,08±	0,98±	0,69±	1,0±	0	Отрица- тельная
	0,345*	0,032*	0,012*	0,000	0,000*	0,00		
5x10 ⁻¹²	41,42±	1,20±	1,23±	1,07±	0,89±	1,2±	0	Отрица- тельная
	0,314*	0,013*	0,040*	0,006*	0,006*	0,00*		
5x10 ⁻⁹	41,22±	1,27±	1,22±	1,32±	1,04±	1,8±	0	Отрица- тельная
	0,314*	0,024*	0,020*	0,012*	0,012	0,00		
5x10 ⁻⁶	40,96±	1,73±	1,19±	1,07±	0,62±	1,6±	0	Отрица- тельная
	0,190*	0,023*	0,000*	0,009*	0,003*	0,00*		
5x10 ⁻³	40,91±	1,27±	1,20±	1,30±	1,02±	1,4±	0	Отрица- тельная
	0,384*	0,018*	0,012*	0,004*	0,003	0,00*		
5x10 ⁻¹	42,24±	1,19±	1,35±	1,36±	1,14±	0,8±	2	Отрица- тельная
	0,131*	0,017*	0,004*	0,030*	0,027*	0,00*		
5x10 ⁰	23,79±	1,00±	0,61±	0	0	-	-	-
	0,661*	0,000	0,020*					
10 ¹	17,52±	0,93±	0,27±	0	0	-	-	-
	0,332*	0,043	0,007*					

Таблица 3

Защитное действие (в %) ЛПД-1 на *Tetrahymena pyriformis* в пролонгированном эксперименте при индивидуальном, комбинированном и сочеганном воздействии свинца азотнокислого, натрия азотистокислого и ультрафиолетовой радиации разной интенсивности

ЛПД-1, мг/мл	УФ-радиация в летальных дозах		УФ-радиация в сублетальной дозе	Pb(NO ₃) ₂ · 7x10 ⁻⁴ + NaNO ₂ 9x10 ⁻³ мг/мл	Pb(NO ₃) ₂ · 7x10 ⁻⁴ + NaNO ₂ 9x10 ⁻³ мг/мл + УФР
	1-й жизненный цикл	7-й жизненный цикл			
5x10 ⁻¹⁸	7	52	8	116	8
5x10 ⁻¹²	21	27	33	0	0
5x10 ⁻⁹	32	24	50	33	8
5x10 ⁻⁶	22	51	17	8	0
5x10 ⁻³	47	39	33	75	50
5x10 ⁻¹	58	34	8	83	25

Защитный эффект наиболее выражен у ЛПД-1 в концентрациях 5x10⁻³ и 5x10⁻¹ мг/мл и проявляется в большей степени, если популяция предварительно культивируется в среде, содержащей данную добавку.

Изучение радиомодифицирующих свойств ЛПД-1 в экспериментах на белых крысах показало, что лечебно-профилактическая пищевая добавка увеличивает выживаемость животных после острого внешнего γ -облучения. При введении ЛПД-1 в стандартный рацион крыс существенно снижается накопление радиоцезия в организме экспериментальных животных в течение всего периода наблюдения. ЛПД-1 уменьшает радиационно-индуцированные изменения нервной и гуморальной регуляции сердечно-сосудистой системы. Эффект более выражен, если препарат применяется до облучения.

Таким образом, по результатам комплексной биологической оценки лечебно-профилактической пищевой добавки, содержащей плоды *Berberis vulgaris*, *Sorbus aucuparia*, *Amelanchier spicata*, *Crataegus submollis*, в экспериментах на *Tetrachymena rugiformis* и белых крысах установлено, что для *Tetrachymena rugiformis* концентрация ЛПД-1 5×10^0 мг/мл является пороговой по общетоксическому действию; концентрация ЛПД-1 5×10^{-1} мг/мл является пороговой по иммуномодулирующему действию. Концентрация ЛПД-1 5×10^{-3} мг/мл является безопасной по проявлению мутагенной и аллергенной активности и биологически эффективной по адаптогенным и протекторным свойствам. ЛПД-1 в концентрациях 5×10^{-3} и 5×10^{-1} мг/мл эффективно защищает *Tetrachymena rugiformis* от повреждений при токсических воздействиях на протяжении 7 жизненных циклов, но в концентрации 5×10^{-1} мг/мл оказывает сенсibiliзирующее действие на организм, проявляющееся в аллергической реакции *Tetrachymena rugiformis*, проходящей седьмой жизненный цикл, на сывороточные антитела.

Полученные экспериментальные данные дают основание рекомендовать лечебно-профилактическую добавку ЛПД-1 для использования в фармакологической и пищевой промышленности.

По результатам биологической оценки ЛПД-1 рассчитаны дозы этой лечебно-профилактической добавки, эффективные и безопасные для человека. Для прохождения курса лечения может быть рекомендована доза 200 – 1000 мг/сутки. Для ежедневного длительного применения может быть рекомендована доза – 100 – 200 мг/сутки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Богдан А.С., Бондарук А.М., Цыганков В.Г., Чаховский А.А. Биологический скрининг растений из семейства барбарисовых, лимонниковых и розоцветных для отбора видов, перспективных в качестве сырья для получения радиозащитных препаратов и пищевых добавок // Кн.: Фундаментальные и прикладные аспекты радиозоологии. – Мн., 1998, с.19.
2. Ускоренный способ определения токсичности химических веществ и вытяжек из полимерных материалов / А.С. Богдан, С.Ю. Буслович. – Мн., 1996. – 19 с.
3. Комплексная биологическая оценка объектов природного и искусственного происхождения на *Tetrachymena rugiformis* / Методические рекомендации; МЗ РБ, БелНИСГИ; Сост. А.С.Богдан, – Мн., 1996. – 19 с.
4. Методические рекомендации по доклиническому испытанию биологически активных пищевых добавок и фитопрепаратов / МЗ РБ, БелНИСГИ; Сост. А.С. Богдан, З.П. Кузнецова, С.М. Соколов и др. – Мн., 2000. – № 119-0010.

5. Богдан А.С. Экспресс-метод изучения комбинированного действия ксенобиотиков и биологически активных веществ на *Tetrahymena pyriformis* / Кн.: Актуальные проблемы научного обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения и пути их реализации. – Мн., 2000, с. 104-105.

6. Богдан А.С. Гигиеническая классификация химических веществ по степени токсичности, определенной на *Tetrahymena pyriformis* / Там же, с. 105.

7. Богдан А.С. Экстраполяция результатов оценки биологически активных веществ на *Tetrahymena pyriformis* на теплокровных животных и человека / Там же, с. 106-107.

УДК 613:26:614.7

А.С. Богдан

ЭКСПРЕССНАЯ ТОКСИКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ НА TETRAHYMENA PYRIFORMIS

Изучение токсичности и опасности новых химических веществ является научной стадией предупредительного санитарного надзора за внедрением новых препаратов в народное хозяйство и быт. Традиционная процедура гигиенической регламентации в силу своей трудоемкости, длительности и дороговизны не может обеспечить токсикологической оценки всей массы химических соединений, предлагаемых технологами к опытному производству и внедрению. Именно поэтому многие химические соединения не имеют токсикологического паспорта или внедряются в производство без него и создают реальную опасность для людей. Если же использование новых химических соединений задерживается, это приводит к экономическим потерям.

Поэтому, в настоящее время во всем мире ведется интенсивный поиск экспрессных методов токсиколого-гигиенических исследований. При этом используются тест-объекты разной степени организации: изолированные митохондрии, изолированные клетки, клеточные культуры, микроорганизмы (кишечная палочка, люминесцентные бактерии), инфузории, дафнии, моллюски, рыбы и др. Лабораторная культура одноклеточных организмов инфузорий *Tetrahymena pyriformis* имеет ряд преимуществ среди названных тест-объектов, во-первых, в силу своей изученности (используется для проведения многообразных биологических исследований с 1927 года), во-вторых, вследствие близости к теплокровным животным по потребности в пищевых веществах и характеру их метаболизма. Обладая высокой скоростью роста, *Tetrahymena pyriformis* позволяет получить за относительно непродолжительное время высоко достоверную информацию на клеточном, организменном и популяционном уровнях с учетом отдаленных и специфических эффектов.

Разработанная и апробированная процедура токсикологического изучения химических веществ на *Tetrahymena pyriformis* (см. схему) позволяет за непродолжительное время и с незначительными материальными затратами