

6. The use of 2D NMR to study β -cyclodextrin complexation and debittering of amino acids and peptides / G.A. Linde [et al.] // Food Res. Int. – 2010. – Vol. 43. – P. 187–192.

7. Альтернативные методы исследования (экспресс-методы) для токсиколого-гигиенической оценки материалов, изделий и объектов окружающей среды: метод. пособ. / Л.Г. Подунова, Т.А. Меньшикова, Я.Г. Двоскин. – Москва, 1999. – 108 с.

8. Комплексы включения циклодекстрина с пептидами сывороточных белков молока: характеристика антиоксидантной активности / Т.Н. Головач [и др.] // Журнал БГУ. Биология. – 2018. – № 3. – С. 3–13.

Прозоровский, В.Б. Использование метода наименьших квадратов для пробит-анализа кривых летальности / В.Б. Прозоровский // Фармакология и токсикология. – 1962. – № 1. – С. 41–63.

УДК 547.458.6+637.144.5

ЦИТОТОКСИЧЕСКИЕ И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ КОМПЛЕКСА β -ЦИКЛОДЕКСТРИНА С ПЕПТИДАМИ МОЛОЧНОЙ СЫВОРОТКИ

Головач Т.Н.¹, Цыганков В.Г.², Бондарук А.М.²,
Афонин В.Ю.², Курченко В.П.¹

¹ *Белорусский государственный университет, г. Минск, Республика Беларусь*

² *РУП «Научно-практический центр гигиены», г. Минск, Республика Беларусь*

*Изучены цитотоксические и цитогенетические повреждения лейкоцитов при энтеральном введении рандомбредным белым крысам *Rattus norvegicus* клатрата β -циклодекстрина с пептидами белков молочной сыворотки. По итогам анализа динамики прироста массы тела и относительного коэффициента массы органов различия по сравнению с контрольной группой не установлены. В соответствии с экспериментальными данными о дифференцировке клеток крови, их гибели и цитогенетических нарушениях заключено, что опытный образец циклического олигосахарида с пептидами в максимально допустимых дозировках для введения (согласно ТКП 125–2008) является нетоксичным.*

Ключевые слова: β -циклодекстрин, пептиды сывороточных белков, комплекс включения, цитогенетические эффекты, *Rattus norvegicus*.

CYTOTOXIC AND CYTOGENETIC EFFECTS OF β -CYCLODEXTRIN COMPLEX WITH WHEY PEPTIDES

Halavach T.M.¹, Zhygankov V.G.², Bondaruk A.M.²,
Afonin V.Yu.², Kurchenko V.P.¹

¹ *Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus*

² *RUE «Scientific Practical Centre of Hygiene», Minsk, Republic of Belarus*

*Cytotoxic and cytogenetic lesions of leukocytes were studied after enteral administration of β -cyclodextrin clathrate with whey peptides to white rats *Rattus norvegicus*. According to the dynamics of body weight gain and the relative coefficient of organs mass, any differences in comparison with the control group were not established. In appliance with experimental data on the differentiation of blood cells, their death and cytogenetic disorders, it is concluded that obtained sample of cyclic oligosaccharide with peptides in the maximum allowable dosages for administration according to Principles on GLP is non-toxic.*

Keywords: β -cyclodextrin, whey peptides, inclusion complex, cytogenetic effects, *Rattus norvegicus*.

Введение. Биологически активные белковые гидролизаты с глубокой степенью гидролиза отличаются специфическим горьким вкусом, что препятствует широкому использованию расщепленных белков в составе пищевых продуктов [1]. Характерная конусообразная конформация циклических олигосахаридов, или циклодекстринов (ЦД), обуславливает включение в их гидрофобную полость веществ различной природы [5]. В соответствии с экспериментальными данными [9] и литературными источниками [5, 6] включение пептидов в состав клатратов с циклодекстринами обеспечивает улучшение органолептических показателей белковых гидролизатов и увеличение их радикал-восстанавливающих свойств. В настоящее время целесообразным представляется проведение токсиколого-гигиенической экспертизы опытных образцов комплексов включения циклического олигосахарида с гидролизатом молочной сыворотки. Потенциальную опасность продуктов специализированного питания, как правило, оценивают в экспериментах на лабораторных животных (морские свинки, мыши, крысы).

Цель работы – провести анализ цитотоксических и цитогенетических повреждений лейкоцитов при энтеральном введении рандомбредным белым крысам *Rattus norvegicus* клатрата β -циклодекстрина с пептидами сыворотки.

Материалы и методы исследования. В эксперименте применяли комплекс β -ЦД с гидролизатом сывороточных белков. Клатрат изготовлен при содержании пептидной фракции 2,5 %, добавлении циклического олигосахарида в концентрации 5 %. Образец получен в НИЛ прикладных проблем биологии (Белорусский государственный университет).

Цитотоксические и цитогенетические эффекты клатрата β -ЦД с пептидами сыворотки молока при энтеральном введении рандомбредным белым крысам *Rattus norvegicus* изучены на базе РУП «Научно-практический центр гигиены» согласно общепринятым методикам [2, 3]. В эксперименте использовали крыс-самцов линии Wistar с массой тела 180–200 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария, а обращение с ними соответствовало этическим принципам надлежащей лабораторной практики [7, 10].

Результаты и их обсуждение. В рамках хронического эксперимента были сформированы 2 группы животных: контрольная группа получала β -ЦД (раствор с концентрацией циклического олигосахарида 75 мг/мл), а опытной группе вводили клатрат β -ЦД с пептидами сыворотки (раствор с содержанием комплекса 75 мг/мл).

Каждому животному согласно ТКП 125–2008 [10] 5 раз в неделю в течение 4 недель энтерально вводили максимально допустимую дозу раствора (5 мл) для установления параметров безопасности и эффективности на систему кроветворения. На 28-е сутки эксперимента определяли коэффициент относительной массы органов животных. Препараты мазков периферической крови готовили по стандартной методике и окрашивали красителем Гимза [4]. Цитотоксические и цитогенетические повреждения лейкоцитов учитывали согласно общепринятым методикам [2, 3].

От каждого животного анализировали не менее 500 лейкоцитов (нейтрофилы, эозинофилы, моноциты, лимфоциты), в опыте определяли количество клеток с микроядрами. Отдельно подсчитывали количество клеток, содержащих 2 типа микроядер. К первому типу микроядер относили одиночные и множественные мелкие микроядра размером до 1/40 размера основного ядра, которые образованы фрагментами хромосом. Ко второму типу микроядер относили микроядра размером от 1/15 до 1/10 размера основного ядра [8]. Учитывали частоту встречаемости лейкоцитов с признаками программируемой гибели и гибнущих путем некроза. Кроме того, в задачи исследования входило определение частоты встречаемости сегментоядерных и юных лейкоцитов среди общего количества полиморфноядерных белых кровяных телец.

При статистической обработке данных для каждой группы вычисляли среднее значение изучаемого параметра и ошибку среднего. Межгрупповые различия анализировали непараметрическим методом (критерий Манна-Уитни). Различия считали достоверными при значении $p < 0,05$.

По результатам анализа динамики прироста массы тела и определения коэффициента относительной массы органов животных достоверные различия не установлены, что предварительно свидетельствует о безопасности разработанной композиции клатрата β -циклодекстрина с пептидами.

В таблице 1 представлены показатели дифференцировки клеток периферической крови, а в таблице 2 отражены цитогенетические характеристики.

Таблица 1 – Показатели дифференцировки клеток периферической крови

Название образца	Несегментированные клетки (палочкоядерные), %	Два сегмента, %	Три сегмента, %	Четыре сегмента, %	Пять и более сегментов, %	Эозинофилы (без учета сегментации ядра), %
1	2	3	4	5	6	7
Контроль (β -ЦД)	0,17*	0,17*	4,17 \pm 0,25	2,0 \pm 0,57	0,17*	0,17*
1	2	3	4	5	6	7
Клатрат β -ЦД с пептидами	2,0 \pm 0,57	1,0 \pm 0,41	0,17*	3,0 \pm 0,70	1,50 \pm 0,50	0,50 \pm 0,29
Показатели дифференцировки через 24 ч инкубации <i>ex vivo/in vitro</i>						
Контроль (β -ЦД)	0,17*	0,17*	0,17*	0,17*	0,17*	0,17*
Клатрат β -ЦД с пептидами	2,0 \pm 0,57	0,80 \pm 0,40	0,17*	0,17*	0,17*	0,17*

Примечание: * – В препаратах мазков периферической крови обнаружена 1 клетка

Таблица 2 – Цитогенетические показатели клеток периферической крови

Вариант	Апоптоз, %	Клетки с микроядрами, %	Многоплюсные митозы, %	Цитогенетические нарушения (многополюсные митозы клетки с микроядрами и др.), %
Контроль (β-ЦД)	2,0±0,57	0,17*	0,17*	0,33±0,023
Клатрат β-ЦД с пептидами	1,67±0,52	1,0±0,41	1,0±0,41	2,0±0,57
Цитогенетические показатели через 24 ч инкубации <i>ex vivo/in vitro</i>				
Контроль (β-ЦД)	6,0±0,97	0,17*	0,17*	0,33±0,023
Клатрат β-ЦД с пептидами	2,0±0,57	0,17*	0,17*	0,33±0,023

Примечание: * – В препаратах мазков периферической крови обнаружена 1 клетка

По итогам анализа дифференцировки клеток крови, их гибели и цитогенетических нарушений заключено, что исследуемые образцы (β-ЦД и его клатрат с пептидами) в максимально допустимых дозировках для введения согласно ТКП 125–2008 и Требованиям к постановке экспериментальных исследований для первичной токсикологической оценки и гигиенической регламентации веществ [7, 10] являются нетоксичными.

Установлено, что клатрат обладает потенциальным стимулирующим эффектом на лейкоцитарный пул клеток. Это выражается в активизации дифференцировки клеток на примере сегментоядерных форм (таблица 1), наряду с отсутствием гибели клеток *ex vivo/in vitro* (таблица 2). Увеличение цитогенетических эффектов клатрата, вероятно, связано со стимулирующим действием на пролиферацию и реализацию генетических повреждений в рамках нормы реакции организма, что подтверждается повышенной гибелью клеток в контроле *ex vivo/in vitro* (таблица 2).

Заключение. Проведен сравнительный анализ цитотоксических и цитогенетических повреждений лейкоцитов при энтеральном введении рандомбредным белым крысам комплекса включения β-циклодекстрина с гидролизатом сыворотки молока. Согласно ТКП 125–2008 образец клатрата циклического олигосахарида с пептидами в максимально допустимых дозировках для введения является нетоксичным. Установлено, что полученный комплекс включения обладает потенциальным стимулирующим эффектом на лейкоцитарный пул клеток.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Design, quality, safety and efficacy of extensively hydrolyzed formula for management of cow's milk protein allergy: what are the challenges? / S. Nutten [et al.] // *Adv. Food Nutr. Res.* – 2020 – Vol. 93. – P. 147–204.
2. HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures / M. Fenech [et al.] // *Mutat. Res.* – 2003. – Vol. 534, № 1–2. – P.65–75.
3. *In vitro* cytotoxicity assay to screen compounds for apoptosis-inducing potential on

lymphocytes and neutrophils / K.I. Nagami [et al.] // J. Toxicol. Sci. – 2002. – Vol. 27, № 3. – P.191-203.

4. Mills, J.N. Interpreting blood smears (or what blood smears are trying to tell you!) / J.N. Mills // Aust. Vet. J. – 1998. – Vol. 76, № 9. – P. 596–560.

5. Sharma, N. Exploring versatile applications of cyclodextrins: an overview / N. Sharma, A. Baldi // Drug Deliv. – 2016. – Vol. 23. – P. 729–747.

6. The use of 2D NMR to study β -cyclodextrin complexation and debittering of amino acids and peptides / G.A. Linde [et al.] // Food Res. Int. – 2010. – Vol. 43. – P. 187–192.

7. Инструкция 1.1.11–12–35–2004 «Требования к постановке экспериментальных исследований для первичной токсикологической оценки и гигиенической регламентации веществ»: утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 14.12.2004. – Минск: Респ. центр гигиены, эпидемиологии и обществ. здоровья, 2004. – 43 с.

8. Калаев, В.Н. Цитогенетический мониторинг: методы оценки загрязнения окружающей среды и состояния генетического аппарата организма / В.Н. Калаев, С.С. Карпова. – Воронеж: Изд-во ВГУ, 2004. – 80 с.

9. Комплексы включения циклодекстрина с пептидами сывороточных белков молока: характеристика антиоксидантной активности / Т.Н. Головач [и др.] // Журнал БГУ. Биология. – 2018. – № 3. – С. 3–13.

10. Надлежащая лабораторная практика: ТКП 125–2008: утв. Постановлением М-ва здравоохранения Респ. Беларусь 28.03.2008, № 56. – Введ. 01.05.2008. – Минск, 2008. – 35 с.

УДК 637.142.22

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОСЛОЙНОГО СОСТАВА МОЛОКОСОДЕРЖАЩЕГО ПРОДУКТА С ЗАМЕНИТЕЛЕМ МОЛОЧНОГО ЖИРА, ПРОИЗВЕДЕННОГО ПО ТЕХНОЛОГИИ КОНСЕРВОВ МОЛОЧНЫХ СГУЩЕННЫХ С САХАРОМ

Голубева Л.В. , Пожидаева Е.А. , Толмачев В.А.

ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет инженерных технологий, г. Воронеж

Исследован послойный состав свежесвыработанного молокосодержащего продукта с заменителем молочного жира, а также через 2,4,6,8,10,12 месяцев хранения.

Ключевые слова: заменитель молочного жира, молокосодержащий продукт, массовая доля жира.

STUDY OF LAYER-BY-LAYER COMPOSITION OF MILK-CONTAINING PRODUCT WITH MILK FAT SUBSTITUTE PRODUCED BY A TECHNOLOGY OF CANNED DAIRY CONDENSED WITH SUGAR

Golubeva L.V., Pozhidaeva E.A., Tolmachev V.A.

FSBEI HE «Voronezh state university of engineering technologies», Voronezh