

УДК: 615.9:(547.979.8:582.281.21)

Н.М. Дмитруха, докт. біол. наук; Т.К. Короленко, канд. мед. наук; О.С. Лагутіна
Державна установа «Інститут медицини праці імені ЮІ. Кундієва Національної академії медичних наук України», м. Київ, Україна

ОЦІНКА БЕЗПЕЧНОСТІ ЕКСТРАКТУ β -КАРОТИНУ “LYC-O-BETA” З ГРИБА *BLAKESLEA TRISPORA*

N.M. Dmytrukha, Dr.; T.K. Korolenko, PhD.; O.S. Lahutina

SAFETY ASSESSMENT OF “LYC-O-BETA” β -CAROTINE EXTRACT FROM FUNGI *BLAKESLEA TRISPORA*

Бета-каротин (β -каротин) є провітаміном вітаміну А, який має велике значення для здоров'я людини, оскільки бере участь в окислювально-відновлювальних процесах, регуляції синтезу білків, сприяє нормальному обміну речовин, функції клітинних мембран, відіграє важливу роль у функціонуванні імунної системи, формуванні кісток і зубів, є необхідним для росту нових клітин та зору, уповільнює процес старіння. Він також допомагає загоєнню ран та захищає шкіру від агресивного впливу сонця. Як потужний антиоксидант виявляє антимуутагенну, антиканцерогенну та радіопротекторну дію на живий організм [1].

Основним джерелом каротину для людини є рослинні продукти - морква, гарбуз, обліпиха, люцерна, але їх використання має сезонний характер, залежить від екологічного стану ґрунтів і врожаю, істотно знижується через хвороби рослин. Тому, на сьогодні увага приділяється отриманню β -каротину за допомогою альтернативних сучасних методів біотехнології. У цьому аспекті, мікробіологічний синтез є найбільш виправданим промисловим способом виробництва β -каротину як з технологічної, так і з економічної позиції. На сьогодні «мікробіологічні» каротиноїди, в тому числі β -каротин, отримують з клітин міцеліальних грибів, дріжджів, бактерій, актиноміцетів, водоростей. Одним з найбільш поширених продуцентів є гриб *Blakeslea trispora*, для якого розроблено технологію промислового культивування та синтезу β -каротину [2]. Екстракт β -каротину активно використовується в харчовій промисловості для забарвлення продукції (масла, маргарину, сиру, морозива, печива й ін.), а також як біологічно активна речовина при виготовленні вітамінних препаратів. Крім того у сільському господарстві використовують біомасу, що містить натуральні каротиноїди, як добавку до харчового раціону тварин та птахів [3].

Оскільки β -каротин є біологічно активною речовиною, його промислове виробництво потребує дослідження безпечності для здоров'я працівників мікробіологічного виробництва.

Метою роботи було дослідження впливу екстракту β -каротину з гриба *Blakeslea trispora* на організм щурів в умовах токсикологічного експерименту.

Матеріали і методи дослідження. Об'єктом дослідження був екстракт β -каротину – препарат “Лус-О-Бета”, який виготовляється компанією LycosRed Ltd (Беєр-Шева, Ізраїль). Експеримент виконано на 60 статевозрілих щурах самцях лінії Вістар масою 180–240 г, які перебували в умовах віварію інституту на стандартному харчовому і водному режимах. Щури були розділені на три дослідні серії (в кожній по 10 тварин). Щурам 1 серії внутрішньошлунково вводили розчин екстракту β -каротину в соняшниковій олії (0,08 мг β -каротину/кг маси тіла щура з урахуванням, що середньодобова доза для людини становить 6 мг) впродовж 7 днів. Тваринам 2 і 3 серії розчин β -каротину в тій же дозі (5 разів на тиждень). Контрольним тваринам

аналогічним способом вводили 1,0 мл соняшникової олії. Тварин 2-ої серії виводили з експерименту після 30-ти введень препарату, а 3-ї серії через 30 днів відновного періоду (ВП). Кров та внутрішні органи у всіх групах тварин забирали під час декапітації під легким ефірним наркозом. Дослідження проводили у відповідності з «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах» [4].

Під час експерименту визначали масу тіла контрольних та дослідних щурів та відносну масу внутрішніх органів (на 100 г маси тварини). Зміни маси тіла тварин в динаміці експерименту визначали методом зважування, через кожні 7 календарних днів. Абсолютну масу органів визначали зважуванням на електронних вагах Axis BTU210 (Польща). У всіх групах щурів виконано загальний аналіз крові з підрахунком лейкоцитарної формули на гематологічному аналізаторі Micros 60 (Horiba, Франція), а також уміст цинкпротопорфірину (ЦПП) – показника, що свідчить про порушення синтезу гемоглобіну за допомогою гемофлюориметра 206Д (США). Для оцінки неспецифічної резистентності у тварин визначали фагоцитарну активність нейтрофілів крові до полістиролового латексу $d=1,5$ мкм (ФІ - відсоток фагоцитуючих клітин та ФЧ – середнє число часточок латексу, поглинутих одним нейтрофілом), а також оксидативні процеси в нейтрофілах за допомогою реакції відновлення нітросинього тетразолію (НСТ-тест) [5]. Уміст вітаміну А і каротиноїдів в сироватці крові визначали методом Бессея у модифікації А.А. Анісової [6]. Дослідження показників, що характеризують функціональний стан печінки (білірубін, активність амінотрансфераз (АлАт і АсАт), лужної фосфатази (ЛФ)), а також концентрацію загального холестерину (ХС) та тригліцеридів (ТР) виконано за допомогою біохімічного аналізатора «Humalyzer 2000» та тест-наборів Elitech [7].

Результати дослідження. Аналіз отриманих даних, показав, що маса тіла дослідних щурів після 7-кратного введення їм екстракту β -каротину не відрізнялась від контрольної групи, тоді як після 30-ти введень препарату збільшилась на 32,9% ($p \leq 0,05$ порівняно з масою тварин в контрольній групі). У ВП маса тіла дослідних щурів також була дещо більшою за контрольні значення (на 2,8%). Відомо, що клітини крові одними з перших зазнають негативного впливу різних екзогенних чинників. Проте введення піддослідним щурам препарату β -каротину протягом 7 днів не викликало суттєвих змін у клітинному складі периферичної крові, окрім збільшення відносної кількості моноцитів, що може вказувати на стимуляцію неспецифічної імунної відповіді. Після 30-ти введень препарату у тварин дослідної групи клітинні показники периферичної крові також були на рівні контрольних значень, проте спостерігалось достовірне зниження рівня цинкпротопорфірину (ЦПП). Через 30 днів ВП вміст ЦПП в крові дослідних щурів був нижче ніж в контрольній групі, визначено зниження відносної кількості лімфоцитів і збільшення нейтрофілів паличкоядерних. Досліджено, що препарат β -каротину стимулював у дослідних щурів фагоцитарну активність нейтрофілів крові. Після 7-ми введень спостерігали підвищення ФІ – на 65,4%, ФЧ – на 30,3% ($p \leq 0,01$), а після 30-ти введень ФІ збільшився на 16,5%, а ФЧ - на 27,5% порівняно з контролем ($p \leq 0,05$). Через 30 днів ВП у групі дослідних щурів було визначено суттєве підвищення ФІ (на 64,1%), а ФЧ (на 41,5%) ($p \leq 0,01$). Оскільки, фагоцитоз – це неспецифічна захисна реакція, яка направлена на видалення різних чужорідних агентів (мікробів, вірусів, фрагментів клітин, та ін.), виявлене збільшення ФІ і ФЧ після введення β -каротину може вказувати на його вплив на формування опірності організму до інфекцій. Як антиоксидант екстракт β -каротину сприяв пригніченню утворення реактивних форм кисню в фагоцитах (зменшення показника НСТ-тесту порівняно з контрольними значеннями). Встановлено, що введення β -каротину призвело до збільшення вмісту каротиноїдів та вітаміну А у крові піддослідних щурів порівняно з контрольною групою в усі терміни спостереження. Зокрема, після 7-ми введень вміст вітаміну А збільшився в 2,6 рази ($p \leq 0,01$), а каротиноїдів - на 15,8%. Після 30-ти введень препарату у крові дослідних щурів порівняно з контрольною групою вміст

вітаміну А підвищився на 86,6%, а каротиноїдів - на 41,1% ($p \leq 0,01$); через 30 днів ВП - на 26,3% і 27,8% відповідно ($p \leq 0,05$). Підвищений вміст вітаміну А і каротиноїдів обумовлений надлишковим надходженням екстракту β -каротину в організм, проте зовнішніх проявів надлишку каротину - каротинемії (зміни кольору шкіри на помаранчевий) у піддослідних щурів виявлено не було. У тварин, яким вводили екстракт β -каротину, були встановлені зміни біохімічних показників крові. Так, після 7-ми введень препарату мало місце достовірне підвищення активності лужної фосфатази (ЛФ) (на 60,6% по відношенню до контролю $p \leq 0,01$) та зменшення активності ферменту АсАт (на 17,1%). Уміст загального білірубину, холестерину та тригліцеридів у крові дослідних тварин був на рівні контрольних значень. Після 30-ти введень екстракту β -каротину в дослідних щурів активність ЛФ була на рівні контрольних значень, проте виявлено достовірне зниження активності ферменту АлАт (на 28,8%) і незначне зменшення АсАт (на 10,8%), підвищення рівня холестерину і тригліцеридів було несуттєвим (на 6,3% і 7,9% відповідно). У ВП у дослідних щурів було відзначено несуттєве збільшення рівня білірубину та вірогідне зниження активності ферментів ЛФ (на 32,6%) і АлАт (на 21,0%) ($p \leq 0,05$). Зниження активності ферментів амінотрансфераз (АсАт і АлАт), а також ЛФ може вказувати на стабілізацію мембран клітин печінки й інших органів, за рахунок відомої мембранопротекторної дії β -каротину. Отримані результати дослідження кореспондують з даними інших авторів [8,9], дозволяють дійти наступних висновків.

Висновки. Екстракт β -каротину “Лус-О-Бета” при введенні щурам не проявляв токсичної дії, а навпаки сприяв підвищенню маси тіла тварин, відносної маси окремих органів (тимус, селезінка), стимулював відповідь неспецифічного природного імунітету (фагоцитарну активність нейтрофілів), проявляв мембрано-протекторну та антиоксидантну дію, як гепатопротектор позитивно впливав на клітини печінки та знижував активність ферментів амінотрансфераз у сироватці крові.

Література.

1. Никитюк В.Г, Каротиноиды и их значение в живой природе и для человека. Ж. Провизор. 1999. Вып. 6.
<http://www.provisor.com.ua/archive/1999/N6/karot.php>
2. Стенько А.С., Мартиновський В.П., Кушнікова Є.А. [та ін.] Мікроорганізми – продуценти β -каротину природного походження. Міжнародна конф. «Використання каротиноїдів мікробного походження в агропромисловому комплексі» (Суми 2-4 жовтня, 2002 р.): Тез. доп.– Суми, 2002. 19-21.
3. Сімахіна Г.О. Функціональна роль каротиноїдів та особливості їх використання у харчових технологіях. Наукові праці НУХТ. 2010. 33: 45-48.
4. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах. Ендокринологія. 2003. 8(1): 142–145.
5. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації. За редакцією: член-кор. АМН України О.В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. 528 с.
6. Беракало Л.В.Ю, Бобович О.В., Боброва Н.О [та ін.] Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині: За ред. Кайдашева І.П. – Полтава: Полімет, 2003. 320 с.
7. Медицинские лабораторные технологии. Справочник: Под ред. проф. А.И. Карпищенко. Санкт-Петербург: Интермедика, 2002. 600с.
8. B-Carotene and the immune response. BY ADRIANNE BENDICH. Proceedings of the Nutrition Society. 1991. 50:263–274.
9. Olson J.A. Absorption, transport and metabolism of carotenoids in humans. Pure & Appl. Chem. 1994. 66 (5):1011-1016.