УДК 664.022.39:612.017

Ракша-Слюсарева О.А., Слюсарев О.А., Круль В.О.

# ВИВЧЕННЯ РАДІОМОДИФІКУЮЧОЇ ДІЇ ХАРЧОВОЇ ДОБАВКИ «РІПАК» У ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕННЯХ НА ТВАРИНАХ

*Вивчено радіомодифікуючий вплив нової харчової добавки «Ріпак». Встановлено, що дана харчова добавка має радіозахисні властивості щодо імунної системи та її регуляції і може бути використана як сама по собі, так і при розробці функціональних харчових продуктів для контингентів радіаційного ризику.*

***Ключові слова:*** *контингенти радіаційного ризику, іонізуюча радіація, ріпак, харчова добавка, радіомодифікація.*

*Изучено радиомодифицирующее влияние новой пищевой добавки «Рипак». Установлено, что данная пищевая добавка имеет радиозащитные свойства относительно иммунной системы и ее регуляции и может быть использована как сама по себе, так и при разработке функциональных пищевых продуктов для контингентов радиационного риска.*

***Ключевые слова****: контингенты радиационного риска, ионизирующая радиация, рипак, пищевая добавка, радиомодификация.*

*Radiomodifying influence of new food addition of «Ripak» is studied. It is set that this food addition has radioprotective characteristics in relation to the immune system and its adjusting and can be utilized both in itself and at development of functional food products for the contingents of radiation risk.*

***Key words****: contingents of radiation risk, ionizing radiation, ripak, food addition, radimodification.*

**Постановка проблеми.** Радіаційна ситуація в Україні значно погіршилася після аварії на Чорнобильській атомній електростанції й забруднення ряду територій країни радіонуклідами. Це вимагає захисту населення від негативних радіаційних ефектів. Особливо важливим є захист контингентів радіаційного ризику, що працюють в умовах підвищеного рівня іонізуючої радіації, а також для населення, яке постійно підпадає під дію підвищеного природного низькоінтенсивного випромінення [1-4]. Одним із найбільш ефективних та простих способів модифікації дії іонізуючої радіації є введення в організм біологічно активних речовин (БАР), що мають радіозахисні властивості [3-5]. У першу чергу це стосується таких БАР, що позитивно впливають на нейроімуноендокринну регуляцію, розширюючи адаптаційні можливості основних систем організму [6]. В зв'язку з цим актуальним є пошук і дослідження нових БАР, що мають радіомодифікуючі властивості й можуть бути використані як окремо, так і у складі харчових продуктів функціонального призначення із заданими властивостями.

Однією з найстійкіших до радіаційних впливів є рослина ріпак (рапс або канола). Це олійна та кормова культура родини хрестоцвітих – Brassica napus var oleifera. Ріпак – однорічна озима або ярова рослина. Практично до витіснення ріпаку соняшником у 20-х роках минулого століття, ріпакова олія широко використовувалася в харчовій промисловості населення Росії, України і Білорусі. За кордоном ріпак як у минулому, так і в даний час широко використовується у харчуванні населення, зокрема в харчовій промисловості для виготовлення маргарину, харчової рослинної олії, майонезів. Це обумовлено тим, що у насінні ріпаку міститься від 33 до 50 % жиру. За смаковими якостями ріпакова олія прирівнюється до оливкової, має попит і вважається однією з кращих рослинних олій. Вона містить у значній кількості ненасичені жирні

кислоти – олеїнову, лінолеву, ліноленову, ейкозенову і ерукову.

Крім того, ріпакова олія застосовується в миловарній, нафтохімічній і текстильній, металургійній, шкіряній промисловості, для виробництва оліфи.

На сьогодні ріпак привабливий як джерело видобутку екологічно чистого дизельного пального [7]. Після виробництва з ріпаку дизельного пального залишаються такі продукти його техногенної переробки, як макухи і шрот. Ці продукти вторинної переробки ріпаку містять близько 7-9 % жиру, 30 % безазотистих екстрактних речовин, 5-7 % клітковини, а масова частка сумарного білка, за даними різних дослідників, коливається від 21 до 27 %, залежно від виду ріпаку. Таким чином, продукти вторинної переробки ріпаку є перспективними для використання в харчовій промисловості. Але до останнього часу вторинні продукти переробки ріпаку не використовувались у виготовленні харчових продуктів, так як вони мають гіркий неприємний смак. Завдяки розробленому методу обробки ріпакової макухи, що залишається після технологічної переробки ріпаку у дизельне пальне, електрогідроімпульсом, вдалось отримувати білково-ліпідний комплекс (БЛК), придатний за своїми органолептичними властивостями для використання в харчовій та фармацевтичній промисловості [8-9]. Спільно з фахівцями ООО «Техносоюз», нами на основі отриманого БЛК з ярового ріпаку сорту «Отаман» селекції Запорізького Інституту олійних культур була розроблена харчова добавка «Ріпак» (ХДР) [10].

**Мета роботи.** Дослідження ймовірного радіомодифікуючого впливу нової харчової добавки «Ріпак» на гемато-імунологічний стан як комплексний показник загального стану організму, нейроімуноендокринної регуляції й системи імунітету зокрема.

**Матеріали та методи.** Дослідження проводилися на кафедрі мікробіології, вірусології та епідеміології Донецького національного медичного університету ім. М. Горького, у Лабораторії нейрофізіології НАНУ, кафедрі товарознавства та експертизи продовольчих товарів Донецького національного університету економіки і торгівлі імені Михайла Туган-Барановського. Опромінення тварин проводилося на приладі Рокус М № 126 – гама-терапевтичному апараті в радіологічному відділенні Донецького онкологічного центру (м. Донецьк).

У дослідженнях використовувалася харчова добавка «Ріпак» з білково-ліпідного комплексу (БЛК) технологічної переробки на дизельне паливо ріпаку ярового сорту «Отаман» селекції Запорізького інституту олійних культур, після додаткової обробки електрогідроімпульсом.

Радіопротективні властивості харчової добавки «Ріпак» досліджували в експериментах на білих безпородних щурах, згрупованих у 3 групи по 25 особин, вагою 170-200. Тварини утримувалися за звичайними вимогами для тварин цього виду [11]. Основна група тварин (I) отримувала додатково до раціону ХДР із розрахунку 0,2 г на добу протягом 3 тижнів, після чого їх піддавали гострому опроміненню в напівлетальній дозі 6,5 Гр. Контрольна група тварин (II) не отримувала харчової добавки й піддавалася гострому опроміненню в тій же дозі, що й основна. До інтактної групи (III) входили тварини, що не отримували харчової добавки й не піддавались опроміненню.

У тварин досліджували масу тіла, лейкограму периферичної крові як комплексного показника стану організму, стан системи імунітету за вмістом та особливостями морфології окремих пулів лейкоцитів, даними автоімунних реакцій організму, що є основними в патогенезі променевих уражень, рівнем рівня гормонів й діяльності вищої нервової системи.

Для цього перед дослідженнями, через 3 тижні після введення в раціон ХДР та через місяць після опромінення у тварин визначали вміст лейкоцитів та окремих їх пулів у периферичній крові. Для вивчення цих показників готували мазки периферичної крові тварин за загальноприйнятою методикою і фарбували їх за методом Романовського-Гімзи [11-12]. За допомогою світлооптичної техніки у мазках аналізували вміст елементів лейкограми при підрахунку 200-300 клітин. Додатково, як елемент лейкограми, визначали вміст гомологів природних кілерів – великих гранульованих лімфоцитів [13]. Дослідження проводили на бінокулярному мікроскопі фірми «Carl Zeiss Jena» (Німеччина) при збільшенні об'єктива х 90 і окулярі 2,5 під масляною імерсією. Вміст елементів лейкограми виражали в абсолютних значеннях (Г в 1 л). Реєстрували сенсибілізацію організму до тканин організму за власною оригінальною методикою [14]. Отримані результати оброблювали методами варіаційної статистики з використанням PCI і пакета відповідних програм вимірювань. Були використані програми «Statistica Windows» і пакет відповідних програм вимірювань.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Проведені модельні дослідження показали, що при введенні в раціон білих безпородних щурів ХДР вони значно швидше набирали масу тіла в межах видової норми. Приріст маси тварин, що отримували ріпак, на всіх етапах дослідження випереджав показники інтактної та контрольних груп, хоча вірогідних відмінностей між ними не було зареєстровано. Через 3 тижні після введення у раціон харчової добавки маса тварин I, II та III групи збільшилася, відповідно, із 117,5 ± 4,1 г до 213 ± 17,85 г, 191,8 ± 10,2 г і 193,5 ± 9,28 г. При цьому маса тварин II групи майже відрізнялася від показників інтактної групи, а маса тварин I групи була значно вищою, хоча вірогідних відмінностей показників не було отримано. Дані наведено на рисунку 1.

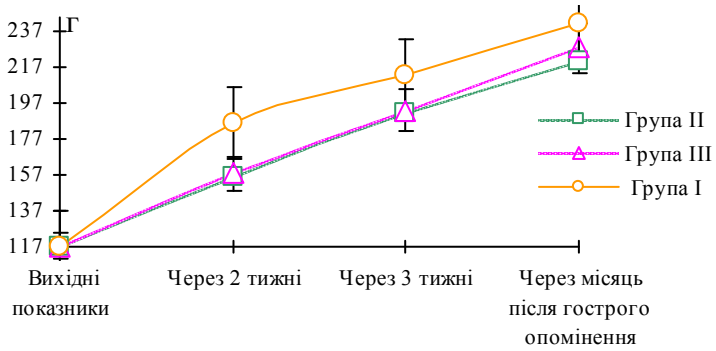


**Рис. 1.** Показники маси тварин I (основної), II (контрольної) та III (інтактної) груп у динаміці експерименту

Як видно з рисунку 1, приріст маси тварин I групи, що отримували ріпак, на всіх етапах дослідження випереджав показники інтактної (III) та контрольної (II) груп, хоча вірогідних відмінностей між ними не було зареєстровано. Через місяць після гострого опромінення тенденція зміни маси тварин залишалася тією ж самою. Вона майже не відрізнялась у тварин II та III груп й становила, відповідно, 220 ± 24,4 г і 228,3 ± 8,4 г і була значно, хоча й не вірогідно, більшою порівняно з показниками контрольних та інтактних тварин у тварин III групи, в раціон яких вводили ХДР.

Вивчення гемато-імунологічного стану у тварин після курсу ХДР перед опроміненням свідчило про наявні позитивні зміни та імуностимулюючий характер впливу ХДР на стан та регуляцію системи імунітету. Так у тварин I групи під впливом ХДР реєструвалося вірогідне та значне підвищення вмісту лейкоцитів периферичної крові з 13,13 ± 1,7 Г в 1 л до 23,44 ± 1,37 Г в 1 л, при даних норми й показниках групи (II) контролю на цей термін, відповідно, 14,46 ± 1,65 Г в 1 л і 13,29 ± 1,8 Г в 1 л. Підвищення вмісту лейкоцитів у тварин I групи, що отримували ХДР, відбувалося, в основному, за рахунок зростання числа лімфоцитів з 7,32 ± 0,58 Г у 1 л до 17,68 ± 1,32 Г у 1 л й моноцитів з 0,37 ± 0,07 Г в 1 л до 0,84 ± 0,12 Г в 1 л, що є імунокомпетентними клітинами, які беруть безпосередню участь у регуляції та здійсненні міжклітинної взаємодії в системі імунітету та міжсистемній взаємодії з ланками психонейро-імуноендокринної системи регуляції. Після курсу ХДР у частини тварин групи I було виявлено вміст 0,09 ± 0,05 Г в 1 л природних кілерів – клітин, що філогенетично запрограмовані на видалення і руйнування пухлинних клітин, уражених вірусами та деякими бактеріями [6].

Показники автосенсибілізації організму щурів I групи після курсу ХДР майже не відрізнялася від покажчиків II та III групи на початку та у кінці експерименту і становили відповідно до антигенів: серця, селезінки, печінки, нирки, легенів, наднирників, сіменників, стовбуру головного мозку, мозочка, лімбу та кори головного мозку – 0,05 ± 0,01, 0,05 ± 0,01, 0,04 ± 0,01, 0,06 ± 0,01, 0,06 ± 0,01, 0,04 ± 0,01, 0,07 ± 0,01, 0,04 ± 0,01, 0,04 ± 0,01, 0,06 ± 0,01, 0,08 ± 0,01 при нормі меншій чи на рівні 0,09 ± 0,02, що свідчило про відсутність тенденції до виникнення автоімунних реакцій при використанні у раціоні ХДР.

При цьому у тварин I групи була зареєстрована тенденція до активізації вищої нервової діяльності за даними грумінгових реакцій [15], що разом з результатами даних експериментів дало можливість визначити вплив ХДР на регуляторну нейроімунну систему регуляції як стимулюючий.

Через місяць після опромінення у тварин основної групи (I), що отримували ХДР, тварин контрольної групи (II) та в інтактних щурів (III) виявлено різноспрямовані зміни у регуляції імунної системи.

На рисунках 2-4 наведені дані зі зміни вмісту лейкоцитів, лімфоцитів і моноцитів периферичної крові тварин до початку експерименту, після курсу ХДР й через місяць після опромінення. Після опромінення вміст лейкоцитів тварин контрольної групи (5,14 ± 0,07 Г в 1 л) значно знижувався, порівняно з вихідними даними до опромінення та показниками інтактних тварин (14,46 ± 1,65 Г в 1 л) і тварин основної групи I (16,2 ± 4,27 Г в 1 л) при $P < 0,05$. Вміст лейкоцитів тварин групи I хоча й помітно знижувався порівняно з даними до опромінення, проте залишався на рівні видової норми, перевищуючи навіть показники групи тварин III, які не піддавались опроміненню.

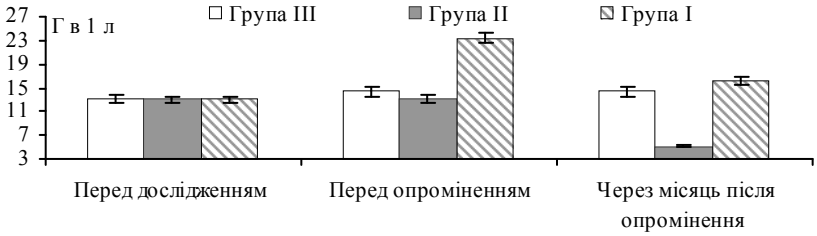


**Рис. 2.** Вміст лейкоцитів периферичної крові до та після опромінення у тварин основної групи (I), що отримували ХДР, контрольної (II) й інтактної (III) груп

Вміст лімфоцитів у тварин I (11,18 ± 2,9 Г в 1 л) та II групи (3,63 ± 0,5 Г в 1 л) знизився, порівняно з даними до опромінення, відповідно 17,68 ± 1,32 Г у 1 л і 9,79 ± 1,16 Г у 1 л та показниками інтактних тварин – 10,17 ± 3,68 Г у 1 л.

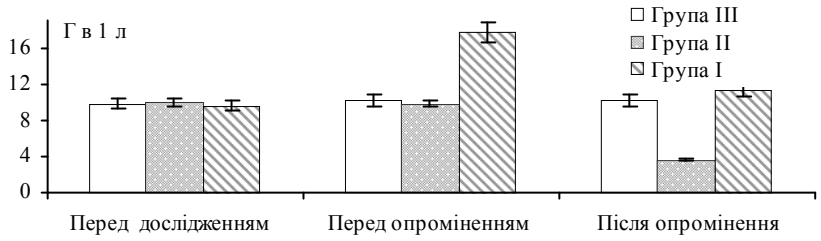


**Рис. 3.** Вміст лімфоцитів до та після опромінення у тварин основної групи (I), що отримували ХДР, контрольної (II) й інтактної (III) груп

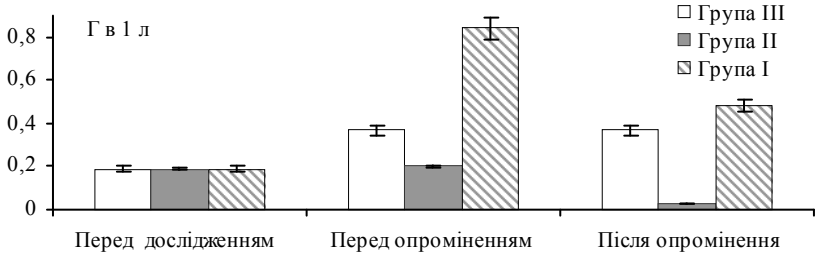


**Рис. 4.** Вміст моноцитів до та після опромінення у тварин основної групи (I), що отримували ХДР, контрольної (II) й інтактної (III) груп

Вміст моноцитів тварин групи II після опромінення знижувався з 0,20 ± 0,06 Г у 1 л до 0,03 ± 0,01 Г у 1 л, а у тварин групи I – з 0,84 ± 0,12 до 0,48 ± 0,09 Г у 1 л (P < 0,05). При цьому вміст моноцитів тварин групи II після опромінення був значно та вірогідно нижчим за показники інтактних тварин групи III (0,37 ± 0,07 Г в 1 л) і тварин групи I (P<0,05).

Після опромінення у окремих тварин I групи продовжували реєструватись природні кілери, які не виявлялись у тварин інших груп, хоча їх вміст у тварин був значно нижчим (0,026 ± 0,025 Г в 1 л), порівняно з таким після курсу ХДР.

У таблиці 1 наведено дані з результатів визначення сенсибілізації організму до власних тканин після гострого опромінення.

Як видно з даних таблиці, після опромінення у тварин контрольної групи (II) реєструвалось збільшення значень показників автосенсибілізації організму до власних тканин, які досліджувалися. Переважно у цих тварин реєструвалася сенсибілізація важкого ступеню. Лише до тканин кори і стовбуру головного мозку й серця було встановлено середній ступінь, а до тканини мозочка – легкий ступінь сенсибілізації. На відміну від цього, у тварин групи I, у раціон яких перед опроміненням вводили ХДР, сенсибілізації організму до власних тканин практично не виявлено. У тварин I групи було зареєстровано середній ступінь сенсибілізації організму лише до тканин легень і легкий – до наднирників й мозочка.

*Таблиця 1*

**Сенсибілізація організму щурів різних груп до власних тканин після гострого опромінення**

| Тканини, до яких виявлялась автосенсибілізація | Групи тварин | | |
|---|---|---|---|
| | III (інтактні) | Група II (контроль опромінення) | Група III (основна група) |
| Серце | 0,05 ± 0,01 | 0,27 ± 0,05* | 0,1 ± 0,07** |
| Селезінка | 0,05 ± 0,01 | 0,38 ± 0,11* | 0,06 ± 0,03** |
| Печінка | 0,04 ± 0,01 | 0,34 ± 0,06* | 0,01 ± 0,01** |
| Нирка | 0,06 ± 0,01 | 0,38 ± 0,03* | 0,06 ± 0,06** |
| Легені | 0,06 ± 0,01 | 0,34 ± 0,12* | 0,23 ± 0,09 |
| Наднирники | 0,04 ± 0,01 | 0,42 ± 0,09* | 0,12 ± 0,05** |
| Сіменники | 0,07 ± 0,01 | 0,36 ± 0,09* | 0,06 ± 0,04** |
| Стовбур головного мозку | 0,04 ± 0,01 | 0,2 ± 0,05* | 0,05 ± 0,02** |
| Мозочок | 0,04 ± 0,01 | 0,15 ± 0,11 | 0,14 ± 0,05 |
| Кора головного мозку | 0,06 ± 0,01 | 0,23 ± 0,09* | 0,06 ± 0,04 |
| Лімб | 0,08 ± 0,01 | 0,32 ± 0,06* | 0,002 ± 0,001** |

* P<0,05 при порівнянні показників контрольної та інтактної групи.
** P<0,05 при порівнянні показників щурів контрольної та основної групи.

За попередніми даними у групі тварин I, які перед опроміненням отримували курс ХДР, порівняно з групами тварин II і III, після опромінення зареєстроване або вірогідне збільшення, або тенденцію до збільшення кількості різних актів грумінгу, що свідчить про активізацію діяльності вищої нервової системи. У них же спостерігалася тенденція до відновлення або вірогідного підвищення рівня гормонів, зміненого після опромінення у тварин групи II, до рівня інтактних особин групи III.

Отримані дослідження розцінюються нами, як імуностимулюючий вплив харчової добавки «Ріпак» на організм. Підвищення радіостійкості організму при введенні в раціон ХДР перед гострим опроміненням пояснюється попереднім підвищенням вмісту імунокомпетентних клітин (лімфоцитів, моноцитів), появою природних кілерів й підтверджується зниженням у тварин групи I автоімунних процесів, що, вірогідно, пов'язано з корекцією регуляції їх нейроімуноендокринної системи.

Таким чином, харчова добавка «Ріпак» є біологічно активною й має радіозахисний ефект, що обумовлює її використання як окремо, так і у розробці продуктів із заданими властивостями для осіб, що мешкають в умовах природного та техногенно обумовленого радіаційного ризику, а також для контингентів, що працюють в умовах підвищеної іонізуючої радіації.

**Перспектива подальших досліджень.** Подальші дослідження будуть спрямовані на розробку функціональних продовольчих продуктів з введенням в них харчової добавки «Ріпак».

## *ЛІТЕРАТУРА*


1. Экспрессия антигенных рецепторов мембранами лимфоцитов у условно-здорового населения Донецкого региона, в динамике наблюдения (5-12 лет после аварии на ЧАЭС) / Ракша-Слюсарева Е.А., Слюсарев А.А., Сидоренко С.П и др. // Проблеми військової охорони здоров'я: Зб. наук. праць Української військово-медичної академії. – Випуск № 9 / За ред. проф. В.Я. Білого. – Київ, 2002. – С. 160-165.
2. Ракша-Слюсарева О.А., Слюсарев О.А. Екоімунологічні особливості умовно здорових мешканців донецького регіону в динаміці моніторингу після аварії на ЧАЕС // Донецький вісник Наукового товариства ім. Шевченка. – 2006. – Т. 14. – С. 102-112.
3. Ракша-Слюсарева О.А. До питання про забруднення продуктів харчування радіонуклідами в Донецькому регіоні // Вісник ДонГУЕТ. – 2004. – № 4 (24). – С. 27-33.
4. Raksha-Slusareva, O. Radiation factor influence on foodstuffs quality research // The 15th symposium of IGWT «Global Safety of Commodity and Environment. Quality of Life». – 2006. – V. I. – P. 936-939.
5. Рудавська Г.Б., Тищенко Є.В., Притульська Н.В. Наукові підходи та практичні аспекти оптимізації асортименту продуктів спеціального призначення: Монографія. – К.: Київ. нац. торг.-екон. у-т, 2002. – 371 с.
6. Крыжановский Г.Н. Дизрегуляционная патология. – Москва: ЗАО «РИТ-ЭКСПРЕСС», 2002. – 96 с.
7. Драчева, Л.В. Биодизель, биоэтанол, биогаз – перспективные источники энергии // Пищевая промышленность. – 2007. – № 7. – С. 52-53.
8. Ракша-Слюсарева Е.А., Перспектива использования продуктов переработки рапса для обогащения продуктов функционального назначения // Управление торговлей: теория, практика, инновации: Междунар. науч.–практ. конф., 2008 г., 27-28 марта, г. Москва: [посвящ. 95-летию Российского университета кооперации: материалы]. – М.: Российский университет кооперации, 2008. – С. 278-280.
9. Ракша-Слюсарева Е.А., Любач В.А., Линник Е.В. Использование белково-липидного комплекса переработки рапса для обогащения продуктов функционального назначения // Потребительский рынок: качество и безопасность товаров и услуг: МатериалыIV Международной научно-практическая конференция, декабрь 4-5, 2007. – Орел: Орел ГГУ, 2007. – С. 333-335.
10. Пат. 33600 Україна, МПК[6] А23, J 1/00 Харчова добавка «Ріпак» О.А. Ракша-Слюсарева та інші; заявник і патентовласник Донецьк. Ракша-Слюсарева О.А. – № 2008 04828; заявл. 25.06.2008; опубл. 14.04.2008, Бюл. № 12. – 6 с.
11. Лабораторные животные: разведение, содержание, использование в эксперименте: Монограф / И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария, Б.В. Западнюк. – К.: «Вища школа», 1983. – 382 с.
12. Руководство к практическим занятиям по клинической лабораторной диагностике / Под ред. М.А. Базарновой, В.Т. Морозовой. – К.: Вища школа, 1988. – 318 с.
13. Зак К.П. Большие гранулосодержащие лимфоциты в патологии: Монография / К.П. Зак, Л.П. Киндзельский, А.К. Бутенко. – Киев: Наукова думка, 1992. – 164 с.
14. Пат. 21382 Україна, МПК[6] А61 В 10/10 Спосіб визначення аутосенсибілізації організму / Слюсарев О.А., Ракша-Слюсарева О.А. – № u200609985; завл. 18.09.2006; опубл. 15.03.07, Бюл. – 2007. – № 3. – 8 с.
15. Дослідженя ріпакового шроту з метою радіомодифікації та створення продуктів із заданими властивостями / Ракша-Слюсарева О., Слюсарев О., Кустов Д. та інші // Тези доповідей Міжнародної науково-практичної конферкнції з питань соціального захисту громадян, які постраждали внаслідок Чорнобильської катастрофи, 24-25 квітня 2208 р., м. Київ, Україна. – К.: «Соцінформ», 2008. – С. 73-74.


Рецензенти: Томілін Ю.А., д.б.н., професор;
Дерев'янко Л.П., д.б.н., професор

© Ракша-Слюсарева О.А., Слюсарев О.А., Круль В.О., 2009

Стаття надійшла 20.04.2009 р.