

УДК 612.392.98:615.9

ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ БЕЗОПАСНОСТИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВОК, ИСПОЛЪЗУЕМЫХ В СПОРТИВНОМ ПИТАНИИ

Чашина Светлана Викторовна

кандидат биологических наук, доцент

Вострикова Анна Владимировна

студент 4 курса

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Пермский государственный национальный исследовательский университет», г.Пермь

Аннотация. Целью работы явилось экспериментальное изучение острой и субхронической токсичности БАД «Сывороточный протеин», используемой в качестве компонента спортивного питания. Результаты исследования острой токсичности при внутрижелудочном введении позволяют отнести препарат к IV классу малотоксичных лекарственных средств. В субхроническом эксперименте обнаружены изменения биохимических показателей периферической крови, что свидетельствует о влиянии исследуемой добавки на функциональное состояние печени.

Ключевые слова: спортивное питание, биологически активная добавка, острая токсичность, субхроническая токсичность, безопасность.

Развитие научно-технического прогресса кардинально изменило жизнь человека, благодаря чему остро встал вопрос увеличения продолжительности и качества жизни. Несмотря на положительную динамику изменения продолжительности жизни в последние 10 лет, улучшение условий труда, расширение возможностей получения качественного питания и наличие достаточного количества свободного времени, возникают проблемы, связанные с тем, что люди стали более пассивными и подверженными вредным влияниям. Стремительно растет количество заболеваний, изменяется структура заболеваемости [1].

Здоровый образ жизни – это совокупность правил, направленных на улучшение психологического и физического состояния организма, его продуктивную работу, профилактику заболеваний и формирование удовлетворительного самочувствия. Здоровый образ жизни включает в себя целый комплекс аспектов человеческой жизнедеятельности, в том числе правильное питание, занятия спортом, личную гигиену, закаливание, отказ или сведение к минимуму вредных привычек.

Спортивное питание – это особая группа пищевых продуктов, выпускающаяся преимущественно для людей, ведущих активный образ жизни, занимающихся спортом и

фитнесом. Применение спортивного питания направлено на улучшение спортивных результатов, повышение силы и выносливости, укрепление здоровья, увеличение объема мышц, нормализацию обмена веществ, достижение оптимальной массы тела и в целом на увеличение качества и продолжительности жизни [2]. По сравнению с обычной едой, спортивные добавки требуют минимальных затрат времени и энергии на расщепление и всасывание, при этом многие виды спортивного питания обладают высокой энергетической ценностью.

В России в спортивное питание включают биологически активные добавки. Они разрабатываются и изготавливаются на основе научных исследований в области физиологии и диетологии. Однако часто возникает вопрос о безопасности биологически активных добавок, которые используются в спортивном питании. Литературные данные по этому вопросу достаточно противоречивы [7, 8]. В доступной литературе отсутствуют сведения о влиянии компонентов спортивного питания на организм и токсикологических аспектах безопасности данной группы препаратов.

Целью настоящей работы явилось экспериментальное изучение острой и субхронической токсичности биологически активной добавки, используемой в качестве компонента спортивного питания.

Объектом исследования служил препарат «Специализированный пищевой продукт для спортсменов VPLAB. 100% Platinum Whey. Сывороточный протеин» (далее – БАД «Сывороточный протеин»), серия BATCH: 17026, годен до 01/2019, производства VP LABORATORY LTD, Великобритания. В состав препарата входят: концентрат сывороточного протеина, изолят сывороточного протеина, натуральный краситель (свекольный красный подсластитель), DigeZyme – комплекс пищеварительных ферментов (α-амилаза, протеаза, лактаза, липаза, целлюлаза), эмульгатор (соевый лецитин), загуститель (карбоксиметилцеллюлоза). Энергетическая ценность (в 100 г) 1663 ккал. В 100 граммах продукта содержится жиров 6,9 г, углеводов 7,9 г, пищевых волокон 0,9 г, белков 74,5 г, соли 0,4 г. Комплекс ферментов составляет 100 мг/1г продукта.

Разовая порция для приема внутрь содержит 30 г порошка, разведенные в 220 – 225 мл воды. Прием сывороточного протеина рекомендован один раз в день.

Исследуемый препарат представляет собой мелкодисперсный порошок бело-желтого цвета. Имеет сладковатый вкус и характерный запах, обусловленные вкусоароматическими добавками.

Эксперименты были выполнены на белых крысах-самцах массой 160 – 210 г. в возрасте 12 – 13 недель. Крысы поступили из питомника лабораторных животных «Андреевка», Московская область. Содержание животных и порядок проведения экспериментов

соответствовали правилам надлежащей лабораторной практики (GLP) и требованиям этических стандартов [4].

Определение показателей острой токсичности БАД «Сывороточный протеин» включало эксперименты на белых нелинейных крысах-самцах. Животные распределялись по группам случайным образом методом рандомизации. В качестве критериев приемлемости рандомизации считали отсутствие внешних признаков заболеваний и гомогенность групп по весу тела ($\pm 10\%$). Исследуемый препарат вводили внутривентрально через атравматический металлический зонд в возрастающих дозах по Литчфилду-Уилкоксону. Перед введением препарат растворяли *ex tempore* в необходимом количестве дистиллированной воды.

Для исследования каждой дозы препарата использовались группы по 6 животных. Кроме того, имелись аналогичные по численности группы контрольных животных, которым таким же путем вводили стерильный физиологический раствор в объеме, эквивалентном максимальной испытанной дозе препарата.

Наблюдения за животными проводились в течение 14 суток с начала эксперимента. При этом регистрировались летальность, время гибели животных, симптоматика отравления, осуществлялись ежедневное наблюдение общего состояния и поведения, взвешивание (на 7-е и 14-е сутки), оценка потребления корма и воды [3].

Изучение субхронической токсичности БАД «Сывороточный протеин» проведено на 20 крысах-самцах линии Wistar массой 180 – 190 г, разделенных на две группы, по 10 особей в опытной и контрольной группах. Животным опытной группы 1 раз в день в течение эксперимента внутривентрально вводили БАД «Сывороточный протеин». Животным контрольной группы в те же сроки вводили эквивалентные количества физиологического раствора.

При выборе исследуемых доз и сроков наблюдения при оценке субхронической токсичности исходили из рекомендуемых количеств и схем применения БАД «Сывороточный протеин» у человека. Рекомендуемый суточный прием препарата составляет 30 г, что для человека массой 70 кг соответствует дозе 430 мг/кг. Учитывая коэффициент пересчета 5,9 [3], соответствующая суточная доза для крыс равна 2,5 г/кг. Учитывая малую токсичность препарата, а также рекомендации нормативных документов МЗ РФ и правил GLP, длительность эксперимента для оценки субхронической токсичности составляла 30 суток.

В течение исследования каждое животное осматривалось ежедневно. Осмотр включал в себя оценку общего поведения и общего состояния животных и проводился примерно через 1 час после введения препарата. Общее состояние животных оценивали по сумме ряда показателей. Учитывали положение тела в пространстве, телосложение, упитанность,

конституцию (экстерьерные и интерьерные особенности), темперамент (определялся путем наблюдения за характером ответных реакций животных).

Взвешивание животных проводили непосредственно перед введением, 1 раз в неделю для контроля динамики массы тела и объемов введения исследуемого препарата и непосредственно перед эвтаназией (на 30-й день) для расчета процентного отношения массы органов к массе тела.

В конце эксперимента были проведены лабораторные исследования крови и мочи. Определялись следующие гематологические показатели: гематокрит; количество гемоглобина; количество эритроцитов; средний объем эритроцита; среднее содержание гемоглобина в эритроците; средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах; количество лейкоцитов; лейкограмма; количество тромбоцитов; средний объем тромбоцита; распределение тромбоцитов; тромбокрит.

Биохимическими показателями сыворотки крови служили: общий белок; альбумины; аспаратаминотрансфераза (АсАТ); аланинаминотрансфераза (АлАТ); лактатдегидрогеназа (ЛДГ); щелочная фосфатаза; мочевины; креатинин; глюкоза; триглицериды; общий холестерин; общий билирубин.

При исследовании мочи оценивались: удельный вес; реакция; микроскопия осадка; белок; глюкоза; кетоновые тела; желчные пигменты (билирубин).

Все гематологические и биохимические исследования проводились по общепринятым клиническим методам с использованием гематологического анализатора «Abacus+» и биохимического анализатора «Metrolab 2300».

После окончания эксперимента животные всех групп были подвергнуты эвтаназии в CO₂-камере и направлены на вскрытие и патоморфологическое исследование, которое включало в себя некропсию, макроскопическое исследование, взвешивание внутренних органов, расчет массовых коэффициентов.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы «STATISTICA 8,0». Результаты исследований обработаны статистически с определением t-критерия Стьюдента. Данные представлены в виде выборочного среднего $\bar{M}$, ошибки среднего m и достигнутого уровня значимости p . Минимальный уровень значимости различий принимали соответствующим $p \leq 0,05$.

Результаты исследования летальных доз при остром внутрижелудочном введении БАД «Сывороточный протеин» нелинейным белым крысам показали, что ни в одной из экспериментальных групп гибели животных не отмечалось. Введение дозы более 5000 мг/кг практически не представлялось возможным.

При остром внутрижелудочном введении БАД «Сывороточный протеин» в максимальной дозе у животных наблюдались вялость, изменение двигательной активности. Эти явления сохранялись в течение суток. В этот период животные потребляли мало корма. В дальнейшем они выглядели вполне благополучно, и в более поздние сроки наблюдения их общее состояние и поведение не отличались от таковых в контрольной группе.

Результаты токсикометрии, данные наблюдений за экспериментальными животными на протяжении 14 дней после острого введения, а также данные некропсии позволяют отнести БАД «Сывороточный протеин» к IV классу малотоксичных лекарственных веществ [6].

В субхроническом эксперименте суммарная доза, полученная подопытными крысами за 30 дней, составляла 75 г/кг массы тела. Следует отметить, что в опытной группе не наблюдалось гибели животных, что свидетельствует о низкой материальной кумуляции исследуемого препарата.

Изучение влияния БАД «Сывороточный протеин» на массу тела белых крыс в течение периода введения препарата показало, что масса животных равномерно увеличивалась на протяжении всего срока исследования как в контрольной, так и в опытной группах. Достоверных различий между результатами двух групп не отмечено.

Гематологические исследования крови животных экспериментальных групп проводились в конце эксперимента. Полученные данные представлены в таблице 1.

Таблица 1. Влияние БАД «Сывороточный протеин» на показатели периферической крови у белых крыс ($M \pm m$)

Показатель	Экспериментальная группа		Р в сравнении с контролем
	Контроль	Опыт	
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	12,22 $\pm$ 1,17	10,00 $\pm$ 0,87	>0,05
Лимфоциты	8,22 $\pm$ 0,77	6,616 $\pm$ 0,54	>0,05
Лимфоциты, %	67,49 $\pm$ 1,63	66,75 $\pm$ 2,39	>0,05
Моноциты	0,44 $\pm$ 0,21	0,50 $\pm$ 0,18	>0,05
Моноциты, %	2,42 $\pm$ 1,19	4,50 $\pm$ 1,61	>0,05
Нейтрофилы	3,68 $\pm$ 0,38	2,88 $\pm$ 0,29	>0,05
Нейтрофилы, %	30,06 $\pm$ 1,25	28,75 $\pm$ 3,83	>0,05
Эритроциты, $10^{12}/\text{л}$	8,23 $\pm$ 0,52	8,51 $\pm$ 0,50	>0,05
Гемоглобин, г/дл	146,70 $\pm$ 9,85	150,7 $\pm$ 8,79	>0,05
Гематокрит, %	44,02 $\pm$ 2,90	44,07 $\pm$ 2,59	>0,05
Средний объем эритроцита (MCV)	53,40 $\pm$ 0,43	51,70 $\pm$ 0,49	>0,05
Тромбоциты, $10^9/\text{л}$	564,40 $\pm$ 80,06	439,10 $\pm$ 79,55	>0,05
Средний объем тромбоцита (MPV)	7,00 $\pm$ 0,80	7,09 $\pm$ 0,18	>0,05

Распределение эритроцитов (RDWc)	15,92±0,12	17,23±0,21*	<0,05
Среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH)	17,77±0,27	17,71±0,32	>0,05
Средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах (MCHC)	332,50±3,38	341,90±4,28	>0,05
Распределение тромбоцитов (PDWc)	33,89±0,28	33,43±0,44	>0,05
Тромбоцит (PCT)	0,40±0,06	0,30±0,05	>0,05

* – различие достоверно по сравнению с контролем при $p \leq 0,05$

Представленные данные показывают, что субхроническое введение препарата БАД «Сывороточный протеин» существенно не влияет на морфологический состав периферической крови. Обнаружено достоверное повышение в опытной группе показателя RDWc, показывающего процентное распределение эритроцитов по объему. Данный индекс может повышаться в результате появления в крови эритроцитов, не соответствующих нормальным размерам, т.е., при появлении анизоцитоза. Таким образом, выявлены изменения, свидетельствующие о предпосылках к развитию анемии.

Влияние препарата БАД «Сывороточный протеин» на биохимические показатели плазмы крови было исследовано на 30-й день эксперимента. Результаты исследований сведены в таблицу 2.

Таблица 2. Влияние БАД «Сывороточный протеин» на основные биохимические показатели периферической крови белых крыс ($M \pm m$)

Показатель	Экспериментальная группа		Р в сравнении с контролем
	Контроль	Опыт	
АлАТ, ммоль/л·ч	52,07±4,39	54,41±3,27	>0,05
Альбумины	3,13±0,11	2,96±0,17	>0,05
АсАТ, ммоль/л·ч	136,54±14,20	133,44±17,37	>0,05
Общий белок, г/л	6,25±0,24	4,55±0,38*	< 0,002
Глюкоза, ммоль/л	5,99±0,32	5,78±0,24	>0,05
Креатинин, мкмоль/л	77,71±9,49	66,60±2,95	>0,05
ЛДГ общая, ммоль/л·ч	969,78±172,78	1025,99±98,63	>0,05
Мочевина, ммоль/л	11,13±4,42	5,60±0,50	>0,05
Билирубин общий, ммоль/л	6,83±0,99	6,79±1,12	>0,05
Триглицериды	45,79±7,33	30,97±4,62	>0,05
Холестерин общий, ммоль/л	43,02±5,43	47,13±2,98	>0,05
Щелочная фосфатаза U/л	15,82±1,54	23,88±3,24*	<0,02

* – различие достоверно по сравнению с контролем при $p \leq 0,05$

Анализ полученных данных показывает изменения в ряде биохимических показателей у животных опытной группы. Отмечается достоверно-значимое снижение количества общего белка. Возможными причинами гипопроteinемии могут быть увеличение объема жидкости в кровеносной системе или нарушение синтеза белка в печени при возникновении патологических состояний.

Обнаружено существенное увеличение показателя уровня щелочной фосфатазы. Щелочная фосфатаза (ЩФ) является компонентом клеточных мембран почти всех тканей организма: костной, железистой, эпителиальной, однако наибольшую активность фермент проявляет в клетках печени, почек, костной ткани и эпителия кишечника. Рост показателей ЩФ в крови может указывать на ряд патологических состояний: болезни печени, воспаление, локализованное в желчном пузыре и желчных протоках, патологические процессы, затрагивающие костную ткань и мышечный аппарат, заболевания крови и лимфоидной ткани [5]. На остальные биохимические показатели применение препарата не оказало заметного влияния.

Для оценки влияния БАД «Сывороточный протеин» на функциональное состояние почек проводился анализ мочи. Пробы на анализ были взяты в контрольной и опытной группах в конце эксперимента. Полученные данные представлены в таблице 3. Анализ полученных данных свидетельствует о том, что БАД «Сывороточный протеин» не вызывает достоверных изменений показателей по сравнению с контролем.

Таблица 3. Результаты анализа мочи у белых крыс при исследовании субхронической токсичности БАД «Сывороточный протеин» на 30-е сутки ($M \pm m$)

Показатель	Контроль	Опыт	P в сравнении с контролем
Кол-во выведенной мочи, мл	15,0±3,0	17,0±2,0	>0,05
pH	6,1±0,1	6,0±0,1	>0,05
Удельный вес, г	1,010±0,002	1,010±0,002	>0,05
Глюкоза, г/мл	0	0	>0,05
Билирубин, есть (1), нет(0)	0	0	>0,05
Кетоновые тела, есть(1), нет(0)	0		>0,05
Белок, мг/дл	0,24±0,02	0,32±0,04	>0,05
Лейкоциты, кол-во в поле зрения	0–1	0–1	>0,05
Эритроциты, кол-во в поле зрения	0–2	0–1	>0,05

Изучение состояния грудной и брюшной полостей и макроскопическое исследование внутренних органов, проведенные после эвтаназии животных, не выявили патологических

изменений. Достоверных отличий массовых коэффициентов внутренних органов крыс в опытной группе от контроля также не обнаружено.

Проведенные исследования показали, что БАД «Сывороточный протеин» не оказывает токсического эффекта при остром внутрижелудочном введении. При субхроническом введении препарата в течение 30 суток не выявлено изменений общего состояния и поведения животных, динамики массы тела. При анализе биохимических показателей периферической крови обнаружен ряд изменений, в частности, достоверное снижение количества общего белка и повышение уровня щелочной фосфатазы в 1,5 раза по сравнению с контролем. Хотя эти изменения не выводят значений показателей за пределы физиологической нормы [5], однако они свидетельствуют о влиянии исследуемой добавки на функциональное состояние печени. На остальные биохимические показатели применение исследуемого препарата не оказывает заметного влияния. При анализе морфологического состава периферической крови выявлены изменения, свидетельствующие о предпосылках к развитию анемии. Субхроническое введение препарата белым крысам не вызывает существенных изменений со стороны и выделительной функции почек. Не выявлено патологических изменений внутренних органов животных после завершения экспериментального исследования. Таким образом, БАД «Сывороточный протеин» нельзя считать безопасным при применении его в дозах, рекомендованных инструкцией.

Список литературы:

1. Здравоохранение в России 2017: Статистический сборник/Росстат. – М., 2017. – 170 с.
2. Макгрегор Р. Спортивное питание: Что есть до, во время и после тренировок. М: Изд-во Альпина Паблишер, 2016 – 304 с.
3. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
4. Правила надлежащей лабораторной практики / Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 1 апреля 2016 г. N 199н. Зарегистрировано в Министерстве юстиции Российской Федерации 15 августа 2016 г. Регистрационный N 43232.
5. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных / Под ред. Макарова В.Г., Макаровой М.Н. СПб.: ЛЕМА, 2013. – 116 с.
6. H. Hodge et al. Clinical Toxicology of Commercial Products. Acute Poisoning. Ed. IV, Baltimore, 1975. – 427 p.
7. Спортивное питание. Безопасно ли спортивное питание? URL: <http://davidblog.ru/sportivnoye-pitaniye/> (дата обращения: 20.04.2018).

8. Вред спортивного питания: научные факты URL: <http://promusculus.ru/vredno-li-sportivnoe-pitanie/> (дата обращения: 20.04.2018).