

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ЕКСТРАКТУ БЕТА-КАРОТИНУ “ЛУС-О-БЕТА” З ГРИБА BLAKESLEA TRISPORA НА ОРГАНІЗМ ЩУРІВ

*Н.М. Дмитруха, доктор біол. наук, Т.К. Короленко, кандидат мед. наук,
О.С. Лагутіна, А.В. Рязанов, кандидат мед. наук*

ДУ «Інститут медицини праці НАМН України», м. Київ, Україна

РЕЗЮМЕ. В статті представлені результати визначення впливу екстракту бета-каротину “Лус-О-Бета” з гриба *Blakeslea trispora* на організм щурів за даними гематологічних, біохімічних та імунологічних досліджень. Показано, що за умови внутрішньошлункового введення щурам Вістар екстракту бета-каротину, він сприяв приросту маси тіла тварин, підвищенню вмісту каротиноїдів і вітаміну А в крові, не викликав змін у складі периферичної крові та процесі синтезу гемму, стимулював неспецифічну резистентність, виявляв мембрано- та гепатопротекторну дію.

Ключові слова: екстракт бета-каротину, гематологічні, біохімічні, імунологічні дослідження.

Каротиноїди є широко розповсюдженим класом рослинних пігментів. Вони також містяться в бактеріях, водоростях, комахах, проте тварини не здатні синтезувати їх *de novo* і отримують з рослинною їжею. Основним джерелом каротиноїдів для людини є природні рослинні продукти. Використання рослин в якості джерела каротиноїдів володіє рядом недоліків: має сезонний характер, залежить від екологічного стану ґрунтів і врожаю рослин, істотно знижується через їхні хвороби. До того ж біодоступність каротиноїдів із соку овочів невелика, через наявність у складі білкових комплексів, що значно ускладнює їхнє вивільнення [1].

Штучно каротиноїди отримують за допомогою хімічного синтезу, а з розвитком біотехнології особливе значення надається їх одержанню за допомогою мікроорганізмів. Мікробіологічний синтез бета-каротину є найбільш виправданим промисловим способом його виробництва як з технологічної, так і з економічної точок зору. «Мікробіологічні» каротиноїди, в тому числі бета-каротин, отримують з клітин міцеліальних грибів, дріжджів, бактерій, актиноміцетів і водоростей [2].

Одним з поширених продуцентів бета-каротину є гриб *Blakeslea trispora*. В Україні розроблено технологію його промислового культивування з метою отримання бета-каротину для харчової промисловості, виготовлення лікарських і кормових препаратів [3,4].

За останні роки підвищився інтерес до застосування каротиноїдів у зв'язку з їх антиоксидантною, антимуtagenною, антиканцерогенною та радіопротекторною дією на живий організм. Особлива увага цій проблемі приділяється через зростаюче забруднення навколишнього середовища різними хімічними та радіоактивними речовинами [5-7]. Проте використання біотехнологічного каротину

потребує дослідження його безпечності для здоров'я людини.

Мета роботи. Дослідження особливості впливу екстракту бета-каротину з гриба *Blakeslea trispora* на організм щурів в умовах субхронічного експерименту.

Матеріали і методи дослідження. У відповідності з метою роботи головним об'єктом дослідження був екстракт бета-каротину “Лус-О-Бета”, виробником якого є компанія *LycoRed Ltd* (Беер-Шева, Ізраїль). Сировину – біомасу бета-каротину з гриба *Blakeslea trispora*, що іде на виробництво екстракту “Лус-О-Бета”, виготовляє Товариство з обмеженою відповідальністю НВП «ВІТАН» (Україна).

Субхронічний експеримент виконаний на 60 статевозрілих щурах самцях лінії Вістар масою 160–180 г. Всі тварини перебували в стаціонарних умовах віварію, на стандартному харчовому і водному режимах. Щури були розділені на три дослідні серії (в серії три контрольні і три дослідні групи, по 10 тварин в кожній групі). Дослідним щурам 1 серії впродовж 7 днів внутрішньошлунково вводили екстракт бета-каротину “Лус-О-Бета”, розчинений в соняшниковій олії у дозі 0,08 мг/кг маси тіла щура з урахуванням того, що середньодобова доза бета-каротину для людини становить 6 мг. Дослідні тварини 2 і 3 серії отримали 30-ти кратне введення розчину екстракту бета-каротину в тій же дозі. Контрольним тваринам аналогічним способом вводили 1,0 мл соняшникової олії. Тварин 3 серії виводили з експерименту через 30 днів після припинення введення препарату (постекспозиційний період). Кров та внутрішні органи у тварин забирали під час декапітації під наркозом (етамінал натрію, 50 мг/кг). Всі дослідження проводили у відповідності з «Good Laboratory Practice Standarts» та «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах» [8,9].

Під час експерименту масу тіла контроль-

них та дослідних шурів визначали методом зважування, через кожні 7 календарних днів. Абсолютну масу внутрішніх органів визначали зважуванням на електронних вагах Axis BTU210 (Польща), їх відносну масу розраховували на 100 г маси тіла.

Для визначення стану периферичної крові використано гематологічний аналізатор Micros 60 (HORIBA, Франція) [10]. На основі загального аналізу крові розраховано індекси співвідношення лейкоцитів [11], які відображають кількість клітин, що беруть участь у неспецифічному та специфічному захисті організму. Вміст цинкпротопорфірину в крові як біомаркера порушення синтезу гемму, вимірювали за допомогою гемофлюориметра 206Д (США) [12]. Для оцінки неспецифічної резистентності в усіх групах тварин визначали фагоцитарну активність нейтрофілів (ФАН) периферичної крові, фагоцитарний індекс (ФІ) – % фагоцитуючих нейтрофілів на 100 клітин та фагоцитарне число (ФЧ) – середнє число часточок латексу, поглинутих одним нейтрофілом. Для оцінки метаболічних (окисно-відновних) процесів у фагоцитах застосовували метод відновлення нітросинього тетразолію (НСТ-тест) у двох варіантах (спонтанний і стимульований) [13].

Вміст каротиноїдів та вітаміну А в сироватці крові визначали за методом Bessey в модифікації А.А. Анісімової [14]. Дослідження показників, що характеризують функціональний стан печінки: білірубін, аланінаміно-трансфераза (АЛТ), аспартатамінотрансфераза (АСТ), лужна фосфатаза (ЛФ), загальний холестерин (ХС) та тригліцериди (ТР), визначали за допомогою біохімічного аналізатора «Humalyzer 2000» з використанням стандартних тест-наборів ELITECH [15].

Статистичний аналіз отриманих даних виконали з використанням програми Microsoft Office Excel 2003 (S/N 74017-40-000010-57409) з розрахунком середнього арифметичного (М), середнього відхилення (σ), похибки середнього арифметичного (m). Відмінність показників реєстрували з урахуванням t критерію Стьюдента та вірогідної різниці одержаних результатів ($P \leq 0,05$).

Результати дослідження та їх обговорення.

Визначення маси тіла та внутрішніх органів шурів у динаміці експерименту є досить важливим показником, порушення якого за дії шкідливих речовин свідчить про виражений ступінь токсичного ураження організму та інтегрально віддзеркалює його функціональний стан. За нормальних умов цей показник є досить стабільним та рекомендується як обов'язковий при вивченні дії хімічних агентів [16].

Аналіз отриманих даних показав, що маса

тіла дослідних шурів після 7-ми кратного внутрішньошлункового введення їм екстракту бета-каротину не відрізнялась від маси тварин контрольної групи. Проте вона збільшилась після 30-ти введень препарату порівняно з масою тварин у контрольній групі (на 32,9 %) (рис. 1).

У постекспозиційний період (ПЕП) через 30 днів після припинення введення бета-каротину маса тіла дослідних шурів також була більшою за контрольні значення (на 12,8 %). Отже, приріст маси тіла в дослідних групах тварин може свідчити про позитивний вплив на організм екстракту бета-каротину “Лус-О-Beta”.

Важливим показником токсичного ураження будь-якого органу є відносна маса та структурні зміни, які в подальшому відбиваються на його функції. Зростання маси тіла піддослідних шурів супроводжувалось змінами відносної маси внутрішніх органів порівняно з контрольною групою (табл.1).

Так, після 7-ми кратного введення піддослідним щурам екстракту бета-каротину спостерігалось збільшення відносної маси печінки на 28,5 % і тимуса на 42,9 % ($p < 0,05$ порівняно з контрольною групою). Маса інших органів суттєво не відрізнялась від контрольних значень.

Після 30-ти введень розчину бета-каротину в дослідній групі шурів встановлено збільшення відносної маси селезінки (на 45,9%, $p < 0,05$) та тимуса (на 18,8 %, $p < 0,1$), що може вказувати на стимуляцію цим препаратом імунних реакцій у різних лінках імунної системи. Через 30 днів ПЕП у піддослідних шурів маса внутрішніх органів не відрізнялась від контрольних значень.

Вплив екстракту бета-каротину “Лус-О-Beta” на показники периферичної крові шурів.

Клітини крові одними з перших зазнають негативного впливу різних чинників, які надходять в організм. Основними механізмами гематотоксичної дії ксенобіотиків є порушення еритропоезу, пригнічення процесу синтезу гемму і глобіну, мембрано- та цитотоксична дія, що призводить до зниження тривалості життя клітин крові та їхніх морфофункціональних змін [17].

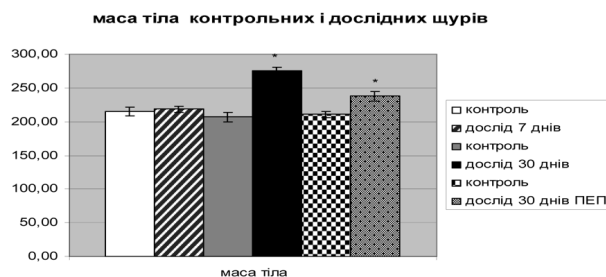


Рис. 1. Зміна маси тіла піддослідних шурів у динаміці експерименту за умови введення їм екстракту бета-каротину “Лус-О-Beta”.

Під час експерименту встановлено, що введення піддослідним щурам екстракту бета-каротину "Лус-О-Бета" не викликало суттєвих змін у клітинному складі периферичної крові (табл. 2). Так, після 7-ми кратного введення піддослідним тваринам екстракту бета-каротину спостерігалось збільшення відносної кількості моноцитів, що може вказувати на стимуляцію неспецифічної імунної відповіді. Після 30-ти введень препарату у тварин дослідної групи показники периферичної крові були на рівні контрольних значень, проте спостерігалось достовірне зниження рівня цинкпротопорфірину (ЦПП). Через 30 днів ПЕП вміст ЦПП у крові дослідних щурів був нижчим за контрольну групу. За даними літератури [16], збільшення рівня ЦПП є біомаркером розвитку анемії, оскільки при анемії внаслідок порушення процесу включення заліза в молекулу протопорфірину замість гему утворюється цинкпротопорфірин і рівень його в крові зростає. Отже, зменшення в крові рівня ЦПП може свідчити про позитивний вплив бета-каротину на процес синтезу гему. У дослідних щурів у ПЕП було визначено зниження відносної кількості лімфоцитів і збільшення паличкоядерних нейтрофілів, що вказує на перерозподіл клітин специфічного і неспецифічного захисту.

В якості інтегральної оцінки стану специфічного і неспецифічного захисту організму обчислювали ряд індексів співвідношення популяцій лейкоцитів за методом Осіна А.Я. [11].

Під час дослідження визначали індекс співвідношення лімфоцитів і нейтрофілів (ІСЛН), який відображає баланс клітин специфічного і

неспецифічного захисту; індекс співвідношення нейтрофілів і моноцитів (ІСНМ), який свідчить про стан компонентів мікрофагальної та макрофагальної систем; індекс співвідношення лімфоцитів і моноцитів (ІСЛМ) – вказує на взаємодію афекторної та ефекторної ланок імунної відповіді, а також індекс співвідношення лімфоцитів і еозинофілів (ІСЛЕ), що орієнтовно відображає співвідношення клітин, які беруть участь у реакціях гіперчутливості уповільненого і негайного типів.

Після 7-ми введень піддослідним щурам препарату визначено зниження всіх розрахованих індексів (рис. 2). Це є свідченням того, що імункомпетентні клітини крові є найбільш чутливими до впливу екзогенних чинників і першими прореагували на надходження до організму екстракту бета-каротину. Після 30-ти введень екстракту у щурів було визначено достовірне зниження ІСНМ, ІСЛМ і ІСЛЕ, що може вказувати на стимуляцію макрофагального ланцюга імунної відповіді та зниження числа клітин, які беруть участь у формуванні реакції гіперчутливості негайного типу.

Через 30 днів ПЕП значення ІСЛН у групі дослідних тварин дещо збільшилось, а ІСЛМ і ІСЛЕ наблизились до значень у контрольній групі тварин, що може свідчити про включення клітинних елементів специфічного імунітету. Виявлене збільшення ІСНМ у дослідних щурів порівняно з контрольними може бути наслідком перерозподілу клітин мікрофагальної та макрофагальної систем.

Вплив екстракту бета-каротину "Лус-О-Бета" на показники неспецифічної резистентності організму щурів

Таблиця 1

Відносна маса органів щурів після внутрішньошлункового введення їм екстракту бета-каротину "Лус-О-Бета", (M±m)

Термін дослід/ групи тварин	Відносна маса органа, г				
	серце	печінка	селезінка	тимус	нирка
Після 7-ми введень					
Контрольна	0,35±0,01	2,56±0,07	0,44±0,03	0,14±0,02	0,31±0,02
Дослідна	0,34±0,01	3,29±0,10*	0,49±0,03	0,20±0,02 *	0,32±0,01
Після 30-ти введень					
Контрольна	0,34±0,01	2,86±0,11	0,37±0,04	0,16±0,01	0,32±0,01
Дослідна	0,31±0,01	2,85±0,10	0,54±0,02*	0,19±0,01+	0,31±0,02
Через 30 днів постекспозиційного періоду					
Контрольна	0,32±0,01	2,72±0,11	0,40±0,03	0,15±0,02	0,30±0,01
Дослідна	0,28±0,01	2,49±0,17	0,40±0,06	0,13±0,01	0,29±0,01

Примітка : в цій та наступних таблицях * – p<0,05; + p<0,1 у порівнянні з контролем.

Введення дослідним шурам розчину екстракту бета-каротину сприяло не тільки змінам кількості клітин, що беруть участь у забезпеченні неспецифічної резистентності організму, а й їхньої функціональної (фагоцитарної та бактерицидної) активності (табл. 3). Так, 7-ми кратне введення екстракту бета-каротину викликало підвищення фагоцитарної активності нейтрофілів (ФАН) периферичної крові, зокрема ФІ – на 65,4 % та ФЧ – на 30,3 %. Після 30-ти введень екстракту бета-каротину ФАН дослідних шурів також збільшилась (ФІ –

на 16,5 %, а ФЧ – на 27,5 %) порівняно з контролем. Через 30 днів ПЕП у групі дослідних шурів визначено підвищену ФАН (ФІ – на 64,1%, а ФЧ – на 41,5 %). Оскільки фагоцитоз – це неспецифічна реакція, яка направлена на поглинання і перетравлення різних чужорідних агентів (мікробів, вірусів, фрагментів клітин, та ін.), отже, виявлене збільшення ФІ і ФЧ після введення екстракту бета-каротину може вказувати на стимуляцію неспецифічної резистентності організму і, таким чином, підвищення його опірності до інфекцій.

Таблиця 2

Показники периферичної крові шурів після введення розчину екстракту бета-каротину, (M±m)

Показники	Групи тварин	
	Контрольна	Дослідна
Після 7-ми введень		
ЦПП, ммоль/моль гему	51,00±2,88	53,78±3,57
Еритроцити, x 10 ¹² /л	8,50±0,31	8,36±0,21
Гемоглобін, г/дл	14,39±0,66	14,58±0,35
Лейкоцити, x 10 ⁹ /л	12,24±0,84	14,63±1,59
Лімфоцити, %	64,14±3,27	67,56±1,67
Моноцити, %	4,14±0,51	5,44±0,44*
Нейтрофіли сегментоядерні, %	28,71±2,78	23,78±1,66
Нейтрофіли паличкоядерні, %	1,71±0,61	1,22±0,15
Еозинофіли, %	2,29±0,29	3,00±0,29
Після 30-ти введень		
ЦПП, ммоль/моль гему	51,00±2,88	33,70±2,17*
Еритроцити, x 10 ¹² /л	7,84±0,33	7,75±0,17
Гемоглобін, г/дл	13,25±0,64	13,03±0,17
Лейкоцити, x 10 ⁹ /л	10,98±2,90	9,93±0,91
Лімфоцити, %	60,75±2,50	63,30±3,28
Моноцити, %	4,00±0,82	5,80±0,61
Нейтрофіли сегментоядерні, %	30,00±2,04	26,60±2,87
Нейтрофіли паличкоядерні, %	1,00±0,71	1,60±0,50
Еозинофіли, %	3,25±0,85	2,70±0,52
Через 30 днів постекспозиційного періоду		
ЦПП, ммоль/моль гему	46,83±2,76	40,57±1,73*
Еритроцити, x 10 ¹² /л	9,20±0,23	8,99±0,19
Гемоглобін, г/дл	14,27±0,40	13,99±0,20
Лейкоцити, x 10 ⁹ /л	7,53±1,35	9,97±1,40
Лімфоцити, %	68,17±2,34	61,86±2,25*
Моноцити, %	5,50±1,57	4,57±0,78
Нейтрофіли сегментоядерні, %	22,17±2,73	27,71±2,48
Нейтрофіли паличкоядерні, %	0,50±0,34	2,71±0,64*
Еозинофіли, %	3,33±1,05	3,14±0,77

Після введення екстракту бета-каротину бактерицидна активність нейтрофілів крові за даними НСТ-тесту спонтанного не змінювалась порівняно з контрольною групою тварин. Значення НСТ-тесту стимульованого, який характеризує резервні можливості фагоцитів, після 7-ми введень екстракту бета-каротину, а також через 30 днів ПЕП були нижчими за контрольні (на 16,3 % і 15,3 % відповідно).

Останнє може бути обумовлене впливом бета-каротину, який як антиоксидант сприяв пригніченню надмірного утворення реактивних форм кисню у фагоцитах.

Одержані результати кореспондують з даними інших авторів [18], які вказують на те, що вітамін А стимулює фагоцитарну активність лейкоцитів й інші показники неспецифічного імунітету, прискорює проліферацію клітин,

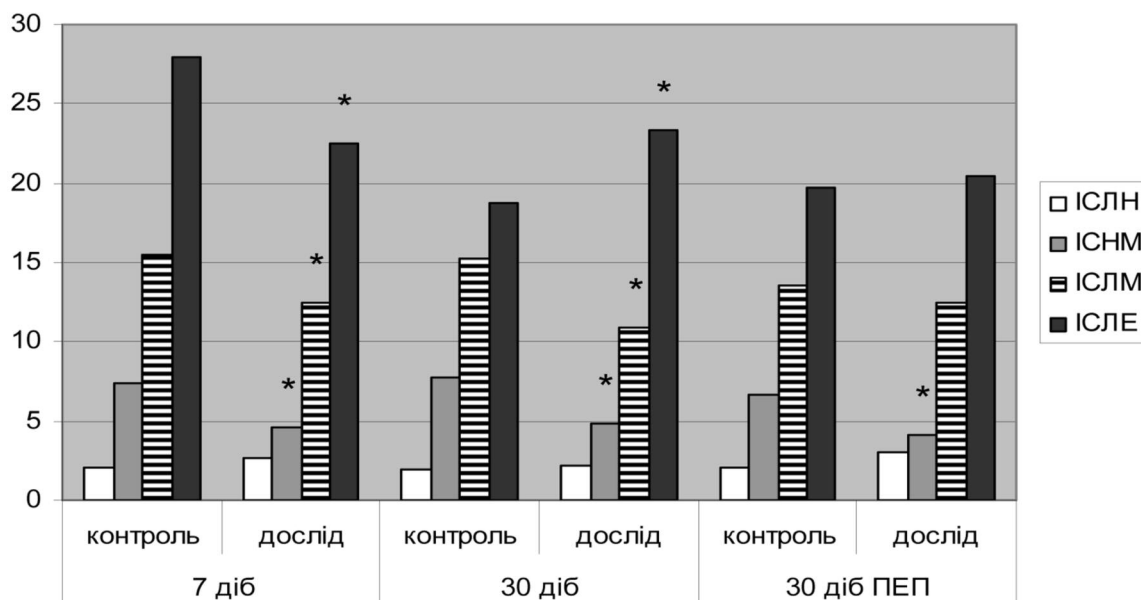


Рис.2. Зміни індексів співвідношення окремих популяцій лейкоцитів: у контрольних щурів і тих, яким вводили екстракт бета-каротину "Лус-О-Beta" в динаміці експерименту.
*- позначена достовірна відмінність у порівнянні з контролем ($p < 0,05$).

Таблиця 3

Показники фагоцитарної та бактерицидної активності нейтрофілів крові щурів після введення екстракту бета-каротину, ($M \pm m$)

Показники	Групи тварин	
	Контрольна	Дослідна
Після 7-ми введень		
ФІ, %	26,00±1,67	43,00±1,77*
ФЧ, умовних одиниць	4,16±0,14	5,42±0,14*
НСТ-спонтанний, %	25,40±0,87	24,83±1,19
НСТ-стимульований, %	45,80±0,66	38,33±1,05*
Після 30-ти введень		
ФІ, %	32,80±1,02	38,20±2,65*
ФЧ, умовних одиниць	4,66±0,11	5,94±0,28*
НСТ-спонтанний, %	24,00±2,00	25,20±3,14
НСТ-стимульований, %	42,40±1,72	38,60±1,60
Через 30 днів постекспозиційного періоду		
ФІ, %	25,60±0,75	42,00±1,41*
ФЧ, умовних одиниць	3,66±0,09	5,18±0,12*
НСТ-спонтанний, %	19,40±1,25	19,60±0,81
НСТ-стимульований, %	34,00±2,88	28,80±0,58*

підвищує синтез антитіл, як антиоксидант знижує процес перекисного окиснення та утворення вільних радикалів.

Вплив екстракту бета-каротину "Лус-О-Beta" на біохімічні показники плазми крові.

Внутрішньошлункове введення шурам екстракту бета-каротину "Лус-О-Beta" призвело до збільшення вмісту каротиноїдів та вітаміну А у крові порівняно з контрольною групою в усі терміни спостереження (рис.3). Зокрема, після 7-ми введень екстракту вміст каротиноїдів збільшився на 15,8%, а вітаміну А в 2,6 раза. Після 30-ти введень та 30 днів ПЕП у сироватці крові дослідних шурів вміст каротиноїдів зріс на 41,1 % і 27,8 %, а вітаміну А підвищився на 86,6 % і 26,3 % відповідно ($p < 0,05$ порівняно з контрольною групою). Підвищений вміст каротиноїдів і вітаміну А у крові тварин дослідних груп, особливо після 30-ти введень обумовлений щоденним введенням їм екстракту бета-каротину. Припинення введення препарату шурам у ПЕП призвело до зниження вмісту каротиноїдів і вітаміну А порівняно з попередніми серіями експерименту. Слід відзначити, що зовнішніх проявів каротинемії у піддослідних шурів виявлено не було.

Отже, отримані дані дозволяють рекомендувати екстракт бета-каротину "Лус-О-Beta" для поповнення нестачі вітаміну А в організмі.

Як відомо, при надходженні до організму вітаміну А (ретинолу) в кількості, що перевищує фізіологічні потреби, його надлишки відкладаються в печінці, формуючи депо. При зниженому надходженні з їжею його запаси з печінки виділяються в кровотік, підтримуючи концентрацію в сироватці крові на нормальному рівні. Печінка також є головним місцем синтезу «ретинол-зв'язуючого білка», з яким вітамін А специфічно зв'язується в крові. Вітамін А сприяє утворенню глікогену в печін-

ці і м'язах, підвищенню вмісту холестерину в крові, йому належить важлива роль в окисно-відновних процесах. Вітамін А спричиняє значний вплив на стан клітинних мембран, тканинне дихання, функціонування ендокринних залоз [19].

У шурів, яким вводили екстракт бета-каротину, були встановлені наступні зміни біохімічних показників крові, що характеризують функціональний стан печінки (табл. 4).

Встановлено, що після 7-ми кратного введення піддослідним шурам екстракту бета-каротину, мало місце достовірне підвищення активності ферменту ЛФ (на 60,6% по відношенню до контролю, $p < 0,01$) та зменшення активності АСТ (на 17,1%). Вміст загального білірубину, холестерину та тригліцеридів у дослідній групі тварин був на рівні контрольних значень, що свідчить про нормальну роботу печінки, а підвищення активності ЛФ може вказувати на посилене виділення цього ферменту клітинами печінки у жовчні протоки. Після 30-ти введень екстракту бета-каротину у дослідних шурів активність ЛФ була на рівні контрольних значень, проте виявлено достовірне зниження активності ферменту АЛТ (на 28,8%) і незначне зменшення активності АСТ (на 10,8%), що може вказувати на стабілізацію клітинних мембран під впливом екстракту бета-каротину. У дослідній групі тварин спостерігалось також підвищення холестерину і тригліцеридів (на 6,3% і 7,9% відповідно), проте воно було недостовірним. У ПЕП у групі шурів, яким вводили екстракт бета-каротину, було відзначено несуттєве збільшення рівня білірубину та достовірне зниження активності ферментів ЛФ (на 32,6%) і АЛТ (на 21,0%) (табл. 4).

Як відомо, висока активність АЛТ і АСТ у сироватці крові свідчить про деструктивні процеси у печінці, підшлунковій залозі, серці, які

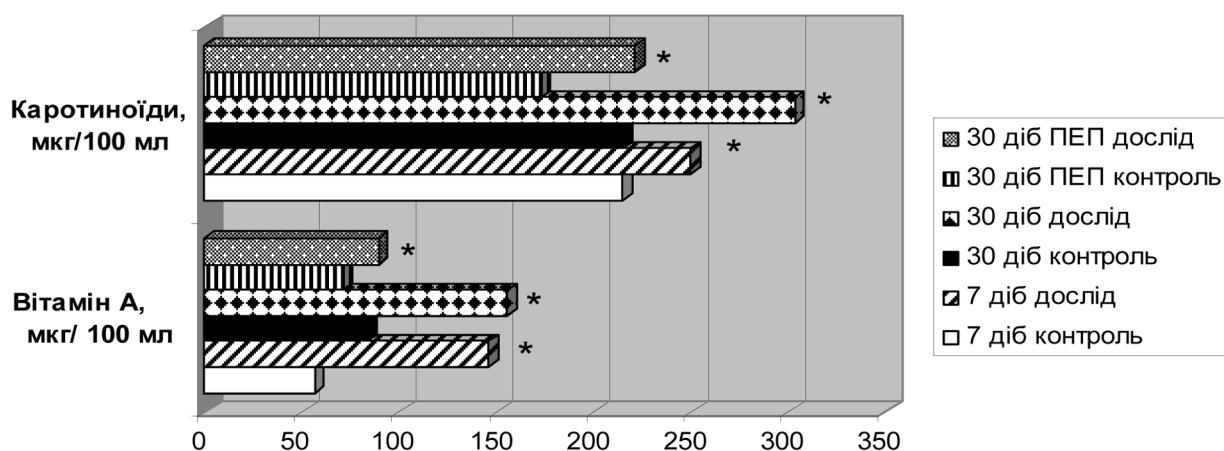


Рис.3. Вміст каротиноїдів та вітаміну А у сироватці крові контрольних і дослідних шурів за умови внутрішньошлункового введення їм екстракту бета-каротину "Лус-О-Beta"; * - достовірна відмінність у порівнянні з контролем ($p < 0,05$)

Біохімічні показники сироватки крові щурів після введення їм екстракту бета-каротину, (M±m)

Показники	Групи тварин	
	Контрольна	Дослідна
Після 7-ми введень		
Загальний білірубін, мкрмоль/л	4,08±0,54	3,47±0,46
Холестерин, ммоль/л	1,27±0,10	1,27±0,14
Тригліцериди, ммоль/л	0,81±0,05	0,87±0,07
ЛФ, Е/л	693,48±95,22	1114,00±154,10*
АЛТ, Е/л	74,58±11,11	80,93±9,76
АСТ, Е/л	248,18±28,03	205,83±12,00*
Після 30-ти введень		
Загальний білірубін, мкрмоль/л	3,92±0,46	3,85±0,67
Холестерин, ммоль/л	1,42±0,30	1,51±0,15
Тригліцериди, ммоль/л	0,88±0,07	0,95±0,08
ЛФ, Е/л	813,82±57,18	832,48±46,65
АЛТ, Е/л	88,82±6,81	63,24±5,82*
АСТ, Е/л	219,70±13,40	195,97±14,34
Через 30 днів постекспозиційного періоду		
Загальний білірубін, мкрмоль/л	3,98±0,47	5,35±1,48
Холестерин, ммоль/л	1,78±0,33	2,17±0,19
Тригліцериди, ммоль/л	0,86±0,06	0,83±0,04
ЛФ, Е/л	760,70±62,41	513,48±39,75*
АЛТ, Е/л	80,07±4,97	63,27±6,57*
АСТ, Е/л	207,78±24,57	203,83±7,73

спричиняють збільшення виходу трансаміназ з клітин у кров [14]. Зниження ж активності трансаміназ може вказувати на стабілізацію мембран клітин печінки й інших органів, внаслідок мембранопротекторної дії екстракту бета-каротину. Отже, одержані результати досліджень дозволяють дійти висновку, що екстракт бета-каротину при надходженні до організму щурів токсично не впливав на внутрішні органи, а навпаки, виявляв мембранопротекторну дію та запобігав цитолізу гепатоцитів і кардіоміоцитів.

Висновки

1. Екстракт бета-каротину "Лус-О-Бета" за умови субхронічного введення дослідним щурам сприяв підвищенню маси тіла, відносної маси імунних органів - тимуса і селезінки, що свідчить про позитивний вплив препарату на організм та імунну систему.
2. Екстракт бета-каротину "Лус-О-Бета" підвищував кількість моноцитів і нейтрофілів,

а також окремих індексів співвідношення лейкоцитів (ІСЛМ, ІСЛЕ), стимулював фагоцитарну активність нейтрофілів крові, що є ознаками підвищення неспецифічної резистентності й опірності організму до інфекцій.

3. Зменшення рівня цинкпротопорфірину в крові дослідних щурів після введення їм екстракту бета-каротину, пригнічення утворення реактивних форм кисню у фагоцитах пов'язане з антиоксидантною активністю цього препарату.
4. Введення щурам екстракту бета-каротину "Лус-О-Бета" сприяло збільшенню вмісту каротиноїдів та вітаміну А у крові, отже, цей препарат може бути використаний для поповнення їхньої нестачі в організмі.
5. Екстракт бета-каротину "Лус-О-Бета" не викликав порушень у роботі печінки й інших органів, зниження активності трансаміназ у сироватці крові щурів може свідчити про його мембрано- та гепатопротекторну дію.

ЛІТЕРАТУРА

1. Никитюк В.Г. Каротиноиды и их значение в живой природе и для человека / В.Г. Никитюк // Провизор.— 1999.— Вып. 6. <http://www.provisor.com.ua/archive/1999/N6/karot.php>
2. Сааков В. С. Альтернативные пути биосинтеза каротиноидов у Procarotyta и Eucaryota / В. С. Сааков // Докл. АН России. — 2003. — Т.392. — № 6. — С. 825–831.
3. Мікроорганізми — продуценти β-каротину природного походження / А.С. Стенько, В.П. Мартиновський, Є.А. Кушнікова [та ін.] // Міжнародна конф. «Використання каротиноїдів мікробного походження в агропромисловому комплексі» (Суми 2–4 жовтня, 2002 р.): Тез. доп.— Суми, 2002. — С. 19–21.
4. Бета-каротин. Сырье и добавки // Пищевая промышленность. — 2008.— № 8. — С. 1–4.
5. Сімонова М. Каротиноїди: будова, властивості та біологічна дія / М. Сімонова // Біологічні Студії. — 2010. — Т.4, № 2. — С. 159–170.
6. Palozza P. Antioxidant effects of carotenoids in vitro and in vivo: an overview / P. Palozza, N. Krinsky // Methods Enzymol. — 1992. — Vol. 213. — P. 403–420.
7. Risk Factors for Lung Cancer and for Intervention Effects in CARET, the Beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial / Gilbert S. Omenn, Gary E. Goodman [et al.] // Oxford Journals Medicine. — 1996. — Vol. 88, Issue 21. — P. 1550–1559.
8. OECD Guidelints for testing of chemicals/Paris Cedex — 1981.
9. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринологія. — 2003. — № 8 (1). — С. 142–145.
10. Instruction manual of Hematology analyzer ABX Micros 60, HORIBA (Франція), — 2011.
11. Осин А.Я. Информативность индексов соотношения лейкоцитов периферической крови при бронхиальной астме у детей / А.Я. Осин, Т.Д. Осина // Лабораторное дело. — 1987. — № 2. — С. 35–39.
12. Instruction manual of ZP HEMATOFLUOROMETER Models 206 and 206 D, 1996.
13. Сепашвили Р.И. Введение в иммунологию / Р.И. Сепашвили / Цхалтубо–Кутаиси, 1987. — 230 с.
14. Медицинские лабораторные технологии. Справочник / под ред. проф. А.И. Карпищенко. — Санкт–Петербург: Интермедика, 2002 — 600 с.
15. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині / Л.В. Беракало, О.В. Бобович, Н.О. Боброва [та ін.]: [за ред. І.П. Кайдашева— Полтава: Полімет, 2003. — 320 с.
16. Куценко С.А. Основы токсикологии: Научно–методическое издание / С.А. Куценко. — Санкт–Петербург, ООО «Издательство Фолиант», 2004. — 720 с.
17. Клетки крови как биоиндикатор токсического действия отравляющих веществ / Н.И. Алимов, А.Ю. Павлов, В.И. Попович [и др.] // Сб. тез. 2–го съезда токсикологов России, Москва, 10–13 ноября, 2003. — С. 52–53.
18. В-Carotene and the immune response. BY ADRIANNE BENDICH. Proceedings of the Nutrition Society. — 1991. — Vol. 50. — P. 263–274.
19. Olson J.A. Absorption, transport and metabolism of carotenoids in humans / J.A. Olson // Pure & Appl. Chem. — 1994. — Vol.66 (5). — P.1011–1016.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭКСТРАКТА БЕТА-КАРОТИНА "LYC-O-BETA" ИЗ ГРИБА BLAKESLEA TRISPORA НА ОРГАНИЗМ КРЫС

Дмитруха Н.Н., доктор биол. наук, Короленко Т.К., кандидат мед. наук, Лагутина О.С., Рязанов А.В., кандидат мед. наук
ГУ «ИНСТИТУТ МЕДИЦИНЫ ТРУДА НАМН УКРАИНЫ», Г. КИЕВ, УКРАИНА

РЕЗЮМЕ. В статье представлены результаты определения влияния экстракта бета-каротина "Lyc-o-beta" из гриба *Blakeslea trispora* на организм крыс по данным гематологических, биохимических и иммунологических исследований. Показано, что 30-ти кратное внутривенное введение крысам Вистар экстракта бета-каротина способствовало приросту массы тела животных, повышению уровня каротиноидов и витамина А в крови, не вызывало изменений в составе периферической крови и процессе синтеза гема, стимулировало неспецифическую резистентность, оказывало мембрано- и гепатопротекторное действие.

Ключевые слова: экстракт бета-каротина, гематологические, биохимические, иммунологические исследования.

RESEARCH OF INFLUENCE OF THE BETA-CAROTENE OLEORESIN "LYC-O-BETA" FROM THE FUNGUS BLAKESLEA TRISPORA ON THE RAT'S ORGANISM

N. Dmytrukha, D.Sc., T. Korolenko, PhD, O. Lagutina, Rjazanov S.V., PhD
INSTITUTE OF OCCUPATIONAL HEALTH OF AMS OF UKRAINE, KYIV, UKRAINE

SUMMARY. Development of biotechnology assisted using of microorganisms as alternative sources of receipt carotene for food and pharmaceutical industry, agriculture. At the same time, for providing of the safe use of biotechnological carotene realization of research of its toxic and safety is needed.

The aim of the present study was to investigate the influence of the beta-carotene oleoresin "Lyc-O-Beta" from the fungus *Blakeslea trispora* on rat's organism during subchronic experiment.

Materials and methods. The beta-carotene oleoresin "Lyc-O-Beta" from the fungus *Blakeslea trispora* being produced by LycoRed Ltd (Beer Sheva, Israel) has been investigated.

The subchronic study has been undertaken at 60 mature Wistar male rats. The rats have been divided into 3 groups. The rats of the 1st were received the intragastric injections of the beta-carotene oleoresin in sunflower oil during 7 days (0.08 mg/kg of the body weight). The animals of the 2nd and 3rd groups were injected with the same dose of beta-carotene 5 times per day during 30 days. The control groups were similarly injected with 1 ml of the sunflower oil. The animals of the 3rd group have been removed from the investigations 30 days after finishing the injections (postexposure period). The blood and inner organs of the rats were taken after decapitation. Hematological, biochemical and immunological studies have been undertaken for all groups of the rats. The statistical analysis of the obtained data have been undertaken with Microsoft Office Excel 2003 (S/N 74017-40-000010-57409).

Results. After 30 injections of the preparation of "Lyc-O-Beta" it was stated the increase of carotene and vitamin A contents in the blood serum, the growth of their body weight and the masses of the immune organs (thymus, spleen). The beta-carotene oleoresin "Lyc-O-Beta" did not influence on the peripheral blood cells but it was observed the significant decrease of the zincprotoporphyrin level, which is one of the markers of anemia development. Other indices of the peripheral blood were on the same level with the control ones. The decrease of the zincprotoporphyrin level can testify to positive influence of beta-carotene oleoresin on haem synthesis. The intragastric injection of the beta-carotene oleoresin resulted in the decrease of the transaminase activity in the blood serum of the rats that can testify as the stabilization of the membrane cells of the liver and other organs and the inhibition of the cells lysis. The beta-carotene oleoresin promotes the stimulation of the phagocyte activity of the blood's neutrophils, as an antioxidant, it was suppressed of the development of the reactive forms of oxygen in the phagocytes. The contents of the both high-molecular and low-molecular circulating immune complexes (CIC) were increased under the injection of the beta-carotene oleoresin. This effect is realized under the stimulation of the phagocyte activity of the neutrophils, which provide the elimination of CIC from the organism.

Conclusions. The results of the hematological, biochemical, immunological investigations, allow to make conclusion that the beta-carotene oleoresin "Lyc-O-Beta" from the fungus *Blakeslea trispora* has no toxic effect on rats organism. Moreover it stimulated nonspecific resistance of organism, provided antioxidant, membrano- and hepatoprotective action.

Key words: beta-carotene oleoresin, haematological, biochemical, immunological researches.

Надійшла до редакції 15.01.2014