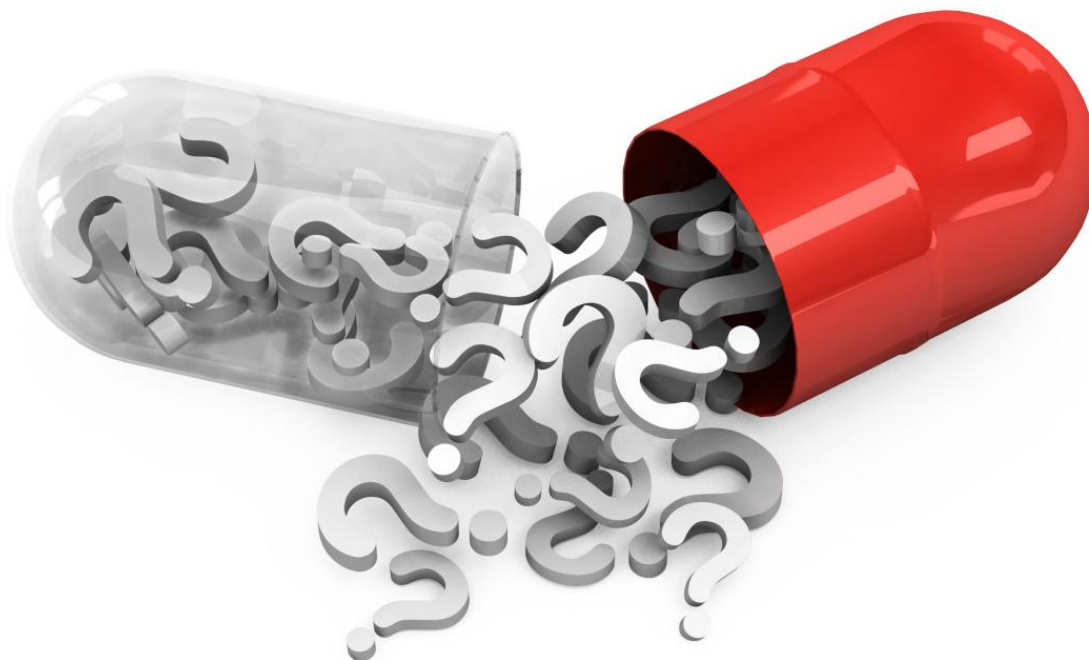




маг.-фарм. Елина Свиленова Петкова - Георгиева

АВТОРЕФЕРАТ НА ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД



Пловдив, 2018



маг.-фарм. Елина Свиленова Петкова - Георгиева

АВТОРЕФЕРАТ НА ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД

за присъждане на
образователна и научна степен „Доктор“
по докторска програма
„Фармакоикономика и фармацевтична регулация“,
професионално направление 7.3. "Фармация",
от област на висше образование 7. "Здравеопазване и спорт"

НА ТЕМА:

**ОЦЕНКА НА РИСКА ПРИ УПОТРЕБА НА ХРАНИТЕЛНИ
ДОБАВКИ, СЪДЪРЖАЩИ НЕОБЯВЕНИ СЪСТАВКИ**

**Научни ръководители: Проф. Илко Гетов, дф
Доц. Калин Иванов, дф**

Пловдив, 2018

Дисертационният труд съдържа 166 страници и е онагледен с 64 фигури, 21 таблици и 4 приложения. В библиографията са включени 198 литературни източника.

Част от изследванията по дисертационния труд са проведени в ИАЛ. Във връзка с дисертационния труд са издадени 4 публикации и 4 участия в конгреси.

Авторът е външен за Медицински Университет – Пловдив.

Дисертационният труд е насрочен за защита пред научно жури в състав:

1. Проф. Маргарита Касърова, дф
2. Проф. д-р Людмил Пейчев, дм, мзм
3. Проф. Илко Гетов, дф
4. Проф. Асена Стоименова, дф
5. Доц. Христина Лебанова, дф

Резервни членове:

Доц. д-р Делян Делев, дм и Доц. Мона Стефанова, дф

Публичната защита на дисертационния труд ще се състои на 20.09.2018 г. от 11:00 часа във II-ра аудитория на Аудиторен комплекс, Медицински университет – Пловдив, бул. „Васил Априлов“ 15А.

Материалите по защитата са на разположение в Научен отдел на Медицински университет – Пловдив, бул. „Васил Априлов“ 15А и на интернет страницата на Медицински университет – Пловдив.

Забележка: Номерата на таблиците и фигурите в автореферата не съответстват на номерата в дисертационния труд.

СЪДЪРЖАНИЕ

I. Увод	5
II. Научна хипотеза, цел и задачи	6
III. Материали и методи	7
IV. Собствени проучвания – резултати и дискусия	11
1. Анкетни проучвания	11
1.1. Пряка анонимна анкета за най-купуваните хранителни добавки от аптеките в Република България	11
1.2. Анкетно проучване за оценка на най-често използваните хранителни добавки в професионалния спорт	12
2. Изследвания за наличие на необявени съставки в хранителни добавки	18
2.1. Проучване за наличие на сибутрамин в хранителни добавки за отслабване	18
2.2. Проучване за наличие на силденафил, тадалафил, варденафил в хранителни добавки за еректилна дисфункция	23
2.3. Проучване за наличие на анаболни андрогенни стероиди в хранителни добавки, използвани в спорта	31
2.4. Проучване за наличие на НСПВЛ и хипнотични лекарства в хранителни добавки	36
2.5. Изпитване на хранителни добавки за съдържание на олово	37
V. Изводи и заключения	39
VI. Препоръки	41
VII. Приноси	42
VIII. Списък на публикациите във връзка с дисертационния труд	43
IX. Участия в научни форуми, свързани с дисертационния труд	43

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

БАБХ - Българска Агенция по Безопасност на Храните

ИАЛ - Изпълнителна агенция по лекарствата

ЛП - Лекарствен продукт

МС - Министерски съвет

НСПВЛ - Нестероидни противовъзпалителни лекарства

ССС - Сърдечно-съдова система

СЧТ - Стомашно-чревен тракт

ХД - Хранителна добавка

ЦНС - Централна нервна система

BCAA - Branched-chain amino acid, верижно разклонени аминокиселини

FDA - Food and Drug Administration, Агенция за контрол на храните и лекарствата в САЩ

HPLC - High -performance liquid chromatography, Високоэффективна течна хроматография

MMA - Mixed Martial Arts, Смесени бойни изкуства

MS, MS - спектри – Mass spectrometry, Мас-спектрометрия, Мас- спектри

TIC - Total Ion Chromatogram

I. УВОД

*Let food be thy medicine and medicine be thy food.
Hippocrates (460- 377 BC)*

Хранителните добавки (ХД) са концентрирани източници на хранителни или други вещества с хранителен или физиологичен ефект, чиято цел е да допълват нормалния хранителен баланс. Те се предлагат на пазара в дозирана форма - таблетки, капсули, дозирани течности и други форми.

През последните години се наблюдава повишен интерес към хранителните добавки. Глобалният пазар на хранителни добавки се очаква да достигне стойност от 220,3 милиарда долара през 2022 г. и да нарасне с 8,8% в периода 2017 – 2022 г.

Редица фактори допринасят за устойчивия ръст на пазара на ХД: масирана реклама, насочена както към потребителите, така и към здравните специалисти; подобрен достъп до ХД поради ежегодно увеличаване броя на обектите (аптеки, дрогерии, специализирани магазини за спортна суплементация, хранителни магазини), както и на продажбите по интернет. Разработени са успешни маркетингови стратегии от страна на производителите и дистрибуторите. Режимът на производство, регистрация и продажба е либерален; засилен е потребителският интерес към често рекламираните природни хранителни добавки. Законодателството по целия свят позволява сравнително бързо навлизане на нови ХД на пазара. За някои страни се изисква уведомителен режим (както е в САЩ, Мексико, Австралия и България), а за други (Бразилия, Канада и Русия) е въведен задължителен режим на регистрация на новите ХД. Често потребителите смятат, че ХД са безопасни, въпреки че аналитичният и качествен контрол преди пускането им на пазара е твърде занижен. В повечето случаи не се провежда качествен и количествен контрол на използваните суровини или готови продукти, което може да доведе до компрометиране на качеството и неблагоприятен риск за потребителя. Поради либералната законодателна рамка в световен мащаб често са определени необявени съставки в ХД или несъответствие между реалното качествено и количествено съдържание и обявеното от производителя.

Всичко това налага извършване на оценка на риска, свързан със здравето, благополучието и безопасността на лицата, употребяващи ХД, както и разработване на подходи за подобряване на системите за сигнализиране и узнаване на нежеланите странични ефекти. Има необходимост от предоставяне на адекватна информация за ХД и осигуряване на тяхната безопасност чрез обучение и обмен на опит с най-добрите практики между отделните държави, за да се постигне усъвършенстване на законодателството, което да е в синхрон с Рамковата директива 89/391 на Съвета на Европейския съюз по отношение на безопасността.

В настоящия дисертационен труд са отразени резултатите от извършения от нас анализ на пазара на ХД в различни аспекти. Проведени са проучвания, чрез които са установени водещите по употреба категории ХД. Анализирани са резултати, свързани със случаите на „замърсени“ ХД, и са изяснени потенциалните здравни последици за потребителите.

II. НАУЧНА ХИПОТЕЗА, ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

1. Научна хипотеза

Поради либералната законодателна рамка, отнасяща се до хранителните добавки, както и липсата на задължителен качествен и количествен контрол, се създават предпоставки за компрометиране на качеството и неблагоприятен риск за потребителя. Това води до предположението, че има необходимост от повишаване на изискванията към ХД предимно по отношение на техния аналитичен контрол, за да се гарантира тяхната безопасност.

2. Цел

Целта на дисертационния труд е да се проучи употребата на хранителни добавки у нас и да се направи оценка на риска от наличието на необявени съставки, както и да се предложат адекватни промени за контрол на качеството и осигуряване на тяхната безопасност.

3. Задачи

За изпълнението на целта са поставени следните задачи:

1. Да се извърши анкетно проучване за оценка на най-купуваните категории хранителни добавки в аптечната мрежа в Република България.
2. Да се проведе изследване на най-често приеманите ХД от професионални спортисти, използвани за подобряване на спортните постижения или обезпечаване на високоенергийните потребности на организма при интензивно физическо натоварване.
3. Да се анализират категориите ХД, които са рискови за съдържание на необявени съставки, и да се проведат лабораторни изследвания за наличие на необявени съставки и замърсяване с тежки метали (Pb).
4. Въз основа на получените резултати да бъдат изяснени рисковите фактори и да се формулират препоръки за оптимизиране на контрола на ХД с цел минимизиране на здравния риск и осигуряване безопасността на потребителите.

III. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

1. Методи при разработване на анкетни проучвания

1.1. Методи при разработване и валидиране на въпросник сред фармацевти относно най-купуваните хранителни добавки от аптеки в България

Проведен е преглед на публикуваната научна литература (базите данни на Google Scholar, Scopus, Embase и Medline), засягаща факторите, които повлияват продажбите на ХД, информираността за видовете ХД, тяхната безопасност и нежелани последствия от приема на ХД според фармацевтите. От идентифицираните проучвания са анализирани тези, които директно изследват продажбите на ХД от аптеки за обслужване на граждани. Използван е методът на пряка индивидуална анонимна анкета. Въпросникът е структуриран на фуниен принцип, като се започва от общи въпроси и се преминава към въпроси, свързани с целите на конкретното проучване.

Преценката за най-купуваните хранителни добавки от аптеките на територията на Р България, полипрагмазията и факторите, повлияващи продажбите, както и здравния риск, е направена въз основа на редица критерии, възприети при този вид проучвания. Проучването е проведено сред фармацевти в аптеки на територията на 5 града: София, Пловдив, Бургас, Плевен и Варна. Информацията е събирана в продължение на 6 (шест) месеца в периода октомври 2016 – март 2017 г. и обработвана по стандартните методи за анонимност, точност, валидиране и достоверност.

1.2. Методи при разработване и валидиране на въпросник за оценка на най-често използваните хранителни добавки в спорта

Аналогично е проведен преглед на публикуваната научна литература, засягаща факторите, които повлияват използването на ХД от професионални спортисти и информираността им относно безопасността на ХД. От идентифицираните от базата данни проучвания бяха анализирани онези, които директно изследват приеманите ХД от професионални спортисти. Използван е методът на пряка индивидуална анонимна анкета. Въпросникът е структуриран на фуниен принцип, като се започва от общи въпроси и се преминава към въпроси, свързани с целите на конкретното проучване. Анкетирани са професионални спортисти на територията на два града в България: София и Пловдив. Направена е проста случайна извадка от професионални спортисти в следните категории: футбол, баскетбол, бокс, карате, кикбокс, ММА атлети, джудо, вдигане на тежести, културизъм, тенис, гребане, лека атлетика и силов трибой. Информацията е събирана в продължение на 4 (четири) месеца в периода март 2017 – юни 2017 г. Проучването е срезово и анонимно;

използваната анкетна карта е предварително валидирана чрез тест - фаза и кодирана след окончателното им попълване и събиране. Отчитани са редица показатели за изясняване вида на приеманите ХД, честотата на употреба, информативността за ползата и здравния риск, познания за нежеланите ефекти и анти-допинг стратегия и превенция, потребностите от допълнителна информация и мястото на закупуване на ХД.

1.3. Статистически и математически методи за обработка и анализ на епидемиологичните данни

За статистическа обработка на данните е избран статистическият пакет SPSS VER.13. Възприетото критично ниво на значимост за отхвърляне на нулевата хипотеза H_0 е $\alpha = 0,05$ (Z критерий = 1,96), при гаранционна вероятност 95%. Математико-статистическите методи са: дескриптивен анализ; тестове за извеждане на зависимости между описателни данни (χ^2 на Пийърсън), t -критерият при сравняване на две групи наблюдения и коефициентът на контингенция на Крамер (V).

2. Аналитични методи за определяне наличието на лекарствени вещества в хранителни добавки

Всички изследвани ХД са закупени на случаен принцип от интернет, социалните мрежи и аптеките. Анализите са извършени в три сертифицирани лаборатории за изпитване на ХД и лекарствени продукти.

Изпитваните проби от ХД бяха заслепени, предварително кодирани, поставени всяка в отделен стерилен плик и така предоставени на лабораторията с приемно - предавателен протокол. Лабораторията след това също е кодирала пробите според техния лабораторен регистър. При получаване на резултатите от лабораторията всяка проба е придружена с индивидуален протокол, в който фигурира описание на пробата; описание на използваните методи; присъствие/отсъствие на съответното лекарствено вещество; количество; условия на изпитването и хроматограми на пробите, в които е открито присъствие на необявена съставка.

2.1. Изследване за наличие на сибутрамин в хранителни добавки за отслабване

За установяване присъствие/отсъствие на сибутрамин изследвахме **10** ХД. Изследването е проведено по метода на високоефективната течна хроматография (HPLC) и мас-спектрометричен

анализ при аналитичен стандарт сибутрамин, използван до 2010 г. като средство за отслабване. За доказване на необявената съставка са използвани генерираните MS-спектри, както и хроматограмите от PDA-детектора и Ion trap MS-детектора. Анализите са извършени при детекция в режим „full MS” и „MRM”.

2.2. Изследване за наличие на силденафил, тадалафил, варденафил и техни аналози в хранителни добавки за еректилна дисфункция

За установяване присъствие/отсъствие на силденафил, тадалафил и варденафил закупихме **20** ХД, предназначени за употреба от мъжете с еректилна дисфункция. Анализът е извършен в ИАЛ в Дирекция „Анализ на лекарствени продукти”.

Използван е методът на UPLC с PDA детектор и мас-спектрометричен детектор (Ph. Eur. 2.2.29 Ph. Eur. 2.2.43). Доказателство за наличие на някое от трите лекарства е спецификата на генерираните UV-спектри и MS-спектри, както и хроматограмите от PDA-детектора и Ion trap MS-детектора.

2.3. Изследване за наличие на анаболни стероиди в хранителни добавки, използвани в спорта

Проучени са **23** ХД за спортна суплементация, предназначени за повишаване силата и издръжливостта на спортистите. За доказване на наличието на андрогенни анаболни стероиди е използван методът на UPLC с PDA детектор. Идентификацията е направена въз основа на генерираните UV-спектри и MS-спектри, както и по хроматограмите от PDA-детектора и Ion trap MS-детектора. Получените данни са сравнени с аналитичните стандарти на 11 андрогенни стероида, приложени в съответните концентрации, а именно: Testosterone base, Testosterone propionate, Methyltestosterone, Trenbolone base, Nandrolone base, Nandrolone propionate, Nandrolone decanoate, Methanediene, Androstenedione, Stanozolol, Oxandrolone.

2.4. Проучване за наличие на НСПВЛ и хипнотични лекарства в хранителни добавки

Проучени са **10** ХД, подбрани на случаен принцип, за съдържание на диклофенак, ацеклофенак и ацетилсалицилова киселина и **10** ХД за наличие на бромазепам, алпразолам, клоназепам, зопиклон, цинолазепам и диазепам. Приложени са хроматографски методи за спектралната им характеристика в сравнение с аналитичния стандарт. Идентификацията е направена въз основа на генерираните използвани генерираните MS-спектри, както и

хроматограмите от PDA-детектора и Ion trap MS-детектора. Анализите са извършени при детекция в режим „full MS” и „MRM”.

3. Методи за изследване на хранителни добавки за съдържание на олово

Непреднамерено, на случаен принцип, бяха избрани 35 ХД. Извършен е анализ на съдържанието на олово. Аналитичните изследвания са проведени в сертифицирана лаборатория за изпитване на тежки метали в храни и хранителни добавки. Използван е методът на мас-спектрометрия с индуктивно свързана плазма (ICP-MSi CAPQ Thermo scientific) за количествено определяне на Pb(II) в пробите на ХД. Експерименталната постановка е етапна и включва въвеждане на измервания разтвор в радиочестотна плазма, където протичат процесите на разтваряне, атомизация и йонизация на елементите; екстракция на йоните от плазмата чрез диференциален вакуумен интерфейс с интегрирана йонна оптика и разделяне; пренос на йоните чрез система за разделяне на масите; и количествено определяне на концентрацията на разтвора в mg/kg след калибриране.

4. Обработка на хроматографските и мас-спектрометрични данни.

Данните от хроматограмите на различни проби ХД са обработени с помощта на софтуерна програма Xcalibur версия 2.0.7. Количеството на всеки лекарствен компонент е изчислено въз основа на получените площи от разтвора за изпитване, разтвора за сравнение и техните концентрации, като се използва следната формула:

$$X = \frac{A_{pr.}}{A_{st.}} \times \frac{m_{st.}}{V_{st.stock}} \times \frac{V_{pip}}{V_{st.}} \times \frac{V_{pr.stock}}{m_{pr.}} \times \frac{V_{pr.}}{V_{pip}} \times \overline{m_{tabl}} \times \frac{P}{100},$$

където:

$A_{pr.}$ - площ на пика, получен при хроматографиране на разтвора за изпитване;

$A_{st.}$ - площ на пика, получен при хроматографиране на стандартния разтвор;

$m_{st.}$ - претеглено количество стандарт [mg];

$V_{st.stock}$ - обем на колбата [ml], в която е претеглен стандартът;

$V_{pip.}$ - обем на пипетата [ml], която е използвана за разреждане на стандарта/пробата;

$V_{st.}$ - обем на колбата, в която е разреден разтворът на стандарта [ml];

$V_{pr.}$ - обем на колбата, в която е разреден разтворът на пробата [ml];

$V_{pr.stock}$ - обем на колбата, в която е претеглена пробата [ml];

$m_{pr.}$ - претеглено количество проба [mg];

$\overline{m_{tabl}}$ - средна маса на таблетките/капсулите [mg];

P - чистота на стандарта в проценти.

IV. СОБСТВЕНИ ПРОУЧВАНИЯ - РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ

1. Анкетни проучвания

1.1. Пряка анонимна анкета за най-купуваните хранителни добавки от аптеките в Р България.

В анкетата участваха 820 аптеки в градовете София, Пловдив, Бургас, Плевен и Варна. Анкетата включва 16 въпроса, отнасящи се до преценката за най-купуваните категории ХД; полипрагмазията; факторите, които повлияват продажбите на ХД; безопасността на ХД; проявените нежелани ефекти при употреба на ХД според фармацевтите.

Таблица 1. Най-често използвани категории ХД в българските аптеки

<i>Категория според приложението</i>	<i>Състав</i>	<i>Процент</i>
Имунна система и СЧТ	Витамини, минерали, пробиотици, имуностимулатори (екстракт от черен бъз, ехинацея, чесън, други)	41,5
Спортна суплементация	Аминокиселини, протеини, тестостеронови стимуланти и др.	4,9
Сърдечно-съдова суплементация	Омега мастни киселини, коензим Q10 и други.	9,8
Ноотропни	Гинко билоба, жен-шен и др.	7,8
Кости и стави	Глюкозамин, хиалуронова киселина, колаген и други.	12,9
Редукция на телесното тегло	Зелено кафе, зелен чай, гуарана и други.	3,0
Превенция на уроинфекции, подобряване функцията на простатата	Червена боровинка, бяла бреза, мечо грозде, сао-палмето и др.	7,9
Подобряване на съня и успокояващи НС	Мелатонин, мента, глог, валериана, пасифлора и други.	6,6
Ерекtilна дисфункция	Трибулус терестрис, йохимбе и др.	0,9
Други		4,7

Установихме, че 69% от пациентите в аптеките приемат ХД. Средният брой добавки, които един пациент приема, е **три**. Най-атраktivни и купувани ХД са тези за подпомагане на функцията на имунната система и СЧТ, последвани от ХД за подобряване на костната и ставната функция, както и ХД за превенция за сърдечно-съдови нарушения, а на последно място - тези за еректилна дисфункция (таблица 1). Основните причини, поради които пациентите купуват ХД, са грижата за здравето, постигане на повишена енергичност, подобряване на функцията на костите и ставите, подобряване на паметта и др. Установихме, че 85% от потребителите в аптеки смятат ХД за безопасни. Само 7% от тях имат оплаквания от нежелани странични ефекти при приемане на добавки, клинично проявени като диария, стомашен дискомфорт и други.

В таблица 2 са представени резултатите за водещите фактори, които определят избора на потребителите за ХД. Установихме, че изборът се повлиява предимно от препоръката на фармацевта, прескрипцията на лекарите и рекламните кампании по различни медии.

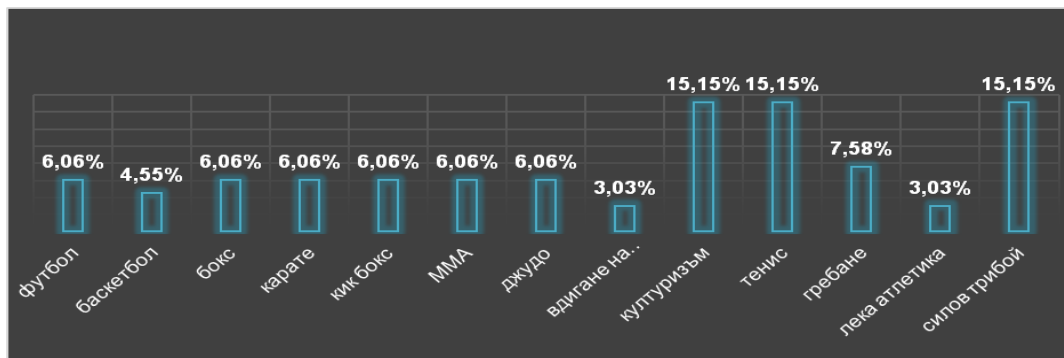
Таблица 2. Фактори, повлияващи избора на ХД от пациента

<i>Фактор, повлияващ избора на пациента относно ХД</i>	<i>Процент</i>
Лекар (рецепти)	25,6
Фармацевт	35,6
Интернет	8,6
Телевизия	14,2
Препоръка от друг потребител	9,8
Други рекламни средства	6,2

Нашето проучване потвърждава тезата за повишено потребление на ХД и констатира масово използване на някои ХД било самостоятелно, било като комбинация с предписвани лекарствени продукти.

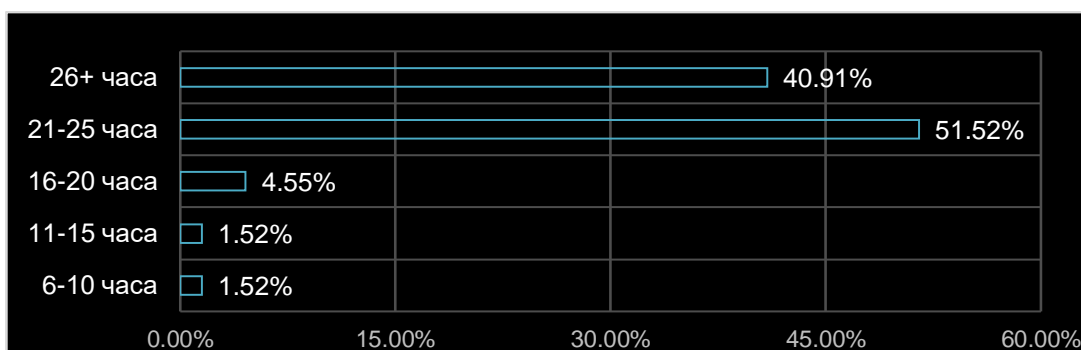
1.2. Анкетно проучване за оценка на най-често използваните хранителни добавки в професионалния спорт.

Анкетирани са 66 професионални спортисти на средна възраст 26,6 години, от които 10 жени и 56 мъже. Те анонимно представиха отговорите на 21 въпроса. Средният брой години, през които професионалните спортисти са практикували съответния спорт, е 12,83 години. Преобладават състезателите от следните дисциплини: културизъм, тенис и силов трибой (фигура 1).



Фиг. 1. Честотно разпределение на видовете спортове, които атлетите тренират

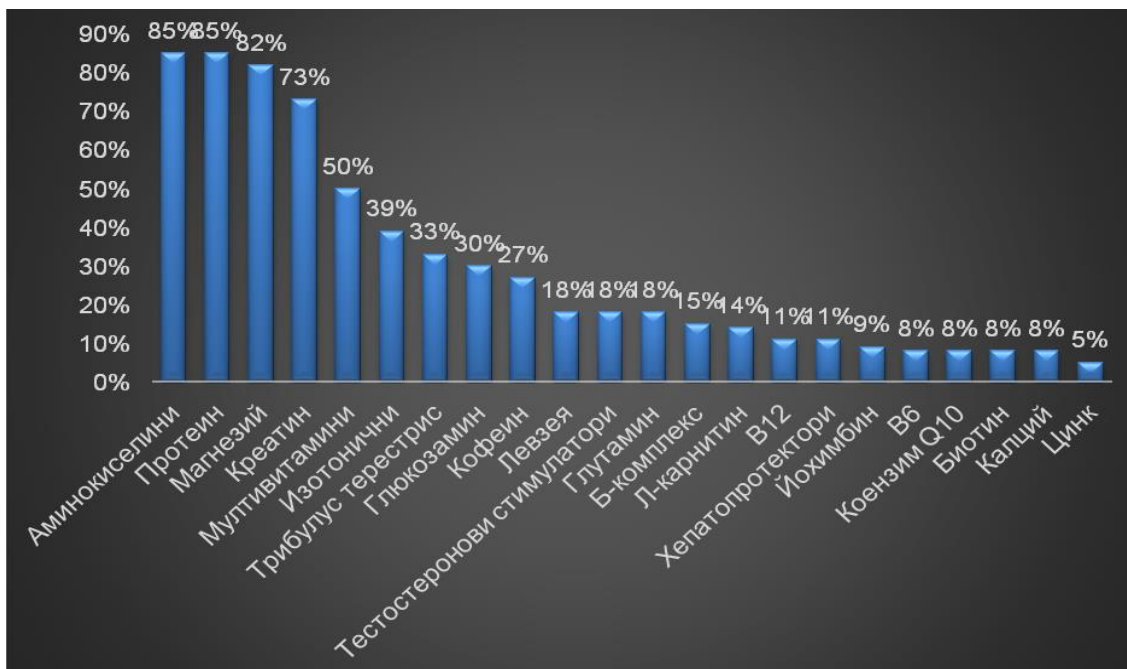
Най-голяма практика имат тенисистите - 19,3 г., следвани от культуристите – 15,10 г., боксьорите– 12,25 г. и каратистите – 12,75 г. Около 52% от професионалните атлети, взели участие в проучването, тренират между 21-25 часа седмично. Голям е и относителният дял на активно спортуващите повече от 26 часа седмично - 40,91%. Едва 1,52% спортуват 6-10 часа седмично (фигура 2). От фигурата е видно, че повечето професионални спортисти са изложени на ежедневно и интензивно физическо свръхнатоварване.



Фиг. 2. Честотно разпределение на седмични тренировки в часове

Всички анкетираните спортисти са убедени, че храненето е много важно за спортните им постижения и затова приемат допълнително средно по **7 добавки дневно**. Най-голям е броят на ХД при спортисти, занимаващи се с вдигане на тежести (10 вида ХД на ден), а най-малък при тези, които тренират лека атлетика (5 вида ХД на ден).

На фигура 3 са представени резултатите за честотата на употреба на ХД по категории. Установено е, че най-голям дял заемат ХД, съдържащи аминокиселини и протеини (85%), следвани от магнезий (82%) и креатин (73%).



Фиг. 3. Честотно разпределение на видовете ХД, които приемат професионалните атлети

Въпрос: „Откъде спортистите купуват хранителни добавки?“ (фигура 4)

Установено е, че магазините за здравословни храни и тези за спортна суплементация са най-често използваните за получаване на ХД от спортистите (90,91%). Техният брой постоянно нараства с много високи темпове. За съжаление, спортистите в много малък процент (16,67%) избират аптеките като място, от което могат да получат информация и специализирана консултация за качеството и безопасността на продукта, както и данни за производителя.



Фиг. 4. Честотно разпределение на въпроса: „Откъде купувате хранителните си добавки?“

Въпрос за: Честота и вид на нежеланите реакции на хранителни добавки, използвани от професионалните спортисти.

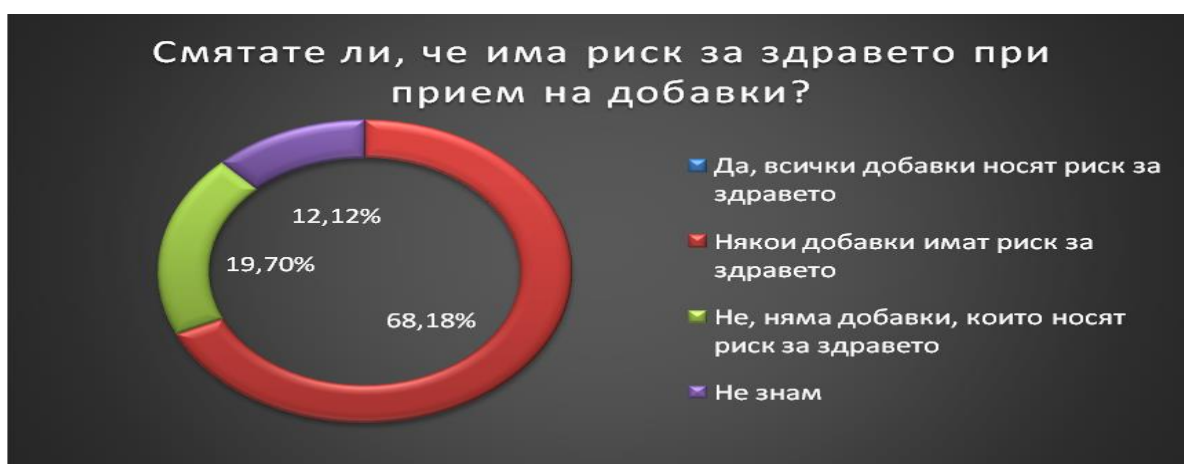
Литературните данни разкриват редица факти за клинични прояви на нежелани реакции, свързани с употребата на ХД. Те се обясняват с възможните нежелани взаимодействия между съставките на отделните компоненти на продукта или поради включването на лекарствени компоненти в тях. ХД с приложение в спорта имат за цел да повишат силата и издръжливостта на спортистите. Това е потребление от здрави хора, без налична патология, за разлика от приеманите ХД от по-възрастната популация от населението.



Фиг. 5. Честотно разпределение на ХД, причинили нежелани странични ефекти.

Резултатите от нашето анкетно проучване (фигура 5) показват, че 13,64% от спортистите са имали нежелани странични ефекти. Най-чести са реакциите, свързани с употребата на протеини (67%), кофеин (22%) и йохимбин (11%). Оплакванията при прием на протеини са дразнене на стомашно-чревния тракт и дискомфорт, докато кофеинът и йохимбинът са причинили съответно тремор или сърцебиене.

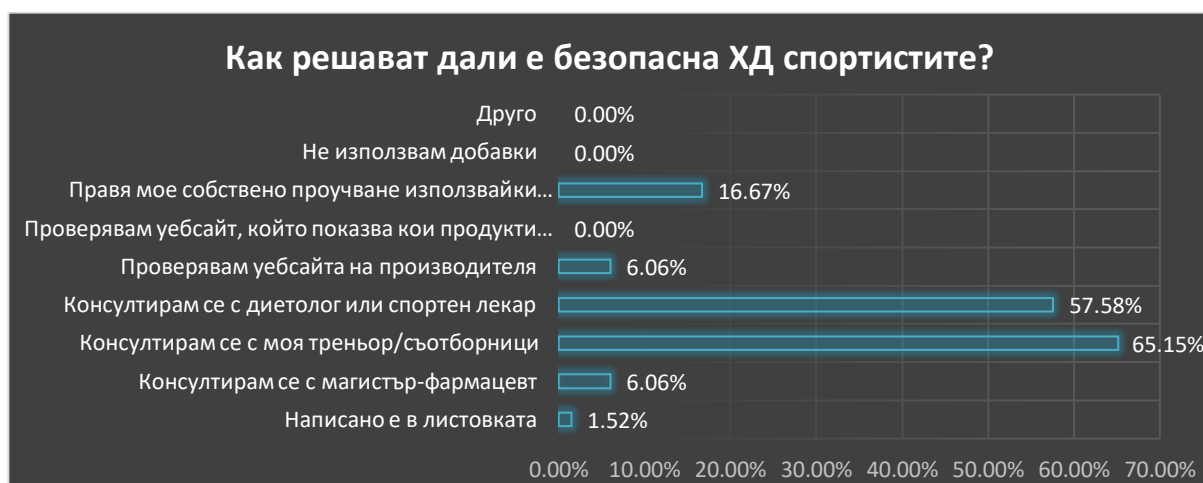
Мнозинството от професионалните спортисти (68,18%) са на мнение, че съществува риск за здравето им при наличие на необявени съставки в ХД. Тревожен е фактът, че една трета от анкетираните не могат да отговорят на въпроса или смятат, че ХД са напълно безвредни (фигура 6).



Фиг. 6. Честотно разпределение на отговора на въпроса: „Смятате ли, че има риск за здравето при прием на добавки?“

Въпрос относно: Информираност за безопасността на продукта.

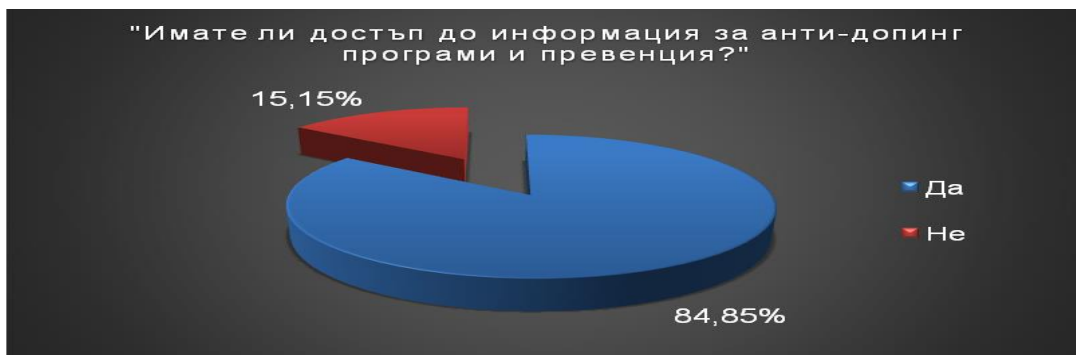
Според анкетното проучване предварителната преценка на професионални спортисти за безопасността на ХД се прави въз основа на информацията от техния треньор или съотборници (65,15%) и сравнително по-рядко от диетолог или спортен лекар (57,58%) (фигура 7). Писменият текст на листовката към продукта не служи като водещ информационен източник поради изграденото у тях недоверие към ХД – само 1,52% от спортистите я използват. Това се дължи в голяма степен на либералния разрешителен режим и липсата на задължителен контрол върху предлаганите ХД. За разлика от ХД, листовките на лекарствените продукти са контролирани, съблюдават се изискванията на ИАЛ, осигурява се точна информация, полезна за потребителите с описание на всички възможни НЛР като сигнал за спиране на лечението при появата им.



Фиг. 7. Честотно разпределение на източника за преценка на безопасността на ХД

Повечето спортисти (77,27%) следват инструкциите на спортния диетолог за пълноценно хранене при спорта и ползването на ХД, но по-голямата част от тях (66,12%) сами изчисляват необходимата им доза в зависимост от телесното си тегло. Знае се, че приемането на адекватна доза в зависимост от търсения ефект е от важно значение за постигане на желания резултат. В този смисъл участието на спортните лекари или специализирани диетолози има значение за дозирането на ХД.

Значителна част от анкетиранияте спортисти (84,85%) съобщават, че имат достъп до информация за анти-допинг програмите и превенция на злоупотребата и само малка част (15,15%) не са чували за това (фигура 8). Почти всички анкетирани спортисти (93,94%) приемат, че допинг веществата подобряват спортните им постижения (фигура 9). Мнозинството от тях (54,55%) са съгласни с твърдението, че „Употребата на хранителни добавки е задължителна за моя спорт” и 31,82% са подчертали отговора „Напълно съм съгласен”; едва 1,52% отговарят „Не съм съгласен” (фигура 10).



Фиг. 8. Честотно разпределение на въпроса: „Имате ли достъп до информация за анти-допинг програми и превенция“



Фиг. 9. Честотно разпределение на отговора на въпроса: „Смятате ли, че допинг вещества биха подобрили спортните Ви постижения“



Фиг. 10. Честотно разпределение на отговора на въпроса: „Употребата на ХД е задължителна за моя спорт“

Резултатите от проведеното анкетно проучване потвърдиха работната хипотеза, че професионалните спортисти масово приемат различни ХД, което е свързано с очакваните от тях високи спортни резултати. Преценката е, че спортистите не са в достатъчна степен информирани за здравния риск, който крият някои ХД. Приемът на ХД като поведенчески отговор е под влияние на

обкръжаващата спортна среда и се формира по пътя на подражанието или като израз на желанието за постигане на по-високи спортни резултати. Добрият избор зависи и от пригодността на ХД за дадения професионален спорт, доверието към производителя, информираността за ефикасност и профила на безопасност на продукта, както и от начина на неговото дозиране. Затова е препоръчително хранителните добавки да се закупуват от аптека или дрогерия при консултацията на фармацевт или да се потърсят съветите на спортните лекари и диетолози за техния допълнителен прием.

2. Изследвания за наличие на необявени съставки в хранителни добавки.

2.1. Проучване за наличие на сибутрамин в хранителни добавки за отслабване

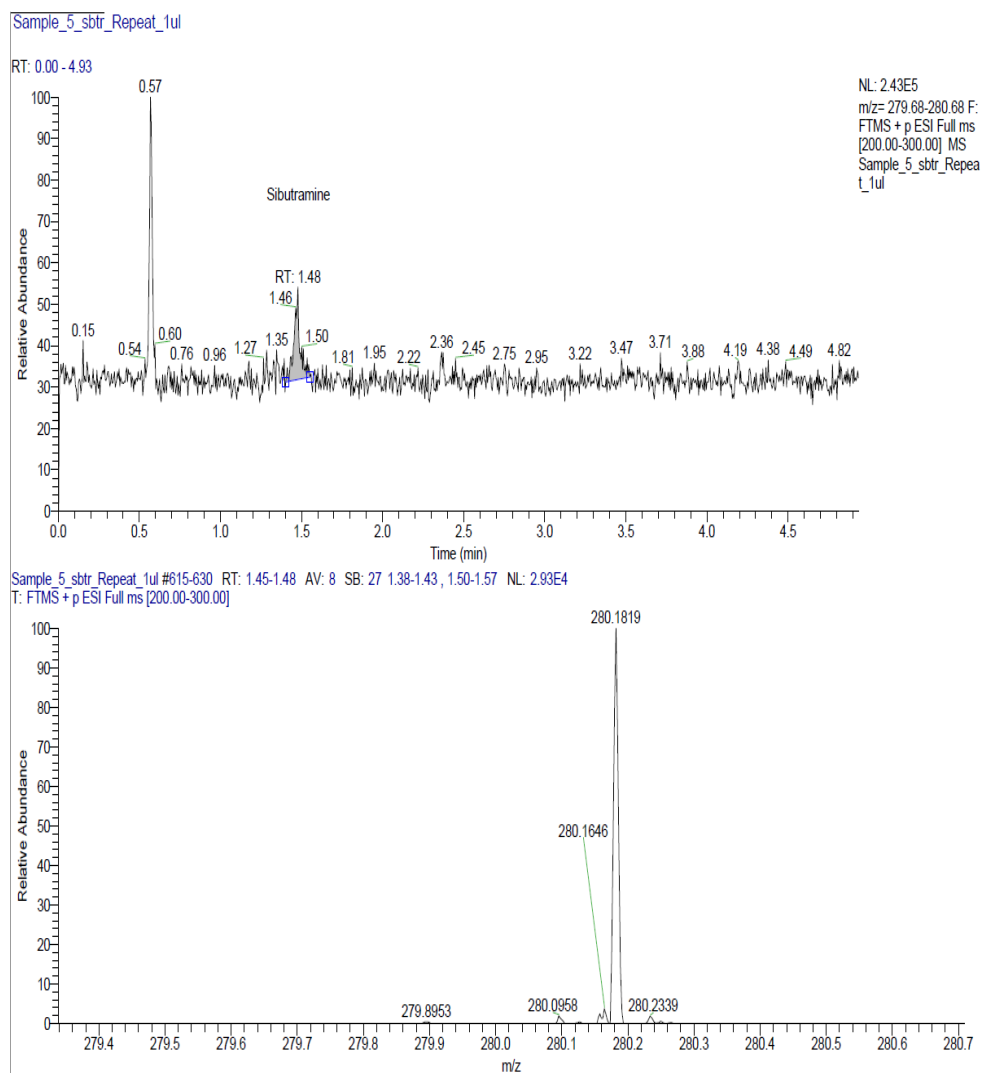
Сибутрамин е одобрен като лекарство за лечение на затлъстяване през 1997 г. от Американската агенция по лекарства (FDA), а през 1999 г. от Европейската агенция по лекарства (EMA). Сибутрамин и неговите активни първични и вторични метаболити са селективни инхибитори на обратното поемане на серотонин (5-НТ) и норадреналин, поради което повишават нивата на тези невромедиатори. Неговите най-често срещани нежелани ефекти са високото артериално кръвно налягане, сърцебиене, безсъние, раздразнителност, превъзбуда и безпокойство, загуба на съзнание, тремор, дезориентация, депресия; висока температура, болки в очите, прекомерно изпотяване, сухота в устата, болки в гърба и стомаха, запек.

Данните от клинично проучване на сибутрамин SCOUT (*Sibutramine Cardiovascular OUT comes*) са показали повишен риск от клинично значими сериозни нежелани ефекти от страна на сърдечно-съдовата система като мозъчен инсулт или миокарден инфаркт. По тези причини сибутрамин е изтеглен от фармацевтичния пазар от януари 2010 г. в много страни и области, в това число и в европейските страни. Изследователи от Холандия, Хърватия, Швейцария и Южна Корея за първи път идентифицират сибутрамин в ХД, въпреки неговата забрана за употреба.

Проведеното от нас аналитично спектрометрично и хроматографско проучване показва, че в две от изследваните **10 ХД** има наличие на необявената съставка сибутрамин – проби № 5 и № 8. В проба 5 е намерено количество на сибутрамин 5 mcg/капсула, докато в проба 8 количеството е **20 mg/таблетка**. Тези количествени данни са доказателствени за това, че вложеното количество сибутрамин в ХД от проба № 8 е два пъти повече от обичайната доза на лекарството и може да причини вреда, характерна за изтегления лекарствен продукт. Останалите изследвани 8 проби, според хроматограмите им, са с негативен резултат за съдържание на сибутрамин.

На фигура 11 е представена екстрахирана хроматограма на 1 µl от проба екстракт от № 5 и диапазона на сканиране на мас-спектрометричния детектор от 279,68 до 280,68 m/z и MS-спектър на пика с време на задържане 1,48 мин.

На фигура 12 е представена екстрахирана хроматограма на 1 μ l екстракт от проба № 8 при диапазон на сканиране на мас-спектрометричния детектор от 279,68 до 280,68 m/z (горе) и MS-спектър на пика с време на задържане 1,48 минути (долу).

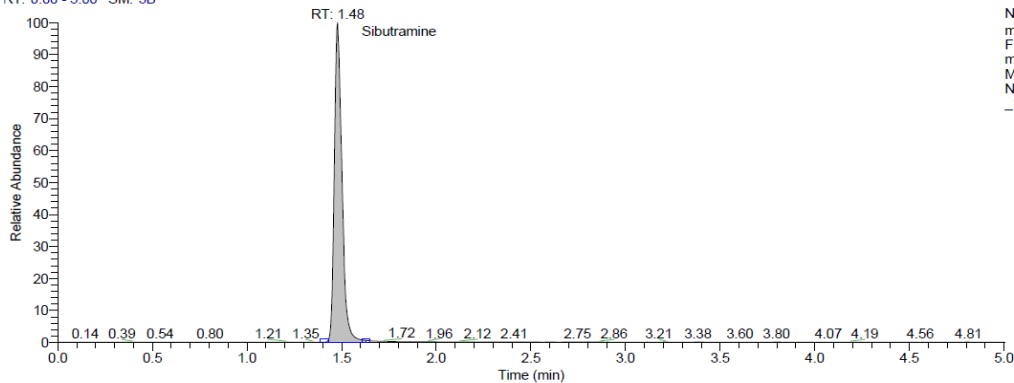


Фиг. 11. Хроматограма на стандарта Сибутрамин и проба № 5 при диапазон на сканиране от 279,68 до 280,68 m/z и време на задържане (RT) 1,48 минути.

На RT:1.48 се определя присъствие на йони с маса: 280,17; 125,00; 139,02,което свидетелства за присъствие на сибутрамин в проба № 5

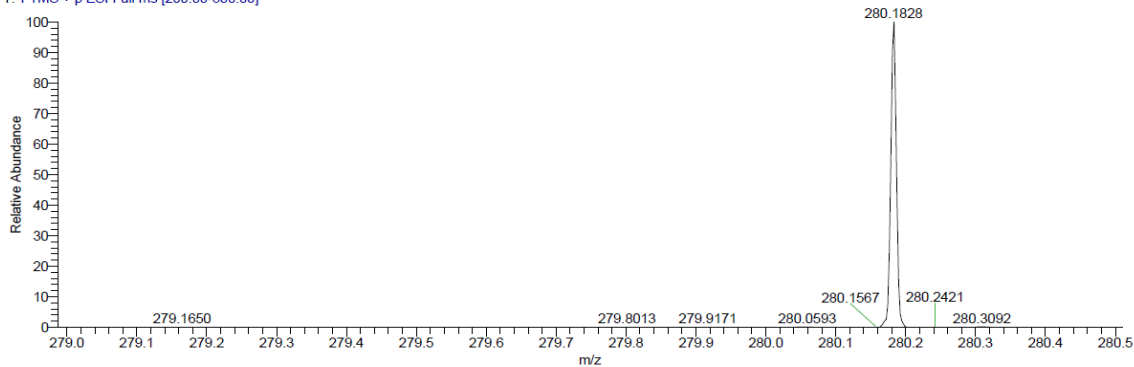
1.40-1.45 , 1.52-1.5

RT: 0.00 - 5.00 SM: 5B



NL: 7.54E7
m/z= 279.68-280.68
F: FTMS + p ESI Full
ms [200.00-300.00]
MS
NEWsample_8_SBTR
_1ul

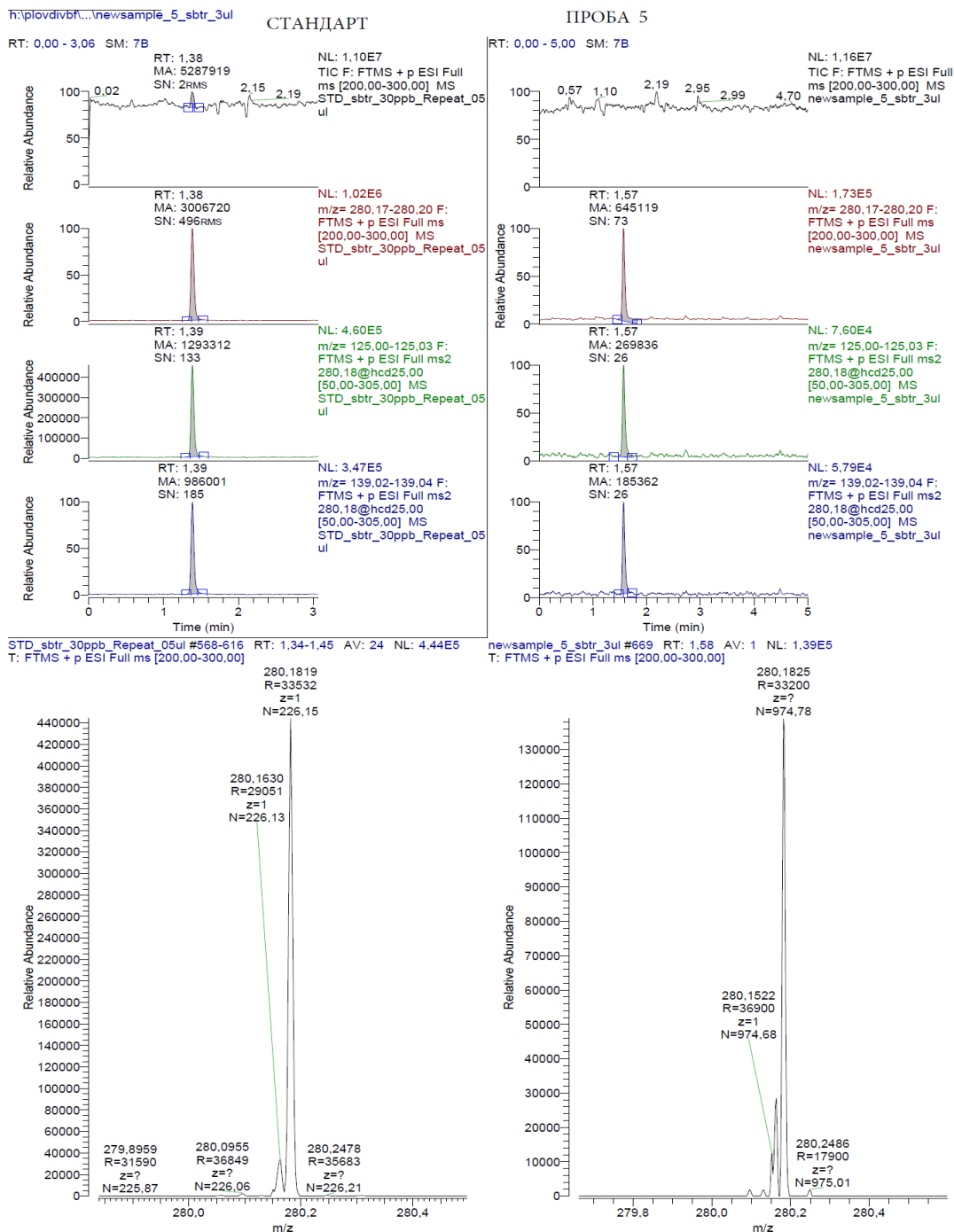
NEWsample_8_SBTR_1ul #620-640 RT: 1.46-1.50 AV: 10 SB: 24 1.40-1.45 , 1.52-1.56 NL: 5.86E7
T: FTMS + p ESI Full ms [200.00-300.00]



Фиг. 12. Хроматограма на стандарта Сибутрамин и проба № 8 при диапазон на сканиране от 279,68 до 280,68 m/z и време на задържане (RT) 1,48 мин.

При RT: 1,38 се установява присъствието на йони с молекулна маса: 280,18; 125,00 и 139,02, което е доказателство за наличие на сибутрамин в проба № 8.

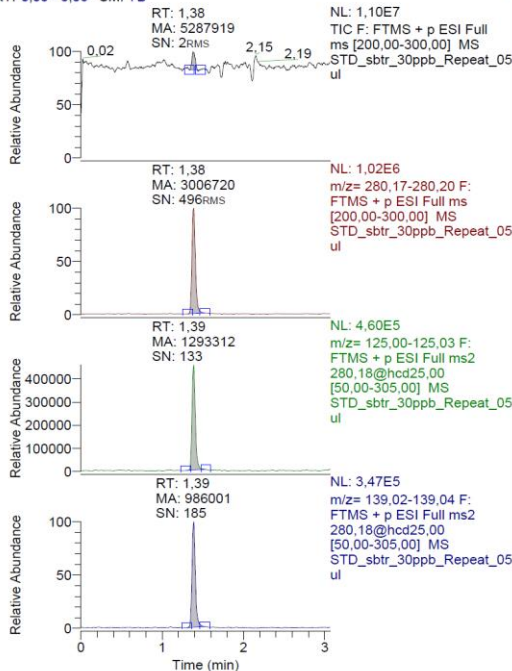
На фигура 13 и фигура 14 са представени резултатите от хроматографския и мас-спектрометричен анализ съответно на проби № 5 и № 8.



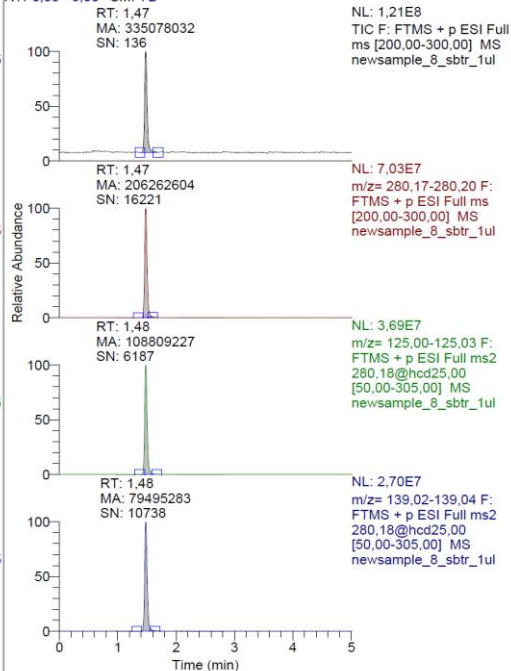
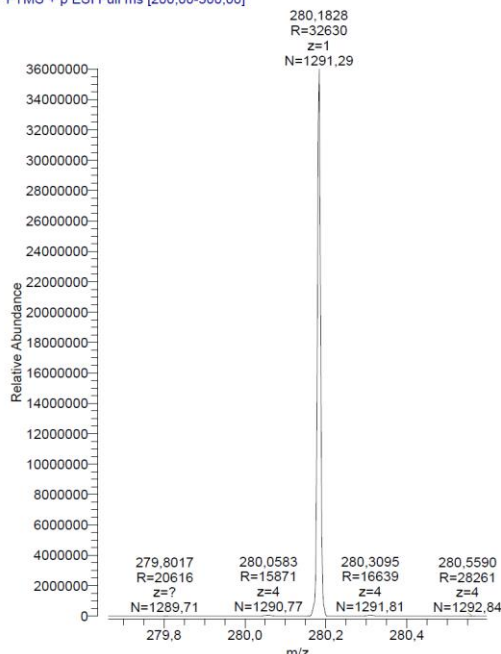
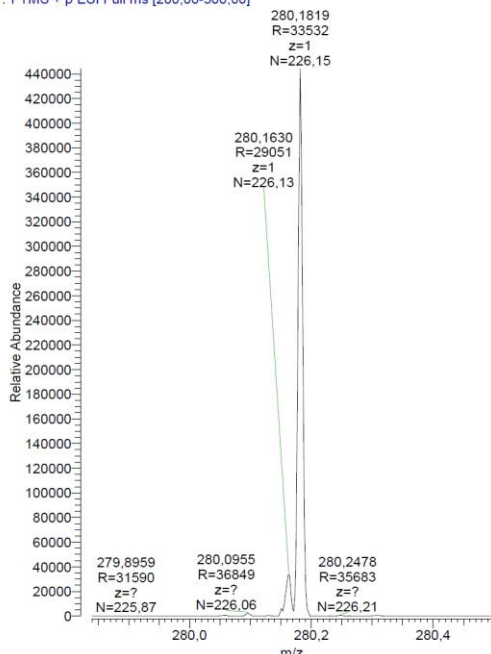
Фиг. 13. Хроматограми на стандарта сибутрамин и проба № 5.

Данните за проба № 5 са представени като сравнение между тотална йонна хроматограма в диапазон на сканиране 200-300 m/z (горе), екстрахирана хроматограма на анализа (втори ред), сигналът от електронни преходи 280>125 m/z и 280>13 m/z, характерен за анализа (трети и четвърти ред) и ESI-мас-спектър (долу); съответно, отляво – за сравнителния разтвор (стандарт) и отдясно – за анализиранията проба № 5. Върху пиковите на стандарта (сибутрамин с моноизотопна маса 279.175 Da) са отбелязани времената на задържане и площите на съответните пикове.

RT: 0,00 - 3,06 SM: 7B



RT: 0,00 - 5,00 SM: 7B

STD_sbrt_30ppb_Repeat_05ul #568-616 RT: 1,34-1,45 AV: 24 NL: 4,44E5
T: FTMS + p ESI Full ms [200,00-300,00]newsample_8_sbrt_1ul #606-655 RT: 1,44-1,53 AV: 25 NL: 3,60E7
T: FTMS + p ESI Full ms [200,00-300,00]

Фиг. 14. Хроматограма на стандарта Сибутрамин и проба № 8.

Резултатите за проба № 8 са представени като сравнение между тоталната йонна хроматограма в диапазон на сканиране 200-300 m/z (горе), екстрахирана хроматограма на анализа (втори ред), сигналът от електронни преходи 280>125 m/z и 280>139 m/z, характерни за анализа (трети и четвърти ред) и ESI-мас-спектър (долу); съответно, отляво – за сравнителния разтвор (стандарт) и отдясно – за анализирания проба № 8. Върху пиковите на стандарта (сIBUTРАМИН с моноизотопна маса 279.175 Da) са отбелязани времената на задържане и площите на съответните пикове.

Върху опаковката на хранителната добавка проба № 8 е изписано: търговското наименование, 300 мг и надпис на английски език за дозировка: 1 табл. дневно. Посочено е съдържанието на ХД:

екстракт от кората на йохимбин, зелен чай, джинджифил и малинови кетони; има надпис, че продуктът е хранителна добавка и не може да измести пълноценното хранене. Препоръчва се на потребители между 18 и 65 години.

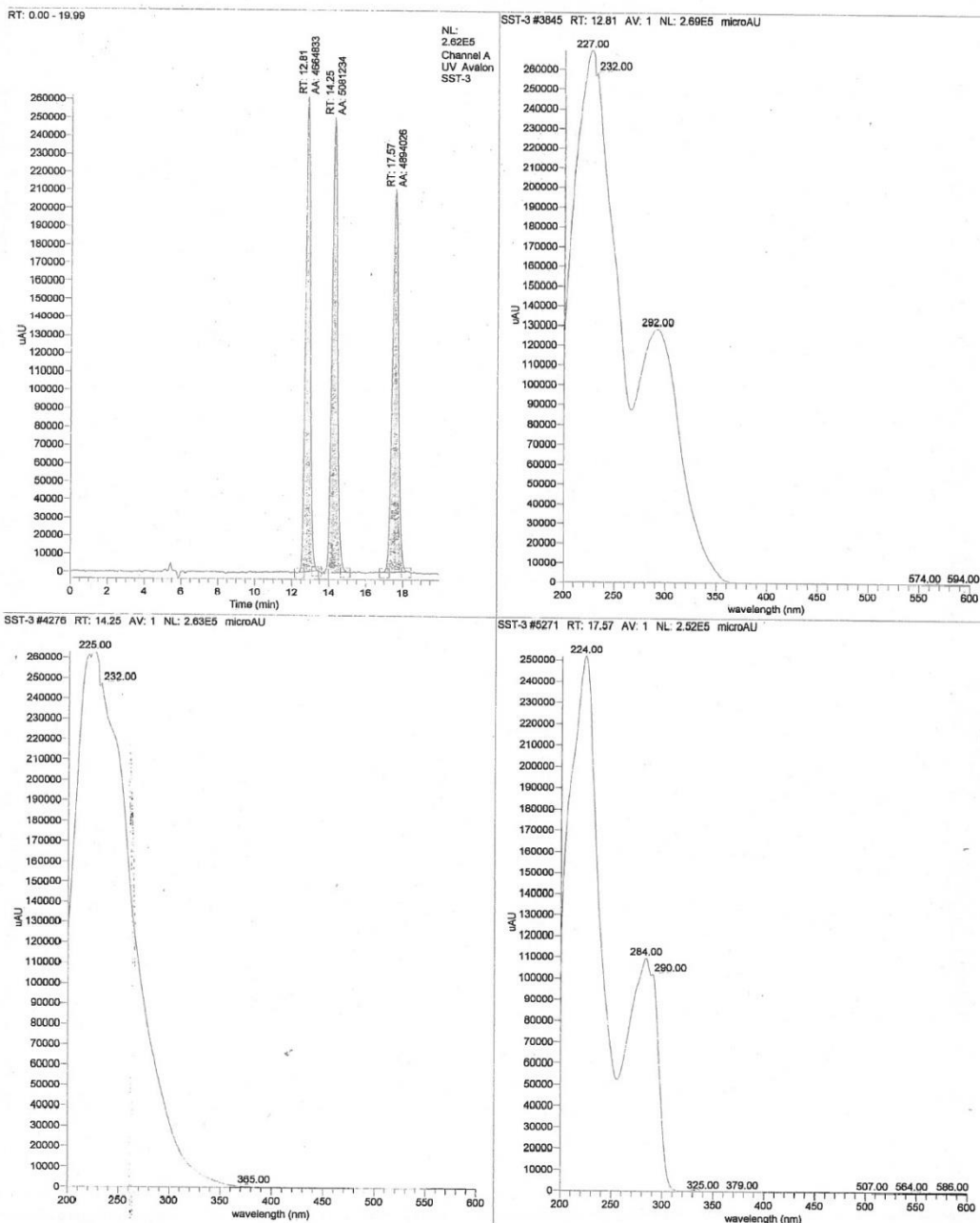
Резултатите от нашето лабораторно-аналитично изследване показват, че производителят умишлено заблуждава за безопасност на продукта и неговото действие. Обезпокоителни са и много онлайн коментари на потребителите, които препоръчват продукта и споделят, че благодарение на него те са загубили излишните си килограми без нежелани странични ефекти.

Съгласно нормативните актове, действащи на територията на Р България (Законът за храните, Наредба № 23, Наредба № 5 и Наредба № 5 на МЗ) този продукт (ХД с проба № 8) не отговаря на изискванията и не би трябвало да се разпространява и продава.

2.2. Проучване за наличие на силденафил, тадалафил, варденафил в хранителни добавки за еректилна дисфункция.

За доказване на силденафил, тадалафил и варденафил са използвани генерираните UV-спектри и MS-спектри, както и хроматограмите от PDA-детектора и Ion trap MS-детектора. Съгласно вътрешен лабораторен метод на ИАЛ за хроматографски проучвания критериите за идентичност са времената на задържане в пробата, които трябва да са 0,95 - 1,05 от времената на задържане на стандартните вещества и UV-спектрите на пробата да съвпадат с тези на стандартите. Времената на задържане в ТИС-хроматограмата трябва да са 0,95 - 1,05 от времената на задържане на стандартите и MS-спектъра да съвпада с този на стандартните вещества.

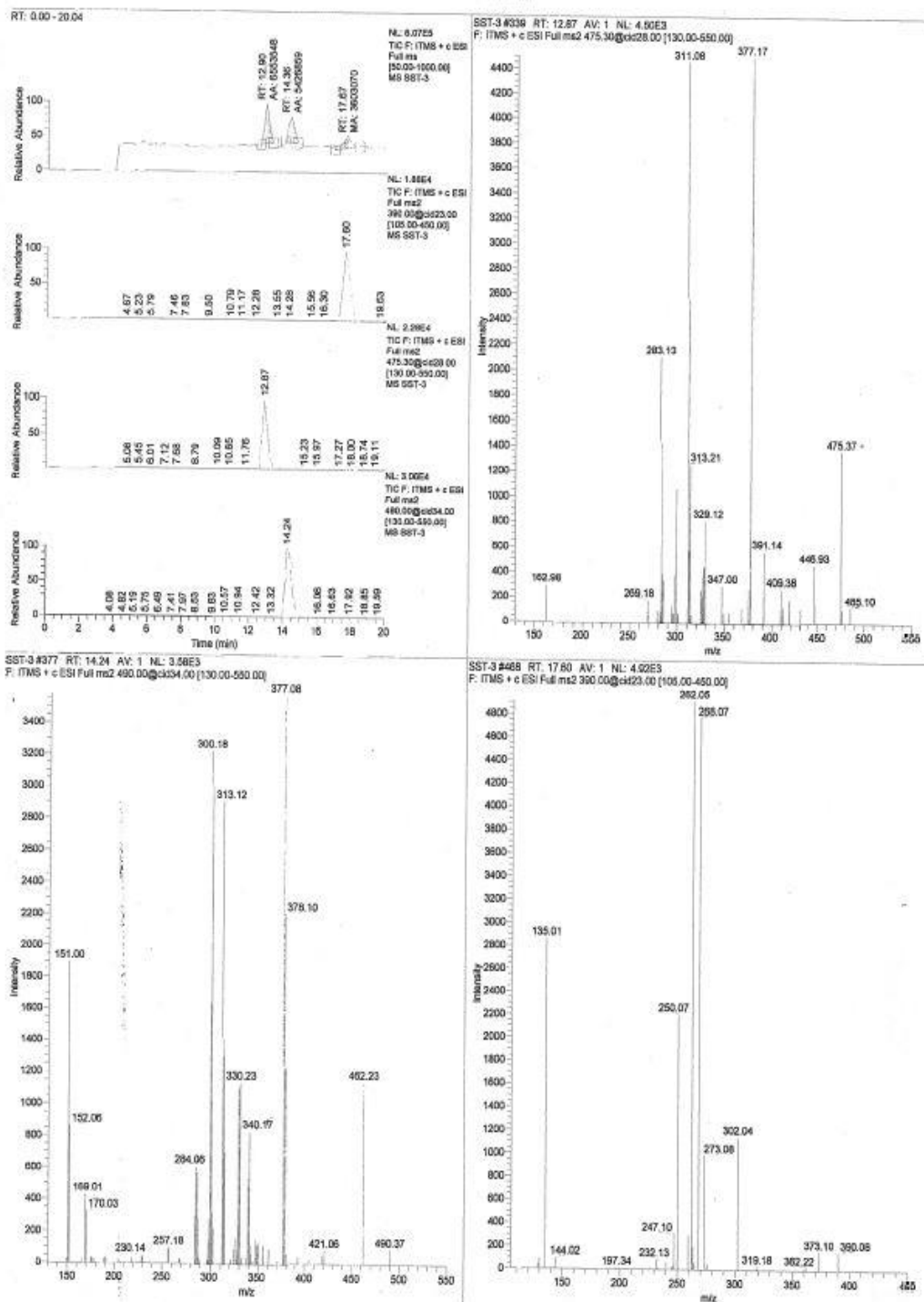
На фигура 15 е представена хроматограма на стандартен разтвор, съдържащ трите активни вещества: силденафил, варденафил и тадалафил със съответните времена на задържане (RT), както следва: RT: 12,81; RT: 14,25 и RT: 17,57 и съответстващите им λ_{1max} и λ_{2max} . При RT: 12,81- $\lambda_{1max}= 227$ nm и $\lambda_{2max}= 292$ nm; RT: 14,25- $\lambda_{1max}= 225$ nm и $\lambda_{2max}= 232$ nm и RT: 17,57: $\lambda_{1max}= 224$ nm и $\lambda_{2max}= 290$ nm.



Фиг. 15. Хроматограма на стандартен разтвор: смес на силденафил, варденафил и тадалафил с *RT: 12,81 ; RT: 14,25 и RT: 17,57* и съответните λ_{1max} и λ_{2max} за времето на задържане (*RT*) в минути.

На фигура 16 е представено снемане на Full MS и MS² спектри, както следва:

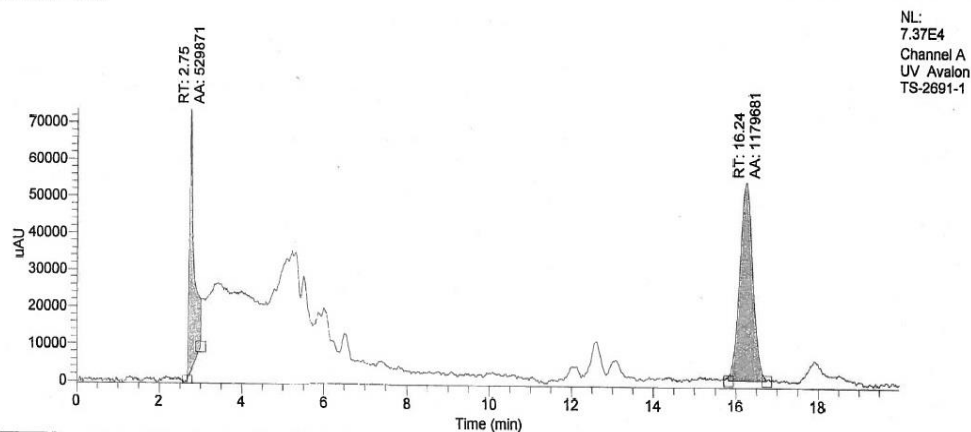
- Силденафил: йон (M+H)⁺ 475 @ 28 (колизионна енергия), фрагменти: 446,9; 309,14; 377,17; 329,12; 311,08; 162,90.
- Тадалафил: йон (M+H)⁺ 390 @ 23 (колизионна енергия), фрагменти: 302,0; 268,1; 262,0; 250,0; 135,0.
- Варденафил: йон (M+H)⁺ 490 @ 34 (колизионна енергия), фрагмент: 462,2; 377,1; 340,1; 330,2; 313,2; 300,2; 284,1; 169,0; 151,0.



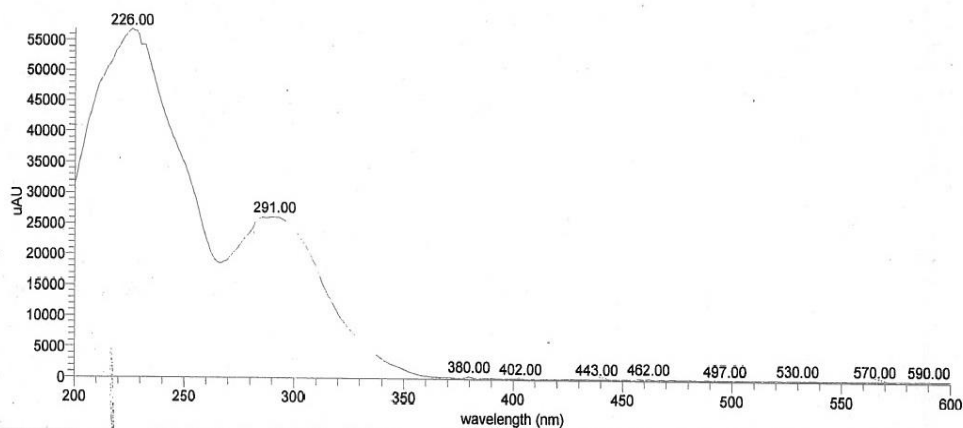
Фиг. 16. Full MS и MS² спектри на Стандарта: смес на Силденафил, Тадалафил и Варденафил

Въз основа на данните от хроматографския анализ и MS-спектрите на 20-те изследвани ХД е установено, че в 14 от тях има наличие на необявени съставки – пробите на ХД с № 1, 2, 6, 7, 10, 12, 13, 20, 21, 22, 23, 26, 62, 63. Силденафил е необявената съставка в 12 от тези проби. В проба № 6 не е установен пик в хроматограмата, отговарящ на силденафил, но е установен MS-спектър на неговия аналог - продохурphenylthiosildenafil (молекулен йон с m/z 390), който показва UV-спектър с максимуми при $\lambda_{1\max} = 226 \text{ nm}$; $\lambda_{2\max} = 291 \text{ nm}$ (фигура 17).

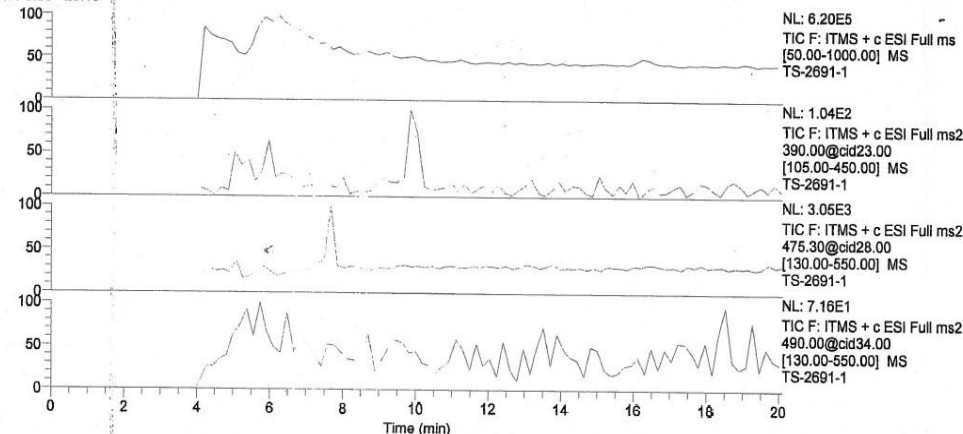
RT: 0.00 - 19.99



TS-2691-1 #4872 RT: 16.24 AV: 1 NL: 5.68E4 microAU

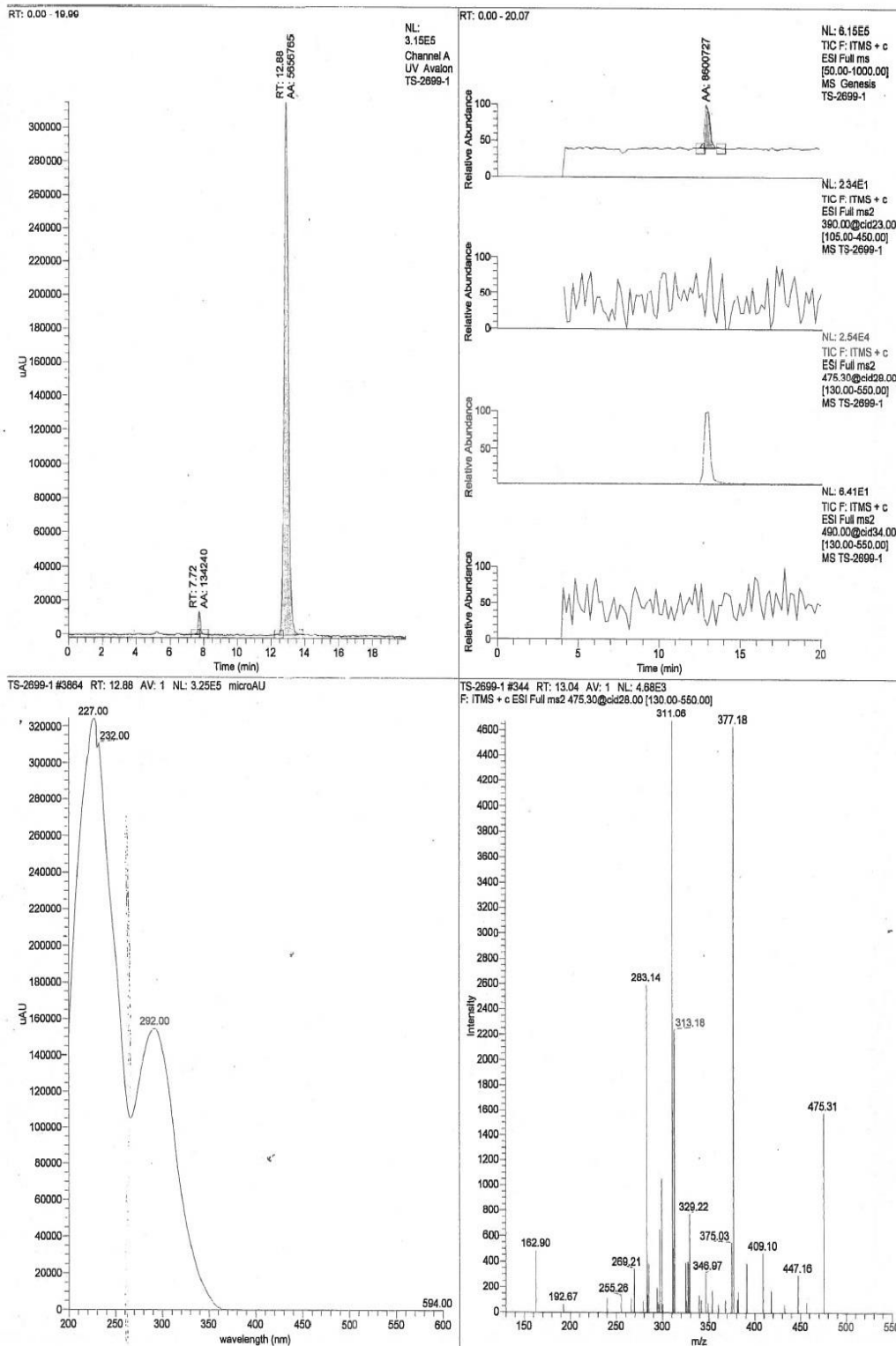


RT: 0.00 - 20.10



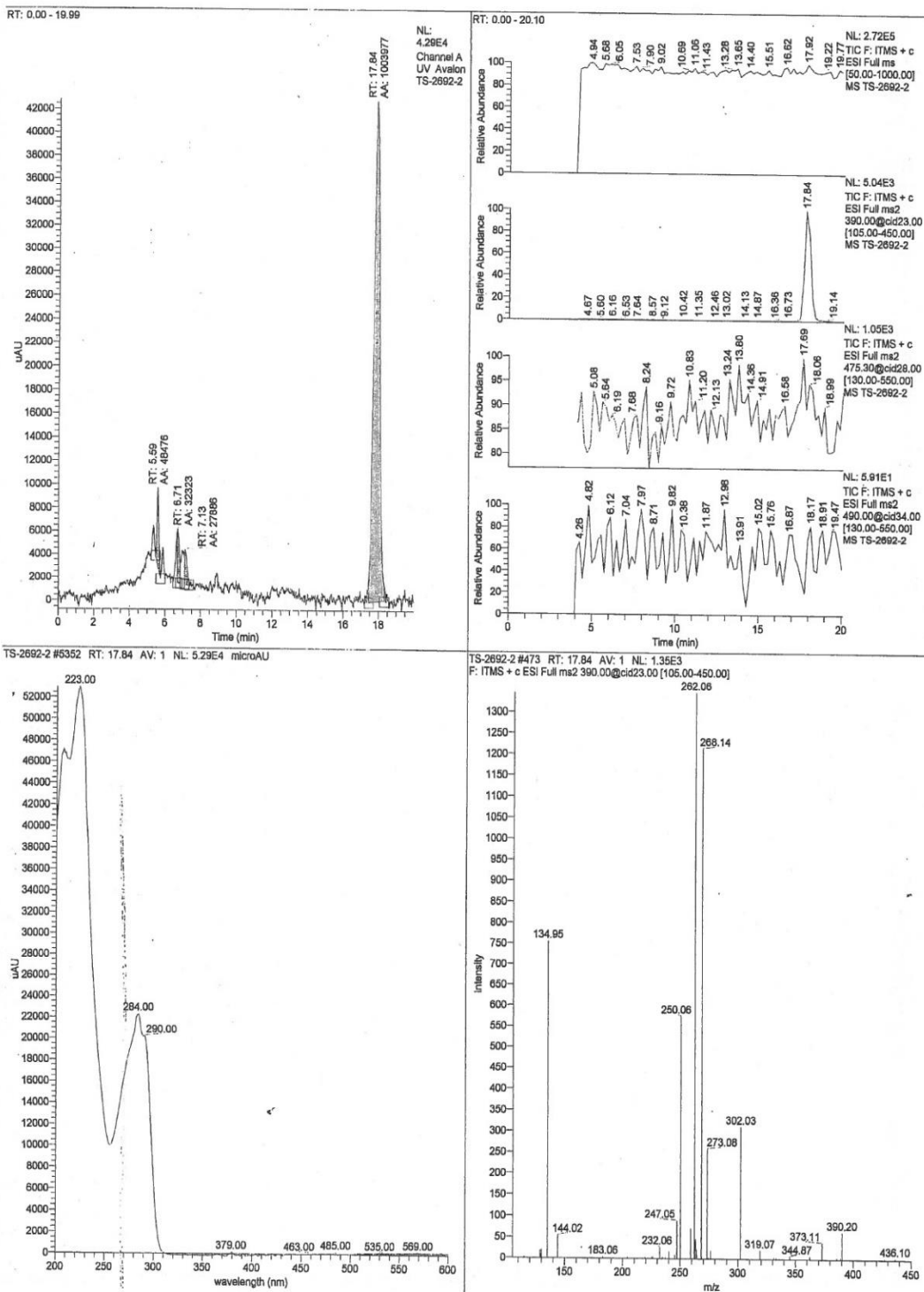
Фиг. 17. Хроматограма на проба № 6, в която е установен аналог на Силденафил propoxyphenylthiosildenafil, който показва UV-спектър с максимуми при $\lambda_{1max}=226$ nm; $\lambda_{2max}=291$ nm

На фигура 18 са представени хроматограмите от двата вида детектора на проба № 22. В UV-хроматограмата при RT: 12,88 се наблюдава пик, който по време на задържане отговаря на времето на задържане на аналитичния стандарт силденафил. Генерираните UV-спектри са с максимуми при $\lambda_{1max}=227$ nm; $\lambda_{2max}=292$ nm и MS²-спектър на силденафил с молекулен йон при m/z : 475,3, чиито дъщерни йони, получени след разпада, съвпадат с тези на стандарта.



Фиг. 18. Хроматограма на проба № 22, в която е установен Силденафил; при RT: 12,88 се генерира UV-спектър с максимуми при $\lambda_{1max}=226$ nm; $\lambda_{2max}=291$ nm и MS-спектър – 475,3.

В проба № 7 е определено наличие на необявената съставка тадалафил. На фигура 19 е представена хроматограмата на проба № 7, при RT: 17,84 са генерирани UV-спектри с максимуми при $\lambda_{1max}=222$ nm; $\lambda_{2max}=291$ nm и MS-спектър на силденафила: 302,03; 268,14; 262,06; 250,06; 134,95.



Фиг. 19. Хроматограма на проба № 7, в която е установен Тадалафил; при RT: 17,84 се генерира UV-спектър с максимуми при $\lambda_{1max} = 223$ nm; $\lambda_{2max} = 290$ nm и MS-спектър – 302,03; 268,14; 262,06; 250,06; 134,95.

Обобщените резултати от проведеното проучване за присъствие или отсъствие на силденафил, тадалафил, варденафил и количеството на откритата необявена съставка в изследваните 20 проби са представени в таблица 3.

Таблица 3. Обобщени резултати за присъствие/отсъствие на силденафил, тадалафил, варденафил и други неизвестни съставки в проби от ХД и тяхното количество.

Проба №	Лаб.проба	Силденафил	Варденафил	Тадалафил	Други вещества
1	2688	79,9 mg в табл.	-	-	-
2	2689	91,5 mg в табл.	-	-	-
4	2690	-	-	-	-
6	2691	-	-	-	25,5 mg propoxyphenyl thiosildenafil
7	2692	-	-	19,5 mg в табл.	-
10	2693	93,3 mg в табл.	-	-	-
12	2694	15,7 mg в табл.	-	-	-
13	2695	96,5 mg в табл.	-	-	-
14	2696	-	-	-	-
20	2697	71,5 mg в табл.	-	-	-
21	2698	74,8 mg в табл.	-	-	-
22	2699	116,55 mg в табл.	-	-	-
23	2700	17,4 mg в табл.	-	-	-
26	2701	94,4 mg в табл.	-	-	-
33	2702	-	-	-	-
35	2703	-	-	-	-
62	2704	2,2 mg в табл.	-	-	-
63	2705	3,4 mg в табл.	-	-	-
64	2706	-	-	-	-
65	2707	-	-	-	-

Установено е, че от изследваните **30** проби на ХД при **70%** от тях се откриват необявени съставки на лекарствен продукт, предназначен за употреба при еректилна дисфункция. Това са: силденафил (40% от случаите) и тадалафил (в една проба с № 7). За всички изследвани ХД е отбелязано от производителите, че продуктите са 100% натурални и не предизвикват странични ефекти. При нито една от добавките не са посочени възрастови ограничения или риск от взаимодействия с други ХД или лекарствени продукти. Голяма част от ХД (**18** на брой от изследваните 30) нямат етикет на български език, което противоречи на законовата разпоредба за употребата им в Р България.

В *проба № 22* по време на изследването е установено най-голямо количество силденафил - **116,55 mg/табл.**, което е повече от максималната дозировка на лекарствения продукт (100 mg). Производителят посочва, че това е натурален продукт, който съдържа 120 mg йохимбин. Известно е, че ХД, съдържащи йохимбин, не се употребяват едновременно с антистенокардни нитрати, защото може да възникне изразена или фатална хипотония. Известни са и противопоказанията и нежеланите ефекти на силденафил, което означава, че ХД може да е неподходяща за някои потребители и даже опасна за живота им.

Аналитичните данни за ХД *№ 1, 20 и 21*, поръчани от американски интернет сайт, показаха, че в техния състав присъства необявена съставка силденафил в количество съответно 79,9 mg, 71,5 mg и 74,8 mg за таблетка. И трите хранителни добавки не присъстват в онлайн списъка на FDA като блокирани и изтеглени от пазара. На опаковките на трите продукта е посочен сходен състав: епимедиум 90%, женшен, гинко билоба, шисандра, мака, калций, цинк, L-аргинин. За *проба № 1* е отбелязано, че продуктът е 100% натурален, а за *проба № 20*, че няма странични ефекти и елиминира импотентността.

В *проба № 6* нашите хроматографски и спектрални анализи идентифицират химически аналог на силденафила - *proroxurhenyl thiosildenafil* в количество **25,5 mg** за таблетка. В информацията на производителя е отбелязано, че продуктът е 100% натурален, изцяло на билкова основа и съдържа 67% женшен, гинко билоба и епимедиум. Хранителните добавки, фалшифицирани с аналог на силденафил, представляват риск за здравето на потребителя, защото токсичността на модифицирания силденафил не е известна.

В *проби № 2, 10, 13, 26* се съдържа силденафил в количества съответно 91,5 mg, 93,3 mg, 96,5 mg и 94,4 mg, необявено на опаковката. Четирите продукта имат много положителни коментари в интернет магазините, което стимулира тяхното търсене. Те нямат листовка, етикет на български език и дозировка.

Резултатите от анализа на *проба № 7* показват, че съдържа необявен на етикета тадалафил в доза 19,5 mg/капсула. Максималната дозировка на лекарствения продукт е 20 mg. Това означава, че ХД съдържа същото количество активно вещество като лекарствения продукт, което е непозволено. На опаковката на продукта е отбелязано, че съдържа йохимбин.

Пробите с *№ 12, 23, 62 и 63* също съдържат необявена съставка силденафил в концентрации съответно от 12,9 mg/табл.; 12,94 mg/табл.; 2,2 mg/капс. и 3,4 mg/капс. На етикета на ХД на пробите 62 и 63 има надпис, че са силен афродизиак. Съставът според етикета на опаковката е жълт кантарион-стрък, корен от жен-шен, бабини зъби-стрък, върбинка-стрък, магарешки трън-цвет, валериана – корен, джинджифил – коренище, гинко билоба – стрък, цинк и цветен прашец. Двете добавки имат листовка и етикет на български език и се предлагат в аптечната мрежа у нас.

2.3. Проучване за наличие на анаболни андрогенни стероиди в хранителни добавки, използвани в спорта.

Проведени са хроматографски и спектрометрични аналитични изследвания на **23** проби ХД за идентифициране на анаболни стероиди в тях. Установено е, че повече от половината ХД (52,2%) съдържат необявени анаболни стероиди (таблица 4). Най-често има наличие на едно андрогенно лекарство, но в една от пробите (№ 71) са очертани спектрите на 9 други стероидни вещества.

Проведените химични анализи за наличие на **метандиенон** показват, че *пробите с № 3, 9, 19, 28 и 32* съдържат метандиенон в количества съответно **9,75 mg/табл.; 10,03 mg/табл.; 1,67 mg/табл.; 9,67 mg/табл. и 9,80 mg/табл.** Това крие потенциална опасност, тъй като спортистът, който приема една от тези 5 ХД, може да даде положителна допинг проба. Друг аспект на риска при употреба на такива стероидни ХД, обявени като протеинови и аминокиселинни продукти, е наслагването на стероидните нежелани ефекти в организма. Без съмнение при такива условия се създава риск от свръхдозирание и токсичност. Последствията от приема на тези ХД могат да бъдат сериозни както за здравето, така и за спортната кариера на състезателя. Необявените анаболни стероиди в изследваните ХД са 52,2%. Известно е, че метандиенонът е забранен за употреба от WADA. Цитираните 5 ХД, съдържащи метандиенон, са закупени от интернет сайтове. Те са обозначени с етикет на български език, но с невярно съдържание, непоказващо наличието на стероид. Добавките са с обявен сходен състав от соев протеинов изолат 150 mg, суроватъчен протеинов концентрат 150 mg и аминокиселини 75 mg.

Таблица 4. Резултати от химическия анализ на проби на ХД, изследвани за наличие на андрогенни анаболни стероиди*

Проба №	Пик с време на задържане, мин.	Открита необявена съставка
3	20,08	Methanediene
9	20,01	Methanediene
11	24,50	Methyltestosterone
18	20,05	Oxandrolone
19	21,1	Methanediene
24	25,1	Methyltestosterone
28	20,7	Methanediene
31	43,4	Oxandrolone
32	20,05	Methanediene
67	32,8	Stanozolol
69	34,7	Methenolone
71	9 пика на в-ва със стероидна структура	Boldenon, Androstenedione и още 7 неидентифицирани вещества със стероидна структура

* В пробите № 42, 66, 68, 70, 72-78 (11 на брой от общо 23 изследвани проби) не са открити андрогенни стероиди.

В пробите № 11 и 24 е идентифицирано съдържанието на друга необявена съставка - **метилтестостерон** с определени концентрации съответно за пробата **2,25 mg/табл.** и **1,12 mg/табл.** В хроматограмите на двете проби в RT: 24,541 – 25,116 се появява пик със съответните площи, идентичен по време на задържане и площ с този на метилтестостерона. На етикета на ХД на проба № 11 е упоменато, че съдържа верижно разклонени аминокиселини – левцин, изолевцин и валин, и е посочена дозировка 5 таблетки 2-3 пъти дневно. На етикета на ХД на проба № 24 е посочено, че съдържа L-карнитин в концентрация 500 mg, а в действителност има и метилтестостерон в малки количества.

Резултатите от хроматографския анализ на *пробите 18 и 31* (поръчани по американски интернет сайт) показват, че има наличие на необявен **оксандролон** в количества, съответно за проба от **4,93 mg/капс.** и **1,79 mg/табл.** На хроматограмите на двете проби в RT: 43,285 – 43,419 минути се появява пик със съответната площ, идентичен с този на оксандролона. Наименованията на двете хранителни добавки не присъстват в онлайн списъка на FDA за блокирани и изтеглени от пазара ХД. На опаковките и на двата продукта има обявен сходен състав: изолат от соев протеин, аминокиселини и йохимбин.

В една от *пробите с № 67* е доказано наличието на **станозолол** в количество **4,56 mg/капс.**, необявено от производителя. Според данните от опаковката съставът е ВСАА, ацетил L-карнитин и

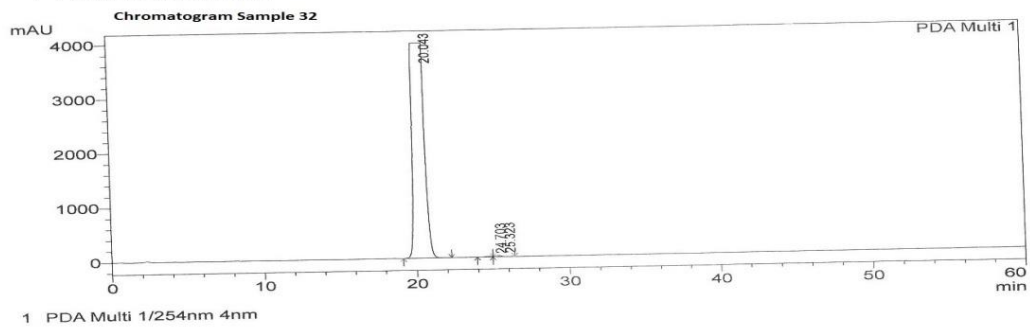
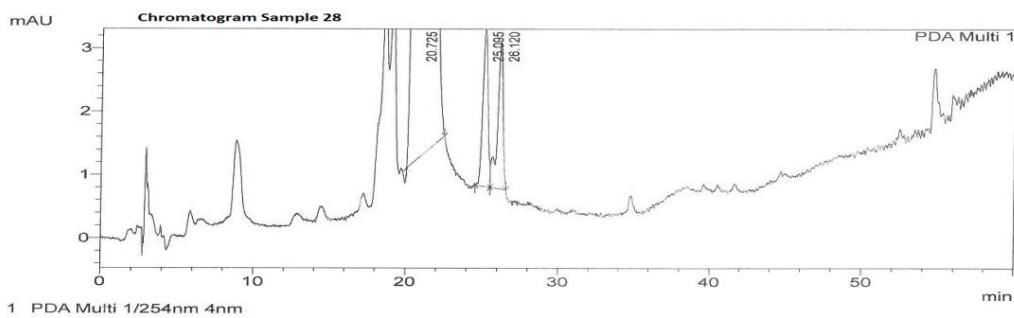
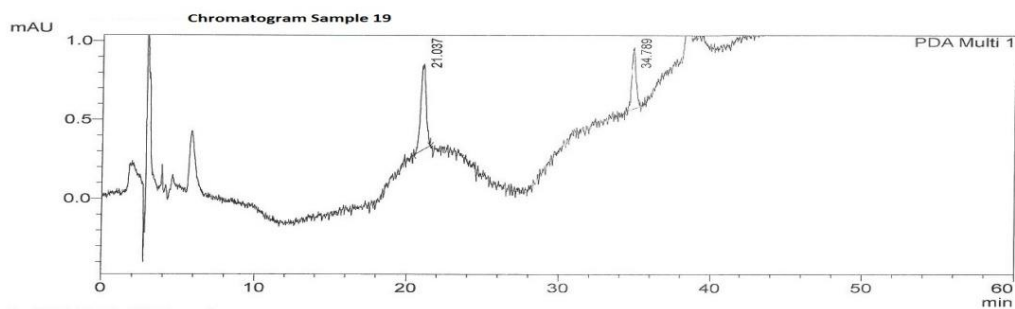
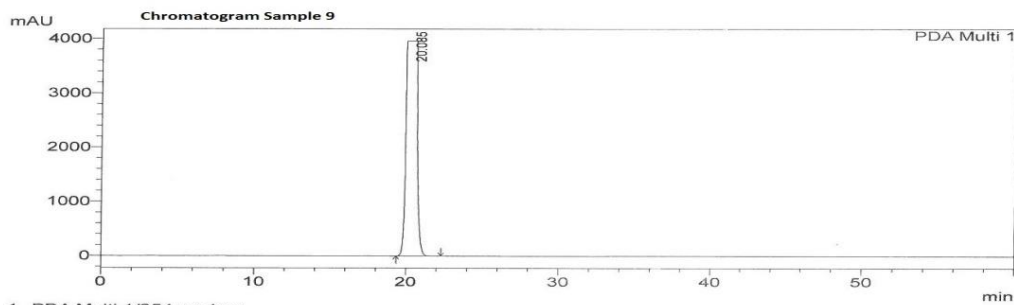
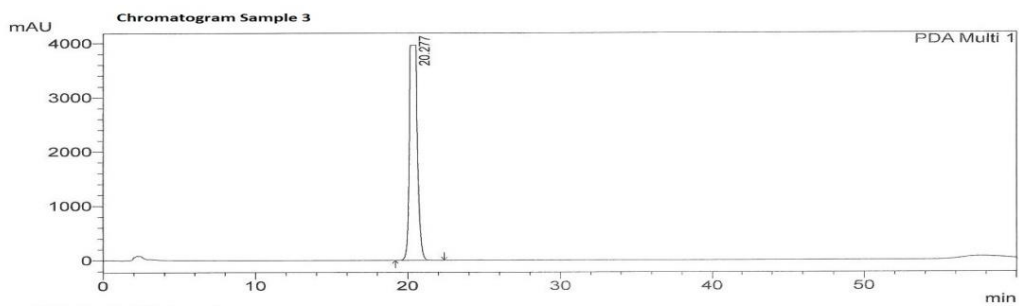
див ям; отбелязано е, че продуктът съдържа 100% природни вещества. В *проба № 69* установихме наличие на друг необявен стероид - **метенолон** в количество **2,80 mg/табл.** На хроматограмата в RT: 34,843 се появява пик със съответната площ, идентичен с този на метенолона. На етикета на продукта е описано, че ХД се състои от суроватъчен протеинов концентрат 150 mg; изолевцин 100 mg, валин 100 mg, левцин 25 mg и трибулус терестрис 25 mg. Метенолонът има сравнително висока цена и сравнително по-рядко се използва като съставка на хранителни добавки.

Интерес представляват и данните за наличие на повече от едно необявено вещество. При изследване на *проба № 71* открихме наличие на два андрогенни стероида: **болденон и андростенолон**, както и още седем други неидентифицирани стероидни съставки. Тези данни показват, че мас-спектрометрията позволява идентифициране на вещества даже от нечисти по състав продукти. За отбелязване е, че на етикета на ХД е посочено, че добавката съдържа ВСАА (изолевцин 100 mg, валин 100 mg и левцин 25 mg), екстракт от гроздово семе 75 mg, ехинацея 200 mg, ко-ензим Q10 25 mg, джинджифил 100 mg: информацията е за 100% природен продукт без странични ефекти. В действителност, наличието на две стероидни вещества може да доведе до положителна допинг проба и временно прекратяване на спортната кариера. Наличието на други нелекарствени стероидни аналози с неопределена токсичност също може да повиши здравния риск.

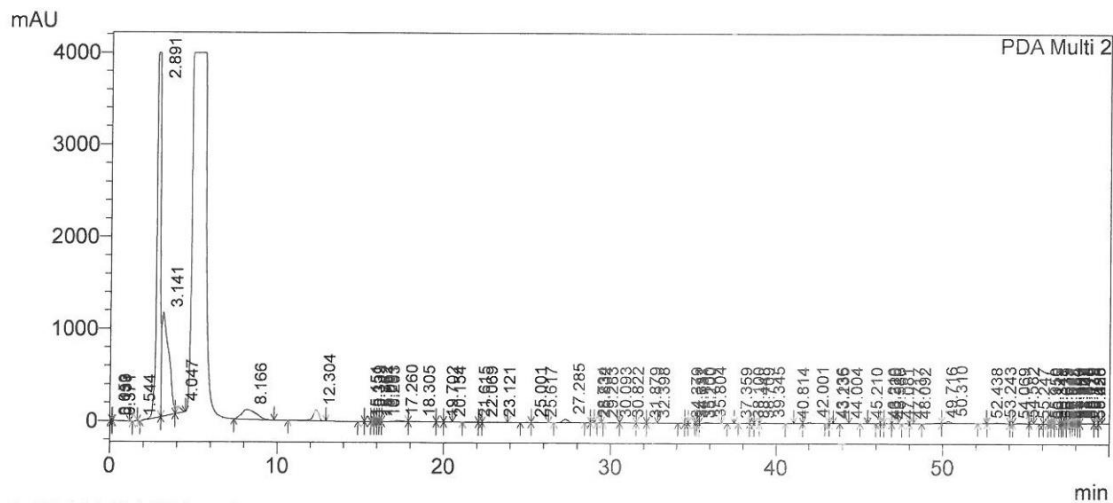
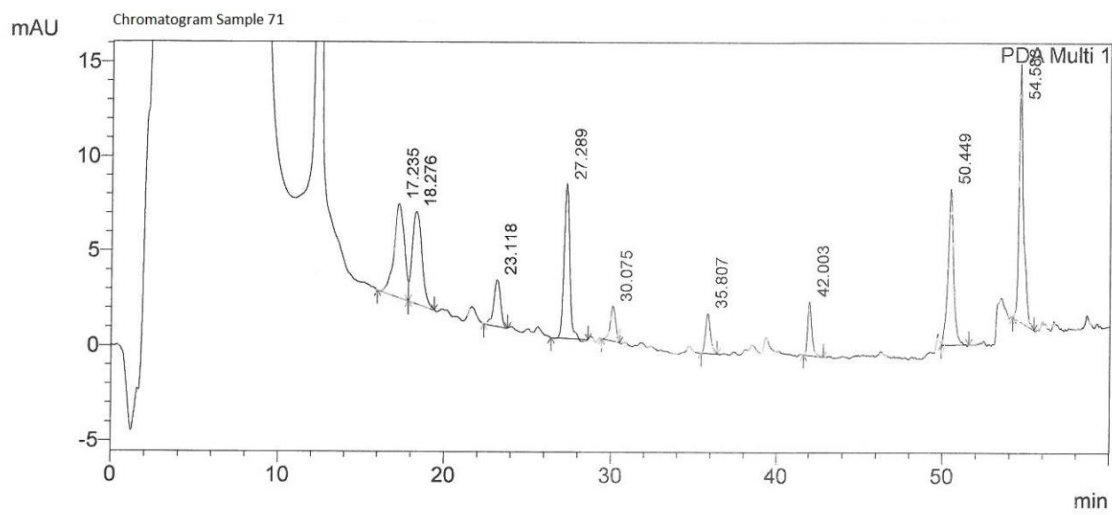
Резултатите за останалите изследвани 11 проби показват, че те не съдържат анаболни стероидни вещества, доказано на базата на спектралните им характеристики от хроматографските и спектрометрични анализи.

Хроматограмите и MS-спектрите на някои от изследваните проби са представени на фигурите 20 - 23. На фигура. 20 са отразени спектралните характеристики на *пробите № 3, 9, 19, 28 и 32*, за които се доказва наличие на **метандиенон**. Хроматограмата на *проба № 71* е представена на фигура 21. Вижда се, че има наличие на спектри, аналогични на тези на стероидите **болденон и андростенолон**, както и сигнали за наличие на още 7 химически неидентифицирани стероидни вещества. Спектралните данни за трите използвани в експерименталната постановка *аналитични стандарти* на лекарствени продукти са отразени на фигура 22 и фигура 23.

Резултатите от проведените химични анализи на ХД, предназначени за спортисти, потвърждават формулираната от нас хипотеза за възможно наличие на необявени стероидни съставки. Получените данни показват, че повече от половината изследвани ХД (52,2%) съдържат андрогенни анаболни стероиди, чийто брой в една проба може да бъде повече от един. Всички открити стероиди в състава на изследваните ХД са забранени от WADA.



Фиг. 20. Хроматограми на проби № 3, 9, 19, 28, 32, в които е установено наличие на Метандиенон в RT: 20,277 - 21,037.

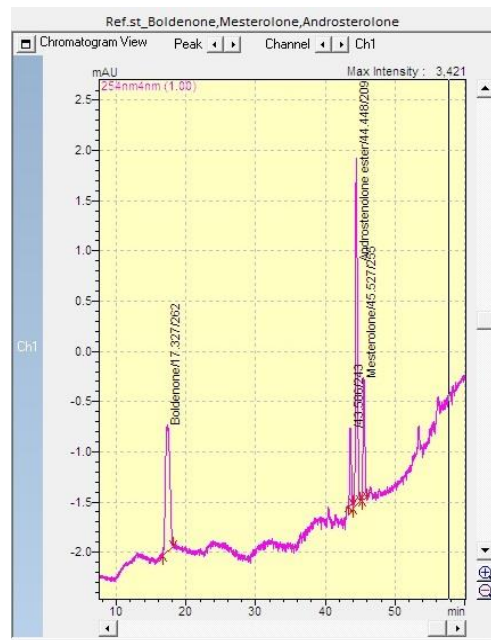


- 1 PDA Multi 1/254nm 4nm
- 2 PDA Multi 2/235nm 4nm

Фиг. 21. Хроматограма на проба № 71, в която е установено наличие на болденон, андростенолон и още 7 неидентифицирани вещества със стероидна структура.



Фиг. 22. Хроматограма на Метандиенон с време на задържане RT:20,813.



Фиг. 23. Хроматограма на Болденон и Андростенолон с време на задържане съответно RT: 17,327 и RT: 44,448.

2.4. Проучване за наличие на НСПВЛ и хипнотични лекарства в хранителни добавки

Повишеният интерес към хранителните добавки за стави от страна на възрастните пациенти и спортистите ни насочи към изясняване съответствието им по състав с обявената информация на продукта. С помощта на аналитични методи е идентифицирано отсъствието или наличието на три НСПВЛ - диклофенак, ацеклофенак и ацетилсалицилова киселина в 10 ХД.

Хранителните добавки за подобряване на съня и постигане на седация също заемат голям процент от общите продажби на ХД в света и у нас. В нашето проучване изследвахме 10 ХД с оповестен сънотворен ефект, за наличие на необявени съставки на лекарствени продукти със специален режим на отпускане.

Пробите на ХД, изследвани за наличие на НСПВЛ (диклофенак, ацеклофенак и ацетилсалицилова киселина) и хипнотични вещества (бромазепам, алпразолам, клоназепам, зопиклон, цинолазепам и диазепам), не показаха наличие на кое да е от лекарствата, сравнявайки техните UV-спектри с тези на стандарта. Резултатите от двете проучвания за присъствие на лекарствена субстанция в ХД са негативни. Изхождайки от насочеността на аналитичните проучвания за оценка на риска от приемане на ХД, съдържащи лекарствени продукти, тези резултати не са представени в изложението на автореферата.

2.5. Изпитване на хранителни добавки за съдържание на олово.

Съдържанието на Pb(II) в хранителните добавки има особено значение предвид токсичността на тежкия метал и увреждането на живите организми. Оловото е сред най-токсичните елементи, като най-голяма част от него се поглъща със зарамена вода или храна. Механизмът на токсичността на оловото е подобен на този на другите тежки метали и се свежда предимно до увреждане на много ензимни системи поради високия му афинитет към SH-групите на сяра-съдържащите аминокиселини и ензими. При хронично въздействие оловото биокумулира в меките тъкани и костите, уврежда нервната система и причинява хематологични нарушения. Това са причините, поради които се контролира наличието на замърсяване с олово на въздуха, водата и храните.

От 2016 г. е определено максималното регламентирано съдържание на олово в ХД с допустима стойност до 3 mg/kg за таблетка или капсула, приемайки, че това малко количество не може да причини оловно отравяне и да има неблагоприятни последици за човешкия организъм. Независимо от това, медицинските експерти изразяват позицията, че необявените съставки на тежки метали в ХД представляват сериозен риск за здравето на потребителите. Това обосновава необходимостта от анализ на ХД за наличие на олово и други тежки метали.

Таблица 5. Съдържание на олово в 35 проби на ХД, определено спектрометрично*

Проба №	Форма	Съдържание Pb, mg/kg в табл./капсула	Проба №	Форма	Съдържание Pb, mg/kg в табл./капсула
1	Таблетки	0,33	19	Таблетки	0,01
2	Таблетки	0,03	20	Таблетки	0,06
3	Таблетки	0,13	21	Таблетки	0,07
4	Таблетки	0,19	22	Таблетки	0,02
5	Таблетки	0,03	23	Таблетки	0,03
6	Таблетки	0,07	24	Таблетки	0,007
7	Таблетки	0,04	25	Таблетки	0,06
8	Таблетки	0,33	26	Таблетки	0,007
9	Таблетки	0,04	27	Таблетки	<0,004
10	Таблетки	0,03	28	Таблетки	0,02
11	Таблетки	0,02	29	Таблетки	0,02
12	Таблетки	0,04	30	Таблетки	1,39
13	Таблетки	0,02	31	Таблетки	<0,004
14	Капсули	0,05	32	Таблетки	0,005
15	Таблетки	0,05	33	Капсули	0,09
16	Капсули	0,05	34	Капсули	0,04
17	Таблетки	0,12	35	Таблетки	0,07
18	Капсули	0,01	-	-	-

* максималната допустима стойност за олово в таблетка или капсула е 3 mg/kg

Резултатите от спектрометричното изследване за наличие на олово в **35** проби ХД (таблица 5) показват, че металът, който се съдържа в дозираната лекарствена форма, не надвишава максималната допустима стойност за олово в таблетка или капсула (3 mg/kg). Определени са сравнително ниски стойности на олово при почти всички проби. Само при една от тях (№ 30) концентрацията на олово е **1,39** mg/kg. Хранителната добавка е закупена от магазин за спортна суплементация. Представява фет бърнер за изгаряне на мазнини и намаляване на теглото. Дозата на прием на добавката е три пъти на ден по две таблетки. Ежедневният прием на такива ХД за продължителен период от време може да се окаже вреден за потребителите. Специално внимание се обръща на риска от малките дози метален ксенобиотик при продължително приемане, защото причиняват мутация на герминативните клетки и увреждат репродуктивната система, водещо до стерилитет или уродства при плода. В този смисъл концепцията на медицинските експерти за необходимостта от отсъствие на метални замърсители във въздуха, водата и храната е най-сигурният път за опазване на природата и човешкото здраве.

V. ИЗВОДИ И ЗАКЛЮЧЕНИЯ

1. Продажбите на хранителни добавки (ХД) у нас следват световната тенденция за повишено търсене от потребителите. За периода 2012-2017 г. пазарът на хранителни добавки в България се оценява на 128 млн. продадени опаковки, като на всеки три опаковки лекарства се продава една опаковка добавка.

2. Проведеното гнездово анкетно проучване показва, че 69% от потребителите у нас приемат ХД. Най-продаваните ХД са за подпомагане на имунната система и стомашно-чревния тракт (41,5%), следвани от добавките за подобряване на костната и ставна функция (12,9%), а най-малко се ползват ХД за еректилна дисфункция (0,9%).

3. Анкетното проучване за употреба на ХД в професионалния спорт показва, че спортистите приемат средно по 7 добавки дневно. При почти всички видове спорт се отчита завишена и подобна употреба на креатин, протеини и аминокиселини (до 100%). Профилът и честотата на приемане на ХД са почти еднакви при спортистите по вдигане на тежести, бокс, кик-бокс, джудо, футбол и ММА атлети, докато при тенисисти, культуристи, карате, трибой и лека атлетика е налице рестриктивна употреба.

4. Резултатите показват, че спортистите си набавят ХД предимно от магазините за здравословни храни, спортни магазини или чрез интернет (90,91%). Поради това знанието за нежеланите ефекти, взаимодействията и безопасността на ХД е обект на внимание само при 68.18% от анкетираните.

5. Оценката на здравния риск от проведените аналитични изследвания за наличие на необявени съставки показва, че:

- при 20% от изследваните 10 ХД за редукция на телесното тегло е наличен **сибутрамин**. В една от пробите сибутраминът е в количество 20 mg/табл, което е два пъти повече от дневната доза на лекарствения продукт (10 mg/ден).

- 70% от 20 ХД за еректилна дисфункция, които анализирахме съдържат **силденафил, тадалафил и варденафил**. Количеството силденафил в една от пробите е 116,55 mg/табл., което надвишава съдържанието на лекарствения продукт (100 mg/табл.).

- в 52,2% от изследваните от нас 23 ХД, използвани в спорта се съдържат анаболни андрогенни стероиди. Пробите съдържат **метандиенон, метилтестостерон, оксандролон, станозолол, метенолон, болденонил и андростенолон**. В една от пробите е открито наличие на **болденон и андростенолон** и наличие на 7 неидентифицирани вещества със стероидна структура. Всички налични анаболни стероиди в състава на изследваните ХД са забранени от Световната анти-допинг агенция (WADA).

- В състава на ХД, предназначени за подобряване на съня и на костно-ставната функция не са намерени необявени съставки.

6. Резултатите от спектрометричното определяне на съдържанието на олово в 35 ХД показват, че пробите съдържат само следи от метала, които са значително под регламентираната максимално допустима стойност от 3 mg/kg.

7. Проведените лабораторни изследвания спрямо аналитичните стандарти потвърждават хипотезата за наличие на необявени съставки в ХД, с което се компрометира тяхната безопасност. При 26% от **108** изследвани проби има наличие на необявени съставки, като 59% от ХД не отговарят на изискванията за етикетиране и не би следвало да бъдат разпространявани и продавани.

VI. ПРЕПОРЪКИ

Въз основа на резултатите и изводите от проведеното проучване могат да се направят някои предложения и препоръки към отговорните институции и професионални общности у нас за повишаване изискванията за контрол и регистрация на ХД, за да се гарантира тяхната безопасност.

Адресати: Министерство на здравеопазването, Регионални здравни инспекции, БАБХ, Изпълнителната агенция по лекарствата, Медицинските Университети, Национален Център за обществено здраве и анализи, Български лекарски съюз и Български фармацевтичен съюз.

1. Да се разработи стратегия за регулация и безопасна употреба на хранителните добавки с насоченост за осигуряване на здравето на населението. Наличието на нерегламентирани и необявени съставки в масово продаваните на пазара ХД налага въвеждането на задължителен и строг аналитичен и информационен контрол върху ХД и по-специално по отношение на категориите, предназначени за употреба при затлъстяване, еректилна дисфункция и с цел подобряване на постиженията в спорта.

2. Да се подготвят препоръчителни мерки за укрепване на системите за сигнализиране и регистрация на нежеланите ефекти на ХД и да се подобри информираността на потребителите по отношение на ползата и риска от употреба на ХД. За тези цели регламентираната продажба на определени категории ХД предимно чрез аптечната система у нас може в значителна степен да повиши информираността на потребителите за безопасността на продуктите, тяхната пригодност за индивида и правилния им избор.

3. Да бъдат усъвършенствани дейностите и отговорностите на здравните институции и професионални общности във връзка с подготовката на кадри в тази област и създаване на съвременна и адекватна визия за хранителните добавки като продукти с възможна полза и рискове, в унисон с научните основи на балансираното хранене.

VII. ПРИНОСИ

1. Научно-теоретични приноси

- ❖ Извършен е критичен преглед на научната, нормативна и професионална литература в областта на оценката на риска при употреба на хранителни добавки, съдържащи необявени съставки.
- ❖ Направено е първото комплексно, целенасочено и задълбочено проучване за оценка на риска при употреба на хранителни добавки, съдържащи необявени съставки. Проведен е многоаспектен анализ на пазара на ХД в България; оценка за най-често използваните ХД в спорта; лабораторни анализи на 108 ХД за наличие на необявени лекарствени и други съставки, които водят до необходимостта от задължителен аналитичен и информационен контрол и елиминиране на рисковите фактори.

2. Приноси с приложен характер

- ❖ Използван е комплекс от специфични медико-социални, лабораторно-аналитични и статистически методи и програми за охарактеризиране на употребата и състава на ХД. Алгоритъмът на изследване позволява систематично проучване за изясняване на профила на безопасност на предлаганите продукти чрез използването на методи, които дават прецизна оценка на риска и рисковите фактори.
- ❖ Формулирани са препоръки към отговорните институции и професионални здравни общности за повишаване на изискванията към качествения и количествения контрол на ХД и разработване на стратегия за тяхната безопасна и рационална употреба.

3. Приноси с потвърдителен характер

- ❖ Пазарното проучване установи, че има нарастване на относителния дял на потреблението и на интернет продажбите на ХД, което се потвърждава от данните на световни анализаторски агенции и анализи.
- ❖ Доказано е, че професионалните спортисти не са запознати в достатъчна степен за здравните рискове при употреба на някои ХД, независимо от информираността им за анти-допинг програмите и превенцията.

VIII. Списък на публикациите във връзка с дисертационния труд

- 1. Е. Петкова**, Ст. Георгиев, Р. Стайнова, Ст. Иванова, К. Иванов. Хранителни добавки, използвани в спорта - ползи и рискове. *Научни трудове на Съюза на учените в България - Пловдив*, Серия Г. Медицина, фармация и дентална медицина 2017; 21: 220-224.
- 2. Е. Petkova**, K. Ivanov, S. Ivanova, S. Gueorguiev, R. Staynova. Most sold categories food supplements in Bulgarian pharmacies – research. *Indian Journal of Medical Research and Pharmaceutical Sciences* 2017; 4(5): 15-18.
- 3. Е. Petkova**, K. Ivanov, St. Ivanova, St. Gueorguev. The use of dietary supplements by professional athletes. *Biomedical Research* 2018; 29(9): 1953-1955. IF 0,219.
- 4. Е. Petkova-Gueorguieva**, I. Getov, K. Ivanov, St. Ivanova, St. Gueorguiev, V. Getova, A. Mihaylova, V. Madzharov. Regulatory Requirements for Food Supplements in the European Union and in Bulgaria. *Folia Medica*. 2018; in press.

IX. Участия в научни прояви във връзка с дисертационния труд

- 1. Е. Petkova**, St. Gueorguiev, St. Ivanova, K. Ivanov. Food supplements used in sport- benefits and risk. *VII Международна конференция на младите учени*, Пловдив, 15-16.06.2017 г. (постер).
- 2. Е. Petkova**, I. Getov, K. Ivanov, St. Gueorguiev, A. Stoimenova, St. Ivanova, R. Staynova, V. Madzharov. The use of dietary supplements by athletes in Bulgaria- benefits and risk. *XIII International Medical Scientific Conference for Students and Young Doctors (MDSC)*, Pleven, October 9-14/ 2017 (poster presentation).
- 3. Е. Петкова**, К. Иванов, Ст. Георгиев, Ст. Иванова, Р. Стайнова, В. Гетова, В. Маджаров. Оценка на пазара на хранителните добавки в България. *III-та Национална Конференция „Фармацевтични технологични дни“*, 13-15 октомври 2017г, Цигов чарк (доклад).
- 4. Е. Petkova-Gueorguieva**, K. Ivanov, St. Ivanova, St. Gueorguiev, R. Staynova, V. Madzharov, A. Mihaylova. ICP-MS Analysis of food supplements for lead content (Pb). *15 години фармация в Медицински университет*, Пловдив, 01-03.06.2018 г. (постер презентация).

БЛАГОДАРНОСТИ

Изказвам най-искрени благодарности на чл. кор. проф. д-р Стефан Костянев, дмн и проф. д-р Виктория Сарафян, дм, дмн, както и на проф. д-р Людими́л Пейчев, дм, мзм и проф. Маргарита Касърова, дф за гласуваното ми доверие и предоставената възможност за разработване на настоящия дисертационен труд.

Изказвам най-сърдечни благодарности на моите научни ръководители: проф. Илко Гетов, дф и доц. Калин Иванов, дф, както и на гл.ас. Станислава Иванова, дф за напътствията, безрезервната подкрепата, помощта и вниманието, които ми оказаха при подготовката на дисертационния труд.

Изказвам благодарност на проф. Асена Стоименова, дф и Анита Януш, както и на целия екип на Изпълнителната агенция по лекарства за подкрепата и съдействието при извършване на анализите.