

УДК 613.27:615.246.2].001.6

*А.В. Посохова<sup>1</sup>, П.Д. Артеменко<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> Владивостокский государственный медицинский университет (690950 г. Владивосток, пр-т Острякова, 2а),

<sup>2</sup> ООО «Инфамед» (693008 г. Южно-Сахалинск, ул. Ленина, 279)

## **МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ БАЛАНСА МИНЕРАЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ В РАМКАХ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВОК К ПИЩЕ И ЕГО АПРОБАЦИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ ЭНТЕРОСОРБЕНТОВ**

*Ключевые слова: баланс минералов, энтеросорбенты.*

Авторами разработан и апробирован в биологических экспериментах метод исследования баланса эссенциальных минеральных элементов при потреблении животными минерального и органического энтеросорбентов. Результаты исследований свидетельствуют о влиянии повышенных доз энтеросорбентов на баланс минералов и о необходимости включения исследований баланса минералов в схему медико-биологического тестирования биологически активных добавок к пище.

В настоящее время разработчиками биологически активных добавок к пище большое внимание уделяется компонентам, обладающим сорбционными свойствами. Между тем включение указанных компонентов в состав биологически активных добавок или использование энтеросорбентов в изолированном виде представляет потенциальную опасность повышенной безызбирательной элиминации из организма отдельных биологически активных веществ, в том числе эссенциальных макро- и микроэлементов [10].

На опасность в данном плане сорбирующих веществ, полученных с помощью нанотехнологий, указывают Г.Г. Онищенко и В.А. Тутельян [3]. Однако отдельные авторы, являющиеся идеологами энтеросорбции, отрицают эту опасность, считая уровни сорбции и выведения энтеросорбентами биологически активных веществ столь незначительными, что данный аспект их свойств при медико-биологическом тестировании может не учитываться [9]. Возникает вопрос: стоит ли в таком случае использовать энтеросорбенты для выведения нежелательных, в том числе токсичных, элементов из организма, если их эффект столь незначителен?

По нашему мнению, учет влияния энтеросорбентов на баланс биологически активных веществ необходим при определении их доз, характеристике направленности ионного обмена минеральных энтеросорбентов, и в конечном счете — для оценки их безопасности. Кроме того, на основании результатов балансовых исследований минералов возможно обеспечить указания в регистрационных удостоверениях о том, источником каких именно минеральных элементов являются те или иные биологически активные добавки.

Предлагаемый нами метод исследования баланса минеральных элементов может быть реализован в

Посохова Анна Владимировна — канд. мед. наук, ассистент кафедры гигиены ВГМУ; тел.: 8 (4232) 45-18-36; e-mail: gigenapetrov@mail.ru.

двух модификациях. Первая предполагает экспериментальные исследования только с целью изучения баланса минералов. Вторая модификация — совмещение балансовых и токсиколого-гигиенических исследований. При апробации метода нами использовалась вторая модификация.

**Материал и методы.** В рамках субхронического 3-месячного эксперимента на белых крысах-самцах выделен так называемый обменный период. Как правило, он приходился на 2-й месяц, в течение которого животные 4 раза помещались на сутки в индивидуальные обменные клетки емкостью 3 л, позволявшие проводить точный учет потребляемого корма, воды, а также количества кала и мочи. В общей пробе экскрементов каждого животного, полученной путем тщательного смешивания, в начале и конце обменного периода, а также на 10-е и 20-е сутки определялись концентрации ряда минералов (как правило, эссенциальных). Затем средняя суточная величина из четырех результатов умножалась на 30 — количество суток в обменном периоде. По результатам измерений концентраций минералов в корме и питье определялось их потребление. Таким образом, исследователь получал данные об общем содержании минеральных элементов в потребленном месячном рационе (на «входе»), количестве их в экскрементах (на «выходе») со средней поправкой на элиминацию через кожные покровы и легкие (3%). Разница содержания на «входе» и «выходе» составляла показатель баланса минералов и обозначалась знаком «+» в случае преобладания «входа» или знаком «-» при преобладании «выхода».

В рамках токсиколого-гигиенических экспериментов по обоснованию безопасности цеолита Чеховского месторождения Сахалинской области и органического энтеросорбента гумата натрия по описанному выше методу изучался баланс в организме животных 10 эссенциальных минеральных элементов: кальция, фосфора, магния, железа, меди, марганца, цинка, кобальта, йода и селена.

В эксперименте с цеолитом наблюдались три группы животных:

- контроль — общевиварная физиологически полноценная диета [2];
- опыт 1 — общевиварная диета с добавлением цеолита в количестве, обеспечивающем суточную дозу 70 мг на 1 кг массы тела животных (условно адекватная доза);

- опыт 2 — общевиварная диета с добавлением цеолита в количестве, обеспечивающем суточную дозу 350 мг на 1 кг массы тела животных (агравированная доза).

Исходная масса тела крыс экспериментальных групп к началу обменного периода составляла в данном эксперименте  $202,43 \pm 14,16$ ,  $211,16 \pm 12,38$  и  $208,74 \pm 15,66$  г в контроле и опытах соответственно.

Исследование баланса минералов при потреблении животными гумата натрия проведено по идентичной методической схеме. В субхроническом эксперименте наблюдались четыре группы крыс-самцов:

контроль — животные, содержащиеся на общевиварной диете;

опыт 1 — животные, содержащиеся на общевиварной диете, модифицированной в пересчете на сухую массу 25 мг гумата натрия на 1 кг массы тела (интерполяция скирининговой дозы для человека);

опыт 2 — животные, содержащиеся на общевиварной диете, модифицированной в пересчете на сухую массу 50 мг гумата натрия на 1 кг массы тела (удвоенная скирининговая доза для человека);

опыт 3 — животные, содержащиеся на общевиварной диете, модифицированной в пересчете на сухую массу 200 мг гумата натрия на 1 кг массы тела (агравированная доза).

Средняя исходная масса тела животных составляла к началу обменного периода  $193,24 \pm 14,05$ ,  $196,58 \pm 13,91$ ,  $194,57 \pm 10,14$  и  $147,80 \pm 14,52$  г по указанным группам соответственно.

Измерение концентраций эссенциальных минеральных элементов выполнялось в лаборатории «Феджи-Центр», аккредитованной в системе Госстандарта России. Полученные в экспериментах данные подвергнуты статистической обработке с применением критерия Стьюдента [1].

**Результаты исследования и обсуждение полученных данных.** Прежде всего необходимо отметить, что характер баланса по таким катионам, как кальций, фосфор и магний был полностью идентичен результатам, полученным А.М. Паничевым и др. [6] при определении состава копролитов парнокопытных животных, получавших близкое по составу питание. То есть можно считать, что в наших исследованиях еще раз подтверждена особенность данных цеолитов по их влиянию на обмен кальция, фосфора и магния.

Достоверно установлен факт положительного баланса кальция в организме животных, потреблявших цеолит Чеховского месторождения. Причем отдача цеолитом этого элемента была несколько выше при агравированной дозе (без статистически доказанного различия).

По фосфору зарегистрирован отрицательный баланс при потреблении цеолита в обеих дозах. Агравированная доза обусловила здесь достоверное различие баланса не только с контролем, но и с опытом 1, то есть эффект элиминации цеолитом фосфора был в этой дозе выше, чем в адекватной. Усугуб-

лялся негативный эффект и тем, что отрицательный баланс фиксировался в период прироста массы тела, когда интенсивно осуществлялись пластические процессы, в которых фосфору принадлежит важная роль (табл. 1).

По данным литературы [7], в рационе современного человека в соотношении «кальций — фосфор» значительно преобладает последний, что может привести к вторичному дефициту кальция, наслаивающемуся на его первичный дефицит. В отдельных случаях это соотношение достигает 1:3,5—4,5 на фоне нормального содержания кальция в рационе. Авторами указанной работы поднят вопрос не только о необходимости радикальной коррекции рационов питания по данному показателю, но и создания специализированных продуктов питания, особенно для детского контингента, с нормальным соотношением кальция и фосфора.

Мы оцениваем установленный факт как явление отрицательного плана, так как реальное соотношение этих минералов в современных рационах питания — проблема другого порядка. По нашему мнению, заключения по результатам экспериментов должны быть ориентированы на рационы, близкие к оптимальным. То есть цеолит в агравированной дозе признается нами как опасный, недопустимый фактор.

Полностью идентичные описанным для фосфора были показатели баланса магния, что усугубляет опасность агравированной дозы цеолита. По другим минеральным элементам различия между опытными и контрольными наблюдениями были не существенны. Вместе с тем отсутствие достоверных различий фиксировалось на фоне незначительно выраженного отрицательного баланса железа, марганца, цинка, кобальта и йода и положительного баланса меди и селена. Кроме того, степень положительного или отрицательного баланса указанных минералов (кроме меди) была более выражена при потреблении животными агравированной дозы цеолита (табл. 1). То есть цеолит, во-первых, несомненно, участвует в обмене перечисленных минералов, во-вторых, его доза может определять степень этого участия.

Результат эксперимента с гуматом натрия не был прогнозируемым. Если учесть, что в период 30-суточного содержания животных в обменных клетках продолжалось увеличение их массы тела, свидетельствующее о преобладании анаболических процессов над катаболическими, то следовало ожидать положительного баланса веществ, которые участвуют в тех или иных пластических процессах [8]. Однако по всем исследуемым элементам в данном опыте зарегистрирован отрицательный баланс, то есть количество минералов на «выходе» превышало их количество на «входе». Причем отрицательный баланс был зафиксирован и в контроле (табл. 2). Подобный результат, по нашему мнению, может быть детерминирован двумя факторами:

Таблица 1

Баланс эссенциальных минеральных элементов у животных при потреблении цеолита Чеховского месторождения Сахалинской области

Минерал	Показатель	Группа экспериментальных животных		
		контроль (n=11)	опыт 1 (n=10)	опыт 2 (n=11)
Кальций	На «входе», мг	77,16±3,02	77,60±2,41	77,38±2,50
	На «выходе», мг	76,57±2,23	75,98±3,16	75,63±3,52
	Баланс, мг	+0,59±0,04	+1,62±0,07 <sup>1</sup>	+1,75±0,08 <sup>1</sup>
	Баланс, %	+0,76	+2,09	+2,26
Фосфор	На «входе», мг	126,43±5,12	125,89±4,76	126,34±5,30
	На «выходе», мг	127,05±4,87	126,61±5,03	127,48±5,26
	Баланс, мг	-0,62±0,04	-0,72±0,06	-1,14±0,06 <sup>1, 2</sup>
	Баланс, %	-0,49	-0,57	-0,90
Магний	На «входе», мг	31,94±2,28	31,67±1,70	31,79±2,56
	На «выходе», мг	32,12±1,63	31,94±2,05	32,38±2,02
	Баланс, мг	-0,18±0,03	-0,27±0,04	-0,49±0,03 <sup>1, 2</sup>
	Баланс, %	-0,56	-0,85	-1,54
Железо	На «входе», мг	1,731±0,203	1,718±0,140	1,729±0,133
	На «выходе», мг	1,743±0,136	1,726±0,169	1,742±0,148
	Баланс, мг	-0,012±0,003	-0,007±0,002	-0,013±0,003
	Баланс, %	-0,69	-0,41	-0,75
Медь	На «входе», мг	0,261±0,018	0,264±0,024	0,265±0,020
	На «выходе», мг	0,258±0,016	0,260±0,022	0,261±0,026
	Баланс, мг	+0,003±0,0004	+0,004±0,0005	+0,004±0,0004
	Баланс, %	+1,15	+1,52	+1,51
Марганец	На «входе», мг	52,68±3,70	51,84±3,42	52,48±2,93
	На «выходе», мг	52,81±3,96	52,03±4,01	52,70±3,18
	Баланс, мг	-0,13±0,03	-0,19±0,04	-0,22±0,05
	Баланс, %	-0,25	-0,37	-0,42
Цинк	На «входе», мг	1,588±0,202	1,579±0,163	1,591±0,112
	На «выходе», мг	1,596±0,150	1,590±0,146	1,605±0,108
	Баланс, мг	-0,008±0,002	-0,011±0,003	-0,014±0,003
	Баланс, %	-0,50	-0,70	-0,88
Кобальт	На «входе», мг	6,05±0,32	6,09±0,23	6,01±0,31
	На «выходе», мг	6,09±0,28	6,14±0,25	6,06±0,23
	Баланс, мг	-0,04±0,005	-0,05±0,004	-0,05±0,004
	Баланс, %	-0,66	-0,82	-0,83
Йод	На «входе», мг	8,57±0,54	8,61±0,38	8,45±0,40
	На «выходе», мг	8,62±0,45	8,67±0,42	8,51±0,39
	Баланс, мг	-0,05±0,005	-0,06±0,005	-0,06±0,004
	Баланс, %	-0,58	-0,70	-0,71
Селен	На «входе», мг	6,36±0,45	6,42±0,34	6,38±0,29
	На «выходе», мг	6,29±0,36	6,34±0,30	6,29±0,38
	Баланс, мг	+0,07±0,008	+0,08±0,007	+0,09±0,010
	Баланс, %	+1,10	+1,25	+1,41

<sup>1</sup> Различия статистически значимы по сравнению с контролем.

<sup>2</sup> Различия статистически значимы по сравнению в группой «опыт 1».

Таблица 2

Баланс эссенциальных минеральных элементов у животных при потреблении различных доз гумата натрия

Минерал	Показатель	Группа экспериментальных животных			
		контроль (n=13)	опыт 1 (n=12)	опыт 2 (n=14)	опыт 3 (n=13)
Кальций	На «входе», мг	78,96±2,95	78,24±3,02	76,77±2,87	76,44±2,69
	На «выходе», мг	79,98±3,46	79,35±4,28	77,93±3,68	78,84±3,52
	Баланс, мг	-1,02±0,06	-1,11±0,08	-1,16±0,07	-2,40±0,11 <sup>1, 2, 3</sup>
	Баланс, %	-1,28	-1,40	-1,49	-3,04
Фосфор	На «входе», мг	130,80±6,08	132,12±6,83	129,61±5,36	131,78±6,90
	На «выходе», мг	131,42±5,95	132,80±8,11	130,24±6,54	132,52±7,04
	Баланс, мг	-0,62±0,06	-0,68±0,07	-0,63±0,05	-0,74±0,06
	Баланс, %	-0,47	-0,51	-0,48	-0,56
Магний	На «входе», мг	33,28±2,74	33,52±3,20	32,80±2,86	33,12±2,61
	На «выходе», мг	33,42±3,01	33,70±4,28	32,96±4,02	33,32±3,82
	Баланс, мг	-0,14±0,02	-0,18±0,03	-0,16±0,02	-0,20±0,03
	Баланс, %	-0,42	-0,54	-0,49	-0,60
Железо	На «входе», мг	1,687±0,118	1,720±0,125	1,677±0,130	1,689±0,112
	На «выходе», мг	1,723±0,136	1,748±0,152	1,702±0,119	1,719±0,126
	Баланс, мг	-0,036±0,005	-0,028±0,004	-0,025±0,005	-0,030±0,0,04
	Баланс, %	-2,09	-1,60	-1,47	-1,25
Медь	На «входе», мг	0,242±0,026	0,243±0,024	0,238±0,021	0,239±0,017
	На «выходе», мг	0,244±0,020	0,245±0,022	0,241±0,019	0,240±0,026
	Баланс, мг	-0,002±0,0005	-0,002±0,0004	-0,003±0,0004	-0,001±0,0003
	Баланс, %	-0,82	-0,82	-1,24	-0,42
Марганец	На «входе», мкг	50,25±4,16	50,24±3,90	50,09±4,32	50,13±4,02
	На «выходе», мкг	50,72±4,83	50,81±4,16	50,61±3,83	50,58±3,67
	Баланс, мкг	-0,47±0,06	-0,57±0,06	-0,52±0,05	-0,45±0,06
	Баланс, %	-0,93	-1,12	-1,03	-0,89
Цинк	На «входе», мг	1,620±0,134	1,624±0,125	1,620±0,131	1,620±0,112
	На «выходе», мг	1,638±0,116	1,644±0,128	1,636±0,119	1,634±0,108
	Баланс, мг	-0,018±0,003	-0,020±0,003	-0,016±0,002	-0,014±0,0,002
	Баланс, %	-1,10	-1,22	-0,98	-0,86
Кобальт	На «входе», мкг	6,10±0,28	6,15±0,20	6,13±0,31	6,09±0,23
	На «выходе», мкг	6,12±0,35	6,16±0,23	6,14±0,28	6,10±0,25
	Баланс, мкг	-0,02±0,004	-0,01±0,003	-0,01±0,003	-0,01±0,003
	Баланс, %	-0,33	-0,16	-0,16	-0,16
Йод	На «входе», мкг	8,49±0,36	8,51±0,29	8,38±0,32	8,32±0,30
	На «выходе», мкг	8,55±0,41	8,59±0,38	8,46±0,30	8,44±0,33
	Баланс, мкг	-0,06±0,009	-0,08±0,008	-0,08±0,009	-0,12±0,006 <sup>1, 2, 3</sup>
	Баланс, %	-0,70	-0,93	-0,95	-1,42
Селен	На «входе», мкг	6,10±0,21	6,18±0,15	6,08±0,24	6,06±0,18
	На «выходе», мкг	6,12±0,28	6,19±0,22	6,09±0,17	6,08±0,20
	Баланс, мкг	-0,02±0,004	-0,01±0,003	-0,01±0,003	-0,02±0,004
	Баланс, %	-0,13	-0,12	-0,16	-0,33

<sup>1</sup> Различие статистически значимо по сравнению с контролем.<sup>2</sup> Различие статистически значимо по сравнению с группой «опыт 1».<sup>3</sup> Различие статистически значимо по сравнению с группой «опыт 2».

1. Реализация биорегуляторной функции гумата натрия, заключающейся в направленном воздействии (как и вообще гуминовых веществ) на биологические структуры: повышении элиминации физиологически неоправданного излишка тех или иных структур или задержке элиминации при их дефиците [5]. То есть в данном случае можно предположить выведение гуматом натрия излишка поступающих с кормом минеральных элементов. Данное предположение вполне оправданно, если учесть, что корм давался животным без каких-либо ограничений;

2. Ошибка в определении содержания минералов на «входе» и «выходе», которая могла быть обусловлена особенностями фиксации общей массы корма и экскрементов на протяжении 30-суточного содержания животных в обменных клетках, а также несколько завышенной величиной элиминации минералов через кожу и легкие.

Вместе с тем условия сбора анализируемых сред, методы определения в них минеральных элементов, принятая величина выведения минералов через кожу и легкие во всех группах животных были полностью идентичны. Таким образом, если указанная ошибка и могла повлиять на абсолютные результаты, то не могла быть барьером для достижения главной цели — получения сравнительных характеристик баланса минералов у опытных и контрольных животных (то есть для решения вопроса о влиянии различных доз гумата натрия на степень элиминации эссенциальных минеральных элементов).

Не исключая некоторого вмешательства в общие результаты наблюдений второго фактора, мы склонны в объяснении характера полученных данных считать решающим первый. Значения отрицательного баланса для фосфора, магния, железа, марганца, меди, цинка, кобальта и селена оказались настолько низкими, что их можно отнести к погрешностям опыта. По большинству элементов не отмечено и существенных различий между группами наблюдений, что свидетельствует об отсутствии отягощающей элиминации при потреблении различных доз гумата натрия (в т.ч. и аггравированной). Вместе с тем при аггравированной дозе гумата натрия отрицательный баланс кальция был достоверно более выражен в сравнении с другими группами наблюдений. Близкие результаты были получены при исследовании баланса йода. Так же как и для кальция, уровень отрицательного баланса этого элемента оказался достоверно выше контроля и данных по группам «опыт 1» и «опыт 2» при аггравированной дозе (табл. 2).

Следует указать, что особенности воздействия на баланс кальция и йода только аггравированной дозы гумата натрия не могут свидетельствовать об опасности его по данному критерию. Нереальная аггравированная доза используется в токсиколого-гигиенических экспериментах прежде всего для определения мишеней особого влияния изучаемых

факторов [4]. В данном случае этой мишенью является негативное вмешательство в баланс указанных выше эссенциальных элементов. Весьма важно, что реальные дозы, которые могут быть экстраполированы на человека, не оказали влияния на балансовые показатели кальция и йода.

Таким образом, приведенные данные, на наш взгляд, убедительно свидетельствуют в пользу необходимости включения в методическую схему медико-биологического тестирования биологически активных добавок-энтеросорбентов балансовых исследований эссенциальных минералов, а в будущем, при соответствующем научном обосновании, — и других биологически активных веществ.

#### Литература

1. Мерков А.М., Поляков Л.Е. Санитарная статистика. Л.: Медицина, 1974. 384 с.
2. Об утверждении нормативов затрат кормов для лабораторных животных в учреждениях здравоохранения: приказ Министерства здравоохранения СССР № 1179 от 10 октября 1983 г.
3. Онищенко Г.Г., Тутельян В.А. О концепции токсикологических исследований, методологии оценки риска, методов идентификации и количественного определения наноматериалов // Вопросы питания. 2007. Т. 76, № 6. С. 4–8.
4. Определение безопасности и эффективности биологически активных добавок к пище: методические указания по методам контроля 2.3.2.721–98.
5. Орлов Д.С. Свойства и функции гуминовых веществ // Гуминовые вещества в биосфере / под ред. Д.С. Орлова. М.: Наука, 1993. С. 16–23.
6. Паничев А.М. Литофагия в мире животных и человека. М.: Наука, 1990. 224 с.
7. Спиричев В.Б., Белаковский М.С. Фосфор в рационе современного человека и возможные последствия не сбалансированного с кальцием потребления // Вопросы питания. 1989. № 1. С. 4–9.
8. Справочник по диетологии / Тутельян В.А., Самсонов М.А., Беляя Е.А. и др. М.: Медицина, 2002. 544 с.
9. Хотимченко Ю.С., Кропотов А.В. Применение энтеросорбентов в медицине // Тихоокеанский медицинский журнал. 1999. № 2. С. 84–89.
10. Шабров А.В., Дадали В.А., Макаров В.Г. Биохимические основы действия микрокомпонентов пищи. М.: Авваллон, 2003. 184 с.

Поступила в редакцию 28.05.2008.

#### THE METHOD OF RESEARCH OF BALANCE OF MINERAL ELEMENTS IN THE MEDICAL AND BIOLOGICAL TESTING OF BIOLOGICALLY ACTIVE ADDITIVES AND ITS APPROBATION IN EXPERIMENTAL RESEARCH OF THE ENTEROSORBENTS

A.V. Posohova<sup>1</sup>, P.D. Artemenko<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Vladivostok State Medical University (2a Ostryakova Pr. Vladivostok 690002 Russia), <sup>2</sup>Open Company "Infamed" (279 Lenina St. Yuzhno-Sakhalinsk 693008 Russia)

Summary — Authors develop and approve the method of research of balance of the essential mineral elements at consumption by animals' mineral and organic enterosorbents in biological experiments. The results of research testify to influence of the raised doses of the enterosorbents on the mineral balance and necessity of the inclusion of researches of balance of minerals for the circuit of medical and biologic testing of the biologically active additives.

**Key words:** balance of minerals, enterosorbents.