

УДК 544.723.21:546.817:664.87:57.084

**ИССЛЕДОВАНИЕ СОРБЦИИ И ВЫВЕДЕНИЯ СВИНЦА
БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫМИ ДОБАВКАМИ К ПИЩЕ
В ОПЫТАХ *IN VITRO* И *IN VIVO***

**Е.А. Степанова¹, В.Ф. Урьяш¹, А.А. Силкин¹, В.В. Логинов¹,
А.Е. Груздева², Н.В. Гришатова², А.Н. Туманова³**

¹ Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского
Россия, 603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23

² ЗАО «БИОФИТ»

Россия, 603000, Нижний Новгород, Московское шоссе, 1 А

³ Научно-исследовательский институт химии

Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского
Россия, 603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23/5

Поступила в редакцию 20.11.04 г.

Исследование сорбции и выведения свинца биологически активными добавками к пище в опытах *in vitro* и *in vivo*. – Степанова Е.А., Урьяш В.Ф., Силкин А.А., Логинов В.В., Груздева А.Е., Гришатова Н.В., Туманова А.Н. – Изучена сорбция свинца и кадмия энтеросорбентами *in vitro* и выведение свинца *in vivo*. Проведен ряд исследований в модельных условиях по изучению сорбционной способности свинца рядом растительных биологически активных добавок к пище «Биофит». С одним из наиболее эффективных сорбентов («овес-Биофит») проведен эксперимент по сорбции и выведению свинца из организма млекопитающих на примере нелинейных белых крыс-самцов. Спектральный анализ свинца в биологическом субстрате показал, что содержание его в крови и внутренних органах животных, получающих энтеросорбент, достоверно ниже (в 1.5 – 2 раза), чем у животных со стандартным пищевым рационом. Результаты показали отсутствие статистически значимых изменений гематологических и морфологических показателей на всем протяжении эксперимента.

Ключевые слова: тяжелые металлы, энтеросорбенты, биологически активные добавки к пище, сорбция, *in vitro*, *in vivo*.

A study of lead sorption and removal by biologically active food supplements in experiments *in vitro* and *in vivo*. – Stepanova E.A., Ur'yash V.F., Silkin A.A., Loginov V.V., Gruzdeva A.E., Grishatova N.V., Tumanova A.N. – The sorption of lead and cadmium on enterosorbents *in vitro* and lead removal *in vivo* were studied. Several studies of the sorption ability of lead and cadmium with a number of vegetable biologically active food supplements «Biophyt» were carried out under model conditions. With the usage of a most efficient sorbent, namely «Oat-Biophyt», a study of the sorption and removal of lead from mammal bodies was performed on nonlinear white rat males. A spectral analysis of lead in the biological substrate has shown that its content in the blood and internals of these animals who got the enterosorbent is reliably lower (by 1.5 – 2 times) than that in animals having a standard daily diet. As these results demonstrate, no statistically significant changes in hematological and morphophysiological indices in the course of the experiment took place.

Key words: heavy metals, enterosorbents, biologically active food supplements, sorption, *in vitro*, *in vivo*.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема загрязнения окружающей среды и организма человека тяжелыми металлами привела к необходимости детального изучения их поступления, распределения и накопления в организме и механизмов токсичности. Поэтому актуальной проблемой является поиск эффективных энтеросорбентов, способных снизить концентрацию тяжелых металлов в организме человека до допустимого уровня. При этом необходимым условием является «мягкое», безопасное (в отличие, например, от активированных углей (Портной и др., 1984)), но в то же время эффективное воздействие энтеросорбента на организм человека и возможность регулярного профилактического применения.

Ранее нами (Урьяш и др., 1999, 2002) была исследована *in vitro* способность биологически активных добавок к пище (БАД), выпускаемых ЗАО «БИОФИТ» (г. Нижний Новгород), сорбировать свинец и кадмий из растворов их солей в условиях, воспроизводящих кислотность и время пребывания БАД в желудочно-кишечном тракте человека. Было показано, что сорбционная способность БАД различна и колеблется от 13 до 94 мас. %.

Целью данной работы являлось исследование способности БАД «Биофит» сорбировать свинец *in vivo*. Поэтому было проведено изучение сорбции свинца одним из эффективных энтеросорбентов – «овес-Биофит» и выведения указанного тяжелого металла из организма млекопитающих.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

БАД получены в ЗАО «БИОФИТ» (г. Нижний Новгород) путем криогенного измельчения высушенного в вакууме растительного сырья (Пат. 2099978 РФ; Пат. 2110194 РФ). Разработанная технология переработки позволяла практически полностью сохранить весь комплекс биологически активных веществ собранного растительного сырья. Такие продукты предназначены для лечебно-профилактического питания взрослых и детей.

В качестве сорбента была выбрана добавка «овес-Биофит» (Урьяш и др., 1999, 2002), показавшая в опытах *in vitro* высокую сорбционную способность (81 ± 1 мас. % свинца). Исследования проведены на белых нелинейных крысах самцах массой 180 – 250 г, содержащихся в обычных условиях вивария по 10 – 11 особей в клетке со свободным доступом к воде и пище. Эксперимент проводился на трех группах животных: группа I – контрольная (получала только нормальный пищевой рацион); группа II – получала нитрат свинца и нормальный пищевой рацион; группа III – терапевтическая (получала нитрат свинца и биологически активную добавку «овес-Биофит»). Содержание свинца в зерновом овсе и криопорошке «овес-Биофит», определенное атомно-эмиссионным методом спектрального анализа (Спектральный..., 1994), не превышало ПДК (0.5 мг/кг, СанПиН 2.3.2.560-96).

Исходя из параметров токсичности нитрата свинца, каждому животному из групп II и III ежедневно в 1 мл дистиллированной воды вводилось внутривенно 10 мг $Pb(NO_3)_2$, что составляет приблизительно 0.1 ЛД₅₀ (Вредные..., 1988). Терапевтическая группа III предварительно получала около 5.14 мг криопорошка овса в 1 мл дистиллированной воды, что соответствует ранее установленной эф-

ИССЛЕДОВАНИЕ СОРБЦИИ И ВЫВЕДЕНИЯ СВИНЦА

фективной дозе (Урьяш и др., 1998), а токсикант вводился через 20 минут после введения криопорошка. Контрольная группа I получала 1 мл дистиллированной воды внутривентрально. Животных кормили через 2 часа после воздействия. Введение указанных веществ производили 5 дней в неделю в течение 17 дней.

На 2-, 8-, 14- и 17-е сутки были проведены исследования гематологических показателей. Определяли содержание гемоглобина, количеств эритроцитов и лейкоцитов с помощью унифицированных методов (Лабораторные..., 1987).

На 5-, 9-, 13-, 16-е сутки были проведены исследования морфофизиологических (Методические..., 1980) и поведенческих (Лабораторные..., 1987) показателей. Из морфофизиологических характеристик определяли массу, температуру тела, частоту дыхания. Из поведенческих показателей исследовали двигательную активность (метод «открытое поле») и изменение работоспособности (метод «подвешивание»).

На 17-е сутки была отобрана кровь у шести животных в каждой из трёх групп, выделены печень и почки для определения содержания свинца атомно-эмиссионным спектральным методом (Спектральный..., 1994).

Статистическая обработка результатов была проведена с помощью непараметрических критериев (Гланц, 1999). Использовали критерии Манна-Уитни при попарном сравнении групп животных и критерий Крускала-Уоллиса для сравнения трех групп. Уровень значимости $p \leq 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На основе спектрального анализа установлены количества свинца в изучаемом биологическом субстрате (табл. 1). Сравнение с литературными данными показывает, что содержание свинца в крови, печени и почках у контрольной группы находится в пределах фоновых концентраций (Скальный, 1997).

Методом Крускала-Уоллиса установлено, что имеет место достоверное ($p \leq 0.05$) различие содержания свинца во всех трех группах животных по изученным органам и крови. Критерий Манна-Уитни показал достоверное ($p \leq 0.05$) различие содержания свинца в

органах и ткани животных в группах II и I, III и I, а также II и III. При этом у животных, получавших «овес-Биофит», содержание свинца в крови, печени и почках было в 2 – 2.5 раза меньше, чем у животных, содержащихся на стандартном рационе. Таким образом, применение данного энтеросорбента дает выраженный терапевтический эффект.

Обращает на себя внимание тот факт, что содержание свинца в почках животных в группах II и III в 8 – 11 раз больше, чем в крови и печени (см. табл. 1). Это свидетельствует о накоплении свинца в почках.

Статистическая обработка результатов показала отсутствие достоверных отличий по всем морфофизиологическим, поведенческим и гематологическим по-

Таблица 1
Содержание свинца во внутренних органах и тканях
подопытных животных

Варианты опытов	Содержание свинца в изученных органах и ткани		
	Кровь, мг/л	Печень, мг/кг	Почки, мг/кг
Группа I	0.30±0.036	0.500±0.036	0.37±0.03
Группа II	3.26±0.29	4.65±0.26	37.67±2.29
Группа III	1.53±0.09	2.20±0.15	17.83±1.14

казателям между всеми тремя группами животных (табл. 2, 3). Этот факт согласуется с поставленной нами задачей о выборе вводимой дозы токсиканта, так как мы моделировали хроническое поступление свинца в организм человека, работающего на производстве, а не острое отравление. Отсутствие достоверных отличий жизненных показателей подтвердило правильность выбранной нами дозы токсиканта.

Таблица 2

Результаты исследования гематологических показателей
подопытных животных

Варианты опытов	Лейкоциты $10^9/\text{л}$			
	2-е сутки	8-е сутки	14-е сутки	17-е сутки
Группа I	10.60±1.27	14.20±0.85	10.60±1.11	8.80±1.11
Группа II	15.20±0.99	11.80±1.19	8.30±0.87	8.40±0.60
Группа III	12.70±0.81	11.00±0.72	10.40±1.21	9.20±0.53
	Гемоглобин г/л л			
	2-е сутки	8-е сутки	14-е сутки	17-е сутки
Группа I	114.30±2.45	116.70±2.41	107.00±3.94	89.36±6.27
Группа II	109.60±3.47	101.30±1.72	106.00±5.76	105.90±5.74
Группа III	110.50±3.44	110.80±3.69	100.00±1.13	85.18±4.94
	Эритроциты $10^{12}/\text{л}$			
	2-е сутки	8-е сутки	14-е сутки	17-е сутки
Группа I	7.726±0.112	6.884±0.186	5.277±0.129	4.331±0.209
Группа II	7.408±0.097	6.457±0.100	5.358±0.313	5.555±0.312
Группа III	7.312±0.138	6.321±0.120	5.187±0.304	5.137±0.297

Таблица 3

Физиологические и поведенческие показатели подопытных животных

Варианты опытов	Вес животных, г			
	5-е сутки	9-е сутки	13-е сутки	16-е сутки
Группа I	205±10.28	202±7.56	216±8.87	225±9.83
Группа II	180±9.52	204±7.54	233±6.47	240±6.59
Группа III	176±4.98	195±7.5	212±8.32	219±8.33
	Частота дыхания (в 1 мин.)			
	5-е сутки	9-е сутки	13-е сутки	16-е сутки
Группа I	136±3.98	136±1.08	142±7.8	140±2.5
Группа II	126±0.72	134±0.94	136±3.76	164±7.76
Группа III	108±6.94	132±2.94	146±3.8	138±8.34
	Температура, °C			
	5-е сутки	9-е сутки	13-е сутки	16-е сутки
Группа I	34.70±0.31	34.50±0.54	36.10±0.23	36.70±0.25
Группа II	35.50±0.36	34.90±0.47	36.70±0.31	36.00±0.26
Группа III	36.10±0.49	33.50±0.28	35.60±0.46	36.60±0.32
	Тест «открытое поле» (сумм.), OE*			
	5-е сутки	9-е сутки	13-е сутки	16-е сутки
Группа I	53.00±8.49	40.00±7.83	26.00±4.71	34.00±7.51
Группа II	43.00±8.39	41.00±7.56	34.00±11.31	27.00±4.50
Группа III	43.50±6.99	36.00±7.51	47.00±10.18	20.00±3.39
	Тест «подвисяние», с			
	5-е сутки	9-е сутки	13-е сутки	16-е сутки
Группа I	22.30±3.36	10.00±1.63	10.00±1.92	9.00±1.57
Группа II	23.40±5.04	8.00±1.44	7.00±1.85	10.00±2.26
Группа III	15.00±6.64	8.00±1.75	10.00±1.64	12.00±2.61

* OE – число пересечений сторон квадрата в единицу времени.

ИССЛЕДОВАНИЕ СОРБЦИИ И ВЫВЕДЕНИЯ СВИНЦА

Таким образом, биологически активную добавку к пище «овес-Биофит» можно рекомендовать в качестве перспективного энтеросорбента по отношению к соединениям свинца и предположить его возможное сорбирующее действие применительно к другим токсикантам, содержащим тяжелые металлы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Вредные химические вещества. Неорганические соединения элементов I – IV групп: Справ. изд. / Под ред. В.А. Филова. Л.: Химия, 1988. 512 с.

Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1999. 460 с.

Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. В.В. Меньшикова. М.: Медицина, 1987. 364 с.

Методические рекомендации по использованию поведенческих реакций животных в токсикологических исследованиях для целей гигиенического нормирования. Киев: Радянська Україна, 1980. 158 с.

Пат. 2099978 РФ, МКИ 6A23L1/30. Биологически активная пищевая добавка.

Пат. 2110194 РФ, МКИ 6A23L1/29. Способ получения пищевой добавки из растительного сырья.

Портной О.А., Николаев В.Г., Фридман Л.И. Исследование сорбции биологических веществ активированными углеродными волокнами // Химико-фармац. журн. 1984. №3. С. 360 – 364.

Скальный А.В. Свинец и здоровье человека: Пособие для врачей и студентов медицинских вузов. Иваново: Изд-во Иван. гос. мед. акад., 1997. 36 с.

Спектральный анализ чистых веществ / Под ред. Х.И. Зильберштейна. СПб.: Наука, 1994. 336 с.

Урьяш В.Ф., Груздева А.Е., Плетнева Н.Б., Маслова Е.А., Потемкина Е.В., Туманова А.Н. Реабилитация организма человека продуктами «Биофит» после воздействия техногенных загрязнений // Контроль и реабилитация окружающей среды: Тез. докл. Междунар. симп. Томск: Изд-во «Спектр», 1998. С. 158, 159.

Урьяш В.Ф., Груздева А.Е., Плетнева Н.Б., Маслова Е.А., Потемкина Е.В., Демарин В.Т. Изучение процесса сорбции свинца и кадмия рядом продуктов из растительного сырья // Химия, технология и промышленная экология неорганических соединений. Пермь: Изд-во Перм. гос. ун-та, 1999. Вып. 2. С. 56 – 59.

Урьяш В.Ф., Степанова Е.А., Груздева А.Е., Гришатова Н.В., Демарин В.Т., Туманова А.Н. Криопорошки «Биофит» – эффективные энтеросорбенты тяжелых металлов // Теория практика («ТРАНСТЕХ – 2002»): Тез. докл. I Междунар. науч.-практ. конф. по трансферу технологий в свободных экономических зонах. Тенденции. Гомель: Изд-во Ин-та механики металлполимерных систем им. В.А. Белого НАН Беларуси, 2002. Ч. 1. С. 229 – 233.