

СОДЕРЖАНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ (МЭ) В ШЕРСТИ И КРОВИ КРОЛИКОВ

¹Барашков Г.К., ²Краснова И.А., ²Марисюк А.Р.

¹ГБОУ ВПО ПМГМУ им И.М. Сеченова, Москва, e-mail: barachbig@gmail.com;

²ФГБУ ЦНМВЛ МСХ РФ, e-mail: krasnova-ia1985@mail.ru, marisyuk45@mail.ru

Сравнивали содержание МЭ в шерсти, ЦК и ББФ у кроликов. Результаты анализа оригинальной (грязной) шерсти статистически недостоверны, в отличие от анализа чистой шерсти (ШЧ), ЦК и ББФ. Элементogramмы ШЧ, ЦК и ББФ несопоставимы между собой, что исключает использование анализа шерсти для оценки содержания МЭ в организме животных. Не исключена вероятность использования анализа волос для оценки загрязнения окружающей среды. Полученные данные по содержанию МЭ в крови и ББФ у животных можно использовать для создания банка данных.

Ключевые слова: микроэлементы (МЭ), цельная кровь (ЦК), безбелковый фильтрат (ББФ), шерсть, ИСП-МС

THE CONTENT OF TRACE ELEMENTS (TE) IN THE HAIR AND BLOOD OF RABBITS

¹Barashov G.K., ²Krasnova I.A., ²Marisyuk A.R.

¹GBOU VPO PMGMU them I.M. Sechenov, Moscow, e-mail: barachbig@gmail.com;

²FSBI TSNMVL RF Ministry of Agriculture, e-mail: krasnova-ia1985@mail.ru, marisyuk45@mail.ru

Comparing the content of the ME in the wool, the CC and BBP in rabbits. The analysis of an original (dirty) hair were not statistically significant, in contrast to the analysis of net cher of the (shch) Central Committee and the BBF. Elementogrammy shch, CC and BBP are not comparable to each other, eliminating the use of hair analysis for assessment of the DOE in the body of animals. Not exclude the possibility of using hair analysis to assess pollution approx the environment. The data on the ME content in the blood and BBP in animals can be used to create a data bank.

Keywords: trace elements (DOE), whole blood (CC), protein-free filtrate (BBF), wool, ICP-MS

Современная эпоха нанотехнологий отличается от предыдущих широким использованием редких и редкоземельных металлов с неясным эффектом для живых организмов. Поэтому актуальным становится определение у животных элементного состава для создания банка данных. Для суждения о содержании металлов в организме животных, помимо анализа крови, зачастую используют также анализ волос и шерсти. Считается, что их многоэлементный анализ позволяет диагностировать минеральные дефициты или отравление тяжёлыми металлами. Целью настоящего исследования было сравнение многоэлементного состава шерсти и фракций крови у разных животных с помощью высокочастотного плазменного масс-спектрометра фирмы Перкин-Элмер ICP-MS ELAN DRC-e.

Материалы и методы исследования

Для опытов использовали 12 кроликов из виварии лаборатории, содержащихся в стандартных условиях. Пробы шерсти брали из района холки (вместе с пухом). Пробы крови брали из ушной вены.

Пробоподготовка. Пробу шерсти делили надвое. Первую часть (оригинал ШО) никак не обрабатывали, вторую трижды промывали ацетоном и дистиллированной водой. (чистая ШЧ) по [1]. Обе части затем сушили до постоянной массы на влагомере Sartorius MA-30. Для минерализации в обоих случаях брали навеску около 100 мг сухой шерсти.

Кровь также делили на две части. Первая, объёмом 0,5 мл (цельная кровь ЦК) поступала на минерализацию, во вторую, объёмом 1 мл добавляли 9 мл 5% трихлоруксусной кислоты ТХУ для осаждения белков по [2]. Через 15–20 мин смесь центрифугировали 20 мин (2 тыс. об/мин), центрифугат (безбелковый фильтрат ББФ) поступал на определение.

Примечание: Никаких антикоагулянтов к крови не добавляли.

Минерализацию навесок шерсти и ЦК проводили в микроволновой печи фирмы Berghof MSW-2 по программе P₆ в 5 мл 30% HNO₃ (T₁-130° 8 мин, T₂-155° 5 мин, T₃-170° 12 мин, мощность на всех стадиях 80%).

Минерализат после доведения до 10 мл дист. H₂O поступал на определение.

Определяли 23 МЭ на ИСП-МС ELAN DRC-e. Программное обеспечение прибора выдаёт результаты в ppm (мг/л). Для снижения погрешностей от процедур взятия проб и пробоподготовки целесообразно представлять результаты в виде значений относительно реперного элемента Са по [3]. Поскольку абсолютные цифры содержания разных элементов отличаются на несколько порядков, мы сформировали три разные группы – «макро» – Na, K, Ca, Mg, Fe (10⁻⁶), «микро» – Al, V, Cr, Mn, Ni, Cu, Zn, Se, Rb (10⁻⁹) и «нано» – остальные (10⁻¹¹).

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты анализа шерсти (оригинал и чистая ШО и ШЧ), цельной крови (ЦК) и безбелкового фильтрата (ББФ) приведены в таблица и рис. 1-3.

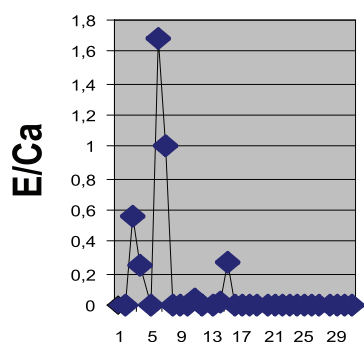
Результаты анализа шерсти (оригинал ШО) и чистой (ШЧ),
крови (ЦК) и безбелкового филтратата (ББФ) (мкг/г)

Элемент	ШО		ШЧ		ЦК		ББФ	
	Среднее	Станд. откл.	Среднее	Е/Са	Среднее	е/Са	Среднее	е/Са
Li	0,439	0,382	0,118	0,00007	0	0	0,00067	0,000006
Be	0,0082	0,024	0,012	0,000007	0	0	0	0
Na	4166,7	5205,3	969,2	0,57	1122,4	8,98	4726	41,67
Mg	984,4	1259,9	417,8	0,24	135,86	1,08	96,6	0,85
Al	29,005	59,95	7,4	0,004	5,31	0,04	0,13	0,0011
K	9863,3	17426	2858,1	1,68	1124,0	8,99	3831,4	33,8
Ca	3992,4	5219,7	1705,8	1,0	125,06	1	113,42	1,0
V	0,56	0,878	0,109	0,00006	0,186	0,0014	0	0
Cr	22,06	27,06	10,54	0,0062	1,884	0,015	0	0
Mn	4,924	7,64	1,82	0,0011	0,151	0,0012	0,016	0,00014
Fe	140,59	170,9	55,78	0,033	657,8	5,26	22,1	0,195
Co	0,181	0,23	0,087	0,00005	0,017	0,00014	0,0015	1,34
Ni	1,006	1,29	0,32	0,0002	0,23	0,0019	0,048	0,00042
Cu	63,97	74,6	33,4	0,02	2,16	0,017	1,63	0,014
Zn	1056,4	1477,1	469,2	0,28	7,71	0,062	7,8	0,07
As	0,29	0,34	0,098	0,00006	0,09	0,0007	0	0
Se	3,78	3,98	1,97	0,0012	1,07	0,0086	0,24	0,002
Rb	7,98	9,75	2,12	0,0012	3,53	0,028	2,82	0,025
Sr	3,99	5,44	1,97	0,0012	0,08	0,00064	0,12	0,001
Ag	0,65	1,45	0,045	0,00003	0,004	0,00003	0	0
Ba	0,976	1,14	0,49	0,00029	0,033	0,0003	0,009	0,00008
Tl	0,0002	0,0008	0	0	0	0	0	0
Pb	1,118	1,28	1,15	0,00067	0,08	0,0006	0,031	0,00027
Na/K			0,43		1,24		1,23	
Zn/Cu			12,4		4,6		5,59	

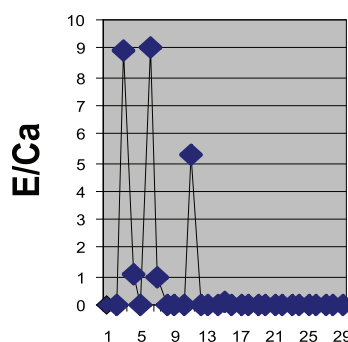
ШЧ макро

ЦК макро

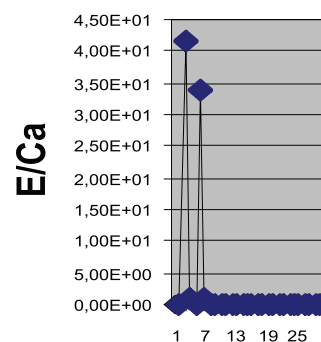
ББФ макро



Na, Mg, K, Ca, Zn



Na, Mg, K, Ca, Fe



Na, Mg, K, Ca

Рис. 1. Диаграммы содержания элементов группы «макро» в чистой шерсти (ШЧ), цельной крови (ЦК) и безбелковом филтратате (ББФ) кроликов

С появлением таких высокочувствительных многоэлементных приборов, как ИСП-ОЭС и ИСП-МС, резко увеличилось число исследований содержания тяжёлых металлов в различных тканях у многих организмов. В связи с этим возникла проблема репрезентативности данных, полученных при

анализе разных объектов. В первую очередь среди таких объектов стали использовать цельную кровь, сыворотку или плазму крови и шерсть или волосы. Почти сразу же было установлено, что получаемые результаты при анализе этих объектов существенно отличаются друг от друга.

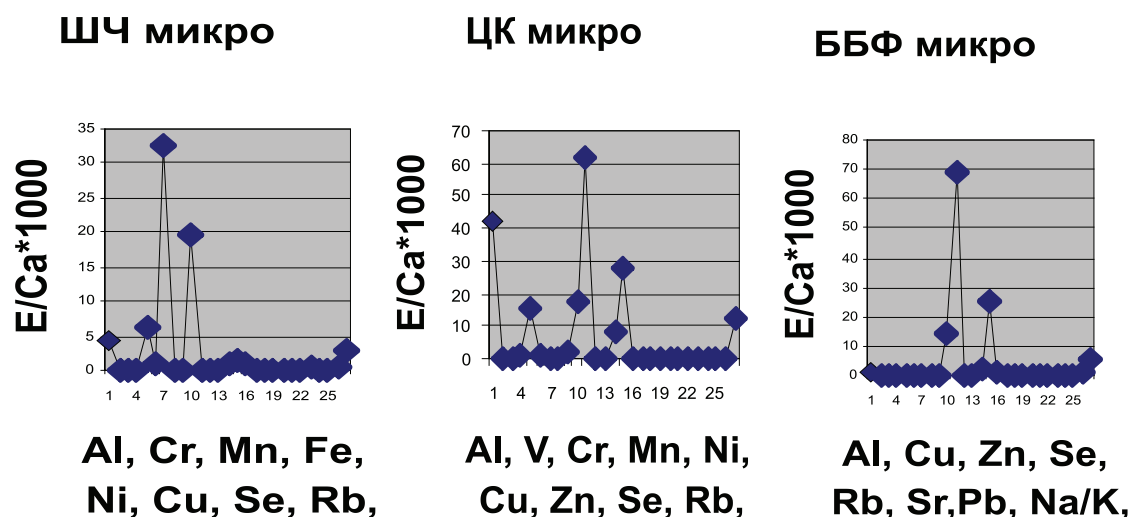


Рис. 2. Диаграммы содержания элементов группы «микро» в ШЧ, ЦК и ББФ кроликов

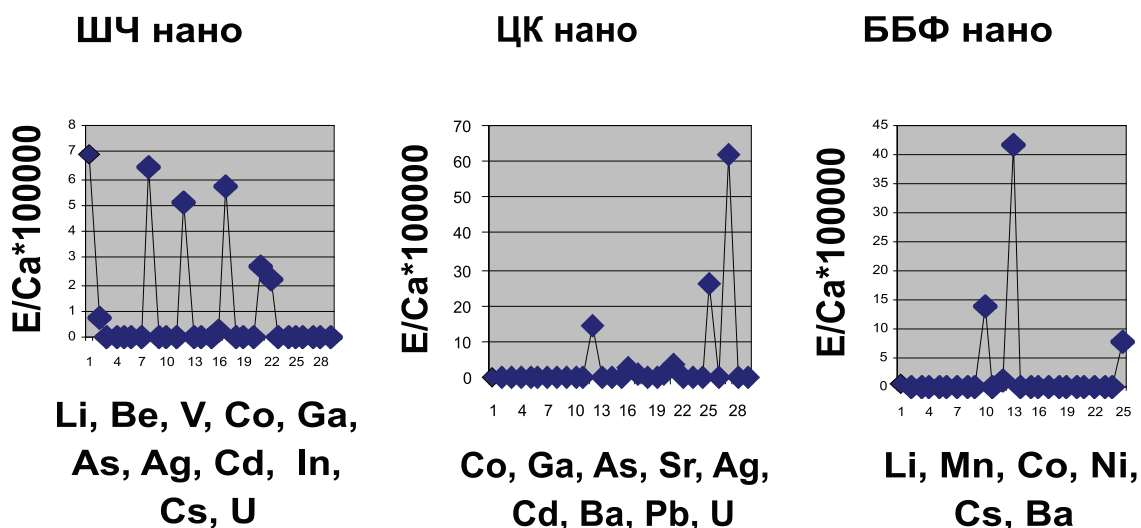


Рис. 3. Диаграммы содержания элементов группы «нано» в ШЧ, ЦК и ББФ кроликов

Из рис. 1–3 видно, что распределение элементов всех трёх групп в шерсти, крови и в безбелковом фильтрате крови, как по содержанию, так и по соотношению различно. Следует отметить, что анализ шерсти у животных на содержание микроэлементов в литературе немного. Например, при анализе молока и шерсти у коров нескольких ферм в Польше выяснилось, что имеется некоторая разница в содержании микроэлементов в зависимости от кормления животных. Концентрации Ca, Mg и P в молоке были выше при интенсивном кормлении по сравнению с пастбищным содержанием. В шерсти высокие концентрации В, Be, Co, Fe, Ge, Li были найдены у животных пастбищного содержания по сравнению с обычной фермой. Не пастбищное содержание сопровождалось высоким содержанием в шерсти Cr, I, Mo, Se, Sn, Sr, V, Zn. У этих

же животных содержание Pb и Cd тоже было выше и в молоке, и в шерсти. Однако уровни содержания токсичных элементов оказались очень низким у всех животных, независимо от условий содержания [4].

В отличие от животных многоэлементные анализы у людей делаются в рутинном режиме сотнями тысяч. Ежегодно публикуется около 10 тысяч статей по разным аспектам роли металлов для медицины. Многие из них используют волосы как объект для оценки состояния организма человека при диспансеризации и для установления правильного диагноза. В этом смысле анализы разных объектов животных представляются очень важными, так как волосы человека и шерсть животных принципиально – одно и то же. В медицинской литературе роль анализа волос и ногтей оценивается неоднозначно. Например, в 1983г появилась

статья, что анализы волос у людей представляют собой «грабёж, который может быть опасен» [5]. К такому же выводу пришли аналитики при анализе одних и тех же проб волос в 13 разных лабораториях. Они заключили, что коммерческое использование анализа волос для диагностики не имеет научного обоснования, экономически расточительно и незаконно [6]. Сравнение содержания тяжёлых металлов в волосах и в тканях тела оказалось несопоставимым [7]. Американская Медицинская ассоциация выступает против химического анализа волос как показателя для терапии и сообщает, что такой анализ даёт бездоказательные данные и потенциально может представлять мошенничество [8].

Однако дальнейшие исследования показали, что имеется некоторая связь изотопных соотношений с географическим регионом. У населения разных регионов оно незначительно отличается [9]. Исследования нашли статистически значимые различия между здоровыми людьми и людьми с аутизмом, рассеянным склерозом и слабоумием [10]. Отмечены некоторые различия у умственно отсталых подростков и при старческом слабоумии по содержанию Pb, Zn, Al [11].

Многоэлементные анализы различных тканей у животных и человека будут иметь всё возрастающее значение по мере вовлечения редких и редкоземельных металлов в ходе хозяйственной деятельности человечества. Пора начинать создание банка данных по содержанию микроэлементов у разных домашних животных в географически разных регионах при различных условиях содержания.

Как объект анализа, кератиновые придатки кожи в виде шерсти, волос и ногтей могут дать оценку загрязнения окружающей среды. Также можно допустить вероятность некоторой связи содержания тяжёлых металлов 6 и 7 периодов в волосах с возможностью отравления. Однако для этого требуются дополнительные исследования.

Авторы благодарят зам директора ЦВНМЛ Г.В. Иванову за помощь в проведении этого исследования.

Выводы

1. Поскольку стандартное отклонение результатов анализа оригинальной шерсти (ШО) почти по всем элементам превышает среднее значение, эти результаты непригодны для использования.

2. Результаты анализов чистой шерсти (ШЧ), цельной крови (ЦК) и безбелкового фильтрата (ББФ) статистически достоверны и применимы для целей анализа.

3. Элементограммы шерсти и крови по составу и соотношению элементов несопоставимы между собой, что исключает использование других объектов, кроме крови, для характеристики многоэлементного состава организма.

4. Не исключена вероятность использования анализа волос для оценки загрязнения окружающей среды.

5. Полученные данные по трём исследованным объектам могут быть использованы для создания банка данных по содержанию МЭ у животных.

Список литературы

1. МУК 4.1.1483-03. Методические указания по определению химических элементов в биологических средах и препаратах методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой. – М.: Гос.сан.-эпид.норм. РФ, Минздрав РФ, 2003. – 56 с.
2. Кристиан Г. Аналитическая химия. – т. 2. – М.: Бинном, 2009. – С. 303.
3. Барашков Г.К., Основы медицинской бионеорганики. – М., 2007. – ЧеРо, 287.
4. Gabryszuk M., Stoniewski K., Sakowski T. Macro- and microelements in milk and hair of cows from conventional vs. organic farms // *Animal Science Papers and Reports*. – 2008. – №26(3). – С. 199-209.
5. Brody J. Article about hair analysis clinics. – *New York Times*, 1983. – October 26.
6. Barrett S. Commercial hair analysis: Science or scam? 1985. *JAMA*, 254:1041-1045.
7. Teresa M., Vasconcelos S.D., Tavares H.M. Trace element concentrations in blood and hair of young apprentices of a technical-professional school. 1997, *Sci. Total Environ.* October 20; 205(2-3):189-99.
8. Hair analysis: A potential for medical abuse. Policy number H-175.995, (Sub. Res. 67, I-84; Reaffirmed by CLRPD Rep. 3 – I-94).
9. Steenhuysen J. Hair analysis offers new crime-fighting clues. Reuters. Retrieved, 2008-09-22.
10. Holmes A.S., Blaxill M.F., Haley B.E. Reduced levels of mercury in first baby haircuts of autistic children. – 2003, *Int. J. Toxicol.* Jul-Aug; 22(4):277–85.
11. Barlow PJ al. Trace metal abnormalities in long-stay hyperactive mentally handicapped children and agitated senile demented. – 1986, *J.R. Soc.Med.*, Oct;79(10):581-3.