

## ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФРУКТОВОГО СОКА, ОБОГАЩЕННОГО ЖЕЛЕЗОМ И ВИТАМИНОМ С

*Л.А. Мельникова, В.Г. Цыганков, И.А. Жукова, И.В. Жебракова, С.В. Балашова, А.А. Журня*

Проведены исследования фруктового сока для детского питания, обогащенного железом, определено влияние внесенного микронутриента на гематологические и биохимические показатели и обменные процессы лабораторных животных. Показана возможность использования продукта для профилактики железодефицитных состояний.

### Введение

Дефицит железа встречается почти у 30% населения планеты и является причиной широкого распространения скрытых и явных форм железодефицитной анемии (ЖДА) [1, 2]. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), распространенность ЖДА в разных странах мира неодинакова и в значительной степени зависит от эколого-производственных, климато-географических условий проживания, а также от пола и возраста. Наиболее часто данной патологией страдают дети раннего возраста, а также беременные и кормящие женщины [3]. В Республике Беларусь частота анемии за последние 10 лет увеличилась в несколько раз, причем, как и в других странах, ЖДА наиболее характерна для детского возраста.

Среди различных причин железодефицитной анемии у детей важное место занимают алиментарные нарушения. Недостаточное количество железа в рационе беременной женщины является одной из основных причин развития железодефицитной анемии у детей, находящихся на грудном и искусственном вскармливании. Другой причиной является несвоевременное и нерациональное ведение прикорма. Несмотря на высокую усвояемость железа из грудного молока, ребенку 4–6 месяцев, находящемуся на грудном вскармливании, помимо железа, которое поступает с молоком матери, необходимо дополнительное поступление железа с другими продуктами питания. Исходя из этого, важно уже в этом возрасте широко использовать в рационе как традиционные продукты прикорма, так и специализированные продукты, дополнительно обогащенные железом, в том числе фруктовые соки и пюре [4].

С целью профилактики ЖДА у детей раннего возраста специалистами РУП «Научно-практический центр национальной академии наук Беларуси по продовольствию» разработан сок черничный с мякотью, обогащенный железом и витамином С. Дополнительное обогащение черничного сока железом позволило повысить содержание этого микронутриента до 1–3 мг/100 г продукта, что соответствует требованиям СанПиН для продуктов детского питания. Согласно научным принципам обогащения пищевых продуктов микронутриентами их эффективность должна быть доказана экспериментальными исследованиями, подтверждающими заявленный профиль разработанного продукта.

В связи с вышеизложенным целью данной работы явилось изучение влияния сока черничного для детского питания, обогащенного железом и витамином С, на показатели крови лабораторных животных при экспериментальной ЖДА.

### Результаты исследований и их обсуждение

Медико-биологические исследования проводили на 40 крысах-самцах линии WAG с начальной массой тела 195–255 г. Из общей партии отобранных животных формировали равноценные группы, которых рассаживали в отдельные клетки. Накануне эксперимента животных адаптировали к условиям лаборатории при стандартных климатических параметрах и неограниченном доступе к корму и воде.

Эксперимент состоял из двух этапов. Первый этап заключался в анемизации животных посредством диеты, второй – в непосредственном введении продукта, обогащенного железом и витамином С.

Для создания алиментарной ЖДА животные были рандомизированы на 2 группы. Группа А (n=14) – интактные животные, находящиеся на стандартном рационе вивария. Группа Б (n=26) – животные, получавшие корм с минимальным содержанием железа.

Продолжительность эксперимента составила 7 недель (по ранее полученным данным, ЖДА у крыс при содержании их на диете развивается не ранее чем через 4 недели после начала эксперимента).

Развитие и степень выраженности анемии контролировали по гематологическим и биохимическим показателям. Для чего определяли:

- уровень гемоглобина;
- среднее содержание гемоглобина в эритроците;
- среднюю концентрацию гемоглобина в эритроците;
- количество эритроцитов;
- средний объем эритроцитов;
- ширину распределения эритроцитов по объему;
- гематокрит;
- концентрацию железа в сыворотке крови;
- общую железосвязывающую способность сыворотки;
- уровень ферритина.

Кровь для гематологических анализов брали из боковой хвостовой вены. Для определения морфологических показателей крови использовали автоматический гематологический анализатор «HUMACAUNT» (Германия).

Для биохимического анализа сыворотки крови крыс-самцов периферическую кровь брали у декапигированных животных. Для определения биохимических показателей использовали диагностические наборы «P.Z.CORMAY» (Польша). Исследование осуществлялось с использованием биохимического анализатора «НІТАСНІ 902».

После гематологической и биохимической констатации анемичного состояния из анемизированных животных второй группы были сформированы 2 группы для оценки влияния на показатели крови сока черничного, обогащенного железом и витамином С.

Первая группа (n=14) подопытных животных ежедневно получала сок, обогащенный железом, который вводили им внутрижелудочно с помощью специального зонда. Количество вводимого сока рассчитывалось по общепринятой в экспериментальной фармакологии формуле внутривидового пересчета доз исходя из среднего количества сока, рекомендуемого для ежедневного приема человеку, принятого равным примерно 200 мл [5]. Полученная доза для крыс составила 1,7 мл/100 г массы тела. Введение сока продолжали в течение 20 дней эксперимента, при этом животные продолжали получать корм с минимальным содержанием железа.

Вторая группа (контроль) (n=12) состояла из анемизированных животных, которые продолжали содержаться на диете с минимальным содержанием железа, но не получали сок, обогащенный железом и витамином С.

Третью группу (n=14) составили интактные животные, находящиеся на стационарном рационе вивария.

Для определения динамики массы тела в ходе эксперимента и связанной с этим коррекцией количества вводимого сока животных регулярно взвешивали.

Результаты экспериментов по воссозданию экспериментальной алиментарной ЖДА показали, что у животных группы Б (n=26), получавших корм с минимальным содержанием железа, отмечалось снижение массы тела, а также изменение гематологических и биохимических показателей по сравнению с животными группы А (n=14), находившихся на стационарном рационе вивария. Так, исходная масса тела крыс перед началом эксперимента составляла 195–255 г. Через 1,5 месяца масса тела крыс группы А, получавших обычный раци-

он вивария, возросла более чем на 20%, в то время как в группе Б, находящейся на железодефицитной диете, масса тела достоверно уменьшилась по сравнению с исходной величиной. При этом у животных отличалась вялость и отставание в весе от здоровых животных на 18% (таблица 1).

Таблица 1 – Влияние диеты на динамику массы тела крыс ( $X \pm Sx$ )

Группа животных	Масса тела, г	
	Исходная величина	Через 7 недель эксперимента
Группа А	225,77 ± 5,40	274,62 ± 5,59***
Группа Б	233,37 ± 2,78	224,13 ± 2,53*###

\* – различия статистически достоверны по сравнению с исходной величиной при  $P < 0,05$ ;

\*\*\* – различия статистически достоверны по сравнению с исходной величиной при  $P < 0,001$ ;

### – различия статистически достоверны по сравнению с группой А при  $P < 0,001$ .

О развитии ЖДА у животных судили прежде всего по снижению уровня гемоглобина крови. Исходный уровень гемоглобина у крыс перед началом эксперимента колебался от 126 г/л до 145 г/л. В интактной группе, находившейся на обычном рационе вивария, уровень гемоглобина незначительно уменьшился в среднем на 6%, тогда как у крыс, находившихся в течение семи недель на железодефицитной диете (группа Б), уровень гемоглобина достоверно снизился по сравнению с исходной величиной на 12%. По сравнению с группой А показатель гемоглобина снижался на 18% (таблица 2).

Таблица 2 – Влияние диеты на уровень гемоглобина крови крыс ( $X \pm Sx$ )

Группа животных	Гемоглобин, г/л			
	Исходная величина		Через 7 недель эксперимента	
Группа А	144,85 ± 1,54	100%	135,54 ± 0,66***	93,57%
Группа Б	125,85 ± 2,83	100%	111,35 ± 0,91***	88,48%

\*\*\* – различия статистически достоверны по сравнению с исходной величиной при  $P < 0,001$ .

### – различия статистически достоверны по сравнению с группой А при  $P < 0,001$ .

Исходное количество эритроцитов в крови животных двух экспериментальных групп в начале исследований укладывалось в диапазон нормы этого показателя для данного вида животных. Перевод животных на железодефицитную диету вызвал снижение этого показателя на 8% по сравнению с исходной величиной и соответствующим показателем в интактной группе А. В подопытной группе Б отмечался достоверный рост такого показателя, как распределение эритроцитов по объему. Прирост составил 6% по сравнению с первой группой А, что является подтверждением развития ЖДА у крыс, находящихся на железодефицитной диете. В ходе эксперимента наблюдалась тенденция к снижению величины гематокрига у животных группы Б на 12%, однако это изменение было статистически не достоверным (таблица 3).

Основными биохимическими маркерами, характеризующими наличие ЖДА, являются:

- снижение концентрации железа в сыворотке крови;
- повышение общей железосвязывающей способности сыворотки крови;
- снижение уровня ферритина.

Совокупность этих показателей наиболее полно отражает наличие, отсутствие и характер анемии.

Анализ результатов биохимического исследования сыворотки крови крыс подтвердил у них развитие состояния ЖДА. Так, в группе животных, находящихся на железодефицитной диете, показатель концентрации железа в сыворотке крови достоверно снижался на 27% ( $7,92 \pm 0,44$  против  $10,88 \pm 0,81$ ), отмечено достоверное снижение на 12,5% запасов железа в

организме крыс по сравнению с интактной группой А ( $242,74 \pm 5,14$  нг/мл против  $212,28 \pm 5,96$  нг/мл). Соответственно установлено повышение показателя, характеризующего способность сыворотки крови к связыванию железа на 10% (таблица 3).

Таблица 3 – Влияние диеты на гематологические и биохимические показатели крови крыс ( $X \pm Sx$ )

Группа А		Группа Б	
Количество эритроцитов, $10^{12}/л$			
$11,51 \pm 0,14$	100%	$10,58 \pm 0,15^{**}$	91,9%
Ширина распределения эритроцитов по объему, %			
$15,69 \pm 0,13$	100%	$16,56 \pm 0,32^*$	105,5%
Гематокрит, %			
$57,09 \pm 0,75$	100%	$50,41 \pm 5,71$	88,3%
Содержание железа, мкмоль/л			
$10,88 \pm 0,81$	100%	$7,92 \pm 0,44^{**}$	72,79%
Общая железосвязывающая способность сыворотки, мкмоль/л			
$9,83 \pm 0,25$	100%	$10,85 \pm 0,28^*$	110,38%
Содержание ферритина, нг/мл			
$242,74 \pm 5,14$	100%	$212,28 \pm 5,96^{**}$	87,45%

\* – различия статистически достоверны по сравнению с группой А при  $P < 0,05$ ;

\*\* – различия статистически достоверны по сравнению с группой А при  $P < 0,001$

Таким образом, полученная величина уровня гемоглобина, снижение концентрации железа и ферритина, а также повышение общей железосвязывающей способности сыворотки крови позволили констатировать развитие у крыс через 1,5 месяца после пребывания на железodefицитной диете состояние ЖДА легкой степени.

Результаты второго этапа эксперимента по изучению влияния сока, обогащенного железом и витамином С, на метаболический статус организма крыс с ЖДА показали изменение массы тела животных, уровня гемоглобина и биохимических показателей крови животных по сравнению с исходным уровнем и данными показателями в контрольной группе. Так, в течение 20 дней на фоне продолжающейся железodefицитной диеты введение группе 1 сока, обогащенного железом и витамином С, группе 1 не привело к приросту массы тела животных, наоборот, вес продолжал снижаться по сравнению с исходными величинами и весом животных интактной группы 3. Вместе с тем, значительное снижение веса зафиксировано в контрольной группе животных с ЖДА, не получавших исследуемый пищевой продукт (таблица 4).

Таблица 4 – Влияние сока черничного, обогащенного железом и витамином С на массу тела и уровень гемоглобина крыс с ЖДА ( $X \pm Sx$ )

Группа животных	Масса тела, г	Гемоглобин, г/л
Группа 1 (опыт)	$192,50 \pm 3,35^{***} \#\#$	$119,60 \pm 1,92^{***} \#$
Группа 2 (контроль)	$185,63 \pm 7,47^{***}$	$116,75 \pm 0,65^{***}$
Группа 3 (интакт)	$289,64 \pm 5,98$	$140,67 \pm 4,10$

\*\*\* – различия статистически достоверны по сравнению с группой 3 при  $P < 0,001$ ;

# – различия статистически достоверны по сравнению с исходной величиной при  $P < 0,05$ ;

\#\# – различия статистически достоверны по сравнению с исходной величиной при  $P < 0,01$

В связи с увеличением уровня гемоглобина у животных 1 группы установлен рост такого показателя, как средняя концентрация гемоглобина в эритроците и его приближение к такому значению в интактной 3 группе животных (таблица 5). У животных 2 группы (контрольной) намечалась явная тенденция к снижению данного показателя. Величина гематокрита у животных, получавших сок, была достаточно низкой, однако в сравнении с контрольной группой очевидна ее тенденция к увеличению.

В ходе эксперимента одновременное с диетой введение животным сока, обогащенного железом и витамином С, не оказало заметного влияния на количество эритроцитов. Следует отметить, что количество красных кровяных клеток у анемизированных животных 1 и 2 группы оставалось на низком уровне, по сравнению с животными в группе 3, находящимися на стандартном рационе вивария. Регистрация таких показателей, как средний объем эритроцитов и ширина распределения эритроцитов по объему не выявила значительной их динамики в ходе 20 дней эксперимента, в группе животных, получавших сок, обогащенный железом и витамином С (таблица 5).

Таблица 5 – Влияние сока черничного, обогащенного железом и витамином С на гематологические и биохимические показатели крови крыс с ЖДА ( $X \pm Sx$ )

Группа 1 (опыт)	Группа 2 (контроль)	Группа 3 (интакт)
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците, г/л		
284,50 ± 1,98 ###	272,00 ± 2,35	285,00 ± 6,30
Гематокрит, %		
43,44 ± 0,98***	42,13 ± 0,36***	51,47 ± 0,95
Количество эритроцитов, 10 <sup>12</sup> /л		
9,90 ± 0,22***	9,49 ± 0,13***	11,26 ± 0,22
Средний объем эритроцитов, фл		
44,42 ± 0,72	44,13 ± 0,48*	44,13 ± 0,48*
Ширина распределения эритроцитов по объему, %		
16,14 ± 0,12**	16,16 ± 0,15**	15,31 ± 0,22
Содержание железа, мкмоль/л		
8,24 ± 0,26#	6,85 ± 0,52***^	13,11 ± 0,99
Общая железосвязывающая способность сыворотки крови, мкмоль/л		
9,86 ± 0,19**^	9,94 ± 0,13**	10,85 ± 0,17
Содержание ферритина, нг/мл		
259,66 ± 28,06#^	239,16 ± 1,57**	286,39 ± 11,68

\* – различия статистически достоверны по сравнению с группой 3 при  $P < 0,05$ ;

\*\* – различия статистически достоверны по сравнению с группой 3 при  $P < 0,01$ ;

\*\*\* – различия статистически достоверны по сравнению с группой 3 при  $P < 0,001$ ;

# – различия статистически достоверны по сравнению с контролем при  $P < 0,05$ ;

## – различия статистически достоверны по сравнению с контролем при  $P < 0,01$ ;

### – различия статистически достоверны по сравнению с контролем при  $P < 0,001$ ;

^ – различия статистически достоверны по сравнению с исходной величиной при  $P < 0,05$ .

Введение исследуемого сока в течение 20 дней не привело к резкому улучшению биохимических параметров сыворотки крови и приближению их к таковым в интактной группе (таблица 5). Однако следует отметить, что концентрация сывороточного железа по сравне-

нию с исходной величиной в группе животных, получавших сок, возросла, хотя и недостоверно, а в сравнении с 2 группой, не получавшей сок, этот показатель оказался выше на 20%

Введение сока, обогащенного железом и витамином С, привело к некоторому увеличению запасов железа, о чем свидетельствует повышение уровня ферритина сыворотки крови. Так, показатель ферритина достоверно возрос по сравнению с исходной величиной на 34% (с  $212,28 \pm 5,96$  нг/мл до  $259,66 \pm 28,06$  нг/мл) и более чем на 19% (с  $239,16 \pm 1,57$  нг/мл до  $259,66 \pm 28,06$  нг/мл) по сравнению с контрольной группой. В связи с поступлением железа с соком достоверно снизилась общая железосвязывающая способность сыворотки.

### **Заключение**

В результате проведенных исследований установлено, что введение крысам с выраженной анемией сока, обогащенного железом и витамином С, на фоне железодефицитной диеты в дозе, составляющей 1,7 мл/100 г массы тела, в течение 20 дней способствует предотвращению развития у животных состояния железодефицитной анемии.

### **Литература**

- 1 Румянцев, И.Р. Анемии у детей: диагностика и лечение / И.Р. Румянцев, Ю.Н.Токарев. – М.: МАКС Пресс, 2004. –104 с.
- 2 Воронцов, И.М. Железо и смежные проблемы микронутриентного обеспечения в предконцепционной, антенатальной и постнатальной педиатрии/И.М.Воронцов // Дефицит железа и железодефицитная анемия у детей/Под ред. И.М.Воронцова. – М.:МАКС Пресс, 2001. – 36–58 С.
- 3 World Health Report 2002. Reducing Risk, Promoting Healthy Life. – Geneva, 2002. – 64 P.
- 4 Руководство по детскому питанию / Под ред. В.А.Тутельяна [и др.]. – М.: Медицинское информационное агентство, 2004. – 662 с.
- 5 Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общей ред. Р.У. Хабриева. – М.: 2005. – С.49.

*Поступила в редакцию 8.09.2010*