

## Роль микроэлементов в спортивном питании и безопасность металлохелатов

Н.Н. Каркищенко, В.Н. Каркищенко, С.Л. Люблинский, Г.Д. Капанадзе, Е.Б. Шустов, А.О. Ревякин, Л.А. Болотских, Н.В. Касинская, Н.В. Станкова

ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России», Московская область

Контактная информация: д.м.н., проф. Каркищенко Владислав Николаевич, scbmt@yandex.ru

В остром эксперименте была исследована токсичность хелатных соединений цинка, магния, марганца, кобальта, йода и железа, а также их смеси в различных дозах. Данные соединения могут быть использованы в качестве составных компонентов для продукта спортивного питания «МيوАктив-Спорт». Показан токсический эффект как отдельных хелатных соединений, так и их смеси в эксперименте на лабораторных аутбредных мышцах в дозах, многократно превышающих терапевтическую. Установлено, что при 100-500-кратном превышении терапевтической дозы некоторые хелатные соединения проявляют токсический эффект, при этом четко наблюдается конкуренция жизненно важных микроэлементов при всасывании в желудочно-кишечном тракте.

**Ключевые слова:** МيوАктив-Спорт, хелаты, мыши, острая токсичность.

Перспективы разработки новых рецептур комплексного высокобелкового продукта «МيوАктив» [7, 10, 11], предназначенного для профессиональных спортсменов, а также для спецконтингента, подверженного повышенным физическим и психоэмоциональным нагрузкам, связаны с металлохелатными и другими компонентами. Данные по безопасности этих соединений весьма скудны и противоречивы, поэтому оценка безопасности хелатных компонентов явилась целью наших исследований.

### **Роль органических форм микроэлементов в профилактике их дефицита у человека**

Среди пищевых факторов, имеющих особое значение для поддержания здоровья, работоспособности и активного долголетия человека, важнейшая роль принадлежит минеральным веществам и микроэлементам. Они абсолютно необ-

ходимы для обеспечения всех жизненных функций, включая воспроизводство генофонда.

В то же время, получивший сегодня широкое распространение дефицит жизненно необходимых элементов — чрезвычайно серьезная проблема не только для развивающихся, но и для экономически развитых государств. Так, по статистике ВОЗ, в мире насчитывается более 2 млрд человек, страдающих от дефицита железа, около 1,5 млрд — от дефицита йода, а от дефицита кальция — около половины населения. Дефицит макро- и микронутриентов в организме людей является причиной роста случаев многих заболеваний, которые 30-40 лет назад встречались гораздо реже — гипертонической болезни, анемии, атеросклероза, диабета, болезней опорно-двигательного аппарата, желудочно-кишечных и эндокринных заболеваний, болезней обмена веществ и др. [18, 20].

Фундаментальные исследования основателя современного учения о биосфере академика В.И. Вернадского (1940 г.) внесли существенный вклад в понимание значения минеральных веществ для существования живых организмов.

В.И. Вернадский ввел представление о биогенной миграции атомов (переходе элементов из организма в организм) и их распространении по планете в результате действия биогеоценотических связей, объединяющих живой и неживой мир. Согласно его учению, живое вещество, трансформируя солнечное излучение, вовлекает химические элементы биосферы Земли в непрерывный круговорот.

В табл. 1 приведен приблизительный химический состав человеческого организма с массой тела 70 кг, содержащего 43,6 кг воды, 11,3 кг белков, 10,7 кг жиров, 0,4 кг углеводов и 4 кг золы.

Таблица 1  
Химический состав тела человека

Структурный элемент	Вес/кг
<b>Кислород</b>	<b>46,0</b>
<b>Углерод</b>	<b>13,0</b>
<b>Водород</b>	<b>7,0</b>
<b>Азот</b>	<b>1,8</b>
<b>Кальций</b>	<b>1,2</b>
Структурный элемент	Вес/кг
<b>Фосфор</b>	<b>700,0</b>
<b>Сера</b>	<b>175,0</b>
<b>Калий</b>	<b>140,0</b>
<b>Хлор</b>	<b>105,0</b>
<b>Натрий</b>	<b>90,0</b>
<b>Магний</b>	<b>35,0</b>
<b>Железо</b>	<b>4,0</b>
<b>Цинк</b>	<b>2,0</b>
Рубидий	1,0

Структурный элемент	Вес/мг
<b>Стронций</b>	<b>140,0</b>
<b>Медь</b>	<b>100,0</b>
Алюминий	100,0
Свинец	80,0
Олово	30,0
<b>Йод</b>	<b>30,0</b>
Кадмий	30,0
<b>Марганец</b>	<b>20,0</b>
Ванадий	20,0
Барий	16,0
Мышьяк	100,0
Ртуть	50,0
Никель	10,0
<b>Селен</b>	<b>10,0</b>
<b>Хром</b>	<b>6,0</b>
<b>Молибден</b>	<b>5,0</b>
<b>Кобальт</b>	<b>3,0</b>

Наряду с конституционными (кислород, углерод, водород, азот) и макроэлементами, содержащимися в концентрации 0,01-1% на сырое вещество (кальций, фосфор, калий, сера, кремний, натрий и магний), которые составляют более 99% всех атомов организма, в нем присутствуют микроэлементы в суммарной концентрации менее 0,01% от общей массы тела (железо, цинк, медь, марганец, хром, кобальт, селен, йод, фтор и т.д.).

Микроэлементы условно делят на две группы: абсолютно, или жизненно необходимые (в табл. выделены жирным шрифтом), и т.н. «вероятно необходимые».

Микроэлементы являются жизненно необходимыми (эссенциальными), если при их отсутствии или недостатке нарушается нормальная жизнедеятельность организма.

Творчески развивая идеи В.И. Вернадского о роли элементного состава почвы в эволюции организмов, академик А.П. Виноградов (1949 г.) создал учение о биогеохимических провинциях, богатых или бедных йодом, кобальтом, медью, фтором, селеном и другими элементами. Разработанное им учение о микроэлементах имеет исключительную актуальность для медицинской науки и сейчас [8].

В настоящее время к микроэлементам относят патологические процессы, обусловленные дефицитом, избытком или дисбалансом микроэлементов в организме. Среди них можно выделить гипо- и гипермикроэлементозы экзогенного и эндогенного происхождения. Наибольшую распространенность имеют экзогенные эндемические гипомикроэлементозы, которые связаны не только с аномальным содержанием микроэлементов в окружающей среде, но и с недостаточным поступлением их и пищей. В последнее время наблюдается рост вторичных микроэлементазов, возникающих при различных заболеваниях, а также наследственных и врожденных гипомикроэлементозов. Вследствие резко возросшего загрязнения окружающей среды наблюдается значительное увеличение ареалов техногенных гипермикроэлементозов в индустриально развитых регионах и мегаполисах, вокруг промышленных комплексов и в местах техногенных катастроф.

В отдельную группу можно выделить ятрогенные микроэлементазы, связанные с приемом лекарств. Они развиваются в результате интенсивного перорального и ингаляционного лечения содержащими микроэлементами препаратами поддерживающей терапии (энтерального и парентерального питания) или некоторых лечебных процедур (например, диализа) [19, 25].

На протяжении последних ста лет мировой и отечественной наукой были проведены многочисленные клинично-нутрициологические исследования и приложены значительные усилия по ликвидации наиболее распространенных алиментарнозависимых состояний.

В настоящее время существуют три основных подхода [4] к решению проблемы дефицита макро- и микроэлементов, а также профилактике болезней, вызванных их недостатком в рационе питания:

первый — дополнительное потребление продуктов с заведомо высоким содержанием минеральных веществ;

второй — применение лекарственных препаратов и биологически активных добавок к пище на основе различных соединений макро- и микроэлементов;

третий — целенаправленное обогащение дефицитными элементами продуктов питания массового потребления.

Необходимо отметить, что за последние 50 лет современные интенсивные приемы ведения растениеводства и животноводства привели к значительному (в разы) уменьшению содержания минеральных веществ в муке, овощах, фруктах, мясе, молоке и т.д. Значительное уменьшение содержания биогенных элементов происходит после кулинарной обработки при промышленном производстве пищевых продуктов. Кроме того, практический опыт показывает, что потребление продуктов с высоким природным содержанием макро- и микроэлементов, с одной стороны, делает питание людей довольно дорогостоящим, а, с другой стороны, не влияет заметным образом на решение проблемы дефицитных состояний. Подобная сбалансированная диета может быть эффективной только для сохранения здоровья после нормализации баланса макро- и микронутриентов в организме.

Применение второго подхода существенно ограничивается высокой стоимостью имеющихся на рынке препаратов, существующей вероятностью передозировки и наличием у большинства из них выраженных побочных эффектов. Так, например, при потреблении препаратов на основе неорганических солей железа в мире зафиксировано более 110 тыс. случаев отравлений у детей, некоторые — с летальным исходом [2]. Небезопасным является также использование препаратов на основе соединений неорганического йода, кальция, меди, цинка и др.

В настоящее время считается, что наиболее оптимальным для профилактики алиментарнозависимых дефицитных состояний человека является обогащение необходимыми макро- и микронутриентами продуктов массового питания.

Многие развитые страны (США, Англия, Швеция, Голландия) приняли общенациональные программы по обогащению продуктов питания макро- и микронутриентами. Тем не менее, опыт этих стран показывает, что использование для данных целей неорганических соединений элементов не обеспечивает необходимый уровень их усвоения. Кроме того, наблюдаются их значительные потери в процессе производства, изменения в худшую сторону органолептических свойств таких продуктов питания, а также наличие серьезных побочных эффектов: гемосидероза (при использовании неорганических соединений железа), тиреотоксикоза (при обогащении неорганическим йодом) и т.д.

Статистические данные о распространенности в мире, например, железо-, йод- и кальцийдефицитных состояний также свидетельствуют о неэффективности данного подхода [15].

Убедительным примером является обещание ВОЗ ликвидировать дефицит

йода во всем мире к 2000 г., которое было не выполнено. В 2002 г. на специальной сессии Генеральной Ассамблеи ООН по вопросам материнства и детства, посвященной проблеме йоддефицитных заболеваний, было решено принять максимум усилий для ликвидации йоддефицита до 2005 г., что вновь не было выполнено. Это является важнейшим доказательством неэффективности используемого подхода. Дефицит йода продолжает оставаться серьезной проблемой, остро стоящей перед правительствами 153 стран мира, которую необходимо решить в ближайшее время.

Таким образом, существующие медико-биологические проблемы, связанные с дефицитом макро- и микроэлементов в организме, являются одними из серьезнейших в биохимии и физиологии питания современного человека, и ни в одной из стран мира до сих пор не решены.

Особую актуальность эта проблема приобретает в спортивной медицине, т.к. организм спортсмена, испытывающий предельные физические нагрузки, высокочувствителен к дефициту микроэлементов.

В связи с этим, сегодня особенно необходима разработка принципиально новых высокоэффективных и безопасных подходов к решению столь сложнейшей проблемы. По нашему мнению, для полной ликвидации микроэлементозов различной этиологии наиболее перспективным является применение природных биогенных форм макро- и микроэлементов, а также их полных синтетических аналогов.

Биологическая эффективность использования микроэлементов в организме определяется уровнем сбалансированности рационов в отношении питательных и биологически активных веществ; сте-

пению усвоения и депонирования микроэлементов, взаимодействием их между собой и другими пищевыми веществами в процессе всасывания, транспорта и экскреции; состоянием регуляторных систем, возрастом, полом и физиологическим состоянием организма. В связи с этим, необходимо использовать такие формы микроэлементов, которые будут наиболее физиологически адекватны потребностям организма человека и животных, каковыми и являются органические формы элементов.

Многочисленными исследованиями установлено, что в обмене всех без исключения минеральных веществ участвуют различные органические соединения — белки, пептиды, аминокислоты, фосфолипиды, углеводы, карбоновые кислоты, нуклеиновые кислоты, нуклеотиды и другие лиганды, которые через координационные связи с минеральными веществами образуют комплексоны.

Комплексоны, или биокоординационные соединения, составляют обширный и разнообразный класс веществ, к которым относятся также многие металлоорганические соединения, играющие большую роль в физиологических и биохимических процессах.

Особый интерес для профилактики микроэlementозов представляют хелатные соединения биогенных элементов с органическими лигандами. В живой природе существуют многочисленные хелатные соединения микроэлементов с лигандами органического происхождения — гемоглобин, миоглобин, хлорофилл, витамин В12 и многие другие.

***Роль и место хелатных соединений в организме человека и животных***

Понятие «хелат» происходит от греч. «chelle» (коготь, клешня краба) и было введено в 1920 г. Морганом и Дрю. В хе-

латных соединениях лиганд центральный атом элемента охватывается (блокируется), будто клешней, двумя или несколькими зубцами (своими донорными атомами). Поэтому хелатные соединения элементов отличаются особой прочностью.

Хелат — это наиболее энергетически выгодная для организма форма взаимодействия металла с лигандом. Активность элемента в этих комплексах часто возрастает с сотни и тысячи раз в сравнении с активностью металла в ионном состоянии. Примером этому служит тот факт, что более чем у двухсот ферментов (а это 25% из всех известных) активность определяется наличием в их активном центре атомов различных металлов.

В основе эффективности и безопасности применения хелатных соединений для профилактики микроэlementозов лежат естественные физиолого-биохимические механизмы усвоения минералов, присутствующие в организме. Известно, что процесс усвоения микроэлементов происходит в тонком кишечнике путем активного транспорта, который представляет собой присоединение свободного иона к транспортному белку, позволяющее переносить его в кровоток. Так случается со всеми минеральными веществами, попадающими в наш организм. Этот процесс называется «органической хеляцией». Если данный процесс по какой-то причине не происходит, то минерал не усваивается.

Элементы из неорганических соединений при попадании в организм с пищей обладают уровнем биодоступности не более 2-20% и часто при длительном употреблении оказывают негативное влияние на организм.

Эффективность усвоения микроэлементов из хелатных соединений зависит от их констант устойчивости. Установ-

лено, что максимальная эффективность усвоения наблюдается в том случае, когда константа устойчивости хелата выше, чем у соединений микроэлемента с компонентами пищи или корма, и ниже, чем у его соединений в тканях организма. В этом случае хелатирующий агент транспортирует связанный элемент из пищи (корма) через кишечную стенку и отдает тканям. Кроме того, при потреблении хелатов частично или полностью стирается антагонизм между элементами, а также ингибируются многочисленные пищевые факторы, отрицательно влияющие на абсорбцию биоэлементов. Это позволяет сокращать дозы потребления микроэлементов в 3-4 раза и получать тот же биологический эффект.

Исследования показывают, что хелатные соединения легко усваиваются, и организм при необходимости может без вреда для себя переносить большие дозы микроэлементов, которые при потреблении в виде неорганических солей являются токсичными.

Механизм положительного влияния микроэлементов в хелатной форме связан с тем, что они имеют меньшую реакционную способность по сравнению с ионами металлов, что исключает образование неусваиваемых или мало усваиваемых соединений и обеспечивает более активное включение в соответствующие биологические циклы и значительно большие сроки сохранности обогащенных ими продуктов и кормов.

Так, многие неорганические соединения несовместимы с органическими кислотами и солями других металлов, таких как медь, марганец, железо, цинк и другие. Например, йод в неорганической форме в присутствии серноокислой меди быстро реагирует с ней, в результате чего часть йода улетучивается, а другая

часть связывается с медью, превращаясь в плохо усвояемую йодистую медь. Йод и большинство металлов (железо, медь, цинк и т.п.) оказывают сильное разрушающее действие на жиры, витамины и другие биологически активные вещества, содержащиеся в пище и кормах.

Известно, что большинство неорганических соединений микроэлементов нестабильны. При обогащении продуктов и кормов они легко окисляются или восстанавливаются. Например, неорганические соединения йода под влиянием света и влажности распадаются, и йод улетучивается. Потери йода из йодированной соли уже через 1 неделю хранения могут достигать более 50%, а потери йода из йодированного комбикорма за 2 мес. хранения составляют более 70%.

Установлено, что хелатные комплексы способны не только активизировать в организме важнейшие ферментные системы, но и оказывают стимулирующее действие на синтез белка, обладают ярко выраженными антиоксидантными свойствами, способствуют уменьшению интоксикации организма тяжелыми металлами.

Сегодня наиболее широко хелатные соединения применяются в животноводстве. Установлено, что использование хелатных соединений повышает усвоение микроэлементов, позволяет более точно нормировать их, поддерживает здоровье животных, их продуктивные и воспроизводительные качества. Кроме того, в результате такого подхода значительно сокращается концентрация микроэлементов в побочной продукции животноводства, что существенно снижает загрязнение окружающей среды. В связи с высокими требованиями экологов в странах с развитым животноводством (США, Германия, Франция) продолжают

вестись активные работы по введению хелатных соединений в корма животных.

Большой интерес к этому направлению наблюдается и в России. Президиум РАСХН в 2009 г. одобрил направление инновационных исследований по использованию в рационах с.-х. животных и птицы органических форм микроэлементов при производстве функциональных пищевых продуктов.

Несмотря на высокую эффективность и безопасность хелатных форм микроэлементов, применение их в медицине и пищевой промышленности не столь велико. В этих отраслях данный подход не нашел широкого практического применения по следующим основным причинам:

1. Сильный разброс массового содержания элементов в органической форме, а также наличие в хелатных соединениях больших остаточных количеств неорганических соединений не позволяют обеспечить их нормирование при производстве лекарственных средств и обогащенных продуктов питания.

2. В технологическом процессе органической хеляции элементов происходит загрязнение хелатов химическими реагентами и продуктами реакции, что может вызвать побочные эффекты при их применении.

3. Отсутствие промышленного биотехнологического оборудования и процессов (ультра- и нанофильтрации, сублимации и т.д.) не позволяет обеспечить физико-химические свойства и чистоту получаемых хелатных соединений.

Сотрудниками ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России» разработаны и апробированы инновационные технологии получения различных макро- и микроэлементов

в органической форме. Применение современных биотехнологических методов и оборудования позволяют производить в промышленных масштабах хелатные соединения, идентичные природным биогенным формам йода, кальция, железа, меди, цинка, магния и других элементов.

Проведенные многочисленные лабораторные и клинико-нутрициологические исследования с ведущими институтами РАМН и РАСХН выявили высокую эффективность и безвредность применения БАД к пище и продуктов питания, обогащенных органическими соединениями эссенциальных элементов, для профилактики основных алиментарно-зависимых дефицитных состояний детей и взрослых [3, 5].

#### *Металлохелатные комплексы*

Почти все катионы, кроме натрия, калия и небольших количеств кальция и магния, после всасывания связываются в организме с какой-либо органической матрицей: белками, пептидами, аминокислотами, гормонами, ферментами, метаболитами, шаперонами или нуклеиновыми кислотами. Свободные катионы в организме встречаются редко и в некоторых случаях токсичны. В желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) элементы также соединяются и с некоторыми другими матрицами, в т.ч. с водой. Поскольку большая часть комплексов является рН-чувствительными, тот или иной элемент может соединяться и вновь диссоциировать с двумя или более матрицами до его абсорбции по мере прохождения по ЖКТ.

Координационная химия, или химия хелатирования, возникла в 1893 г., когда Вернер изучал поведение этилендиамина в комплексе хлорида платины (II) с бис-(этилендиамин) [21]. Полученные координационные комплексы имели

различные геометрические формы, зависящие от координационного числа и степени окисления.

Для образования хелата необходим лиганд, в котором число донорных центров, образующих связь с центральным атомом, не меньше двух. Число таких центров называют дентатностью лиганда. Лиганды, образующие хелатные циклы, называются хелатирующими (хелатообразующими) реагентами. Примеры полидентатных лигандов: этилендиамин ( $\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ), глицерин ( $\text{HOCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$ ), этилендиаминотетрауксусная кислота. Образование химических связей между полидентатным лигандом и центральным атомом называется хелатированием, или хелатообразованием. Хелатообразование — один из путей образования супрамолекулярных комплексов «гость-хозяин». Наиболее обширный и важный класс хелатов — хелатные комплексы металлов (металлохелаты). Способность координировать лиганды присуща металлам всех степеней окисления. Хелаты значительно устойчивее, чем близкие по природе комплексы, образованные монодентатными лигандами. Это явление называют хелатным эффектом. Во многом благодаря наличию хелатного цикла хелаты обладают уникальными физическими, химическими и биологическими свойствами.

Комплексы из двух и более групп отдельных органических соединений, координированные с центральным катионом так, что образуется кольцо, называются хелатами. Органическая составляющая хелата называется лигандом и имеет координационные функциональные группы, отделенные двумя или тремя атомами обычно углерода. Итоговое кольцо, включающее неорганический ион, обычно состоит из пяти или шести

членов (рис. 1).

Чтобы произошло хелатирование, ли-

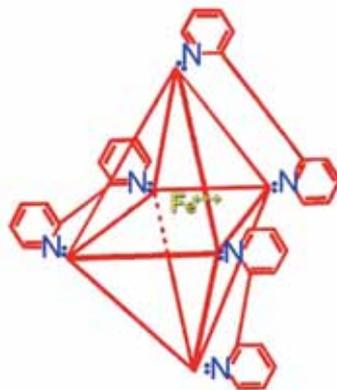


Рис. 1. Комплекс с тремя координационными группами в хелате с железом. Лигандом хелата является 2,2'-дипиридамин.

ганд должен содержать, по крайней мере, 2 донорных атома, способных связываться с одним и тем же атомом металла. Относительное сродство, с которым микроэлементы соединяются со многими хелатирующими агентами, кажется почти не зависимой от природы органической составляющей.

Элементы, получаемые с пищей в неорганической форме или как часть растительных и животных тканей, присутствуют в виде комплексов. Они могут диссоциировать и вновь соединяться с лигандами по мере прохождения пищи из кислой среды желудка к более нейтральным условиям тонкого кишечника. Эндогенная секреция некоторых элементов также вносит свой вклад в общий пул находящихся в тонком кишечнике элементов, доступных для комплексообразования и реабсорбции. Процесс абсорбции может включать образование одного или более комплексов на щелочной каемке эпителиальных тканей, в клетках слизистых оболочек или на серозных мембранах. Некоторые комплексы обязательны для активной диффузии или

активного транспорта, а другие могут снижать или подавлять абсорбцию элементов. Металлы необходимы для функционирования многих жизненно важных метаболических систем.

Большую роль естественные хелаты (гемоглобин, хлорофилл, витамин В<sub>12</sub> и др. соединения) играют в процессах жизнедеятельности.

*Роль некоторых макро-, микроэлементов, содержащих их белков и витаминов в организме человека*

### **Магний**

Магний (Mg) — щелочно-земельный металл, широко распространен в природе. В виде оксида Mg используется в медицине как нейтрализующее средство при повышенной кислотности желудочного сока, сульфат Mg в виде кристаллогидрата (английская соль) используется как спазмолитическое, желчегонное, слабительное и успокаивающее средство. Хлорид Mg используется в составе лечебных ванн. Многие соли Mg используются при изготовлении биологически активных добавок к пище и лекарственных препаратов, которые применяются при лечении хронических стрессов, заболеваниях сердечно-сосудистой системы. В организме человека содержится около 140 г Mg, причем 2/3 от этого количества содержится в костной ткани, а главным депо являются костная ткань и мышцы. Mg как важнейший внутриклеточный элемент в обменных процессах взаимодействует с калием, кальцием и натрием и участвует как активатор во многих ферментативных реакциях. Нормальный уровень Mg необходим для обеспечения жизненно-важных процессов, регуляции нервно-мышечной проводимости, тонуса гладкой мускулатуры и для восстановления сил после тяжелых физических нагрузок.

Mg в организме выполняет самые раз-

нообразные функции: участвует в синтезе и обмене белков, жиров и углеводов, в переносе, хранении и утилизации энергии, в митохондриальных процессах и в регуляции нейрхимической передачи и мышечной возбудимости, уменьшая возбудимость нейронов и замедляя нейромышечную передачу. Mg является физиологическим антагонистом кальция, препятствуя поступлению ионов кальция через пресинаптическую мембрану [16]. Mg контролирует баланс внутриклеточного калия, снижает количество ацетилхолина в нервной ткани, расслабляет гладкую мускулатуру, снижает артериальное давление при его повышении, угнетает агрегацию тромбоцитов, повышает осмотическое давление в просвете кишечника и ускоряет пассаж кишечного содержимого. Mg является кофактором ферментативных реакций.

Период полувыведения Mg из организма — 120 сут.

### **Железо**

Железо (Fe) известно со времен древних цивилизаций. Основная функция в организме — перенос кислорода и участие в окислительных процессах (при помощи десятков железосодержащих ферментов). Fe содержится в составе гемоглобина, миоглобина, в цитохромах, но большая его часть содержится в эритроцитах и клетках мозга. Препараты Fe — сульфаты, хлораты, фумараты, сахараты — используются для профилактики и лечения железодефицитных анемий и хронических постгеморрагических анемий. Многочисленные комплексные препараты разработаны для усиления всасывания Fe из ЖКТ, улучшения синтеза железосодержащих метаболитов (гемоглобина), стимуляции эритропоэза.

Среднее содержание в волосах — 10,1 мг/кг, крови — 447 мг/л, мышцах — 180

мг/кг. Период полувыведения Fe из организма — 2000 сут.

Поскольку в состав большинства ферментов входят ионы металлов (железо, медь, марганец, кобальт), наиболее оптимальным приемом для их изучения является электронный парамагнитный резонанс (ЭПР) (рис. 2, 3).

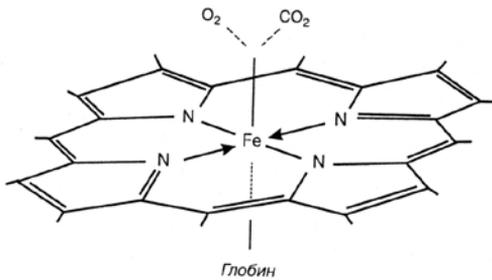


Рис. 2. Классическая рентгеноструктурная модель гема.

На рис. 2 изображен гем, т.е. порфириновое кольцо с атомом железа в центре; через пятую координационную связь к гему присоединяется глобин, через шестую — группа X (кислород, двуокись углерода и т.д).

На рис. 3 приведена полученная с помощью ЭПР структура гема. В гемоглобине содержатся 4 гема, а, значит, и 4 атома Fe на молекулу, а в миоглобине — только один гем.

Современный спорт высших достижений, где борьба идет за сотые доли секунды, граммы и сантиметры, предъявляет высочайшие требования не только к уровню физической подготовки спортсмена и его психологической устойчивости, но и

к процессам обеспечения и утилизации энергии. Fe, как составная часть гемоглобина и миоглобина, участвует в переносе и обеспечении кислородных резервов в мышцах, в составе цитохромов при аэробном образовании энергии во всех клетках организма. Fe участвует в продукции и удалении свободных радикалов,

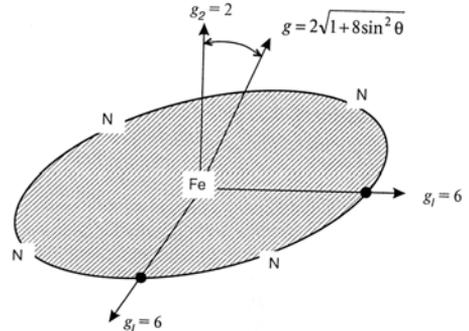


Рис. 3. Структура гема на основе ЭПР-спектроскопии.

G-фактор отражает электронно-магнитный резонанс для свободного неспаренного электрона или неспаренного электрона, связанного с атомом или молекулой. Зависимость значения g-фактора у высокоспинового производного гемоглобина составляет в плоскости гема 6,0 во всех направлениях.

в процессах пролиферации тканей и иммунной защиты. При железодефицитных состояниях уже с ранних стадий у спортсменов отмечается угнетение аэробного энергообразования в тканях, усугубляющееся гемической гипоксией. В результате этих сдвигов снижается физическая работоспособность, главным образом, по аэробным характеристикам, ограничиваются возможности оперативного восстановления, снижается тонус скелетной мускулатуры. Комплекс физиологических изменений, вызванный дефицитом Fe, резко ограничивает профессиональные возможности атлета и достижение им высоких спортивных результатов. Избыточное накопление Fe в организме

вызывает у спортсменов геминическую гипоксию при анемическом синдроме (сидеробластную анемию, гемохроматоз, приводящие к циррозу печени, панкреатиту с клиникой сахарного диабета, артриту-артрозу, микардидистрофии).

### **Цинк**

В организме взрослого человека содержится 1,5-3 г цинка (Zn). Оптимальная интенсивность поступления Zn в организм — 10-15 мг в день. Содержание Zn в мышцах — 240 мг/кг, в крови — 7 мг/л. Порог токсичности — 600 мг в день. Период полувыведения из организма — 245 сут.

Являясь кофактором многих ферментов, Zn принимает участие в формировании Т-клеточного иммунитета. Сульфат Zn используется в медицине в качестве компонента фармпрепаратов для лечения дефицита Zn, болезней кожи, волос, ногтей, цирроза печени, иммунодефицитных состояний и др. Улучшают усвоение Zn витамины А и В6. Препятствуют усвоению его медь, марганец, железо и в больших дозах кальций.

Zn обладает детоксицирующим действием — способствует удалению из организма двуокиси углерода. В процессе занятий спортом Zn способствует очищению крови от накапливающегося в ней лактата, и, кроме того, добавки Zn (25 мг в день) повышают иммунитет в периоды интенсивной физической нагрузки в тренировочном и соревновательном режимах.

### **Медь**

Медь (Cu) — металл с высокой электрохимической активностью. Оптимальная интенсивность поступления Cu в организм — 2-3 мг/сут. Содержание ее в мышцах — 10 мг/кг, в крови — 1,01 мг/л. Максимальная концентрация Cu — в печени, почках и мозге. В сыворотке крови медь до 95% связана с церуллаплазмином

и до 5% — с альбумином. Ведущую роль в метаболизме Cu играет печень, где синтезируется белок церулоплазмин, который обладает высокой активностью многих ферментов и участвует в гомеостазе Cu.

Как противомикробное и прижигающее средство в медицине применяется сернокислая Cu. При гипохромной анемии применяется Cu в сочетании с Fe.

Cu как жизненно важный элемент содержится в составе витаминов, гормонов, дыхательных пигментов и, следовательно, принимает активное участие в процессах обмена веществ и тканевом дыхании. Адсорбируется в желудке и тонком кишечнике. Cu играет важную роль в регуляции окислительно-восстановительных, нейроэндокринных процессов, кроветворения, пигментации кожи и волос. Участвует в выработке гормона щитовидной железы тироксина и формировании соединительной ткани, составляющей основу опорно-двигательного аппарата, кожи. Cu обладает выраженным противовоспалительным свойством, смягчает проявление аутоиммунных заболеваний (ревматоидный артрит), способствует усвоению Fe. Также она участвует в регуляции процессов биологического окисления и генерации АТФ, в синтезе гемоглобина и важнейших белков соединительной ткани — коллагена и эластина, в обмене Fe, в защите клетки от токсического воздействия активированного кислорода.

Cu необходима для нормального усвоения витамина С. Дефицит Cu может быть одной из причин *спортивной анемии*, он отрицательно сказывается на кроветворении, функциях щитовидной железы (часто развивается гипотиреоз), на всасывании Fe, состоянии соединительной ткани, процессах миелинизации в нервной системе, усиливает предрас-

положенность к бронхиальной астме, аллергодерматозам, кардиопатиям, витилиго и многим другим заболеваниям.

При нарушении обмена Cu происходит усиление перекисного окисления липидов, что ускоряет процесс старения организма. Кроме того, ее недостаток усиливает предрасположенность к развитию диабета, приводит к задержке роста, развитию анемии, потере веса, накоплению холестерина, атрофии сердечной мышцы, остеопорозу, кожным заболеваниям, потере волос, утомляемости и частым инфекциям.

Хроническая интоксикация Cu и ее солями может встречаться у пловцов (в связи с окрашиванием воды медным купоросом и другими солями Cu) и приводить к функциональным расстройствам нервной системы, печени и почек, изъязвлению и перфорации носовой перегородки, сухости кожи и даже к аллергодерматозам. Избыток элемента приводит к дефициту цинка и молибдена.

Порог токсичности — 200 мг/сут. Токсичность Cu проявляется, в основном, за счет ее свободных ионов в плазме.

*Церулоплазмин* — медьсодержащий белок (гликопротеин), присутствующий в плазме крови. В церулоплазмине содержится около 95% общего количества Cu сыворотки крови человека [1].

Врожденный дефицит церулоплазмина приводит к дефектам развития головного мозга и печени.

Церулоплазмин человека, благодаря входящим в его состав ионам Cu, имеет голубой цвет. Средняя молекулярная масса колеблется в диапазоне 150000-160000 г/моль. На одну молекулу приходится 6-7 ионов  $Cu^{2+}$ .

До внедрения Cu в белок он называется апоцерулоплазмин, после — холоцерулоплазмин.

Основные аминокислоты церулоплазмина: аспарагиновая, глутаминовая, треонин, глицин, лейцин.

Церулоплазмин обнаруживается не только в плазме человека и приматов, но и у свиньи, лошади, козы, оленя, собаки, кошки и др. животных. Белок играет важную ферментативную роль — он катализирует окисление полифенолов и полиаминов в плазме.

Синтез церулоплазмина в печени осуществляют гепатоциты, скорость этого процесса регулируется гормонами. На протяжении всей жизни уровень этого белка в плазме остается стабильным, за исключением неонатального этапа и периода беременности у женщин.

Церулоплазмин не проникает или слабо проникает через гематоэнцефалический барьер. В мозге человека белок производится определенными популяциями глиальных клеток, связанных с микрососудами, а в сетчатке глаза — клетками внутреннего нуклеарного слоя. Астроцитами синтезируется особая форма церулоплазмина, порожденная альтернативным сплайсингом и содержащая GPI-якорь, — она, предположительно, необходима для выведения Fe из клеток ЦНС.

У мышей, нокаутных по церулоплазмину, отмечается отложение Fe в мозжечке и стволе мозга, потеря дофаминергических нейронов, нарушение двигательной координации.

### **Марганец**

Марганец (Mn) содержится в пищевых продуктах (ржаной хлеб, пшеничные и рисовые отруби, в овощах и фруктах и в некоторых лекарственных растениях). Всасывается Mn в тонком кишечнике, быстро покидает кровяное русло и находится, главным образом, в митохондриях клеток. Наибольшее количество его на-

ходится в печени, поджелудочной железе, почках и в трубчатых костях. Волосы содержат 0,5-1,5 мкг/г, кости — 0,2-100 мг/кг, мышцы — 0,1-2,3 мг/кг.

Среднесуточная потребность в Mn — 2-5 мг. Достаточная потребность — 3-5 мг в день. Порог токсичности — 40 мг в день. Период полувыведения из организма — 4-40 сут.

Являясь одним из важнейших биоэлементов и компонентом множественных ферментов, Mn выполняет многочисленные функции в организме. Он участвует в синтезе и обмене нейромедиаторов в нервной системе; в обмене гормонов щитовидной железы; в регуляции обмена витаминов С, Е, группы В, холина и Си; в обеспечении полноценной репродуктивной функции. Обеспечивает нормальное функционирование мышечной ткани и развитие соединительной ткани, хрящей и костей. Усиливает гипогликемический эффект инсулина, повышает гликолитическую активность и интенсивность утилизации жиров. Препятствует свободно-радикальному окислению, обеспечивает стабильность структуры клеточных мембран, снижает уровень липидов и противодействует жировой дегенерации печени. Mn необходим для нормального роста и развития организма, метаболизма соединительной ткани, он также участвует в регуляции углеводного и липидного обмена и стимулирует биосинтез холестерина.

Дефицит Mn приводит к различным патологическим процессам в организме — снижению выработки антител, невропсихическим расстройствам, задержкам развития и, как правило, сопровождается сахарный диабет и др. заболевания.

В медицине в виде перманганата калия применяется как дезинфицирующее средство и противоядие для боевых отравляющих веществ и цианидов. Орга-

нические соединения Mn используются в минерально-витаминных комплексах для лечения и профилактики различных аллергических заболеваний.

У спортсменов дефицит Mn может приводить к нарушению углеводного обмена по типу инсулиннезависимого диабета, гипохолестеролемии, задержке роста волос и ногтей, повышению судорожной готовности, аллергиям, дерматитам, нарушению образования хрящей, остеопорозу. При развитии остеопороза прием кальция усугубляет дефицит Mn, т.к. затрудняет его усвоение в организме. Кишечной абсорбции препятствуют также фосфаты и Fe.

При хронической интоксикации Mn характерными являются астенические расстройства: повышенная утомляемость, сонливость, снижение активности, круга интересов, ухудшение памяти. Избыток Mn усиливает дефицит Mg и Си. В балансовых исследованиях взрослых спортсменов высокой квалификации в зимний период тренировки установлено, что в день кроссового бега на 30 км содержание Fe, Си и Mn в рационах находилось на нижней границе физиологической нормы для лиц, не занимающихся спортом. Под воздействием большой физической нагрузки выделение микроэлементов через кишечник и почки значительно превышало их поступление с пищей. Баланс всех трех микроэлементов был отрицательным. За три дня отдыха после пробега на фоне недостаточного по микроэлементам питания потери Fe и Си не компенсировались. Обогащение рационов комплексом микроэлементов сопровождалось значительной задержкой Fe, Си и Mn в организме спортсменов.

### **Кобальт**

Кобальт (Co) является жизненно необходимым элементом для животных и

человека, в организм он поступает с пищей, очень много Со в печени, молоке и в овощах. До 20% Со всасывается в ЖКТ, интенсивность его поступления — 20-50 мкг/сут. Мышцы содержат 0,28-0,65 мг/кг, кости — 0,01-0,04 мг/кг. Период полувыведения из организма — 30-40 лет. Порог токсичности — 500 мг/сут.

В составе молекулы цианокобаламина он активно участвует в ферментативных процессах, угнетает обмен йода. Со повышает усвоение Fe и синтез гемоглобина и стимулирует эритропоэз, участвуют в транспортировке кислорода в организме человека.

Только при нормальном взаимодействии Со, Си и Fe осуществляется процесс кроветворения у животных и человека. Со входит в состав витамина В<sub>12</sub>, который человек получает, в основном, из животной пищи. Со активизирует деятельность некоторых ферментов, участвует в секреции гормонов инсулина и адреналина, стимулируя деятельность желез внутренней секреции. Он также способствует накоплению в организме ряда витаминов и стимулирует синтез белка для *строительства мышц*. Период полувыведения из организма — 30-40 лет [24].

### Йод

Йод (I) встречается в виде солей — йодидов и йодатов, а в морской соли — в виде йодистого Na и Mg. Оптимальная интенсивность поступления его в организм — 100-150 мкг в день, а порог токсичности — 5 мг в день. Основные источники для человека — морепродукты, йодофоры. Всасывается в тонком кишечнике, период полувыведения из организма — 138 сут.

В норме в организме человека его содержится 15-25 мг, и почти половина — в щитовидной железе (1000-12000 мкг/г). В мышцах — 0,05-0,5 мг/кг, в костях —

0,27 мг/кг. Токсическая доза для человека — 2 мг, летальная — 35-350 г.

В организме I принимает участие в регуляции скорости биохимических реакций, в регуляции обмена энергии, температуры тела, белкового, жирового, водно-электролитного обмена, в регуляции обмена некоторых витаминов, дифференцировки тканей, процессов роста и развития организма, в т.ч. нервно-психического, и повышает потребление кислорода тканями. Витамины А, Е, кобальт, марганец, кальций, стронций, железо, цинк и медь способствуют более полному усвоению I тканями. Фтор, бром и хлор конкурируют с I при усвоении и участии в биохимических реакциях.

**Витаминами В<sub>12</sub>** называют группу Со-содержащих биологически активных веществ, называемых кобаламинами. К ним относят собственно цианокобаламин (продукт, получаемый при химической очистке витамина цианидами), гидроксикобаламин и две коферментные формы витамина В<sub>12</sub> (метилкобаламин и 5-дезоксиаденозилкобаламин).

В более узком смысле витамином В<sub>12</sub> называют цианокобаламин, т.к. именно в этой форме в организм человека поступает основное количество витамина В<sub>12</sub>. Но всё же он не является синонимом В<sub>12</sub>, и несколько других соединений также обладают В<sub>12</sub>-витаминной активностью, цианокобаламин — лишь один из них.

В<sub>12</sub> имеет самую сложную по сравнению с другими витаминами структуру, основой которой является корриновое кольцо. Коррин во многом аналогичен порфируну (сложной структуре, входящей в состав гема, хлорофилла и цитохромов), но отличается от порфирина тем, что два пиррольных цикла в составе коррина соединены между собой непосредственно, а не метиленовым мостиком. В

центре корриновой структуры располагается ион  $\text{Co}^{4+}$  координационных связей.  $\text{Co}^{4+}$  образует с атомами азота. Ещё одна координационная связь соединяет  $\text{Co}^{4+}$  с диметилбензимидазольным нуклеотидом. Последняя, шестая координационная связь  $\text{Co}^{4+}$  остаётся свободной: именно по этой связи и присоединяется цианогруппа, гидроксильная группа, метильный или 5'-дезоксиаденозинильный остаток с образованием 4-х вариантов витамина  $\text{B}_{12}$ , соответственно. Ковалентная связь  $\text{C}-\text{Co}$  в структуре цианокобаламина — единственный в живой природе пример ковалентной связи «металл-углерод».

Ковалентная связь  $\text{C}-\text{Co}$  кофермента  $\text{B}_{12}$  участвует в двух типах ферментативных реакций — переноса метильной группы  $-\text{CH}_3$  между двумя молекулами.

**Целью** данного исследования являлась оценка токсических, максимально переносимых и летальных доз хелатных соединений при однократном внутрижелудочном введении самцам и самкам лабораторных аутбредных мышей.

Информация, полученная в ходе данного исследования, не дублирует результаты исследований, проведенных ранее. Диапазон доз для исследования острой токсичности позволил оценить токсичность препаратов при однократном введении.

#### **Нормативные ссылки**

Данное исследование было выполнено в соответствии с:

— Национальным стандартом Российской Федерации ГОСТ Р-53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики»;

— Приказом Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 23 августа 2010 г. № 708н «Об утверждении Правил лабораторной практики»;

— Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ [14];

— Руководством по проведению клинических исследований лекарственных средств [13];

— Guide for the care and use of laboratory animals [22].

Проведение научно-исследовательской работы сопровождалось выполнением следующих стандартных операционных процедур (СОП):

СОП ЭЖ-МВ-4v1 (фиксация лабораторного животного для проведения внутрижелудочного введения);

СОПЭЖ-МР-11v1 (регистрация сроков развития интоксикации и гибели животных);

СОП ЭЖ-П-6v1 (взвешивание мелких лабораторных животных);

СОП ЭЖ-МР-12v1 (клинический осмотр лабораторных животных);

СОП ЭЖ-Т-4v1 (взвешивание органов лабораторных животных);

СОП ЭЖ-Т-2v1 (эвтаназия лабораторных животных);

СОП ЭЖ-П-4v1 (маркировка клеток содержания лабораторных животных);

СОП ЭЖ-П-10v1 (рандомизация экспериментальных животных методом модифицированной блочной рандомизации);

СОП ЭЖ-П-8v1 (формирование групп);

СОП ДЗ-7v1 (подготовка доз для введения) [6].

#### **Список сокращений**

GLP — «Good Laboratory Practice», надлежащая лабораторная практика;

ЛД50 — среднесмертельная доза;

f — female, самка;

m — male, самец;

в/ж — внутрижелудочно;

ТД — терапевтическая доза;

ЛД — летальная доза.

## Материалы и методы

### *Аклиматизация и отбор животных для исследования*

Лабораторные животные до начала исследования проходили 14-дневную адаптацию при групповом содержании в клетках. Во время этого периода ежедневно контролировали клиническое состояние животных путем визуального осмотра. Животные с обнаруженными в ходе осмотра отклонениями исключались.

### *Распределение по группам*

Для исключения влияния предпочтений исследователя на формирование экспериментальных групп отбор животных осуществлялся при помощи метода модифицированной блочной рандомизации. Для этого всех поступивших из питомника животных случайным образом помещали в ячейки блока рандомизации (число ячеек блока рандомизации кратно числу групп в эксперименте). Далее, пользуясь генератором случайных чисел (статистическая программа Statistica 6.0), получали перечень данных, содержащий номера ячеек с животными и соответствующие им номера групп, куда в дальнейшем были размещены животные [17].

### *Идентификация животных*

Маркировка клетки кодировала пол животных, дату начала введения тестируемых средств, название группы. Каждому отобранному в исследование животному был присвоен индивидуальный номер.

### *Содержание животных*

Животные содержались в стандартных условиях в соответствии с требованиями ГОСТ Р от 02.12.2009 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP)». В период акклиматизации и эксперимента животные были размещены в вентилируемых клетках RairIsoSystem, группами по 5 особей [12].

В качестве подстилки использовались стерилизованные опилки из хвойных пород деревьев.

Брикетированные комбикорма для лабораторных животных давались *ad libitum* в кормовое углубление клетки. Данные о составе и качестве корма от производителя хранятся в документации лаборатории.

Животным давалась очищенная вода *ad libitum*.

Животные содержались в контролируемых условиях окружающей среды (22-24°C и при относительной влажности воздуха 60-70%). В комнатах содержания животных поддерживался 12-час цикл освещения. Температура и влажность воздуха регистрировались ежедневно. Никаких существенных отклонений этих параметров в период акклиматизации и в ходе эксперимента не произошло.

### *Получение комплексов хелатов микроэлементов*

Комплексы с микроэлементами (Mg, Zn, Mn, Cu и Co) получали с применением ферментативных гидролизатов концентратов сывороточных белков молока. С целью повышения содержания микроэлементов в хелатах и увеличения их биодоступности для производства хелатных комплексов использовали гипоаллергенную низкомолекулярную фракцию (<10 кД) гидролизатов сывороточных белков молока, полученную с помощью ультрафильтрации (табл. 2).

Хелатные комплексы с Mg, Zn, Mn, Cu и Co получали путем совместной инкубации водных растворов солей микроэлементов с гидролизатом сывороточных белков молока. Инкубацию проводили при pH=7,1-7,2 при комнатной температуре и постоянном перемешивании. Затем отделяли осадок (в случае его образования) фильтрацией. После этого

Таблица 2  
Молекулярно-массовое распределение белков сыворотки молока и их гидролизатов

Продукт	>10 кД	3-10 кД	<3 кД
Концентрат белков сыворотки молока	82,5%	8,79%	8,71%
Гидролизат белков сыворотки молока	2,03%	54,93%	43,04%

реакционную смесь подвергали нано-фильтрации для удаления не связавшихся неорганических катионов. Полученные жидкие хелаты лиофильно высушивали и определяли в них содержание микроэлементов атомно-абсорбционным методом.

#### **Методики проведения наблюдений**

##### *Масса тела*

Масса тела регистрировалась непосредственно перед введением и эвтаназией для расчета процентного отношения массы органов к массе тела.

##### *Клинические наблюдения*

Клинический осмотр каждого животного проводился в течение первого часа после введения исследуемого вещества и ежедневно в последующем. В случае стремительного развития неблагоприятных признаков – не менее 2-х раз в день.

Выполняли подробный осмотр животного в клетке содержания, в руках и на «открытой площадке». Отмечали проявление и выраженность, где приемлемо, признаков интоксикации. Фиксировали общее состояние животных: особенности их поведения, интенсивность и характер двигательной активности, наличие и характер судорог, координацию движений, тонус скелетных мышц, реакцию на тактильные, болевые, звуковые и световые раздражители, частоту и глубину дыхательных движений, состояние волосяного и

кожного покрова, органов чувств, количество и консистенцию фекальных масс, частоту мочеиспускания и окраску мочи. Фиксировали клиническую картину интоксикации и время гибели животных.

Осмотр животных в клетках содержания, с целью выявления клинической патологии и смертности, производили ежедневно.

Ориентировочно-исследовательскую активность и эмоциональный статус животных изучали в конце эксперимента для регистрации отсроченных влияний.

##### **Расчет ЛД<sub>50</sub>**

Расчет ЛД<sub>50</sub> осуществлялся по методу В.Б. Прозоровского. Сравнение показателей ЛД<sub>50</sub> групп самок и самцов, получавших исследуемые вещества, осуществлялось с помощью t-критерия Стьюдента. Сравнение значений ЛД<sub>50</sub> осуществлялось попарно: самцы – самки [9].

##### **Патоморфологические исследования**

Животные были подвержены полной некропсии с оценкой внешней поверхности тела, всех проходов, черепной, грудной, брюшной полостей и их содержимого.

Органы, извлеченные при некропсии, были взвешены, парные органы взвешивались вместе. Данный показатель был использован для расчета процентного отношения массы органов к массе тела.

Органы, подлежавшие взвешиванию: сердце, легкие с трахеей, тимус, печень, селезенка, почки, надпочечники, головной мозг [23].

У умерших животных или животных, подвергнутых незапланированной эвтаназии, органы не взвешивались.

##### *Коллекция органов*

При некропсии были взяты органы (фрагменты) и ткани, указанные ниже, и

зафиксированы в 10% рН-нейтральном формалине. А именно: легкие с трахеей, печень, почки, желудок, тонкий кишечник, головной мозг.

#### *Гистология*

Микроскопический анализ органов и тканей лабораторных животных проводился в следующих случаях:

1) гибель животного на 2-14 день после введения вещества;

2) обнаружение в процессе некропсии, в том числе у животных, погибших в первые сутки после введения веществ, измененного внутреннего органа (в данном случае исследовалась только ткань измененного органа).

Ткани, подлежащие гистологической обработке, были очищены, залиты в парафин, нарезаны, окрашены гематоксилином и эозином и микроскопированы.

#### *Анализ данных*

Для всех полученных данных применена описательная статистика, проверка на нормальность распределения. Тип распределения определялся критерием Шапиро-Уилка. В случае нормального распределения были подсчитаны среднее значение и стандартная ошибка среднего.

#### *Исследование острой токсичности хелатных соединений*

##### *Экспериментальные животные*

Аутбредные мыши, полученные из филиала ФГБУН НЦБМТ ФМБА «Андреевка», в количестве по 230 самцов и самок. Масса животных к началу исследования составляла 19-21 г.

В резерве имелось дополнительно по 30 особей обоего пола на случай необходимости замены в течение периода акклиматизации.

##### *Дизайн исследования*

После акклиматизационного периода были сформированы группы животных

соответственно дизайну эксперимента.

Период наблюдения составлял 14 суток. На протяжении этого времени осуществлялся ежедневный осмотр животных в клетке содержания, на руках и на «открытой площадке», оценивалось их общее состояние. На 14-й день исследования проводилось взвешивание животных. Ежедневно визуально оценивали отклонения в потреблении корма и воды животными в отдельных посадочных клетках. За сутки перед некропсией животных лишали корма, доступ к воде при этом не ограничивался.

Эвтаназия осуществлялась на 15-е сутки с помощью декапитации. Затем вскрывалась грудная клетка.

#### *Способ и процедура введения*

В данном исследовании применялось внутрижелудочное введение, аналогичное рекомендованному для людей и позволяющее ввести большее количество препарата с целью проведения оценки острой токсичности.

Исследуемые вещества вводились однократно, внутрижелудочно, в соответствующих дозах. Объемы введения были лимитированы видом и массой животных.

#### *Результаты и их обсуждение*

##### *Токсикометрия*

В ходе проведенного эксперимента были определены различные значения летальных доз для тестируемых хелатных соединений. Зависимые от доз летальные эффекты представлены в табл. 3 и 4.

##### *Влияние однодневного в/ж введения хелатов на общее состояние и поведенческие реакции мышей*

В течение 14-ти дней после введения хелатов осуществлялся ежедневный осмотр животных в клетке содержания, на руках и на «открытой площадке», оце-

Летальные эффекты хелатных соединений при в/ж введении мышам

Группы животных	Объем введения, мл	Доза, мг/кг, *летальные эффекты (пало/всего)		
Контроль, самцы	1	—	—	—
		*0/10	0/10	0/10
Контроль, самки	1	—	—	—
		*0/10	*0/10	*0/10
Zn-хелат, самцы	1	250	500	750
		*2/10	*6/10	*7/10
Zn-хелат, самки	1	250	500	750
		*3/10	*4/10	*6/10
ЛД для Zn-хелата		25	50	60
Mg-хелат, самцы	1	1000	1500	2000
		*3/10	*5/10	*7/10
Mg-хелат, самки	1	1000	1500	2000
		*4/10	*6/10	*9/10
ЛД для Mg-хелата		33	50	80
Mn-хелат, самцы	1	100	200	300
		*1/10	*3/10	*7/10
Mn-хелат, самки	1	100	200	300
		*2/10	*4/10	*5/10
ЛД для Mn-хелата		15	33	60
Cu-хелат, самцы	1	100	200	300
		*2/10	*4/10	*9/10
Cu-хелат, самки	1	100	200	300
		*2/10	*6/10	*9/10
ЛД для Cu-хелата		20	50	90
Co-хелат, самцы	1	200	300	400
		*3/10	*5/10	*9/10
Co-хелат, самки	1	200	300	400
		*2/10	*5/10	*7/10
ЛД для Co-хелата		27	50	80
I-хелат, самцы	1	500	1000	1500
		*0/10	*0/10	*0/10

I-хелат, самки	1	500	1000	1500
		*0/10	*0/10	*0/10
ЛД для I-хелата		0	0	0
Fe-хелат, самцы	1	1000	1500	2000
		*0/10	*1/10	*2/10
Fe-хелат, самки	1	1000	1500	2000
		*0/10	*0/10	*2/10
ЛД для Fe-хелата		0	5	20
Микс-1, самцы	2	Zn-хелат – 500 мг/кг, Mg-хелат – 1500 мг/кг, Mn-хелат – 200 мг/кг, Cu-хелат – 200 мг/кг, Co-хелат – 300 мг/кг, I-хелат – 1000 мкг/кг, Fe-хелат – 1000 мг/кг		
		*0/10		

Таблица 4

Летальные эффекты комплексов хелатных соединений при в/ж введении мышам

Микс-1, самки	2	Zn-хелат – 500 мг/кг, Mg-хелат – 1500 мг/кг, Mn-хелат – 200 мг/кг, Cu-хелат – 200 мг/кг, Co-хелат – 300 мг/кг, I-хелат – 1000 мкг/кг, Fe-хелат – 1000 мг/кг		
		*0/10		
ЛД для Микс-1		0		
Микс-2, самцы	2	Zn-хелат – 750 мг/кг, Mg-хелат – 2000 мг/кг, Mn-хелат – 300 мг/кг, Cu-хелат – 300 мг/кг, Co-хелат – 400 мг/кг, I-хелат – 1500 мкг/кг, Fe-хелат – 2000 мг/кг		
		*4/10		
Микс-2, самки	2	Zn-хелат – 750 мг/кг, Mg-хелат – 2000 мг/кг, Mn-хелат – 300 мг/кг, Cu-хелат – 300 мг/кг, Co-хелат – 400 мг/кг, I-хелат – 1500 мкг/кг, Fe-хелат – 2000 мг/кг		
		*6/10		
ЛД для Микс-2		50		

нивалось их общее состояние. Т.к. поведение животных почти во всех группах было относительно идентичным, для наглядности мы решили привести описание общего состояния и поведения животных, получавших наивысшие дозы и пе-

реживших интоксикацию в первые часы после введения исследуемых веществ. Результаты наблюдений в течение 24 ч после введения хелатов представлены в табл. 5.

Таблица 5

Влияние однократного в/ж введения хелатов на общее состояние и поведенческие реакции мышей в течение 24 ч после введения

№ п/п	Показатель	Контр. гр.	Zn-хелат, 750 мг/кг	Mg-хелат, 2000 мг/кг	Mn-хелат, 300 мг/кг	Ca-хелат, 300 мг/кг	Co-хелат, 400 мг/кг	I-хелат, 1500 мкг/кг	Fe-хелат, 2000 мг/кг	Микс-1	Микс-2
		10/10	6/6	6/5	6/7	8/7	6/7	10/10	9/9	10/10	7/6
<b>Число наблюдений</b>											
<b>Наблюдения в руках</b>											
<i>Реакция на взятие в руки</i>											
1.	никакой реакции	—	—/—	—/—	—/—	—/—	—/—	3/2	5/6	5/6	1/1
	низкая реакция	—	6/6	6/5	6/7	8/7	6/7	7/8	9/9	5/4	6/5
	умеренная реакция	10/10	—/—	—/—	—/—	—/—	—/—	—/—	—/—	—/—	—/—
<i>Вокализация</i>											
2.	никакая	10	6/6	6/5	6/7	8/7	6/7	10/10	9/9	10/10	7/6
<i>Палпебральное закрытие, состояние глазной щели</i>											
3.	веки широко открыты	10	—/—	1/2	4/5	6/5	8/6	10/10	9/9	8/8	—/—
	птоз	—	3/3	4/3	2/2	2/2	2/1	—/—	—/—	2/2	7/6
<b>ОСМОТР ЖИВОТНЫХ В КЛЕТКЕ</b>											
<i>Глаза</i>											
4.	норма	10	6/6	6/5	6/7	8/7	6/7	10/10	9/9	10/10	7/6
<i>Зрачковый статус относительно условий освещения комнаты (лаборант наблюдает состояние зрачков)</i>											
5.	норма	—	6/6	6/5	6/7	8/7	6/7	10/10	9/9	10/10	7/6
<i>Уши</i>											
6.	норма	10/10	6/6	6/5	6/7	8/7	6/7	10/10	9/9	10/10	7/6
<i>Зубы</i>											
7.	норма	10/10	6/6	6/5	6/7	8/7	6/7	10/10	9/9	10/10	7/6
<i>Нос</i>											
8.	норма	10/10	6/6	6/5	6/7	8/7	6/7	10/10	9/9	10/10	7/6
<i>Слонотечение</i>											
9.	норма	10/10	6/6	6/5	6/7	8/7	6/7	10/10	9/9	10/10	7/6
<i>Дыхание</i>											
10.	норма	10/10	—/—	—/—	—/—	—/—	—/—	—/—	7/8	—/—	—/—
	периодическое	—	6/6	6/5	6/7	8/7	6/7	10/10	—/—	10/10	7/6
<i>Внешний вид шерсти</i>											
11.	норма	10/10	—/—	—/—	—/—	—/—	—/—	—/—	—/—	—/—	—/—
	взъерошенность	—	6/6	6/5	6/7	8/7	6/7	10/10	—/—	10/10	7/6

№ п/п	Показатель	Контр. гр.	Zn-хелат, 750 мг/кг	Mg-хелат, 2000 мг/кг	Mn-хелат, 300 мг/кг	Cu-хелат, 300 мг/кг	Со-хелат, 400 мг/кг	I-хелат, 1500 мкг/кг	Fe-хелат, 2000 мг/кг	Микс-1	Микс-2
<i>Тонус мускулатуры</i>											
12.	никакой	—	—/—	—/—	—/—	—/—	—/—	—/—	—/—	—/—	—/—
	низкий	—	6/6	6/5	6/7	8/7	6/7	10/10	9/9	10/10	7/6
	умеренный	10/10	—/—	—/—	—/—	—/—	—/—	—/—	—/—	—/—	—/—
<i>Конечности</i>											
13.	норма	10/10	6/6	6/5	6/7	8/7	6/7	10/10	9/9	10/10	7/6
<b>Наблюдение на открытой площадке</b>											
<i>Двигательная активность</i>											
14.	норма	10/10	—/—	—/—	—/—	—/—	—/—	—/—	—/—	—/—	—/—
	снижена	—	4/4	3/4	6/7	8/7	4/7	10/8	9/9	9/10	4/5
	утрата позы	—	—/—	—/—	—/—	—/—	—/—	—/—	—/—	—/—	—/1
	заторможенность	—	2/2	3/1	—/—	—/—	2/—	—/2	—/—	1/—	3/—
<i>Осанка, положение</i>											
15.	Типичный диапазон положений (просеивание, поднимание, жодьба)	10/10	4/1	3/4	6/6	8/7	4/7	10/8	9/9	9/8	4/3
	нетипичный (н-р, низкая осанка, сутулая, обессиленная)	—/—	2/3	3/2	—/1	—/—	2/—	—/2	—/—	1/2	3/2
<i>Отклонения походки — тип и серьезность</i>											
16.	норма	10/10	4/3	5/4	3/4	5/6	5/7	9/8	9/9	10/10	2/1
	атаксия	—	2/2	1/1	—/—	—/—	2/—	1/2	—/—	—/—	—/—
<i>Другое необычное поведение</i>											
17.	отсутствует	10/10	6/6	6/5	6/7	8/7	6/7	10/10	9/9	10/10	7/6
<i>Конституция</i>											
18.	норма	10/10	6/6	6/5	6/7	8/7	6/7	10/10	9/9	10/10	7/6
<b>Разное</b>											
<i>Кровотечение</i>											
19.	нет	10/10	6/6	6/5	6/7	8/7	6/7	10/10	9/9	10/10	7/6
<i>Выделение</i>											
20.	норма	10/10	6/6	6/5	6/7	8/7	6/7	10/10	9/9	10/10	7/6
<i>Другое</i>											
21.	нет	10/10	6/6	6/5	6/7	8/7	6/7	10/10	9/9	10/10	7/6

Приведенные данные наблюдений отражают 24-часовую реакцию животных на введение исследуемых веществ.

Внешний вид и поведение животных экспериментальных групп отличались от таковых в контроле. Также имелись различия в реакции на взятие в руки. Вокализация при взятии в руки и/или перемещении из клетки почти у всех мышей опытных групп присутствовала.

Отечности или гиперемии слизистых глаз не отмечалось. Нос розовый. Уши бледно-розовые, обычной температуры у всех мышей контрольной и экспериментальных групп. Нагноений, воспалений, загрязнений в ушах не обнаружено. Зубы сохранены. Нарушений слюноотделения не наблюдали.

Дыхание у животных контрольной группы было нормальным, а у мышей, получавших исследуемые вещества, во всех тестируемых дозах наблюдали одышку, неравномерный характер дыхания.

Шерсть у всех животных была блестящая, без очагов облысения. Возбуждение и взъерошенность у нескольких животных, по всей видимости, указывает на реакцию на манипуляции.

Тонус мускулатуры был низким практически у всех подопытных животных.

Видимые слизистые оболочки бледной окраски, блестящие.

Половые органы самцов развиты правильно, молочные железы самок без уплотнений на ощупь, выделения из сосков отсутствовали.

Деформации или отека конечностей нет. Кожа без признаков раздражения или воспаления.

### **Клиническая картина интоксикации**

При введении среднетоксических и максимальных доз исследуемых веществ

картина интоксикации у животных нарастала довольно быстро: через 15-20 мин после введения наблюдались снижение двигательной активности, заторможенность, брадикардия; через 30-40 мин — прострация; через 1-7 ч — отечность глаз, утрата позы, потеря сознания, нарушение частоты дыхательных движений и гибель 10-80% животных, которым вводили хелатные соединения.

После введения *Zn-хелата* у самок и самцов наблюдали схожую картину интоксикации — в дозе 250 мг/кг животные погибали в течение 3-4 ч после введения, при ЛД<sub>25</sub>. Увеличение дозы в 2 раза вызывало гибель 50% подопытных животных уже через 0,5-1 ч после введения, а в дозе 750 мг/кг гибли 60% животных в течение первого часа. Выжившие животные восстанавливались уже на следующие сутки, и все физиологические параметры приходили в норму.

*Mg-хелат* имел выраженный токсический эффект во всех исследуемых дозах. В дозе 1000 мг/кг погибали треть животных в опытных группах (самки и самцы). ЛД составила 33%. Увеличение дозы линейно влекло за собой падеж животных: при дозе 1500 мг/мл погибали 50% животных в первые 3 ч после введения, а при дозе 2000 мг/кг — уже 80% животных за первый час наблюдения. Наблюдали гибель одной мыши (самка) через 26 ч после введения вещества в дозе 1500 мг/мл. Все выжившие животные приходили в физиологическую норму через 1-1,5 сут.

После введения *Mn-хелата* наблюдали гибель животных (как самок, так и самцов) в первые 1-3 ч после введения, вне зависимости от дозы. После введения хелата в дозе 100 мг/кг гибель составила 15%, в дозе 200 мг/кг — 33%, 300 мг/кг — 60%.

*Си-хелат* вызывал гибель животных при дозе 100 мг/мл (20%), после введения 200 мг/мл гибли 50% животных в группах. Доза 300 мг/кг вызывала гибель 90% мышей. Картина интоксикации наступала уже через 10-20 мин после введения хелата: наблюдались снижение двигательной активности, заторможенность; через 40-50 мин — прострация; через 1-4 ч — утрата позы, потеря сознания, нарушение частоты дыхательных движений и гибель животных.

Примерно аналогичную картину наблюдали при введении *Со-хелата*. 27% животных погибали при дозе 200 мг/кг, 50% — при дозе 300 мг/кг и 80% — при дозе 400 мг/кг. Интоксикация также совпадала с описываемой для *Си-хелата*: животные погибали в первые часы после введения вещества.

После введения *I-хелата* во всех трех дозах гибели животных не наблюдали. При дозе 1000 и 1500 мкг/кг в первые 1-8 ч у 80% животных наблюдалось снижение двигательной активности. Визуальная картина интоксикации полностью исчезала через сутки, все физиологические показатели животных приходили в норму.

Введение *Fe-хелата* сопровождалось частичной гибелью животных. При введении вещества в дозе 1500 мг/кг через 26 ч погиб 1 самец, а при дозе 2000 мг/кг ЛД составила 20%. Животные погибали через 6-18 ч после введения.

Интересную картину наблюдали при введении смеси хелатов *Микс-I*. Животные были угнетены, наблюдалось подергивание конечностей, однако эти изменения в состоянии не носили критичного характера, поэтому не привели к гибели. Все проявления интоксикации исчезали в течение 48 ч с момента введения веществ. На следующий день все жи-

вотные, участвовавшие в эксперименте, мало потребляли пищу.

После введения смеси хелатов *Микс-2* в течение 2-6 ч наблюдали гибель 50% животных.

Половых различий в симптомах интоксикации во всех случаях не наблюдалось.

Влияния веществ на массу тела экспериментальных животных в каждом случае сравнивались попарно, в соответствии с дозировкой. Статистически значимых отличий в динамике массы тела подопытных мышей на протяжении всего исследования обнаружено не было, т.е. однодневное в/ж введение экспериментальным животным исследуемых хелатных соединений не оказывает влияния на динамику массы тела.

#### **Результаты гистологического исследования**

Гистологическому исследованию подвергались органы животных контрольной группы и животных, которые пали в первые 1-2 сут после начала введения хелатов.

Объекты фиксировали в 10% формалине и заливали в парафин. Головной мозг фиксировали в 96% спирте и заливали в парафин. Срезы внутренних органов окрашивали гематоксилин-эозином.

#### **Печень**

Трабекулярное строение на срезах, полученных из объектов разных долей печени, нарушений не представляет. Границы гепатоцитов отчетливые, цитоплазма зернистая, слабо оксифильная. Очаговых нарушений тинкториальных свойств цитоплазмы нет. Ядра содержат четкие ядрышки и достаточное количество хроматина. Ядерная мембрана тонкая. Синусоиды печени полнокровные.

#### **Легкие**

Эпителий гортани, трахеи, крупных бронхов не изменен, ядра четкие. Аль-

веолы всех долей легких содержат воздух. Ядра альвеолярного эпителия четкие, цитоплазма оксифильная. Эпителий внутрилегочных бронхов без изменений. Острые воспалительные изменения легочной ткани отсутствовали.

#### *Тимус*

Тимус сохраняет выраженное дольчатое строение. Корковое вещество долек заполнено лимфоцитами/тимоцитами. Мозговое вещество тимуса содержит меньшее количество лимфоцитов, а также светлые эпителиальные клетки, местами образующие концентрические фигуры и тельца Гассала. Строма тимуса умеренно полнокровная.

#### *Головной мозг*

У всех животных цитоархитектоника коры больших полушарий головного мозга не нарушена, очагов выпадения нет. Сосуды мозговых оболочек умеренно полнокровные; кортикальные сосуды равномерного диаметра, содержат единичные эритроциты. Признаки острого или хронического заболевания нейронов отсутствуют. Ядра нейронов светлые, ядерная мембрана тонкая, ядрышки четкие. В цитоплазме определяется достаточное количество хроматофильной зернистости Ниссля: пылевидной в цитоплазме нейронов 2-3 слоев и более крупной — в цитоплазме нейронов 5-го слоя коры больших полушарий. Нейроны разных ядерных образований среднего и продолговатого мозга содержат крупные глыбки тигроида. Ядра нервных и глиальных клеток не изменены, ядерная мембрана тонкая, содержание хроматина нормальное, ядрышки четкие.

#### *Сердце*

Клетки эндотелия внутренней оболочки аорты с четкими ядрами. Деструкций эластических волокон средней оболочки нет. Поперечная исчерченность миофи-

брилл во всех отделах сердца отчетливая, ядра кардиомицитов содержат достаточное количество хроматина, ядерная оболочка тонкая. Очагов нарушений тинкториальных свойств цитоплазмы нет. Избыточного разрастания стромы (кардиофиброза) нет. Сосуды типичного строения, соотношение коллагена и эластина — 2:1.

#### *Почки*

Капилляры клубочков и интерстициальной ткани почек крыс полнокровные, цитоплазма эпителия проксимальных канальцев оксифильная, клеточные границы различимы, ядра эпителия нефронов светлые, четкие.

#### *Надпочечники*

Сосуды коры и мозгового вещества надпочечников полнокровные. Все зоны коры надпочечников отчетливо выражены, клеточные ядра содержат достаточное количество хроматина. Цитоплазма клеток пучковой зоны вакуолизована за счет содержания большого количества липидов. Клетки мозгового вещества крупные, овальной формы, объединенные в гроздь и тяжи.

#### *Селезенка*

Лимфоретикулярные элементы лимфатических узлов и селезенки с четкими ядрами, деструкции или атрофии фолликулов нет. В красной пульпе селезенки видны очаги кроветворения с единичными мегакариоцитами.

#### *Желудочно-кишечный тракт*

У контрольных животных слизистая оболочка безжелезистой части желудка выстлана многослойным плоским эпителием, клетки которого изменений не представляют. Покровный эпителий слизистой тела желудка образован слизистыми цилиндрическими клетками, дефектов эпителиальной выстилки нет. Главные и обкладочные клетки желез

тела желудка не изменены. Дефектов многослойного плоского неороговевающего эпителия слизистой пищевода нет.

Почти у всех животных опытных групп наблюдаются геморрагические локальные очаги в ЖКТ.

#### *Поджелудочная железа*

Дольчатое строение поджелудочной железы сохранено. Клетки островков Лангерганса содержат светлые, четкие ядра, цитоплазма слабо оксифильная. Эпителиальные клетки внешнесекреторной части железы базофильные, ядра, расположенные в средней части, четкие, с достаточным количеством хроматина. Сосуды стромы поджелудочной железы умеренно полнокровные.

#### *Щитовидная железа*

Фолликулы щитовидной железы заполнены небольшим количеством оксифильного, слабовакволизированного коллоида. Эпителий фолликулов обычной высоты, ядра четкие. Сосуды стромы умеренно полнокровные. Строение подчелюстных желез нарушений не представляет. Эпителиальные клетки концевых отделов и выводных протоков с четкими ядрами, деструкции клеток нет.

#### *Яичники и яички*

В корковом веществе яичников самок видны фолликулы разной величины и степени созревания. Фолликулярный эпителий не изменен, ядра светлые, четкие, мозговое вещество яичников полнокровное. Клетки семенных канальцев яичек самцов находятся на разных стадиях сперматогенеза. Эпителий семенных канальцев и интерстициальные клетки не изменены. Ядра четкие.

Таким образом, по результатам гистологического исследования однодневное в/ж введение тестируемых хелатов в дозах, в 100-500 раз превышающих терапевтические, мышам обоего пола оказы-

вает выраженное токсическое действие, в основном, на печень. Почти у всех животных опытных групп наблюдаются геморрагические локальные очаги в ЖКТ.

#### *Данные некропсии*

В макроскопическом исследовании экспериментальных животных, переживших интоксикацию и подвергнутых запланированной эвтаназии, при применении тестируемых веществ различий в состоянии внутренних органов по сравнению с контрольной группой не обнаружено.

*Шерсть* опытных животных имела опрятный вид, была блестящей, без очагов облысения. Животные имели нормальную упитанность.

Признаков раздражения в месте введения вещества у мышей также не отмечалось.

При осмотре *грудной и брюшной полостей* нарушений в расположении внутренних органов также не наблюдалось.

Подчелюстные *лимфатические узлы* имели округлую форму, бледно-розовую окраску и умеренную плотность.

*Слюнные железы* округлой формы, бледно-желтого цвета, умеренной плотности.

*Щитовидная железа* плотно прилегала к гортани, имела обычные размеры и плотность, розовато-красноватый цвет. Тимус имел треугольную форму, беловатый цвет и умеренно плотную консистенцию.

Величина и форма *сердца* изменений не представляли. Мышца сердца была коричневатой, плотной.

Поверхность *легких* имела бледно-розовую окраску, легкие спадались при вскрытии грудной клетки. Ткань на разрезе также имела однородную бледно-розовую окраску.

Слизистая оболочка главных *bronхов* была гладкой, блестящей, бледно-розовой.

*Селезенка* имела темно-вишневый цвет, гладкую поверхность и плотноватую консистенцию.

*Желудок* имел обычную форму и размеры, просвет был заполнен плотным пищевым содержимым. Слизистая тела желудка была бледно-розовой, блестящей, складчатой.

*Слизистая тонкой и толстой кишки* была блестящей, гладкой.

*Поджелудочная железа* была бледно-розовой, дольчатой.

Величина и форма *печени* изменений не представляли. Капсула печени была тонкой, прозрачной. Ткань печени имела коричневатый цвет и умеренно плотную консистенцию.

Величина и форма *почек* не отличались от контроля, капсула легко снималась. Поверхность органа была гладкой, однородной коричневатосероватой окраски. На разрезе почек отчетливо различались корковое и мозговое вещество.

*Мочевой пузырь* пустой или заполнен прозрачной мочой. Слизистая оболочка пузыря гладкая, блестящая, бледно-розовой окраски.

Форма, размеры и плотность *надпочечников, яичников или яичек* не отличались от контроля.

Оболочки *головного мозга* были тонкими, прозрачными. Вещество головного мозга имело умеренную плотность. Расширения желудочков мозга не наблюдались.

Вычисляли средние массовые коэффициенты внутренних органов мышей всех исследуемых групп. В каждом случае сравнения проводились попарно, в соответствии с дозировкой. Статистически значимых отличий в массовых коэффициентах внутренних органов подопытных мышей обнаружено не было.

Все показатели находились в пределах физиологической нормы. Таким образом, было показано, что исследуемые вещества при однократном в/ж введении экспериментальным животным не изменяют массовые коэффициенты внутренних органов.

### **Заключение**

При исследовании острой токсичности хелатов на аутбредных мышцах были выявлены значения ЛД<sub>50</sub> тестируемых веществ. Предельная доза введенных хелатов была лимитирована максимально возможным объемом введения для мышей. Дозы веществ, которые вводили мышам, превышали терапевтические в 100-500 раз.

Картина интоксикации почти во всех случаях была выражена. Она нарастала довольно быстро: через 15-20 мин после введения наблюдались снижение двигательной активности, заторможенность, брадикардия; через 30-40 мин — прострация; через 1-7 ч — отечность глаз, утрата позы, потеря сознания, нарушение частоты дыхательных движений и гибель 10-80% животных, которым вводили хелатные соединения.

Оценка динамики массы тела показала, что однодневное внутрижелудочное введение экспериментальным животным тестируемых веществ не оказывает влияния на данный показатель. Масса тела мышей не изменялась в течение всего периода наблюдения, как в опытных, так и в контрольных группах.

Вскрытие животных спустя 14 дней после однократного введения хелатов не показало наличия каких-либо остаточных явлений, связанных с перенесенной интоксикацией.

Нами было установлено, что в группе животных, получавших смесь хела-

тов Микс-1, смертности не наблюдалось. Это можно объяснить тем, что при избыточных дозах на уровне энтерального обмена возникает конкуренция за всасывание минеральных элементов, в результате чего они как бы «нейтрализуют» друг друга.

Гибель животных при введении смеси Микс-2, по всей видимости, связана с острым переизбытком металлов, и, как следствие, нарушением стабильности энтеральной среды или блокировкой ферментных систем организма.

Остаточных явлений, связанных с перенесенной интоксикацией, при некропсии животных не обнаружено.

«*МиоАктив-Спорт*» — это специально разработанный комплексный высокобелковый полностью растворимый продукт, предназначенный для профессиональных спортсменов и олимпийского резерва, а также для спецконтингента, подверженного повышенным физическим и психоэмоциональным нагрузкам. Он представляет собой концентрированный комплекс основных жизненно необходимых пищевых и биологически активных веществ, улучшающих способность человека переносить физические и психоэмоциональные нагрузки. В результате научных исследований и испытаний разработчики «*МиоАктив-Спорт*» полностью отказались от использования химически синтезируемых аминокислот и витаминов, создав продукт, основные компоненты которого имеют натуральное природное происхождение. Белковые, полипептидные и аминокислотные компоненты имеют животное происхождение и получают путем ферментации и гидролиза белков сыворотки молока, мяса крупного рогатого скота и птицы. За счет современных технологий производства

аминокислотный, витаминный, макро- и микроэлементный состав «*МиоАктив-Спорт*» оптимизирован с учетом метаболизма человека, подверженного высоким физическим нагрузкам. Рациональное распределение компонентов «*МиоАктив-Спорт*» обеспечивается за счет современных методов аналитического контроля готового сырья.

Данные по 21-дневной субхронической токсичности исследуемых хелатных соединений, которые планируется включить в состав продукта, будут представлены в следующем номере журнала.

### Список литературы

1. *Авцын А.П., Жаворонков Ф.Ф., Риш М.А., Строчкова Л.С.* Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология. — М.: Медицина. 1991. 496 с.
2. *Березовская И.В.* Классификация химических веществ по параметрам острой токсичности при парентеральных способах введения // Хим.-фармац. журн. 2003. Т. 37. № 3. С. 32-34.
3. *Бландова З.К., Душкин В.А., Малашенко А.М., Шмидт Е.Ф.* Линии лабораторных животных для медико-биологических исследований. — М.: «Наука». 1983. 190 с.
4. *Гацура В.В.* Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ. — М., «Медицина». 1974. 143 с.
5. *Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А., Западнюк Б.В.* Лабораторные животные. — Киев: Вища школа. 1983. 384 с.
6. *Каркищенко Н.Н.* Альтернативы биомедицины. Т. 2. Классика и альтернативы фармакотоксикологии. — М.: Изд-во ВПК. 2007.

7. **Каркищенко В.Н., Капанадзе Г.Д., Станкова Н.В., Ревякин А.О., Матвеев Е.Л., Костогрызова Р.Г., Люблинский С.Л., Колышев И.Ю., Берзин И.А.** Оценка эффективности рецептуры «МيوАктив-Спорт» в модельных условиях высоких физических нагрузок // Биомедицина. 2012. № 4. С. 70-75.
8. **Литвицкий П.Ф.** Патофизиология. Том 2. — М.: Из-во Гэотар-Мед. 2002. 807 с.
9. Правила доклинической оценки безопасности фармакологических средств (РД 64-126-91). — М.: МЗ России. ФК. 1992. 45 с.
10. **Ревякин А.О., Алимкина О.В., Каркищенко Н.Н., Каркищенко В.Н., Капанадзе Г.Д., Киселев А.Г., Казакова Л.Х., Степанова О.И., Касинская Н.В., Деньгина С.Е., Люблинский С.Л., Колышев И.Ю., Берзин И.А.** Влияние рецептуры «МيوАктив-Спорт» на биохимические и гематологические показатели лабораторных крыс // Биомедицина. 2012. № 4. С. 59-66.
11. **Ревякин А.О., Алимкина О.В., Каркищенко Н.Н., Каркищенко В.Н., Капанадзе Г.Д., Киселев А.Г., Казакова Л.Х., Степанова О.И., Касинская Н.В., Деньгина С.Е., Люблинский С.Л., Колышев И.Ю., Берзин И.А.** Исследование гормонального статуса лабораторных крыс при употреблении рецептуры «МيوАктив-Спорт» // Биомедицина. 2012. № 4. С. 67-70.
12. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях / под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. — М.: Профиль-2С. 2010.
13. Руководство по проведению клинических исследований лекарственных средств / под ред. А.Н. Миронова. — М.: Гриф и К, 2012. 212 с.
14. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. чл.-корр. РАМН, проф. Р.У. Хабриева. — 2 изд., перераб. и доп. — М.: ОАО «Издательство «Медицина». 2005. 832 с.
15. **Сидоров К.К.** Методы определения острой токсичности и опасности химических веществ // Токсикология. — М.: Медицина. 1970. 171 с.
16. **Скальный В.Л., Рудаков И.А.** Биоэлементы в медицине. — М.: Изд. дом «Оникс 21 век»: Мир. 2004. 272 с.
17. **Урбах В.Ю.** Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях (монография). — М.: Медицина. 1975. 296 с.
18. Человек. Медико-биологические данные. Публ. 23. МКРЗ. — М.: Медицина. 1977. 496 с.
19. **Эмсли Дж.** Элементы (пер. с англ.). — М.: Мир. 1993. 256 с.
20. **Bertram H.P.** Spurrenelemente. Analytik, okotoxikologische und medizinisch-klinische bedeutung.-Munchen, Wein, Baltimore: Urban und Schwarzenberg. 1992. 207 p.
21. **Furst A.** Chemistry of chelation in cancer / Springfield: C.C. Thomas. 1963.
22. Guide for the care and use of laboratory animals. — National Academy press. — Washington, D.C. 1996.
23. Haaranalyse in medizin und umwelt / Herausb. von C. Krause und M. Chutsch., — Stuttgart, New York: Gustav Fischer Verlag. 1987. 223 s.
24. **Morgan G.T., Drew H.D.K.** Researches on residual affinity and coordination: II. Acetylacetonates of selenium and

tellurium // J. chem. soc. 1920. 117/118  
(697). P. 1456-1465.

25. *Pais I., Jonts J.B.* The handbook of elements. Boca Raton: St. Lucie Press. 2000. 223 p.

## **Role of microcells in the sports nutrition and safety of metalchelates**

**N.N. Karkischenko, V.N. Karkischenko, S.L. Lyublinskiy, G.D. Kapanadze, E.B. Shustov, A.O. Revyakin, L.A. Bolotskikh, N.V. Kasinskaya, N.V. Stankova**

Chelated zinc, magnesium, manganese, cobalt, iodine, iron, and mixtures thereof in various doses were investigated in the acute toxicity experiment. These compounds may be used as components for sports nutrition product "MioActive-Sport". Toxicity effect was showed as individual chelating compounds and mixtures thereof in the laboratory experiment outbred mice at doses many times exceeding the therapeutic. Found that the 100-500-fold excess of a therapeutic dose of chelates exhibit some toxic effects observed at this competition clearly vital micronutrient absorption by the gastrointestinal tract.

**Key words:** MioActive-Sport, chelates, mice, acute toxicity.