



Особенности распределения металлов в организме лабораторных животных при разных уровнях их пищевого потребления

А.О. Ревякин¹, Н.Н. Каркищенко¹, Е.Б. Шустов¹, В.Н. Каркищенко¹,
Д.А. Ксенофонтов², Н.В. Касинская¹

¹ – ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России», Московская обл.

² – РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва

Контактная информация: к.б.н. Ревякин Артем Олегович, ar_info@mail.ru

Методом атомно-абсорбционной спектроскопии оценено содержание кальция, магния, железа, меди, марганца и цинка в тканях лабораторных животных при уровнях пищевого потребления, составляющих 100, 120 и 140% от суточной потребности. Установлено, что избыточное пищевое потребление металлохелатов в течение 28 дней не вызывает их значимой кумуляции в организме. Высказано предположение о существовании особых механизмов ускоренной элиминации некоторых металлохелатов (марганец, медь, цинк) при повышенном уровне их поступления в ЖКТ.

Ключевые слова: металлохелаты, микроэлементы, содержание в тканях, атомно-абсорбционная спектроскопия.

Введение

Одним из серьезных научных достижений второй половины XX века является установление роли металлоферментов и микроэлементов в эффективной жизнедеятельности организма человека. Современные витаминные препараты, различные комплексы для коррекции метаболизма у здоровых и больных людей содержат большое разнообразие солей металлов.

В отношении многих металлов к настоящему времени разработаны нормы суточного потребления для практически здоровых людей, имеются отдельные рекомендации для частных клинических

патологий (например, для кальция при патологии костной ткани, железа – при нарушениях кроветворения, цинка – при нарушениях в иммунной системе) [1]. В то же время особенности распределения металлов в тканях при разных уровнях пищевого потребления, вопросы их взаимодействия в организме человека, в т.ч. – возможной конкуренции на этапах фармакокинетики, остаются недостаточно подробно изученными.

Цель исследования – изучить особенности содержания кальция, меди, марганца, железа, магния и цинка в тканях животных при кумулятивном избыточном потреблении.

Материалы и методы

Исследование планировалось и проводилось в соответствии с требованиями ГОСТ 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP)» и РД 64-126-91 «Правила доклинической оценки безопасности фармакологических средств». Протокол исследования был одобрен биоэтической комиссией НЦБМТ ФМБА России.

Исследование выполнялось на лабораторных белых аутбредных крысах, полученных из филиала «Андреевка» НЦБМТ ФМБА России. Карантин, содержание, осмотры, разделение животных на группы, введение препаратов и эвтаназия регламентировались утвержденными стандартными операционными процедурами (СОП) организации [5]. Критериями включения животных в исследование были: пол, возраст, масса тела, отсутствие признаков заболевания.

Кормление животных осуществлялось стандартным экструдированным гранулированным полнорационным комбикормом для лабораторных животных ПК-120, произведенным в соответствии с ГОСТ Р 51849-2001 Р.5, ad libitum, исходя из суточных нормативов. Очищенная водопроводная вода давалась всем животным ad libitum в стандартных поилках.

В суточной дозе комбикорма (из расчета на одну крысу массой 250 г) содержалось: кальция – 54 мг; железа – 0,54 мг; цинка – 0,136 мг; марганца – 0,27 мг; меди – 0,072 мг; магния – 0,8 мг; кобальта – 0,0054 мг [3].

Так как в исследовании планировалось изучение содержания металлов в тканях животных при избыточном их поступлении, то дополнительное количество металлов, обеспечивающее превышение суточной нормы потребления на 20 и 40%, вводилось животным в виде

смеси хелатных комплексов, ежедневно, однократно, внутривенно с помощью зонда, в 0,1 мл водного раствора, на протяжении 28 дней.

Животные выводились из эксперимента методом декапитации с отбором проб крови и тканей. Ткани высушивались в сушильном шкафу при температуре +105°C до достижения постоянной сухой массы, затем озолялись в муфельной печи при температуре +850°C. Навески золы растворяли в два раза дистиллированной воде и определяли содержание металлов методом атомно-абсорбционной спектроскопии с помощью прибора «Спектр 5-4» (производство ОАО «Союзцветметавтоматика», Россия; № Государственного реестра средств измерений 13743-04). Полученные количественные результаты измерений из зольных навесок пересчитывались в содержание металлов в тканях (мг/100 г сухого вещества ткани).

Исследуемые металлохелатные комплексы были получены путем совместной инкубации при комнатной температуре и pH=7,1-7,2 водных растворов солей металлов с низкомолекулярной фракцией (<10 кД) ферментативных гидролизатов сывороточных белков молока [4]. Жидкие хелаты лиофильно высушивали и определяли в них содержание металлов атомно-абсорбционным методом.

В работе исследовалось содержание металлов в следующих тканях: кровь (суммарно плазма и форменные элементы), печень, кости (включая костный мозг), волосы, мышцы, кишечник (включая кишечное содержимое). Выбранные для исследования ткани, с одной стороны, отражают специфичность депонирования и органотропность действия металлов [2, 6], а с другой – позволяют косвенно характеризовать этапы их фар-

макокинетики (всасывание в кишечнике, поступление после всасывания по порտальной системе в печень, формирование плазменных, эритроцитарных и тканевых депо).

О динамике интегрального содержания того или иного металла в организме животных при различных уровнях пищевого потребления судили по сумме показателей для разных тканей. Это же значение использовалось для расчета структуры распределения металлов по тканям.

Достоверность различий между показателями оценивалась по F-критерию однофакторного дисперсионного анализа. Для оценки степени связи между показателями рассчитывался ранговый коэффициент корреляции по Спирмену.

В соответствии с процедурой рандомизации были сформированы 3 равноценные группы животных (контрольная и 2 опытных) по 10 особей в каждой. Первой и второй опытным группам животных дополнительно к суточному питанию вводили дозы хелатного комплекса, обеспечивающие превышение суточных норм потребления металлов на 20 и 40% соответственно. Контрольным животным вводили эквивалентное количество физиологического раствора.

Результаты и их обсуждение

Начальная масса животных во всех группах равнялась 208 ± 5 г. Прирост этого показателя происходил равномерно и за период исследования (28 дней) составил, в среднем, 40 г.

В табл. 1 представлены данные об изменениях интегрального содержания анализируемых металлов (средние по группам) при разных уровнях их пищевого потребления.

Анализ табл. 1 показывает, что увеличение уровня пищевого потребления

металлов неоднозначно сказывается на интегральном показателе их содержания в организме. Так, увеличение потребления кальция на 20% сопровождается повышением его содержания в организме только на 6% ($p=0,02$). Для цинка этот эффект выражен несколько слабее (4%) и находится на уровне статистических тенденций ($p=0,06$).

Данное повышение уровня пищевого потребления меди, железа и магния не приводило к заметным сдвигам в содержании этих металлов в организме. В то же время увеличение пищевого потребления марганца на 20% сопровождалось снижением показателя его интегрального содержания в организме на треть (66%, $p=0,0005$). Полученные результаты могут быть объяснены, если предположить существование механизма ускоренного выведения металлов из организма при превышении какого-либо порогового их уровня в кишечнике. Подобный механизм (при более высоком уровне порога срабатывания) может объяснить и наблюдаемое снижение (не взирая на более высокий уровень пищевого потребления, равный 140% от рекомендуемого) интегрального показателя содержания в организме таких металлов как кальций (89%, $p=0,0001$) и цинк (возврат к значениям при обычном уровне потребления).

Необходимо отметить, что для железа, вероятно, существует несколько иной механизм реакции на превышение его поступления с пищей, так как при уровне потребления этого металла в 140% от рекомендуемой нормы его содержание в организме будет соответствовать уровню потребления (+42%, $p=0,0002$). Ни для какого другого из исследованных металлов нами не было получено увеличение содержания их в организме, близкое к

Таблица 1

Влияние уровней пищевого потребления на интегральное содержание металлов в организме крыс (средние по группе, $M \pm m$)

Металл	Интегральное содержание металлов в организме по уровням потребления		
	F1 (100%), контроль	F2 (120%)	F3 (140%)
Са, мг/100 г ткани % р	1781±27 100	1896±35 106 p=0,02	1578±31 89 p=0,0001
Си, мг/100 г ткани % р	6,79±0,15 100	6,96±0,38 102 p=0,68	6,50±0,16 96 p=0,19
Мп, мг/100 г ткани % р	9,64±0,43 100	6,33±0,69 66 p=0,0005	10,48±0,59 109 p=0,25
Fe, мг/100 г ткани % р	361,7±18,7 100	328,5±12,1 91 p=0,15	513,9±26,9 142 p=0,0002
Mg, мг/100 г ткан % р	67,54±0,82 100	66,95±0,98 99 p=0,71	73,22±1,06 108 p=0,0004
Zn, мг/100 г ткани % р	39,44±0,39 100	41,09±0,72 104 p=0,06	39,26±0,72 100 p=0,81

уровню превышения рекомендованных дисперсионного анализа значений ткане- норм потребления. ного содержания металлов по фактору

В табл. 2 представлены результаты «Уровень пищевого потребления».

Таблица 2

Результаты дисперсионного анализа тканевого содержания металлов по фактору «Уровень пищевого потребления»

Металл	Ткань	Центроиды распределения (мг/100 г ткани) по уровням потребления			Кoeffициент детерминации модели, D	Уровень значимости, p
		F1 (100%), контроль	F2 (120%)	F3 (140%)		
Кальций	Кровь	3,81	4,34	2,92	0,66	5*10 ⁻⁷
	Печень	2,72	2,39	2,41	0,08	0,33
	Кость	1667	1822	1442	0,73	2*10 ⁻⁸
	Волосы	4,29	6,45	3,53	0,79	7*10 ⁻¹⁰
	Мышцы	9,68	18,88	17,93	0,84	2*10 ⁻¹¹
Медь	Кишечник	93,11	42,11	110,15	0,81	1*10 ⁻¹⁰
	Кровь	0,82	0,87	0,88	0,01	0,85
	Печень	1,42	1,64	1,43	0,04	0,59
	Кость	1,22	1,66	1,04	0,86	4*10 ⁻¹²
	Волосы	1,54	1,44	1,11	0,31	0,007
	Мышцы	0,34	0,46	0,36	0,54	3*10 ⁻⁵
	Кишечник	1,44	0,88	1,16	0,57	1*10 ⁻⁵

Марганец	Кровь	0,11	0,09	0,09	0,02	0,76
	Печень	0,56	0,59	0,46	0,43	0,0005
	Кость	0,52	0,97	0,63	0,39	0,0013
	Волосы	0,14	0,23	0,15	0,40	0,001
	Мышцы	0,10	0,07	0,07	0,12	0,17
Железо	Кишечник	8,18	4,37	9,06	0,60	$5 \cdot 10^{-6}$
	Кровь	196,5	167,7	320,4	0,52	$5 \cdot 10^{-5}$
	Печень	90,6	105,8	117,6	0,32	0,006
	Кость	12,55	14,04	17,74	0,20	0,05
	Волосы	4,27	7,27	2,83	0,78	$2 \cdot 10^{-9}$
Магний	Мышцы	8,31	8,80	6,97	0,28	0,012
	Кишечник	49,3	24,9	48,4	0,71	$5 \cdot 10^{-8}$
	Кровь	1,94	1,73	1,79	0,16	0,09
	Печень	5,85	6,26	7,37	0,70	$8 \cdot 10^{-7}$
	Кость	34,7	36,7	33,8	0,31	0,007
Цинк	Волосы	1,73	2,28	1,94	0,46	0,0002
	Мышцы	8,04	8,91	8,10	0,29	0,009
	Кишечник	15,24	11,08	20,16	0,61	$3 \cdot 10^{-6}$
	Кровь	2,48	2,32	2,47	0,02	0,80
	Печень	4,11	4,13	3,44	0,14	0,14
	Кость	20,15	22,85	18,68	0,49	0,0001
	Волосы	3,17	3,11	3,90	0,09	0,26
	Мышцы	2,98	3,49	3,19	0,55	$2 \cdot 10^{-5}$
	Кишечник	6,56	5,18	7,58	0,44	0,0004

Данные, представленные в табл. 2, показывают, что для основной массы изученных показателей содержания металлов в тканях фактор «Уровень пищевого потребления» является статистически значимым. Однако динамика центроидов облаков рассеивания значений в большинстве случаев не является монотонной (т.е. увеличение уровня пищевого потребления не сопровождается увеличением содержания металла в тканях), что отражает сложность и неоднозначность механизмов фармакокинетики этих соединений. В основном, монотонная динамика центроидов была характерна для содержания железа в печени и костной ткани, а также для магния в печени.

Обращает на себя внимание тот факт,

что в отношении **крови** только для кальция фактор «Уровень пищевого потребления» был статистически значимым. У остальных металлов их содержание в крови не зависело от уровня пищевого потребления, что отражает особую гомеостатическую регуляцию химического состава крови. Фактор «Уровень пищевого потребления» для **печени** был значим (в порядке убывания значимости) у магния, марганца, железа; для **костной ткани** – у меди, кальция, цинка, марганца, магния, железа; для **волос** – у кальция, железа, магния, марганца, меди, но не у цинка; для **мышц** – у кальция, цинка, меди, магния, железа, но не у марганца. Для **кишечника**, с учетом пищевого поступления металлов в организм, все ис-

следуемые металлы были чувствительны к фактору «Уровень пищевого потребления»: в большей степени это касалось кальция, железа, марганца и магния; в меньшей – меди и цинка. Отмеченное повышение содержания металлов в кишечнике при уровне его потребления в 140% по сравнению с контрольной группой, возможно, обусловлено не только снижением скорости абсорбции, но и образованием в химусе трудно растворимых, не абсорбируемых соединений цинка с кальцием и медью.

На скорость всасывания металлов в кишечнике может оказывать влияние и кальций-магниевое соотношение, регулирующее конкурентное взаимодействие между этими металлами, в т.ч. на уровне транспортных белков и механизмов энтеральной абсорбции. Так, для кишечника кальций-магниевый коэффициент снижается при избыточном потреблении металлов с 6,1 (уровень потребления 100%) до 3,8 (уровень потребления 120%) с частичным восстановлением до 5,4 при уровне потребления 140%.

Важной характеристикой присутствия микроэлементов в организме является структура их тканевого распределения. В табл. 3 представлены данные, характеризующие распределение металлов по анализируемым тканям в зависимости от уровня их пищевого потребления.

Анализ табл. 3 показывает, что основная часть пищевого **марганца** остается в кишечнике, и существенное (на 40%) увеличение его потребления практически не приводит к изменению распределения этого металла в организме. В то же время при умеренном повышении его пищевого потребления (+20% к рекомендуемым дозам) включаются механизмы, облегчающие его всасывание (снижение содержания в кишечнике при повышении уровня содержания в крови) и перераспределение по организму (увеличение содержания в костях и печени). Содержание **кальция** в кишечнике самое низкое по сравнению с другими металлами. Основным органом депонирования этого металла является костная ткань (более 90% для всех изученных уровней потребления). Вероятно, существует особый механизм регулирования содержания кальция в крови, так как структура его распределения в организме остается неизменной (0,2%) при разных уровнях пищевого потребления. Кроме кальция, костная ткань (включающая костный мозг) является главным органом депонирования и для **магния**, и для **цинка**. Однако распределение этих металлов в организме, по сравнению с кальцием, является более равномерным, и содержание их в костях составляет не 90, а только 45-55%. Вторую по значимости группу тканей, где депонируется маг-

Таблица 3

Структура распределения металлов в тканях (%) в зависимости от уровня их пищевого потребления

Металл	Уровень потребления	Ткань					
		кровь	печень	кость	волосы	мышцы	кишечник
Кальций	F1 (100%)	0,2	0,1	94,0	0,2	0,5	5,0
	F2 (120%)	0,2	0,1	96,1	0,3	1,0	2,3
	F3 (140%)	0,2	0,1	91,3	0,2	1,1	7,1
Медь	F1 (100%)	12,1	21,0	18,1	22,7	5,0	21,1
	F2 (120%)	12,5	23,5	23,9	20,9	6,6	12,6
	F3 (140%)	13,6	22,1	16,0	17,1	5,6	25,6

Марганец	F1 (100%)	1,1	5,8	5,4	1,8	1,0	85,9
	F2 (120%)	1,4	9,4	15,3	3,7	1,7	69,1
	F3 (140%)	0,9	4,4	6,0	1,5	0,7	86,5
Железо	F1 (100%)	54,3	25,1	3,5	1,2	2,3	13,6
	F2 (120%)	51,1	32,2	4,3	2,2	2,7	7,6
	F3 (140%)	62,3	22,9	3,5	0,6	1,4	9,3
Магний	F1 (100%)	2,9	8,7	51,4	2,6	11,8	22,36
	F2 (120%)	2,6	9,4	54,8	3,4	13,3	16,5
	F3 (140%)	2,4	10,1	46,2	2,7	11,1	27,5
Цинк	F1 (100%)	6,3	10,4	51,2	8,0	7,5	16,6
	F2 (120%)	5,7	10,1	55,6	7,6	8,5	12,6
	F3 (140%)	6,3	8,8	47,6	9,9	8,1	19,3

ний и цинк, составляют мышцы и печень (содержание металлов находится в диапазоне 8-13%). Относительно равномерно в организме распределяется **медь** (с некоторым депонированием в печени, пик содержания находится в диапазоне 21-24%). Для **железа** основной тканью депонирования является кровь, причем при увеличении уровня пищевого насыщения железом на 40% происходит структурный сдвиг перераспределения металла по организму, и его доля в крови повышается с 51% при нормальном уровне пищевого потребления – до 61%.

Корреляционный анализ показал, что с уровнем пищевого потребления содержание металлов в тканях практически не связано (рис.). Из всего массива данных только для 4-х исследуемых показателей были получены достоверные коэффициенты корреляции с уровнем пищевого потребления:

- содержание железа в крови ($r=+0,55, p=0,04$);
- содержание железа в печени ($r=+0,56, p=0,04$);
- содержание магния в печени ($r=+0,81, p=0,006$);
- содержание кальция в мышцах ($+0,75, p=0,01$).

Следовательно, если возникает необходимость повысить сверх нормального уровня содержание железа в крови или печени, кальция в мышцах или магния в печени, то это может быть достигнуто путем повышения их пищевого потребления, причем чем больший прирост содержания металла необходим, тем более высокий уровень его пищевого потребления необходимо создать.

Выводы:

1. Повышение уровня пищевого потребления металлов не однозначно сказывается на их интегральном содержании в организме.

2. Изменения содержания металлов в тканях позволяют предположить, что в организме животных существует механизм их ускоренной элиминации при превышении пороговых величин содержания в кишечнике. Для кальция и цинка уровень срабатывания элиминационного механизма выше, чем для марганца, магния и меди.

3. Типовая динамика содержания железа при избыточном поступлении с пищей отличается от таковой других металлов. При превышении суточной потребности железа на 40% его содержание

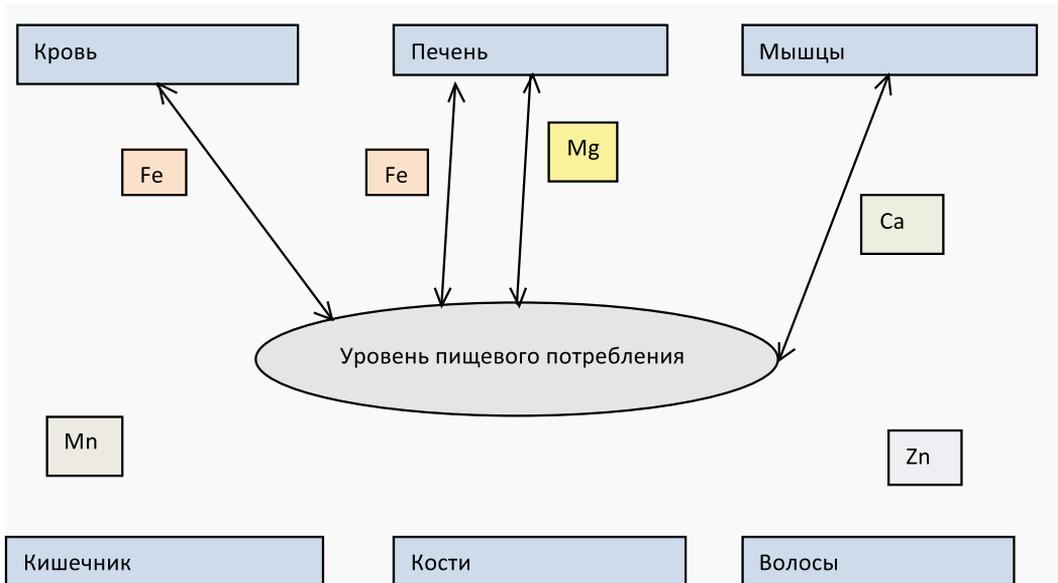


Рис. Граф корреляционных связей содержания металлов в тканях и уровня пищевого потребления.

в организме будет соответствовать уровню потребления.

4. Содержание металлов в крови животных (кроме железа) практически не зависит от уровня их пищевого потребления, что отражает особую гомеостатическую регуляцию химического состава крови.

5. Лучше всего всасываются в ЖКТ хелаты кальция, хуже всего – хелаты марганца.

6. Основные тканевые депо для металлов формируются в костной ткани (для кальция, магния, цинка); печени (для меди); крови (для железа). Повышенное содержание магния и цинка на фоне избыточного потребления отмечается также в печени и мышцах.

7. Выявлены достоверные корреляционные связи содержания железа в крови, железа в печени, магния в печени и кальция в мышцах с уровнем пищевого потребления этих металлов.

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. *Иванов А.А., Полякова Е.П., Ксенофонтов Д.А.* Общебиологический феномен депонирования катионов структурами химуса и его значение для создания смесей энтерального питания // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2012. № 2. С. 71-74.
3. *Кальницкий Б.Д.* Минеральные вещества и кормление животных. - Л.: Агропромиздат. 1985. 207 с.
4. *Каркищенко Н.Н., Каркищенко В.Н., Люблинский С.Л., Капаназе Г.Д., Шустов Е.Б., Ревякин А.О., Болотских Л.А., Касинская Н.В., Станкова Н.В.* Роль микроэлементов в спортивном питании и безопасность металлохелатов // Биомедицина. 2013. № 2. С. 12-41.

5. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях / под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. - М.: Профиль-2С. 2010. 358 с.
6. *Шлыгин Г.К.* Межорганный обмен нутриентами и пищеварительная система. - М; Изд-во МГГУ. 1997. 136 с.

Features of distribution of metals in an organism of laboratory animals at different levels of their food consumption

A.O. Revyakin, N.N. Karkischenko, E.B. Shustov, V.N. Karkishenko, D.A. Ksenofontov, N.V. Kasinskaya

The content of calcium, magnesium, iron, copper, manganese and zinc in tissues of laboratory animals at levels of food consumption, comprising 100, 120 and 140% of the daily requirement evaluated by atomic absorption spectrometry. It is found that excess food intake metalchelates for 28 days doesn't cause their significant accumulation in an organism. Suggested the existence of specific mechanisms for the accelerated elimination of some metalchelates (manganese, copper, zinc) at an elevated level of their income in the digestive tract.

Key words: metalchelates, microcells, content in tissues, atomic absorption spectrometry.