



Взаимовлияния микроэлементов в мышцах лабораторных животных при нормальном и избыточном пищевом потреблении

А.О. Ревякин¹, Н.Н. Каркищенко¹, Е.Б. Шустов¹, В.Н. Каркищенко¹,
Д.А. Ксенофонов²

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

² – ФГБОУ ВПО РГАУ-МСХА имени К.А.Тимирязева, Москва

Контактная информация: к.б.н. Ревякин Артем Олегович, scbmt@yandex.ru

Методом атомно-абсорбционной спектрометрии изучено содержание кальция, магния, железа, меди, марганца и цинка в тканях лабораторных животных при уровнях пищевого потребления, составляющих 100, 120 и 140% от суточной потребности. Выявлены статистические закономерности их взаимосвязи в крови.

Ключевые слова: металлохелаты, микроэлементы, атомно-абсорбционная спектрометрия.

В данной статье продолжается анализ результатов исследования особенностей распределения металлов в тканях лабораторных животных при их нормальном и избыточном пищевом потреблении, частично опубликованных нами ранее [2-5].

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,

поступивших из филиала «Андреевка» НЦБМТ ФМБА России. Карантин, содержание животных, осмотры и рандомизация, введение препаратов и эвтаназия осуществлялись в соответствии с утвержденными СОП (Стандартные операционные процедуры) организации.

Животные содержались в вентилируемых клетках системы RairIsoSystem. В качестве корма для животных использовался стандартный экструдированный гранулированный полнорационный комбикорм для лабораторных животных ПК-120, произведенный в соответствии с ГОСТ Р 51849-2001 Р.5. Кормление животных осуществлялось в свободном режиме, исходя из суточных нормативов. Водопроводная очищенная вода давалась всем животным *ad libitum* в стандартных поилках.

Полнорационный комбикорм в суточной дозе (из расчета на одну крысу массой 250 г) содержал 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.

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, внутривентрикулярно в объеме 0,1 мл водного раствора, на протяжении 28 дней.

Животные выводились из эксперимента методом декапитации с отбором крови и тканей. Ткани высушивались в сухожаровом шкафу при температуре +105°C до достижения постоянной сухой массы, затем озолялись в муфельной печи при температуре +850°C. Навески золы растворяли в 30% химически чистой соляной кислоте и определяли содержания металлов методом атомно-абсорбционной спектроскопии [6] (прибор «Спектр

5-4», производство ОАО «Союзцветметавтоматика», Россия, номер Государственного реестра средств измерений 13743-04). Полученные количественные результаты измерений из золевых навесок пересчитывались в содержание металлов в тканях (мг/100 г 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 кДа) ферментативных гидролизатов сычужинных белков молока [1]. Полученные жидкие хелаты лиофильно высушивали и определяли в них содержание металлов атомно-абсорбционным методом.

В работе исследовалось содержание металлов в мышцах лабораторных животных.

Результаты и их обсуждение

Содержание металлов в мышечной ткани крыс (мг/100 г ткани) при нормальном и избыточном пищевом потреблении имеет следующие статистические характеристики (табл. 1).

Таблица 1

Статистические характеристики содержания металлов в тканях мышц крыс при нормальном и избыточном его пищевом потреблении

Статистический параметр	Ca	Cu	Mn	Fe	Mg	Zn
Среднее	15,50	0,38	0,08	8,02	8,35	3,22
Стандартная ошибка	0,83	0,01	0,01	0,27	0,13	0,05
Медиана	16,92	0,37	0,07	7,99	8,49	3,18
Мода	20,00	0,40	0,07	10,19	8,20	3,00
Стандартное отклонение	4,59	0,07	0,03	1,48	0,74	0,29
Дисперсия выборки	21,14	0,01	0,01	2,21	0,56	0,08
Эксцесс	-1,466	0,654	-1,133	-0,332	-0,035	-0,529
Асимметричность	-0,342	0,818	0,296	-0,242	-0,659	0,555
Интервал	13,6	0,28	0,12	5,95	2,94	0,98
Минимум	8,4	0,27	0,02	4,72	6,78	2,84
Максимум	22,0	0,55	0,14	10,67	9,72	3,82
Коэффициент вариации	0,29	0,18	0,48	0,18	0,08	0,09
Нижняя граница среднего уровня, мг/100 г ткани	10,0	0,30	0,04	6,50	7,70	2,90
Нижняя граница верхнего уровня	20,0	0,45	0,11	9,00	9,00	3,50

Анализ табл. 1 показывает, что основная масса металлов (за исключением меди) имеет характер распределения содержания в мышцах, далекий от кривой нормального распределения (расходящиеся значения средней величины, медианы и моды распределения, высокие значения параметров «эксцесс» и «асимметрия»), и, следовательно, в отношении содержания в мышцах кальция, марганца, железа, магния и цинка существуют значимые внешние факторы воздействия. Распре-

деление же значений содержания меди близко к кривой нормального распределения, и на него возможно минимальное влияние каких-либо внешних факторов.

Данные, характеризующие возможное влияние уровня содержания одних металлов («независимые» металлы) в мышцах на содержание других исследуемых металлов («зависимые» металлы), обработаны статистически методом дисперсионного факторного анализа и представлены в табл. 2.

Таблица 2

Влияние уровня металла в тканях мышц животных на содержание других металлов в мышцах

Металл независимый	Металл зависимый	Центроиды распределения (мг/100 г ткани) по уровням содержания независимого металла в мышцах			Коэффициент детерминации модели (D)	Уровень значимости (p)
		низкий	средний	высокий		
Кальций	Медь	0,3	0,41	0,40	0,26	0,02
	Марганец	0,11	0,07	0,07	0,12	0,17
	Железо	8,7	7,7	8,1	0,07	0,38
	Магний	7,7	8,7	8,2	0,25	0,02
	Цинк	2,9	3,3	3,4	0,32	0,006
Медь	Кальций	8,6	16,0	17,5	0,27	0,02
	Марганец	0,10	0,08	0,07	0,03	0,63
	Железо	10,2	7,5	9,0	0,39	0,002
	Магний	8,0	8,3	9,0	0,17	0,08
	Цинк	2,9	3,2	3,4	0,19	0,06
Марганец	Кальций	21,1	14,4	15,4	0,24	0,02
	Медь	0,41	0,39	0,38	0,02	0,78
	Железо	9,0	8,3	6,7	0,26	0,02
	Магний	9,1	8,4	7,7	0,35	0,003
	Цинк	3,6	3,1	3,2	0,34	0,004
Железо	Кальций	13,5	17,0	13,6	0,14	0,12
	Медь	0,34	0,40	0,39	0,09	0,31
	Марганец	0,09	0,08	0,07	0,02	0,79
	Магний	8,0	8,3	8,6	0,06	0,44
	Цинк	3,1	3,2	3,2	0,04	0,59
Магний	Кальций	16,1	14,2	18,4	0,09	0,25
	Медь	0,37	0,38	0,45	0,14	0,14
	Марганец	0,13	0,07	0,05	0,41	0,0008
	Железо	6,7	8,0	9,3	0,37	0,02
	Цинк	3,0	3,2	3,5	0,29	0,01
Цинк	Кальций	9,2	16,0	20,6	0,50	0,00001
	Медь	0,32	0,40	0,40	0,17	0,08
	Марганец	0,08	0,08	0,05	0,09	0,28
	Железо	9,1	7,6	9,0	0,21	0,04
	Магний	8,1	8,3	8,9	0,09	0,26

Анализ табл. 2 показывает, что только для железа не выявлено влияний на содержание других металлов в мышцах. Для остальных металлов наблюдались несколько типов влияний.

Влияние по типу усиления было характерно для воздействия **кальция** на содержание цинка (коэффициент корреляции между величинами $+0,68$; коэффициент детерминации модели $0,32$; $p=0,006$) и меди (коэффициент детерминации $0,26$; $p=0,02$), для воздействия **меди** на содержание кальция (коэффициент детерминации $0,27$; $p=0,02$), цинка (коэффициент детерминации $0,19$; $p=0,06$) и магния (коэффициент детерминации $0,17$; $p=0,08$), для воздействия **магния** на содержание в мышцах железа (коэффициент детерминации $0,37$; $p=0,02$) и цинка (коэффициент детерминации $0,29$; $p=0,01$), для воздействия **цинка** на содержание в мышцах кальция (коэффициент корреляции между величинами $r=+0,68$; коэффициент детерминации $0,50$; $p=0,00001$) и меди (коэффициент корреляции между величинами $r=+0,54$; коэффициент детерминации $0,17$; $p=0,08$).

Влияние по типу конкурентного вытеснения было характерно для воздействия **марганца** на содержание в мышцах магния (коэффициент корреляции между величинами $r=-0,65$; коэффициент детерминации $0,35$; $p=0,003$), цинка (коэффициент детерминации $0,34$; $p=0,004$), железа (коэффициент детерминации $0,26$; $p=0,02$) и кальция (коэффициент детерминации $0,24$; $p=0,02$), а также для воздействия магния на содержание в мышцах марганца (коэффициент корреляции между величинами $r=-0,65$; коэффициент детерминации $0,41$; $p=0,0008$).

Влияние по типу куполообразной кривой, при котором низкому значению независимого фактора соответствует низкое значение зависимого металла, повышение уровня независимого фактора до среднего уровня вызывает максимально высокое повышение уровня зависимого металла, но дальнейшее повышение концентрации в тканях независимого металла ведет к частичному вытеснению из мышечного тканевого депо зависимого металла. Такой тип влияния был характерен для воздействия **кальция** на содержание в мышцах магния (коэффициент детерминации $0,25$; $p=0,02$).

Влияние по типу чашеобразной кривой, при котором низкому значению независимого фактора соответствует максимальное содержание зависимого металла в мышцах, при повышении содержания независимого фактора до среднего уровня происходит снижение содержания зависимого металла в тканях, однако дальнейший рост уровня независимого фактора вновь сопровождается повышением значений содержания зависимого металла в тканях. Этот тип взаимодействия характеризуется дозозависимым характером: при низких дозах независимого металла формируется конкурентное взаимодействие с приоритетом зависимого металла, затем происходит его частичное конкурентное вытеснение растущим содержанием независимого металла. Однако избыточно высокое содержание независимого металла ведет к усилению синтеза белков-носителей зависимого металла, что и проявляется ростом его содержания в тканях. Такой тип взаимодействия был характерен для влияния **меди** на содержание железа в мышцах (коэффициент

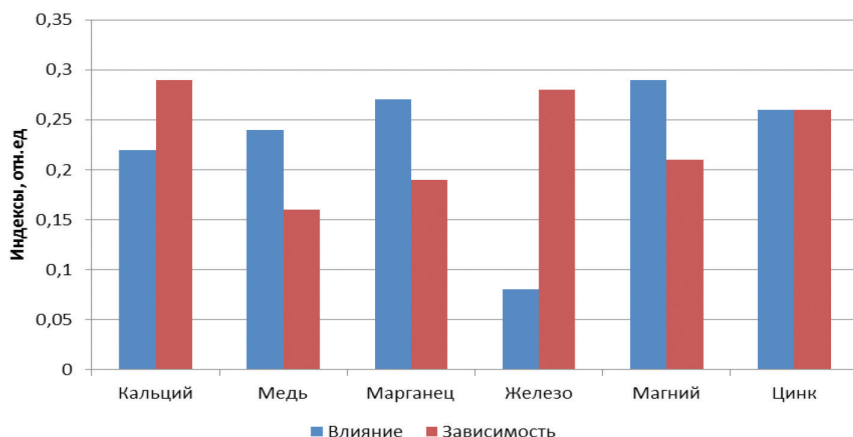


Рис. 1. Интегральная оценка влияния и зависимости металлов друг от друга в мышцах крыс.

детерминации 0,39; $p=0,002$) и цинка на содержание железа (коэффициент детерминации 0,21; $p=0,04$).

Интегральная оценка влияния и зависимости металлов от содержания друг друга в мышцах представлена на рис. 1.

Анализ рис. 1 показывает, что меньше всего влияют на концентрацию в мышцах других металлов железо (его возможное влияние находится в диапазоне до 10% всей вариативности содержания других металлов в мышцах). Среднюю степень влияния имеют кальций и медь (их возможное влияние находится в диапазоне 20-25% всей вариативности содержания других металлов в мышцах). Наиболее выраженное влияние на содержание других металлов в мышцах оказывают цинк, магний и марганец (26-30% вариативности).

В то же время, зависимость меди, марганца и магния от содержания в мышцах других металлов может быть отнесена как средняя (для этих металлов индекс зависимости находится в диапазоне 0,16-0,21 отн.ед.). Более зависимыми можно считать уровни цинка, железа и кальция в мышцах.

Уровень марганца негативно влияет на содержание других металлов в мышечной ткани. Содержание кальция и железа в мышцах существенно зависят от содержания цинка и меди.

В обобщенном виде взаимовлияния металлов на их содержание в мышцах представлены на рис. 2.

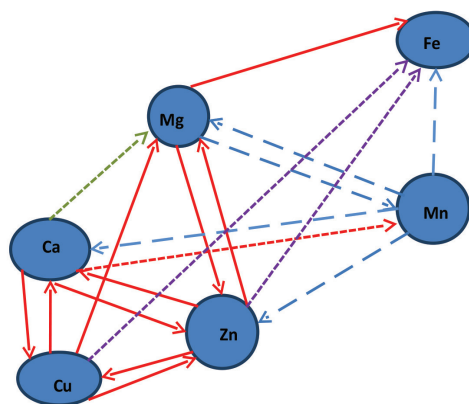


Рис. 2. Граф взаимовлияний металлов на их содержание в мышцах. Обозначения: непрерывная красная линия – влияние по типу усиления, синяя пунктирная линия – влияние по типу конкуренции, зеленая точечная линия – «куполообразный» тип влияния, фиолетовая точечная линия – «чашеобразный» тип влияния.

Выводы

Статистический анализ характеристик значений содержания металлов в мышцах животных при нормальном или избыточном их пищевом потреблении показал, что для меди распределение значений близко к распределению случайной величины (они не испытывают дополнительного влияния каких-либо внешних факторов). Влияние внешних факторов характерно для содержания кальция, марганца, железа, магния и цинка в мышцах. Низкая вариативность показателей содержания в мышцах магния и цинка отражает существование жестких механизмов их гомеостатического регулирования.

Между содержанием марганца в мышцах и уровнем магния, цинка, железа и кальция в этой ткани существуют конкурентные взаимоотношения, которые могут быть объяснены конкуренцией веществ за места связывания в белках тканевых депо.

Меньше всего влияет на концентрацию в мышцах других металлов железо (его возможное влияние находится в диапазоне до 10% всей вариативности содержания других металлов в мышцах). Наиболее выраженное влияние на содержание других металлов в мышцах оказывают цинк, магний и марганец (26-30% вариативности).

Уровень марганца негативно влияет на содержание других металлов в мышечной ткани.

Содержание кальция и железа в мышцах существенно зависят от содержания цинка и меди.

Список литературы

1. Каркищенко Н.Н., Каркищенко В.Н., Люблинский С.Л., Капанадзе 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. № 3. С. 12-41.
2. Ревякин А.О., Каркищенко Н.Н., Шустов Е.Б., Каркищенко В.Н., Ксенофонов Д.А., Касинская Н.В. Особенности распределения металлов в организме лабораторных животных при разных уровнях их пищевого потребления // Биомедицина. 2013. № 3. С. 82-90.
3. Ревякин А.О., Каркищенко Н.Н., Шустов Е.Б., Каркищенко В.Н., Ксенофонов Д.А., Касинская Н.В. Влияние колебаний содержания металлов в крови на их содержание в тканях лабораторных животных при нормальном и избыточном пищевом потреблении металлохелатов // Биомедицина. 2013. № 4. С. 16-28.
4. Ревякин А.О., Каркищенко Н.Н., Шустов Е.Б., Каркищенко В.Н., Ксенофонов Д.А., Касинская Н.В. Взаимовлияния микроэлементов в крови лабораторных животных при нормальном и избыточном пищевом потреблении // Биомедицина. 2014. № 2. С. 61-66.
5. Ревякин А.О., Каркищенко Н.Н., Шустов Е.Б., Каркищенко В.Н., Ксенофонов Д.А., Касинская Н.В. Взаимовлияния микроэлементов в печени лабораторных животных при нормальном и избыточном пищевом потреблении // Биомедицина. 2014. № 2. С. 73-79.
6. Хавезов И., Цалев Д. Атомно-абсорбционный анализ. - Л.: Химия. 1983. 144 с.

Interferences of microcells in muscles of laboratory animals at normal and excess food consumption

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

By nuclear and absorbing spectrometry the content of calcium, magnesium, iron, copper, manganese and zinc in muscle of laboratory animals at levels of food consumption, components of 100, 120 and 140% of daily requirement is studied. Statistical regularities of their interrelation in blood are revealed.

Key words: metallochelates, microcells, nuclear and absorbing spectrometry.