УДК 615.916:577.122

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ МОЖЛИВОСТІ ВИКОРИСТАННЯ МІКРОЕЛЕМЕНТНОГО ПРЕПАРАТУ ЕСМІН® ДЛЯ ІНДУКЦІЇ МЕТАЛОТІОНЕЇНУ ТА ЗНИЖЕННЯ ТОКСИЧНОЇ ДІЇ КАДМІЮ

Пихтєєва О.Г., Самохіна Н.А., Большой Д.В.
Український НДІ медицини транспорту, Одеса; pyhteeva@rambler.ru

Профілактичне вживання мікроелементних комплексів (наприклад, ЕСМІН®) сприяє підвищенню стійкості організму до пошкоджуючої дії важких металів завдяки підвищенню синтезу металотранспортного білка металотіонеїну та нормалізації співвідношень між токсичними та ессенціальними важкими металами за рахунок накопичення в печінці та нирках ессенціальних мікроелементів. Профілактичне вживання мікроелементних комплексів разом з нормальним збалансованим харчуванням з достатньою кількістю білків в раціоні особливо показане для контингентів, що працюють або мешкають у несприятливих умовах, які передбачають можливість контакту зі сполуками токсичних важких металів.

Ключові слова: *металотіонеїн, ЕСМІН®, кадмій*

Актуальність дослідження

Металотіонеїни (МТ), більше 50 років тому відкриті і охарактеризовані B.L.Vallee із співробітниками (1957) [1], є багатофункціональними білками, які відіграють центральну роль в транспорті ессенціальних і токсичних важких металів (зокрема, Zn, Cd, Hg), в їх обміні і детоксикації. Неослабний інтерес дослідників до проблеми МТ протягом більше 50 років пояснюється його унікальними структурою та функціями в системі захисту клітинних структур, органів, тканин і організму в цілому від дії різних за природою шкідливих факторів. Показана участь у здійсненні та регуляції функцій МТ численних кофакторів білкової природи, в тому числі ініціаторів, індукторів і репресорів. В останні роки особливий інтерес представляють питання терапевтичного застосування МТ. У недалекій перспективі розвиток біотехнології сприятиме забезпеченню потреб практичної медицинив МТ, що дасть можливість використовувати його як високоефективний детоксикуючий та антиоксидантний агент. Але вже на сьогодні можливо використовувати власні резерви організму для ефективного синтезу ендогенного МТ.

Оскільки численними експериментальними роботами на різних видах тварин, в тому числі нашими [2], показано, що ессенціальні і багато токсичних металів є потужними індукторами синтезу МТ, було би привабливим вважати, що призначення Zn та інших мікроелементів в лікувальних схемах практично автоматично викликатиме експресію МТ, який буде включатися в процеси детоксикації, гасіння активних форм кисню і боротьбу з оксидативним стресом, який є одним з універсальних механізмів у патогенезі переважної більшості захворювань людини.

Для перевірки цієї гіпотези нами проведено порівняння концентрації МТ в печінці інтактних щурів та при використанні дозволеного препарату ЕСМІН®, який розроблений ДУ Інститут фармакології та токсикології НАМН України та випускається Київським вітамінним заводом. Препарат ЕСМІН® рекомендований до вживання в цілях профілактики та лікування мікроелементозів в дозі до 2 капсул на добу. 1 капсула містить кислоти мефенамінової 85 мг; заліза (у формі $FeCl_3 \cdot 6H_2O$) 3 мг; цинку (у формі $ZnCl_2$) 4

мг; марганцю (у формі $MnCl_2 \cdot 4H_2O$) 0,8 мг; міді у формі $CuCl_2 \cdot 2H_2O$) 0,7 мг; кобальту (у формі $CoCl_2 \cdot 6H_2O$) 0,07 мг; хрому (у формі $CrCl_3 \cdot 6H_2O$) 0,07 мг; селену (у формі Na_2SeO_3) 0,05 мг; молібдену (у формі $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$) 0,07 мг; ванадію (у формі NH_4VO_3) 0,01 мг. Як можна побачити зі складу препарату, він містить низку індукторів МТ, серед яких найбільш потужними є цинк, мідь і селен.

Матеріали і методи

Для проведення експерименту шляхом 6 місячної дієти зі зниженим вмістом мікроелементів (рафінований корм та дистильована вода) була отримана група щурів масою 250-300 г з дефіцитом основних мікроелементів, зокрема цинку. Ця група була поділена на контрольну та експериментальну. Для щоденного введення експериментальній групі була обрана доза ЕСМІН®, яка по цинку складає 0,3 мг/кг, та (як було показано попередніми дослідами) викликає достовірне зростання концентрації МТ в печінці при одноразовому введенні. Щурамна протязі 30 діб з питною водою щоденно вводили мікроелементний препарат ЕСМІН® для вивчення ролі індукції МТ і накопичення ессенціальних ВМ в печінці та нирках в протистоянні токсичній дії ВМ.

Схема експерименту наведена на рис. 1. Тварини були поділені на 5 груп. Щури I-III груп отримували ЕСМІН®щоденно з питною водою (у вигляді 0,5 % крохмального гелю). Розрахунок необхідної концентрації ЕСМІН®був проведенийз урахуванням маси тварин після попередніх спостережень за добовою кількістю споживаного гелю протягом 2 тижнів, яка для одного щура склала 12 ± 2 мл/добу.

Тварин I та II експериментальних груп виводили з експерименту (по 5 тварин) після 2 і 4 тижнів введення мікроелементного комплексу. Визначали вміст МТ в печінці та ВМ в печінці та нирках. Після 4 діб введення додатково проводили визначання показників ГАОС.

Тварин III та IVгруп після закінчення експозиції препаратом ЕСМІН® протягом 30 діб піддавали дії хлориду кадмію в дозі 0,1 мг/кг. Вміст МТ визначали згідно МР 61.13/238.13 «Замісний метод визначення вмісту металотіонеїну в біологічних матеріалах». Вимірювання вмісту ВМ проводили методом атомно-емісійної спектроскопії з електродугової атомізацією на спектрометрі ЭМАС-200 CCD. Біохімічні дослідження проведені у гомогенатах внутрішніх органів за стандартними методиками [3].

Результати та їх обговорення

Шестимісячне утримування тварин на рафінованих кормах та дистильованій воді призвело до зниження концентрацій мікроелементів в печінці та нирках. Введення препарату ЕСМІН® дозволяє за місяць практично повністю нормалізувати вміст мікроелементів, як це можна

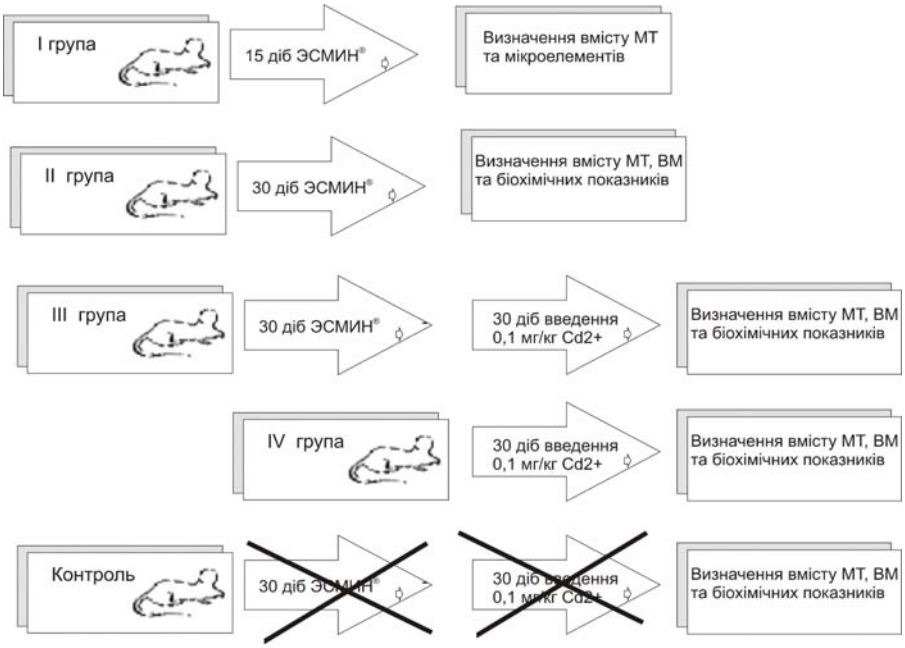

Рис. 1. Схема експерименту з дослідження впливу препарату ЕСМІН® на індукцію МТ та його протекторної дії при експозиції кадмієм.

побачити з табл. 1.

Таблиця1

Концентрація мікроелементів в печінці та нирках щурів після введення препарату ЕСМІН® (*M* ± *m*, *n* = 5), мг/кг

Орган	Елемент	Група			
		Контроль	Інтактні з дефіцитом МЕ	15 діб	30 діб
Печінка	Fe	203,1 ± 0,4	141,0 ± 0,6	176,5 ± 0,3	194,1 ± 0,2
	Zn	16,6 ± 0,2	7,52 ± 0,03	12,7 ± 0,1	13,8 ± 0,1
	Mn	1,92 ± 0,01	1,43 ± 0,01	1,64 ± 0,01	1,76 ± 0,01
	Cu	4,35 ± 0,02	3,95 ± 0,01	4,29 ± 0,03	4,36 ± 0,02
	Co	0,052 ± 0,001	0,045 ± 0,000	0,054 ± 0,001	0,059 ± 0,001
	Cr	0,020 ± 0,001	0,013 ± 0,000	0,019 ± 0,000	0,021 ± 0,001
	Se	0,447 ± 0,002	0,342 ± 0,001	0,386 ± 0,000	0,465 ± 0,002
	Mo	3,05 ± 0,02	2,45 ± 0,014	3,02 ± 0,01	3,25 ± 0,02
Нирки	Fe	110,3 ± 0,2	86,5 ± 0,3	101,9 ± 0,1	112,5 ± 0,2
	Zn	11,9 ± 0,1	6,56 ± 0,04	11,4 ± 0,1	11,6 ± 0,1
	Mn	0,762 ± 0,003	0,586 ± 0,005	0,702 ± 0,003	0,786 ± 0,003
	Cu	4,113 ± 0,003	4,110 ± 0,005	4,174 ± 0,001	4,233 ± 0,004
	Co	0,085 ± 0,000	0,064 ± 0,000	0,088 ± 0,000	0,091 ± 0,000
	Cr	0,037 ± 0,000	0,030 ± 0,000	0,033 ± 0,000	0,044 ± 0,000
	Se	0,594 ± 0,003	0,493 ± 0,001	0,559 ± 0,003	0,602 ± 0,003
	Mo	4,332 ± 0,014	3,787 ± 0,010	4,433 ± 0,006	4,877 ± 0,012

Динаміку зміни концентрації мікроелементів в печінці та нирках щурів після введення мікроелементного комплексу ЕСМІН® більш наглядно проілюстровано на рис. 2. Як можна побачити, найбільш виражено накопичення в печінці мікроелементів, яких відчувалась нестача, а саме цинку, хрому, заліза, селену. Так наприкінці введення мікроелементного комплексу ЕСМІН® концентрація цинку зростає майже на 84 % і наближається до нормальних показників.

Крім того, вживання препарату ЕСМІН® не тільки сприяє нормалізації вмісту мікроелементів в організмі, а й викликає зростання вмісту МТ в печінці при збільшенні терміну використання препарату, але темпи зростання суттєво знижуються (рис. 3).

Важлива роль МТ в запобіганні токсичної дії хлориду кадмію була доказана намиекспериментально. Щоденне введення хлориду кадмію в дозі 0,1 мг/кг з питною водою на протязі 30 діб призводило наприкінці досліду до зміни активності ключових ферментів в печінці та нирках, причому максимальні зміни спостер-

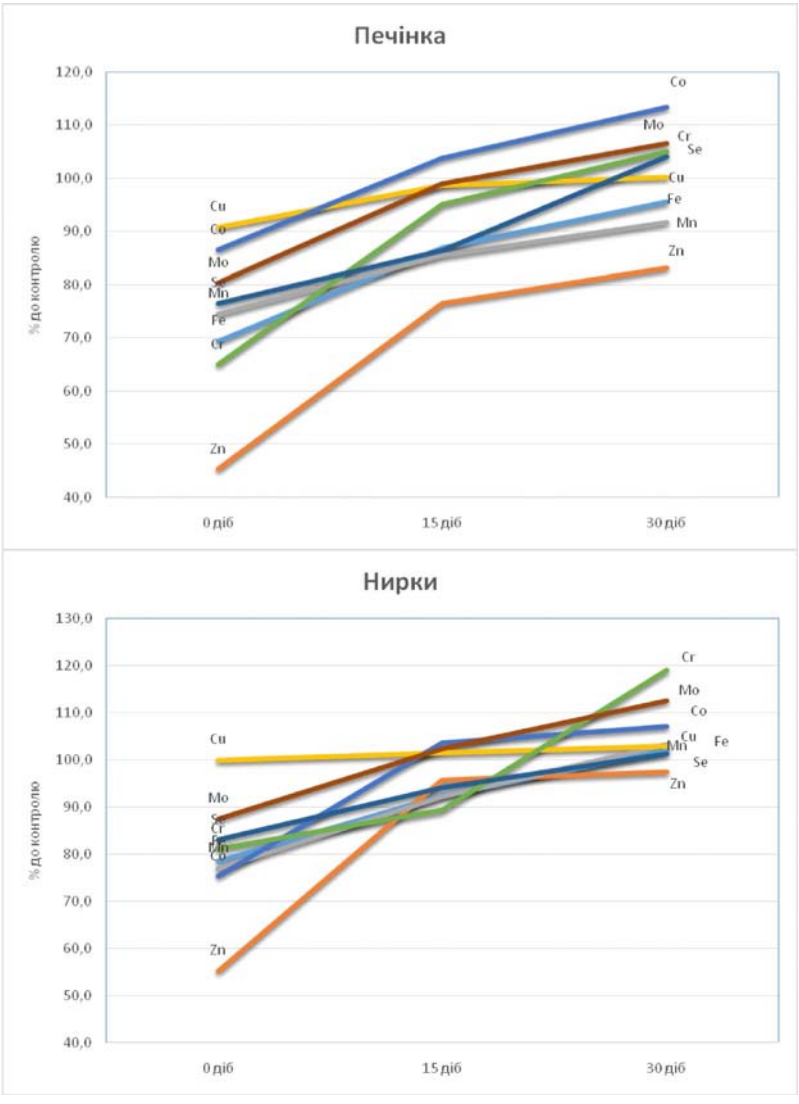

Рис. 2. Динаміка зміни концентрацій мікроелементів в печінці та нирках щурів при введенні мікроелементного комплексу ЕСМІН®

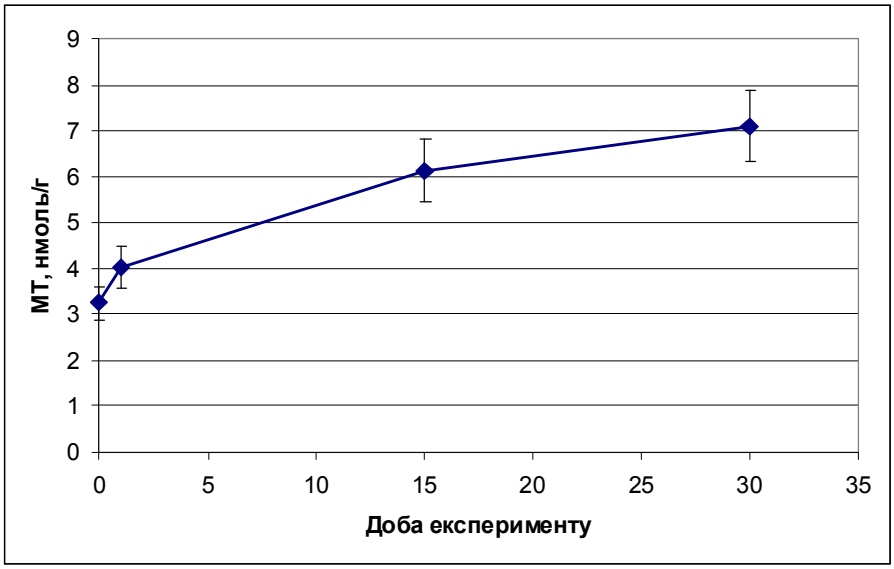

Рис. 3. Динаміка зміни концентрації МТ в печінці щурів при введенні мікроелементного комплексу ЕСМІН®

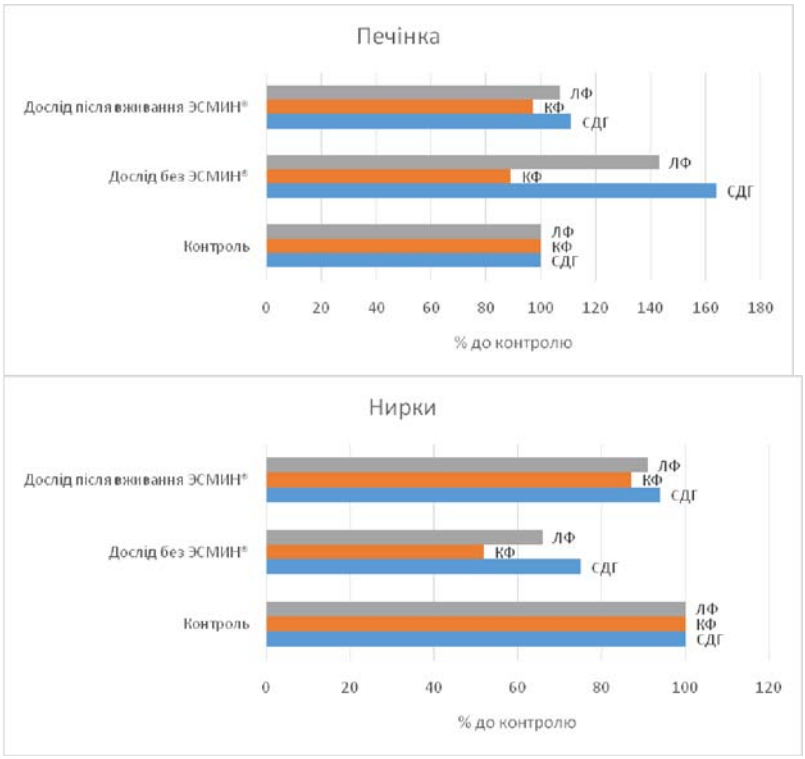

Рис. 4. Зміна активності ферментів в гомогенатах тканин у тварин після 30 введень хлориду кадмію в дозі 0,1 мг/кг після введення мікроелементного комплексу ЕСМІН®(30 діб) або без нього (% відносно контролю)

ігали у тварин, які не отримували комплекс ЕСМІН®.

В печінці мало місце підвищення активності маркерних мітохондріальних та лізосомальнихферментів, що можливо лише при різкому підвищенні проникливості і деструкції відповідних клітинних органел. Найбільш виражені зміни мали місце у активності СДГ. та ЛФ у тварин, які не отримували ЕСМІН®. Адже саме в печінці, де проходять найважливіші процеси детоксикації ксенобіотиків, активність СДГ зростала на 64 %. Показники у групі, яка отримувала мікроелементний комплекс мало відрізнялась від контролю.

Навпаки у нирках ми спостерігали суттєве, у відношенні до контролю, зниження активності всіх досліджених ключових ферментів енергетичного метаболізму та детоксикційної функції. Причому, активність СДГ була пригнічена приблизно у 2 рази менше, ніжактивність лізосомальних ферментів КФ і ЛФ.

Значно менші (відносно контролю) зміни біохімічних показників в групі, в якій індукція МТ була викликана введенням мікроелементного комплексу ЕСМІН®, свідчать про значну ефективність профілактичного вживання індукторів МТ для захисту клітин печінки та нироквід пошкоджуючої дії кадмію.

Висновки

Профілактичне вживання мікроелементних комплексів (наприклад, ЕСМІН®) сприяє підвищенню стійкості організму до пошкоджуючої дії важких металів зав-

дяки підвищенню синтезу металотранспортного білка металотіонеїну та нормалізації співвідношень між токсичними та есенціальними важкими металами за рахунок накопичення в печінці та нирках есенціальних мікроелементів. Профілактичне вживання мікроелементних комплексів разом з нормальним збалансованим харчуванням з достатньою кількістю білків в раціоні особливо показане для контингентів, що працюють або мешкають у несприятливих умовах, які передбачають можливість контакту зі сполуками токсичних важких металів.

Література

1. Шафран Л.М. Металлотионеины / Шафран Л.М., Пыхтеева Е.Г., Большой Д.В. Под редакцией проф. Л.М. Шафрана – Одесса: Издательство “Чорномор’я”, 2011. – 428 с.
2. Пыхтеева. Е.Г.Изучение индукции металлотионеинов в печени мышей при внутрибрюшинном введении двухвалентных металлов / Е.Г.Пыхтеева. // Современные проблемы токсикологии. – 2012. — № 1 (56). С. 20-24.
3. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен). Учеб. пособие / Под ред. М.И.Прохоровой. – Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1982. — 272 с.

References

1. Shafran L.M. Metallothioneins / Shafran L.M., Pykhtieieva E.G., Bolshoy D.V. Edited by prof. LM Shafran - Odessa: Publishing “Chornomor’ya”, 2011. - 428 p.
2. Pykhtieieva E.G.Izuchenie induction of metallothionein in the liver of mice by intraperitoneal injection of divalent metal / E.G. Pykhtieieva. / / Modern problems of toxicology. - 2012. - № 1 (56). Pp. 20-24.
3. Methods of biochemical studies (lipid and energy metabolism). Textbook. manual / Ed. M.I.Prohorovoy. - Leningrad: Publishing House of Leningrad. University Press, 1982. - 272.

Впервые поступила в редакцию 15.05.2014 г.
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования

Резюме

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МИКРОЭЛЕМЕНТНОГО ПРЕПАРАТА ЭСМИН ДЛЯ ИНДУКЦИИ МЕТАЛЛОТИОНЕИНА И СНИЖЕНИЯ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ КАДМИЯ

Пыхтеева А.Г., Самохина Н.А., Большой Д.В.

Профилактическое применение микроэлементных комплексов (например, ЭСМИН®) способствует повышению устойчивости организма к повреждающему действию тяжелых металлов, благодаря повышению синтеза металотранспортного белка металлотионеина и нормализации соотношения между токсическими и эссенциальными тяжелыми металлами за счет накопления в печени и почках эссенциальных микроэлементов. Профилактическое применение микроэлементных комплексов вместе с нормальным сбалансированным питанием с достаточным количеством белков в рационе особенно показано для контингентов, работающих или проживающих в неблагоприятных условиях, которые предусматривают возможность контакта с соединениями токсичных тяжелых металлов.

***Ключевые слова**: металлотионеин, ЭСМИН, кадмий*

Summary

EXPERIMENTAL BASIS FOR USE DRUG ESMIN FOR THE INDUCTION OF METALLOTHIONEIN AND CADMIUM TOXIC EFFECTS REDUCTION

Pykhtieieva E.G, Samokhina N.A., Bolshoy D.V.

Prophylactic use of micronutrient complexes (eg ESMIN ®) enhances the body’s resistance to the toxic effects of heavy metals. Toxic damage is reduced due to the increased protein synthesis of metallothionein and normalization of relations between toxic and essential heavy metals. Prophylactic use of micronutrient complexes with enough protein in the diet is especially necessary for contingents working or living in adverse conditions, which include the possibility of contact with the toxic heavy metal compounds.

***Keywords**: metallothionein, ESMIN, cadmium*