

## ЭЛЕМЕНТНЫЙ СТАТУС И БИОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ КРОВИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ВНУТРИМЫШЕЧНОМ ВВЕДЕНИИ АСПАРГИНАТА И НАНОЧАСТИЦ МЕДИ

Исследованы элементный статус и биохимический состав крови лабораторных животных при введении меди в различных формах. Выявлено, что показатели минерального обмена зависят от физико-химической формы металла. Введение аспарагината меди сопровождается увеличением концентрации Co, Cu, Ca, P, Sr на фоне снижения I, Se, Pb. В тоже время при введении наночастиц меди увеличивается концентрация Cu, Ca, P, Al, Sr на фоне снижения Pb и I. При введении в организм меди в наноформе, биохимические показатели крови имеют более низкие значения, чем при введении аспарагината.

**Ключевые слова:** нанопорошок меди, аспарагинат меди, крысы, эксперимент, эссенциальные микроэлементы, биохимия крови.

### Введение

Из литературных источников следует, что медь участвует в поддержании адаптационных ресурсов организма человека. Это, прежде всего, связано с активным участием меди в процессах антиоксидантной защиты и прооксидантной активности. Антиоксидантная роль меди связана с ее участием в формировании структуры супероксиддисмутазы [1].

Основными факторами, регулируемыми всасывание меди, являются концентрация меди в рационе и обеспеченность организма этим микроэлементом. При высоком содержании меди в рационе происходит снижение всасывания и увеличение ее эндогенных потерь [2]. Процессы абсорбции меди взаимосвязаны конкурентной зависимостью с цинком, кадмием и железом [3].

Дисбаланс в поступлении меди в организм приводит к развитию ряда заболеваний [11]. Одним из частых последствий дефицита ее в организме является нарушение утилизации железа ферритина и следующее за ним увеличение концентрации железа в печени. При этом развивается анемия, нарушается синтез фосфатидов, снижается активность цитохромоксидазы. Проявлениями недостаточности меди в организме являются изменения активности допамингидроксидазы, уратоксидазы, перекисной дисмутазы [4].

Ввиду неоспоримой биологической роли меди в организме, ведется поиск источников этого элемента для восполнения дисбаланса в организме, которые бы обладали высокой биологической доступностью и пролонгированным действием. Это станет возможно, при условии разработки новых лекарственных средств на осно-

ве альтернативных источников этого микроэлемента.

На современном этапе развития нанотехнологии стоит задача аттестации и апробации на живом организме наноматериалов. Это объясняется особенностью действия наночастиц металлов на организм, способных легко проникать во все органы и ткани и в биотических дозах стимулировать обменные процессы и т. д. [5], [6], [7].

В то же время перечисленные особенности наночастиц могут оказывать на живые системы такое действие, которое будет способствовать развитию различных патологических состояний и даже приводить к гибели.

Поэтому возникает необходимость изучения последствий действия наноразмерных веществ на животных и человека. Анализ мировой литературы свидетельствует о начальном этапе исследования влияния наночастиц на структурно-функциональную реорганизацию и диапазон органотипических потенциалов органов животных, рассматриваемых как один из наиболее важных критериев безопасности введения металлов-микроэлементов в форме наночастиц, использование которых перспективно при решении различных задач [8].

На основании вышеизложенного, целью настоящего исследования было установить в сравнительном аспекте влияние различных форм меди в биотических дозах на элементный статус организма.

### Материалы и методы

Исследования выполнены на белых крысах-самцах линии Wistar. Были использованы

три группы животных массой 150-180 г. по 10 голов в каждой группе. Контрольную группу составляли интактные животные. Крысам I опытной группы внутримышечно вводили аспаргинат меди (производство ООО «В-Мин+», г. Сергиев Посад) в дозе 7 мг/кг (содержание чистой меди в котором составляло 2 мг/кг), а животным II опытной группы – водную суспензию наночастиц меди в дозе 2,0 мг/кг живой массы.

Для исследования влияния наночастиц меди на организм и микроэлементный статус были использованы наночастицы со следующими физико-химическими характеристиками: средний размер наночастиц меди, имеющих сферическую форму, составлял  $103,0 \pm 2,0$  нм; кристаллической меди в ядре частиц содержалось  $96,0 \pm 4,5\%$ , оксида меди –  $4,0 \pm 0,4\%$ ; толщина оксидной пленки на поверхности наночастиц – 6 нм [9]. Наночастицы меди получали методом высокотемпературной конденсации на установке Миген-3 [10]

Доза введения меди была выбрана на основании данных о фармакотоксической зоне этого элемента, начинающаяся с 10 мг/кг (МПД) массы животного, ЛД<sub>50</sub> меди, согласно литературным данным, составляет 15 мг/кг массы животного, ЛД<sub>100</sub> – 30 мг/кг массы животного [8].

Учитывая эти данные, для наших исследований была выбрана многократная доза введения меди 2 мг/кг массы животного.

Отбор проб для исследования проводили через 21 сутки. Микроэлементный анализ

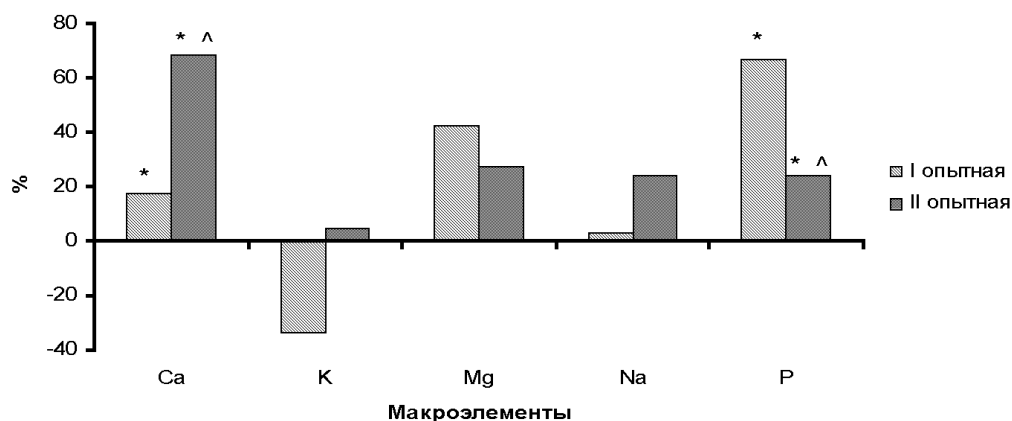
(25 элементов) образцов гомогената тела проводили в лаборатории АНО «Центр биотической медицины», г. Москва (аттестат аккредитации ГСЭН.Ии.ЦОА.311, регистрационный номер в Государственном реестре РОСС RU.0001.513118 от 29 мая 2003г.).

Статистическую обработку результатов проводили с применением общепринятых методик при помощи приложения «Excel» из программного пакета «Office XP» и «Statistica 6.0». Для данных, подчиняющихся закону нормального распределения, приводили значения среднего и ошибки среднего. Критический уровень значимости (p) при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05. Проверку различий средних показателей проводили по критерию Стьюдента, Манна-Уитни.

### Результаты и обсуждение

При изучении влияния введения различных форм меди на элементный статус лабораторных животных получены следующие результаты (рис.1). Установлено, что при введении аспарагината меди в теле лабораторных животных наблюдался достоверно ( $p < 0,05$ ) больший уровень Ca (на 17,2%) и P (на 66,5%), а также наблюдалась тенденция к более высоким значениям содержания Mg (на 41%) и Na (на 2,6%) относительно контрольной группы.

При введении наночастиц меди в теле лабораторных животных также как и в I опытной группе выявлены достоверно ( $p < 0,05$ ) более высокие значения содержания Ca (на 68%) и P (на 23%) по сравнению с контрольной группой.



Примечание (здесь и далее): \* – достоверные различия ( $p < 0,05$ ) с контрольной группой; ^ – достоверные различия ( $p < 0,05$ ) между опытными группами

Рисунок 1. Относительные значения содержания макроэлементов в теле опытных групп лабораторных крыс по сравнению с контролем (линия «0»)

пой. Наблюдалась тенденция к большим значениям содержания К, Mg и Na на 4,7%, 27% и 23% соответственно.

Таким образом, установленные изменения содержания большинства макроэлементов в опытных группах были однозначны, за исключением уровня К. Тем не менее, выявлены различия между опытными группами по степени изменения концентрации химических элементов. Так, выявлены достоверные различия между опытными группами по содержанию Са и Р. Значение Са было достоверно выше при введении наномеди на 63%, а значение Р при введении аспарагината меди на 56%.

При сравнении накопления эссенциальных микроэлементов в теле экспериментальных животных выявлено, что при введении аспарагината меди уровень содержания Со и Си был достоверно ( $p < 0,05$ ) больше по сравнению с контрольной группой на 80 и 26%, а Se

и I достоверно ( $p < 0,05$ ) меньше на ( 65 и 93%) соответственно (рис. 2).

При введении наночастиц меди достоверно ( $p < 0,05$ ) изменилось содержание Си и I. При этом концентрация Си была выше (на 72%), а I ниже (на 62%) относительно контрольной группы.

Также наблюдалась тенденция к более высоким значениям в первой опытной группе Cr на 5,9%, Fe на 23%, Zn на 29% и снижению Mn на 65%. Во второй опытной группе наблюдалась тенденция к большому значению концентрации Со (на 50%), Cr (на 45%), Zn (на 12% и снижению Fe (на 12%), Se (на 10,6%), Mn (на 10%) относительно контрольной группы.

Таким образом, введение аспарагината меди приводило к увеличению содержания большинства эссенциальных микроэлементов, за исключением I и Se уровень которых был достоверно ниже по сравнению с контрольной группой.

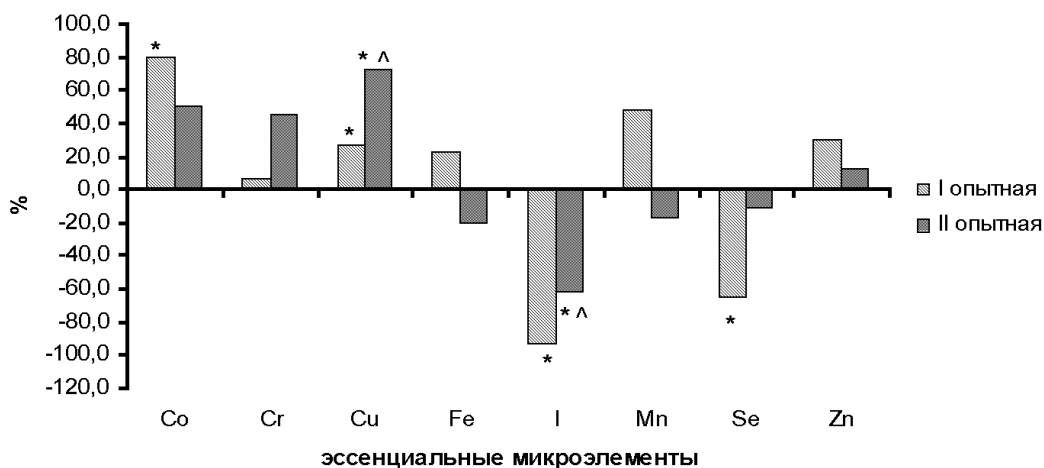


Рисунок 2. Относительные значения содержания эссенциальных элементов в теле опытных групп лабораторных крыс по сравнению с контрольной (линия «0»)

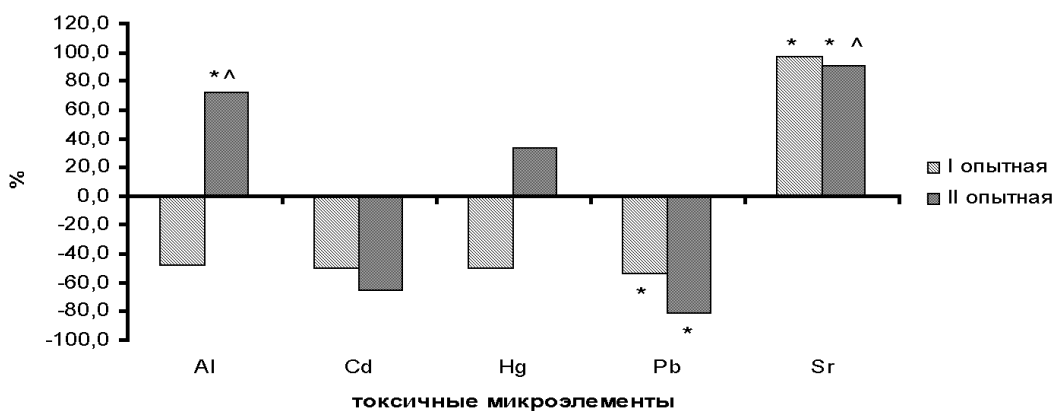


Рисунок 3. Относительные значения содержания токсичных элементов в теле опытных групп лабораторных крыс по сравнению с контролем (линия 0)

При сравнении опытных групп выявлены достоверные различия по содержанию Cu и I. Введение наночастиц меди привело к большему (на 62%) накоплению этого элемента в организме, что свидетельствует о большей биодоступности наноформы металла по сравнению с аспарагинатом. Содержание I в теле лабораторных крыс в первой опытной группе по сравнению со второй было достоверно меньше на 84%.

При сравнении содержания токсических микроэлементов выявлено достоверно более высокое содержание Sr в обеих опытных группах (рис.3).

При введении аспарагината меди уровень Sr был больше на 96% ( $p < 0,05$ ), а при введении наночастиц меди на 90% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольной группой. Введение наночастиц меди также привело к достоверно большим (на 72%) значениям содержания Al, в отличие от I опытной группы в которой уровень алюминия уменьшился на 48% по сравнению с контрольной группой. Введение меди в различных формах, также оказало влияние на содержание Pb, уровень которого был меньше в первой опытной группе на 54% ( $p < 0,05$ ), а во второй на 81% ( $p < 0,05$ ) относительно контроля. Не зависимо от физико-химической формы препарата наблюдалась тенденция к снижению содержания Cd и Hg. Сравнение опытных групп выявило достоверную разницу по содержанию Al и Sr.

Таким образом, в результате исследования выявлено, что физико-химическая форма вводимого в организм металла влияет на показа-

тели минерального обмена. Данные выводы подтверждают выявленные достоверные различия между опытными группами по содержанию Ca, P, Cu, I, Al и Sr.

В результате биохимического анализа крови крыс (рис. 4), установлено достоверное уменьшение количества амилазы на 30,3% у I опытной группы, и на 33,7% ( $P \leq 0,05$ ) у II опытной группы. Аналогично изменялось количество общего билирубина и мочевины, так относительно контрольных особей данные показатели были на 12,7 ( $P \leq 0,05$ ) и 21,0% у I опытной группы, и 11,0 ( $P \leq 0,05$ ) и 31,6% меньше у II опытной группы соответственно.

Показатели АлАТ и АсАТ у опытных групп были также ниже, чем у контрольных особей, при достоверном снижении у II опытной группы.

Значение меди в усвоении сахаров, было продемонстрировано в снижении холестерина у I опытной группы на 21,3% и у II опытной на 31,6% ( $P \leq 0,05$ ).

Таким образом, в результате исследования выявлено, что показатели минерального обмена зависят от физико-химической формы металла. Так при введении аспарагината меди концентрация Co, Cu, Ca, P, Sr достоверно больше ( $P \leq 0,05$ ), на фоне достоверного меньшего содержания I, Se, Pb в теле лабораторных животных по сравнению с контролем. В тоже время при введении наномеди увеличивается концентрация Cu, Ca, P, Al, Sr на фоне снижения Pb, I относительно контроля. В тоже время выявлены различия между опытными группами по степени изменения химических элементов. Так выявлены достоверные

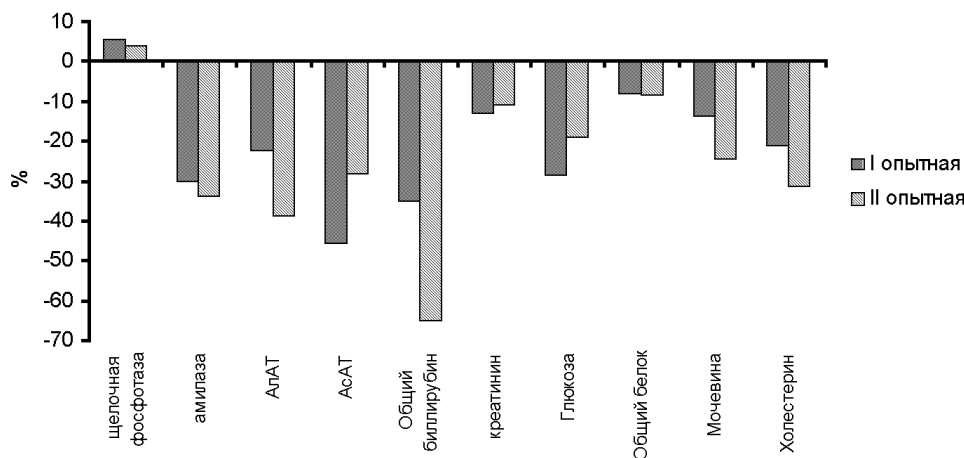


Рисунок 4. Относительные значения биохимических показателей в крови крыс опытных групп по сравнению с контрольной группой

различия между опытными группами по содержанию Ca, P, Cu, I, Sr. Во второй опытной группе (при введении нано Cu) содержание Ca, Cu, J, Al больше относительно первой опытной группы. А в первой опытной группе достоверно больше содержание P, Sr по сравнению со второй опытной.

Стоит отметить, что при введении в организм меди в наноформе, биохимические показатели крови имеют более низкие значения, чем при введении аспаргината, что свидетельствует о более активном участии наномеди в метаболических процессах печени. Все изменения были в пределах физиологической нормы.

22.10.2013

**Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства образования и науки Российской Федерации на проведение научно-исследовательских работ (шифр заявки № 4.2979.2011 г.)**

#### Список литературы:

1. Klotz L., Kronche K., Buchzyk D. et al. // J. Nutr. 2003. — Vol. 133. Suppl. — P. 1448S–1451S.
2. Strickland G. T., Beckner W. M. // Clin. Sci. — 1972. — Vol. 43. — P. 617–625. Turnlund J. R., Keyes W. R., Anderson H. L. et al. // Am. J. Clin. Nutr. — 1989. — Vol. 49. — P. 870–878.
3. Johnson M. A., Murphy C. L. // Am. J. Clin. Nutr. 1988. — Vol. 47. — P. 96–101. , 25 Polberger S., Fletche M., Graham T. et al. // J. Pe-di-atr. Gastroenterol. Nutr. — 1996. — Vol. 22. — P. 134–143.
4. Антонович Е. А. Токсичность меди и ее соединений / Е. А. Антонович, А. Е. Подушняк, Т. А. Щуцкая ; Институт экологии и токсикологии им. Л. И. Медведя. — Киев, 2005. — 28 с. 2.
5. Вишняков, А.И. Особенности костномозгового кроветворения при введении наночастиц меди per os и intramuscularly / А.И. Вишняков, А.С. Ушаков, С.В. Лебедев // Вестник мясного скотоводства. - 2011. - Т. 2, №64. - С. 96-102.
6. Сизова Е.А., Мирошников С.А., Лебедев С.В., Глушенко Н.Н. Влияние многократного введения наночастиц меди на элементный состав печени крыс / Сизова Е.А., Мирошников С.А., Лебедев С.В., Глушенко Н.Н. // Вестник Оренбургского государственного университета, №6, 2012. — с. 1-3.
7. Сизова Е.А., Лебедев С.В., Полякова В.С., Глушенко Н.Н. Структурно-функциональная реорганизация селезенки крыс при внутримышечном введении наночастиц меди типа cu10x / Сизова Е.А., Лебедев С.В., Глушенко Н.Н. - № 2, 2010, С. 129-133.
8. Богословская О.А., Сизова Е.А., Полякова В.С., Мирошников С.А., Лейпунский И.О., Ольховская И.П., Глушенко Н.Н. Изучение безопасности введения наночастиц меди с различными физико-химическими характеристиками в организм животных. Вестник Оренбургского государственного университета. - №2, 2009. - С. 124-127.
9. Глушенко Н.Н., Богословская О.А., Ольховская И.П. // Физико-химические закономерности биологического действия высокодисперсных порошков металлов. Химическая физика. - 2002. - Т. 21(4). - С. 79-85.
10. Ген М.Я., Миллер А.В. Авторское свидетельство СССР № 814432. Бюллетень изобретений. - 1981. - № 11. - С. 25.3.
11. Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., и др. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология. М.: Медицина, 1991.-496с.

#### Сведения об авторах:

**Нотова Светлана Викторовна**, профессор кафедры биохимии и молекулярной биологии Оренбургского государственного университета, доктор медицинских наук, e-mail: snotova@mail.ru

**Тимашева Анна Борисовна**, аспирант кафедры биохимии и молекулярной биологии Оренбургского государственного университета

**Лебедев Святослав Валерьевич**, заведующий лабораторией Института биоэлементологии Оренбургского государственного университета, доктор биологических наук

**Сизова Елена Анатольевна**, доцент кафедры общей биологии Оренбургского государственного университета, кандидат биологических наук, e-mail: Sizova.L78@yandex.ru

**Мирошников Сергей Владимирович**, научный сотрудник Института биоэлементологии Оренбургского государственного университета, кандидат медицинских наук 460018, г. Оренбург, пр-т Победы, 13, тел. (3532) 372482, e-mail: inst\_bioelement@mail.ru

**UDC 636.028:591.43.436:591.8:636.087.72**

**Notova S.V., Timasheva A.B., Lebedev S.V., Sizova E.A., Miroshnikov S.V.**

Orenburg state university, e-mail: inst\_bioelement@mail.ru

#### **ELEMENT STATUS AND BIOCHEMICAL COMPOSITION OF BLOOD LABORATORY ANIMALS WHEN ADMINISTERED INTRAMUSCULARLY ASPARGINATA AND COPPER NANOPARTICLES**

The paper presents the results of a study of the element status and biochemical composition of the blood of laboratory animals when copper in various forms. It was revealed that the performance of mineral metabolism depend on the physical and chemical form of the metal. Since the introduction of copper aspartate accompanied by significant increase in concentration of Co, Cu, Ca, P, Sr against decrease I, Se, Pb. At the same time the introduction of copper nanoparticles increases the concentration of Cu, Ca, P, Al, Sr, against reduction Pb and I. when introduced into the body of copper in nanoform, biochemical blood indices have lower values than in a asparginata.

Key words: copper nanopowder , asparginat copper rat experiment, essential trace elements, blood biochemistry.