

ЛУЧШАЯ РАБОТА В ОБЛАСТИ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ ТОКСИКОЛОГИИ

УДК 615.099:577.121:661.852.712

ОСОБЕННОСТИ ЭЛИМИНАЦИИ СВИНЦА У КРЫС ПРИ ЕГО ПАРЕНТЕРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ*М.Е. Шемаев, А.М. Малов,
В.К. Сибиряков, Р.К. Глушков*

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУН ИТ ФМБА России), 192019, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Представлены данные по элиминации свинца из организма крыс с мочой и калом при парентеральном введении токсиканта. Использовано трехкратное введение ацетата свинца в суточных дозах (по свинцу) – 15 мг/кг, 45 мг/кг и 60 мг/кг. Содержание свинца определяли методами инверсионной вольтамперометрии и атомно-эмиссионной спектроскопии. Элиминация свинца зависит от дозы свинца и может быть описана полиномом 2-го порядка.

На 20-й день эксперимента элиминированными, в зависимости от дозы, оказываются от 6 % до 10 % от массы введенного в организм крысы свинца. Соотношение между ренальным и интестинальным путями выведения токсиканта зависит от дозы затравки свинцом. Рассчитаны периоды полувыведения свинца из организма крысы: для дозы 15 мг/кг оно оказалось равным 61,9 суток, для дозы 45 мг/кг – 69,5 суток, для дозы 60 мг/кг – 70,8 суток. Представленная модель может быть использована для оценки эффекта применения терапевтических средств при отравлениях свинцом.

Ключевые слова: свинец, крысы, элиминация, моча, кал.

Введение. Свинец как один из приоритетных неорганических экотоксикантов является объектом внимания исследователей в области токсикологии, медицины, биотехнологии [1,2]. Этот самый тоннажный неорганический экотоксикант широко применяется в различных сферах человеческой деятельности, что приводит к его значительному накоплению в окружающей среде и, как следствие, к негативному воздействию на биоту и организм человека, в частности. Острые отравления свинцом чаще всего отмечаются у профессионально занятых граждан, имеющих непосредственный контакт с токсикантом на производстве. Причина отравления обусловлена попаданием ксенобиотика в организм через пищу и воду или с атмосферным воздухом в виде пыли. Важность исследования механизмов токсичного действия свинца подтверждает внесение в Международную классификацию болезней (МКБ-10) токсического воздействия свинца на человека и выделение для этого отдельной нозологической формы – «Т56.0. Токсическое действие свинца и его соединений» [3].

Разработка методов выведения данного токсиканта из организма, схем лечения и применения

соответствующих терапевтических средств при отравлении свинцом предполагает их испытание на биологических моделях. Рассматривают два основных пути элиминации свинца из организма: ренальный (с мочой), интестинальный (с калом). Считается, что до 80 % свинца выводится из организма с мочой [4], но при энтеральном поступлении свинца его большая часть будет выведена с калом [5]. Информация о кинетике выведения токсиканта необходима для применения той или иной схемы лечения, связанной с поражением почек [6,7]. На долю других путей выведения свинца (потовые железы, слюна, волосы, ногти и т.д.) приходится менее 6 – 7 % [8].

Информация о кинетике элиминации свинца из организма, модели для изучения этого процесса являются востребованными как научными исследованиями, так и медицинской практикой. Предполагается, что механизм элиминации свинца у млекопитающих имеет схожие черты, т.е. с определенными ограничениями результаты исследования элиминации этого металла у животных могут быть перенесены на человека.

Целью настоящего исследования стало изучение закономерностей элиминации свинца из орга-

Шемаев Михаил Евгеньевич (Shemaev Mikhail Evgen'evich), сотрудник ФГБУН ИТ ФМБА России, shemaevm@mail.ru

Малов Александр Михайлович (Malov Aleksandr Mihajlovich), кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник ФГБУН ИТ ФМБА России, malexmish@rambler.ru

Сибиряков Виктор Константинович (Sibirjakov Viktor Konstantinovich), кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник ФГБУН ИТ ФМБА России

Глушков Рудольф Константинович (Glushkov Rudolf'f Konstantinovich), кандидат химических наук, химик-эксперт ФГБУН ИТ ФМБА России

низма лабораторных крыс с мочой и калом при его парентеральном введении.

Материалы и методы исследования. В качестве модельного объекта в эксперименте были использованы белые аутбредные крысы линии Vistar (половозрелые самцы). Животные были разделены на следующие группы: 3 опытных по 8 крыс и контрольная группа – 6 крыс. Масса животных в течение эксперимента увеличивалась, для расчетов ее принимали равной 250 г.

Крысы получены из ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово» и содержались в условиях вивария. Исследования на животных соответствовали принципам гуманности, изложенных в Директиве Европейского парламента и Совета Европейского союза (2010/63/EU) [9]. Крысам давали комбикормом рецепта ПХ-120 сх-333 (ГОСТ 502238-92).

Опытным группам в течение 3-х дней парентерально (внутримышечно) вводили раствор ацетата свинца $Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O$ в физиологическом растворе для теплокровных (раствор Рингер-Локка), подкисленного уксусной кислотой до pH 5,0 во избежание инфильтрации тканей животного при инъекциях. Были использованы три суточные дозы по свинцу – 15 мг/кг, 45 мг/кг и 60 мг/кг. Контрольной группе животных внутримышечно вводили физиологический раствор Рингер-Локка. Объемы растворов вводили из расчета 0,1 см³ на 100 г массы крыс. Для получения биоматериала (моча и кал) животных парами высаживали на 1, 6, 8, 13, 15 и 20-й дни эксперимента в обменные клетки, при этом получали по 4 пробы мочи и кала в день высадки для каждой группы (дозы) животных. Эти пробы подвергали анализу на содержание свинца. В интервалах между суточными сборами биоматериала лабораторные крысы находились в стационарных условиях вивария, животным давали корм и воду. При высадке животных в обменные клетки в пары подбирали одних и тех же крыс.

Таким образом, экспериментально моделировали процесс острого отравления свинцом. Исследование длилось 20 суток. По окончании эксперимента у каждой особи контрольной и опытной группы с дозой свинца 45 мг/кг для анализа были взяты цельные органы – почки и печень.

Полученные биоматериалы подвергали анализу на содержание свинца методом инверсионной вольтамперометрии на анализаторе АВА-3, а также методом атомно-эмиссионной спектроскопии на анализаторе Optima 7000 DV ICP-OES, при этом использовали серии стандартных образцов для эффективного контроля качества и адекватности анализов (ГСО 6077-91).

В результате проведенных анализов получали значения концентрации свинца в моче, кале, тканях печени и почек (мкг/дм³ или мкг/кг). На основании данных об объемах выделенной мочи и массах печени, почек и кала были рассчитаны массы свинца в этих биосредах (мкг).

Результаты исследования обработаны стандартным пакетом прикладных программ Microsoft Office 2007 ОС Windows 7. Данные представлены средними арифметическими значениями с ошибкой среднего. Различия, в силу незначительного количества животных в группах, оценивались по критерию Вилкоксона-Манна-Уитни. и принимались статистически значимыми при $P < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Результаты анализов показали, что при дозе 15 мг/кг на протяжении всего эксперимента выделение свинца с калом преваляло на массой выводимого свинца с мочой, в конце эксперимента это превышение было почти вдвое. Для двух других доз (45 мг/кг и 60 мг/кг) массы выводимого свинца с калом и мочой практически равны (табл.1). Причиной могут быть изменения механизмов выведения свинца в зависимости от дозы, из чего следует необходимость измерения содержания свинца и в моче, и в кале пациента, а не только в моче, как основного диа-

Таблица 1

Средние значения массы элиминируемого свинца в кале и моче крыс (мкг) и их соотношение на 20-е сутки наблюдений

Биоматериал	Группы животных по дозам свинца			
	Контроль	15 мг/кг	45 мг/кг	60 мг/кг
Моча	6,3±0,945 [#] (n=4)	378±56,7 ^{**} (n=4)	1090±164 [#] (n=4)	1601±240 [#] (n=4)
Кал	53,5±8,025 [#] (n=4)	740±111 ^{**} (n=4)	1093±164 [#] (n=4)	1571±236 [#] (n=4)
Кал/моча	8,49	1,96	1,00	0,98

Примечания

1 * – различия по массе свинца в моче и кале статистически значимы при $P < 0,05$.

2 # – различия между экспериментальными группами и контрольной группой по соответствующему биоматериалу статистически значимы при $P < 0,05$.

гностического признака при подозрении на свинцовое отравление.

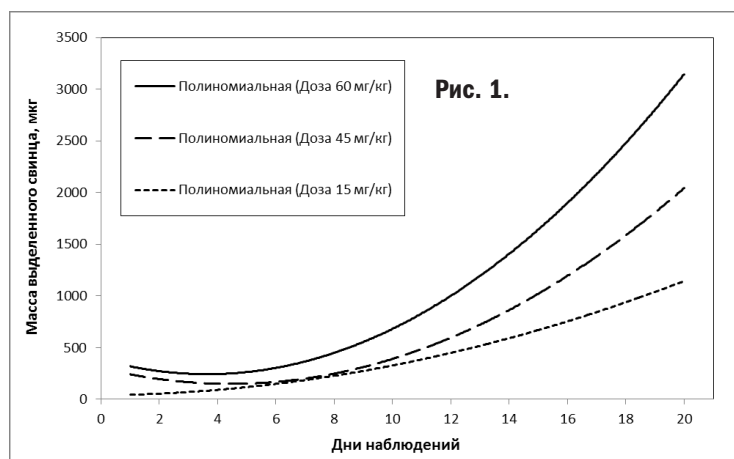
В таблице 2 представлены данные по содержанию свинца в почках и печени крыс. Несмотря на имеющиеся в литературе сообщения о тропности именно печени и почек к свинцу, данные таблицы 2 показывают, что доля аккумулированного свинца в этих органах к концу третьей недели относительно невелика.

Свинец в большем количестве локализуется в почках по сравнению с печенью, при этом по отношению к контролю содержание свинца в почках увеличивается в 127 раз, а в печени только в 63 раза.

Периодическое высаживание животных на сутки в обменные клетки, сбор кала и мочи позволили отследить кумулятивную динамику элиминации свинца ренальным и интестинальным механизмами выведения токсиканта. Суточные измерения концентрации свинца в этих биоматериалах позволили рассчитать массу выводимого свинца в абсолютных значениях и в долях (процентах) от введенного количества токсиканта. На основании этих данных стало возможным определить кинетические характеристики выведения свинца из организма крыс.

Графически динамика элиминации свинца из организма крыс с мочой и калом при трех дозах введения токсиканта представлена на рисунке 1.

Полученные графические зависимости хорошо описываются квадратичными полиномами ($R^2 \geq 0,98$). Для дозы 15 мг/кг – $Y = 2,63 \cdot x^2 + 2,59 \cdot x + 38,6$; для дозы 45 мг/кг – $Y = 7,82 \cdot x^2 - 69,5 \cdot x + 303,4$ и для дозы 60 мг/кг – $Y = 10,8 \cdot x^2 - 78,9 \cdot x + 386,4$. В этих уравнениях Y – масса выделенного свинца (мкг) на x – день от начала эксперимента. Это позволило вычислить часто применяемый при такого рода исследованиях параметр как время полувыведения токсиканта – $T_{1/2}$. Для дозы 15 мг/кг оказалось равным 61,9 суток, для дозы 45 мг/кг – 69,5 суток, для дозы 60 мг/кг – 70,8 суток. Несмотря на качественную связь дозы и $T_{1/2}$, прямой зависимости между ними не отмечено. Трехкратное увеличение дозы с 15 мг/кг до 45 мг/кг лишь на 13 % увеличивает время полувыведения свинца. Полученные значения $T_{1/2}$ близки по величине к представленным в литературе, хотя нужно отдавать отчет в том, что величина этого параметра зависит как от способа введения свинца, так от введенной дозы и метода определения



показателя [10]. Использование этих уравнений предсказывает, что полное выведение свинца, например, при дозе 15 мг/кг может произойти лишь на 88-е сутки.

Расчеты показывают, что на конец эксперимента (20-й день) у животных с дозой свинца 15 мг/кг выведено 9,93 %, 45 мг/кг – 6,47 % и 60 мг/кг – 7,06 % от введенной массы токсиканта.

Критически оценивая возможности предложенной модели выведения свинца, следует помнить о многофакторности процесса выведения свинца, его кумулятивных свойствах и компартментализации в организме [11]. Известно, что свинец может находиться в организме в трех формах и соответственно трех компартментах: лабильной – плазма крови, обмениваемой – эритроциты и мягкие ткани и стабильной – костная ткань [4]. Эти формы с кинетической точки зрения отличаются временем полувыведения токсиканта – 25 суток, 40 суток и 25 лет, соответственно [10].

Динамические процессы обмена свинца между компартментами, зависимость этих процессов от введенной дозы и сроков наблюдения усложняют понимание процесса элиминации свинца, представляющего собой непростой многофакторный процесс, который лишь в первом приближении, по-видимому, с определенными ограничениями может быть охарактеризован временем полувыведения. По-видимому, именно этой сложностью компартментализации можно объяснить значительный разброс в величине полувыведения свинца из организма представленный в литературных источниках – от 20-ти дней до 20-ти лет [12]. Вы-

Таблица 2

Средняя масса свинца (мкг) в почках и печени контрольных и опытных крыс (доза токсиканта 45 мг/кг) на 20 сутки эксперимента

Группы животных	Почки	Печень
Контрольная (6 крыс)	0,294±0,044* (n=6)	0,227±0,034* (n=6)
Опытная (8 крыс)	37,3±5,59* (n=8)	14,31±2,15* (n=8)

Примечание: 1* – различия между контрольной и опытной группами статистически значимы при $P < 0,05$

ведение значительного (при больших дозах) количества свинца, введенного в организм за короткий период будет сильно отличаться по этому показателю от процесса элиминации того же количества свинца, поступившего в организм за длительный период из источников с относительно низкой концентрацией этого токсиканта. Если в первом случае будут задействованы лабильный и обмениваемый компартменты, то во втором – обмениваемый и стабильный. Очевидно, что и время полувыведения будет соответственно в первом случае гораздо короче, чем во втором.

Несмотря на это, предложенная модель, ее аналитическое выражение определено и достаточно полно характеризуют состояние элиминации свинца в условиях конкретного эксперимента, т.е.

при парентеральном введении указанных доз свинца в виде ацетата. Модель интегрально описывает избавление организма от токсиканта, позволяет предсказать долю оставшегося свинца на тот или иной период времени, что может оказаться важным при терапии свинцовых отравлений и испытании соответствующих терапевтических средств, например, разного рода энтеросорбентов.

Представленные материалы позволяют сделать следующие **выводы**:

1. Соотношение между ренальным и кишечным путями выведения свинца зависит от дозы затравки свинцом.

2. Представленная кинетическая модель выведения свинца из организма крысы может быть достаточно точно описана полиномом 2-го порядка.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Новикова М.А. Влияние хронической свинцовой интоксикации на организм человека. Сибирский мед. журн. 2013; 2: С. 6-
2. Луковникова Л.В., Фролова А.Д., Чекунова М.П. Металлы в окружающей среде, проблемы мониторинга. Эфферентная терапия. 2004; Т. 10: 74-9.
3. Токсическое действие металлов (Т 56.0). МКБ-10: Международный классификатор болезней 10-го пересмотра. Available at: <http://mkb-10.com/index.php?pid=19213>.
4. Павловская Н. А., Кирьяков А. В.,

- Погабало А. В., Кирьяков А. В., Погабало А. В. Поведение свинца в организме человека и особенности ранней диагностики свинцовых интоксикаций. Моск. науч.-исслед. ин-т гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана, Рос. гос. мед. ун-т. М.: Лад; 19
5. Гнелицкий Г.И., Кауров Я.В., Лавровский С.Н., Артеменко А.Г., Андриухин В.И., Бородачев А.С. К проблеме выведения из организма человека тяжелых металлов. Электронный сборник научных трудов «Здоровье и образование в XXI Веке». 2011; 9 (Т. 13).
 6. Skerfving S., Bergdahl I. Lead. Handbook

- on the Toxicology of Metals. N.Y. Academic Press (Nordberg G.F, Fowler B.P., Nordberg M.-Eds). 2007; 610 -
7. Sabolić I. Common mechanisms in nephropathy induced by toxic metals. Nephron Physiol. 2006; 104(3):107-14.
 8. Измеров Н.Ф. Свинец и здоровье. Гигиенический и медико-биологический мониторинг. Москва; 20
 9. Красильщикова М.С., Белозерцева И.В. Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях. Rus-LASA: Объединение

специалистов по работе с животными, СПб; 20 Available at: http://ruslasa.ru/wp-content/uploads/Dir_2010_63_Rus-LASA.pdf.

10. Измеров Н.Ф. Российская энциклопедия по медицине труда. М.: Медицина; 20
11. Филов В.А., Ивин Б.А., Мусийчук Ю.И., Москвина А.В. Вредные вещества в окружающей среде. Справ.-энц. изд. СПб.: НПО «Профессионал»; 2005.
12. Hernberg S. Lead. Occupational Medicine Yearbook. Pt The Chemical Occupational Environment, Chicago, 1975; 715-69.

REFERENCES:

1. Novikova M.A. Influence of chronic lead intoxication on the human body. Siberian med. journal. 2013, 2, Pp. 6-13 (in Russian).
2. Lukovnikova L.V., Frolova A.D., Chekunova M.P. Metals in the environment, monitoring problems. Efferent therapy. 2004, Vol. 10, Pp. 74-9 (in Russian).
3. Toxic effect of metals (T 56.0). ICD-10: International classification of diseases of the 10th revision. Available at: <http://mkb-10.com/index.php?pid=19213> Hm.
4. Pavlovskaya N.A., Kirjakov A.V., Pogabalo A.V. Behavior of lead in the human body and features of early diagnosis of lead intoxication.

- F.F. Erisman Federal Research Center of Hygiene. Russian State Medical University: Lад; 1998 (in Russian).
5. Gneltitsky G.I., Kaurov Ya.V., Lavrovsky S.N., Artemenko A.G., Andriukhin V.I., Borodachev A.S. On the problem of excretion of heavy metals from the human body. Electronic collection of scientific papers «Health and education in the XXI Century». 2011, 9, Vol. 13 (in Russian).
 6. Skerfving S., Bergdahl I. Lead. Handbook on the toxicology of metals. N. Yu. academic printing house (Nordberg G. F., Fowler B. P., Nordberg, M., EDS). 2007, Pp. 610-

7. Sabolić I. Common mechanisms in nephropathy induced by toxic metals. Nephron Physiol. 2006, 104, 3, Pp. 107-14.
8. Izmerov N.F. Lead and health. The hygienic medical-biological and monitoring. Moscow, 20
9. Krasilschikova M.S., Belozertseva I.V. EC 2010/63/EU of the European Parliament and the Council of the European Union for the protection of animals used for scientific purposes. Rus-Lasa: Association of specialists working with animals, St. Petersburg, 20 Available at: http://ruslasa.ru/wp-content/uploads/Dir_2010_63_Rus-LASA.pdf Hm (in

- Russian).
10. Izmerov N.F. Russian encyclopedia of occupational medicine. M., Medicine, 2005 (in Russian).
 11. Filov V.A., Ivin B.A., Musiychuk Yu.I., Moskvina A.V. Harmful substances in the environment. SPb., Professional, 2005 (in Russian).
 12. Hernberg S. Lead. Occupational Medicine Yearbook. Pt The Chemical Occupational Environment, Chicago, 1975, Pp. 715-69.

M.E. Shemaev, A.M. Malov, V.K. Sibiryakov, R.K. Glushkov

FEATURES OF LEAD ELIMINATION IN RATS FOR ITS PARENTERAL ADMINISTRATION

Institute of Toxicology of the Federal Medical-Biological Agency, 192019, Saint Petersburg, Russian Federation

The data on lead elimination from the body of rats with urine and feces for parenteral administration of the toxicant are presented. Three times introduction of lead acetate in daily doses (lead) of 15 mg/kg, 45 mg/kg, and 60 mg/kg was used. The lead content was determined by inversion voltammetry and atomic emission spectroscopy. It has been shown that lead elimination is dose-dependent and can be described by a 2nd order polynomial.

On the 20th day of the experiment, 6% to 10% of the lead introduced into the body of rats has been eliminated depending on the lead dose. The relationship between the renal and intestinal routes of toxicant excretion depends on the dose of lead seed. The half-lives of lead turned out to be 61,9 days for a dose of 15 mg/kg, 69,5 days for a dose of 45 mg/kg, and 70,8 days for a dose of 60 mg/kg. The presented model can be used to assess the effect of therapeutic agents used in lead poisoning.

Keywords: lead, rats, elimination, urine, feces.

Переработанный материал поступил в редакцию 10.06.2019 г.