

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

**ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ  
ИНТЕГРАЛЬНОГО СОДЕРЖАНИЯ МЕТАЛЛОТИОНЕИНОВ  
В ЭРИТРОЦИТАРНОЙ МАССЕ  
ПРИ АНАЛИЗЕ ОБЕСПЕЧЕННОСТИ ЦИНКОМ  
ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ**

**EVALUATION OF THE POSSIBILITY  
TO USE INTEGRAL CONTENT OF METALLOTHIONEINS  
IN PACKED RED CELLS WHEN ANALYZING ZINC  
PROVISION DURING PREGNANCY**

*Е.Г. Пыхтеева*

*E.G. Pykhtieieva*

ГП «Украинский НИИ медицины транспорта МЗ Украины», г. Одесса, Украина  
Ukrainian RSI of Transport Medicine, Odessa, Ukraine

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: беременность, цинк, металлотиионеин.

KEYWORDS: pregnancy, zinc, metallothionein.

**РЕЗЮМЕ.** Обследовано 24 женщины во 2–3 триместре беременности на содержание тяжелых металлов в эритроцитарной массе и плазме крови. Показано, что при беременности примерно у половины обследованных наблюдается снижение концентрации цинка в плазме крови. Это свидетельствует о превышении потребления цинка над его поступлением, что вызывает мобилизацию данного элемента из физиологических депо. Мобилизация эссенциальных элементов (Ca, Zn) в то же время приводит к выходу из костей кадмия, концентрация которого в эритроцитах у 7 обследованных значительно превышает среднепопуляционные значения для г. Одессы. Наличие вторичной экспозиции кадмием подтверждает повышенный уровень металлотиионеина в эритроцитарной массе, который у беременных с высоким уровнем кадмия превышал 80 мкг/г белка. При условии дефицита цинка без вторичной экспозиции кадмием уровень металлотиионеина в эритроцитарной массе находится ниже 30 мкг/г белка. Полученные данные позволяют рассматривать металлотиионеин как дополнительный чувствительный биомаркер гомеостаза цинка и экспозиции кадмием

**ABSTRACT.** 24 women during the 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> trimesters of pregnancy were examined for the content of heavy metals in packed red cells and blood plasma. It was shown that during pregnancy reduction of zinc content in blood plasma is observed in approximately half of examined women. It speaks about excess of zinc consumption over its receipt, which causes mobilization of this element from physiologic repositories. At the same time mobilization of essential elements (Ca, Zn) leads to exit of cadmium from bones, concentration of which in erythrocytes in 7 examined people considerably exceeds the average Odessa population rate. The presence of secondary exposure by cadmium confirms higher level of metallothionein in packed red cells, which exceeded 80 mcg/g of protein in pregnant women with high level of cadmium content. On condition of zinc deficiency without secondary exposure by cadmium the level of metallothionein in packed red cells is lower than 30 mcg/g of protein. The obtained data allow us to consider metallothionein an additional sensitive biomarker of zinc homeostasis and exposure by cadmium.

**ВВЕДЕНИЕ**

Цинк вместе с железом и медью относится к эссенциальным, т.е. жизненно необходимым микроэлементам. Цинк содержит от трех до десяти

---

\* Адрес для переписки:  
Пыхтеева Елена Гераклитовна  
E-mail: pykhteeva@rambler.ru

процентов всех белков в организме млекопитающих, он выполняет роль регулятора экспрессии генов, участвует в клеточном гомеостазе. Находящийся в клетках цинк легко соединяется с аминокислотами, белками, пуриновыми основаниями, нуклеиновыми кислотами, играет важную роль в функционировании Т-клеточного звена иммунитета, в метаболизме РНК и ДНК, а также липидов и белков. Он входит в состав многих металлоферментов (сейчас их известно более 300). Поэтому не удивительно, что дефицит цинка имеет катастрофические последствия для здоровья (Maret, Sandstead, 2006; Gunasekara et al., 2011). Цинк также выполняет роль регулятора экспрессии генов, в первую очередь за счет работы транскрипционных факторов, известных как цинк-пальцевидные белки (Dreosti, 2001).

Особенно важна роль цинка во время физиологических состояний организма, сопровождающихся повышенным белковым синтезом и высокой интенсивностью обмена веществ. К таким состояниям, несомненно, относится беременность. Дефицит цинка у беременных может повысить вероятность выкидыша, преждевременных родов, осложненных схваток, низкого веса новорожденного. По данным разных авторов, потребность беременной женщины в цинке возрастает на 40–60% (Скальный, Рудаков, 2004). Если суточная потребность в цинке у взрослого человека составляет 10–15 мг, то суточная потребность в цинке беременной женщины повышается до 20–25 мг. Поэтому нередки случаи, когда во время беременности происходит мобилизация цинка, необходимого для нормального развития плода, из естественных депо организма, и содержание цинка в организме беременной часто резко снижается, особенно в 3-м триместре беременности.

Симптомами дефицита цинка у будущей матери может служить появление угрей, очаговое выпадение волос, потеря аппетита, потеря вкусовых ощущений и обоняния, ломкость ногтей, белые пятна на ногтях, сухость кожи, раздражительность и потеря памяти, медленное заживление ран, диарея, быстрая утомляемость.

В настоящее время единственным методом диагностики дефицита цинка является измерение его концентрации в биосубстратах – волосах, крови и моче (Скальная и др., 2003). В то же время этот метод имеет ряд недостатков. Например, содержание цинка в крови отражает поступление цинка в конкретный момент времени, поскольку он значительно повышается после поступления этого микроэлемента (например, в составе микроэлементного комплекса или при употреблении богатой цинком пищи) и быстро снижается со временем при прохождении через печень. Кроме того, во время беременности при наличии мобилизации цинка из депо анализ крови будет показывать нормальные или даже несколько завышенные результаты. Концентрация в моче отражает процесс выведения цинка через почки, и больше подходит для выяв-

ления случаев повышенной экспозиции цинком, например в производственных условиях. Наиболее информативным в настоящее время признано измерение концентрации цинка в волосах или ногтях, т.е. тех биосубстратах, которые накапливают микроэлементы по мере роста, и содержание в них отражает состояние поступления микроэлемента за длительное время. Однако и этот метод не лишен недостатков. Например, содержание большого количества цинка в средствах для ухода за волосами (шампуни, маски, гели и т.п.) способствует сорбции цинка на поверхности волос. Таким образом необходимо, чтобы пациент не менее двух недель не использовал никаких подобных средств.

Кроме того, даже содержание цинка в биосубстратах в пределах физиологической нормы не гарантирует его нормальное участие в биохимических процессах, поскольку для этого необходимо его присутствие в местах синтеза Zn-зависимых ферментов в биодоступном состоянии.

Большая часть биохимических функций Zn контролируется и регулируется на клеточном уровне с участием низкомолекулярного металло-транспортного белка металлотиионеина (МТ), экспрессия которого зависит от потребности клеточных систем в цинке и способствует поддержанию его гомеостаза.

При недостаточности синтеза МТ возможны симптомы цинкдефицитных состояний при нормальном или даже несколько повышенном содержании цинка в биосубстратах. Дефицит МТ при недостаточном поступлении цинка задерживает рост костей (Fong et al., 2009), способствует возникновению дерматозов (Romanucci et al., 2010). Кроме того, обмен цинка непосредственно связан с обменом меди (в том числе и за счет их совместного присутствия в составе металлотиионеина). Поэтому при нарушении соотношения Zn/Cu также возможно появление симптомов цинкдефицитного состояния.

Определение содержания МТ может быть важным, а в ряде случаев единственно возможным информативным биомаркером патологических процессов в печени, почках, нервной, сердечно-сосудистой системах, связанных со сдвигом метаболизма микроэлементов первичного и вторичного генеза.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовали 24 беременных женщины в возрасте от 21 до 34 лет во 2–3-м триместре беременности, у которых однократно отбирали 10 мл венозной крови. Определяли содержание цинка, меди, кадмия в эритроцитах и плазме, а также содержание металлотиионеина в эритроцитах. Содержание металлов определяли методом атомно-эмиссионной спектроскопии с электродуговой атомизацией на спектрометре ЭМАС-200 CCD, содержание металлотиионеина – разработанным нами методом насыщения с концевкой АЭС-ДА (Пыхтеева, Большой, 2011).

Отбор проб крови, раздел крови на плазму (сыворотку) и эритроцитарную массу производили по общепринятым методикам. Время хранения проб при комнатной температуре до начала анализа не превышало 180 мин.

Для анализа на металлотиионеины отбирали 1 мл эритроцитарной массы, промывали физиологическим раствором (0,9%-ный раствор NaCl), чтобы удалить остатки плазмы. Для этого в аликвоту эритроцитарной массы добавляли 5 мл охлажденного физиологического раствора и проводили центрифугирование. Образовавшуюся надосадочную жидкость отбрасывали, а промытые эритроциты брали в анализ. На следующей стадии проводили лизис эритроцитов. От качественного прохождения гемолиза напрямую зависит достоверность полученных результатов. Для получения лизата эритроцитарную массу заливали лизирую-

щим раствором из расчета 1:8. Лизирующий раствор готовили по следующей прописи: хлорид аммония (NH<sub>4</sub>Cl) 4,15 г; калия гидрокарбонат (KHCO<sub>3</sub>) 0,5 г; EDTA – 0,015 г. Смесь сухих веществ растворяли и объем доводили до 500 мл дистиллированной водой; получили лизирующий раствор с pH = 7,2–7,4. Полноту протекания лизиса эритроцитов контролировали микроскопически. В полученном лизате определяли общее содержание гемоглобина циангемоглобиновым методом. Содержание МТ в эритроцитарной массе пересчитывали на 1 г гемоглобина. Результаты исследования обработаны статистически.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты измерения концентраций металлов и МТ представлены в таблице.

*Таблица. Концентрации некоторых металлов в плазме и эритроцитарной массе и интегральное содержание металлотиионеинов в эритроцитарной массе*

Субстрат – плазма	Содержание металлов, мг/кг			Субстрат – эритроц.	Содержание металлов, мг/кг			МТ <sub>эр.</sub> , мкг/г белка
	Zn	Cu	Cd		Zn	Cu	Cd	
Пл 1	1,221	0,229	0,0032	Эр 1	19,593	0,082	0,0008	61,2
Пл 2	2,677	0,246	0,0042	Эр 2	11,896	0,277	0,0007	77,3
Пл 3	5,621	0,042	0,0102	Эр 3	13,739	0,184	0,001	91,2
Пл 4	2,279	0,393	0,0053	Эр 4	13,897	0,124	0,0002	71,5
Пл 5	2,143	0,29	0,001	Эр 5	13,620	0,056	0,0039	68,3
Пл 6	2,797	0,385	0,0019	Эр 6	13,816	0,161	0,0015	76,2
Пл 7	1,067	0,94	0,0004	Эр 7	14,030	0,084	0,0010	82,1
Пл 8	1,449	1,55	0,0001	Эр 8	9,483	0,221	0,0018	73,2
Пл 9	5,626	1,45	0,0001	Эр 9	5,474	0,132	0,0001	88,1
Пл 10	0,999	1,78	0,0016	Эр 10	9,092	0,550	0,0006	76,1
Пл 11	3,148	3,58	0,0019	Эр 11	7,252	0,222	0,0002	78,2
Пл 12	0,955	1,99	0,0009	Эр 12	8,634	0,755	0,0002	55,2
Пл 13	0,648	2,53	0,0001	Эр 13	7,943	0,586	0,0003	62,1
Пл 14	3,683	2,94	0,0028	Эр 14	14,79	0,846	0,0019	82,4
Пл 15	2,262	0,762	0,0017	Эр 15	11,064	0,072	0,0065	77,9
Пл 16	2,291	1,3	0,0001	Эр 16	10,401	0,132	0,0014	73,8
Пл 17	0,217	0,635	0,0017	Эр 17	0,417	0,140	0,1582	170,2
Пл 18	0,276	0,212	0,0048	Эр 18	0,567	0,031	0,0246	91,2
Пл 19	0,083	0,317	0,0028	Эр 19	1,796	0,167	0,1024	113,3
Пл 20	0,410	0,337	0,0006	Эр 20	1,305	0,114	0,0597	98,1
Пл 21	0,410	0,304	0,0096	Эр 21	0,442	0,105	0,0023	29,7
Пл 22	0,642	0,209	0,0037	Эр 22	1,208	0,086	0,0594	95,2
Пл 23	0,257	0,113	0,0009	Эр 23	2,076	0,092	0,0334	88,4
Пл 24	0,723	0,273	0,0007	Эр 24	1,067	0,064	0,0761	122,5
Среднее	1,75	0,95	0,0025		8,07	0,22	0,02	83,18
Довер. инт.	0,63	0,39	0,0011		2,32	0,09	0,02	10,77

Примечание: Относительная погрешность измерения не превышала 8 % по содержанию металлов и 20% по содержанию металлотиионеинов.

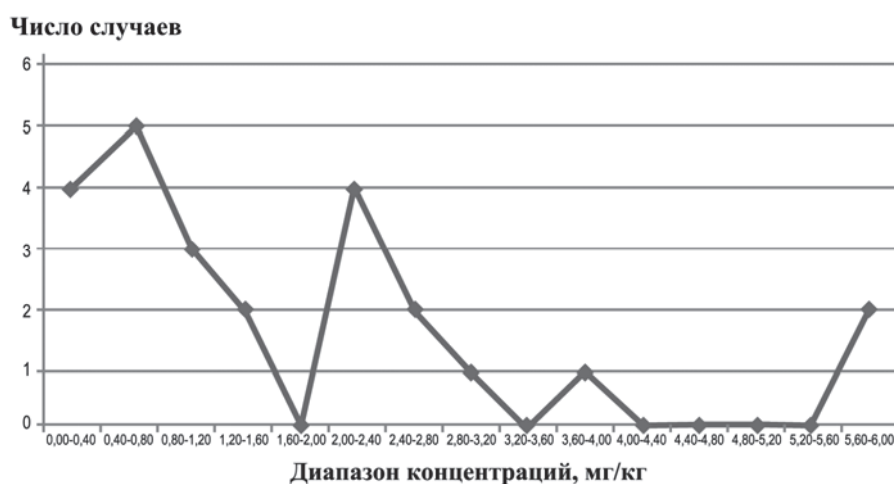


Рис. 1. График распределения концентраций цинка в плазме

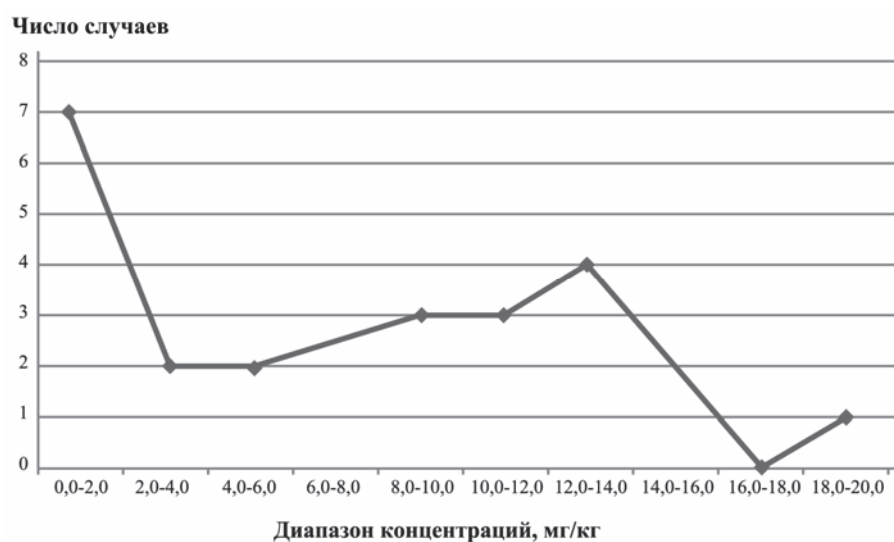


Рис. 2. График распределения концентраций цинка в эритроцитарной массе

На рис. 1 приведен график распределения концентраций цинка в плазме крови обследуемых, на котором прослеживаются два выраженных максимума. У 14 из 24 обследуемых содержание цинка в плазме лежит в диапазоне от 0,1 до 1,5 мг/кг, у 8 – в диапазоне от 2,0 до 4,0 мг/кг.

Аналогично, наблюдаются два максимума содержания цинка в эритроцитарной массе (рис. 2). Если рассматривать отдельно выделенные группы, то в первой группе содержание цинка в эритроцитах составляет  $1,11 \pm 0,43$  мг/кг, а во второй –  $10,89 \pm 1,75$  мг/кг, и различия между этими группами достоверны при  $p \leq 0,05$ .

В то же время корреляционный анализ по выборке в целом показал наличие слабовыраженной корреляции между концентрацией цинка в плазме и эритроцитах на уровне 0,5. Анализ распределения позволил предположить наличие прелатентного дефицита цинка у обследуемых с низким его содержанием.

Для проверки этой гипотезы был измерен уровень МТ в эритроцитарной массе (см. табл.). Исходя из данных литературы (Grider et al., 1990), в крови неэкспонированных людей наблюдается высокая положительная корреляция между содержанием цинка в плазме крови и металлотионеина в эритроцитах. Однако в наших исследованиях по выборке в целом такая корреляция не наблюдалась (коэффициент корреляции  $-0,15$ ). Однако известно (Шафран и др., 2011), что МТ является также чувствительным маркером интоксикации кадмием. Действительно, корреляционный анализ показал наличие резко выраженной положительной корреляции (0,89) между содержанием кадмия и МТ в эритроцитах. Анализ распределения содержания кадмия в эритроцитах показал, что у 17 из 24 обследованных (70,8%) содержание кадмия не превышает 20 мкг/кг эритроцитарной массы. Когда из рассматриваемой выборки по содержанию цинка в плазме были исключены об-

следуемые с явно повышенным уровнем кадмия в эритроцитах, коэффициент корреляции между содержанием МТ в эритроцитах и цинка в плазме вырос до 0,77. Кроме того, по выборке в целом наблюдается выраженная отрицательная корреляция между содержанием кадмия и цинка в эритроцитах (коэффициент корреляции  $-0,65$ ).

### ВЫВОДЫ

Описанная ранее (Большой и др., 2002) мобилизация кальция из костей беременной женщины, вероятно, вызывает выход из депо кадмия (как и других металлов, например свинца, как было показано нами ранее), вызывая вторичную экспозицию этими токсикантами. Одним из основных источников кадмия в организме (при отсутствии производственно обусловленной экспозиции), несомненно, является курение. Возможность мобилизации кадмия из костей при беременности является серьезным основанием для отказа от курения не только после наступления беременности, но и вообще для отказа девушек от курения.

Для анализа обеспеченности цинком можно использовать содержание МТ в эритроцитах только в том случае, когда исключена первичная или вторичная экспозиция кадмием.

В случае превышения концентрации кадмия в эритроцитарной массе выше 20 мкг/кг, МТ отражает ответ организма на экспозицию кадмием, а не показывает обмен цинка.

При отсутствии первичной или вторичной экспозиции кадмием концентрация МТ в эритроцитах коррелирует с содержанием цинка и может быть использована в качестве биомаркера недостаточности цинка. При этом содержание МТ меньше 30 мкг/г гемоглобина однозначно свидетельствует о недостатке цинка, а нахождение МТ в пределах нормы не исключает вероятность цинк-дефицита.

### ЛИТЕРАТУРА

*Большой Д.В., Пыхтеева Е.Г., Шафран Л.М.* Тяжелые металлы – извечная проблема токсикологии // Сборник научных трудов к 75-летию НИИ санитарии и гигиены «Здоровье и окружающая среда». Минск, 2002. С. 116–121.

*Пыхтеева Е.Г., Большой Д.В.* Сравнение методов количественного определения металлотхионеина с атомно-абсорбционной и атомно-эмиссионной детекцией // Здоровье и окружающая среда. Сборник научных трудов. Вып. 17. Минск, 2011. С. 191–194.

*Скальная М.Г., Демидов В.А., Скальный А.В.* О пределах физиологического (нормального) содержания Са, Mg, P, Fe, Zn и Cu в волосах человека // Микроэлементы в медицине. 2003. Т. 4. Вып. 2. С. 5–10.

*Скальный А.В., Рудаков И.А.* Биоэлементы в медицине. М.: Издательский дом «ОНИКС 21 век». Мир, 2004. 10 с.

*Шафран Л.М., Пыхтеева Е.Г., Большой Д.В.* Металлотхионеины / под ред. проф. Л.М. Шафрана. Одесса: Издательство «Черномор'я», 2011. 428 с.

*Dreosti I.E.* Zinc and the gene // *Mutat Res.* 2001, 18:475(1–2):161–167.

*Fong L., Tan K., Tran C. et al.* Interaction of dietary zinc and intracellular binding protein metallothionein in postnatal bone growth // *Bone.* 2009, 44(6):1151–1162.

*Grider A., Bailey L.B., Cousins R.J.* Erythrocyte metallothionein as an index of zinc status in humans // *Proc Natl Acad Sci USA.* 1990, 87:1259–1262.

*Gunasekara P., Hettiarachchi M., Liyanage C. et al.* Effects of zinc and multimineral vitamin supplementation on glycemic and lipid control in adult diabetes // *Diabetes Metab Syndr Obes.* 2011, 4:53–60.

*Maret W., Sandstead H.H.* Zinc requirements and the risks and benefits of zinc supplementation // *J Trace Elem Med Biol.* 2006, 20(1):3–18.

*Romanucci M., Bongiovanni L., Russo A. et al.* Oxidative stress in the pathogenesis of canine zinc-responsive dermatosis // *Vet Dermatol.* 2010, 22:31–38.