

Исследование антидотной активности аскорбата цинка при острых ртутных поражениях

А.А. Баранец, Г.А. Пригорелов

Федеральное государственное казенное военное образовательное учреждение высшего образования «Военная академия радиационной, химической и биологической защиты имени Маршала Советского Союза С.К. Тимошенко» Министерства обороны Российской Федерации, 156015, Российская Федерация, г. Кострома, ул. Горького, д. 16

Поступила 16.12.2016 г. Принята к публикации 05.04.2017 г.

Выполнен синтез биологически активного цинксодержащего вещества – аскорбата цинка ($C_6H_8O_4Zn$). Установлено, что при острых ртутных отравлениях у экспериментальных животных, предварительно получивших терапевтическую дозу аскорбата цинка, существенно повышается выживаемость (с 10 до 67 %) и поддерживаются близкими к физиологической норме показатели периферической крови (процент гибели лейкоцитов, содержание токсических гранул в лейкоцитах, сульфгидрильных групп в лейкоцитах и свободных сульфгидрильных групп в сыворотке крови). Полученные данные показывают, что цинковая соль аскорбиновой кислоты обладает выраженной способностью к защите клеточных и биохимических мишеней крови от токсического действия ртути и может использоваться как антидот при профилактическом применении в условиях последующего острого ртутного поражения.

Ключевые слова: тяжелые металлы; аскорбат цинка; антидотная активность; ртутное поражение; биохимические мишени; сульфгидрильные группы.

Библиографическое описание: Баранец А.А., Пригорелов Г.А. Исследование антидотной активности аскорбата цинка при острых ртутных поражениях // Вестник войск РХБ защиты. 2017. Т. 1. № 2. С. 14–20.

В процессе промышленного производства, а также при техногенных авариях, в окружающую среду могут в значительных количествах выделяться различные тяжелые металлы, среди которых одним из наиболее опасных элементов является ртуть [1]. Как известно, в качестве средств антидотной профилактики и терапии при отравлениях тяжелыми металлами обычно применяются препараты, содержащие серу в промежуточной степени окисления (унитиол, тиосульфат натрия и др.) [1, 2]. Однако при отравлениях ртутью и ее соединениями эффективность этих препаратов в ряде случаев оказывается недостаточной [3]. Поэтому поиск новых фармакологических средств для оказания помощи при ртутных поражениях по-прежнему остается актуальной за-

дачей токсикологии. В связи с этим обращают на себя внимание имеющиеся в литературе данные о биологической активности такого химического элемента, как цинк [4]. В частности, речь идет о способности ионов цинка снижать тяжесть токсического поражения в результате их конкурентного взаимодействия с ионами других металлов [4–6]. На основании этого нами было выдвинуто предположение о возможности использования соединений цинка как антидотных средств при ртутных отравлениях. В качестве модельного вещества была выбрана цинковая соль аскорбиновой кислоты (аскорбат цинка). Это было сделано в связи с тем, что аскорбиновая кислота (гамма-лактон 2,3-дегидро-L-гулоновой кислоты) представляет собой биогенное вещество с ярко выраженными антиок-

Исследование антидотной активности аскорбата цинка при острых ртутных поражениях

сидантными свойствами, в связи с чем при ее использовании в качестве носителя атома цинка она предположительно должна будет усиливать нейтрализующий эффект последнего при ртутных отравлениях.

Цель работы – экспериментальное исследование антитоксических свойств цинковой соли аскорбиновой кислоты при острых ртутных поражениях.

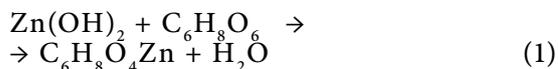
Материалы и методы

Материалы

- оксид цинка («ч», ГОСТ 10262-73, Россия);
- аскорбиновая кислота («чда», производство фирмы «Serva», Германия);
- ацетон («чда», ГОСТ 2603-79, Россия);
- эфир диэтиловый («ч», ГОСТ 6265 74, Россия);
- дихлорид ртути (ГОСТ 4519-48, Россия);
- мыши нелинейные (половозрелые, обоих полов, массой от 20 до 30 г).

Методы

Общая схема синтеза аскорбата цинка имеет следующий вид:



Способ синтеза заключался в том, что к суспензии гидроксида цинка, нагретой до 60 °С, прибавляли водный раствор аскорбиновой кислоты. Реакционную смесь перемешивали на магнитной мешалке 6 часов при температуре 50 °С. Соль аскорбата цинка осаждали смесью ацетона и эфира (1:1), промывали диэтиловым эфиром и высушивали. Целевой продукт имел вид мелкодисперсного порошка желтого цвета, растворимого в воде. Выход целевого продукта составил около 60 %.

С целью идентификации синтезированного соединения и оценки степени его чистоты был проведен физико-химический анализ на дериватографе Тер-

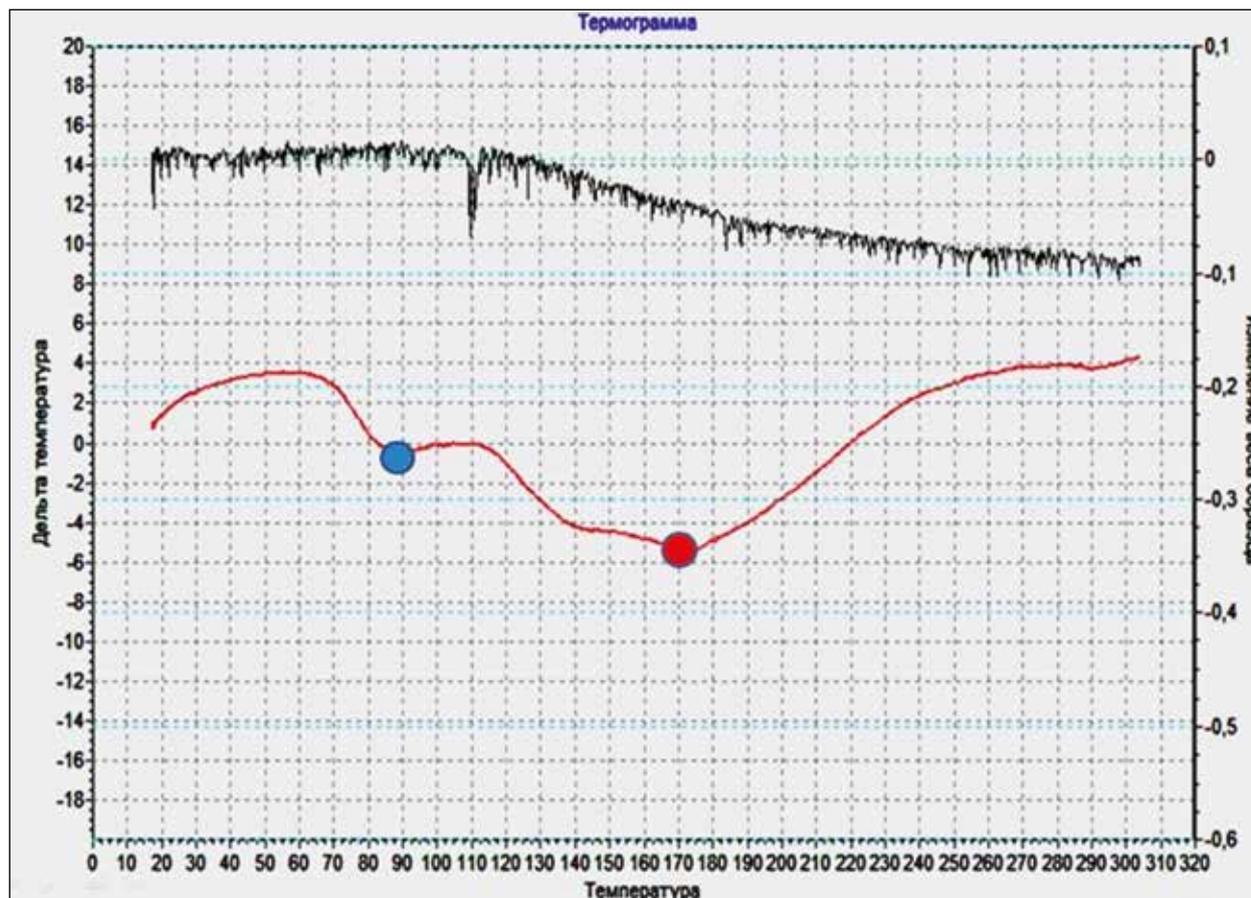


Рисунок 1 — Кривая термического разложения синтезированного вещества (точка плавления аскорбата цинка (красный кружок) соответствует 170 °С. «Малый» отрицательный пик (синий кружок) на уровне 90 °С обусловлен наличием в образце примеси не прореагировавшей аскорбиновой кислоты)

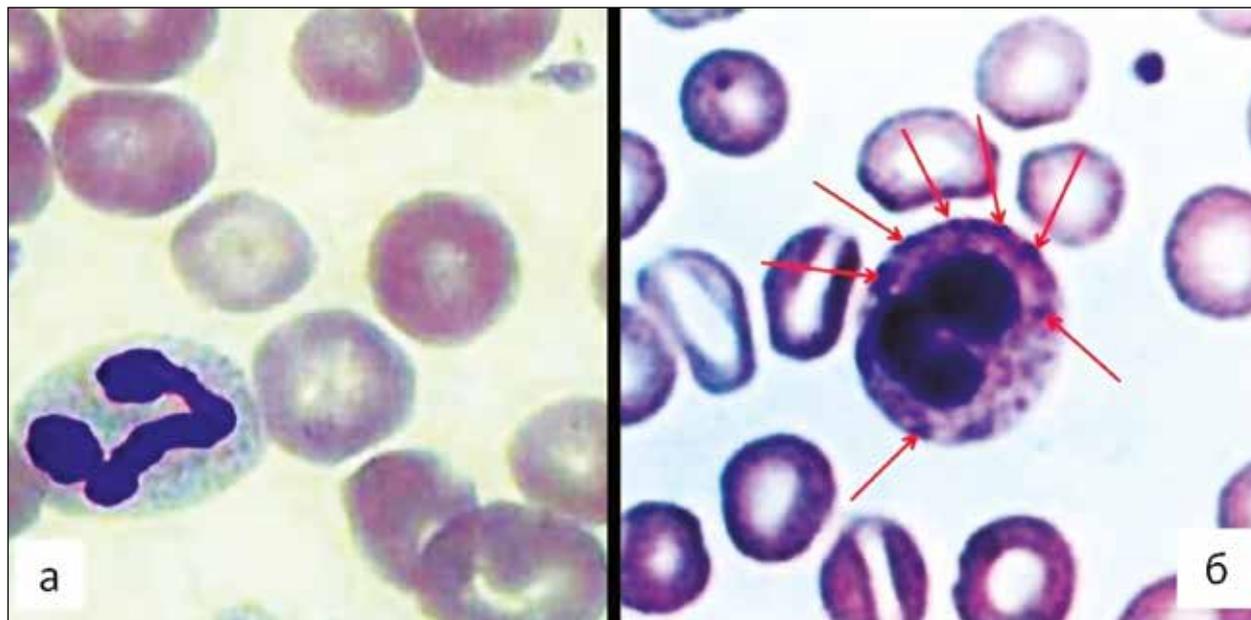


Рисунок 2 — Мазки периферической крови в норме (а) и на 7-е сутки после воздействия дихлорида ртути (б). Стрелками указаны токсические гранулы в лейкоцитах. Увеличение $\times 900$

москан-2 (производство фирмы «Аналитприбор», Россия) в соответствии с руководством по пользованию данным видом аналитического оборудования. Полученная при этом термографическая кривая (рисунок 1) показала, что наиболее глубокий отрицательный пик приходится на температуру 170 °С, что соответствует точке плавления аскорбата цинка. Кроме того, в исследуемом образце установлено наличие примеси не прореагировавшей аскорбиновой кислоты на уровне менее 10 %.

Определение антидотных свойств

Для изучения антидотных свойств полученного соединения была проведена серия экспериментов на белых нелинейных мышах. В качестве модельного вещества использовали дихлорид ртути (HgCl_2), который вводился внутрибрюшинно в дозе 1,5 LD_{50} . Контролем являлась группа мышей, получивших 0,9 % раствор хлорида натрия (физиологический раствор). Экспериментальной группе за 1 ч до затравки дихлоридом ртути вводился тем же способом водный раствор аскорбата цинка в дозе 200 мг/кг.

За всеми группами животных было установлено динамическое наблюдение, в ходе которого на 3, 7 и 14 сутки проводили взятие проб периферической крови для лабораторного исследования, включавшего в себя оценку следующих показателей:

- 1) процента гибели лейкоцитов (ПГЛ) [7];
- 2) токсических гранул в лейкоцитах (ТГЛ) [7];
- 3) сульфгидрильных групп в лейкоцитах (СГЛ) [8];
- 4) свободных сульфгидрильных групп в сыворотке крови (СГС) [9].

Первые три лабораторных показателя оценивались на основании морфологического исследования мазков крови с помощью светового микроскопа Микромед-1 (предприятие ЛОМО, Россия), оснащенного цифровой фотокамерой; последний параметр определялся биохимическим методом на спектрофотометре СФ-2000 (предприятие ЛОМО, Россия) при длине волны 412 нм.

На приведенных микрофотоснимках (рисунок 2) показан внешний вид нейтрофильных лейкоцитов в условиях физиологической нормы и после воздействия дихлорида ртути.

Результаты и обсуждение

В ходе эксперимента установлено, что дихлорид ртути в летальных дозах вызывал у мышей тяжелое отравление со следующими симптомами: атаксией, адинамией, мышечным тремором и коматозным состоянием. Результаты наблюдений за животными представлены в таблице 1.

Из данных таблицы 1 следует, что на фоне применения аскорбата цинка отме-

Таблица 1 — Результаты клинических наблюдений за экспериментальными животными

Группы, n = 12	Признаки отравления	Выживаемость, %
Контроль	Отсутствие симптоматики	100
HgCl ₂	3–6 ч: апатия, атаксия 12–16 ч: адинамия, лежачее положение, слепота, тремор 24–48 ч: гибель животных	10
HgCl ₂ + аскорбат цинка	6–10 ч: атаксия 20–25 ч: адинамия 36–48 ч: гибель отдельных особей 14–15 сут: восстановление функций	67

Таблица 2 — Лабораторные показатели после введения хлорида ртути в чистом виде и на фоне аскорбата цинка (7 суток)

Группы, n = 12	Лабораторные показатели, M ± m			
	ПГЛ, %	ТГЛ, ед.	СГЛ, ед.	СГС, моль/л
Контроль	0,8±0,03	0,1±0,01	5,3±0,6	1,8±0,2
HgCl ₂	24±1,1*	4±0,3*	0,9±0,1*	0,2±0,01*
HgCl ₂ + аскорбат цинка	13±0,7** **	3,8±0,2*	1,6±0,1** **	0,4±0,01*

* Различия с группой контроля достоверны при p < 0,05.
** Различия с группой HgCl₂ достоверны при p < 0,05.

чается существенное смягчение клинической симптоматики ртутной интоксикации и заметное увеличение количества выживших особей.

Результаты лабораторных исследований крови мышей на 7-е сутки от начала эксперимента в обобщенном виде приведены в таблице 2.

Приведенные в таблице 2 данные показывают, что воздействие дихлорида ртути на организм экспериментальных животных сопровождается резким нарушением всех исследуемых показателей. Вместе с тем, у мышей, получивших аскорбат цинка, отмечалась картина крови, более близкая к физиологической норме, что наиболее заметно в отношении сульфгидрильных групп.

Таким образом, как видно из полученных лабораторных данных, аскорбат цинка проявил в данном случае выраженное протекторное действие (очевидно, по прямому конкурентному механизму),

создавая биохимическое препятствие для связывания ионов ртути с сульфгидрильными (тиоловыми) группами жизненно важных клеточных белков.

Сходные закономерности были установлены на протяжении всего токсикологического эксперимента – вплоть до 14-х суток. Это представлено на гистограмме, отражающей динамику изменения такого параметра, как индекс клеточной гибели (ПГЛ) (рисунок 3).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют об эффективности аскорбата цинка при отравлениях ртутьсодержащими токсикантами, и мы предполагаем, что аскорбат цинка может быть использован для нейтрализации токсического действия других соединений тяжелых металлов.

Выводы

1. Использованная схема синтеза аскорбата цинка позволяет получить це-

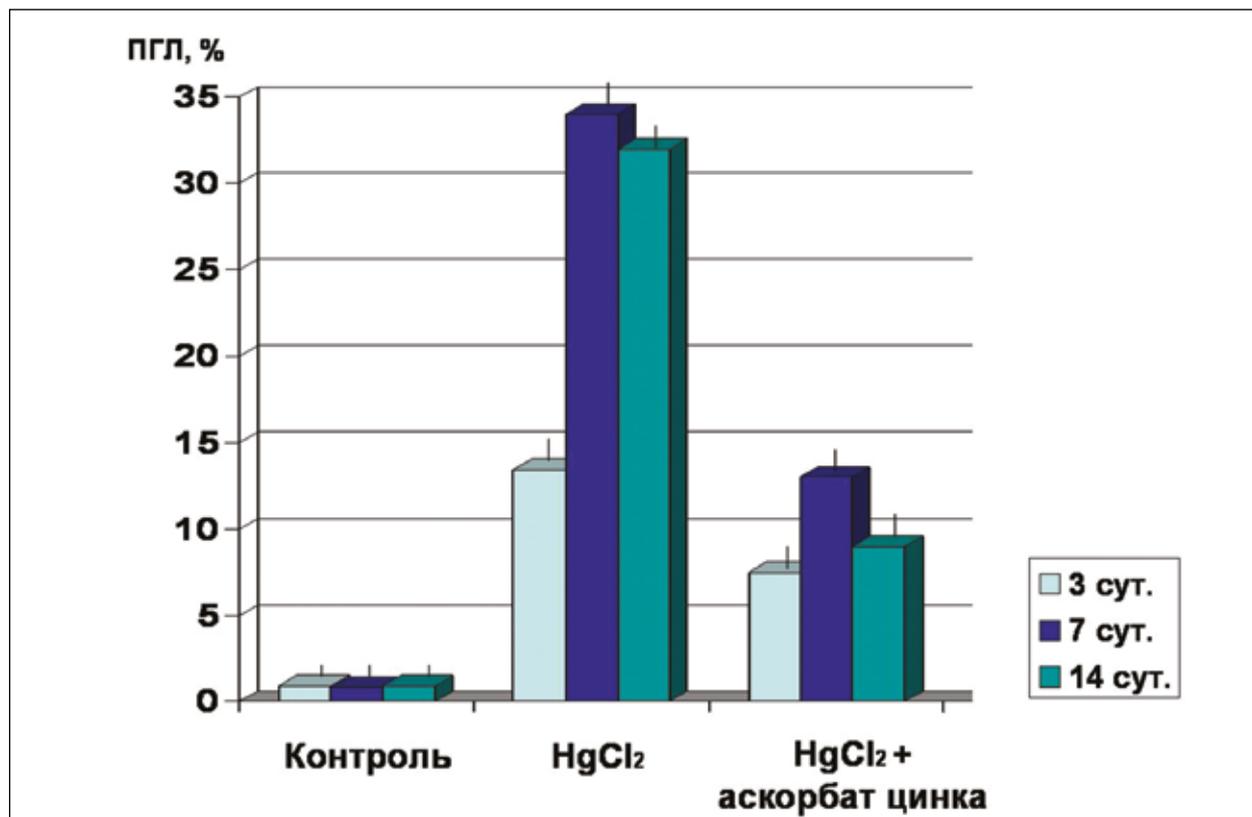


Рисунок 3 — Гистограмма величин показателя ПГЛ в динамике ртутного отравления

левой продукт с выходом 60 % при содержании примеси аскорбиновой кислоты менее 10 %.

2. Аскорбат цинка может рассматриваться как антидот для экстренной профилактики острых ртутных поражений.

Информация о конфликте интересов

Авторы заявляют, что исследования проводились при отсутствии любых коммерческих или финансовых отношений, которые могли бы быть истолкованы как потенциальный конфликт интересов.

Сведения о рецензировании

Статья прошла двойное слепое рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала.

Список источников

1. Неотложные состояния при острых отравлениях / Под ред. Е.А. Лужникова. М.: Медицина, 2015. 220 с.
2. Артамонов В.Г., Шаталов Н.Н. Поражения тяжелыми металлами // В.Г. Артамонов. Профессиональные болезни. М.: Медицина, 2006. 312 с.
3. Haley B. Mercury toxicity: Genetic susceptibility and synergistic effects / Medical Veritas. 2005. № 2. P. 535–542.
4. Хлебникова А.Н., Петрунин Д.Д. Цинк и его биологическая роль // Вестник дерматологии. 2013. № 6. С. 100–116.
5. Asmuss M., Hartwig A. Differential effects of

toxic metal compounds on the activities two zinc finger proteins involved in DNA repair // J. Carcinogenesis. 2000. V. 21, № 11. P. 2097–2104.

6. Razmiafshar M. NMR identification of heavy metal-binding sites in a synthetic zinc finger peptide: toxicological implications for the interactions of metals with zinc finger proteins // Toxicology and Applied Pharmacology. 2001. V. 172, № 1. P. 1–10.

7. Золотницкая Р.П. Методы гематологических исследований // Лабораторные методы исследования / Под ред. В.В. Меньшикова. М.: Медицина, 2012. С. 106–148.

8. Pearse E. Histochemistry. New York, London: Elsevier Press, 2014.

9. Современные методы в биохимии / Под ред. акад. Ореховича В.Н. М.: Медицина, 2009. 391 с.

Об авторах

Федеральное государственное казенное военное образовательное учреждение высшего образования «Военная академия радиационной, химической и биологической защиты имени Маршала Советского Союза С.К. Тимошенко» Министерства обороны Российской Федерации, 156015, Российская Федерация, г. Кострома, ул. Горького, д. 16.

Баранец Александр Александрович. Старший научный сотрудник, кандидат медицинских наук.

Пригорелов Геннадий Алексеевич. Кандидат химических наук, доцент.

Адрес для переписки: Баранец Александр Александрович; alexbaranetz@yandex.ru

Study of Antidote Activity of Zinc Ascorbate in Acute Mercury Lesions

A.A. Baranets, G.A. Prigorelov

The Federal State Official Military Educational Establishment of Higher Education «Military Academy of Radiological, Chemical and Biological Defence named after Marshal of the Soviet Union S.K. Timoshenko», Gorky Street 16, Kostroma 156013, Russian Federation

The article is dedicated to the study on the antidote activity of zinc ascorbate ($C_6H_8O_4Zn$) in acute mercury lesions. Biologically active zinc-containing substance – zinc ascorbate – is synthesized. It is determined that in case of acute mercury lesions the survival rates are much higher (from 10 to 67 %) for those experimental animals, which preliminarily have been treated with the therapeutic doses of zinc ascorbate, and their peripheral blood parameters (the percentage of dead leukocytes, the content of toxic granules in leukocytes, sulfhydryl groups in leukocytes and free sulfhydryl groups in blood serum) are close to the physiological norm. These data show that zinc salt of ascorbic acid definitely can protect from toxic effects of mercury and can be used as a prophylactic antidote in case of the subsequent acute mercury lesion.

Keyword: heavy metals; zinc ascorbate; antidote activity; mercury lesion; biochemical targets; sulfhydryl groups.

For citation: Baranets A.A., Prigorelov G.A. Study of Antidote Activity of Zinc Ascorbate in Acute Mercury Lesions // *Journal of NBC Protection Corps*. 2017. V. 1. № 2. P. 4–20.

Conflict of interest statement

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationship that could be construed as a potential conflict of interest.

Peer review information

The article has been peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board.

References

1. Emergency conditions of acute poisoning / Ed. E.A. Luzhnikov. Moscow: Medicine, 2015. 220 p. (in Russian).
2. Artamonov V.G., Shatalov N.N. Heavy metal poisoning // Artamonov V.G. Occupational diseases. Moscow: Medicine, 2006. 312 p. (in Russian).
3. Haley B. Mercury toxicity: Genetic susceptibility and synergistic effects // Medical Veritas. 2005. № 2. P. 535–542.
4. Khlebnikova A.N., Petrunin D.D. Zinc, its biological role and use in dermatology // Vestnik dermatologii i venerologii (Journal of Dermatology and Venereology). 2013. № 6. P. 100–116 (in Russian).
5. Asmuss M., Hartwig A. Differential effects of toxic metal compounds on the activities two zinc finger proteins involved in DNA repair // J. Carcinogenesis. 2000. V. 21, № 11. P. 2097–2104.
6. Razmiafshari M. NMR identification of heavy metal-binding sites in a synthetic zinc finger peptide: toxicological implications for the interactions of metals with zinc finger proteins // Toxicology and Applied Pharmacology. 2001. V. 172, № 1. P. 1–10.
7. Zolotnitskaya R.P. Methods of hematological studies // Laboratornye metody issledovaniya v klinike (spravochnik) (Laboratory Methods of Research in Clinic, Reference Book) / Ed. Menshikov V.V. Moscow: Meditsina, 1987. P. 106–148 (in Russian).
8. Pearse E. Histochemistry. New York, London: Elsevier Press, 2014.
9. Modern methods in biochemistry / Ed. Acad. Orekhovich V.N. Moscow: Medicine, 2009. 391 p. (in Russian).

Authors

The Federal State Official Military Educational Establishment of Higher Education «Military Academy of Radiological, Chemical and Biological Defence named after Marshal of the Soviet Union S.K. Timoshenko». Gorky Street 16, Kostroma 156013, Russian Federation.

Baranets A.A. Senior Researcher. Candidate of Medical Sciences.

Prigorelov G.A. Candidate of Chemical Sciences. Associate Professor.

Адрес для переписки: Baranets Alexander Alexandrovich; alexbaranetz@yandex.ru