

Брин В.Б.<sup>1,2</sup>, Митциев К.Г.<sup>2</sup>, Митциев А.К.<sup>1</sup>, Кабисов О.Т.<sup>2</sup>

## **Влияние гипervитаминоза D<sub>3</sub> на гемодинамические проявления экспериментальной медной интоксикации**

<sup>1</sup> — ГБОУ ВПО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Минздрава России, 362019, Республика Северная Осетия-Алания, г. Владикавказ, ул. Пушкинская, д. 40

<sup>2</sup> — ИБМИ ВНЦ РАН и РСО-Алания. 362019, Республика Северная Осетия-Алания, г. Владикавказ, ул. Пушкинская, д. 40

Медь, являясь одним из составных компонентов различных ферментов, относится к жизненно важным микроэлементам, однако избыточное поступление меди в организм приводит к развитию многочисленных токсических эффектов. Наиболее значимо патогенное влияние ксенобиотика на функциональное состояние сердечно-сосудистой системы. Установлено, что кальций, является конкурентным биометаллом для ксенобиотиков, и состояние искусственной гиперкальциемии, как в эксперименте, так и в клинике используется для профилактики негативных эффектов большинства тяжелых и цветных металлов. Однако работы, посвященные изучению профилактической эффективности кальция в условиях медной интоксикации, в научной литературе практически отсутствуют. **Цель исследования** — изучение влияния хронической медной интоксикации на функциональное состояние сердечно-сосудистой системы и её реактивность в условиях экспериментальной гиперкальциемии. **Методика.** Модель экспериментальной гиперкальциемии создавали путем формирования экспериментального гипervитаминоза D, посредством введения препарата «Аквадетрим» через атравматичный зонд в желудок в дозировке 3000 МЕ (0,2 мл)/100 г массы тела животного в течение 30 сут. Модель хронической медной интоксикации создавалась путем внутрижелудочного введения раствора сульфата меди в дозировке 20 мг/кг (в пересчете на металл) в течение 30 сут, ежедневно, 1 раз в сутки. Для оценки функционального состояния сердечно-сосудистой системы определяли среднее артериальное давление, удельное периферическое сосудистое сопротивление, ударный индекс, сердечный индекс, реактивность ренин-ангиотензиновой системы и адренореактивность сердечно-сосудистой системы. **Результаты.** Исследование показало, что длительная интоксикация медью приводит к развитию артериальной гипертензии, обусловленной повышением общего сосудистого периферического сопротивления, наряду с этим отмечается снижение показателей насосной функции сердца. Экспериментальная гиперкальциемия усиливает токсические эффекты сульфата меди на сердечно-сосудистую систему. **Заключение.** Отравление организма медью характеризуется развитием артериальной гипертензии, а гиперкальциемия потенцирует кардиотоксические действие меди.

**Ключевые слова:** сердечно-сосудистая система, гиперкальциемия, сульфат меди, кальцитриол

**Для корреспонденции:** Брин Вадим Борисович, доктор мед. наук, проф., зав. кафедрой, e-mail: vbbrin@yandex.ru

**Для цитирования:** Брин В.Б., Митциев К.Г., Митциев А.К., Кабисов О.Т. Влияние гипervитаминоза D<sub>3</sub> на гемодинамические проявления экспериментальной медной интоксикации. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2016; 61(3): 83—87.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 25.07.2015

Brin V.B.<sup>1,2</sup>, Mittsiev K.G.<sup>1</sup>, Mittsiev A.K.<sup>2</sup>, Kabisov O.T.<sup>1</sup>

## **Influence hypervitaminosis D<sub>3</sub> on hemodynamic presentation of experimental copper intoxication**

<sup>1</sup> — State Educational Institution of Higher Professional Education «North Ossetian State Medical Academy» Russian Ministry of Health. 362019, Republic of North Ossetia-Alania, Vladikavkaz, st. Pushkinskaya, 40

<sup>2</sup> — Biomedical Research Institute of Vladikavkaz Scientific Centre & RNO-Alania. 362019, Republic of North Ossetia-Alania. Vladikavkaz, st. Pushkinskaya, 40

As a component of various enzymes, it refers to copper essential trace elements, but the excessive consumption of the metal leads to the development of the pathogenic effects of xenobiotics on the functional condition of the cardiovascular system. However, the works devoted to the study of the effectiveness of prophylactic calcium in a copper toxicity, is not in the current literature. **The purpose:** study the effect of long-term toxicity of copper on the functional state of the cardiovascular system and its reactivity in experimental hypercalcemia. **Methods.** Experimental hypercalcemia model was created by forming a pilot hypervitaminosis D, by introducing «Аквадетрим» atraumatic preparation through a probe into the stomach in the

dose 3000 IU (0.2 ml) / 100 g of body weight for 30 days. Chronic copper poisoning model created by intragastric administration of copper sulfate solution at a dosage of 20 mg/kg (in terms of metal) for 30 days, daily one time a day. The study of the functional state of the cardiovascular system is to determine the mean arterial pressure, specific peripheral vascular resistance, stroke index, cardiac index, the reactivity of the renin-angiotensin system and adrenoreactivity cardiovascular system. **Results.** The experimental study revealed that long-term copper poisoning leads to the development of hypertension due to an increase in total peripheral vascular resistance, along with the marked decline in the pumping function of the heart. Experimental hypercalcemia simulated by intragastric administration of vitamin D promotes more pronounced toxic effects of copper sulfate on the cardiovascular system. **Conclusion.** Copper poisoning of the body is characterized by the development of hypertension and the condition of artificial hypercalcemia potentiates the cardiotoxic effects of copper.

**Keywords:** cardiovascular system, hypercalcemia, copper sulfate, calcitriol

**For correspondence:** Vadim B. Brin, MD, Professor, Head of the Department of Normal Physiology State Budgetary Educational Institution «North Ossetian State Medical Academy» Russian Ministry of Health. 362019. Russian Federation, Vladikavkaz, street Pushkin, 40. e-mail: vbbrin@yandex.ru

**For citation:** Brin V.B., Mittsiev K.G., Mittsiev A.K., Kabisov O.T. Influence hypervitaminosis D<sub>3</sub> on hemodynamic presentation of experimental copper intoxication. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2016; 60 (3): 83—87. (in Russ).

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Funding.** The study had no sponsorship

Information about authors:

Brin V.D. <http://orcid.org/0000-0001-8382-3210>

Mittsiev A.K. <http://orcid.org/0000-0002-9414-5387>

Received 25.07.2015

## Введение

Медь является одним из важнейших микроэлементов, принимающих активное участие в различных внутриклеточных процессах. Большая часть (80—95%) поступившей в организм меди формирует прочные ковалентные связи с церулоплазмином, остальные 5—20%, взаимодействуя с альбумином, образуют так называемую «свободную медь», увеличение концентрации которой приводит к интоксикации [1]. Внутриклеточная концентрация меди является одной из жестких констант, так как даже ее незначительное повышение приводит к развитию мощного окислительного стресса [2]. Медь и ее соединения являются наиболее распространенными химическими веществами, используемыми в промышленности и сельском хозяйстве, ввиду чего острое и хроническое отравление данным металлом встречается довольно часто [3, 4]. Особый интерес у исследователей вызывает участие меди в регуляции работы миокарда и уровня артериального давления. Установлено, что нарушение процессов метаболизма, меняющих гомеостазис меди, приводит к повышению уязвимости сердца и кровеносных сосудов [5], однако вопрос о гипертензивном влиянии меди до сих пор остается дискуссионным, поскольку имеются работы, в которых описывается наличие, как прямой взаимосвязи между уровнем артериального давления и концентрацией меди в крови [6], так и исследования, полностью отрицающие наличие корреляции между степенью гипертензивных изменений и концентрацией меди в плазме [7].

В экспериментальных условиях была установлена профилактическая эффективность кальция в условиях хронического отравления свинцом и кадмием, вследствие присущих кальцию выраженных ионообменных свойств [8]. Также известно, что кальций является конкурентным металлом по отношению к меди и способен снижать выраженность токсических эффектов ксенобиотика в условиях хронического отравления [9].

*Цель исследования* — изучение влияния медной интоксикации на функциональное состояние сердечно-сосудистой системы и ее реактивность в условиях экспериментальной гиперкальциемии.

## Методика

Работа выполнена на 45 крысах-самцах Wistar. При проведении экспериментов руководствовались статьей 11-й Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964), «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985) и Правилами лабораторной практики в Российской Федерации (приказ МЗ РФ от 19.06.2003 г. № 267). Крысы в течение эксперимента находились на стандартном пищевом рационе, имели свободный доступ к пище и воде в течение суток. Модель экспериментальной гиперкальциемии создавали путем формирования экспериментального гипervитаминоза D<sub>3</sub> посредством ежедневного введения препарата «Аквадетрим» через атравматич-

ный зонд в желудок в дозировке 3000 МЕ (0,2 мл)/100 г массы тела животного в течение 30 сут., что не является чрезмерной водной нагрузкой [10]. Через 30 сут. проводили исследование функционального состояния сердечно-сосудистой системы, определяли концентрацию кальция в плазме крови животных (интактные животные —  $2,23 \pm 0,06$  ммоль/л; животные с внутрижелудочным введением препарата «Аквадетрим» —  $2,95 \pm 0,04$  ммоль/л). У животных, получавших изолированное внутрижелудочное введение препарата «Аквадетрим», отмечалась тенденция к росту среднего артериального давления. Модель хронической медной интоксикации создавали путём внутрижелудочного введения раствора сульфата меди в дозировке 20 мг/кг (в пересчёте на металл) в течение 30 сут., ежедневно. Исследовано 3 группы животных: 1-я группа — контрольные животные, с внутрижелудочным введением фиксированного объема физиологического раствора; 2-я группа — животные с внутрижелудочным введением сульфата меди; 3-я группа — животные с внутрижелудочным введением сульфата меди на фоне интрагастрального введения препарата «Аквадетрим». В ходе эксперимента животным с целью изучения реактивности сердечно-сосудистой системы в бедренную вену вводились ингибитор ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) каптоприл в дозе 30 мг/кг и  $\alpha_1$ -адреноблокатор доксазозин в дозе 20 мг/кг. Гемодинамические показатели определяли в остром эксперименте под тиопенталовым наркозом. Артериальное давление измеряли путем введения в бедренную артерию пластикового катетера, заполненного 10%-ным раствором гепарина и подключенного к электроманометру «ДДА» (Россия). Показания регистрировали с помощью монитора МХ-04 (Россия). Рассчитывали среднее артериальное давление (САД) по формуле  $САД = ДД + 1/3 ПД$ , где ДД — диастолическое давление, ПД — пульсовое давление. Для определения минутного объема крови через левую общую сонную артерию в дугу аорты вводили термистор МТ-54М (Россия). Физиологический раствор фиксируемой температуры объемом 0,2 мл инъецировали в правое предсердие через катетеризируемую правую яремную вену. Кривые термодилуции регистрировали на самописце ЭПП-5 (Россия). По специальным формулам [11] рассчитывали сердечный индекс (СИ), ударный индекс (УИ) и удельное периферическое сосудистое сопротивление (УПСС). Полученные результаты экспериментальных исследований статистически обработаны с применением критерия «t» Стьюдента методом вариационного анализа, с помощью программы Prisma 4.0.

## Результаты и обсуждение

В условиях хронической медной интоксикации отчетливо выражена гипертензивная реакция сердечно-сосудистой системы. Основной причиной повышения САД у крыс, получавших сульфат меди, было увеличение УПСС (табл. 1). Существует мнение о том, что изменение сосудистого тонуса в условиях отравления медью связано со способностью ксенобиотика трансформировать процессы симпатической регуляции, приводящие к системной вазоконстрикции [12]. Помимо данных эффектов медь в условиях хронического отравления негативно влияла на насосную функцию сердца, что проявлялось снижением УИ и, как следствие, уменьшением СИ (табл. 1). Определение реактивности ренин-ангиотензиновой системы у животных получавших внутрижелудочное введение сульфата меди, выявило лишь тенденцию к снижению САД и УПСС спустя 1 и 60 мин после введения каптоприла, что свидетельствует о снижении реактивности ренин-ангиотензиновой системы (табл. 2). Из данных литературы известно, что медь в условиях хронического отравления снижает чувствительность эндотелия сосудистого русла к ангиотензину II [13], тем самым, видимо, внося существенный вклад в снижение реактивности ренин-ангиотензиновой системы.

Через 1 мин после введения доксазозина САД снижалось относительно исходных значений. Данная реакция была обусловлена уменьшением УПСС. Следует указать, что реакция снижения САД у животных, получавших сульфат меди через 1 мин после введения доксазозина статистически значимо не отличалась от контроля (табл. 2). Через 60 мин после введения доксазозина проявлялась дальнейшая тенденция к снижению САД, связанная с уменьшением УПСС. Величина снижения САД через 60 мин после введения доксазозина во 2-й группе животных была более выраженной (табл. 2). Таким образом, снижение способности системы кровообращения к восстановлению исходных гемодинамических параметров после  $\alpha_1$ -адреноблокады в условиях хронической медной интоксикации подтверждалось более выраженной реакцией снижения САД и УПСС спустя 60 мин после введения доксазозина (табл. 2).

В условиях хронической интоксикации сульфатом меди на фоне экспериментальной гиперкальциемии установлено развитие артериальной гипертензии, вследствие значительного роста удельного периферического сосудистого сопротивления относительно фона и соответствующих показателей в группе животных, получавших только  $CuSO_4$  (табл. 1). Таким образом, гемодинамические эффекты интрагастрально вводимого ксенобиотика приобретают более значимый характер на фоне искусственного гипервитамино-

Влияние сульфата меди на основные гемодинамические показатели у крыс в условиях экспериментальной гиперкальциемии ( $M \pm m$ )

Группы опыта	САД	УПСС	СИ	УИ
1-я гр. Фон	103,9 ± 0,85	1,52 ± 0,04	55,19 ± 1,48	0,143 ± 0,005
2-я гр. CuSO <sub>4</sub> внутривенно	120,4 ± 1,7*	2,09 ± 0,09*	40,70 ± 1,22*	0,101 ± 0,004*
3-я гр. CuSO <sub>4</sub> внутривенно + Аквадетрим внутривенно	139,1 ± 2,12*,#	2,61 ± 0,11*,#	39,0 ± 1,7*,#	0,094 ± 0,005*,#

Примечание. \* — статистически значимые изменения по сравнению с фоном ( $p \leq 0,001$ ); # — статистически значимые изменения относительно 2-й группы.

Относительные сдвиги показателей системной гемодинамики у экспериментальных животных после введения доксазозина и каптоприла по сравнению с исходными данными (%)

Условия опыта	САД (каптоприл)		УПСС (каптоприл)		САД (доксазозин)		УПСС (доксазозин)	
	1 мин	60 мин	1 мин	60 мин	1 мин	60 мин	1 мин	60 мин
Фон	-40%	-24%	-46%	-25%	-41%	-12%	-43%	-11%
Группа №2	-21%*	-20%	-26%*	-22%	-46%	-30%*	-44%	-31%*
Группа №3	-19%*	-18%	-23%*	-21%	-44%	-27%**	-42%	-29%**

Примечание. \* — статистически значимое ( $p \leq 0,001$ ) изменение по сравнению с фоном; \*\* — статистически значимое ( $p \leq 0,05$ ) изменение по сравнению с фоном.

за D<sub>3</sub>, что, по всей видимости, объясняется активацией процессов всасывания меди в желудочно-кишечном тракте под влиянием кальцитриола, который, как известно, увеличивает количество кальциевых транспортных систем [14], обеспечивающих повышенную абсорбцию тяжелых металлов в системе пищеварения и поступление во внутреннюю среду организма.

Оценка показателей, характеризующих  $\alpha_1$ -адренореактивность и реактивность ренин-ангиотензиновой системы у экспериментальных животных, получавших сульфат меди в условиях экспериментальной гиперкальциемии, выявила изменения аналогичные наблюдаемым в группе животных, изолированно получавших CuSO<sub>4</sub> (табл. 2), что, по-видимому, свидетельствует о способности меди нивелировать влияние гиперкальциемии на сердечно-сосудистую систему. Из данных литературы известно, что ионы меди являются непосредственными антагонистами ангиотензиновых рецепторов, а увеличение концентрации кальция в крови приводит к снижению чувствительности сосудистого русла к прессорным эффектам ангиотензина II [15]. Ранее было показано, что при хроническом поступлении в организм меди происходит повышение адренореактивности сердечно-сосудистой системы, что связано с выраженной способностью ксенобиотика приводить к мощной внутриклеточной генерации ионов супероксида [16]. Также известно, что в условиях гиперкальциемии происходит увеличение адренореактивности сердечно-сосудистой системы [17]. Вероятно, сочетанием этих механизмов и объясняется отсутствие разли-

чий в реакции сердечно-сосудистой системы на внутривенное введение каптоприла и доксазозина в группах животных получавших только CuSO<sub>4</sub> и у крыс с внутривенным введением сульфата меди на фоне гипервитаминоза D.

Таким образом, длительное поступление меди в организм и сочетание введения меди с экспериментальной гиперкальциемией приводят к развитию артериальной гипертензии, основным патогенетическим механизмом которой является повышение общего периферического сосудистого сопротивления, развивающееся вследствие изменений  $\alpha_1$ -адренореактивности сердечно-сосудистой системы и реактивности ренин-ангиотензиновой системы. Насосная функция сердца при этом снижена. Экспериментальная гиперкальциемия усиливает негативное влияние длительного внутривенного введения сульфата меди на сердечно-сосудистую систему.

## References

1. Brewer G.J. Copper toxicity in the general population. *Clinical Neurophysiology*. 2010; 121(4): 459-60.
2. Ardehali H., Rines A. K. Transition metals and mitochondrial metabolism in the heart. *J of Molecular and Cellular Cardiology*. 2013; (55): 50-7.
3. Hassan S., Shaikh M.U., Ali N., Riaz M. Copper sulphate toxicity in a young male complicated by methemoglobinemia, rhabdomyolysis and renal failure. *J of the College of Physicians and Surgeons Pak*. 2010; 20(7): 490-1

4. Sinkovic A., Strdin A., Svensek F. Severe acute copper sulphate poisoning: a case report. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology* 2008; 59(1): 31-5.
5. Uriu-Adams J.Y., Keen C.L. Copper, oxidative stress, and human health. *Molecular Aspects of Medicine*. 2005; 26 (4-5): 268-98.
6. Ghayour-Mobarhan M., Shapouri-Moghaddam A., Azimi-Nezhad M., et al. The relationship between established coronary risk factors and serum copper and zinc concentrations in a large Persian cohort. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. 2009; 23(3): 167-75.
7. Sierra A., Larrousse M. Endothelial dysfunction is associated with increased levels of biomarkers in essential hypertension. *J Human Hypertension*. 2010; (6): 373-79.
8. Mata Y.N., Blazquez M.L., Ballester A., et al. Biosorption of cadmium, lead and copper with calcium alginate xerogels and immobilized *Fucus vesiculosus*. *J of Hazardous Materials*. 2009; 163 (2-3): 555-62.
9. Poulsen S.B., Svendsen J.C., Aarestrup K., Malte H. Calcium-dependent behavioural responses to acute copper exposure in *Oncorhynchus mykiss*. *J of Fish Biology*. 2014; 84 (5): 1326-39.
10. Mittsiev K.G., Brin V.B., Mittsiev A.K., Kabisov O.T. Vlijanie giperkal'ciemii, vyzvannoj kal'citriolom, na funkcional'noe sostojanie serdechno-sosudistoj sistemy. *Vladikavkazskij mediko-biologicheskij vestnik*. 2012; 14 (22): 120-23. (in Russian)
11. Brin V.B., Zonis B.Ja. *Fiziologija sistemnogo krovoobrashhenija*: Rostov-na-Donu: Izdatel'stvo Rostovskogo universiteta; 1984. (in Russian)
12. Lukaski H. C. Klevay L. M., Milne D. B. Effects of dietary copper on human autonomic cardiovascular function. *European J of Applied Physiology and Occupational Physiology*. 1988; 58(1-2): 74-80.
13. Li S., Case A.J., Yang R.F., et al. Over-expressed copper/zinc superoxide dismutase localizes to mitochondria in neurons inhibiting the angiotensin II-mediated increase in mitochondrial superoxide. *Redox Biol*. 2013; (2): 8-14.
14. Hoendero J.G., Bindels R.J. Calcitropic and Magnesiotropic TRP Channels. *Physiology*. 2008; (23): 32-40.
15. Aiko A., Ito M., Okamura H., et al. Effect of a low calcium intake on the vascular sensitivity to angiotensin II in normotensive pregnant rats. *Artery*. 1992; 19 (4): 199-210.
16. Chiarugi A., Pitari G.M., Costa R. Effect of prolonged incubation with copper on endothelium-dependent relaxation in rat isolated aorta. *British J Pharmacology*. 2002; 136 (8): 1185-93
17. Trautner S., Amtorp O., Boesgaard S. Noradrenaline-induced increases in calcium and tension in skeletal muscle conductance and resistance arteries from rats with post-infarction heart failure. *European Journal of Pharmacology*. 2006; 537 (1-3): 143-54.

#### Сведения об авторах:

Митциев Кермен Гагеевич, канд. мед. наук, науч. сотр.

Митциев Астан Керменович, доктор мед. наук, доц. кафедры, e-mail: digur1985@mail.ru

Кабисов Олег Тасолтанович, канд. мед. наук, науч. сотр.