

- mediated regulation of receptor-mediated endocytosis//Am. J. Physiol. Renal. Physiol.-2002.-V.283,N3.-P.F549-F558
16. Kurtz A., Wagner, C. Role of nitric oxide in the control of renin secretion//Am. J. Physiol. Renal. Physiol.-1998.-V.275,N6.-P.F849-F862
17. Lorenz J.M., Kleinman L.I., Ahmed G., Markarian K. Phases of fluid and electrolyte homeostasis in the extremely low birth weight infant.//Pediatrics.-1995.-V.96,N3.-P.484-489
18. Oliverio M. I., Best Ch. F., Smithies O., Coffman Th. M. Regulation of Sodium Balance and Blood Pressure by the AT<sub>1A</sub> Receptor for Angiotensin II//*Hypertension*.-2000.-V.35.-P.550-559
19. Sandgaard N. C. F., Andersen J. L., Bie P. Hormonal regulation of renal sodium and water excretion during normotensive sodium loading in conscious dogs//Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.-2000.-V.278,N1.-P.R11-R18
20. Solhaug M.J., Balleve L.D., Guignard J.P., Granger J.P., Adelman R.D. Nitric oxide in the developing kidney.//Pediatr. Nephrol.-1996.-V.10,N4.-P529-539
21. Thompson M. M., Oyama T. T., Kelly F. J., Kennefick Th. M., Anderson Sh. Activity and responsiveness of the renin-angiotensin system in the aging rat//Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.-2000.-V.279, N5.-P.R1787-R1794
22. Yu H. C., Burrell L. M., Black M. J., Wu L. L., Dilley R. J., Cooper M. E., Johnston C. I. Salt Induces Myocardial and Renal Fibrosis in Normotensive and Hypertensive Rats//*Circulation*.-1998.-V.98.-P.2621-2628.
23. Wolf G., Schroeder R., Ziyadeh F. N., Stahl R. A.K. Albumin up-regulates the type II transforming growth factor-beta receptor in cultured proximal tubular cells// *Kidney International*.-2004.-V.66, №5.-P.1849-1858

### Резюме

#### ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПОЧЕК БЕЛЫХ КРЫС В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОЙ ГИПЕРНАТРИЕВОЙ ДИЕТЫ

*Гоженко А.И., Шпак В.С.*

Целью работы было исследование адаптации неповрежденных почек белых крыс к хроническому гипернатриевому рациону. Установлено, что особенности деятельности почек в условиях хронического гипернатриевого рациона не связаны полностью с естественными возрастными изменениями деятельности почек, а обусловлены так же истощением резервных возможностей почечной паренхимы

### Summary

#### FEATURES OF THE FUNCTION STATE OF WHITE RAT KIDNEYS IN THE CHRONIC HYPERSODIUM DIET

*Gozhenko A.I., Shpak V.S.*

The purpose of work was research of acclimatization of uninjured kidneys of white rats to a chronic hypersodium ration. It fixed, that features of activity of kidneys in conditions of a chronic hypersodium ration are not depended completely to natural age changes of activity of kidneys, and caused as by exhaustion of reserve opportunities of a renal parenchyma.

УДК 546.47.3.96:616.61.612.017.4

## РОЛЬ МЕТАЛЛОТИОНЕИНА В РАЗВИТИИ ТОКСИЧЕСКИХ НЕФРОПАТИЙ

*Шафран Л.М., Пыхтеева Е.Г., Большой Д.В.*

*Украинский НИИ медицины транспорта, г. Одесса*

### Введение

Общеизвестно, что многие тяжёлые металлы, в особенности кадмий и ртуть, при попадании в организм способны вызывать токсические нефропатии. Несмотря на большое количество работ, посвященных

нефротоксичности тяжёлых металлов, роль металлотранспортных белков в механизмах возникновения токсических нефропатий по-прежнему не до конца выяснена.

Ранее показано [1, 2], что при поступлении в кровь металл сразу же связывает-

ся в более или менее прочные бионеорганические комплексы с молекулами белков, пептидов и т.д. Как правило, на первом этапе это связывание является низкоселективным, малопрочным и носит характер «скорой помощи». При этом большая часть ионов токсичных металлов связывается с внешними функциональными группами альбуминов, глобулинов, гемоглобина. Комплекс металл-белок транспортируется в печень (рис. 1).

В печени происходит перегруппировка с образованием комплексов тяжелых металлов со специфическими белками. Для кадмия, ртути, цинка таким белком служит металлотионеин [3].

Металлотионеин, обнаруженный приблизительно 45 лет назад, играет центральную роль в обмене и детоксикации тяжелых металлов и в управлении различными формами стресса. Это низкомолекулярный белок с молекулярной массой 6500 дальтон, характеризующийся высоким содержанием цистеина (около 30%) и отсутствием в молекуле ароматических аминокислот. Металлотионеин синтезируется преимущественно в печени, почках и ки-

шечнике [4].

Структурные исследования молекулы протеина методом ЯМР выявили 2 металлсвязывающих сайта: первый - высокоаффинен к цинку, второй - специфичен для меди (рис. 2). Ионы кадмия и ртути способны вытеснять цинк и медь из комплексов с металлотионеином [5].

Способность высокоселективно связывать определенный металл обеспечивается строением центра связывания. Как правило, в координацию вступают не только аминокислоты, находящиеся рядом в полипептидной цепи, но также и те аминокислоты, которые стерически сближены за счет вторичной и третичной структур белка. Прочность связывания иона металла с активным центром металлотионеина обусловлена не только высоким сродством элементов второй побочной подгруппы периодической системы с серой, но и совокупностью стерических и конформационных факторов. По этой причине константа устойчивости комплекса металл-металлотионеин весьма высока (для Hg  $pK = 37-42$ ), и разрушение его возможно лишь при условии деструкции белкового лиганда.



Рис. 1. Транспорт тяжелых металлов в организме.

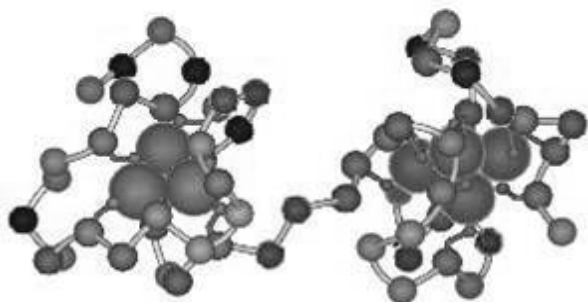


Рис. 2. Строение молекулы металлотионеина

Связанный в комплекс с металлотионеином металл (Cd, Hg) из печени переносится в почки, т.е. образование комплекса металл-металлотионеин играет гепатопротекторную роль. Однако, этот комплекс селективно накапливается в почках, вызывая их повреждение [6]. Есть основания полагать, что распад комплекса металл-металлотионеин происходит в лизосомах нефроэпителия [7]. При этом повышенные локальные концентрации металлов способны привести к повреждениям, не совместимым с нормальным функционированием клетки.

**Цель нашего исследования:** изучение индуктивного синтеза металлотионеина при введении неорганических соединений кадмия и ртути, а также взаимосвязь между концентрациями металлотионеина и металлов-токсикантов в органах.

#### Материалы и методы

Экспериментальная часть исследования проведена на беспородных белых крысах массой 180-200 г в сериях острого, подострого и субхронического введения солей ртути и кадмия внутривентрикулярно в дозах 0,1 мг/кг (по металлу). В качестве материала для исследования отбирали кровь, почки, печень. Содержание металлов в тканях определяли методом ААС с электротермической атомизацией (для кадмия) [8] и методом «холодного пара» (для ртути) [9]. Содержание металлотионеинов (МТ) определяли по разработанному нами методу [10].

#### Результаты и их обсуждение

На рис. 3. представлены данные о накоплении металлов в ткани печени при ежедневном внутривентрикулярном введении солей кадмия и ртути в дозе 0,1 мг/кг (по металлу). Как видно из представленных данных, накопление кадмия в печени происходит значительно сильнее, чем ртути.

При этом накопление ртути в ткани печени практически не зависит от типа неорганического соединения.

В то же время, накопление ртути в почках происходит значительно сильнее, чем кадмия. Возможно именно особенности перераспределения тяжелых металлов, а также существование специфических лизосомальных механизмов разрушения комплексов кадмия и ртути с металлотионеином, реализующихся в клетках нефроэпителия проксимальных канальцев, способствует более быстрому выведению ртути из организма по сравнению с кадмием. Как следует из литературных данных, подтвержденных нашими собственными исследованиями [11], уже через 2 недели после острого отравления содержание ртути в крови практически не отличается от нормального, в то время, как после острого отравления кадмием повышенные уровни металла в крови регистрируются в течение многих месяцев.

Изучена индукция металлотионеинов в печени лабораторных животных при однократном введении эквимолярных количеств хлоридов кадмия и ртути (26 ммоль/л). Животных выводили из эксперимента декапитацией под эфирным наркозом через 24 часа после в/ж введения солей. Измерение количества металлотионеина проводили кадмиевым методом, который был модифицирован нами [10]. При этом выяснено, что в этих условиях ртуть является более сильным индуктором металлотионеина, чем кадмий. Расхождения в литературных данных относительно способности кадмия и ртути индуцировать синтез металлотионеина [12, 13] связаны, по нашему мнению, с рядом причин:

1. различием методов определения МТн;
2. кинетическими факторами (максимальные концентрации МТн при индукции кадмием и ртутью достигаются в печени через разное время после введения);
3. различным связыванием ионов кадмия и ртути с молекулой МТн, как по стехиометрическому соотношению, так и по местам связывания.

Как описано в литературе, для возникновения токсической нефропатии достаточно однократного введения комплекса

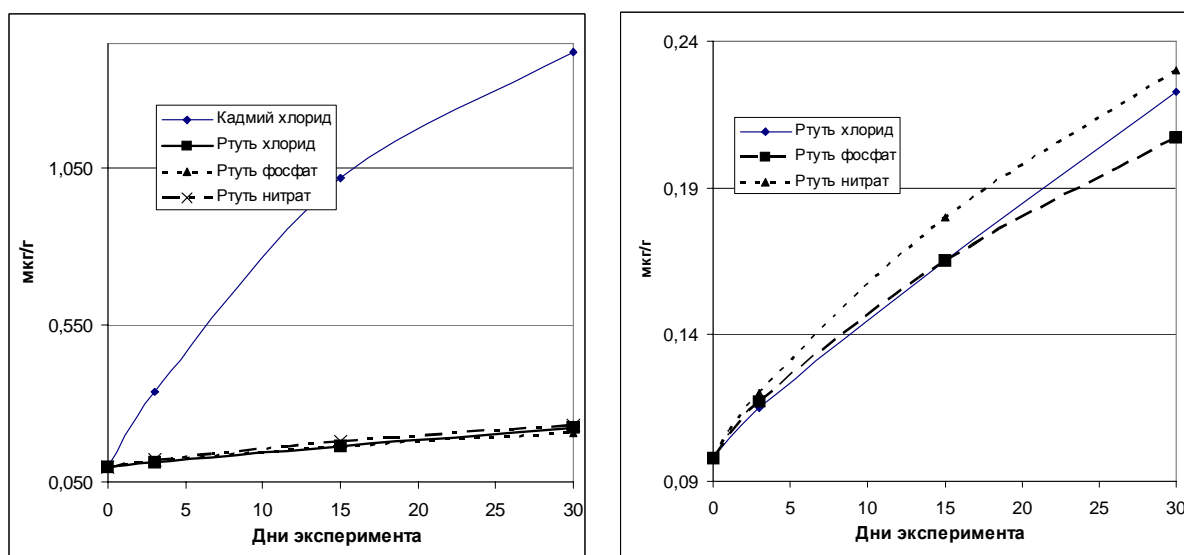


Рис. 3. Содержание металлов в ткани печени крыс при разных сроках экспозиции.

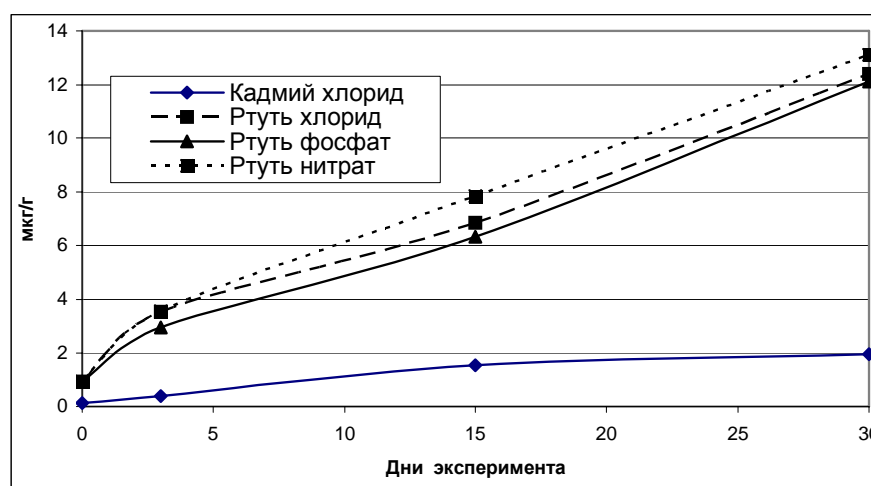


Рис. 4. Содержание металлов в ткани почек крыс при разных сроках суб-хронической затравки в дозе 0,1 мг/кг.

Cd-МТн по сравнению с 30-суточным введением неорганической соли кадмия [14, 15]. Исходя из химических свойств кадмия и ртути, констант устойчивости комплексных соединений с другими лигандами, содержащими серу, можно предположить, что прочность связывания и максимальное число связанных атомов на одну молекулу белка будет выше в случае ртути. Однако, эти вопросы не изучены, и требуют дополнительных исследований.

**Выводы:**

1. Специфические металлотранспортные белки — металлотионеины — играют решающую роль в накоплении, перераспределении и выведении кадмия и

ртути. Введение солей этих металлов вызывает индуктивный синтез металлотионеинов в печени.

2. Более быстрое выведение ртути может обеспечиваться преимущественным перераспределением комплекса Hg-МТ в почки, где существуют оптимальные условия для его распада в лизосомах.
3. Металлотионеин обеспечивает направленный транспорт ртути и кадмия в почки, что ведёт, с одной стороны, к увеличению элиминации тяжёлых металлов из организма, а с другой — к созданию в почечных канальцах повышенных концентраций Hg и Cd, что

обусловливает повреждение нефронов и создаёт условия для развития токсических нефропатий.

### Литература

1. Foulkes EC. Metallothionein and glutathione as determinants of cellular retention and extrusion of Cd and Hg // *Life Sci.*, 1993. – Vol. 52. – P.1617–1620.
2. Большой Д.В., Пыхтеева Е.Г., Шафран Л.М. Тяжелые металлы – извечная проблема токсикологии // *Здоровье и окружающая среда: Сборник научных трудов к 75-летию НИИ санитарии и гигиены.* – Минск, 2002. – С. 116-121.
3. Kagi J.H.R. Overview of Metallothioneins // *Meth. Enzymol.*, 1991. – Vol. 205. – P. 613-626.
4. Lichtlen P., Schaffner W. Putting its fingers on stressful situations: the heavy metal-regulatory transcription factor MTF-1 // *Bioessays*, 2001. – Vol. 23. – No. 11. – P. 1010 - 1017.
5. Reeves PG, Rossow KL. Zinc-and/or cadmium-induced intestinal metallothionein and copper metabolism in adult rats // *J. Nutr. Biochem.*, 1996. – Vol. 7. – P. 128-134.
6. K.Nomiyama, H. Nomiyama, N. Kameda. Plasma cadmium-metallothionein, a biological exposure index for cadmium-induced renal dysfunction, based on the mechanism of its action // *Toxicology*, 1998. – Vol. 129. – No 2-3. – P. 157-168.
7. Л.М.Шафран, Д.В.Большой. «Эпителиальная болезнь» как морфофункциональная основа нефротоксичности ртути. // IV чтения им. В.В.Підвисоцького: Матеріали наукової конференції 26-27 мая 2005 г., г. Одеса. – С. 16-19.
8. МР 4096-86
9. МВ 10.1-115-2005 „Визначення вмісту ртуті в об'єктах навколишнього середовища і біологічних матеріалах”
10. Шафран Л.М., Большой Д.В. Пыхтеева Е.Г. Тимофеева С.В. Роль металлотионеинов в биомониторинге загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами // Сб.: “Гигиена населенных мест”.- К.: 2000.-Вып. 37. -С. 190-193.
11. Большой Д.В., Пыхтеева Е.Г. Трудности при определении содержания металлов в био-субстратах лиц, профессионально контактирующих с тяжелыми металлами. // *Актуальні проблеми гігієни праці, професійної патології і медичної екології Донбасу: Зб. статей.* – Донецк: «Каштан», 2005. С. 298-301
12. S.K.Tandon, S.Singh, S.Prasad, N.Mathur. Hepatic and renal metallothionein induction by an oral equimolar dose of zinc, cadmium or mercury in mice // *Food and Chemical Toxicology*, 2005. - Vol. 39. - No. 6. - P. 571-577.
13. J.D.Park, Y.Liu, C.D.Klaassen. Protective effect of metallothionein against the toxicity of cadmium and other metals (1) // *Toxicology*, 2001. – Vol. 163. – No. 2-3. – P. 93-100.
14. M.Murakami, K. Cain, M. Webb. Cadmium-metallothionein-induced nephropathy: a morphological and autoradiographic study of cadmium distribution, the development of tubular damage and subsequent cell regeneration // *Journal of Applied Toxicology*, 1983. – Vol. 3. – No. 5. – P. 237-244.
15. Chan HM, Satoh M, Zalups RK, Cherian MG. Exogenous metallothionein and renal toxicity of cadmium and mercury in rats // *Toxicology*, 1992. – Vol. 76. – Iss. 1. – P. 15-26.

### Резюме

#### РОЛЬ МЕТАЛОТИОНЕЇНА В РОЗВИТКУ ТОКСИЧНИХ НЕФРОПАТІЙ

*Шафран Л.М., Пыхтеева О.Г., Большой Д.В.*

У реалізації нефротоксичної дії важких металів важлива роль належить транспортним білкам. Ця роль показана на прикладі металотранспортного білка металотіонеїна. Металотіонеїн несе відповідальність як за гепатопротекторну, так і за нефротоксичну дію.

### Summary

#### THE ROLE OF METALLOTHIONEIN IN DEVELOPMENT OF TOXIC NEPHROPATHIES

*Shafran L.M., Pykhteeva E.G., Bolshoy D.V.*

The role of transport proteins in realization of nephrotoxic action of heavy metals is high. This role is shown at the example of specific protein metallothionein transport. Metallothionein is responsible both for hepatoprotective and for nephrotoxic effects.