

модействие фактора X человека с тканевым тромбопластином // Биомед. хим. — 2003. — Т. 49, №5. — С. 443–450.

14. Кузнецов В.И. Распределение 5'-нуклеотидазной и тромбопластической активности в тканях человека // Казан. мед. ж. — 1983. — Т. 64, №1. — С. 32–35.

15. Тимербаев В.Н. Биоимитирующий неферментативный протеолиз витамин К-зависимых факторов — необходимый элемент механизма иницирования свёртывания крови / Фундаментальные и прикладные аспекты современной биохимии. — СПб.: Минздрав РФ, 1998. — Т. 1. — С. 114–118.

16. Тимербаев В.Н., Беляев Л.А., Зубаиров Д.М. Исследование структуры протромбина собаки и механизма его аутоактивации // Биохимия. — 1969. — Т. 34, №6. — С. 1100–1106.

17. Adelson E., Reingold J.J., Parker O. et al. Platelet and fibrinogen survival in normal and abnormal states of coagulation // Blood. — 1961. — Vol. 17, №3. — P. 267–281.

18. Bretscher M.S. Asymmetrical lipid structure for biological membranes // Nature New Biol. — 1972. — Vol. 236, N 5340. — P. 11–12.

19. Chargaff E. The coagulation of blood // Adv. Enzymol. — 1945. — Vol. 5, N 1. — P. 31–65.

20. Esmon C.T., Owen W.G., Jackson C.M. The conversion of prothrombin to thrombin. V. The activation of prothrombin by factor Xa in the presence of phospholipids // J. Biol. Chem. — 1974. — Vol. 249, N 17. — P. 7798–7807.

21. Hammarsten O. Über die Bedeutung der löslichen Kalksalze für die Faserstoffgerinnung // Ztschr. Physiol. Chem. — 1886. — Bd. 22. — S. 333–395.

22. MacFarlane R.C. An enzyme cascade in blood clotting mechanism and its function as amplifier // Nature. — 1964. — Vol. 66, N 2. — P. 482–489.

23. Morawitz P.M. Die Chemie der Blutgerinnung // Ergebn. Physiol., I Abteil., Wiesbaden. — 1905. — Bd. 4. — S. 307–422.

24. Papahadjopoulos D.P., Hanahan D.J. Observation on the interaction of phospholipids and certain clotting factors in prothrombin activator formation // Biochim. et Biophys. Acta. — 1964. — Vol. 90, N 3. — P. 436–439.

25. Radcliffe R., Nemerson Y. Activation and control of factor VII by activated factor X and thrombin // J. Biol. Chem. — 1975. — Vol. 250, N 2. — P. 388–395.

26. Sims P.J., Wiedmer T., Esmon C.T. et al. Assembly of the prothrombinase complex is linked to vesiculation of the platelet plasma membrane. Studies in Scott syndrome: an isolated defect in platelet procoagulant activity // J. Biol. Chem. — 1989. — Vol. 264, N 29. — P. 17049–17057.

27. Verkley A.J. Lipidic intramembranous particles // Biochim. et Biophys. Acta. — 1984. — Vol. 779, N 1. — P. 43–63.

28. Schmidt A. Die Lehre von den fermentativen Gerinnungserscheinungen in den eiweissartigen Thirischen Körperflüssigkeiten. — Dorpat: Matissen, 1886.

29. Zubairov D.M., Popova L.G. New evidence for the activation of factor XII by epinephrine // Thrombosis Res. — 1976. — Vol. 8, N 5. — P. 587–597.

30. Zwaal R.F.A., Comfurius P., Van Deenen L.L.M. Membrane asymmetry and blood coagulation // Nature. — 1977. — Vol. 268, N 5618. — P. 358–360.

УДК 612.43: 612.084: 613.24: 616-056.52-003.829.1-003.669: 616.43

НО29

ВЛИЯНИЕ СУЛЬФАТА ЖЕЛЕЗА НА ЭНДОКРИННУЮ ДИСФУНКЦИЮ ЖИРОВОЙ ТКАНИ КРЫС ЛИНИИ WISTAR

Алексей Алексеевич Тиньков, Елизавета Васильевна Попова, Александр Александрович Никоноров*

Оренбургская государственная медицинская академия

Реферат

Цель. Изучение состояния эндокринной функции жировой ткани в процессе развития адипогенного эффекта под влиянием высокожировой диеты на фоне хронического перорального поступления сульфата железа с питьевой водой у крыс линии Wistar.

Методы. Животные, содержащиеся на стандартной и высокожировой диете, получали с питьевой водой 3 мг/л сульфат железа в течение 3 мес. По окончании эксперимента проводили измерение концентрации провоспалительных цитокинов — моноцитарного хемотаксического белка 1, фактора некроза опухоли альфа, лептина, адипонектина, инсулина и глюкозы в сыворотке крови, а также морфометрических параметров и содержания железа в шерсти и жировой ткани животных.

Результаты. Показано, что на фоне употребления солей железа у животных увеличиваются как морфометрические параметры по сравнению с контрольными группами, так и содержание железа в шерсти крыс, достигающее максимальных значений в жировой ткани у животных на фоне высокожировой диеты. При этом концентрация моноцитарного хемотаксического белка 1, фактора некроза опухоли альфа и лептина в сыворотке крыс, употребляющих железо, существенно превышала контрольные значения. Наблюдаемое увеличение уровня инсулина на фоне умеренной гипергликемии у животных, получающих сульфат железа на фоне высокожировой диеты, свидетельствовало о развитии инсулинорезистентности.

Вывод. В ходе исследования установлено, что, с одной стороны, сульфат железа приводит к потенцированию адипогенного эффекта высокожировой высококалорийной диеты, а с другой — выступает в качестве фактора, способствующего формированию эндокринной дисфункции жировой ткани (так называемого эндокринного дизраптора).

Ключевые слова: железо, жировая ткань, крысы, воспаление, эндокринные дизрапторы.

INFLUENCE OF IRON SULFATE ON ADIPOSE TISSUE ENDOCRINE DYSFUNCTION IN WISTAR RATS
A.A. Tinkov, E.V. Popova, A.A. Nikonov. *Orenburg State Medical Academy, Orenburg, Russia.* **Aim.** To study the adipose tissue endocrine function at adipogenic effect development in Wistar rats on high-fat diet and increased iron intake with drinking water. **Methods.** Animals on standard and high-fat diets were administered 3 mg/l of iron sulfate with drinking water

Адрес для переписки: nikonov_all@mail.ru

during 3 months. Levels of circulating proinflammatory cytokines (monocyte chemoattractant protein 1, tumor necrosis factor alpha), leptin, adiponectin, serum glucose and insulin, as well as morphometric parameters and iron content in hair and adipose tissue were evaluated. **Results.** A significant increase in morphometric parameters, hair iron levels was observed in rats taking iron salts compared to the controls, with highest adipose tissue iron level in rats on high-fat diet. At the same time, serum levels of proinflammatory cytokines (monocyte chemoattractant protein 1, tumor necrosis factor alpha) and leptin was also higher in rats obtaining iron with drinking water compared to controls. Increased serum insulin level together with slightly elevated serum glucose level indicated insulin resistance development in rats on high-fat diet, fed with iron. **Conclusion.** The research shows that, on the one side, iron intake potentiates the adipogenic effect of high-fat diet, and on the other side, acting as a trigger for endocrine dysfunction formation (so called endocrine disruptor). **Keywords:** iron, adipose tissue, rats, inflammation, endocrine disruptors.

В последние десятилетия в значительной степени изменился взгляд на функции жировой ткани (ЖТ). В связи с открытием секреторной функции адипоцитов механистический взгляд на развитие ожирения был пересмотрен. В настоящее время ожирение рассматривают как хроническое вялотекущее воспаление в ЖТ, сопровождающееся эндокринной дисфункцией адипоцитов [3]. Классический взгляд на этиологию ожирения также подвергся значительным изменениям. Так, были получены данные, указывающие на влияние значительного количества химических соединений на эндокринную функцию ЖТ [1]. К подобным так называемым эндокринным дизрапторам (от англ. disrupt — разрушать) относится значительное количество органических соединений [6]. В то же время роль неорганических веществ изучена в значительно меньшей степени. Учитывая широкое распространение в окружающей среде соединений железа, а также наличие данных, указывающих на связь между нарушением гомеостаза железа в организме и развитием ожирения, целью настоящего исследования стало изучение влияния поступления сульфата железа с питьевой водой на состояние эндокринной функции ЖТ и выраженность адипогенного эффекта высокожировой диеты у крыс линии Wistar в хроническом эксперименте.

Исследование проведено на 24 крысах-самках линии Wistar в соответствии с «Правилами проведения работ и использования экспериментальных животных». На момент начала эксперимента отбирали животных в возрасте 2 мес с одинаковой массой тела. Проведение работы было одобрено Локальным этическим комитетом. Животных содержали в лаборатории в условиях искусственного освещения (12-часовой световой день) и кормления *ad libitum*. В течение недели до начала эксперимента животные находились на карантине в условиях лаборатории.

В качестве стандартной диеты использовали комбикорм (ЗАО «Оренбургский комбикормовый завод»). В качестве диеты с высоким содержанием жира применяли стандартную диету с увеличивающейся долей жиров (1-й месяц — 21,7%, 2-й — 31,6%, 3-й — 40,1% жиров по отношению к общей энергетической ценности рациона). Все животные были разделены на группы по 6 животных в каждой. Животные первой и второй групп служили контрольными и содержались соответственно на стандартной и высокожировой диете. Животные третьей и чет-

вёртой групп получали с питьевой водой сульфат железа ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) в концентрации 3 мг/л на фоне стандартной и высокожировой диеты соответственно.

Общая длительность эксперимента составила 3 мес (90 сут). По окончании эксперимента оценивали морфометрические показатели животных, включающие измерение массы тела, окружности грудной клетки, окружности живота, соотношения окружность живота / окружность грудной клетки, индекса массы тела на основании результатов измерения длины и массы тела [6]. Вскрытие производили путём срединной лапаротомии. Для исследования использовали околоматочную ЖТ (параметрий). Выделенный параметрий взвешивали на аналитических весах, на основании данных о массе данного депо ЖТ рассчитывали индекс ожирения: масса ЖТ / масса тела $\times 100\%$. После взвешивания образцы ЖТ забирали для последующего анализа.

Определение концентрации фактора некроза опухоли альфа и интерлейкина-6 в сыворотке крови крыс проводили методом иммуноферментного анализа с использованием наборов «eBioscience», адипонектина и моноцитарного хемотаксического белка 1 с использованием стандартных наборов фирмы «USCN» («Life Science Inc»), инсулина и лептина с применением наборов «AccuBind» и «Biovendor» соответственно.

Определение концентрации глюкозы в сыворотке крови проводили с использованием набора реагентов «Roche» на автоматическом биохимическом анализаторе «Cobas Integra 400 plus».

В качестве критерия содержания железа в биологических средах организма использовали шерсть животных, собранную с каудальной части спины. Определение содержания железа в шерсти и образцах ЖТ производили методом атомной эмиссионной спектроскопии на спектрометре «Optima 2000 DV».

Статистический анализ данных осуществляли с помощью программного пакета Statistica 10 for Windows. Данные представлены в виде среднего значения с указанием среднеквадратического отклонения ($M \pm \sigma$). Погрупповое сравнение значений производили с помощью модуля ANOVA. Выявление достоверных различий между группами осуществляли методом апостериорного сравнения с использованием критерия наименьшей значимости (Fisher LSD-test).

В ходе исследования было установлено, что морфометрические показатели лабораторных

животных, получающих с питьевой водой сульфат железа, характеризовались более выраженным изменением по сравнению с соответствующими контрольными группами. При этом наиболее значительные изменения отмечены в группе животных, получающих сульфат железа с питьевой водой на фоне высокожировой диеты. Как абсолютное, так и относительное содержание ЖТ в четвёртой группе животных превышало данные показатели у контрольных животных, содержащихся на высокожировой диете (вторая группа) на 33 и 25% соответственно.

ный показатель у животных, содержащихся на высокожировой диете (вторая группа), на 45%.

Необходимо отметить, что употребление солей железа на фоне используемых диет приводило к увеличению концентрации адипонектина в сыворотке крови животных, которое, тем не менее, не было статистически значимым. На фоне введения 3 мг/л $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ с питьевой водой у животных также присутствовала тенденция к увеличению концентрации циркулирующего фактора некроза опухоли альфа, достигая наибольших значений в четвёртой группе. При

Таблица 1

Влияние сульфата железа и диеты на морфометрические показатели лабораторных животных

| Группа | Масса тела, г | ОГК, см | ОЖ, см | ОЖ/ОГК | ИМТ | ЖТ, г | ИО, % |
|--------|---------------------------|------------|---------------------------|-----------|------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| СтД | 296,00±25,26 | 15,58±0,49 | 17,58±0,49 | 1,13±0,04 | 0,68±0,04 | 7,58±2,64 | 2,57±0,83 |
| ВЖД | 307,00±18,14 | 16,10±0,89 | 18,80±0,84 | 1,17±0,03 | 0,76±0,09 | 11,84±2,43 ^А | 3,87±0,83 ^{А,С} |
| Fe+СтД | 304,80±5,97 | 16,20±0,45 | 18,50±1,00 | 1,14±0,04 | 0,69±0,05 | 8,48±2,02 | 2,78±0,63 |
| Fe+ВЖД | 324,60±31,60 ^А | 15,90±0,22 | 19,40±1,39 ^{А,С} | 1,22±0,08 | 0,76±0,10 ^А | 15,74±3,80 ^{А,В,С} | 4,82±0,94 ^{А,В,С} |

Примечание: А – по сравнению с группой животных, получавшей стандартную диету (СтД), $p < 0,05$; В – по сравнению с группой, получавшей высокожировую диету (ВЖД), $p < 0,05$; С – по сравнению с группой животных, получающих стандартную диету и 3 мг/л сульфата железа с питьевой водой (Fe+СтД), $p < 0,05$; ОГК – окружность грудной клетки, ОЖ – окружность живота; ИМТ – индекс массы тела; ЖТ – масса жировой ткани, ИО – индекс ожирения.

Содержание железа в организме животных, оцениваемое по концентрации железа в шерсти, в группах, получающих 3 мг/л сульфат железа (третья и четвёртая группы), достоверно превышало соответствующие контрольные значения (первая и вторая группы) на 31 и 37% (табл. 2). В то же время изменение содержания железа в ЖТ не коррелировало с таковым в шерсти. Так, достоверно наибольшее содержание железа в образцах ЖТ отмечено лишь в четвёртой группе животных (Fe + высокожировая диета), превышающая соответствующий контроль (высокожировая диета) на 50%.

Как видно из данных, представленных в табл. 3, употребление сульфата железа на фоне стандартной и высокожировой диет приводило к изменению концентрации циркулирующих адипокинов в сыворотке крови лабораторных животных. Так, наибольшая концентрация лептина, служащего одним из ключевых маркёров ожирения, отмечена у крыс четвёртой группы (Fe + высокожировая диета); она превышала дан-

этом, несмотря на то, что введение солей железа на фоне высокожировой диеты не приводило к увеличению концентрации моноцитарного хематоксического белка 1 по сравнению с контрольными животными, содержащимися на высокожировой диете, употребление питьевой воды, содержащей 3 мг/л $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, на фоне стандартной диеты приводило к 74% увеличению содержания данного цитокина по сравнению с контрольной группой, содержащейся на стандартной диете. Концентрация интерлейкина-6 в сыворотке крови экспериментальных животных, получающих сульфат железа, практически не отличалась от соответствующих контрольных значений.

Как видно из данных, представленных в табл. 4, соли железа, высокожировая диета и их сочетание не приводило к достоверному изменению концентрации инсулина и глюкозы в сыворотке крови экспериментальных животных. В то же время в группе животных, получающих сульфат железа на фоне высокожировой диеты, произошло увеличение концентрации инсулина на 25%.

Таким образом, в ходе исследования установлено, что употребление питьевой воды, содержащей сульфаты железа, приводит к потенцированию адипогенного эффекта высокожировой высококалорийной диеты, о чём свидетельствует более выраженное изменение основных морфометрических показателей животных по сравнению с соответствующими контрольными группами. Наблюдаемое увеличение содержания железа в образцах шерсти экспериментальных животных свидетельствует о кумуляции данного металла в организме, являясь критерием эффективности поступления

Таблица 2
Влияние сульфата железа и диеты на содержание железа в шерсти и жировой ткани крыс

| Диета | Содержание в шерсти, мкг/г | Содержание в жировой ткани, мкг/г |
|--------|----------------------------|-----------------------------------|
| СтД | 20,04±0,69 | 6,35±1,18 |
| ВЖД | 20,24±3,05 | 5,27±1,52 |
| Fe+СтД | 26,18±6,16 ^{А,В} | 6,99±0,81 |
| Fe+ВЖД | 27,64±2,63 ^{А,В} | 7,85±0,69 ^{А,В} |

Примечание: А – по сравнению с группой, получавшей стандартную диету (СтД), $p < 0,05$; В – по сравнению с группой, получавшей высокожировую диету (ВЖД), $p < 0,05$; Fe – диета, дополненная 3 мг/л сульфата железа с питьевой водой.

Влияние солей железа и диеты на концентрацию адипокинов в сыворотке крови

| Диета | Адипонектин, нг/мл | Лептин, пг/мл | МСР-1, нг/мл | ФНО α , пг/мл | ИЛ-6, пг/мл |
|--------|----------------------------------|----------------------------------|------------------------------|----------------------|---------------------------------|
| СтД | 189,86 \pm 64,03 | 126,67 \pm 8,02 | 1,38 \pm 0,16 | 0,02 \pm 0,00 | 28,80 \pm 7,67 |
| ВЖД | 127,15 \pm 5,99 ^{А,С} | 372,60 \pm 124,65 ^А | 3,37 \pm 1,36 ^А | 0,03 \pm 0,00 | 51,54 \pm 5,29 ^{А,С} |
| Fe+СтД | 350,35 \pm 20,58 ^А | 180,43 \pm 31,16 | 2,40 \pm 0,50 ^А | 0,03 \pm 0,01 | 23,56 \pm 1,47 |

Примечание: А – по сравнению с группой животных, получавших стандартную диету (СтД), $p < 0,05$; В – по сравнению с группой, получавшей высокожировую диету (ВЖД), $p < 0,05$; С – по сравнению с группой животных, получающих стандартную диету и 3 мг/л $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ с питьевой водой (Fe+СтД), $p < 0,05$; МСР-1 – моноцитарный хемотаксический белок 1, ФНО α – фактор некроза опухоли альфа, ИЛ-6 – интерлейкин-6; Fe – диета, дополненная 3 мг/л $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ с питьевой водой.

железа в организм. Более того, статистически значимые изменения в содержании железа в ЖТ свидетельствуют о значительной его роли в функционировании ЖТ при адипогенезе. Данный факт может быть обусловлен секвестрацией железа в резидентных макрофагах ЖТ при ожирении, сопровождающемся вялотекущим воспалительным процессом [8]. Более того, непосредственное увеличение количества макрофагов, привлекаемых в ЖТ вследствие воспаления ЖТ, также может приводить к увеличению локального уровня железа [7]. Наличие воспаления в ЖТ, так или иначе опосредованного системным или локальным действием железа, подтверждается также повышением концентрации провоспалительных цитокинов в сыворотке животных, получающих с питьевой водой соли железа. Более выраженное снижение количества адипонектина и повышение концентрации лептина также свидетельствуют о развитии эндокринной дисфункции ЖТ [4] у крыс, получающих с питьевой водой сульфаты железа. Несмотря на отсутствие достоверных различий в концентрации глюкозы и инсулина в сыворотке экспериментальных животных, употребление солей железа, особенно на фоне содержания на высокожировой диете, приводит к увеличению концентрации глюкозы и

инсулина, что свидетельствует о развитии инсулинорезистентности, являющейся одним из патогенетических звеньев дисфункции ЖТ и развития метаболического синдрома [2].

ВЫВОД

В ходе исследования установлено, что, с одной стороны, сульфат железа приводит к потенцированию адипогенного эффекта высокожировой высококалорийной диеты, а с другой – выступает в качестве фактора, способствующего формированию эндокринной дисфункции жировой ткани (так называемого эндокринного дизраптора).

ЛИТЕРАТУРА

1. Baillie-Hamilton P.F. Chemical toxins: a hypothesis to explain the global obesity epidemic // J. Altern. Complement. Med. – 2002. – Vol. 8. – P. 185–192.
2. Dandona P., Ajlaja A., Bandyopadhyay A. Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes // Trends Immunol. – 2004. – Vol. 25, N 1. – P. 4–7.
3. Das U.N. Is obesity an inflammatory condition? // Nutrition. – 2001. – Vol. 17, N 11–12. – P. 953–966.
4. Hajer G.R., van Haefen T.W., Visseren F.L. Adipose tissue dysfunction in obesity, diabetes, and vascular diseases // Eur. Heart J. – 2008. – Vol. 29, N 24. – P. 2959–2971.
5. Mullerova D., Kopecky J. White adipose tissue: storage and effector site for environmental pollutants // Physiol. Res. – 2007. – Vol. 56. – P. 375–381.
6. Novelli E.L., Diniz Y.S., Galhardi C.M. et al. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats // Lab. Anim. – 2007. – Vol. 41, N 1. – P. 111–119.
7. Weisberg S.P., McCann D., Desai M. et al. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue // J. Clin. Invest. – 2003. – Vol. 112, N 12. – P. 1796–1808.
8. Zekanowska E., Boinska J., Giemza-Kucharska P., Kwapisz J. Obesity and iron metabolism // Biotechnology. – 2011. – Vol. 92. – P. 147–152.

Таблица 4

Влияние солей железа и диеты на концентрацию инсулина и глюкозы в сыворотке крови крыс Wistar

| Диета | Глюкоза, ммоль/л | Инсулин, мкЕД/мл |
|--------|------------------|------------------|
| СтД | 8,50 \pm 0,42 | 3,59 \pm 0,21 |
| ВЖД | 8,84 \pm 0,48 | 3,53 \pm 0,34 |
| Fe+СтД | 8,57 \pm 1,11 | 2,74 \pm 0,46 |
| Fe+ВЖД | 8,96 \pm 0,80 | 4,40 \pm 1,21 |

Примечание: СтД – стандартная диета; ВЖД – высокожировая диета; Fe – диета, дополненная 3 мг/л $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ с питьевой водой.