ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В ШЕРСТИ ЖИВОТНЫХ С НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПЕЧЕНИ

Е.Р. Гатиатулина[1,2], Е.В. Попова[1], В.С. Полякова[1], А.А. Скальная[3], Э.Ф. Аглетдинов[4], А.А. Никоноров[1,5], А.В. Скальный[5,6,7,8], А.А. Тиньков[1,5,6,7]

[1] Оренбургский государственный медицинский университет
[2] Южно-Уральский государственный медицинский университет, г. Челябинска
[3] Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова
[4] Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа
[5] Институт биоэлементологии (Российский сателлитный центр Института микроэлементов при ЮНЕСКО), Оренбургский государственный университет
[6] Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова
[7] Российский университет дружбы народов, Москва
[8] Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений, Москва

РЕЗЮМЕ. Неалкогольная жировая болезнь печени (НЖБП) – самое распространенное в мире заболевание, связанное с резистентностью к инсулину, ожирением, сахарным диабетом 2 типа и метаболическим синдромом. Распространенность НЖБП составляет, в среднем, 25-30% в странах Европы и США и около 27% в РФ. Предполагается, что существенную роль в развитии НЖБП могут играть эссенциальные и токсичные микроэлементы. В этой связи проведена оценка влияния дието-индуцированной НЖБП на содержание микроэлементов в шерсти крыс. В исследовании было задействовано 56 самок крыс линии Wistar в возрасте 3 месяцев. Животные были поделены на две равные группы (n = 28), содержащиеся на стандартной (СТД = контроль, 10% жира) и высококалорийной (ВКД = НЖБП, 60% жира) диетах, соответственно, в течение 6 недель. Содержание микроэлементов определялось методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой. Показано, что содержание на высококалорийной диете приводило к достоверному повышению содержания ванадия в шерсти животных. При этом концентрации меди, йода, лития и цинка у крыс с ожирением и НЖБП, напротив, были снижены относительно контрольных животных. Значимых различий в содержании Co, Cr, Fe, Mn и Se между исследуемыми группами не было. Также НЖБП не влияла на уровни токсичных микроэлементов Al, As, Cd, Ni, Sr. Полученные данные показывают, что НЖБП существенно влияет на содержание микроэлементов в шерсти крыс.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: болезнь жировая дистрофия печени, ожирение, шерсть, микроэлементы, ванадий, цинк.

ВВЕДЕНИЕ

Неалкогольная жировая болезнь печени (НЖБП) – заболевание, включающее в себя такие патологические состояния, как неалкогольная жировая дистрофия печени и неалкогольный стеатогепатит, и характеризующееся специфическими изменениями в ткани печени при отсутствии в анамнезе пациента принятия алкоголя выше определенных установленных значений. Распространенность НЖБП составляет в среднем примерно 25–30% в странах Европы и США (Chalasani et al, 2012). В Российской Федерации, по данным на 2007 г., встречаемость НЖБП среди взрослого населения составила 27% (Драпкина, Ивашкин, 2014). Одним из ключевых моментов в патогенезе НЖБП можно считать дисбаланс адипокинов, способный вызывать развитие инсулинорезистентности (Tilg, Moschen, 2008), и вялотекущую системную воспалительную реакцию (Cave et al., 2008).

Выявлена тесная взаимосвязь НЖБП с ожирением, сердечно-сосудистыми заболеваниями, сахарным диабетом 2-го типа и, что не менее важно, метаболическим синдромом (EASL-EASD-EASO, 2016), каждый из компонентов которого так или иначе ассоциирован с инсулинорезистентностью; наличие метаболического синдрома повышает риск развития НЖБП, и наоборот

* Адрес для переписки:
Гатиатулина Евгения Рамильевна
E-mail: gatiatulina@hotmail.com

© Микроэлементы в медицине, 2017

DOI: 10.19112/2413-6174-2017-18-1-17-21

(EASL-EASD-EASO, 2016). Однако из-за того, что патогенез НЖБП ассоциирован со многими заболеваниями и достаточно сложен, исследования механизмов его формирования все еще не завершены и требуют более глубокого изучения.

В настоящее время известна важная роль микроэлементов (МЭ) в организме человека. Они являются кофакторами ферментов, структурными компонентами молекул (например, витамина B_{12}), специфическими регуляторами различных метаболических путей и т.д (Fraga, 2005). Цинк, хром и ванадий принимают участие в обмене глюкозы (Wiernsperger, Rapin, 2010). Магний играет значимую роль в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний и метаболического синдрома (Champagne, 2008). Следовательно, очевидна роль МЭ в патогенезе различных заболеваний. Имеются данные о том, что дисгомеостаз меди и железа тесно связан НЖБП (Aigner et al., 2015), а избыточное поступление селена – с высоким риском развития латерального амиотрофического склероза и сахарного диабета (Vinceti et al., 2009). Нами было показано, что нарушение обмена ванадия, хрома и цинка в жировой ткани связано с алиментарным ожирением и метаболическими параметрами (Tinkov et al., 2015; Tinkov et al., 2016). Таким образом, нарушения гомеостаза МЭ в патогенезе заболеваний печени являются актуальными для исследования.

Однако выявление изменений элементного статуса организма может представлять трудности, из-за того, что, во-первых, данные изменения могут быть локальными (например, только в печени или жировой ткани), во-вторых, использование сыворотки крови для диагностики может не отражать микроэлементные изменения (Скальный и др., 2016). Следовательно, использование волос и шерсти для диагностики различных патологических состояний может быть перспективным (Momcilovic et al., 2014) из-за более стабильного содержания МЭ и отсутствия воздействия систем гомеостаза.

Цель работы – оценка содержания различных микроэлементов в шерсти крыс с дието-индуцированной НЖБП.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на 56 самках крыс линии Wistar в возрасте 3 мес. Протокол исследования был одобрен Локальным этическим комитетом и соответствовал требованиям Хельсинкской декларации 1975 г. и ее пересмотренного варианта 2008 г. Животные были разделены на две равные группы (n = 28), содержащиеся одна на стандартной (СТД), другая – высококалорийной (ВКД) диетах в течение шести недель. Все животные имели свободный доступ к еде и питьевой воде. Стандартный гранулированный корм, содержащий 270 ккал/100 г (10% жира), был использован в качестве СТД. Высококалорийная диета, содержащая 429 ккал/100 г (60% жиров), была основана на добавлении свиного сала и 10%-ного раствора сахарозы вместо питьевой воды. Достоверных различий в минеральном составе диет выявлено не было.

Забор шерсти проводили с краниальной части спины. Содержание МЭ определяли методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой на приборе Nexion 300D («Perkin Elmer Inc.», США) после микроволнового разложения образцов.

Полученные данные были проанализированы с использованием Statistica 10.0 («Statsoft», США). Результаты представлены в виде медианы и величин 25 и 75 перцентилей. Сравнительный анализ данных проводили с применением U-теста Манн–Уитни при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования приведены в таблице. Было выявлено достоверное изменение уровней меди, йода, лития, цинка и ванадия при НЖБП. Так, ВКД приводила к увеличению содержания ванадия на 24% (p = 0,045) по сравнению с контрольными значениями. Концентрация меди, йода, лития и цинка в шерсти животных с НЖБП, напротив, снижалась на 9 ($p < 0,001$), 36 ($p < 0,001$), 38 ($p < 0,001$) и 6% (p = 0,008) относительно контроля. Достоверных различий в содержании кобальта, хрома, железа, марганца и селена среди изучаемых групп выявлено не было. Уровень токсичных МЭ в шерсти животных также не изменялся при воздействии ВКД.

Полученные данные показывают, что НЖБП вызывает существенные изменения содержания МЭ в шерсти животных.

Имеются данные о связи НЖБП и нарушении функции щитовидной железы (Eshraghian et al., 2014), однако обмен йода при НЖБП в настоящее время недостаточно изучен. У пациентов с ожирением было выявлено снижение содержания йода (Skalnaya, Demidov, 2007).

Было обнаружено снижение содержания меди у животных с НЖБП, что согласуется с данными, полученными различными авторами. Так, Gonzalez-Reimers с соавт. выявили снижение кон-

центрации металла при ожирении (Gonzalez-Reimers et al., 2008). В своем исследовании Kim и Song выявили достоверную взаимосвязь между содержанием меди в волосах пациентов с ожирением и инсулинорезистентностью (Kim, Song, 2014). Уменьшение концентрации меди в волосах было обнаружено у пациентов с метаболическим синдромом (Park et al., 2009) и жировой инфильтрацией печени (Wiesener et al., 1979).

Содержание микроэлементов в шерсти лабораторных животных, мкг/г сухой шерсти

Микроэлемент	Группа животных		Достигаемый уровень значимости, *p*-value
	Контроль	НЖБП	
Co	0,0275 (0,024–0,0315)	0,0255 (0,0235–0,0335)	0,949
Cr	0,1975 (0,1015–0,34)	0,1255 (0,073–0,2755)	0,322
Cu	12,975 (12,42–14,665)	11,69 (10,94–12,615)	< 0,001 *
Fe	20,04 (18,545–24,925)	20,745 (19,35–24,58)	0,595
I	5,915 (4,31–7,155)	3,77 (2,815–4,62)	< 0,001 *
Li	0,0755 (0,0575–0,095)	0,0465 (0,0405–0,0545)	< 0,001 *
Mn	0,832 (0,735–1,125)	1,0045 (0,851–1,445)	0,084
Se	0,4605 (0,4365–0,49)	0,4445 (0,4235–0,5015)	0,383
V	0,0565 (0,0275–0,0765)	0,07 (0,0515–0,099)	0,045 *
Zn	224,5 (214,5–244)	210,5 (204–227)	0,008 *
Al	1,635 (1,265–2,06)	1,87 (1,5–2,22)	0,102
As	0,0335 (0,0285–0,0385)	0,0305 (0,026–0,034)	0,067
Cd	0,00315 (0,0025–0,00455)	0,0038 (0,00305–0,0055)	0,225
Ni	0,1375 (0,1005–0,1795)	0,1385 (0,108–0,154)	0,927
Sr	0,832 (0,671–1,125)	0,804 (0,7325–0,9935)	0,515

Примечание: данные представлены как медиана и величины 25–75 перцентилей; * – достоверность различий $p < 0,05$ в соответствии с U-тестом Манн–Уитни.

В шерсти животных, содержащихся на ВКД, было обнаружено снижение содержания цинка. Эти данные согласуются с имеющимися литературными данными об уменьшении концентрации цинка в волосах пациентов, страдающих ожирением (Chen et al., 1988; Wang et al., 2005), метаболическим синдромом (Choi et al., 2014) и сахарным диабетом 2-го типа (Skalnaya, Demidov, 2007).

Также было выявлено снижение содержания лития в шерсти животных с НЖБП. Следует отметить, что сведений об изменениях содержания данного МЭ у пациентов с НЖБП, ожирением или инсулинорезистентностью недостаточно. Однако существуют данные о развитии транзиторного диабета у пациентов после отмены препаратов лития (Okosieme, 2006). Указанный факт, а также способность лития ингибировать киназу-3 гликоген синтазы – фермента, являющегося ключевым в регуляции обмена гликогена (Kaidanovich, Eldar-Finkelman, 2002), позволяет предположить существенную роль лития в патогенезе диабета и, возможно, НЖБП.

Известно, что ванадий может играет роль в гликемическом контроле из-за его инсулиномиметических свойств (Verma et al., 1998) и способности к стимуляции синтеза гликогена (Pandey et al., 1998). Однако изменения обмена ванадия при ожирении и НЖБП недостаточно изучены. В данном эксперименте было выявлено до-

стоверное увеличение содержания данного МЭ у крыс, содержащихся на ВКД. Однако Скальная и соавт. не выявили достоверного изменения уровня ванадия у пациентов с ожирением и сахарным диабетом 2-го типа (Skalnaya, Demidov, 2007). Интересно, что в ранее проведенном нами исследовании у крыс, содержащихся на ВКД, также не было выявлено изменения концентрации данного МЭ в шерсти (Tinkov et al., 2015). Такое различие в может быть вызвано разницей в типе использованной модели ожирения: более высокое содержание жира и добавление 10%-ного раствора сахарозы, возможно, вызывает более глубокие глюкометаболические расстройства, чем использование только ВКД, и соответственно, ведет к нарушению метаболизма ванадия в организме крыс. При этом повышение содержания ванадия в шерсти может являться свидетельством не столько его избытка в организме, сколько интенсивности экскреции с последующим развитием дефицита, особенно ввиду роли данного эссенциального элемента в развитии метаболических нарушений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Неалкогольная жировая болезнь печени вызывает существенные изменения уровней МЭ в шерсти животных: достоверное увеличения содержания ванадия на 24% (p = 0,045), снижение содержания меди, йода, лития и цинка.

Данные микроэлементного анализа волос и шерсти могут служить индикатором наличия дисгомеостаза МЭ при заболеваниях печени, в частности НЖБП.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

Драпкина О.М., Ивашкин В.Т. Эпидемиологические особенности неалкогольной жировой болезни печени в России Гепатология. 2014. № 4. С. 32–38

(Drapkina O.M., Ivashkin V.T. Epidemiological features of non-alcoholic fatty liver disease in Russia. Gepatologija. 2014. T. 4. S. 32–38 [in Russ.]).

Скальный А.А., Мелихова М.В., Бонитенко Е.Ю., Скальный А.В., Скальная М.Г., Мирошников С.А. Сравнительный анализ информативности диагностических биосубстратов (сыворотка крови и шерсть) при определении элементного статуса экспериментальных животных. Микроэлементы в медицине. 2016. № 17(1). С. 38–44.

(Skalny A.A., Melihova M.V., Bonitenko E.Ju., Skalny A.V., Skalnaya M.G., Miroshnikov S.A. Comparative analysis of information value of the diagnostic materials for estimation of trace element status of the experimental animals. Trace elemtnts in medicine. 2016. № 17(1). S. 38−44 [in Russ.]).

Aigner E., Weiss G., Datz C. Dysregulation of iron and copper homeostasis in nonalcoholic fatty liver. World J Hepatol. 2015,7:177.

Cave M.C., Hurt R.T., Frazier T.H., Matheson P.J., Garrison R.N., McClain C.J., McClaveS.A. Obesity, inflammation, and the potential application of pharmaconutrition. Nutr Clin Pract. 2008, 23(1):6–34.

Chalasani N., Younossi Z., Lavine J.E., Diehl A.M., Brunt E.M., Cusi K., Charlton M., Sanyal A.J. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice guideline by the American Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, and American College of Gastroenterology. Gastroenterology. 2012, 142:1592–1609.

Champagne C.M. Magnesium in hypertension, cardiovascular disease, metabolic syndrome, and other conditions: A Review. Nutr Clin Pract. 2008, 23(2):142-151.

Chen M.D., Lin P.Y., Lin W.H., ChengV.Zinc in hair and serum of obese individuals in Taiwan. Am J ClinNutr 1988, 48(5):1307-9.

Choi W.-S., Kim S.-H., Chung J.-H. Relationships of hair mineral concentrations with insulin resistance in metabolic syndrome. Biol Trace Elem Res. 2014, 158:323–329.

Eshraghian A., Hamidian Jahromi A., Nonalcoholic fatty liver disease and thyroid dysfunction: a systematic review, World J. Gastroenterol. 20 (2014) 8102–8109.

Fraga C.G. Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health. Mol Asp Med. 2005, 26(4–5 SPEC. ISS.):235–244. http://doi.org/10.1016/j.mam.2005.07.013.

Gonzalez-Reimers E., Martin-Gonzalez M.C., Galindo-Martin L., Duran-Castellon M.C., Aleman-Valls M.R., Velasco-Vázquez J., Gonzalez-Perez J. M., Barroso-Guerrero F. Hair zinc, copper and iron: relationships with quality of diet, tobacco smoking and nutritional status. Trace Elem Electroly. 2008, 25 (1):35–40.

Kaidanovich O., Eldar-Finkelman H. The role of glycogen synthase kinase-3 in insulin resistance and type 2 diabetes. Expert OpinTher Targets. 2002, 6: 555–561.

Kim H.N., Song S.W. Concentrations of chromium, selenium, and copper in the hair of viscerally obese adults are associated with insulin resistance. Biol Trace Elem Res. 2014, 158:152–157.

Momcilovic B., Prejac J., Visnjevic V. Skalnaya M.G., Mimica N., Drmic S., Skalny A.V. Hair iodine content in assessing the human iodine status. Thyroid. 2014, 17(6):1421−1429.

Okosieme O.E., Campbell A., Patton K., Evans M.L. Transient diabetes associated with withdrawal of lithium therapy. Diabetes Care. 2006, 29:1181-10.2337/dc06-0291.

Pandey S.K., Anand-Srivastava M.B., Srivastava A.K. Vanadyl sulfate-stimulated glycogen synthesis is associated with activation of phosphatidylinositol 3-kinase and is independent of insulin receptor tyrosine phosphorylation. Biochemistry. 1998, 37:7006−14.

Park S.B., Choi S.W., Nam A.Y. Hair tissue mineral analysis and metabolic syndrome. Biol Trace Elem Res. 2009, 130(3):218–228.

Skalnaya M.G., Demidov V.A. Hair trace element contents in women with obesity and type 2 diabetes. J Trace Elem Med Biol. 2007, 21(1):59–61

Tilg H., Moschen A.R. Insulin resistance inflammation, and non-alcoholic fatty liver disease. Trends Endocrinol Metab. 2008, 19:371–379.

Tinkov A.A., Popova E.V., Gatiatulina E.R., Skalnaya A.A., Yakovenko E.N., Alchinova I.B., Karganov M.Y., Skalny A.V., NikonorovA.A. Decreased adipose tissue zinc content is associated with metabolic parameters in high fat fed Wistar rats. Acta Sci Pol Technol Aliment.2016, 15(1):99–105.

Tinkov A.A., Popova E.V., Polyakova V.S., Kwan O.V., Skalny A.V., Nikonorov A.A. Adipose tissue chromium and vanadium disbalance in high-fat fed Wistar rats. J Trace Elem Med Biol. 2015, 29:176–181.

Verma S., Cam M.C., McNeill J.H. Nutritional factors that can favorably influence the glucose/insulin system: vanadium. J Am CollNutr. 1998, 17:11–18.

Vinceti M., Maraldi T., Bergomi M., Malagoli C. Risk of chronic low-dose selenium overexposure in humans: insights from epidemiology and biochemistry. Rev Environ Health. 2009, 24:231–248.

Wang C.-T., Chang W.-T., JengL.-H., Liu P.-E., Liu L.-Y. Concentrations of calcium, copper, iron, magnesium, and zinc in young female hair with different body mass indexes in Taiwan. J Health Sci. 2005,51(1):70–74.

Wiernsperger N., Rapin J. Trace elements in gluco- metabolic disorders: an update. Diabetol Metab Syndr.2010, 2:70.

Wiesener W., Goerner W., Niese S. Changes in trace element concentration in hair and other organs in relation to disease and metal burden.IAEA. International symposium on nuclear activation techniques in the life sciences, Vienna, Austria, 1979, 307–319.

ESTIMATION OF HAIR TRACE ELEMENT CONTENT IN RATS WITH NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE

E.R. Gatiatulina[1,2], E.V. Popova[1], V.S. Polykova[1], A.A. Skalnaya[3], E.F. Agletdinov[4], A.A. Nikonorov[1,5], A.V. Skalny [5,6,7,8], A.A. Tinkov[1,5,6,7]

[1] Orenburg State Medical University, Sovetskaya St., 6, Orenburg, 460000, Russia

[2] South Ural State Medical University, Vorovskogo St., 64, Chelyabinsk, 454048, Russia

[3] Lomonosov Moscow State University, Lomonosovsky Prospekt, 31-5, Moscow, 117192, Russia

[4] Bashkir State Medical University, 3, Lenin Street, Ufa, 450008, Russia

[5] Orenburg State University, Pobedy avenue, 13, 460018, Orenburg, Russia

[6] Yaroslavl State University, Sovetskaya St., 14, Yaroslavl, 150000, Russia

[7] RUDN University, Miklukho-Maklay St., 10/2, Moscow, 117198, Russia

[8] All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (VILAR), Grina St., 7, Moscow, 117216, Russia

ABSTRACT. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is the commonest liver disease in the world associated with insulin resistance, obesity, type 2 diabetes mellitus and metabolic syndrome. The prevalence has been estimated to be approximately 25-30% in the Western countries and USA and about 27% in Russian Federation. It is supposed that essential and toxic trace elements may play a significant role in NAFLD development. Consequently, the aim of the study was to assess the influence of diet-induced NAFLD on hair trace elements content of rats. Totally, 56 female 3-month Wistar rats were used in the present study. Rats were divided into two groups (n=28) and fed either standard (10% fat, SD = control) or high-calorie diet (60% of fat, HCD = NAFLD) during 6 weeks, respectively. Hair trace element content was assessed by means of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-DRC-MS). It was revealed that high calorie feeding resulted in a significant increase in hair V concentration in animals. Oppositely, Cu, I, Li, and Zn levels in NAFLD rats were decreased in comparison to the control values. There was no significant difference in hair Co, Cr, Fe, Mn, and Se content between the studied groups. Toxic trace element (Al, As, Cd, Ni, and Sr) levels also did not affected by the NAFLD. In conclusion, the obtained data demonstrate that NAFLD significantly affects hair trace elements content in rats.

KEYWORDS: NAFLD, obesity, hair, trace elements, vanadium, zinc.