

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

**ОСОБЕННОСТИ КУМУЛЯЦИИ ЖЕЛЕЗА И МЕДИ
В ЖИРОВОЙ ТКАНИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ**

**ACCUMULATION FEATURES OF IRON AND COPPER
IN ADIPOSE TISSUE OF EXPERIMENTAL ANIMALS**

А.А. Тиньков, А.А. Никоноров*

A.A. Tin'kov, A.A. Nikonorov

Оренбургская государственная медицинская академия
Orenburg State Medical Academy, Russia

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: железо, медь, жировая ткань, шерсть.

KEYWORDS: iron, copper, adipose tissue, hair.

РЕЗЮМЕ. В течение трех месяцев экспериментальные животные получали с питьевой водой соли железа и меди в различных концентрациях, а также смесь солей железа и меди. По окончании эксперимента для анализа забирали шерсть с каудальной части спины, а также параметрий и параовариальную жировую ткань. Выявлено, что кумуляция железа в шерсти животных характеризуется дозозависимостью, при этом содержание меди в шерсти изменялось разнонаправленно. Установлено, что содержание исследуемых металлов в шерсти не коррелирует с их содержанием в жировой ткани. При введении металлов с питьевой водой наиболее изменяется содержание железа в жировой ткани. В то же время кумуляция данного металла в образцах параметрия не была дозозависимой. Содержание меди в жировой ткани животных достоверно не различалось среди экспериментальных групп и характеризовалось низкой вариабельностью.

ABSTRACT. Experimental animals obtained iron and copper salts in different concentrations and a mixture of salts with drinking water for 3 months. At the end of the experiment rats' hair from the caudal spinal area and parametrial and paraovarial adipose tissue samples were obtained. It has been shown that hair iron cumulation seems to be dose-dependent, while copper content in hair changed diversely. It is estimated that adipose tissue metal content does not correlates with hair content. A marked increase in adipose tissue metal content was observed in the case of iron. At the same time, iron cumulation in adipose

tissue was not dose-dependent. Adipose tissue copper content did not differ significantly between all experimental groups of animals and was characterized by low variability.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время ожирение является глобальной биомедицинской проблемой. Согласно сообщению съезда ВОЗ 1997 г., ожирение определяется как глобальная пандемия, затрагивающая более 1 млрд человек по всему миру (James, 2008). Так, в США доля лиц с ожирением или избыточным весом – 64% (по данным 2000 г.), а годовые затраты на лечение ожирения и ассоциированных клинических состояний составляют 75 млрд долларов в год (Finkelstein, et. al., 2004). В России на начало XXI столетия доля лиц с ожирением составляла 30%, в то время как доля лиц с избыточным весом – более 25% (Бутрова, 2000). В связи с широкой распространенностью ожирения значительно интенсифицировались исследования в области физиологии и патологии жировой ткани. В последнее время жировая ткань рассматривается как эндокринная ткань, секретирующая более 100 гормонов и медиаторов, многие из которых обладают системным действием (Kershaw, et al., 2004). Нарушение гормональной регуляции метаболизма жировой ткани в настоящее время рассматривается как основа патогенеза ожирения (Maury, Brichard, 2010). Наряду с изменением взглядов на патогенез ожирения, также в некоторой степени были пересмотрены взгляды на его этиологию. В последние десятилетия установлена огромная роль значительного количества внеш-

* Адрес для переписки:
Тиньков Алексей Алексеевич
E-mail: tinkov.a.a@gmail.com

них химических факторов в развитии избыточного веса и ожирения (Baillie-Hamilton, 2002). В связи с этим существует потребность изучения способности химических веществ избирательно накапливаться в жировой ткани с последующей реализацией их адипогенного потенциала. Так, была показана кумуляция ряда органических липофильных соединений в жировой ткани (Mullerova, Кореску, 2007). В то же время данные, указывающие на способность неорганических соединений накапливаться в жировой ткани, крайне незначительны. Среди неорганических соединений, наиболее распространенных в окружающей среде, приоритетное значение имеет группа элементов, относящихся к металлам с переменной валентностью. Учитывая данные, указывающие на возможный адипогенный потенциал железа и меди (Sinnott-Smith, Woolliams, 1987; Tajima, et al., 2012), целью нашего исследования явилось определение способности этих элементов избирательно кумулироваться в жировой ткани при их пероральном введении.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на 36 крысах-самках линии Wistar в соответствии с «Правилами проведения работ и использования экспериментальных животных». Все животные были разделены на 6 групп, по 6 особей в каждой. Животные всех групп, за исключением контрольной, в течение трех месяцев получали с питьевой водой соли Fe^{2+} и Cu^{2+} , в концентрации, превышающей гигиенические нормативы (ГН 2.1.5.1315-03) в 2 и 4 раза. Крысы I группы (контроль) получали питьевую воду высшей категории с общей минерализацией < 250 мг/л, II и III групп – питьевую воду, содержащую $FeSO_4 \cdot 12H_2O$ в концентрациях 3 и 6 мг/л соответственно, IV и V групп – питьевую воду, содержащую $CuSO_4$ в концентрациях равных 4,88 и 9,76 мг/л соответственно, VI группы – питьевую воду, содержащую комбинацию используемых солей Fe^{2+} и Cu^{2+} в концентрациях 3 и 4,88 мг/л соответственно. С целью моделирования реальных условий водопотребления, крысы имели неограниченный доступ к питьевой воде и корму. В качестве корма использовался комбикорм (ЗАО «Оренбургский комбикормовый завод»).

Оценка содержания железа и меди в организме производилась на основании определения концентрации металлов в шерсти. Также определяли концентрацию данных элементов в жировой ткани животных. Для анализа забирались образцы жировой ткани параметрия и параовариума. Концентрацию Fe^{2+} и Cu^{2+} выявляли методами атомно-эмиссионной и масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой на спектрометрах Optima 2000 DV («Perkin-Elmer», США) и Elan 9000 («Perkin-Elmer», США). Содержание металлов в образцах биоматериала выражалось в микрограммах на грамм веса ткани.

Статистическая обработка полученных данных производилась на основании вычисления средних значений (X), медианы (M), среднеквадратического отклонения (SD). Сравнение групп исследования производилось с использованием критерия U-критерия Манна–Уитни. Наличие корреляционной связи между признаками рассчитывали с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как видно из данных, представленных в табл. 1, употребление питьевой воды, содержащей соли железа и меди, приводило к изменению концентрации данных металлов в образцах шерсти экспериментальных животных, что свидетельствует об изменении системного содержания данных металлов. Употребление питьевой воды, содержащей сульфат железа в концентрации 3 и 6 мг/л, приводило к увеличению средней концентрации железа в шерсти животных на 13 и 18% соответственно. В то же время употребление питьевой воды, содержащей сульфаты железа и меди в концентрациях 3 и 4,88 мг/л, увеличивало среднее содержание железа в шерсти на 10%, что также сопровождалось увеличением медианы. Употребление 9,76 мг/л сульфата меди с питьевой водой приводило к достоверному увеличению концентрации меди в шерсти на 12%. При этом употребление меньшей концентрации меди (4,88 мг/л) достоверно изменяло содержание данного металла в шерсти животных. Увеличение содержания меди в шерсти было выявлено у животных, получающих с питьевой водой комбинацию солей железа и меди в исследуемых концентрациях. Увеличение, составляющее 16% по сравнению с контрольными значениями, было наибольшим среди всех экспериментальных групп.

В табл. 2 приведены данные, указывающие на влияние потребления солей железа и меди с питьевой водой на содержание данных металлов в жировой ткани. Наиболее выраженное влияние состава питьевой воды на содержание металлов в жировой ткани было выявлено в отношении железа. Так, значимое увеличение содержания Fe в жировой ткани (55%) отмечалось у животных, употребляющих питьевую воду, содержащую максимальную исследуемую концентрацию железа (6 мг/л). Употребление питьевой воды, содержащей сульфат железа в концентрации 3 мг/л, а также комбинацию сульфатов железа и меди, не приводило к достоверному изменению содержания Fe в жировой ткани, хотя и имелась тенденция к увеличению. Стоит также отметить, что тенденция к увеличению содержания Fe в жировой ткани отмечалась и среди животных, получающих с питьевой водой сульфаты меди. Из данных, представленных в табл. 2 видно, что употребление экспериментальными животными солей исследуемых металлов не приводило к

Таблица 1. Содержание железа и меди в шерсти экспериментальных животных, мкг/г

№	Металл (доза, мг/л)	Железо			Медь		
		М	SD	\bar{X}	М	SD	\bar{X}
1	Контроль	19,46	1,50	19,31	12,31	0,83	12,32
2	Fe ²⁺ (3)	21,83	1,09	21,83*	13,76	0,69	13,93
3	Fe ²⁺ (6)	21,39	3,83	22,93*	12,94	0,93	13,11
4	Cu ²⁺ (4,88)	19,56	0,44	19,79	13,10	1,42	13,54
5	Cu ²⁺ (9,76)	18,77	4,21	18,67	13,94	0,53	13,77*
6	Fe ²⁺ +Cu ²⁺ (3+4,88)	21,69	4,80	21,14	13,26	2,29	14,25*

Примечание: * – достоверность отличия от контроля ($p < 0,05$).

Таблица 2. Содержание железа и меди в жировой ткани экспериментальных животных, мкг/г

№	Металл (доза, мг/л)	Железо			Медь		
		М	SD	\bar{X}	М	SD	\bar{X}
1	Контроль	6,23	1,82	6,62	0,26	0,05	0,27
2	Fe ²⁺ (3)	7,00	1,22	7,63	0,20	0,06	0,23
3	Fe ²⁺ (6)	8,19	4,25	10,24*	0,30	0,03	0,28
4	Cu ²⁺ (4,88)	6,90	3,24	8,28	0,31	0,08	0,27
5	Cu ²⁺ (9,76)	7,79	1,94	8,75	0,22	0,05	0,24
6	Fe ²⁺ + Cu ²⁺ (3+4,88)	6,98	0,72	7,06	0,28	0,03	0,27

Примечание: * – достоверность отличия от контроля ($p < 0,05$).

сколько-нибудь значимым изменениям в содержании меди в жировой ткани. Более того, величина среднеквадратического отклонения в содержании меди в образцах жировой ткани свидетельствует о низкой вариабельности данного параметра.

С целью оценки взаимосвязи между содержанием железа и меди в шерсти и жировой ткани был проведен корреляционный анализ. Коэффициент корреляции между содержанием железа в шерсти экспериментальных животных и жировой ткани составил $-0,08$. В то же время коэффициент корреляции по меди составил $-0,10$. Таким образом, отсутствует корреляционная взаимосвязь между содержанием железа и меди в шерсти животных и жировой ткани.

Полученные данные подтверждают тот факт, что содержание микроэлементов в шерсти животных может являться критерием их поступления в организм (Панченко и др., 2004). Так, анализ шерсти животных свидетельствует о возможной дозозависимой аккумуляции железа в организме. В отношении меди, напротив, подобной закономерности выявлено не было. В случае комбинированного поступления отмечалось некоторое увеличение кумуляции металлов в шерсти. По-видимому,

подобный эффект может быть обусловлен взаимодействием ионов металлов в процессе всасывания в тонкой кишке. Несмотря на наличие значительного количества данных, указывающих на антагонизм ионов железа и меди в процессе всасывания (Aggedondo, et al., 2006), еще в начале XX в. было установлено, что медь является «антианемическим» веществом (Hart, et al., 1928). Это подтверждают и полученные позже данные, указывающие на увеличение всасывания железа при избыточном поступлении меди (Han, Wessling-Resnick, 2002).

В отличие от содержания железа в шерсти животных, кумуляция в жировой ткани не являлась дозозависимой. Что касается меди, употребление металлов в указанных дозах не оказывало влияния на содержание Cu в жировой ткани. Таким образом, концентрация меди в образцах параметрия животных всех исследуемых групп оставалась стабильной. Отсутствие изменения содержания меди в жировой ткани, по всей видимости, обусловлено отсутствием специфической функции ионов меди в жировой ткани, либо активация метаболических путей с участием меди не может быть вызвана ее экзогенным поступлением. Изменение содержания железа в образцах жировой

ткани достаточно выражено и, судя по величине среднеквадратического отклонения, достаточно вариабельно. Подобная ситуация свидетельствует о том, что железо и динамика его содержания играют значимую роль в физиологии жировой ткани. Увеличение содержания железа в образцах параметрия может являться с одной стороны, следствием неангиогенеза, с другой стороны, следствием увеличения содержания в жировой ткани макрофагов. Последнее имеет место при развитии ожирения, которое сопровождается хроническим воспалением жировой ткани (Weisberg, et al., 2003) с привлечением макрофагов (Wellen, Hotamisligil, 2003), содержащих значительное количество железа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данные, полученные в ходе исследования, позволяют предположить, что железо вследствие кумуляции реализует свое влияние на метаболизм жировой ткани на местном уровне. В то же время медь, также обладающая влиянием на обменные процессы в жировой ткани, скорее всего, реализует свои эффекты на более высоких уровнях системы регуляции веса и аппетита. Это предположение подтверждается данными, указывающими на способность ионов меди стимулировать экспрессию нейропептида Y в гипоталамусе (Maury, Brichard, 2010). Таким образом, стоит отметить, что для выявления механизмов воздействия тех или иных соединений на метаболизм жировой ткани, необходимо в первую очередь определение возможности прямого воздействия вещества на адипоциты посредством аккумуляции.

ЛИТЕРАТУРА

Бутрова С.А. Ожирение. Современная тактика ведения больных // Леч. врач. 2000. № 5–6. P. 30–33.

Панченко Л.Ф., Маев И.В., Гуревич К.Г. Клиническая биохимия микроэлементов. М. 2004. 368 с.

Arredondo M., Martinez R., Nunez M.T., Ruz M., Olivares M. Inhibition of iron and copper uptake by iron, copper and zinc // Biol. Res. 2006. № 39. P. 95–102.

Baillie-Hamilton P.F. Chemical toxins: a hypothesis to explain the global obesity epidemic // J. Altern. Complement. Med. 2002. № 8(2). P. 185–192.

Finkelstein E.A., Fiebelkorn I.C., Wang G. State-level estimates of annual medical expenditures attributable to obesity // *Obes. Res.* 2004. № 12(1). P. 18–24.

Han O., Wessling-Resnick M. Copper repletion enhances apical iron uptake and transepithelial iron transport by Caco-2 cells // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2002. № 282. P. 527–533.

Hart E.B., Steenbock H., Waddell J., Elvehjem C.A. Iron in nutrition. VII. Copper as a supplement to iron for hemoglobin building in the rat // *Journal of Biological Chemistry.* 1928. № 77. P. 797–812.

James W.P. WHO recognition of the global obesity epidemic // *Int. J. Obes. (London).* 2008. № 32. P. 120–126.

Kershaw E.E., Flier J.S. Adipose tissue as an endocrine organ // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004. № 89(6). P. 2548–2556.

Li J., Yan L., Zheng X., Liu G., Zhang N., Wang Z. Effect of high dietary copper on weight gain and neuropeptide Y level in the hypothalamus of pigs // *J. Trace Elem. Med. Biol.* 2008. № 22. P. 33–38.

Maury E., Brichard S.M. Adipokine dysregulation, adipose tissue inflammation and metabolic syndrome // *Mol. Cell. Endocrinol.* 2010. № 314(1). P. 1–16.

Mullerova D., Kopecky J. White adipose tissue: storage and effector site for environmental pollutants // *Physiol. Res.* 2007. № 56. P. 375–381.

Sinnott-Smith P.A., Woolliams J.A. Adipose tissue metabolism and cell size: variation between subcutaneous sites and the effect of copper supplementation // *Animal Production.* 1987. № 45(1). P. 75–80.

Tajima S., Ikeda Y., Sawada K., Yamano N., Horinouchi Y., Kihira Y., Ishizawa K., Izawa-Ishizawa Y., Kawazoe K., Tomita S., Minakuchi K., Tsuchiya K., Tamaki T. Iron reduction by deferoxamine leads to amelioration of adiposity via the regulation of oxidative stress and inflammation in obese and type 2 diabetes KKAY mice // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2012. № 302. P. 77–86.

Weisberg S.P., McCann D., Desai M., Rosenbaum M., Leibel R.L., Ferrante A.W. (Jr.) Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue // *J. Clin. Invest.* 2003. № 112(12). P. 1796–1808.

Wellen K.E., Hotamisligil G.S. Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue // *J. Clin. Invest.* 2003. № 112(12). P. 1785–1788.