



Фармакологические модели перегрузки печени железом

Богачева Т.Е.¹, Торшин И.Ю.², Громова О.А.², Гришина Т.Р.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ивановская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Шереметевский пр-т, д. 8, Иваново 153012, Россия)

² Федеральный исследовательский центр «Информатика и управление» Российской академии наук, (ул. Вавилова, 4, Москва, 211933, Россия)

Для цитирования: Богачева Т.Е., Торшин И.Ю., Громова О.А., Гришина Т.Р. Фармакологические модели перегрузки печени железом. 2023; 218(10): 221–228. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-218-10-221-228

✉ Для переписки:

Богачёва Татьяна

Евгеньевна

tatiana.boga4iova@

yandex.ru

unesco.gromova@

gmail.com

Торшин Иван Юрьевич, к.ф.-м.н., к.х.н., с.н.с.

Громова Ольга Алексеевна, д-р мед. наук, проф., в.н.с., научный руководитель Института Фармакоинформатики

Богачева Татьяна Евгеньевна, к.м.н., доцент кафедры фармакологии

Гришина Татьяна Романовна, д-р мед. наук, профессор, заведующая кафедры фармакологии

Резюме

Отложения железа в тканях (гемосидероз) сопровождается различными заболеваниями печени и поджелудочной железы. Перегрузка печени железом возникает вследствие (1) диеты с избытком насыщенных жиров, провоцирующих воспаление печени, (2) замедление и застой кровотока в области портальной вены (гиподинамия, ожирение, алкоголизм и др.), (3) бесконтрольный и длительный прием препаратов железа (прежде всего, на основе неорганических форм — сульфатов, оксидов, гидроксидов железа и др.), (4) наследственные заболевания (гемохроматоз). Пациенты с перегрузкой печени железом нуждаются не только в коррекции диеты и образа жизни (в т.ч. двигательной активности), но и в специальной терапии с использованием эффективных и безопасных препаратов. Для изучения влияния избытка железа на организм и поиска наиболее приемлемой терапии гемосидероза в фармакологии разработаны особые модели перегрузки печени железом. Степень перегрузки железом и скорость формирования гемосидероза в моделях могут быть замедлены посредством добавления микронутриентов с гепатопротекторными свойствами (витамины А, С) и ускорены посредством добавления в диету насыщенных жиров и/или фруктозы.

Ключевые слова: перегрузка железом, модель, окислительный стресс, гепатотоксичность

EDN: IZAWFO



<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-218-10-221-228>

Pharmacological models of liver iron overload

A. Yu. Baranovsky, N. A. Kruglova, E. Yu. Grigoreva

Saint-Petersburg State University, (7–9 Universitetskaya Embankment, St Petersburg, 199034, Russia)

T. E. Bogacheva¹, I. Yu. Torshin², T. R. Grishina¹, O. A. Gromova²

¹ Ivanovo State Medical Academy, (8, Sheremetevskiy Ave., Ivanovo 153012, Russia)

² Federal Research Center “Computer Science and Control”, Russian Academy of Sciences, (4, Vavilova St., Moscow 119333, Russia)

For citation: Baranovsky A. Yu., Kruglova N. A., Grigoreva E. Yu. Pharmacological models of liver iron overload. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2023; 218(10): 221–228. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-218-10-221-228

✉ **Corresponding author:**

Богачёва Татьяна Евгеньевна

tatiana.boga4iova@

yandex.ru

unesco.gromova@

gmail.com

Ivan Yu. Torshin, PhD in Applied Mathematics, Institute of Pharmacoinformatics, leading researcher of the Department of Intellectual Systems; *SPIN*: 1375–1114, *ORCID*: 0000–0002–2659–7998, *Researcher ID*: C-7683–2018

Olga A. Gromova, Professor, Doctor of Medical Sciences, Science Head of the Institute of Pharmacoinformatics, leading researcher of the Department of Intellectual Systems; *SPIN*: 6317–9833, *Scopus Author ID*: 7003589812, *ORCID*: 0000–0002–7663–710X, *Researcher ID*: J-4946–2017

Tatiana E. Bogacheva, PhD, Associate Professor of the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology; *ORCID*: 0000–0002–5042–4886

Tatyana R. Grishina, MD. Sciences, Professor, Head of the Department of Pharmacology

Summary

Iron deposits in tissues (hemosiderosis) accompany various diseases of the liver and pancreas. Overload of the liver with iron occurs due to (1) a diet with excess saturated fats, which provoke inflammation of the liver, (2) slowdown and stagnation of blood flow in the area of the portal vein (physical inactivity, obesity, alcoholism, etc), (3) uncontrolled and long-term use of iron supplements (primarily based on inorganic forms — sulfates, oxides, hydroxides of iron, etc.), (4) hereditary diseases (hemochromatosis). Patients with liver overload with iron require not only correction of diet and lifestyle (including physical activity), but also special therapy using effective and safe drugs. To study the effect of excess iron on the body and search for the most appropriate therapy for hemosiderosis, special models of liver overload with iron have been developed in pharmacology. The degree of iron overload and the rate of hemosiderosis formation in models can be slowed down by the addition of micronutrients with hepatoprotective properties (vitamins A, C) and accelerated by the addition of saturated fat and/or fructose to the diet.

Keywords: iron overload, model, oxidative stress, hepatotoxicity

Введение / Introduction

Железо — эссенциальный микроэлемент, необходимый для переноса кислорода (гемоглобин), ферментов клеточного дыхания и переноса электронов в митохондриях, дифференцировки клеток и многих других биологических процессов, связанных с окислительно-восстановительным балансом [1]. Регуляция метаболизма железа осуществляется посредством скоординированных механизмов с участием эритроцитов, моноцитов/макрофагов, энтероцитов, гепатоцитов и включает активности более 100 белков (гепсидин, ферропортин, трансферрин, ферритин и др.) [2].

Нарушения сложного механизма регуляции гомеостаза железа приводят к дефициту или, наоборот, к перегрузке тканей железом [3]. Перегрузка тканей железом инициирует окислительный стресс, образование активных форм кислорода (АФК), инсулинорезистентность, провоспалительные реакции,

сопровождающиеся окислением Fe^{2+} до Fe^{3+} и повреждениями клеток [4, 5]. Прооксидантные реакции активируют систему антиоксидантной защиты организма (ферменты супероксиддисмутазы, каталаза, глутатионпероксидазы и др., низкомолекулярные соединения глутатион, коэнзим Q10 и др.), нейтрализующей АФК. Тем не менее, активность системы антиоксидантной защиты не всегда достаточна для удаления АФК [6] и предотвращения перегрузки железом печени и других тканей.

Перегрузка печени железом может возникать и усугубляться на фоне диеты с избытком насыщенных жиров. В организме пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени (НАЖБП) циркулирующее железо и запасы железа, как правило, выше, чем в контрольной группе [7]. При этом гистологический анализ биопсий печени показал признаки гемосидероза в трети исследованных образцов [8].

Гемосидероз модифицирует экспрессию генов ферментов печени, участвующих в липидном обмене, повышая уровень холестерина в сыворотке крови и способствует прогрессированию НАЖБП до стадии стеатогепатита и фиброза [9]. Использование неорганических форм железа (сульфат и др.) быстрее приводит к формированию гемосидероза [10]. Парадоксально, но гемосидероз печени и почек может развиваться даже на фоне дефицита железа, характерного для железо — дефицитной анемии [11].

Гемосидероз — и биомаркер, и фактор старения. Гемосидероз различных органов (печени, поджелудочной железы, суставов, мозга), идентифицируемый неинвазивно посредством МРТ ассоциирован с ускоренным старением уже в среднем возрасте (35–50 лет). Нарушения обмена железа также сопровождают нейродегенеративные патологии, болезни суставов и лёгких (включая инфекцию COVID-19). Этим патологиям присуще, в той или иной мере, не просто избыточное накопление железа в клетках, а гемосидероз — т.е. буквальное «пропитывание» тканей гемосидерином, который состоит из мелко-дисперсных и нерастворимых в воде оксидов железа. Гемосидероз тканей стимулирует развитие хронического воспаления, вызывая гибель паренхиматозной ткани и замещению её фибротической [10].

С точки зрения фундаментальных основ химии, при заболеваниях, вызванных перегрузкой железом, удаление железа с помощью хелатной терапии железом крайне опасно. Во-первых, дело в том, что имеющиеся хелаторы крайне неспецифичны и связывают все ионы подряд, не только ионы железа. Поэтому, использование хелаторов провоцирует тяжёлые макро- и микроэлементные дефициты (что является фактором риска многочисленных патологий). Во-вторых, сами молекулы хелаторов стимулируют воспаление, усугубляют повреждения паренхимы и могут стимулировать коагуляцию крови [12]. В-третьих, хелатная терапия в принципе не может вывести гемосидерин из клеток и органов: ведь гемосидерин — конгломерат нерастворимых форм железа (прежде всего, оксидов), а хелаторы взаимодействуют только с ионами железа в растворе.

Для изучения влияния избытка железа на организм были воспроизведены некоторые фармакологические модели для перегрузки железом печени. Перегрузка пищи железом обычно применяется для воспроизведения моделей генетических дефектов (наследственный гемохроматоз) или для создания модели перегрузки железом на фоне НАЖБП. В настоящей работе рассмотрены различные экспериментальные модели перегрузки печени железом.

Модели перегрузки железом с использованием диет с высоким содержанием жиров и углеводов

Перегрузка печени железом может возникать и усугубляться на фоне диеты с избытком насыщенных жиров. В организме пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени (НАЖБП) циркулирующее железо и запасы железа, как правило, выше, чем в контрольной группе [7].

В эксперименте изучено влияние и потенциальные механизмы воздействия диеты с высоким содержанием жиров и железа на липидный обмен и повреждение печени у крыс с НАЖБП [13]. Самцы крыс линии «Sprague Dawley» на протяжении 20 недель содержались в течение 12-часового цикла света и темноты при температуре 21–23 °C и получали пищу и воду в неограниченном количестве. Крысы были случайным образом разделены на 3 группы:

- (НI) контрольную группу (кормили диетой с содержанием 10% калорий из жира (D12450H, Research Diets) с высоким содержанием железа (сульфат железа 10 г на килограмм рациона);
- (HF) группу животных, получающих диету с высоким содержанием жиров (HFD) — 45% калорий из жиров (на основе диеты D12451, содержащей свиное сало);
- (HFL) группа крыс с диетой HFD и сульфатом железа (5 г на килограмм рациона).

После воспроизведения моделей крыс обезболивали пентобарбиталом натрия и забирали секционный материал для биохимических исследований (уровни триглицеридов, общего холестерина, АЛТ и АСТ, ферритина, липидов печени, малонового диальдегида МДА, активность супероксиддисмутазы СОД), глутатионпероксидазы GSH-PX, каталазы САТ) и для патогистологических исследований на 8-й, 12-й и 20-й неделях соответственно. Масса

печени/масса тела $\times 100\%$ рассчитывали как печеночный индекс. Норма жира в организме рассчитывалась как процент белых жировых тканей к массе тела.

По сравнению с крысами, получавшими HFD, избыток сульфата железа (диета HFL) еще больше увеличивал накопление липидов в печени, уровней липидов, АСТ, АЛТ в сыворотке крови, и уровней экспрессии биомаркеров воспаления (CD36) и апоптоза (FAS) в гепатоцитах. Кроме того, перегрузка железом снижала активность антиоксидантных ферментов в печени по сравнению с крысами с HFD. При перегрузке железом также снижались уровни фермента CPT1 (карнитин-пальмитоилтрансфераза I, участвует в бета-окислении длинноцепочечных жирных кислот). Таким образом, HFD вызывает НАЖБП у крыс, а одновременная перегрузка сульфатом железа еще более усугубляет нарушения липидного обмена в печени [13].

В настоящее время актуальна проблема несбалансированности пищевого рациона людей, в котором растет доля **пальмового масла**, тяжёлую (твёрдую) фракцию которого включают в состав многих пищевых продуктов, от кондитерских изделий до молочной продукции. «Твёрдая» фракция пальмового масла отличается высоким содержанием пальмитиновой и олеиновой кислот, избыток которых приводит к образованию трипальмитинов, практически не поддающихся ферментативному гидролизу ферментами-липазами, что стимулирует развитие атеросклероза, ожирения, сахарного диабета 2-го типа.

В эксперименте на модели повреждения печени рафинированным пальмовым маслом у 48 крыс-самцов массой 200–300 г было доказано, что

диета с избыточным потреблением пальмового масла способствовала развитию стеатогепатоза, что характеризовалось развитием жировой дистрофии гепатоцитов с локализацией преимущественно в перипортальной зоне печёночной доли, умеренно выраженной мезенхимально-клеточной реакцией [14]. Данная модель может стать основой для разработки новых моделей перегрузки железом на фоне НАЖБП у крыс.

НАЖБП и перегрузка печени железом могут усугубляться на фоне **высокого потребления фруктозы**. Известно, что уровни железа, глюкозы и жировой обмен взаимосвязаны: распределение жира в организме влияет на статус железа, а запасы железа влияют на накопление жира и метаболизм углеводов в жировой ткани, печени и в мышцах [15]. Метаболизм фруктозы, поступившей с пищей, происходит главным образом в печени, что стимулирует

накопление внутрипеченочного жира, окислительный стресс и митохондриальную дисфункцию при избыточном потреблении фруктозы [16]. В эксперименте, высокое потребление фруктозы (25% и более от общей суточной калорийности рациона) тесно связано с развитием инсулинорезистентности и накоплением висцерального жира, которые лежат в основе формирования метаболического синдрома [17]. В клинике, пациенты с НАЖБП употребляют почти в 2 раза большее количество безалкогольных сладких напитков по сравнению со здоровыми [18]; установлена корреляция между потреблением сладких безалкогольных напитков и ожирением [19,20–22]. Поэтому, использование диеты, перегруженной фруктозой, также является перспективным направлением разработки моделей НАЖБП с перегрузкой железом.

Влияние различных форм железа на воспроизведение модели перегрузки железом

В работе [23] модель перегрузки железом воспроизводилась посредством применения *сульфата железа или железа в составе полимальтозного комплекса* путём зондирования в течение двух месяцев. Работа была проведена на 30 белых крысах массой 200–250 г, разделённых на несколько групп (по 6 особей в каждой группе):

Группа 1 — интактный контроль.

Группа 2 — вводили сульфат железа в виде сиропа в дозе 0,6 мл/кг (4,12 мг/кг железа) в желудок через зонд в течение 60 дней.

Группа 3 — вводили полимальтозат железа в виде сиропа в дозе 0,5 мл/кг (5 мг/кг железа) в желудок через зонд 60 дней.

После окончания эксперимента (день 120) крыс всех групп помещали на сутки в обменные клетки для определения выделительной функции почек. В крови определяли активность АЛТ, АСТ, билирубин, общий белок и креатинин, в моче — концентрацию белка (с помощью стандартных наборов). Производили забор печени, почек и головного мозга на гистологическое исследование. В патогистологической лаборатории наличие отложений железа в исследуемых тканях идентифицировали посредством реакции Перлса («берлинская лазурь»).

Биохимическое исследование крови выявило статистически значимое повышение активности АЛТ в группе крыс, получавших сульфат железа (82 ± 15 Ед/л, интактные — 53 ± 10 Ед/л), что свидетельствует о выраженном гепатотоксическом действии сульфата железа и повреждении гепатоцитов. Приём сульфата железа вызывал достоверное понижение уровней креатинина в крови (132 ± 11 мкмоль/л, интактные — 167 ± 8 мкмоль/л, $p = 0,00012$) и повышение уровней белка в моче (38 ± 31 мг/100 мл, интактные — 15 ± 10 мг/100 мл, $p = 0,051$).

Результаты гистологического исследования показали, что у интактных крыс в головном мозге и почках при проведении реакции Перлса образования берлинской лазури не наблюдалось. При гистологическом анализе эффектов воздействия сульфата железа в условиях полнокровия центральных вен

и синусоидов прецентральной зоны печёночных долек гепатоциты находились в состоянии умеренно выраженной гидропической (вакуольной) дистрофии. При исследовании с помощью реакции Перлса тканей головного мозга животных, получавших сульфат железа, в одном наблюдении выявлено очаговое образование берлинской лазури в субependимарном отделе (паравентрикулярной зоне) левого полушария. Реакция Перлса оказалась положительной и носила очаговый характер в пределах центров печёночных долек, где выявлялись мелкие гранулы берлинской лазури в цитоплазме отдельных гепатоцитов, большого мозга.

Исследование [23] показало сходные, но менее выраженные поражения печени при приёме полимальтозата железа. Патогистологическое исследование почек указало на железосодержащие включения в цитоплазме нефроцитов проксимальных извитых канальцев в виде мелкодисперсных гранул. По всей видимости, накопление этих гранул соответствовало частичным поражениям функции почек, т.к. приём полимальтозата железа был ассоциирован с повышением уровней белка в моче (31 ± 30 мг/100 мл, интактные — 15 ± 10 мг/100 мл, $p = 0,055$). Гистологический анализ тканей посредством реакции Перлса показал, что у крыс, получавших препарат полимальтозат железа, образования берлинской лазури в ткани головного мозга не наблюдалось. Патогистологические изменения печени у крыс этой группы характеризовались очаговой вакуольной дистрофией нефроцитов проксимальных извитых канальцев и, вероятно, поражениями функциями нефроцитов, на что указывает повышением уровней белка в моче (38 ± 31 мг/100 мл, интактные — 15 ± 10 мг/100 мл, $p = 0,051$).

Таким образом, длительный приём (в течение 2 месяцев) и сульфата железа, и полимальтозной формы железа в дозах, близких к максимальным, приводило к накоплению железа (вероятно, в виде гемосидериновых гранул) во всех исследованных тканях — печени, головном мозге, почках и к соответствующим биохимическим изменениям в крови.

В целом, сульфат железа был более гепатотоксичен, чем полимальтозный комплекс железа.

Модели перегрузки железом с использованием различных микронутриентов

Такие микронутриенты, как омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты (ω -3 ПНЖК), β -каротина, токоферолов, полифенолы и др. могут использоваться для регуляции степени поражения печени при перегрузке железом. Например, в работе [24] было изучено воздействие диеты с **маслом криля, богатым ω -3 ПНЖК**, на перегрузку железом печени и селезенки. Модель перегрузки железом воспроизводилась добавлением сульфата железа в питьевую воду на протяжении 8 недель. Восемнадцать животных были случайным образом разделены на 3 группы:

- (1) контрольная группа, крысы не получали никакого лекарственного средства и никаких жирных кислот;
- (2) животные получали железо (3 мг/л раствора Fe^{2+} , концентрация FeSO_4 8,3 мг/л) в питьевой воде в течение 8 недель. Затем в течение следующих 8 недель, животные этой группы ничего не получали.
- (3) третья группа, крысы получали железо (3 мг/л раствора Fe^{2+} раствора FeSO_4) в питьевой воде в течение 8 недель, затем им перорально вводили ω -3 ПНЖК (эйкозапентаеновая кислота, ЭПК и докозагексаеновая кислота, ДГК) в составе масла криля (40 мг/кг) в течение следующих 8 недель.

Степень поражения печени и селезенки оценивали с помощью биохимической, гистопатологической и иммуногистохимической оценок. Жирные кислоты — ЭПК и ДГК, этерифицированные до фосфолипидов, входящие в состав масла криля, эффективно улучшали биохимические и микроскопические характеристики печени и селезенки, вызванные перегрузкой железом. При добавлении в диету ω -3 ПНЖК отмечено снижение повышенных уровней АЛТ, АСТ, щелочной фосфатазы (ЩФ), лактат дегидрогеназы (ЛДГ), железа и ферритина, а также повышение уровня альбумина в сыворотке крови. Результаты работы позволяют предположить, что масло криля, содержащее ЭПК и ДГК, может быть новым компонентом для регуляции токсичности, вызванной перегрузкой железом [24].

Натуральные продукты со значительным содержанием **β -каротина, токоферолов и полифенолов** являются эффективными источниками экзогенных антиоксидантов в регулировании перегрузки железом и являются потенциальными кандидатами для разработки лекарственных средств растительного происхождения и/или функциональных продуктов питания. β -каротин регулирует метаболизм железа, а его противовоспалительное действие повышает экспрессию эритропоэтина и мобилизацию железа для эритропоэза [25,26].

Было проведено исследование по изучению эффектов **масла, извлеченного из мякоти плодов бурити (*Mauritia flexuosa*)**, содержащего β -каротин (787,05 мг/кг), α -токоферол (689,02 мг/кг) и мононенасыщенные жирные кислоты (91,30 г/100 г) [27]. Следует отметить, что бурити (мавриция извилистая) — пальмовое дерево, из плодов которого

получают оранжево-красноватое масло (соответствует «лёгкой» или «жидкой» фракции пальмового масла).

Крысы-самцы линии Вистар ($n=32$, 349 ± 15 г) содержались в клетках при температуре $22 \pm 1^\circ\text{C}$ в 12-часовом цикле свет/темнота (свет в 19:00) и при относительной влажности 50–55%. Крысы были рандомизированы и разделены на четыре группы:

- (1) контрольная группа, животные получали диету, содержащую соевое масло и ежедневный физиологический раствор через зонд (SC);
- (2) контрольная группа, животные получали диету, содержащую масло бурити и ежедневный физиологический раствор через зонд (BC);
- (3) группа крыс, получавшие диету, содержащую соевые бобы и получавшие высокую суточную пероральную дозу FeSO_4 (SFe);
- (4) группа крыс, получавшие диету, содержащую масло бурити и получавшие высокую суточную пероральную дозу FeSO_4 (BFe).

Перегрузка животных железом индуцировалась зондированием 2 мл FeSO_4 (60 мг/кг массы тела) [28], что соответствует примерно $1/5$ ЛД₅₀, полулетальной дозы FeSO_4 для крыс [29]. Диеты производились еженедельно и подавались крысам ежедневно *ad libitum* в течение 17 суток. На каждые 100 г рациона добавляли семь грамм масла (бурити или соевое). Каждую группу крыс кормили сбалансированными гранулированными кормами, приготовленными в соответствии с рекомендациями Американского института питания (AIN) [30].

Соматические и гематологические показатели, липиды сыворотки крови, супероксиддисмутаза (СОД) и глутатионпероксидаза (GPx), уровни сывороточных аминотрансфераз (АЛТ и АСТ), определяли через 17 суток перегрузки железом. Крыс обезболивали через 24 ч после последнего лечения путем внутривентрального введения 1 мл кетамина гидрохлорида (75 мг/кг массы тела) в сочетании с 1 мл ксилазина гидрохлорида (5 мг/кг массы тела), подвергали лапаротомии и усыпляли путем пункции левого желудочка. Образцы крови собирали путем пункции сердца у каждого животного для определения гемоглобина, гематокрита, эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, моноцитов, лейкоцитов и гранулоцитов с использованием счетчика клеток (ABX micro 60, Токио, Япония).

Результаты показывают, что перегрузка железом вызывала негативное окислительное воздействие на липидный обмен, повышая уровни триглицеридов и ЛПОНП в группах SFe и BFe, что было связано со снижением механизмов антиоксидантной защиты, в основном печеночных и сывороточных антиоксидантных ферментов (СОД и GPx). BFe показал снижение липопротеидов низкой плотности (38%) и гемоглобина (8%); повышение моноцитов (51%), активности СОД в сыворотке крови (87%) и печени (645%), печеночной GPx (1017%) по сравнению с SFe. Перегрузка железом вызывала увеличение концентраций АЛТ и АСТ в группах SFe и BFe по сравнению с группами SC и BC соответственно. Было доказано, что потребление масла бурити снижало уровни обеих аминотрансфераз у крыс, по сравнению с животными в группе SFe [27].

О роли оксидативного стресса при создании моделей перегрузки железом при НАЖБП

Перегрузка железом увеличивает образование АФК, что приводит к инициации перекисного окисления липидов, окислению белков и фиброзу печени. В цитируемом выше исследовании с маслом бури-ти, содержащим значительные количества природных антиоксидантов β -каротина и α -токоферола, было показано, что перегрузка железом снижала активность механизмов антиоксидантной защиты (в частности, антиоксидантных ферментов СОД и GPx) [27]. Регулировка уровня антиоксидантного стресса является еще одним важным направлением при разработке моделей перегрузки печени железом: повышение содержания FeSO_4 в диете/воде увеличивает окислительное повреждение печени, а повышение содержания антиоксидантов, наоборот, снижает железо-опосредованное перекисное окисление липидов [31,32].

Регуляция уровня оксидантного стресса при воспроизведении моделей НАЖБП в сочетании с перегрузкой железом может осуществляться с использованием антиоксидантов: полифенолов, биофлавоноидов, витамина С и др. В частности, **гесперидин** (3,5,7-тригидроксифлаванон-7-рамноглокозид) — **полифенол-биофлавоноид**, содержащийся в цитрусовых фруктах, обладающий хорошими свойствами по удалению свободных радикалов, а также свойствами против перекисного окисления липидов в биологических мембранах [33]. Гесперидин характеризуется восстанавливающей способностью, хелатирующей активностью в отношении ионов Fe^{2+} , активностью по удалению радикалов водорода и перекиси водорода [34].

Защитная роль гесперицина против индуцированного сульфатом железа повреждения печени и почек была изучена в работе [35]. Взрослых самцов белых крыс линии Wistar (200–220 г) помещали в полипропиленовые клетки и содержали при 12-часовом освещении/12-часовой цикл затемнения, влажность 50% и $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Животные имели свободный доступ к стандартному гранулированному рациону (M/S. Pranav Agro Indus Tries Ltd., Бангалор, Индия) и воде в неограниченном количестве. Животные были случайным образом распределены на шесть групп по шесть крыс в каждой:

Группа I: контроль (изотонический физиологический раствор вводили внутривенно).

Группа II: животным перорально вводили только гесперидин (80 мг/кг массы тела).

III группа: животные получали сульфат железа (30 мг/кг массы тела). Сульфат железа растворяли

в изотоническом физиологическом растворе и вводили внутривенно (внутривенно).

IV–VI группы: животные получали сульфат железа (30 мг/кг массы тела) после перорального введения гесперицина (20, 40, 80 мг/кг массы тела) в течение 10 дней. Порошок гесперицина растворяли в 0,1% карбоксиметилцеллюлозе и каждая крыса получала ежедневно по 1 мл в дозе 20, 40 и 80 мг/кг массы тела перорально через внутрижелудочный зонд в течение всего периода эксперимента (10 дней).

В конце экспериментального периода животных в разных группах анестезировали кетамин (28 мг/кг массы тела, внутримышечно) и умерщвляли путем декапитации. Образцы крови были взяты без гепарина для разделения сыворотки. Оценивали активность АСТ, АЛТ, ЩФ, лактатдегидрогеназы, гамма-глутамилтрансферазы, уровень сывороточного билирубина, гемоглобина, общего холестерина, триглицеридов и свободных жирных кислот в сыворотке крови, мочевины, креатинина и железа, антиоксидантных ферментов (СОД, каталазы, глутатионпероксидазы, глутатион-S-трансферазы), витамина С, витамина Е (токоферол), восстановленного глутатиона. Проводилось гистологическое наблюдение (образцы печени и почек).

При введении железа (30 мг/кг массы тела) внутривенно в течение 10 дней достоверно повышались уровни сывороточных печеночных маркеров, функциональных маркеров почек, липидного профиля, маркеров перекисного окисления липидов и концентрации железа в крови ($p < 0,05$). На токсическое действие железа указывало также достоверно снижение уровня ферментативных и неферментативных антиоксидантов в плазме, печени и почках. Введение гесперицина в различных дозах (20, 40 и 80 мг/кг массы тела) достоверно обращало вспять уровни сывороточных печеночных маркеров, функциональных маркеров почек, липидного профиля, маркеров перекисного окисления липидов, восстанавливало уровни печеночных, почечных ферментативных антиоксидантов и неферментативных антиоксидантов при снижении концентрации железа в крови. Гесперидин в дозе 80 мг/кг массы тела оказывает значительное влияние на печень и почки по сравнению с двумя другими дозами (20 и 40 мг/кг массы тела). Все эти изменения были подтверждены гистологическими наблюдениями печени и почек. Это исследование продемонстрировало защитную роль гесперицина в снижении токсических эффектов окислительного повреждения печени и почек, вызванного сульфатом железа у крыс.

Заключение

Совершенствование процесса профилактики и лечения различных патологических состояний и повышение качества жизни пациентов достигается за счет использования экспериментальных моделей. Экспериментальные исследования позволяют заранее спрогнозировать тенденцию развития патологического состояния, выяснить условия ее

существования и определить препараты, позволяющие корректировать эти состояния. Перегрузка железом часто возникает в случае приема железосодержащих добавок — прежде всего, на основе сульфата железа.

Для изучения влияния избытка железа на организм были воспроизведены некоторые фармакологические

модели для перегрузки железом печени. В описанных экспериментальных моделях было показано, что перегрузка железом, вызванная добавлением в диету сульфата железа, усугубляла нарушения липидного обмена и повреждения печени (стимулируя усиление хронического воспаления, инсулинрезистентности, гиперферритинемии и ферроптоза гепатоцитов, усиливая профибротические процессы в печени) у крыс с НАЖБП, вызванной диетой с высоким содержанием жиров. Так же, длительное применение препаратов железа внутрь (сульфата железа, полимальтозного комплекса железа) в дозах, близких

к максимальным терапевтическим, вызывало выраженную гепатотоксичность с повреждением гепатоцитов и хроническую перегрузку железом.

Кроме того, в приведенных моделях перегрузки железом мы видим положительные результаты поиска препаратов и веществ, которые могут снижать токсичность воздействия сульфата железа и др. на печень и почки. Принимая во внимание отсутствие специальных препаратов для элиминации отложений железа в печени и в других тканях, поиск и апробация таких препаратов является насущной проблемой терапии НАЖБП.

Литература | References

- Hirota K. Close relationship between iron homeostasis and oxygen metabolism, regulated by hypoxia-induced factors (HIFs). *Free Radic Biol Med*. 2019 Mar;133:118–129. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.07.018.
- Cornelissen A., Guo L., Sakamoto A., Virmani R., Finn A. V. New views on the role of iron in inflammation and atherosclerosis. *EBioMedicine*. 2019 September; 47:598–606. doi: 10.1016/j.ebiom.2019.08.014.
- Yannikuridis, A.; Brass-Dada, G.O. A brief overview of iron metabolism and the pathophysiology of iron disorders. *Medicines*. 2019, 6, 85.
- Zhuo Z., Fan S., Hu K., Huang D., Feng D. Analysis of digital profiling of duodenal transcriptome gene expression in SD rats injected with iron sulfate or iron glycine chelate through a probe. *Sci Rep*. 2016 Nov 30;6:37923. doi: 10.1038/srep37923.
- Mancardi D., Mezzanotte M., Arrigo E., Barinotti A., Rotto A. Iron overload, oxidative stress and ferroptosis in heart failure and liver. *Antioxidants (Basel)*. 2021 Nov 24; 10(12):1864. doi: 10.3390/antiox10121864.
- Imam M.U., Zhang S., Ma J., Wang H., Wang F. Antioxidants mediate both iron homeostasis and oxidative stress. *Nutrients*. 2017 June 28; 9(7):671. doi: 10.3390/nu9070671.
- Corradini E., Buzzetti E., Dongiovanni, et al. Variants of the ceruloplasmin gene are associated with hyperferritinemia and increased iron levels in the liver in patients with NAFLD. *J Hepatol*. 2021 September; 75(3):506–513. doi: 10.1016/j.jhep.2021.03.014.
- Hayashi T., Saito S., Takahashi J., Tsuji Y., Ikeda K., Kobayashi M. Quantitative determination of liver fat using the two-point Dixon method and color maps of fat based on the assessment of the activity of non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatol Res*. (2017) 47:455–64. doi: 10.1111/hepr.12767.
- Hussien, A.-M.A.; Hussein, M.A.; Maged, A.D.A.E.; Abdel-Baki A. M. Cranberry extract as a functional food product in the treatment of oxidative stress in iron-induced liver toxicity in rats. *J. Toxicol*. 2015, 6, 1000191.
- Torshin I. Yu., Gromova O. A. 25 MOMENTS OF MOLECULAR PHARMACOLOGY on the development of clinical and pharmacological thinking. Ivanovo, A-Grif, 2012, 684 p. (in Russ.)
Торшин И. Ю., Громова О. А. 25 МОМЕНТОВ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ФАРМАКОЛОГИИ о развитии клинико-фармакологического мышления / Иванова, А-Гриф, 2012, ISBN: 978–5–900994–32–1, 684 с.
- Madhusudhan K.S., Oberoi R. Deposition of iron in the kidneys in aplastic anemia: results of magnetic resonance imaging. *Indian J*. 2011 Apr; 21(2):134–5. doi: 10.4103/0971-4065.82145.
- Badria F.A., Ibrahim A. S., Badria A. F., Elmarakbi A. A. Curcumin weakens iron accumulation and oxidative stress in the liver and spleen in chronically iron-overloaded rats. *PLoS One*. July 31, 2015; 10(7): E0134156. doi: 10.1371/journal.pone.0134156.
- Zhang L., Dai S., Wang L., Cai J., Shen J., Shen I., Li S., Zhao Yu. Iron overload accelerates lipid metabolism disorders and liver damage in rats with non-alcoholic fatty liver disease. *Front Interior*. 2022 Oct 11;9:961892. doi: 10.3389/fnut.2022.961892.
- Bogacheva T. E., Kalacheva A. G., Gromova O. A., Torshin I. Yu., Grishina T. R., Demidov V. I. Study of the effectiveness of the drug Laennec for liver damage by palm oil in rats. *Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2023. (in Russ.) (in print)
Богачева Т. Е., Калачева А. Г., Громова О. А., Торшин И. Ю., Гришина Т. Р., Демидов В. И. Изучение эффективности препарата Лаеннек при повреждении печени пальмовым маслом у крыс. Фармакокинетика и фармакодинамика. — 2023. (в печати)
- Hilton S., Sabaratnam R., Drakesmith H., Karpe F. Metabolism of iron, glucose and fats and obesity: the relationship. *Int J Obes (London)*. 2023 Jul; 47(7):554–563. doi: 10.1038/s41366-023-01299-0.
- Jensen T., Abdelmalek M. F., Sullivan S. et al. Fructose and sugar: the main mediators of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2018 May; 68(5):1063–1075. doi: 10.1016/j.jhep.2018.01.019.
- Ma J., Sloan M., Fox K. S., Hoffmann W., Smith S. E., Salzman E., Rogers G. T., Jacques F., McCown N. M. Consumption of sugar-sweetened beverages is associated with the breakdown of abdominal fat in healthy adults. *J Nutr*. 2014 August; 144(8):1283–90. doi: 10.3945/jn.113.188599.
- Di Stefano J. K. Fructose-mediated effect on gene expression and epigenetic mechanisms associated with the pathogenesis of NAFLD. *Cell Mol Life Sci*. 2020 June; 77(11):2079–2090. doi: 10.1007/s00018-019-03390-0.
- Vos M. B., Lavin J. E. Dietary fructose in non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. June 2013; 57(6):2525–31. doi: 10.1002/hep.26299.
- Kanerva N., Sandboge S., Kaartinen N. E., Mianniste S., Eriksson J. G. Higher consumption of fructose is inversely proportional to the risk of non-alcoholic fatty liver disease in elderly Finns 1–4 years. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2014;100:1133–1141. doi: 10.3945/ajcn.114.086074.
- Ma, J., Fox, K.S., Jacques, F., Speliotes, E.K., Hoffmann, W., Smith, S.E., Saltzman, E., McKeown, N. M. Sugar-rage, diet, and fatty liver disease in the cohorts of the Framingham

- Heart Study. *Hepatology Journal*. 2015; 63(2):462–469. doi: 10.1016/j.jhep.2015.03.032
22. Sheptulina AF, Golubeva YuA, Drapkina OM. Fructose consumption as a risk factor for metabolic syndrome and nonalcoholic fatty liver disease. *Russian Journal of Evidence-Based Gastroenterology*. 2023;12(1):85–92. (In Russ.) doi: 10.17116/dokgastro20231201185.
Шептулина А. Ф., Голубева Ю. А., Драпкина О. М. Фруктоза и ее влияние на обмен веществ и риск развития неалкогольной жировой болезни печени. Доказательная гастроэнтерология. 2023;12(1):85–92. doi: 10.17116/dokgastro20231201185.
 23. Gromova O. A., Torshin I. Yu., Demidov V. I., Zhidomarov N. Yu., Kalacheva A. G., Bogacheva T. E., Grishina T. R. Experimental medicinal hepatitis. Hepatoprotective effects of the drug Laennec in models of toxic liver injury with paracetamol or alcohol. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2022;199(3): 86–92. (In Russ.) doi: 10.31146/1682-8658-ecg-199-3-86-92.
Громова О. А., Торшин И. Ю., Демидов В. И., Жидомаров Н. Ю., Калачева А. Г., Богачева Т. Е., Гришина Т. Р. Экспериментальный лекарственный гепатит. Гепатопротекторные эффекты препарата Лаеннек на моделях токсического поражения печени парацетамолом или алкоголем. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2022;199(3): 86–92. doi: 10.31146/1682-8658-экт-199-3-86-92.
 24. Manar G. Helal, Dahlia H. El Kashef. Krill oil relieves oxidative stress, iron accumulation and fibrosis in the liver and spleen of rats with iron overload. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2020 Feb;27(4):3950–3961. doi: 10.1007/s11356-019-06983-1.
 25. da Cunha MSB, Campos Hankins N. A., Arruda S. F. The effect of vitamin A supplements on iron levels in humans: a systematic review and meta-analysis. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2019; 59(11):1767–1781. doi: 10.1080/10408398.2018.1427552.
 26. Fu S., Wu D., Jiang V., Li J., Long J., Jia S., Zhou T. Molecular biomarkers in drug-induced liver damage: problems and prospects for the future. *Front Pharmacol*. 2020 Jan 30;10:1667. doi: 10.3389/fphar.2019.01667.
 27. Hazra B., Sarkar R., Mandal N. Bark extract of the stem of *Spondias pinnata* reduces iron overload of the liver due to hemosiderosis in Swiss albino mice. *Ann Hepatol*. 2013 January-February; 12(1):123–9. PMID: 23293203.
 28. Pari L., Kartikeyan A., Kartika., Ratinam A. Protective effects of hesperidin on oxidative stress, dyslipidemia and histological changes in iron-induced hepatic and renal toxicity in rats. *Toxicol Rep*. 2014 Nov 7;2:46–55. doi: 10.1016/j.toxrep.2014.11.003.
 29. Iron sulfate CASRN: 7720–78–7. Available online: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/24393#section=Non-Human-Toxicity-Values> (accessed June 5, 2019).
 30. Reeves G., Nielsen F. H., Fahey G. K. Jr. Purified rations AIN-93 for laboratory rodents: the final report of the American Institute of Nutrition special committee on the modification of the composition of the diet of rodents AIN-76A. *J Nutr*. 1993, November; 123(11):1939–51. doi: 10.1093/jn/123.11.1939.
 31. Arai H. Oxidative modification of lipoproteins. in modification of biomolecules based on lipid hydroperoxide; Kato, Y., Ed.; Springer: Dordrecht, Netherlands, 2014; pp. 103–114.
 32. Katsaru A., Pantopoulos K. Fundamentals and principles of cellular and systemic iron homeostasis. *Mol Aspects Med*. 2020 Oct;75:100866. doi: 10.1016/j.mam.2020.100866.
 33. Suarez H., Herrera M. D., Maruenda E. In vitro absorber and antioxidant properties of hesperidin and neohesperidin dihydrochalcone. *Phytomedicine*. 1998 dec.; 5(6):469–73. doi: 10.1016/S0944-7113(98)80044-5.
 34. Hussein M., Othman S. Structure activity relationship of antioxidative property of hesperidin, *Int. J. Pharm. Dev*. 3 (2011) 19–29.
 35. Pari L., Kartikeyan A., Kartika., Ratinam A. Protective effects of hesperidin on oxidative stress, dyslipidemia and histological changes in iron-induced hepatic and renal toxicity in rats. *Toxicol Rep*. 2014 Nov 7;2:46–55. doi: 10.1016/j.toxrep.2014.11.003.