

## Синтез цитрата железа: влияние на показатели крови в моделях без дефицита железа

Патрик Куснир<sup>1</sup>, Дмитрий Булгин<sup>2</sup>, Шахбаз Байг<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup> Компания Synthesit Swiss SA, Плас де Лонжемаль 1, Женева, Швейцария

<sup>2</sup> REGENIUS, Центр регенеративной медицины, Загреб, Хорватия; science@synthesit.ch (P.K.)

<sup>3</sup> Независимый медицинский колледж, Университет медицинских наук, Хайабан-и-Джамия, Пенджаб, Пакистан; molmed1999@yahoo.com (Доктор медицинских наук), talha\_shahbaz557@yahoo.com (Доктор медицинских наук)

**Резюме:** Значение железа выходит за рамки лечения анемии и влияет на различные нарушения. Однако исследования диет, обогащенных железом, у здоровых людей ограничены. Оценить влияние цитрата железа Synthesit на биохимические и гематологические показатели, а также на массу тела у пожилых макак-резусов и его безопасность у мышей линии SHK. В экспериментальном исследовании участвовали мыши линии SHK и макаки-резус, получавшие цитрат железа Synthesit, при этом в течение 30 дней (14 мышей) и шести недель (8 макак) проводился мониторинг показателей крови, гистологии, гемопоэтических стволовых клеток и биохимии. Исследование показывает увеличение типов гемопоэтических клеток и индекса митоза, со значительным увеличением количества миелокариоцитов (32,4%), мегакариоцитов (в 3,7 раза), миелобластов (в 1,7 раза), мононуклеарных клеток (в 2,5 раза), эритробластов (в 4 раза) и ретикулоцитов (13,3%). У макак добавки сначала снизили количество эритроцитов, после чего наблюдалось восстановление, в то время как количество тромбоцитов сначала увеличилось, но после приема добавок снизилось. Анализ лейкоцитов показал различные реакции: снижение количества моноцитов и лимфоцитов, но увеличение процента нейтрофилов. Биохимический анализ показал улучшение показателей глюкозы (исходный уровень:  $4,36 \pm 0,32$  ммоль/л против  $3,30 \pm 1,06$  ммоль/л на 43-й день), холестерина (исходный уровень:  $4,563 \pm 0,799$  ммоль/л против  $2,84 \pm 0,88$  ммоль/л на 29-й день) и триглицеридов (исходный уровень:  $1,49 \pm 0,63$  ммоль/л против  $1,06$  ммоль/л на 29-й день) и уровня триглицеридов (исходный уровень:  $1,49 \pm 0,63$  ммоль/л по сравнению с 29-м днем:  $0,70 \pm 0,34$  ммоль/л). Новое исследование показывает влияние синтеза цитрата железа в моделях без дефицита железа на параметры крови, которые имеют метаболический потенциал. В заключение, добавки цитрата железа Synthesit® демонстрируют многообещающие эффекты на кроветворение и метаболические параметры в моделях на мышах и приматах.

**Ключевые слова:** холестерин, АСТ, гемопоэтические стволовые клетки, гемопоэз, прием цитрата железа.

### 1. Введение

Железо важно не только для лечения анемии, но и играет важную роль в нескольких функциях организма. Оно необходимо для различных белков и ферментов, участвующих в транспорте кислорода, клеточном дыхании, синтезе ДНК и регуляции генов [1]. Хотя добавки железа эффективны для лечения

анемии, прием чрезмерных доз, превышающих 45 мг в день, может привести к проблемам с пищеварением. Исследования показали, что до 60 % людей, принимающих

пероральные добавки железа, сообщают о побочных эффектах со стороны желудочно-кишечного тракта [2,3]. Было обнаружено, что заместительная терапия железом имеет ряд преимуществ. Она может помочь нормализовать концентрацию гемоглобина, восстановить работоспособность и облегчить усталость у людей с железодефицитной анемией [4,5].

Пищевые добавки являются различными источниками железа, обычно в форме солей железа (II) или железа (III). Например, обычно используются сульфат или глюконат железа (II) и цитрат или сульфат железа (III) [6]. Ионные формы железа (II) обычно обладают более высокой биодоступностью по сравнению с ионными формами железа (III) в солях [7]. Однако дозы железа, превышающие 45 мг/сутки, могут вызывать побочные эффекты со стороны желудочно-кишечного тракта, такие как запор, тошнота и диарея, что делает их непереносимыми для пациентов. С другой стороны, существуют альтернативные формы добавок железа, которые, как правило, лучше переносятся. К ним относятся полипептиды железа на основе гема, карбонильное железо, аминокислотные хелаты железа и полисахаридно-железные комплексы [8].

Биодоступность железа, важнейший аспект усвоения питательных веществ в организме, зависит от различных факторов и может быть повышена с помощью стратегических диетических мер. Было обнаружено, что аскорбиновая кислота, широко известная как витамин С, положительно влияет на усвоение негемового железа. Этот эффект зависит от дозы и наиболее выражен при одновременном употреблении обоих питательных веществ [9,10]. Также было установлено, что продукты животного происхождения, такие как говядина, курица, рыба, свинина и баранина, способствуют усвоению негемового железа из пищи [11]. Стандартное определение биодоступности питательных веществ в кишечнике относится к доле питательных веществ из потребляемой пищи, которые усваиваются и используются эритроцитами кишечника [12]. На биодоступность железа влияют несколько факторов, в том числе форма железа (гемовое и негемовое), пищевые ингибиторы, такие как кальций и фитаты, и усилители, такие как аскорбиновая кислота и белки. Различные типы продуктов питания демонстрируют разные скорости усвоения железа. Например, потребление субпродуктов может привести к скорости усвоения 25-30%, в то время как зеленые листовые овощи, зерновые и сушеные бобовые имеют скорость усвоения 7-9%, 4% и 2% соответственно. Исследования показывают, что взаимодействие между питательными веществами играет важную роль в усвоении железа из пищи, причем витамин С заметно улучшает усвоение железа. Кроме того, на биодоступность железа могут влиять методы переработки пищевых продуктов. Например, в случае хлеба было показано, что определенные методы ферментации, такие как микрокапсулирование железа, покрытого изолятом сывороточного белка и водным покрытием на основе крахмала, увеличивают клеточное усвоение до 73 % [10].

Было показано, что железодефицитная анемия оказывает пагубное влияние на когнитивное развитие детей, как указано в источниках [13]. И наоборот, чрезмерное накопление железа в организме может привести к нарушению функции костного мозга и дисфункции паренхиматозных органов, как показано в предыдущих исследованиях. Кроме того, было отмечено, что железодефицитная анемия у матери связана с повышенным риском низкой массы тела при рождении и преждевременных родов, как указано в источнике [14].

Дефицит железа является распространенной глобальной проблемой здравоохранения, которая часто приводит к анемии. Лечение с помощью заместительной терапии железом не только повышает уровень гемоглобина, но и влияет на другие показатели крови, в том числе на количество тромбоцитов. В некоторых случаях во время заместительной терапии железом наблюдалось снижение количества тромбоцитов, хотя эта тромбоцитопения обычно проходит самостоятельно [15]. Как недостаточный, так и избыточный уровень железа представляет значительный риск для здоровья. Дефицит железа может привести к остановке роста и анемии, а переизбыток железа, часто вызванный такими факторами, как частые переливания крови или чрезмерное всасывание в желудочно-кишечном тракте, может привести к повреждению тканей и дисфункции органов. Избыток железа вызывает окислительный стресс, генерируя вредные радикалы и вызывая повреждение тканей. Ферроптоз, форма гибели клеток, зависящая от

железа, включает в себя повреждение мембран, вызванное перекисным окислением липидов, и контролируемый некроз [16]. Перегрузка железом приводит к накоплению свободного железа в организме, превышающему связывающую способность трансферрина, и образованию «железа, не связанного с трансферрином», включая лабильное железо плазмы. LPI, будучи реактивным и способным связываться с другими молекулами, может проникать в клетки через потенциал-зависимые кальциевые каналы, особенно влияя на клетки сердечной мышцы. Связь между железом и сердечно-сосудистыми заболеваниями была широко изучена, хотя доказательства, подтверждающие эту связь, не являются однозначно убедительными из-за различий в маркерах железа, используемых в различных исследованиях. Роль железа в ССЗ остается предметом продолжающихся дискуссий [17]. Первоначально считавшаяся фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний, связь между железом и такими состояниями, как атеросклероз и ишемическая болезнь сердца, является сложной. Ранние гипотезы предполагали участие железа в окислении холестерина ЛПНП и способствовании образованию артериальных бляшек [18].

При оценке эффективности препаратов железа обычно уделяется приоритетное внимание мониторингу концентрации гемоглобина. Помимо гемоглобина, в процессе оценки часто учитываются такие вторичные показатели, как ферритин, ширина распределения эритроцитов, средний объем эритроцитов, растворимый рецептор трансферрина, общая железосвязывающая способность, сывороточное железо и насыщение трансферрина, как подчеркивается в источнике [19]. Недавние исследования выявили возможную связь между потреблением железа с пищей и развитием определенных заболеваний, таких как диабет 2 типа и повышение уровня холестерина. Например, проспективное когортное исследование показало, что потребление гемового железа, содержащегося в красном мясе, может увеличить риск развития диабета 2 типа [20]. Аналогичным образом, опрос, проведенный в Китае, показал, что потребление как гемового, так и негемового железа может потенциально повысить риск развития диабета 2 типа [21].

Кроме того, эксперименты, проведенные на крысах, показали, что диеты с низким содержанием железа приводят к улучшению липидного профиля и толерантности к глюкозе, что указывает на потенциальные преимущества для метаболизма [22]. С точки зрения решения проблемы дефицита железа, обогащенные железом продукты питания стали экономически эффективным методом дополнения рациона. Однако они сталкиваются с такими проблемами, как изменение вкуса. Пероральные добавки железа, такие как сульфат железа, широко используются, но могут вызывать дискомфорт в желудочно-кишечном тракте [23]. Пероральный прием добавок железа является распространенным способом доставки железа в организм благодаря своей доступности, удобству и независимости от внешних условий [24]. Таблетки сульфата железа, часто считающиеся архетипом пероральных добавок железа, просты в использовании и экономичны, что делает их вариантом первого поколения [25]. Новые альтернативы, такие как цитрат железа, разработаны для решения проблем с усвоением, но все же могут вызывать желудочно-кишечные реакции. Растет интерес к изучению потенциала низких концентраций железа в лечении метаболических нарушений [26]. Исследование направлено на оценку влияния цитрата железа Synthesit на биохимические и гематологические показатели, массу тела макак-резусов и на гемопоэтические стволовые клетки мышей. Это исследование направлено на понимание влияния добавки на показатели здоровья в этих моделях на животных, что может пролить свет на ее значение для здоровья человека.

### *1.1. Цели и задачи*

1. Оценить влияние цитрата железа Synthesit на биохимические и гематологические показатели у пожилых приматов макак-резусов.
2. Проанализировать изменения массы тела у подопытных животных после приема добавок цитрата железа Synthesit.
3. Исследовать безопасность и эффективность длительного перорального приема цитрата железа Synthesit у лабораторных мышей линии SHK.
4. Предоставить информацию о потенциальном влиянии добавок железа на здоровье человека.

## 2. Методология

### 2.1. Дизайн исследования

В данном исследовании использовался экспериментальный метод с участием животных моделей и *in vitro* анализов. Использовались две различные животные модели: мыши линии SHK и самцы макак-резусов.

### 2.2. Условия исследования

Исследование проводилось в Научно-исследовательском институте медицинской приматологии в Сочи, Россия.

### 2.3. Размер выборки и метод отбора проб

Для экспериментов с мышами линии SHK было использовано в общей сложности 14 мышей, разделенных поровну на две группы. В экспериментах с макаками-резусами участвовали 8 самцов макак-резусов. Исследования *in vitro* проводились с использованием моноцитарных клеток Thp1 и первичных фибробластов человека, культивированных в контролируемом инкубаторе с CO<sub>2</sub>.

### 2.4. Материал

Синтетический цитрат железа был основным материалом, использованным для добавления как в моделях на животных, так и в исследованиях *in vitro*. Добавка, доступная в продаже в Научно-исследовательском центре Synthetech. Кроме того, для обработки тканей, окрашивания, биохимического анализа и культивирования клеток использовались стандартные лабораторные материалы и реагенты.

### 2.5. Сбор данных

Для сбора информации была принята следующая процедура:

1. Для экспериментов с мышами линии SHK было использовано 14 мышей линии SHK, разделенных на 2 группы: одна получала цитрат железа Synthesit, а другая служила контрольной. В течение 30 дней отслеживалось их потребление, и после эвтаназии в соответствии с руководящими принципами AVMA были собраны различные ткани, включая сердце, печень, легкие, селезенку, мозг, почки, яички и костный мозг, для гистологического исследования. Костный мозг был извлечен из бедренной кости с помощью стандартных процедур. Затем образцы тканей были обработаны, закреплены в парафине и окрашены гематоксилином-эозином. Кроме того, мазки костного мозга окрашивали по методу Май-Грюнвальда-Гимзы для микроскопического анализа. Морфологическую оценку проводили с помощью микроскопа Carl Zeiss Microscopy GmbH, Германия, с ручным подсчетом моно-нуклеарных клеток костного мозга.
2. Для экспериментов с Macaca Mulatta 8 самцов макак-резусов получали ежедневные пероральные дозы цитрата железа Synthesit в течение 46 дней. Гематологические измерения проводились на 0, 18, 32 и 46 дни, а биохимические параметры оценивались на 0, 15, 29, 43 дни и через неделю после приема добавки (50 день). На протяжении всего исследования вес тела и потребление пищи контролировались через определенные промежутки времени. Влияние на вес тела оценивалось с помощью еженедельных измерений на электронных весах. Были взяты образцы крови и центрифугированы при 3500 об/мин для получения сыворотки для биохимического анализа. Гематологический анализ, включая такие параметры, как гемоглобин, количество эритроцитов, количество лейкоцитов и процентное содержание лимфоцитов, моноцитов, нейтрофилов, эозинофилов и базофилов, проводился с помощью гематологического анализатора Becton Dickinson 5 diff в соответствии с рекомендациями производителя.
3. Исследования *in vitro*. Моноцитарные клетки Thp1 и первичные фибробласты человека

культивировали в инкубаторе CO<sub>2</sub> в среде DMEM, дополненной сывороткой плода крупного рогатого скота и гентамицином. Фибробласты человека подвергали воздействию цитрата железа Synthesit в течение 72 часов, после чего проводили анализ MTT для оценки жизнеспособности. Моноцитарные клетки Thp1 обрабатывали цитратом железа Synthesit в течение 24 часов. Экстракция РНК проводилась с использованием набора ExtractRNA, а ее концентрация и качество оценивались с помощью спектрофотометра NanoDrop. Обратная транскрипция проводилась с помощью MMLV-RT, после чего проводилась ПЦР в реальном времени с использованием реагентной смеси qPCRmix-HS SYBR на системе обнаружения ПЦР в реальном времени BioRad Connect™. Анализ экспрессии генов включал гены IL6, IL1B и CCL2.

## 2.6. Статистический анализ

Статистический анализ проводился с использованием различных программ, включая Statistics 6.0, Microsoft Excel 2010 и GraphPad Prism. Для макак использовались односторонние тесты ANOVA для оценки различий между моментами введения ( $p < 0,05$ ). Для мышей статистическая значимость между группами определялась с помощью теста Манна-Уитни U ( $p = 0,05$ ) из-за небольшого размера выборки. Данные были представлены в виде среднего значения  $\pm$  SD для описательного анализа.

## 2.7. Этическое одобрение

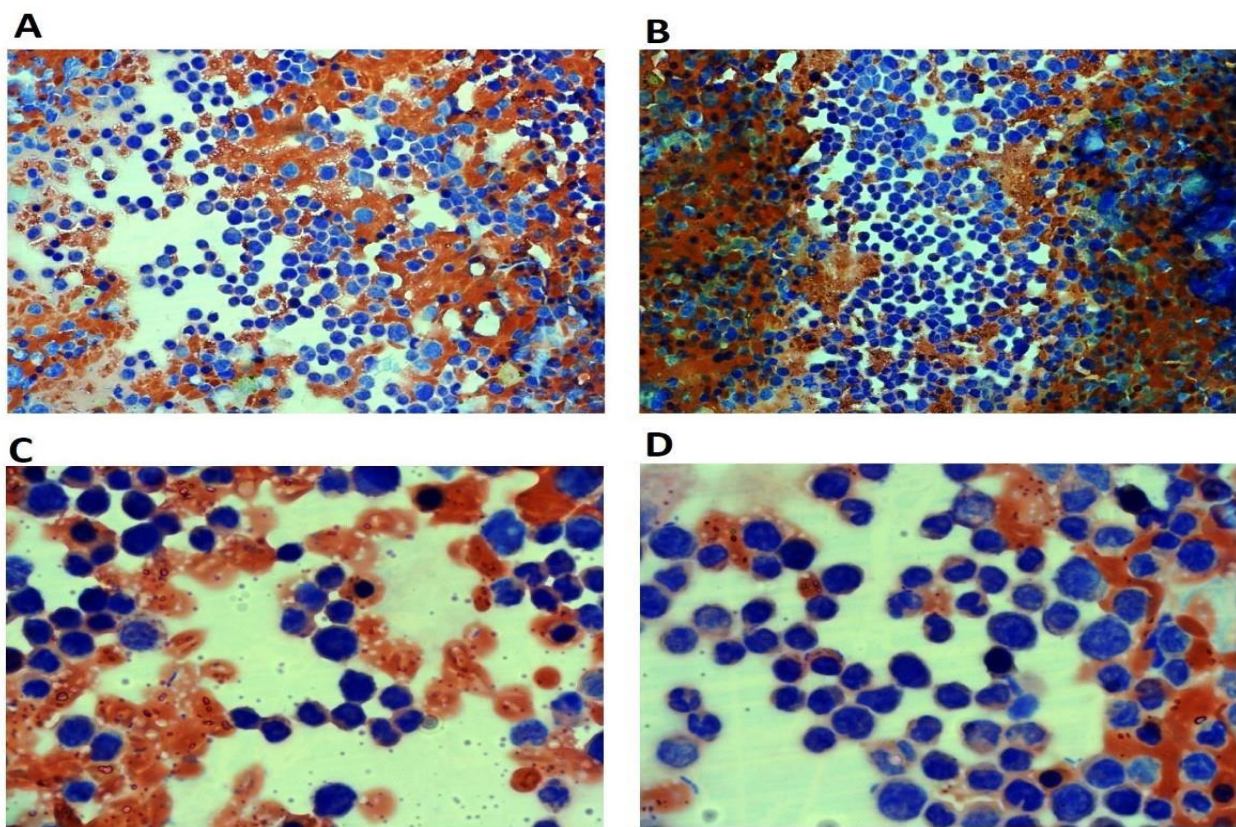
Все процедуры с участием животных проводились в строгом соответствии с этическими принципами, включая Хельсинкскую декларацию и Европейскую конвенцию о защите благополучия позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях. Исследование было одобрено Комиссией по биоэтике, что гарантирует его соответствие общепризнанным научным, этическим и правовым стандартам.

## 3. Результаты

В таблице 1 показано, что после месяца лечения были взяты образцы костного мозга и тканей органов мышей для гистологического исследования. Анализ гемопоэтических стволовых клеток выявил заметное увеличение индекса митоза, который в экспериментальной группе был в два раза выше, чем в контрольной группе (0,2 против 0,1). Кроме того, в экспериментальной группе наблюдалось значительное увеличение количества различных типов гемопоэтических клеток. В частности, количество миелокариоцитов было на 32,4% выше в экспериментальной группе ( $22,2 \pm 1,2 \times 10^6$ ) по сравнению с контрольной группой ( $15,0 \pm 0,9 \times 10^6$ ). Кроме того, наблюдалось 3,7-кратное увеличение количества мегакариоцитов ( $1,1 \pm 0,1 \times 10^6$  в экспериментальной группе по сравнению с  $0,3 \pm 0,0 \times 10^6$  в контрольной группе), что указывает на активацию тромбопоэза. Также наблюдалось усиление монопоэза: количество миелобластов и мононуклеарных клеток в экспериментальной группе было в 1,7 и 2,5 раза выше, соответственно. Кроме того, количество эритробластов в экспериментальной группе было почти в четыре раза выше, чем в контрольной группе ( $1,9 \pm 0,1 \times 10^6$  против  $0,5 \pm 0,1 \times 10^6$ ), при этом также наблюдалось умеренное увеличение количества ретикулоцитов (13,3%). Важно отметить, что количество гемопоэтических стволовых клеток оставалось в пределах нормального физиологического диапазона. Эти результаты свидетельствуют о том, что пероральный прием цитрата железа Synthesit стимулирует различные типы кроветворения в костном мозге мышей.

**Таблица 1.**  
Влияние перорального приема цитрата железа Synthesit на кроветворение в костном мозге мышей.

| Параметры                                                             | Контрольная группа | Экстремальная группа | Разница |
|-----------------------------------------------------------------------|--------------------|----------------------|---------|
| Общее количество миелокариоцитов (на бедро) x 10 <sup>6</sup>         | 15.0 ± 0.9         | 22.2 ± 1.2*          | 32.4%   |
| Ретикулоциты x 10 <sup>6</sup>                                        | 1.3 ± 0.1          | 1.5 ± 0.1*           | 13.3%   |
| Недифференцированные бласты (мононуклеарные клетки) x 10 <sup>6</sup> | 2.2 ± 0.1          | 5.4 ± 0.1*           | 59.3%   |
| Миелобласты x 10 <sup>6</sup>                                         | 2.1 ± 0.1          | 3.5 ± 0.1*           | 40%     |
| Митотический индекс                                                   | 0.1 ± 0.0          | 0.2 ± 0.0*           | 50%     |
| Лимфоцитов 10 <sup>6</sup>                                            | 16.8 ± 1.8         | 22.0 ± 1.1*          | 23.6%   |
| Мегакариоциты x 10 <sup>6</sup>                                       | 0.3 ± 0.0          | 1.1 ± 0.1*           | 72.7%   |
| Эритробласты x 10 <sup>6</sup>                                        | 0.5 ± 0.1          | 1.9 ± 0.1*           | 73.68%  |

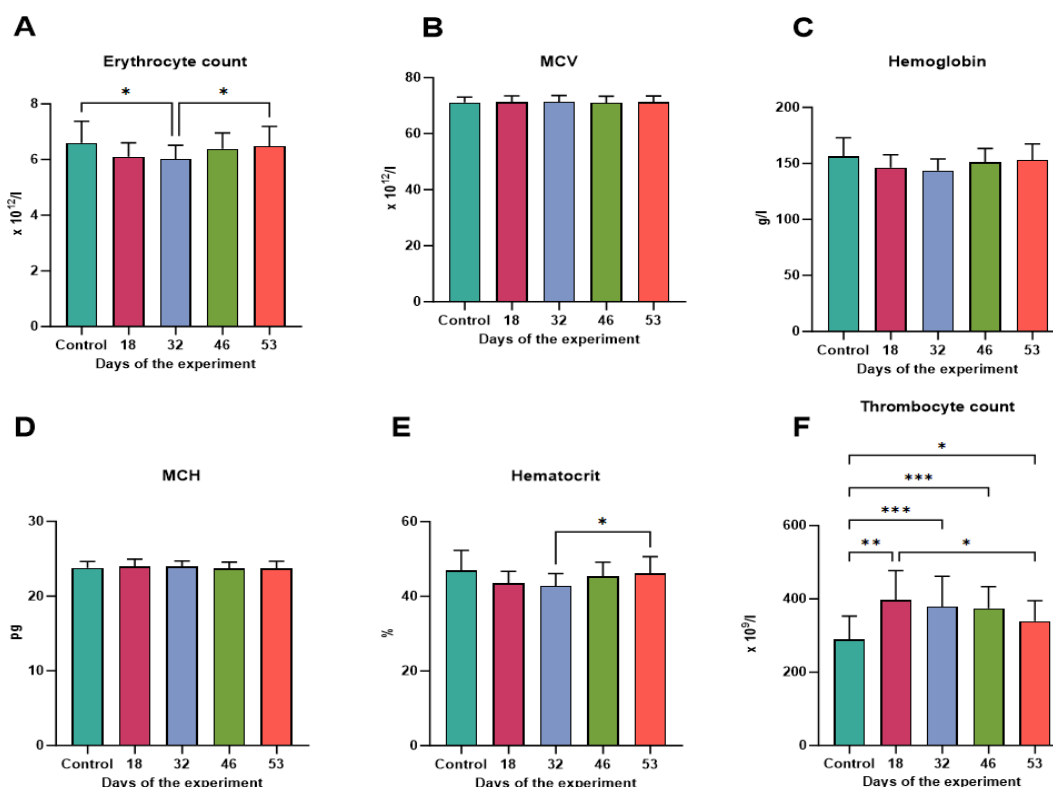


**Рисунок 1А – 1D.**  
Анализ гематологических показателей крови в модели приматов.

Гистопатологическая оценка мазков костного мозга, окрашенных по методу Май-Грюнвальда-Гимзы, показала одинаковую и физиологически нормальную структуру во всех образцах. Однако в экспериментальной группе было отмечено заметное увеличение плотности клеток (рис. 1А–D). Для

дальнейшего изучения потенциального влияния цитрата железа Synthesit на количество клеток крови у приматов мы провели исследование с участием макак-резусов в возрасте от 22 до 25 лет. Эти пожилые приматы были выбраны для оценки способности добавки стимулировать кроветворение и поддерживать количество клеток крови и биохимические показатели в пределах физиологических норм у зрелых животных. В ходе исследования макакам-резусам перорально вводили цитрат железа Synthesit, разбавленный в воде. Образцы крови собирали в разные моменты времени: в день 0 (исходный уровень), в дни 15, 29 и 43 приема добавки и через неделю после прекращения приема добавки (день 50). Такой комплексный график отбора проб позволил провести тщательный анализ эффектов добавки с течением времени.

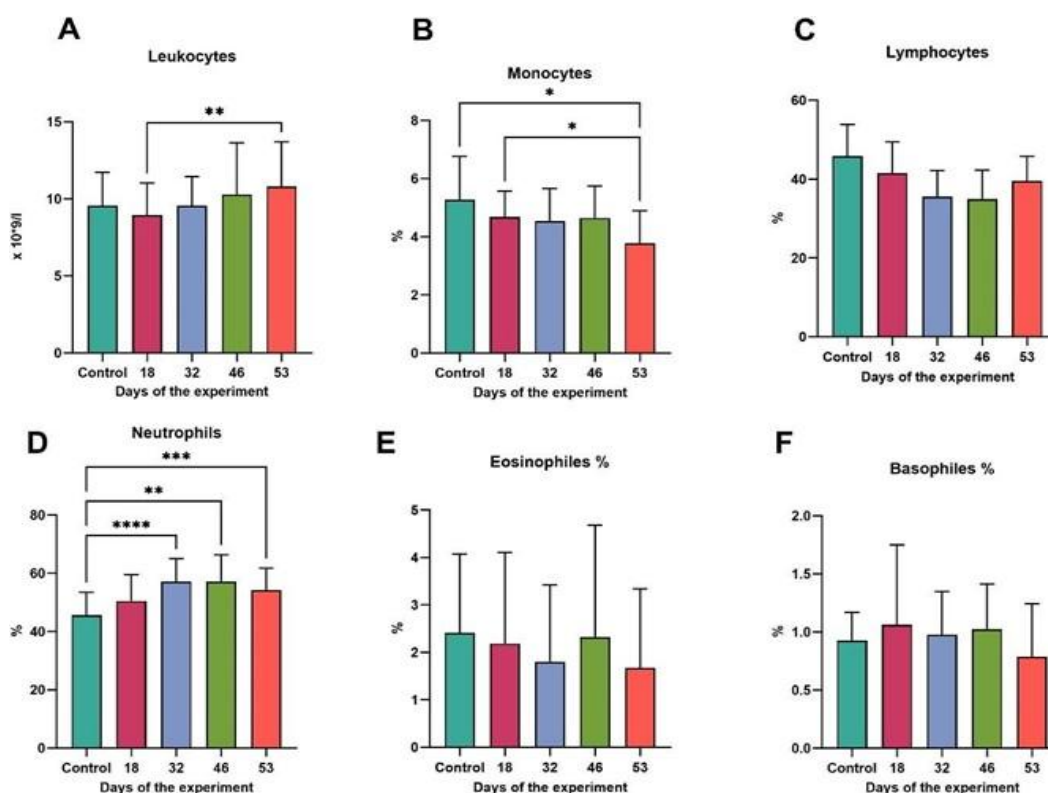
На рисунках 2A–2F показаны гематологические изменения, наблюдавшиеся во время приема добавки Synthesit iron citrate. Вначале наблюдалось значительное снижение количества эритроцитов до 29-го дня, за которым последовало постепенное увеличение, почти вернувшись к исходным уровням к 50-му дню (рис. 2A). Уровень гематокрита показал незначительное снижение в первой половине исследования, но значительно вырос во второй половине, достигнув пика к 53-му дню (рис. 2B). Средний объем эритроцитов (MCV), среднее содержание гемоглобина в эритроцитах (MCH) и концентрация гемоглобина не показали значительных изменений в конце периода приема препарата, хотя на 32-й день наблюдалось временное снижение уровня гемоглобина, который впоследствии почти вернулся к исходному уровню к концу исследования (рис. 2C, 2D). Количество тромбоцитов значительно увеличилось в течение первых двух недель приема цитрата железа Synthesit, после чего слегка снизилось, но все же оставалось выше исходного уровня. Однако после прекращения приема добавки количество тромбоцитов значительно снизилось в период с 15-го по 50-й день (рис. 2F).



**Рисунок 2A – 2F.**

Гематологические изменения во время приема добавки Synthesit iron citrate.

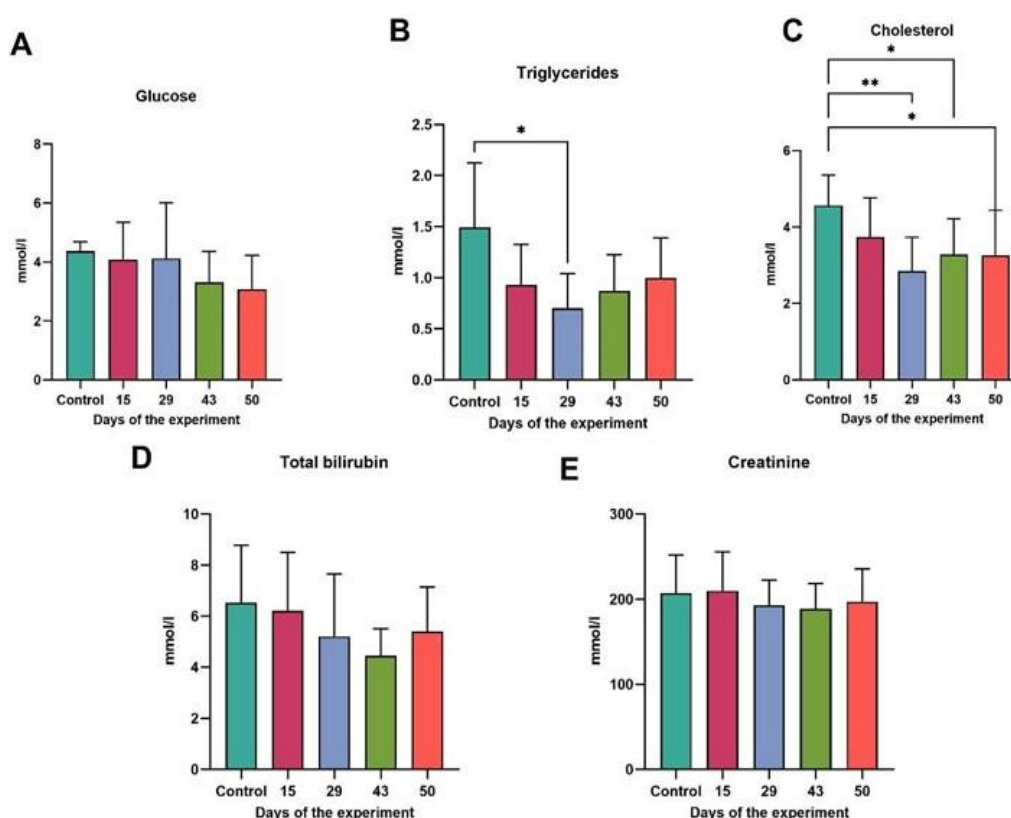
В ходе исследования с участием макак-резусов было изучено влияние добавок цитрата железа Synthesit на процентное содержание лейкоцитов в периферической крови. Вначале в течение двух недель приема добавок наблюдалось небольшое снижение общего количества лейкоцитов, за которым последовало значительное увеличение между 15-м и 50-м днем. В частности, за этот период количество лейкоцитов увеличилось с  $8,94 \pm 2,09 \times 10^9/\text{л}$  до  $10,80 \pm 2,89 \times 10^9/\text{л}$  (скорректированное  $p = 0,0098$ , 95% ДИ 1,947–10,75) (рис. 3А). Что касается процентного содержания конкретных лейкоцитарных клеток, на 50-й день было отмечено снижение процентного содержания моноцитов по сравнению с исходным уровнем и показателями на двухнедельной отметке. Исходный процент составлял  $5,27 \pm 1,49\%$ , который снизился до  $4,68 \pm 0,90\%$  на 14-й день и далее до  $3,775 \pm 1,13\%$  на 50-й день (скорректированное  $p$  исходный уровень – 50-й день = 0,0404, 15-й день – 50-й день = 0,0386, 95% ДИ исходный уровень – 50-й день: 0,06879–2,931, 95% ДИ 15-й день – 50-й день: 0,05005–1,750) (рис.3В). Процент лимфоцитов значительно снизился после четырех недель приема добавок и оставался низким после окончания периода приема добавок, а затем продемонстрировал небольшой рост. В частности, он снизился с  $45,85 \pm 8,00\%$  до  $35,51 \pm 6,68\%$  на 32-й день и до  $34,88 \pm 7,371$  на 46-й день (рис. 3С). Процент нейтрофилов неуклонно увеличивался на протяжении всего периода приема добавки, причем значительное увеличение наблюдалось между исходным уровнем и 29, 43 и 50 днями. Исходный процент  $45,54 \pm 7,99\%$  вырос до  $57,18 \pm 7,83\%$  на 29-й день (скорректированное  $p < 0,0001$ , ДИ -14,59 до -8,689),  $57,13 \pm 9,27\%$  на 43-й день (скорректированное  $p = 0,0014$ , ДИ от -17,54 до -5,636) и  $54,26 \pm 7,49\%$  на 50-й день (скорректированное  $p = 0,0008$ , ДИ от -12,84 до -4,615) (рис. 3D). Процентное содержание эозинофилов и базофилов оставалось неизменным по сравнению с исходными параметрами на протяжении всего периода исследования, не демонстрируя значительного увеличения или уменьшения (рис. 3Е, 3F).



**Рисунок 3А – 3F.**

Изменения в процентном содержании лейкоцитов в периферической крови макак-резусов после приема добавок синтезита железа цитрата.

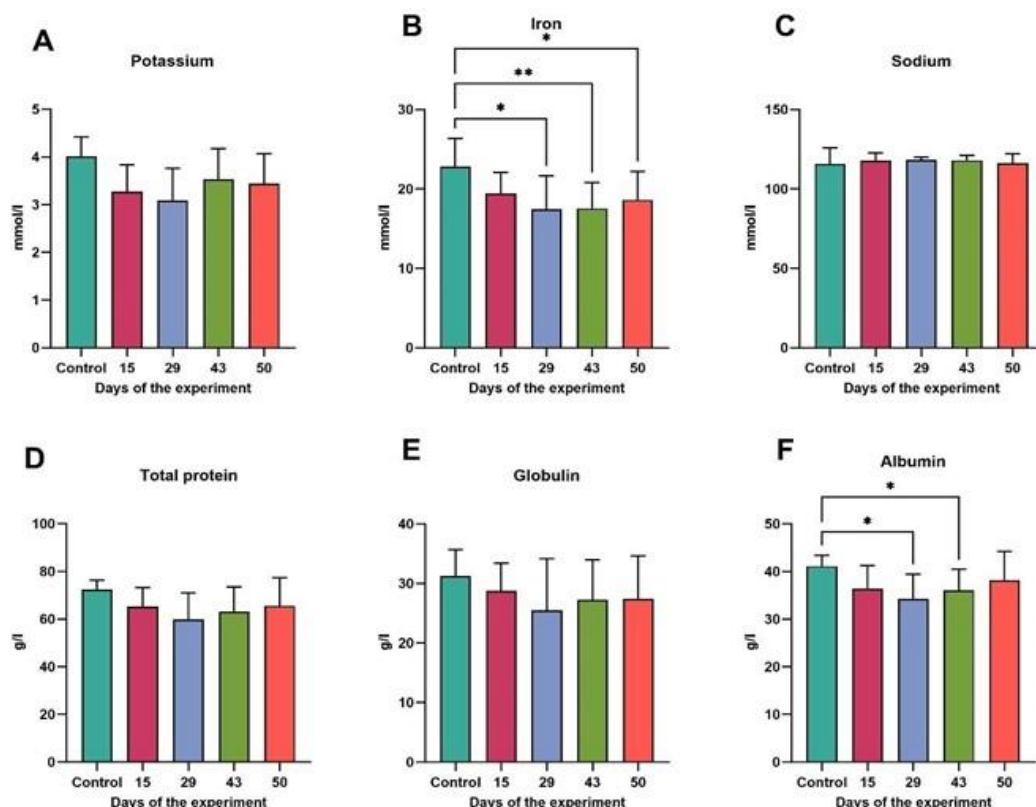
В ходе исследования изучалось влияние добавок цитрата железа Synthesit на биохимические показатели крови у приматов, при этом анализировались такие параметры, как глюкоза, метаболиты (холестерин, триглицериды, креатинин, билирубин), ионы (натрий, калий), ферменты (щелочная фосфатаза, АСТ, АЛТ) и белки (общий белок, альбумин, глобулин). Кроме того, оценивались уровни свободного железа для понимания механизмов его усвоения. Анализ выявил дифференцированные изменения этих параметров в разные моменты времени: в начале (15-й день), в середине (28-й день) и в конце (42-й день) приема добавок. Влияние на некоторые параметры, в том числе концентрацию глюкозы, количество тромбоцитов и концентрацию холестерина, сохранялось даже после прекращения приема добавок (50-й день). Примечательно, что к концу приема добавок было отмечено значительное снижение уровня глюкозы (исходный уровень:  $4,36 \pm 0,32$  ммоль/л против 43-го дня:  $3,30 \pm 1,06$  ммоль/л, скорректированное  $p = 0,0491$ , ДИ  $0,004245-2,121$ ). Уровень триглицеридов также значительно снизился после четырех недель приема добавок (исходный уровень:  $1,49 \pm 0,63$  ммоль/л по сравнению с 29-м днем:  $0,70 \pm 0,34$  ммоль/л, скорректированное  $p = 0,0170$ , ДИ  $0,1598-1,425$ ). Однако уровень холестерина продемонстрировал иную тенденцию, сначала значительно снизившись после четырех недель (исходный уровень:  $4,563 \pm 0,799$  ммоль/л по сравнению с 29-м днем:  $2,84 \pm 0,88$  ммоль/л, скорректированное  $p = 0,0043$ , ДИ  $0,6485-2,784$ ), но затем повысился к концу приема добавок (42-й день), хотя и остался ниже исходного уровня. Уровни билирубина и креатинина продемонстрировали небольшое снижение после 29 дней приема добавок, однако общее снижение не было значительным.



**Рисунок 4А – 4Е.**

Биохимия крови у приматов.

В ходе приема пищевых добавок наблюдаемая динамика указывала на снижение уровня калия и свободного железа с 15-го дня, причем к концу периода приема добавок этот эффект постепенно ослабевал (рис. 5А, 5В). В частности, до 29-го дня наблюдалось значительное снижение уровня свободного железа по сравнению с исходным уровнем (исходный уровень:  $22,76 \pm 3,61$  ммоль/л против 29-го дня:  $17,41 \pm 4,23$  ммоль/л, скорректированное  $p = 0,0150$ , 95% ДИ 1,181–9,519), и эта концентрация оставалась относительно стабильной до конца приема добавок (рис. 5В). Примечательно, что значительных изменений в уровнях натрия не наблюдалось. Хотя до 29-го дня отмечалась тенденция к снижению уровней общего белка и глобулина с последующим ростом в конце приема добавок (43-й день), эти изменения не достигли статистической значимости (рис. 5С–Е). Однако уровень альбумина действительно показал значительное снижение после четырех недель приема добавок ( $41,13 \pm 2,30$  г/л против  $34,25 \pm 5,18$  г/л, скорректированное  $p = 0,0135$ , ДИ = 1,618–12,13) (рис. 5F).

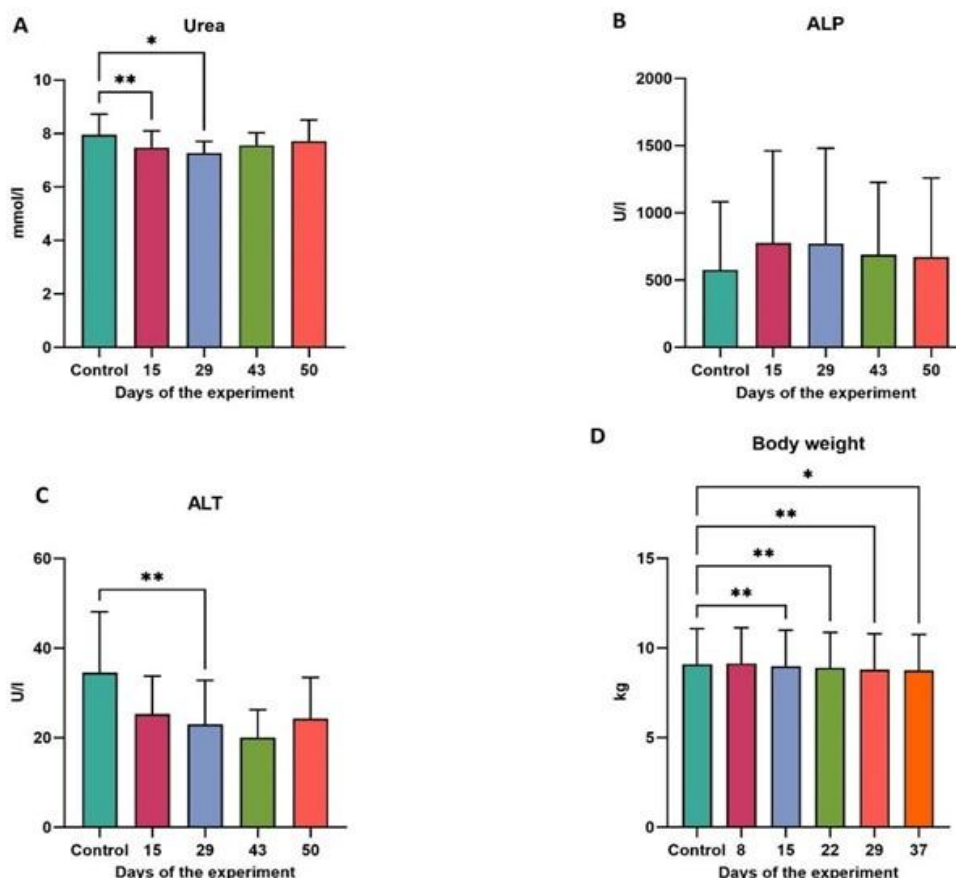


**Рисунок 5А – 5F.**

Динамика уровня электролитов и белков в сыворотке крови во время приема пищевых добавок.

В этом исследовании были изучены различные параметры, связанные с метаболическими нарушениями, поскольку они часто коррелируют с сердечно-сосудистыми проблемами, метаболическим синдромом и диабетом и широко используются в клинической диагностике. Основное внимание было уделено оценке влияния цитрата железа Synthesit на эти биомаркеры у макак в течение 50 дней. Результаты показали положительные улучшения в показателях повреждения печени, глюкозы и холестерина, что свидетельствует об общем улучшении физиологических показателей. На протяжении всего эксперимента, который длился 30 дней для мышей и 50 дней для макак, оценивался профиль

безопасности цитрата железа Synthesit. Не было отмечено никаких изменений в поведении животных, а потребление воды макаками оставалось стабильным. Примечательно, что значительное снижение концентрации мочевины в крови наблюдалось на 15-й и 29-й дни приема добавки, но не в последующие периоды. Кроме того, анализ ферментов печени и мышц, включая АЛТ, АСТ и АЛП, показал значительное снижение после приема добавки. Эти ферменты являются индикаторами повреждения печени, и их пониженный уровень указывает на потенциальные преимущества в смягчении таких состояний, как неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП). Кроме того, наблюдения за весом и потреблением пищи у макак показали небольшое снижение потребления пищи и значительное снижение массы тела, что указывает на потенциальные метаболические эффекты приема добавки. В целом, эти результаты дают ценную информацию о потенциальных физиологических улучшениях и безопасности приема добавок цитрата железа Synthesit у макак.

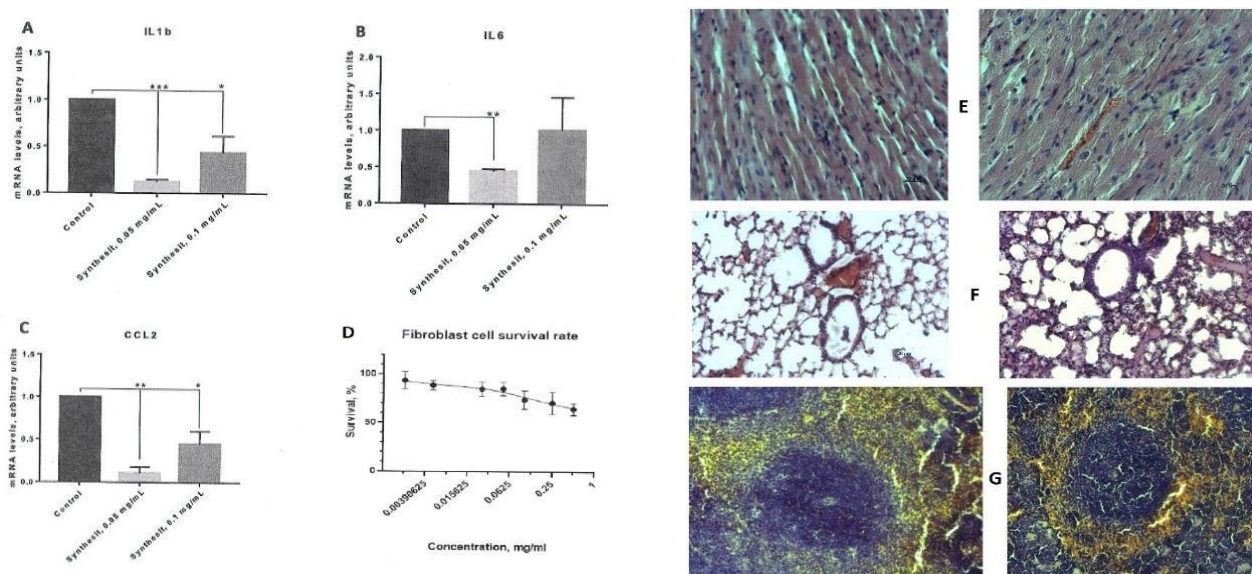


**Рисунок 6A – 6D.**

Влияние добавок на вес приматов: гистопатологические наблюдения, исследования токсичности и иммуногенный потенциал.

Биобезопасность цитрата железа Synthesit оценивалась с использованием комбинации моделей *in vitro* и *in vivo*. В моделях на мышах сердца, легкие и селезенки исследовались на предмет каких-либо изменений в размере или структуре тканей по сравнению с контрольной группой, при этом никаких изменений не наблюдалось (рис. 7A–7C). Кроме того, первичные фибробласты кожи человека

подвергались анализу МТТ для оценки цитотоксического действия в течение 72 часов, который не выявил острой токсичности (рис. 7D). Анализ экспрессии генов провоспалительных цитокинов IL6, IL1beta и CCL2 показал снижение уровней мРНК при воздействии цитрата железа Synthesit (рис. 7F). Микроскопическое исследование тканей мышей контрольной и экспериментальной групп, включая миокард, легкие и селезенку, не выявило заметных различий в структуре или морфологии (рис. 7E–7G). Эти результаты в совокупности указывают на биобезопасность цитрата железа Synthesit, о чем свидетельствует отсутствие патологических изменений в различных моделях, что позволяет предположить его потенциальную пригодность для использования в качестве железосодержащего добавки.



**Рисунок 7A – 7G.**

Оценка биобезопасности цитрата железа Synthesit на моделях мышей, приматов и клеток.

## 4. Обсуждение

В рамках текущего исследования, проводимого Научно-исследовательским институтом медицинской приматологии в Сочи (Россия) и Научно-исследовательским центром Synthes-tech, изучалось влияние добавок цитрата железа Synthesit® на физиологические показатели пожилых макаков-резусов. Эти обезьяны, которые стареют почти в три раза быстрее, чем люди, и демонстрируют схожие показатели старения, были выбраны в качестве оптимальных объектов для исследования старения. Исследование было направлено на изучение влияния цитрата железа Synthesit® на возрастные проблемы у обезьян в возрасте 22-25 лет, не страдающих дефицитом железа. Это исследование согласуется с другими исследованиями, направленными на выявление методов лечения возрастных заболеваний. Его цель — углубить наше понимание процесса старения и предложить потенциальные способы улучшения здоровья и общего качества жизни стареющего населения. Кроме того, в нем исследуется влияние цитрата железа на состояния, не связанные с дефицитом железа [27,28].

Недавнее исследование влияния перорального приема цитрата железа Synthesit на производство кровяных клеток у мышей предоставляет важную новую информацию о том, как железо влияет на

функцию образования кровяных клеток. Результаты показывают, что добавление цитрата железа Synthesit значительно увеличивает скорость деления клеток и стимулирует рост нескольких типов кровяных клеток в костном мозге мышей, а именно производство тромбоцитов и эритроцитов, не влияя на количество гемопоэтических стволовых клеток. Мазки костного мозга, окрашенные по Май-Грюнвальду-Гимзе, исследованные гистопатологически, показали нормальную структуру, но более высокую плотность клеток в экспериментальной группе, что подчеркивает, что пероральный прием цитрата железа Synthesit продемонстрировал потенциал в стимулировании производства кровяных клеток и поддержании нормального уровня кровяных клеток и биохимических веществ. Эти результаты согласуются с предыдущими исследованиями, которые подчеркивают значение железа в процессе кроветворения. Исследования показали, что недостаток железа может препятствовать развитию кровяных клеток в эмбрионах, затрудняя рост и специализацию определенных типов предшественников кровяных клеток, особенно тех, которые участвуют в производстве эритроцитов. Это подчеркивает важную роль железа в содействии начальным этапам развития кроветворения [29]. Кроме того, сложная связь между балансом железа внутри клеток и функционированием производства кровяных клеток подчеркивается исследованиями того, как FBXL5 контролирует уровень железа. FBXL5 необходим для поддержания гемопоэтических стволовых клеток и предотвращения клеточного повреждения, вызванного окислительным стрессом. Гемопоэтическая недостаточность при таких заболеваниях, как миелодиспластические синдромы, связана со снижением экспрессии FBXL5 в ГСК [30]. При рассмотрении всех этих исследований в совокупности становится ясно, что железо играет многочисленные роли в контроле кроветворения. Важность его роли в поддержании здоровья кроветворной системы подчеркивается его способностью регулировать пролиферацию, выживание и дифференцировку многих типов кроветворных клеток. Последнее исследование по применению добавок Synthesit iron citrate вносит вклад в растущее количество доказательств, подтверждающих терапевтический потенциал регулирования уровня железа при нарушениях, связанных с нарушением кроветворения. Подводя итог, можно сказать, что исследование подчеркивает важность понимания сложной взаимосвязи между уровнем железа, клеточным балансом и производством кровяных клеток. Выяснив механизмы, посредством которых железо влияет на кроветворение, ученые могут точно определить возможные цели лечения заболеваний, характеризующихся дисбалансом уровня железа и нарушением производства кровяных клеток. Это не только улучшает наше понимание контроля кроветворения, но и создает возможности для разработки новых терапевтических методов лечения.

Текущее исследование показывает убедительные результаты, касающиеся его влияния на несколько показателей крови. Первоначальное снижение количества эритроцитов и уровня гематокрита, за которым последовало устойчивое улучшение, наряду с колебаниями количества тромбоцитов, демонстрирует сложную взаимосвязь между приемом добавок железа и показателями крови. Анализ этих результатов в сопоставлении с предыдущими исследованиями дает важную контекстуальную информацию. Аналогичным образом, другое исследование по приему добавок цитрата железа показало снижение количества эритроцитов, что согласуется с первоначальным снижением количества эритроцитов, зарегистрированным в исследовании Synthesit [31]. Другое исследование также предполагает потенциальную механическую связь между двумя формами цитрата железа и их влиянием на эритропоэз. Кроме того, взаимодействие между приемом добавок железа и витамина В6, как показано в исследованиях по длительному приему добавок, подчеркивает важность учета синергетического эффекта при оценке уровня гематокрита и других показателей крови [32]. Такие взаимодействия могут способствовать наблюдаемой изменчивости уровня гематокрита в течение периода исследования с приемом добавок Synthesit. Кроме того, результаты исследований механизмов абсорбции железа при пероральном приеме, в частности с участием гидрата цитрата железа и гепсидина-25, проливают свет на то, как различные формы железа абсорбируются и какое влияние они оказывают на показатели крови [33]. Цитрат железа Synthesit® стимулирует кроветворение в мышечных моделях, что жизненно важно для восстановления иммунитета после вирусной инфекции или терапии. Увеличение количества мегакариоцитов и тромбоцитов указывает на их значительную роль в регуляции кровеносных клеток [34]. Поэтому понимание этих механизмов имеет решающее значение для объяснения колебаний уровня эритроцитов, гематокрита и тромбоцитов, наблюдаемых при приеме добавки Synthesit. Изменчивость

скорости всасывания и биодоступности различных форм железа, вероятно, способствует разнообразным гематологическим реакциям, наблюдаемым в исследовании. Объединение результатов этих связанных исследований позволяет получить более полное представление о влиянии добавок цитрата железа на показатели крови. Такая более широкая перспектива не только расширяет наши знания о лежащих в основе механизмах, но и дает представление о том, как усовершенствовать стратегии приема добавок для оптимизации результатов лечения пациентов в клинических условиях. Учитывая различные факторы, влияющие на гематологические реакции на прием добавок цитрата железа, врачи могут более эффективно адаптировать лечение к индивидуальным потребностям пациентов, тем самым улучшая лечение железодефицита и связанных с ним состояний.

Текущее исследование также раскрывает интересные наблюдения о сложной взаимосвязи между метаболизмом железа и динамикой иммунного ответа у приматов. Колебания общего количества лейкоцитов и изменения в процентном соотношении различных типов лейкоцитов после приема добавок цитрата железа указывают на сложную связь между доступностью железа и изменением иммунной системы. Первоначальное снижение общего количества лейкоцитов, за которым следует значительное увеличение между 15 и 50 днями после приема добавок, подчеркивает динамический характер динамики лейкоцитов, обусловленный потреблением цитрата железа. Эти колебания могут указывать на адаптивную реакцию иммунной системы на изменения в доступности железа, что, возможно, свидетельствует об изменениях в производстве кровяных клеток или движении иммунных клеток. Кроме того, точные изменения в пропорциях различных типов лейкоцитов дают дополнительное понимание возможных механизмов, объясняющих наблюдаемые эффекты. Постепенное снижение доли моноцитов указывает на возможную корректировку производства или замены моноцитов, которая может быть вызвана изменениями в метаболизме железа. Различные закономерности, прослеживающиеся в процентном соотношении лимфоцитов, нейтрофилов, эозинофилов и базофилов, демонстрируют специфическое воздействие добавок цитрата железа на различные типы иммунных клеток. В другом исследовании, посвященном метаболизму железа и влиянию добавок у приматов, изучается влияние цитрата аммония железа на выживаемость клеток и подчеркиваются потенциальные последствия изменений уровня железа для функционирования иммунных клеток [35]. Кроме того, исследования по переносу железа от матери к плоду дают представление об общем воздействии добавок железа на организм, подчеркивая важность понимания того, как железо проходит через биологические барьеры и влияет на иммунные реакции [36]. Более того, исследования системного воздействия различных типов добавок железа, таких как декстран железа, подчеркивают более широкие метаболические последствия добавок железа для иммунной функции. Изменения в метаболическом профиле сыворотки крови, зарегистрированные у молодых макаков-резусов после кормления декстраном железа, демонстрируют взаимосвязь между уровнем железа и метаболическими путями, которые могут косвенно влиять на иммунные реакции [37]. Дальнейшее исследование показало, что накопление железа, вызванное гепсидином, увеличивает выработку CXCL1 в кератиноцитах, что, в свою очередь, приводит к рекрутированию нейтрофилов при некротическом фасциите [38]. Одно исследование показывает, что деферазирокс, хелатор железа, одобренный FDA, эффективно снижает воспаление, вызванное нейтрофилами, путем истощения запасов железа. Добавление цитрата железа Synthesit® в рацион приматов увеличивает общее количество лейкоцитов, с преимуществом в производстве нейтрофилов при одновременном снижении количества лимфоцитов и моноцитов. Это согласуется с влиянием железа на образование кровяных клеток [39]. Кроме того, железо не только препятствует дифференцировке и активности клеток Th1, Th2 и Th17, но и служит адъювантом для иммунных реакций Th1 и Th2. Сложное взаимодействие между железом и иммунной системой подчеркивает способность железа как модулировать, так и потенциально использоваться в качестве терапии [40]. В целом, результаты исследования по добавлению цитрата железа в рацион макаков-резусов согласуются с предыдущими исследованиями по метаболизму железа и влиянию добавок на приматов. Сложное взаимодействие между уровнем железа, популяциями иммунных клеток и общей иммунологической реакцией подчеркивает важность учета состояния микронутриентов при изучении иммунной функции у нечеловекообразных приматов. Необходимы дополнительные исследования, чтобы понять молекулярные процессы, объясняющие эти данные, и полностью осознать влияние добавок железа на

иммунологическую динамику приматов.

Исследование по добавлению синтетического цитрата железа в рацион приматов дает интересную информацию о его возможном влиянии на метаболические показатели. Наблюдаемое повышение уровня глюкозы и триглицеридов, наряду с временным снижением уровня холестерина, указывает на потенциальный подход к решению проблем метаболического здоровья. Устойчивый эффект, наблюдаемый после приема добавок на уровень глюкозы и триглицеридов, свидетельствует о долгосрочных преимуществах, в то время как уровень холестерина повышается незначительно. Эти результаты согласуются с другим исследованием, проведенным на клетках HepG2 и первичных гепатоцитах, которое показало, что активные формы кислорода (АФК) вызывают накопление липидов, что приводит к увеличению производства холестерина и триглицеридов [41]. Другое исследование подтвердило результаты улучшения уровня глюкозы и триглицеридов после приема добавок цитрата железа Synthesit. В этом исследовании также подчеркивалось, что диета с низким содержанием железа снижает уровень триглицеридов и холестерина в сыворотке крови, что еще раз подтверждает идею о том, что уровень железа влияет на липидный профиль [42]. Кроме того, исследования показывают, что чрезмерный уровень железа может нарушать баланс глюкозы в организме, способствовать накоплению жира в печени и повышать уровень триацилглицеролов в крови крыс [42]. Эти результаты подчеркивают решающую роль уровня железа в метаболическом здоровье, что может иметь отношение к эффектам приема добавок цитрата железа Synthesit, наблюдаемым у приматов. Сложное взаимодействие между уровнем железа, липидным обменом и регуляцией глюкозы подчеркивает сложность этих метаболических путей. Хотя первоначальные метаболические преимущества приема добавок цитрата железа Synthesit являются многообещающими, необходимы дальнейшие исследования для всесторонней оценки его долгосрочных эффектов и основных механизмов, лежащих в основе наблюдаемых изменений метаболических параметров. Это подчеркивает необходимость продолжения исследований для выяснения полного спектра эффектов и потенциальных последствий для здоровья метаболизма.

В текущем исследовании было обнаружено заметное снижение уровня калия и свободного железа в сывороточных электролитах и белках. Это снижение началось на 15-й день и стабилизировалось к концу срока. Было отмечено значительное снижение уровня альбумина, в то время как уровень натрия остался неизменным. Хотя до 29-го дня наблюдалось первоначальное снижение общего уровня белка и глобулина, впоследствии был зафиксирован рост, что свидетельствует о сложном взаимодействии между добавками и биохимическими показателями. Кроме того, в другом исследовании была подчеркнута полезность пищевых добавок железа для лечения этого заболевания, что подчеркивает их ценность [43]. Была подчеркнута важность внедрения эффективных стратегий обогащения железом как прогрессивного и устойчивого средства повышения уровня железа в популяциях, испытывающих дефицит в рационе. Наблюдаемые изменения уровня калия, высвобожденного железа и других биохимических показателей в результате приема пищевых добавок подчеркивают сложную взаимосвязь между питательными веществами и физиологической активностью организма. В целом, результаты исследования дают ценное понимание постоянно меняющихся характеристик биохимических показателей при приеме пищевых добавок. Используя эти открытия в сочетании с предыдущими исследованиями, мы можем улучшить наше понимание влияния питательных веществ на физиологические механизмы и разработать более эффективные подходы к решению проблемы недостатка питательных веществ.

Благотворное влияние производства цитрата железа на показатели метаболизма у макак в течение 50 дней является замечательным, особенно в отношении улучшения функции печени, уровня глюкозы и холестерина. Эти открытия важны, поскольку они указывают на возможность улучшения физических способностей обезьян путем контроля их метаболизма железа. Другая связанная работа по СИНТЕЗУ гепсидина, важнейшего регулятора метаболизма железа, дает более полное понимание этих последствий. Гепсидин играет ключевую роль в регуляции баланса железа, обнаруживая несколько сигналов, которые указывают на уровень железа и эритропоэтическую активность. Этот регуляторный механизм, вероятно, влияет на улучшение метаболизма, наблюдаемое у макак после производства цитрата железа. Например, временное снижение концентрации мочевины и значительное снижение уровня ферментов печени и мышц могут быть связаны с изменениями в метаболизме железа, опосредованными гепсидином. Эти

изменения могут улучшить функцию печени и метаболические факторы, такие как уровень глюкозы и холестерина [44]. Кроме того, результаты исследований корреляции между весом и потреблением пищи у макак указывают на возможные метаболические преимущества, связанные с производством цитрата железа. Это согласуется с общим пониманием того, как метаболизм железа влияет на метаболические процессы и общее физиологическое здоровье. Другое исследование продемонстрировало сложную связь между железом, метаболическими путями и результатами для здоровья, подчеркнув необходимость дополнительных исследований для выявления механизмов, лежащих в основе этих эффектов [45]. В целом, благотворное влияние производства цитрата железа на метаболические показатели у макак подчеркивает сложную взаимосвязь между метаболизмом железа и физиологическим благополучием. Изучив соответствующие исследования по SYNTHESIT гепсидина, мы можем получить более полное представление о механизмах, лежащих в основе этих эффектов. Эта расширенная точка зрения подчеркивает возможность проведения дополнительных исследований и клинических испытаний с целью использования манипуляций с метаболизмом железа для улучшения показателей здоровья у приматов и, возможно, у людей.

В рамках настоящего исследования также была проведена комплексная оценка безопасности цитрата железа Synthesit, включая обширные исследования, проведенные как в лабораторных условиях (*in vitro*), так и на живых организмах (*in vivo*), которые дали обнадеживающие результаты. В сравнении с контрольными группами не было обнаружено заметных изменений в структуре сердца, легких или селезенки у мышей-моделей. Аналогичным образом, при воздействии цитрата железа Synthesit на фибробласты кожи человека не было обнаружено никаких немедленных вредных эффектов. Анализ экспрессии генов выявил снижение уровня провоспалительных цитокинов, что указывает на потенциальное противовоспалительное действие. Микроскопическое исследование подтвердило эти результаты, показав, что в тканях не было заметных структурных изменений. Кроме того, в другом исследовании была проведена подробная оценка характеристик безопасности цитрата железа Synthesit и получены сопоставимые результаты. Более того, важно учитывать результаты дальнейших исследований комплексов цитрата железа, в частности исследование их ядерности на биологически значимых уровнях [46]. Понимание химического состава этих комплексов имеет решающее значение для прогнозирования их взаимодействий и потенциальной токсичности. Кроме того, исследования терапевтических свойств цитрата железа, в частности его способности ингибировать отложение кальция, могут дать полезную информацию о его возможных преимуществах для здоровья и взаимодействии с другими минералами в организме [47]. Подводя итог, можно сказать, что оценка цитрата железа Synthesit показала обнадеживающие результаты в отношении его безопасности. Однако для более полного понимания его профиля безопасности и потенциальных преимуществ в качестве пищевой добавки или добавки, рекомендуется учитывать данные исследований ядерности комплексов цитрата железа, его терапевтического действия и определения безопасности FDA. Комплексная стратегия имеет решающее значение для принятия обоснованных решений об использовании цитрата железа Synthesit в различных областях применения.

Наконец, добавление цитрата железа Synthesit® оказывает заметное влияние на кроветворение, в частности, путем увеличения образования тромбоцитов как в моделях мышей, так и приматов. Помимо влияния на изменения, связанные с кровью, он также оказывает влияние на несколько биохимических маркеров, таких как триглицериды, глюкоза, печеночные ферменты и уровни свободного железа. Это указывает на потенциальные последствия для сердечно-сосудистого и метаболического здоровья. Эти данные свидетельствуют о том, что важно тщательно продумать использование добавок железа в клинической практике, уделяя внимание количеству, продолжительности приема и возможному воздействию на группы, не испытывающие дефицита железа. Тщательный анализ необходим для того, чтобы справиться со сложностью добавления железа и минимизировать любые непреднамеренные последствия для лечения пациентов.

## 5. Заключение

В заключение, всестороннее исследование добавки Synthesit® железа цитрата в рамках текущего исследования дает многообещающие сведения о ее многогранном воздействии на физиологические параметры как у мышей, так и у приматов. В результате тщательного исследования становится очевидным, что Synthesit® железа цитрата играет важную роль в модуляции кроветворения, в частности, путем усиления тромбопоэза и эритропоэза без влияния на количество гемопоэтических стволовых клеток. Кроме того, его влияние на метаболические параметры, такие как глюкоза, триглицериды и холестерин, подчеркивает его потенциал в решении проблем метаболического здоровья. Наблюдаемые колебания биохимических маркеров и популяций иммунных клеток после приема добавок подчеркивают сложное взаимодействие между метаболизмом железа и динамикой иммунного ответа, что указывает на наличие тонкой взаимосвязи, требующей дальнейшего изучения. Кроме того, оценка биобезопасности демонстрирует многообещающие результаты, создавая основу для рассмотрения его потенциального применения в качестве пищевой добавки или добавки. Однако для полного использования преимуществ добавок цитрата железа Synthesit® необходимо тщательно учитывать дозировку, продолжительность приема и потенциальные эффекты у населения, не страдающего дефицитом железа. Интеграция результатов связанных исследований улучшает наше понимание его профиля безопасности и потенциальных терапевтических преимуществ, подчеркивая важность принятия обоснованных решений в клинической практике. Таким образом, добавки Synthesit® с цитратом железа являются многообещающими в плане модулирования кроветворения, метаболических параметров и динамики иммунного ответа, что имеет значение для сердечно-сосудистого, метаболического и общего физиологического здоровья. Необходимы дальнейшие исследования для выяснения механизмов его действия, оптимизации стратегий приема добавок и обеспечения его безопасного и эффективного использования в различных клинических условиях.

## Финансовая поддержка и спонсорство

Исследование проводилось в рамках контракта № 4/02-20STC от 09 июля 2020 года между Научно-исследовательским институтом медицинской приматологии (Сочи, Россия) и Научно-исследовательским центром «Синтестех» (Сочи, Россия).

## Вклад авторов

Исследование было задумано и разработано Патриком Кусниром и Дмитрием Булгиным. Они также осуществили синтез цитрата железа и провели все лабораторные эксперименты. Шахбаз Байг внес вклад в анализ и интерпретацию результатов о влиянии цитрата железа на показатели крови у животных, не страдающих дефицитом железа. Оба автора участвовали в составлении первоначального варианта рукописи, ее критическом пересмотре и рецензировании окончательной версии для утверждения перед публикацией.

## Авторские права

© 2024 авторы. Эта статья является открытой для доступа и распространяется в соответствии с условиями лицензии Creative Commons Attribution (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## Рекомендации

- [1] Ndayisaba A, Kaindlstorfer C, Wenning GK. Iron in neurodegeneration - Cause or consequence? *Front Neurosci* 2019;13. <https://doi.org/10.3389/FNINS.2019.00180/FULL>.
- [2] Bloor SR, Schutte R, Hobson AR. Oral Iron Supplementation—Gastrointestinal Side Effects and the Impact on the Gut Microbiota. *Microbiology Research* 2021, Vol 12, Pages 491-502 2021;12:491–502. <https://doi.org/10.3390/MICROBIOLRES12020033>.
- [3] Iron - Health Professional Fact Sheet n.d. <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Iron-HealthProfessional/> (accessed March 16, 2024).
- [4] Matsuo-Tezuka Y, Noguchi-Sasaki M, Kurasawa M, Yorozu K, Shimonaka Y. Quantitative analysis of dietary iron utilization for erythropoiesis in response to body iron status. *Exp Hematol* 2016;44:491–501. <https://doi.org/10.1016/j.exphem.2016.02.005>.
- [5] Guralnik J, Ershler W, Artz A, Lazo-Langner A, Walston J, Pahor M, et al. Unexplained anemia of aging: Etiology, health consequences, and diagnostic criteria. *J Am Geriatr Soc* 2022;70:891–9. <https://doi.org/10.1111/jgs.17565>.
- [6] Iron - Health Professional Fact Sheet n.d. <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Iron-HealthProfessional/> (accessed March 13, 2024).
- [7] Moustarah F, Daley SF. Dietary Iron. *Iron Metabolism* 2024;27–35. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-7308-1\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-7308-1_5).
- [8] Bloor SR, Schutte R, Hobson AR. Oral Iron Supplementation—Gastrointestinal Side Effects and the Impact on the Gut Microbiota. *Microbiology Research* 2021, Vol 12, Pages 491-502 2021;12:491–502. <https://doi.org/10.3390/MICROBIOLRES12020033>.
- [9] Piskin E, Cianciosi D, Gulec S, Tomas M, Capanoglu E. Iron Absorption: Factors, Limitations, and Improvement Methods. *ACS Omega* 2022;7:20441. <https://doi.org/10.1021/ACSOMEGA.2C01833>.
- [10] Piskin E, Cianciosi D, Gulec S, Tomas M, Capanoglu E. Iron Absorption: Factors, Limitations, and Improvement Methods. *ACS Omega* 2022;7:20441–56. [https://doi.org/10.1021/ACSOMEGA.2C01833/ASSET/IMAGES/LARGE/AO2C01833\\_0002.JPEG](https://doi.org/10.1021/ACSOMEGA.2C01833/ASSET/IMAGES/LARGE/AO2C01833_0002.JPEG).
- [11] Camaschella C. Iron-Deficiency Anemia. *New England Journal of Medicine* 2015;372:1832–43. <https://doi.org/10.1056/NEJMRA1401038>.
- [12] Shubham K, Anukiruthika T, Dutta S, Kashyap A V., Moses JA, Anandharamakrishnan C. Iron deficiency anemia: A comprehensive review on iron absorption, bioavailability and emerging food fortification approaches. *Trends Food Sci Technol* 2020;99:58–75. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2020.02.021>.
- [13] Gattermann N, Muckenthaler MU, Kulozik AE, Metzgeroth G, Hastka J. The Evaluation of Iron Deficiency and Iron Overload. *Dtsch Arztebl Int* 2021;118:847. <https://doi.org/10.3238/ARZTEBL.M2021.0290>.
- [14] Symington EA, Baumgartner J, Malan L, Wise AJ, Ricci C, Zandberg L, et al. Maternal iron-deficiency is associated with premature birth and higher birth weight despite routine antenatal iron supplementation in an urban South African setting: The NuPED prospective study. *PLoS One* 2019;14. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0221299>.
- [15] Babikir M, Ahmad R, Soliman A, Al-Tikrity M, Cureus MY-, 2020 undefined. Iron-induced thrombocytopenia: a mini-review of the literature and suggested mechanisms. *CureusComM Babikir, R Ahmad, A Soliman, M Al-Tikrity, MA YassinCureus, 2020•cureusCom* 2020. <https://doi.org/10.7759/cureus.10201>.
- [16] Tang D, Chen X, Kang R, Kroemer G. Ferroptosis: molecular mechanisms and health implications. *Cell Research* 2020 31:2 2020;31:107–25. <https://doi.org/10.1038/s41422-020-00441-1>.
- [17] Gattermann N, Muckenthaler MU, Kulozik AE, Metzgeroth G, Hastka J. The Evaluation of Iron Deficiency and Iron Overload. *Dtsch Arztebl Int* 2021;118:847. <https://doi.org/10.3238/ARZTEBL.M2021.0290>.
- [18] Cornelissen A, Guo L, Sakamoto A, Virmani R, Finn A V. New insights into the role of iron in inflammation and atherosclerosis. *EBioMedicine* 2019;47:598–606. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.08.014>.
- [19] Hoenemann C, Ostendorf N, Zarbock A, Doll D, Hagemann O, Zimmermann M, et al. Reticulocyte and Erythrocyte Hemoglobin Parameters for Iron Deficiency and Anemia Diagnostics in Patient Blood Management. A Narrative Review. *Journal of Clinical Medicine* 2021, Vol 10, Page 4250 2021;10:4250. <https://doi.org/10.3390/JCM10184250>.
- [20] Shahinfar H, Jayedi A, Shab-Bidar S. Dietary iron intake and the risk of type 2 diabetes: a systematic review and dose–response meta-analysis of prospective cohort studies. *Eur J Nutr* 2022;61:2279–96. <https://doi.org/10.1007/S00394-022-02813-2>.
- [21] He J, Fang A, Yu S, Shen X, Li K. Dietary nonheme, heme, and total iron intake and the risk of diabetes in adults: Results from the China health and nutrition survey. *Diabetes Care* 2020;43:776–84. <https://doi.org/10.2337/DC19-2202>.
- [22] Joffin N, Gliniak CM, Funcke JB, Paschoal VA, Crewe C, Chen S, et al. Adipose tissue macrophages exert systemic metabolic control by manipulating local iron concentrations. *Nature Metabolism* 2022 4:11 2022;4:1474–94. <https://doi.org/10.1038/s42255-022-00664-z>.
- [23] Man Y, Xu T, Adhikari B, Zhou C, Wang Y, Wang B. Iron supplementation and iron-fortified foods: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2022;62:4504–25. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1876623>.
- [24] Nguyen M, Tadi P. Iron Supplementation. *StatPearls* 2023.
- [25] Song L, Zhu L, Qiao S, Song L, Zhang M, Xue T, et al. Preparation, characterization, and bioavailability evaluation of antioxidant phosvitin peptide-ferrous complex. *J Sci Food Agric* 2024;104:3090–9. <https://doi.org/10.1002/JSFA.13200>.

- [26] Man Y, Xu T, Adhikari B, Zhou C, Wang Y, Wang B. Iron supplementation and iron-fortified foods: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2022;62:4504–25. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1876623>.
- [27] Chiou KL, Montague MJ, Goldman EA, Watowich MM, Sams SN, Song J, et al. Rhesus macaques as a tractable physiological model of human ageing. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 2020;375. <https://doi.org/10.1098/RSTB.2019.0612>.
- [28] Arnsten AFT, Datta D, Leslie S, Yang ST, Wang M, Nairn AC. Alzheimer's-like pathology in aging rhesus macaques: Unique opportunity to study the etiology and treatment of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2019;116:26230–8. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1903671116/ASSET/86832879-19DC-4AB3-AF05-6A87BEC530D9/ASSETS/GRAPHIC/PNAS.1903671116FIG07.JPEG>.
- [29] Shvartsman M, Bilican S, Lancrin C. Iron deficiency disrupts embryonic haematopoiesis but not the endothelial to haematopoietic transition. *Scientific Reports* 2019 9:1 2019;9:1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42765-y>.
- [30] Sinha S, Pereira-Reis J, Guerra A, Rivella S, Duarte D. The Role of Iron in Benign and Malignant Hematopoiesis. *Antioxid Redox Signal* 2021;35:415. <https://doi.org/10.1089/ARS.2020.8155>.
- [31] Komatsu N, Arita K, Mitsui H, Nemoto T, Hanaki K. Efficacy and safety of ferric citrate hydrate compared with sodium ferrous citrate in Japanese patients with iron deficiency anemia: a randomized, double-blind, phase 3 non-inferiority study. *Int J Hematol* 2021;114:8. <https://doi.org/10.1007/S12185-021-03123-9>.
- [32] Zhou L, Mozaffaritarab S, Kolonics A, Kawamura T, Koike A, Kéringier J, et al. Long-term iron supplementation combined with vitamin B6 enhances maximal oxygen uptake and promotes skeletal muscle-specific mitochondrial biogenesis in rats. *Front Nutr* 2023;10. <https://doi.org/10.3389/FNUT.2023.1335187/FULL>.
- [33] Tomosugi N, Koshino Y, Ogawa C, Maeda K, Shimada N, Tomita K, et al. Oral Iron Absorption of Ferric Citrate Hydrate and Hecpudin-25 in Hemodialysis Patients: A Prospective, Multicenter, Observational Riona-Oral Iron Absorption Trial. *Int J Mol Sci* 2023;24. <https://doi.org/10.3390/IJMS241813779>.
- [34] Udroui I, Sgura A. Rates of erythropoiesis in mammals and their relationship with lifespan and hematopoietic stem cells aging. *Biogerontology* 2019;20:445–56. <https://doi.org/10.1007/S10522-019-09804-7/METRICS>.
- [35] Shi L, Huang C, Luo Q, Rogers E, Xia Y, Liu W, et al. The association of iron and the pathologies of Parkinson's diseases in MPTP/MPP+-induced neuronal degeneration in non-human primates and in cell culture. *Front Aging Neurosci* 2019;11. <https://doi.org/10.3389/FNAGI.2019.00215/FULL>.
- [36] Sangkhae V, Nemeth E. Placental iron transport: The mechanism and regulatory circuits. *Free Radic Biol Med* 2019;133:254–61. <https://doi.org/10.1016/J.FREERADBIOMED.2018.07.001>.
- [37] Sandri BJ, Lubach GR, Lock EF, Kling PJ, Georgieff MK, Coe CL, et al. Correcting iron deficiency anemia with iron dextran alters the serum metabolomic profile of the infant Rhesus Monkey. *Am J Clin Nutr* 2021;113:915–23. <https://doi.org/10.1093/AJCN/NQAA393>.
- [38] Malerba M, Louis S, Cuvellier S, Shambat SM, Hua C, Gomart C, et al. Epidermal hepcidin is required for neutrophil response to bacterial infection. *J Clin Invest* 2020;130:329–34. <https://doi.org/10.1172/JCI126645>.
- [39] Puri S, Kumar R, Rojas IG, Salvatori O, Edgerton M. Iron Chelator Deferasirox Reduces Candida albicans Invasion of Oral Epithelial Cells and Infection Levels in Murine Oropharyngeal Candidiasis. *Antimicrob Agents Chemother* 2019;63. [https://doi.org/10.1128/AAC.02152-18/SUPPL\\_FILE/AAC.02152-18-S0001.PDF](https://doi.org/10.1128/AAC.02152-18/SUPPL_FILE/AAC.02152-18-S0001.PDF).
- [40] Ni S, Yuan Y, Kuang Y, Li X. Iron Metabolism and Immune Regulation. *Front Immunol* 2022;13:816282. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2022.816282/BIBTEX>.
- [41] Seo E, Kang H, Choi H, Choi W, Jun HS. Reactive oxygen species-induced changes in glucose and lipid metabolism contribute to the accumulation of cholesterol in the liver during aging. *Aging Cell* 2019;18. <https://doi.org/10.1111/ACEL.12895>.
- [42] Staniek HZ, Król E, Wójciak RW. The Interactive Effect of High Doses of Chromium(III) and Different Iron(III) Levels on the Carbohydrate Status, Lipid Profile, and Selected Biochemical Parameters in Female Wistar Rats. *Nutrients* 2020, Vol 12, Page 3070 2020;12:3070. <https://doi.org/10.3390/NU12103070>.
- [43] Liberal Á, Pinela J, Vivar-Quintana AM, Ferreira ICFR, Barros L. Fighting Iron-Deficiency Anemia: Innovations in Food Fortificants and Biofortification Strategies. *Foods* 2020;9. <https://doi.org/10.3390/FOODS9121871>.
- [44] Donker AE, van der Staaij H, Swinkels DW. The critical roles of iron during the journey from fetus to adolescent: Developmental aspects of iron homeostasis. *Blood Rev* 2021;50:100866. <https://doi.org/10.1016/J.BLRE.2021.100866>.
- [45] Camaschella L, Nai A, Silvestri L. Iron metabolism and iron disorders revisited in the hepcidin era. *Haematologica* 2020;105:260–72. <https://doi.org/10.3324/HAEMATOL.2019.232124>.
- [46] Gracheva M, Klencsár Z, Homonnay Z, Solti Á, Péter L, Machala L, et al. Revealing the nuclearity of iron citrate complexes at biologically relevant conditions. *BioMetals* 2023;1–15. <https://doi.org/10.1007/S10534-023-00562-1/FIGURES/6>.
- [47] Ciceri P, Falleni M, Tosi D, Martinelli C, Cannizzo S, Marchetti G, et al. Therapeutic Effect of Iron Citrate in Blocking Calcium Deposition in High Pi-Calcified VSMC: Role of Autophagy and Apoptosis. *Int J Mol Sci* 2019;20. <https://doi.org/10.3390/IJMS20235925>.