

**Міністерство охорони здоров'я України
Вінницький національний медичний університет
ім. М.І. Пирогова**

БУРЕГА ІГОР ЮРІЙОВИЧ

УДК: 612.33612.111.13357.088.657.086612.392.4.053

**ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ СИРОВАТКИ КРОВІ ТВАРИН ОТРИМАНОЇ ЗА
УМОВ ПОПЕРЕДНЬОГО МОДЕЛЮВАННЯ СТАНУ СТИМУЛЯЦІЇ ТА
ПРИГНІЧЕННЯ ЕРИТРОПОЕЗУ НА РІВЕНЬ СИРОВАТКОВОГО ЗАЛІЗА
(ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)**

14.03.03 – нормальна фізіологія

**Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук**

Вінниця – 2018

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Запорізькому державному медичному університеті МОЗ України.

Науковий керівник:

– доктор біологічних наук, професор **Куш Оксана Георгіївна**, Запорізький державний медичний університет, завідувач кафедри нормальної фізіології.

Офіційні опоненти:

– доктор медичних наук, професор **Йолтухівський Михайло Володимирович**, Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова, завідувач кафедри нормальної фізіології;

– доктор медичних наук, професор **Вастьянов Руслан Сергійович**, Одеський національний медичний університет, завідувач кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології.

Захист відбудеться «15» січня 2019 р. о 10⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 05.600.02 при Вінницькому національному медичному університеті ім. М. І. Пирогова (21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова (21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56).

Автореферат розісланий «7» грудня 2018 р.

**Учений секретар
спеціалізованої вченої ради**

І.М. Кириченко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Останнім часом увагу фізіологів, патофізіологів та клініцистів привертає проблема регуляції гомеостазу заліза, що є вкрай важливим процесом для нормальної життєдіяльності організму. Порушення метаболізму заліза в організмі, його дефіцит або надмірний вміст, визначають патогенез більшості захворювань (Лубянова И. П., 2010). Порушення в регуляції гомеостазу заліза, викликанні спадковими або набутими причинами, призводять до дефіциту заліза в організмі і, таким чином, можуть викликати серйозні хвороби. При нестачі заліза, яке надходить з їжею, розвивається дефіцит заліза, а потім залізодефіцитна анемія (ЗДА) (Muckenthaler M., 2008; Toledano M., Kozler E., Goldstein L., 2009). З усіх анемії найпоширенішою є залізодефіцитна анемія, яка становить приблизно 80 % всіх анемії. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я на 2013 рік, ЗДА є найбільш поширеним станом серед вагітних жінок - близько 90 % та у дітей віком до 16 років, близько 70 % (Борис Е. Н., Онищик Л. Н., 2015; Тихомиров А. Л., Сарсания С. В., Кочарян А. А., 2006) і ця проблема залишається актуальною для сучасної медицини, незважаючи на великі успіхи в діагностиці й терапії ЗДА. Гомеостаз заліза в організмі підтримується за рахунок реутилізації еритроцитів та в результаті регуляції всмоктування в тонкій кишці. Кишкове всмоктування заліза є суворо регульованим процесом, що складається з декількох етапів з участю відновлення заліза з депо, поглинання заліза через апікальну мембрану ентероцитів дванадцятипалої кишки, внутрішньоклітинного зберігання і переміщення заліза через базолатеральну мембрану (Frazer D., Anderson G., 2003). Ключову роль у цій системі відіграє гепсидин – гормон, що регулює надходження заліза в організм (Wei-Na Kong et al., 2008; Wiczorek L., Hirth P., Schoppe K., 1991). У природних умовах чинником, що впливає на вироблення гепсидину, є кровотеча й гемолітична анемія, при яких необхідне посилення всмоктування заліза в кишці та вивільнення його з депо. У цьому стані зміни експресії гепсидину мають компенсаторний характер і спостерігається пригнічення синтезу гепсидину в печінці при анемії і гіпоксії, спричиненої *in vivo* та *in vitro*, саме гіпоксія є безпосередньою причиною цього явища (Nicolas G., Chauvet C., Viatte L., 2002). Подальші дослідження показали, що хронічна гіпоксія протягом 30 днів викликає в щурів послаблення експресії гепсидину (Leung P., Srai S., Mascarenhas M., 2005). Проте надалі виявилось, що для зменшення вироблення гепсидину недостатньо самих по собі анемії і тканинної гіпоксії (Pak M., Lopez M., Gabayan V., 2006). Ефект гіпоксії змінюється інгібіторами еритропоезу. Таким чином, регуляція синтезу гепсидину виявилася пов'язаною з посиленням еритропоезу. Однією з основних функцій еритропоетину (ЕПО) є стимулювання проліферації, диференціювання та становлення еритроїдних клітин-попередників, у результаті чого відбувається збільшення синтезу червоних кров'яних клітин (Krantz S., 1991). За останні 10 років було відкрито велику кількість чинників, що мають пряму дію, а так само, факторів, що не мають безпосереднього впливу на експресію гепсидину, але впливають на нього через еритропоез, що контролюється дією еритропоетину (Mastrogiannaki M., Matak P., Keith B., 2009). Одним з останніх на сьогоднішній день відкритих тонких гуморальних факторів, що опосередковано впливають на активність метаболізму заліза в організмі є сполука білкового походження еритроферон (Kautz L., Jung G., Nemeth E., 2014). Еритроферон відноситься до гор-

монів і виробляється еритробластиками у відповідь на вплив еритропоєтину. Однак необхідна подальша робота для визначення рецептора(ів) еритроферону, а також інших факторів, що контролюють експресію гепсидину та, як наслідок, збереження константи рівня заліза в організмі (Kautz L., Jun G., Erika V., 2014), що може мати першочергове значення при розробці заходів діагностики, ефективного лікування та профілактики станів, пов'язаних з порушенням регуляції метаболізму заліза. Вищезазначене свідчить про актуальність обраного напрямку досліджень, визначає їх мету та завдання.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Тема дисертації затверджена вченою радою Запорізького державного медичного університету МОЗ України (протокол № 8 від 19 березня 2015 р.) та проблемною комісією “Нормальна і патологічна фізіологія” НАМН та МОЗ України (протокол № 5 від 29 січня 2015 р.). Виконання дисертації було координоване з плановою науково-дослідною роботою кафедри нормальної фізіології Запорізького державного медичного університету «Дослідження механізмів метаболізму заліза в умовах стимуляції і пригнічення еритропоезу», (2012-2017, № держ. реєстрації 0107U005121), шифр теми Ін.14.03.03.13/к.

Мета дослідження. Встановити вплив сироватки крові щурів, отриманої за умов попереднього моделювання стану стимуляції та пригнічення еритропоезу, на рівень сироваткового заліза у тварин.

Завдання дослідження.

1. Встановити вплив, введеної сироватки крові щурів-донорів, на підвищення вмісту заліза в сироватці крові щурів-реципієнтів на всіх експериментальних моделях зміненого еритропоезу, а саме моделювання гіпоксичної гіпоксії, введення еритропоєтину, відтворення стану гемолітичної анемії.

2. Виявити вплив сироватки крові отриманої від еритропоєтинстимульованих тварин на рівень показників заліза, що досліджували у щурів групи «реципієнти» за умов збільшеної кількості заліза та пригніченого еритропоезу.

3. Встановити залежність підвищення рівня сироваткового заліза, загальної залізовв'язуючої здатності сироватки крові, ненасиченої залізовв'язуючої здатності сироватки крові, відсотку насичення трансферину від потреб організму в залізі у тварин реципієнтів експериментальної групи після введення їм сироватки крові еритропоєтинстимульованих щурів.

4. Виявити тривалість змін показників рівня сироваткового заліза, загальної залізовв'язуючої здатності сироватки крові, ненасиченої залізовв'язуючої здатності сироватки крові, відсотку насичення трансферину в сироватці крові референтної групи щурів після введення їм сироватки крові еритропоєтинстимульованих тварин.

5. Дослідити вплив безбілкової фракції сироватки крові тварин зі змодельованим станом стимуляції еритропоезу на зміни рівня сироваткового заліза, загальну залізовв'язуючу здатність сироватки крові, ненасичену залізовв'язуючу здатність сироватки крові, відсоток насичення трансферину в організмі щурів групи «реципієнти».

Об'єкт дослідження – вплив сироватки крові, отриманої після стимуляції еритропоезу на рівень сироваткового заліза у щурів референтної групи.

Предмет дослідження – показники змін еритрону, рівня сироваткового заліза, загальної залізо зв'язуючої здатності сироватки крові, ненасиченої залізо зв'язуючої здатності сироватки крові та відсотку насичення трансферину.

Методи дослідження: – клініко-лабораторний метод - визначення показників кількості ретикулоцитів, еритроцитів, гемоглобіну та гематокриту; біохімічний метод - визначення показників сироваткового заліза, загальної залізо зв'язуючої здатності сироватки крові, ненасиченої залізо зв'язуючої здатності сироватки крові, відсоток насичення трансферину; математичний метод – для статистичного аналізу застосовували двосторонній непараметричний критерій Манна-Уїтні, кореляційний аналіз проводили з використанням критерію Спірмана.

Наукова новизна отриманих результатів. У результаті проведеного дослідження вперше встановлено та описано вплив сироватки крові тварин, що отримана за умов попереднього моделювання стану стимуляції чи пригнічення еритропоезу, на зміни рівня сироваткового заліза в референтних тварин. У роботі, на декількох експериментальних моделях, доведено, що сироватка крові, що отримана за умов стимуляції еритропоезу, збільшує вміст сироваткового заліза та при цьому не впливає на еритропоез. Встановлено, що введення сироватки крові тварин зі стимульованим еритропоезом викликає приріст сироваткового заліза незалежно від потреб організму в залізі. Виявлено, що введення сироватки крові еритропоезостимульованих тварин викликає збільшення показників рівня заліза з максимальним приростом на 3-тю добу та подальшим поступовим його зниженням до меж фізіологічної норми на 7-му добу без додаткової корекції.

Практичне значення отриманих результатів. Результати дослідження розширюють сучасні знання про дію факторів гуморальної регуляції опосередкованої дії, які запускають каскад змін в системі гепсидин–рівень заліза та впливають на вміст заліза в сироватці крові.

Отримані результати дозволять по-новому оцінити вплив стимуляції та пригнічення еритропоезу на гуморальні механізми регуляції метаболізму заліза в організмі.

Результати дослідження можуть використовуватися в науково-дослідній роботі та навчальному процесі, а також при розробці нових підходів до діагностики та лікування порушень метаболізму заліза в організмі в практичній медицині.

Основні результати дисертації впроваджені в навчальний процес кафедр нормальної фізіології Запорізького державного медичного університету, Харківського національного медичного університету, ВДНЗУ “Української медичної стоматологічної академії”, ДЗ “Дніпропетровської медичної академії, Вінницького національного медичного університету ім. М.І.Пирогова, Одеського національного медичного університету, що підтверджується актами впровадження.

Особистий внесок здобувача. Дисертантом самостійно проведено патентно-інформаційний пошук, аналіз наукової літератури з обраної теми, освоєно та виконано моделі відтворення гемолітичної анемії, гіпоксичної гіпоксії, еритроцитозу. Самостійно здійснено всі біохімічні та лабораторні дослідження. Дисертантом самостійно проведена статистична обробка отриманих результатів, написані розділи «Огляд літератури», «Загальна методика й основні методи дослідження» та усі роз-

діли власних досліджень. Аналіз та узагальнення результатів дослідження й обґрунтування висновків проведено спільно з науковим керівником.

Апробація матеріалів дисертації. Основні фрагменти результатів дисертаційної роботи представлені в доповідях на наукових конференціях: Актуальні питання експериментальної, клінічної медицини та фармації: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю (25-26 жовтня, 2012 р., м. Луганськ), Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики: 72 Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю, присвячена Дню науки "Медицина та фармація ХХІ століття - крок у майбутнє" (19-20 квітня, 2012 р., м. Запоріжжя), ХІХ з'їзд Українського фізіологічного товариства ім. П.Г. Костюка з міжнародною участю, присвячений 90-річчю від дня народження академіка П.Г. Костюка (м. Львів, 2015), Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів "Здобутки теоретичної медицини – в практику охорони здоров'я" (26-27 березня, 2015., м. Запоріжжя), ІІІ науково-практичної конференції до 80-річчя від дня народження професора Володимира Миколайовича Круцяка (19-22 травня, 2016 р., м. Чернівці), Всеукраїнська конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю "Сучасні аспекти медицини і фармації – 2016", присвяченої Дню науки (12-13 травня, 2016 р., м. Запоріжжя), Науково-практична конференція за участі міжнародних спеціалістів "Індивідуальна анатомічна мінливість органів, систем, тканин людини та її значення для практичної медицини і стоматології" (м. Полтава, 2016).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 13 наукових праць, із них: 6 статей у наукових фахових виданнях України (п'ять статей вийшли у виданнях, що входять до переліку міжнародних наукометричних баз); 7 публікацій – у матеріалах науково-практичних конференцій, з'їздів, конгресів з міжнародною участю.

Обсяг та структура дисертації. Дисертація представлена українською мовою на 173 сторінках (з яких 111 сторінок залікового машинописного тексту) і складається з анотації, змісту, переліку умовних позначень, вступу, огляду літератури, загальної методики й основних методів дослідження, розділу власних досліджень, аналізу й узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел, з яких 28 викладені кирилицею і 214 – латиницею, а також трьох додатків. Дисертація ілюстрована 37 рисунками і 19 таблицями.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали і методи дослідження. У дослідженні використано кров та сироватку крові 598 білих статевозрілих безпорідних лабораторних щурів самців масою 200-250 грам. Тварин отримано з віварію «Біомодельсервіс» ІФТ АМН України, ветеринарне свідотство № 277664, № 278532, № 042408, № 042560, № 696359, № 804397. Кількість тварин за групами та експериментами представлено в таблиці 1.

При роботі з експериментальними тваринами керувалися «Європейською конвенцією з захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 18.03.1986 р.), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Дослідження затверджені Комісією з питань біоетики Запорізького

державного медичного університету протокол №2 від 20.03.2014 року та протокол №4 від 03.06.2016 року.

Таблиця 1

Загальна кількість тварин за групами та експериментальними моделями

Експериментальні Моделі	Групи тварин		
	Референтна	експеримент	контроль
Гіпоксична гіпоксія	10	90	42
Введення розчину епобіокрину		54	36
Гемолітична анемія		78	36
Посттрансфузійна поліцитемія		144	18
Введення безбілкового розчину сироватки		54	36
Усього	10	420	168

Експериментальні групи тварин: І – референтна група щурів (досліджувані показники яких були використані для порівняння з групами контролю та групами експерименту); Д – донори – щури донори сироватки крові на яких було змодельовано стани стимуляції та пригнічення еритропоезу; Р/Р1 – реципієнти / реципієнти 1 – щури яким вводили сироватку крові тварин групи Д; Р2 – реципієнти 2 – тваринам якої було введено сироватку крові щурів групи Р1; К – щури, які перебували в умовах дотримання ідентичного протоколу для кожної з піддослідних груп та обраних термінів спостереження, але не мали впливу діючого фактору експериментальних моделей.

Моделювання еритропоезинудукованої стимуляції еритропоезу. Одноразове введення 0,4 мл розчину Еробиостін з розрахунку 150 МО/кг підшкірно (Каркищенко Н. Н., 2010; Хабриев Р. У., 2005).

Моделювання гіпоксичної гіпоксії. Гіпоксичну гіпоксію відтворювали шляхом поміщення щурів в барокамеру протягом 18 годин з барометричним тиском (460 мм.р.ст.) та парціальним тиском кисню (55 мм.р.ст.). Тиск кисню в барокамері відповідав умовній «висоті» 4000 метрів над рівнем моря (Каркищенко Н. Н., 2010).

Моделювання гемолітичної анемії. Гемолітичну анемію моделювали шляхом одноразового введення 2 % розчину солянокислого фенолгідразину в дозі 150 мг/кг внутрішньоочеревинно (Мальшев Н., Тетерина В., 1964).

Моделювання посттрансфузійної поліцитемії. Поліцитемію відтворювали шляхом одноразового введення в черевну порожнину щурів 80 % еритроцитарної суспензії (3,5 мл/100 г), яку отримували після триразового відмивання венозної крові тварин фізіологічним розчином (Гудим В. И., Иванова В. С., 1977; Захаров Ю. М., Россохин А. Г., 2002).

Моделювання еритропоетиніндукованої стимуляції еритропоезу з подальшим осадженням білків сироватки крові. Одноразове введення 0,4 мл розчину Еробіосрін з розрахунку 150 МО/кг підшкірно та з наступним приготуванням безбілкового екстракту, яке здійснювали шляхом додаванням 20 % трихлороцтової кислоти до сироватки крові в пропорції 1:1 з наступним центрифугуванням (1500 обертів, 10 хвилин) та вирівнюванням Ph до 7,4 0,5 молярним розчином бікарбонату натрію під контролем Ph-метра MP 220 (Каркищенко Н. Н., 2010; Хабриев Р. У., 2005; Алексеев В. В., 2013).

Статистична обробка результатів дослідження. Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою програми STATISTICA® for Windows 6.1 (StatSoft Inc., США, № ліцензії AXXR712D833214FAN5). Для оцінки статистичної значущості відмінностей застосовували двосторонній непараметричний критерій Манна-Уїтні. Статистично значущими вважали відмінності при $p < 0,05$. Кореляційний аналіз проводили з використанням критерію Спірмана, при цьому коефіцієнт кореляції вважали достовірним при $p < 0,05$. Дані представлені у вигляді середнього арифметичного значення \pm стандартна помилка середнього. Достовірні дані виділені відповідними символами.

Результати дослідження та їх аналіз. Для вивчення впливу екзогенного еритропоетину та сироватки крові, отриманої за умов моделювання еритропоетиніндукованої стимуляції еритропоезу, на метаболізм заліза крові у межах експерименту було проведено дві серії дослідів. У першій серії експерименту на 3-тю добу відбувалося стабільне зростання кількості ретикулоцитів до $42,1 \pm 0,8$ % відносно $25,4 \pm 0,9$ % першої доби. Кількість загального заліза майже вдвічі збільшилась ($48,3 \pm 0,8$ мкмоль/л, відносно $25,3 \pm 0,7$ мкмоль/л на першу добу). Підвищення стосувалось і даних загальної залізо зв'язуючої здатності сироватки крові ($85,7 \pm 1,2$ мкмоль/л, проти $47,6 \pm 1$ мкмоль/л референтних значень). Ідентична динаміка спостерігалась стосовно показника ненасиченої залізо зв'язуючої здатності сироватки крові, що збільшився з $22,9 \pm 1,1$ мкмоль/л до $38,4 \pm 0,8$ мкмоль/л, але необхідно звернути увагу на те, що відсоток насичення трансферину на третю добу експерименту становив $54,3 \pm 2,4$ %, що не мало достовірної різниці з показником першої доби, проте залишався вірогідно меншим відносно референтного значення ($68,6 \pm 2,6$ %). При цьому різниця між вмістом еритроцитів, гемоглобіну та показником гематокриту також перестала бути статистично значущою порівняно з попереднім терміном спостереження. Проведення порівняльної оцінки результатів, отриманих при аналізі даних останньої 5-ї доби спостереження, показало тенденцію зниження всіх досліджуваних показників до рівня показників референтної групи. У другій серії на 3-тю добу спостереження встановлено, що кількість ретикулоцитів, еритроцитів, гемоглобіну та показник гематокриту, знаходилися в межах допустимих варіаційних відхилень. Однак встановлено стабільне, статистично значуще підвищення кількості загального заліза ($86,3 \pm 0,6$ мкмоль/л), загальної залізо зв'язуючої здатності сироватки крові ($122,6 \pm 1,2$ мкмоль/л), ненасиченої залізо зв'язуючої здатності сироватки крові ($38,3 \pm 1,3$ мкмоль/л) та насичення трансферину ($72,6 \pm 2,2$ мкмоль/л). Обробка усереднених показників на заключну 5-ту добу другої серії експерименту виявила тенденцію повернення до меж встановленої референтної норми.

Наступним завданням нашого дослідження було вивчити вплив на тварин групи реципієнтів, сироватки крові, отриманої від щурів зі стимульованим еритропоезом під впливом гіпоксичної гіпоксії. Проведено дві серії дослідів. У першій серії дослідів на 1-шу добу спостерігалось підвищення кількості ретикулоцитів до $26,1 \pm 0,9$ ‰ відносно $18,2 \pm 0,7$ ‰ групи контролю. Загальний вміст кількості еритроцитів, гемоглобіну та гематокрит залишались однаковими в обох дослідних групах ($7,64 \pm 0,4$ ‰, $155,3 \pm 7,9$ г/л, $43,1 \pm 0,9$ ‰ відповідно). У групі донорів на 30 % знижувався показник загального заліза сироватки крові з $48,2 \pm 0,9$ мкмоль/л до $44,3 \pm 1,1$ мкмоль/л, загальна залізовв'язуюча здатність сироватки крові, відсоток насичення трансферину зменшувався з $67,1 \pm 2,1$ % до $55,7 \pm 2,7$ %. Різниця показників параметрів, що досліджувались, була достовірною стосовно всіх вказаних величин ($p < 0,05$). На 3-ю добу в тварин 2-ї експериментальної групи після введення сироватки крові тварин зі стимульованим гіпоксичною гіпоксією еритропоезом показники еритроцитів, гемоглобіну та гематокриту не відрізнялися від показників попереднього терміну спостереження, даних контрольної групи та не перевищували меж референтних показників. Кількість ретикулоцитів сягала максимального значення – $41,1 \pm 0,7$ ‰, що достовірно перевищує показник групи донорів на 1-у добу ($26,1 \pm 0,9$ ‰) та майже в 2,5 рази перевищує вміст ретикулоцитів контрольної групи ($18,2 \pm 0,7$ ‰). Якщо на 1-у добу після змодельованого стану гіпоксичної гіпоксії у тварин донорів вміст загального заліза сироватки крові зменшувався відносно контролю з $32,4 \pm 0,9$ мкмоль/л до $24,2 \pm 0,9$ мкмоль/л, то на 3-ю добу експерименту ми спостерігали різке збільшення до $44,6 \pm 1,2$ мкмоль/л відносно $24,2 \pm 0,9$ мкмоль/л попереднього терміну спостереження та відносно $33,7 \pm 0,8$ мкмоль/л у контрольних тварин. Схожа динаміка виявлена, також, з показником загальної залізовв'язуючої здатності сироватки крові – достовірне зменшення відносно контролю на 1-у добу та, майже, двократне перевищення ($79,3 \pm 1,8$ мкмоль/л) відносно показника донорів 1-ї доби експерименту ($44,3 \pm 1,1$ мкмоль/л) та групи контролю 3-ої доби експерименту ($48,1 \pm 0,8$ мкмоль/л). Протягом експерименту показник ненасиченої залізовв'язуючої здатності сироватки крові в групі донорів мав тенденцію поступового збільшення з $21,1 \pm 0,8$ мкмоль/л на 1-у добу до $31,2 \pm 1,4$ мкмоль/л 3-ї доби. У групі контролю ненасичена залізовв'язуюча здатність сироватки крові складала $15,1 \pm 1$ мкмоль/л. Відсоток насичення трансферину з 1-ї до 3-ї доби зменшився з $55,7 \pm 2,7$ % до $52,3 \pm 2,8$ % та залишався в обох термінах спостереження достовірно нижчим від значення групи контролю, де він сягав $68,2 \pm 2,2$ %. У другій серії тваринам групи P1 (реципієнти сироватки крові) з референтними показниками сироватки крові внутрішньом'язово вводили 2 мл сироватки крові тварин, які були поміщені в барокамеру, де піддавалися дії гіпоксичної гіпоксії протягом 18 годин. Досліджувані параметри визначали на 1-у, 3-ю, 5-у, 7-у доби. У всі терміни спостереження показники ретикулоцитів, еритроцитів, гемоглобіну та гематокриту залишались незмінними на фоні контролю. У виведених з експерименту тварин на 3-ю добу спостереження зростає вміст загального заліза сироватки крові ($79,2 \pm 0,8$ мкмоль/л), загальної залізовв'язуючої здатності сироватки крові ($110,2 \pm 0,8$ мкмоль/л), ненасиченої залізовв'язуючої здатності сироватки крові ($42,0 \pm 2,2$ мкмоль/л) та відсоток насичення трансферину ($79,0 \pm 2,7$ %). На 5-ту добу спо-

стерігається тенденція до зниження всіх показників. На 7-му добу всі параметри повертаються до меж фізіологічної норми.

У наступному фрагменті дисертаційного дослідження нами була використана модель відтворення стану гемолітичної анемії. Було проведено три експериментальні серії. У першій серії на 3-тю добу в тварин групи Д (щурів, яким введено одноразово 2 % розчин солянокислого фенілгідразину в дозі 150 мг/кг внутрішньоочеревинно) вихідні показники перед отриманням аутосироватки крові вказували на ознаки стану стимуляції еритропоезу та часткового гемолізу й становили: дворазове підвищення, відносно групи контролю, кількості ретикулоцитів до $49,2 \pm 1$ %, майже втричі зменшився вміст еритроцитів та гемоглобіну ($2,81 \pm 0,5 \times 10^{12}$ /л, $48,7 \pm 6,2$ г/л відповідно). Показник гематокриту впав до $17,4 \pm 0,6$ % відносно $43,2 \pm 0,8$ % у контрольній групі тварин. Вміст сироваткового заліза збільшився з $32,4 \pm 0,9$ мкмоль/л до $48,5 \pm 1,1$ мкмоль/л в групі Д. Загальна залізовв'язуюча здатність сироватки крові та ненасичена залізовв'язуюча здатність сироватки крові в групі донорів вірогідно збільшується ($78,6 \pm 1,6$ мкмоль/л та $29,3 \pm 1,2$ мкмоль/л відповідно). Не достовірно зменшується відсоток насичення трансферину з $68,6 \pm 2,6$ % до $63,4 \pm 2,6$ %. У другій серії експерименту, сироватку крові щурів, які отримали одноразову ін'єкцію 2 % розчину солянокислого фенілгідразину в дозі 150 мг/кг внутрішньоочеревинно, ввели референтним тваринам (реципієнти 1). Третя серія досліджує сироватку крові, що взято на 3-ю добу в щурів, яким введено одноразово 2 % розчин солянокислого фенілгідразину в дозі 150 мг/кг внутрішньоочеревинно, було введено референтним тваринам (реципієнти 1). Після введення сироватки крові у тварин реципієнтів 1 на 1-шу добу відмічається підвищення кількості ретикулоцитів до $36,3 \pm 1,1$ % при $18,2 \pm 0,7$ % в контрольній групі. У показниках кількості еритроцитів, гемоглобіну, гематокриту, у порівнянні з групою К, достовірних змін не виявлено. Вміст загального заліза збільшується до $39,7 \pm 1$ мкмоль/л відносно групи контролю ($32,4 \pm 0,9$ мкмоль/л). Збільшується показник загальної залізовв'язуючої здатності сироватки крові й складає $57,1 \pm 1,7$ мкмоль/л, також збільшується ненасичена залізовв'язуюча здатність сироватки крові до $19,2 \pm 1,4$ мкмоль/л відносно групи К ($15,2 \pm 0,8$ мкмоль/л), тваринам якої, згідно протоколу, було введено 2 мл фізіологічного розчину внутрішньом'язово. Введення референтним тваринам сироватки крові, отриманої від щурів групи реципієнти 1, у якій були відсутні стимулятори еритропоезу, не викликало статистично вірогідних змін у показниках кількості ретикулоцитів, еритроцитів, гемоглобіну та гематокриту протягом 5-ти діб експерименту. На 3-тю добу кількість загального заліза зростає до $89,4 \pm 1,1$ мкмоль/л відносно попереднього терміну спостереження та референтної групи. Загальна залізовв'язуюча здатність сироватки крові становить $120,7 \pm 6,2$ мкмоль/л, що вдвічі перевищує показники тварин попередньої доби експерименту, та майже втричі результат групи контролю. Збільшується показник ненасиченої залізовв'язуючої здатності сироватки крові до $35,6 \pm 1,4$ мкмоль/л по відношенню до групи І - референтна група щурів ($15,2 \pm 0,8$ мкмоль/л). Відсоток насичення трансферину становить $73,8 \pm 2,4$ %, що вище від показника контрольної групи ($68,6 \pm 2,6$ %). З 3-ї до 5-ї доби спостерігалась тенденція до зниження показників загального заліза до $51,4 \pm 0,8$ мкмоль, загальної залізовв'язуючої здатності сироватки крові до

79,2±2,7 мкмоль, ненасиченої залізовв'язуючої здатності сироватки крові до 24,7±0,9 мкмоль/л та відсотку насичення трансферину до 66,8±2,6 %.

У наступних експериментальних групах описані зміни в показниках транспортної функції заліза щурів з пригніченим еритропоезом шляхом моделювання трансфузійної поліцитемії після введення сироватки крові від тварин з попередньо стимульованим еритропоезом. На 5-ту добу щурам 3-ої групи, яким попередньо вводили 3,5 мл/100 г 80 % суспензії гомологічних еритроцитів внутрішньоочеревинно, було введено сироватку еритропоетинстимульованих тварин 4-ої. Через добу після введення сироватки крові щурів 4-ої групи групи тваринам 3-ої групи встановлено зменшення кількості ретикулоцитів (3,4±0,5 %). Перевищували показники контрольної групи кількість еритроцитів ($13,1 \pm 0,75 \times 10^{12}/\text{л}$), гемоглобіну (184,2±8,2 г/л), показник гематокриту (56,7±0,5 %). Були збільшені вдвічі за показники в контрольній групі загальне залізо крові (83,1±1,4 мкмоль/л) та загальна залізовв'язуюча здатність сироватки крові (96,5±1,2 мкмоль/л). Ненасичена залізовв'язуюча здатність сироватки крові (13,3±9,8 мкмоль/л) залишалася зменшеною. Відсоток насичення трансферину (86,1±2,7 %) збільшувався в порівнянні з показником 1-ої групи. Після 3-ої доби кількість ретикулоцитів (6,9±0,6 %) вдвічі перевищувала кількість у попередньому терміні спостереження та не відрізнялася від показника на 8-му добу 3-ої групи. Еритроцити ($10,7 \pm 0,9 \times 10^{12}/\text{л}$) зменшувалися порівняно з попереднім строком спостереження та не мали різниці з 8-ою добою 3-ої групи. Збільшувалася кількість гемоглобіну (168,4±8,4 мкмоль/л) відносно контрольної групи, але зменшувалася відносно 1-ої доби 4-ої групи та не відрізнялася від 8-ої доби 3-ої групи. Гематокрит (49,6±0,7 %) був вищий за показник в групі I, але менший від попереднього строку спостереження та не мав достовірної різниці з 8-ою добою 3-ої групи, яким було введено 3,5 мл/100 г 80 % суспензії гомологічних еритроцитів внутрішньоочеревинно. Також було встановлено на 3-ю добу достовірне зростання вмісту загального заліза (82,8±0,5 мкмоль/л) відносно референтної групи. На 8-у добу в 3-й групі спостереження показники вмісту загального заліза повернулися до попередніх. Зростав показник загальної залізовв'язуючої здатності сироватки крові (100,1±1,4 мкмоль/л) на 3-тю добу експерименту, що вірогідно вище за показник 1-ої групи (щури з референтними показниками). На 8-у добу в 3-й групі спостереження загальна залізовв'язуюча здатність сироватки крові повернулася до попередньої. Збільшилася ненасичена залізовв'язуюча здатність сироватки крові (17,7±0,7 мкмоль/л), що перевищує показник контрольної групи, попереднього строку спостереження, а також 8-ої доби 3-ої групи. Відсоток насичення трансферину (82,2±2,8 %) не змінювався порівняно з попереднім терміном спостереження та 8-ою добою 3-ої групи, проте залишався завищеним відносно показників референтної групи. На 5-ту добу експерименту після введення сироватки крові щурів 4-ої групи (цим тваринам було введено одноразово 0,4 мл розчину Еробіосгін з розрахунку 150 МО/кг підшкірно) тваринам 3-ої групи кількість ретикулоцитів (12,1±0,7 %) була достовірно меншою від кількості ретикулоцитів в 1-ій групі (щури з референтними показниками) та більшою відносно 3-ої доби спостереження та незмінною порівняно з 10-ою добою 3-ої групи. Зростала кількість еритроцитів ($8,19 \pm 0,6 \times 10^{12}/\text{л}$) відносно показників у контрольній групі, хоча була нижчою порівняно з 3-ої добою та не відрізнялася від 10-ої доби 3-ої групи. Вміст ге-

моглобіну не відрізнявся в усіх досліджуваних групах. Показник гематокриту ($44,2 \pm 0,7$ %) зменшувався відносно попереднього терміну спостереження і не мав суттєвої різниці з контрольною групою та 10-ою добою 3-ої групи. Загальне залізо ($75,4 \pm 0,6$ мкмоль/л) майже вдвічі перевищувало показник 1-ої групи, зменшувалося порівняно з попереднім терміном спостереження та залишалось незмінним порівняно з 10-ою добою 3-ої групи. Зростала загальна залізовв'язуюча здатність сироватки крові ($95,2 \pm 1,3$ мкмоль/л) відносно показників у референтній групі. На 10-ту добу в 3-ій групі вміст загального заліза не відрізнявся від показників попереднього терміну спостереження. Ненасичена залізовв'язуюча здатність сироватки крові ($20,4 \pm 0,5$ мкмоль/л) була вищою за показники в 1-ій групі а також за показники 3-ої групи попереднього терміну спостереження та на 10-ту добу. Відсоток насичення трансферину ($78,5 \pm 2,6$ %) зростав та достовірно перевищував показник контрольної групи, але зменшувався проти попереднього строку спостереження та 10-ої доби 3-ої групи.

Наступним завданням було встановити дію безбілкової фракції сироватки крові щурів зі стимульованим еритропоезом на функцію транспорту заліза у тварин групи «реципієнти». Тварини групи донорів (Д) сироватки крові першої серії експерименту мали всі ознаки стимульованого еритропоезу. Результати досліджуваних показників даної серії не мали достовірних розбіжностей з показниками моделі епобіокриніндукованої стимуляції еритропоезу. У другій серії щурів групи Р (реципієнти), на 1-шу добу значної різниці в показниках кількості ретикулоцитів, еритроцитів, гемоглобіну, гематокриту по відношенню до референтної групи не виявлено. Показники сироваткового заліза достовірно зростали ($48,6 \pm 0,9$ мкмоль/л). Параметри загальної залізовв'язуючої здатності сироватки крові збільшилися до ($69,7 \pm 0,7$ мкмоль/л) та ненасиченої залізовв'язуючої здатності сироватки крові до ($19,5 \pm 0,7$ мкмоль/л) у порівнянні з групою контролю. Відсоток насичення трансферину ($73,3 \pm 2,5$ %) достовірно збільшувався. На 3-тю добу кількість ретикулоцитів, еритроцитів, гемоглобіну, показник гематокриту вірогідно не відрізнялися відносно контрольної групи. Більше ніж вдвічі зростали показники сироваткового заліза ($83,2 \pm 0,7$ мкмоль/л), загальної залізовв'язуючої здатності сироватки крові ($118,3 \pm 1,4$ мкмоль/л) та ненасиченої залізовв'язуючої здатності сироватки крові ($35,1 \pm 1,4$ мкмоль/л). Статистично значуще ($73,7 \pm 2,4$ %), відносно референтних значень ($68,6 \pm 2,6$ %), збільшувався показник насичення трансферину. З 3-ї до 5-ї доби відбувалося зниження показників загального заліза, загальної залізовв'язуючої здатності сироватки крові, ненасиченої залізовв'язуючої здатності сироватки крові та відсотку насичення трансферину до меж референтних значень.

Обрані для дослідження експериментальні моделі, методи дослідження, досліджувані показники та терміни спостереження забезпечують повне та інформативне уявлення про дію сироватки крові тварин зі стимульованим еритропоезом при введенні її референтним тваринам з референтними показниками на рівень сироваткового заліза незалежно від стану еритропоезу та рівня заліза в організмі.

ВИСНОВКИ

Проведено комплексне дослідження з використанням фізіологічних, клініко-лабораторних, біохімічних та статистичних методів з метою вирішення однієї з

конкретних наукових задач нормальної фізіології, щодо механізмів регуляції метаболізму заліза в організмі залежно від інтенсивності еритропоезу. Описано гуморальну дію сироватки крові, що було взято у тварин після стимуляції та пригнічення еритропоезу. Результатом цієї дії є тимчасове підвищення показника сироваткового заліза, загальної залізоzv'язуючої здатності сироватки крові, ненасиченої залізоzv'язуючої здатності сироватки крові, відсотка насичення трансферину порівняно з контролем. Досліджено дію сироватки крові, з якої вилучені білкові речовини.

1. Виявлене підвищення вмісту заліза в сироватці крові щурів-реципієнтів у всіх використаних експериментальних моделях стимуляції еритропоезу, а саме стану гіпоксичної гіпоксії, де сироваткове залізо зростає до $79,2 \pm 0,8$ мкмоль/л; після введення еритропоетину – до $86,3 \pm 0,6$ мкмоль/л, стану гемолітичної анемії – до $89,4 \pm 1,1$ мкмоль/л порівняно з групою контролю ($32,4 \pm 0,9$ мкмоль/л), вказує на встановлену закономірність змін рівня сироваткового заліза як відповідь на вплив сироватки крові щурів-донорів незалежно від виду стимуляції еритропоезу.

2. Після введення сироватки крові еритропоетинстимульованих тварин, у групі щурів-реципієнтів на фоні стану пригнічення еритропоезу та надлишку заліза ($76,4 \pm 0,7$ мкмоль/л), підвищується рівень сироваткового заліза ($82,8 \pm 0,5$ мкмоль/л), загальної залізоzv'язуючої здатності сироватки крові ($100,1 \pm 1,4$ мкмоль/л), ненасиченої залізоzv'язуючої здатності сироватки крові ($17,7 \pm 0,7$ мкмоль/л), порівняно з ($76,4 \pm 0,7$ мкмоль/л, $92,5 \pm 1,6$ мкмоль/л, $12,4 \pm 0,6$ мкмоль/л відповідно) контрольної групи, що вказує на дію чинника незалежно від стану еритропоезу та рівня заліза в організмі.

3. Після введення сироватки крові еритропоетинстимульованих тварин у щурів-реципієнтів, на фоні достовірного підвищення вмісту сироваткового заліза ($86,3 \pm 0,6$ мкмоль/л), загальної залізоzv'язуючої здатності сироватки крові ($122,6 \pm 1,2$ мкмоль/л), ненасиченої залізоzv'язуючої здатності сироватки крові ($47,6 \pm 1$ мкмоль/л), не спостерігалось суттєвих змін кількості ретикулоцитів ($8,1 \pm 0,9$ %) у порівнянні з контролем ($18,2 \pm 0,7$ %), що вказує на відсутність у щурів групи «реципієнти» ознак стимуляції еритропоезу. Введення сироватки крові еритропоетинстимульованих тварин підвищує рівень заліза в експериментальних групах реципієнтів незалежно від стану еритропоезу та потреб організму в залізі.

4. У всіх експериментальних групах щурів-реципієнтів, яким було введено сироватку крові еритропоетинстимульованих тварин виявлено поступове підвищення загального заліза, загальної залізоzv'язуючої здатності сироватки крові, ненасиченої залізоzv'язуючої здатності сироватки крові протягом перших 3-х діб, що досягло максимальних значень на 72 годину експерименту: загальне залізо - $86,3 \pm 0,6$ мкмоль/л; загальна залізоzv'язуюча здатність сироватки крові - $122,6 \pm 1,2$ мкмоль/л; ненасичена залізоzv'язуюча здатність сироватки крові – $47,6 \pm 1$ мкмоль/л. Зазначені показники поступово знижувалися на 5-у добу до $46,8 \pm 0,7$ мкмоль/л – загальне залізо; $67,3 \pm 0,6$ мкмоль/л - загальна залізоzv'язуюча здатність сироватки крові; $22,4 \pm 2,1$ мкмоль/л – ненасиченої залізоzv'язуючої здатності сироватки крові, та досягали референтних значень на 7-у добу без додаткової корекції, що вказує на реактивні зміни балансу сироваткового заліза.

5. В окремі серії експерименту з сироватки крові щурів-донорів зі стимульованим еритропоезом, що був індукований введенням еритропоетину, були видалені

білкові сполуки. Введення безбілкової фракції сироватки крові щурів-донорів викликало в щурів-реципієнтів підвищення рівня сироваткового заліза ($83,2 \pm 0,7$ мкмоль/л), загальної залізов'язуючої здатності сироватки крові ($118,3 \pm 1,4$ мкмоль/л) та ненасиченої залізов'язуючої здатності сироватки крові ($35,1 \pm 1,4$ мкмоль/л). Ці результати вказують, що на збільшення рівня заліза в сироватці крові в умовах посилення еритропоезу, діє фактор небілкової природи.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Современные аспекты метаболизма железа и его регуляции / В. И. Филимонов, И. Ю. Бурега, М. А. Тихоновская, Г. И. Бессараб // Запорожский медицинский журнал. – 2012. – № 4. – С. 54-59. *(Дисертантом самостійно проведено аналіз літератури, зібраний матеріал для дослідження, обробка результатів).*

2. Burega I. Yu. Features of humoral regulation mechanism of iron delivery to the bone marrow in condition of hypoxic hypoxia action / I. Yu. Burega, V. I. Filimonov // Вісник ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2015. – Vol. 15, № 3. – Р. 238-242. *(Видання входить до переліку міжнародних наукометричних баз), (Дисертантом самостійно проведено аналіз літератури, зібраний матеріал для дослідження, обробка результатів).*

3. Бурега І. Ю. Особливості динаміки показників рівня заліза крові щурів при введенні безбілкового екстракту сироватки крові після стимуляції еритропоезу / І. Ю. Бурега // Вісник проблем біології і медицини. – 2015. – Т.1, № 4. – С. 54-58. *(Видання входить до переліку міжнародних наукометричних баз).*

4. Бурега І. Ю. Особливості динаміки змін показників транспорту та насичення заліза крові у щурів при введенні сироватки крові тварин після стимуляції еритропоезу / І. Ю. Бурега // Вісник проблем біології і медицини. – 2015. – Т. 2, № 4. – С. 394-398. *(Видання входить до переліку міжнародних наукометричних баз).*

5. Бурега І. Ю. Особливості змін показників метаболізму заліза крові щурів після введення сироватки крові, отриманої за умов моделювання експериментальної гемолітичної анемії / І. Ю. Бурега // Вісник ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2016. – Т. 16, № 1. – С. 184-188. *(Видання входить до переліку міжнародних наукометричних баз).*

6. Бурега І. Ю. Особливості метаболізму заліза у щурів з пригніченим еритропоезом після введення сироватки крові еритропоезостимульованих тварин / І. Ю. Бурега // Вісник проблем біології і медицини. – 2016. – Т. 1, № 1. – С. 136-140. *(Видання входить до переліку міжнародних наукометричних баз).*

7. Бурега І. Ю. Сравнительная характеристика динамики изменения уровня железа плазмы крови при стимуляции эритропоеза различными путями / И. Ю. Бурега // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики: 72 Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю, присвячена Дню науки "Медицина та фармація XXI століття – крок у майбутнє". 19-20 квітня, 2012 р., м. Запоріжжя. – № 2 (додаток). – С. 6-7.

8. Бурега І. Ю. Особливості динаміки показників периферійної крові за умов стимуляції еритропоезу / І. Ю. Бурега // матеріали VI (68) міжнародного науково-практичного конгресу студентів та молодих вчених "Актуальні проблеми сучасної медицини", 15-17 жовтня, 2014 р., м. Київ. – №4 (83). – С. 258.

9. Динамика уровня транспортного железа после стимуляции эритропоеза / В. И. Филимонов, И. Ю. Бурега // Научные труды IV съезда физиологов СНГ, 8–12 октября, 2014 г., Сочи – Дагомыс. – С. 109. *(Дисертантом самостійно проведено аналіз літератури, зібраний матеріал для дослідження, обробка результатів)*.

10. Особенности транспорта железа плазмой крови в условиях повышенного гемолиза эритроцитов, но различной активности кроветворения / В. И. Филимонов, И. Ю. Бурега, Г. В. Пиртя // Фізіологічний журнал: матеріали ХІХ-го з'їзду Українського фізіологічного товариства ім. П.Г. Костюка з міжнародною участю, присвяченого 90-річчю від дня народження академіка П.Г.Костюка. – 2014. Т. 60, № 3(додаток). – С. 96-97. *(Дисертантом самостійно проведено аналіз літератури, зібраний матеріал для дослідження, обробка результатів)*.

11. Бурега І. Ю. Особливості змін показників червоної крові та обміну заліза щурів при введенні безбілкового екстракту сироватки крові після стимульованого еритропоезу / І. Ю. Бурега // Здобутки теоретичної медицини - в практику охорони здоров'я: всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів, 26-27 березня, 2015., м. Запоріжжя. - С. 50-51.

12. Burega I. Yu. Changes that occur in indices of blood iron metabolism in rats following the administration of blood serum obtained from animals with modelled experimental haemolytic anaemia / I. Yu. Burega // Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю, присвячена дню науки «Сучасні аспекти медицини і фармації». 12-13 травня, 2016 р., м. Запоріжжя. – С. 9-10.

13. Burega I. Yu. Features of iron metabolism in rats with the erythropoiesis oppression after administration of blood serum of erythropoietin-stimulated animals / I. Yu. Burega // Природничі читання 2016: матеріали ІІІ науково-практичної конференції до 80-річчя від дня народження професора Володимира Миколайовича Круцяка, 19-22 травня, 2016 р., м. Чернівці. – С. 115-116.

АНОТАЦІЯ

Бурега І.Ю. Особливості впливу сироватки крові тварин отриманої за умов попереднього моделювання стану стимуляції та пригнічення еритропоезу на рівень сироваткового заліза (експериментальне дослідження). – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.03 – нормальна фізіологія. – Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова МОЗ України, Вінниця, 2018.

Дослідження присвячено вивченню впливу сироватки крові тварин, що отримана за умов попереднього моделювання стану стимуляції та пригнічення еритропоезу на зміни рівня сироваткового заліза в референтної групи тварин. У роботі на експериментальних моделях гіпоксичної гіпоксії, введенні розчину епобіокрину, гемолітичній анемії та посттрасфузійній поліцитемії доведено, що отримана за умов стимуляції еритропоезу сироватка крові збільшує показники вмісту сироваткового заліза та при цьому не впливає на сам еритропоез. Встановлено, що введення сироватки крові тварин зі стимульованим еритропоезом викликає приріст сироваткового заліза незалежно від потреб організму в залізі. Виявлено, що введення

сироватки крові еритропоетинстимульованих тварин викликає збільшення показників рівня заліза з максимальним приростом на 3-тю добу та подальшим поступовим його зниженням до меж фізіологічної норми на 7-му добу без додаткової корекції. Отримані результати вказують на те, що серед речовин, які підвищують рівень заліза в сироватці крові, отриманої за умов посилення еритропоезу, діє фактор небілкової природи.

Ключові слова: еритропоез, еритропоетин, гіпоксія, анемія, поліцитемія, сироватка крові, залізо, щури.

АННОТАЦІЯ

Бурега І.Ю. Особенности влияния сыворотки крови животных полученной при условии предварительного моделирования состояния стимуляции и угнетения эритропоеза на уровень сывороточного железа (экспериментальное исследование). – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 - нормальная физиология. – Винницкий национальный медицинский университет им. Н. И. Пирогова МЗ Украины, Винница, 2018.

Исследование посвящено изучению влияния сыворотки крови животных, полученной при условии предварительного моделирования состояния стимуляции и угнетения эритропоеза на изменения уровня сывороточного железа у референтной группы животных. В работе на экспериментальных моделях гипоксической гипоксии, введения раствора эпобиокрина, гемолитической анемии и посттрасфузионной полицитемии доказано, что сыворотка крови, полученная в условиях стимуляции эритропоеза, увеличивает показатели содержания сывороточного железа и при этом не влияет на сам эритропоез. Установлено, что введение сыворотки крови животных со стимулированным эритропоезом вызывает прирост сывороточного железа независимо от потребностей организма в железе. Выявлено, что введение сыворотки крови эритропоетинстимулированных животных вызывает увеличение показателей уровня железа с максимальным приростом на 3-и сутки и последующим постепенным его снижением до границ физиологической нормы на 7-е сутки без дополнительной коррекции. Полученные результаты указывают на то, что среди веществ, которые повышают уровень железа в сыворотке крови, полученной в условиях усиления эритропоеза, действует фактор небелковой природы.

Ключевые слова: эритропоез, эритропоетин, гипоксия, анемия, полицитемия, сыворотка крови, железо, крысы.

ANNOTATION

Burega I.Yu. Features of influence of the animals' blood serum received in condition the previous modeling of status of erythropoiesis stimulation and its oppression on the level of serum iron (the experimental research). - The manuscript.

Dissertation to obtain a scientific degree of the Candidate of Medical Sciences in specialty 14.03.03 – Normal physiology. – National Pirogov Memorial Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Vinnytsya, 2018.

Statistically significant increase of the reticulocytes quantity in the group of donors (D) after modeling of erythropoiesis stimulation by injection to rats the solution of Epo-

biocrin verified a reproduction the status of erythropoiesis stimulation. The administration of blood serum of animals of the donors group to intact rats (the group of recipients – R) has caused, on the background of unchanged quantity of the reticulocytes, erythrocytes, hemoglobin and hematocrit, the significant increase the content of total blood iron (TI), blood serum total iron binding capacity (TIBC), unsaturated iron binding capacity (UIBC) and the percentage of transferrin saturation. The increment of the researched indicators was detecting from the first day, with the maximal indicators on the third experimental day. On the fifth day, the parameters were gradually decreased relatively the previous term of observation and have a tendency of the return to the borders of the physiological norm.

Staying of animals of the donors group, during eighteen ours, in condition of hypoxic hypoxia has stimulated the erythropoiesis through increase production of endogenous erythropoietin. This testified almost double increment of reticulocytes in the blood and decrease of the indicators of blood serum iron, specifically TI, TIBC (the exception was only the indicator of unsaturated iron binding capacity). In rats of the first recipient group on the third day after administration of the donors blood serum the iron content in the blood serum was increase, but the quantity of reticulocytes was statistically significant exceeded the norm, that indicates the existence of erythropoietin in the animals blood. With the aim to avoid the action of erythropoietin and its metabolites was conducted re-administering of blood serum of the first recipient group to intact rats (the recipient group 2 – R 2). As in the previous experimental model, the injection to animals-recipients 2 the blood serum with the signs of stimulated erythropoiesis (from the recipients 1 – R 1) caused the statistically significant increase of studying parameters of the blood serum. The dynamics of changes the indicators of serum iron in the donors group 2 of animals correlated with the results of previous experiment across time parameters. Gradually increase of content the iron was detected from the first day, with the maximal indicators on the third experimental day, later was observed its decrease on the fifth day and the return to the borders of the physiological norm on the seventh day after administration.

After imitation of model of phenylhydrazine-induced hemolytic anemia in rats-donors was detected increase, almost threefold, the quantity of reticulocytes; the threefold decrease of content of hemoglobin and double decrease the indicators of erythrocytes and hematocrit. The content of total iron, blood serum total iron binding capacity, unsaturated iron binding capacity were veraciously increase, the percentage of transferrin saturation was decrease in comparison with indicators of the norm for rats. In the group R 1 manifested the action of the residues of endogenous erythropoietin in the form of veraciously increase of quantity the reticulocytes. Consistent with the conditions of experiment the serum, which was administered to animals-recipients, should not suppose to have the signs of stimulated erythropoiesis. For the elimination of action of erythropoietin and its metabolites was conducted re-administering of blood serum of the first recipient group to intact animals (the recipient group 2 – R 2). On the background of unchanged quantity of the reticulocytes was indicated veracious increment the content of blood iron, TIBC, UIBC and the percentage of transferrin saturation from the first to the third days after administration. From the third to the fifth days was observed the tendency to decrease of indicators, which were studied.

Intraperitoneal administration to the 80 % suspension of the homologous erythrocytes (when calculating 3,5 ml/per 100 g animals mass) caused in animals of the recipients group the condition of posttransfusion polycythemia. The donors of serum (D 2) were the rats with erythropoietin – induced erythropoiesis. The group of recipients were divided into group R 1 (the animals with condition of posttransfusion polycythemia) and group R 2, the animals of which were administrated the blood serum of group D 2. Comparison were conducted between the groups R 1 and R 2. In the group of recipients 1 on the 6th, 8th and 10th days after modeling, the level of studied indicators, excluding reticulocytes content, was gradually decreased with statistically validity relatively the previous term of observation. In recipients 2 the same indicators on the 1st, 3rd and 5th experimental days, which corresponded the terms of the 6th, 8th and 10th days of recipients 1, were decreased gradually and were not statistically significant. The validity difference between the velocities of decrease the indicators of serum iron content in the group R 2 relatively R 1 indirectly confirms that the blood serum of erythropoietin – stimulated animals increased the iron level both under conditions of stimulation and in conditions of oppression the erythropoiesis.

In the separate series of experiment from blood serum of rats-donors with stimulated erythropoiesis that was induced by erythropoietin, the protein compounds were removed. In animals, which were administered by the blood serum with absence of erythropoietin and protein fractions, the quantity of reticulocytes during five days was not differ from indicator of control group. The number of erythrocytes, hemoglobin and hematocrit in the R group during five days was not changed, relatively the indicators in the control group, however the content of serum iron and indicators of TIBC were increased from the first to the third days. Changes of indicator of the transferrin saturation were not statistically significant. From the third day, the serum iron content was decreased and aimed to indicators of the physiological norm. Matching the findings of our study showed that after administration the blood serum received in condition of previous modeling the status of erythropoiesis stimulation and oppression caused the veracious increment of the serum iron level in intact rats, without affecting the erythropoiesis regardless of the organism' iron need.

Keywords: erythropoiesis, erythropoietin, hypoxia, anemia, polycythemia, blood serum, iron, rats.

СПИСОК СКОРОЧЕНЬ

ЕПО	– еритропоетин
ЗДА	- залізодефіцитна анемія
ЗЗ	– загальне залізо
ЗЗЗЗ	– загальна залізовв'язуюча здатність сироватки крові
НЗЗЗ	– ненасичена залізовв'язуюча здатність сироватки крові
HIF	– hypoxia-inducible factor
RHZ	– phenylhydrazine
ERFE	– erythroferrone

Підписано до друку 23.11.2018 р. Замовл. № 690.
Формат 60x90 1/16 Ум. друк. арк. 0,8 Друк офсетний.
Тираж 100 примірників.

Вінниця. Друкарня ВНМУ ім. М. І. Пирогова, Пирогова, 56.

