

ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
МОЗ УКРАЇНИ

ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ім. М.І. ПИРОГОВА МОЗ УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Бурега Ігор Юрійович

УДК: 612.33612.111.13357.088.657.086612.392.4.053

ДИСЕРТАЦІЯ

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

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ І.Ю. Бурега

Науковий керівник: Куш Оксана Георгіївна, доктор біологічних наук,
професор

Запоріжжя, Вінниця - 2018

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). – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.03 «Нормальна фізіологія» – Запорізький державний медичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2018; Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова МОЗ України, Вінниця, 2018.

Достовірне збільшення в групі донорів (Д) кількості ретикулоцитів після моделювання стимуляції еритропоезу шляхом введення щурам розчину Епобіокрину, підтвердило відтворення стану стимульованого еритропоезу. Введення сироватки крові тварин групи донорів референтним тваринам (група реципієнти (Р)) на фоні незмінної кількості ретикулоцитів, еритроцитів, гемоглобіну та гематокриту, достовірно збільшувались: вміст сироваткового загального заліза (ЗЗ), загальної залізовв'язуючої здатності сироватки крові (ЗЗЗЗ), ненасиченої залізовв'язуючої здатності сироватки крові (НЗЗЗ) та відсоток насичення трансферину. Приріст досліджуваних показників спостерігався з 1-ої доби, на 3-тю добу експерименту сягав максимуму, на 5-ту добу поступово зменшувався, відносно попереднього терміну спостереження, маючи тенденцію повернення до меж фізіологічної норми.

18 годинне перебування тварин в умовах гіпоксичної гіпоксії стимулювало еритропоез за рахунок збільшення вироблення у тварин групи донорів ендогенного еритропоетину, про що свідчив майже двократний приріст ретикулоцитів у крові та зниження показників заліза плазми крові, а саме ЗЗ, ЗЗЗЗ, (виняток становив лише показник ненасиченої залізовв'язуючої здатності сироватки крові). У щурів 1 групи реципієнтів на 3-тю добу після введення сироватки крові тварин групи донорів, вміст заліза в плазмі крові зростає, проте кількість ретикулоцитів достовірно перевищує норму, що

свідчить про наявність в крові тварин еритропоетину. Щоб уникнути в експерименті впливу еритропоетину та його метаболітів, проведено переведення сироватки крові тварин 1 групи реципієнтів референтним щурам (група реципієнтів 2 (Р 2)). Як і в попередньому експерименті, введення тваринам-реципієнтам 2 сироватки крові щурів з ознаками стимульованого еритропоезу (реципієнти 1 (Р 1)) спостерігалось статистично значуще підвищення досліджуваних параметрів сироваткового заліза. Динаміка змін показників сироваткового заліза у тварин групи донорів 2 корелює за часовими параметрами з результатами попередньописаного експерименту. Поступове підвищення вмісту заліза з максимальним приростом на 3-тю добу, зменшенням на 5-ту, та поверненням до норми на 7-му добу.

Після відтворення моделі фенілгідразиніндукованої гемолітичної анемії у щурів-донорів майже втричі збільшилась кількість ретикулоцитів, втричі зменшився вміст гемоглобіну, вдвічі – еритроцитів та гематокрит. Достовірно підвищився вміст загального заліза, загальної та ненасиченої залізо зв'язуючої здатності сироватки крові, зменшився відсоток насичення трансферину у порівнянні з показниками норми, встановленої для щурів. В групі Р1 проявлялась дія заплишків ендogenous еритропоетину у вигляді достовірно збільшеної кількості ретикулоцитів. Згідно умов експерименту сироватка, що вводилась тваринам-реципієнтам не повинна була мати ознак стимульованого еритропоезу. Для виключення дії ендogenous еритропоетину та його метаболітів було проведено повторне переведення сироватки крові групи Р1 референтним тваринам групи реципієнтів 2 на фоні незмінної кількості ретикулоцитів, було виявлено достовірний приріст вмісту сироваткового заліза, ЗЗЗЗ, НЗЗЗ та відсотка насичення трансферину з 1-ї до 3-ї доби після введення. З 3-ї до 5-ї доби спостерігалась тенденція до зниження показників що визначались.

Внутрішньоочеревене введення щурам 80 % суспензії гомологічних еритроцитів (з розрахунку 3,5 мл/100 г маси тварини) викликало у тварин

групи реципієнтів стан посттрансфузійної поліцитемії. Донорами сироватки (Д 2) були щури з еритропоетиніндукованим еритропоезом. Група реципієнтів була розділена на групу Р 1 (тварини зі станом посттрансфузійної поліцитемії), та Р 2 тваринам якої на 5 добу експерименту ввели сироватку крові групи Д 2. Порівняння проводилось між групами Р 1 та Р 2. В групі реципієнтів 1 на 6-ту, 8-му та 10-ту добу після моделювання, рівень досліджуваних показників, за винятком вмісту ретикулоцитів, поступово знижувався маючи статистичну достовірність відносно попереднього терміну спостереження. У реципієнтів 2 ті ж показники на 1-шу, 3-тю та 5-ту добу експерименту, що відповідало термінам 6-ї, 8-ї та 10-ї доби реципієнтів 1, знижувались повільно, та не були статистично значущими. Достовірна різниця між швидкістю зменшення вмісту показників сироваткового заліза в групі Р 2, відносно групи Р 1, опосередковано підтверджує що сироватка крові еритропоетинстимульованих тварин збільшує рівень заліза як за умов стимуляції так і пригнічення еритропоезу.

В окремій серії експерименту із сироватки крові щурів-донорів зі стимульованим еритропоезом, що був індукований еритропоетином, були видалені білкові сполуки. У тварин, яким вводилася сироватка крові, що не містила еритропоетину, та не містила білкової фракції, кількість ретикулоцитів протягом 5-ти діб не відрізнялась від показника групи контролю. Кількість еритроцитів, гемоглобіну та гематокрит в групі Р протягом 5-ти діб не змінювались, відносно показників групи контролю, проте вміст сироваткового заліза, показники ЗЗЗЗ та збільшувалися з 1-ї до 3-ї доби. Зміни показника насичення трансферину не були статистично значущими. Починаючи з 3-ї доби значення вмісту сироваткового заліза зменшувалися, прагнучи до показників фізіологічної норми.

У результаті проведеного дослідження вперше досліджено та описано вплив сироватки крові тварин отриманої за умов попереднього моделювання стану стимуляції та пригнічення еритропоезу на зміни рівня сироваткового заліза у референтних тварин. В роботі, на декількох експериментальних

моделях, доведено, що сироватка крові отриманої за умов стимуляції еритропоезу 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 еритропоестинстимульованих 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. Описані результати вказують на те, що серед речовин, які підвищують рівень заліза в сироватці крові отриманої за умов посилення еритропоезу, діє фактор небілкової природи.

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 в сироватці крові. Отримані результати дозволять по-новому оцінити взаємодію 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 у 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.

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

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). – Qualifying scientific work on the manuscript rights.

Dissertation for the candidate degree of medicine by specialty 14.03.03 «Normal physiology». – Zaporizhzhia State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2018; National Pirogov Memorial Medical University of the 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 Epobiocrin 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.

Through the research first was studied and described the influence of the animals' blood serum received in condition the previous modeling of status of erythropoiesis stimulation and oppression on changes of the serum iron in intact animals. In the research in a few experimental models was proved that the blood serum, which was received in conditions of erythropoiesis stimulation, enhances the indicators of serum iron content, but does not affect the erythropoiesis. It was determined that administration the blood serum of erythropoietin – stimulated animals caused the increase of indicators of iron level with the maximal increment on the third experimental day and its further gradually decrease to the borders of the physiological norm on the seventh day without additional medicinal correction. The described results indicate that among the substances, which increase the iron level in blood serum received in condition of amplified erythropoiesis, acts the factor of non-protein nature.

The researches results expand the contemporary knowledge about action the factors of humoral regulation of indirect effect, which initiate the cascade of changes in system “hepcidin – iron level” and influence on its content in blood serum. The obtained results allow estimating in a new way the interaction between the erythropoiesis stimulation, its oppression and the humoral regulatory mechanisms of iron metabolism in organism. The researches results can be used in the research work and in the educational process. Furthermore, in development the new approaches to diagnostics and treatment a disorder of iron metabolisms in clinical medicine.

The main dissertational results introduced into the educational process at the departments of Normal Physiology Zaporizhzhia State Medical University; National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya; SE "Dnipropetrovsk Medical Academy of Health Ministry of Ukraine"; HSEE of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy"; Odessa National Medical University that confirmed by acts of implementation.

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

Список публікацій здобувача за темою дисертації:

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Филимонов В. И. 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.

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. - P. 238-242.

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.

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.

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.

6. Бурега І. Ю. Особливості метаболізму заліза у щурів з пригніченим еритропоезом після введення сироватки крові еритропоетинстимульованих тварин / І. Ю. Бурега // Вісник проблем біології і медицини. - 2016. - Т. 1, № 1. - С. 136-140.

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

7. Бурега И. 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 ХХІ 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. Бурега И. Ю. 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.

10. Бурега И. Ю. 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.

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 erythropoietn-stimulated animals / I. Yu. Burega // Природничі читання 2016: матеріали III науково-практичної конференції до 80-річчя від дня народження професора Володимира Миколайовича Круцяка, 19-22 травня, 2016 р., м. Чернівці. – С. 115-116.

ЗМІСТ

	Стор.
АНОТАЦІЇ	2
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	16
ВСТУП	17
РОЗДІЛ 1. ОБМІН ЗАЛІЗА В ОРГАНІЗМІ ТА ЙОГО РЕГУЛЯЦІЯ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	23
1.1 Вміст заліза в організмі.....	23
1.2. Всмоктування заліза епітеліоцитами дванадцятипалої кишки.....	24
1.3. Надходження заліза в кров. Феропортин. Гепсидин.....	26
1.4. Перенесення заліза кров'ю і надходження його в клітини. Трансферин. Феритин.....	34
1.5. Регулювання міграції заліза кров'ю і його зберігання клітинами.....	36
1.6. Регулювання еритропоезу. Еритрон. Стадії еритропоезу.....	39
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	43
2.1 Об'єкт дослідження.....	43
2.2 Моделі дослідження.....	45
2.3 Методи дослідження.....	50
2.4 Статистична обробка результатів дослідження.....	52
РОЗДІЛ 3. ПОРІВНЯННЯ ПОКАЗНИКІВ РЕФЕРЕНТНОЇ ТА КОНТРОЛЬНОЇ ГРУП	53
3.1 Порівняння даних контрольних груп, за умов відтворення ідентичного протоколу кожної експериментальної моделі, з інтактними тваринами.....	53

РОЗДІЛ 4. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МОДЕЛЬ ЕПОБІОКРІНІНДУКОВАНОЇ СТИМУЛЯЦІЇ ЕРИТРОПОЕЗУ	58
4.1 Динаміка показників вмісту заліза сироватки крові в експериментальних групах після введення їм розчину епобіокрину.....	58
4.2 Динаміка показників вмісту заліза сироватки крові в експериментальних групах після введення їм сироватки крові отриманої за умов моделювання еритропоетиніндукованої стимуляції еритропоезу.....	62
РОЗДІЛ 5. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МОДЕЛЬ ВІДТВОРЕННЯ СТАНУ ГІПОКСИЧНОЇ ГІПОКСІЇ	68
5.1 Динаміка змін показників вмісту заліза сироватки крові у тварин групи донори після відтворення гіпоксичної гіпоксії.....	68
5.2 Динаміка змін показників вмісту заліза сироватки крові у тварин групи реципієнтів після введення їм сироватки крові отриманої за умов моделювання стимуляції еритропоезу шляхом відтворення гіпоксичної гіпоксії.....	71
РОЗДІЛ 6. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МОДЕЛЬ ВІДТВОРЕННЯ СТАНУ ГЕМОЛІТИЧНОЇ АНЕМІЇ	78
6.1 Динаміка показників вмісту заліза сироватки крові у тварин групи донори за умов моделювання стану гемолітичної анемії.....	78
6.2 Динаміка показників вмісту заліза сироватки крові у тварин групи донори після введення їм сироватки крові отриманої за умов моделювання стимуляції еритропоезу шляхом відтворення гемолітичної анемії.....	80
РОЗДІЛ 7. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МОДЕЛЬ ВІДТВОРЕННЯ СТАНУ ПОСТТРАНСФУЗІЙНОЇ ПОЛІЦИТЕМІЇ	87
7.1 Динаміка змін показників вмісту заліза сироватки крові у тварин зі змодельованим станом пригнічення еритропоезу шляхом відтворення посттрансфузійної поліцитемії після введення їм сироватки крові отриманої за умов моделювання еритропоетиніндукованої стимуляції еритропоезу.....	87
РОЗДІЛ 8. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МОДЕЛЬ ВВЕДЕННЯ СИРОВАТКИ КРОВІ БЕЗ БІЛКОВИХ СПОЛУК	95

8.1 Динаміка показників вмісту заліза сироватки крові в експериментальних групах після введення їм розчину епобіокрину.....	95
8.2 Динаміка змін показників вмісту заліза сироватки крові у тварин реципієнтної групи після введення їм сироватки крові отриманої за умов моделювання еритропоєтиніндукованої стимуляції еритропоезу, що не містила білкових сполук.....	98
РОЗДІЛ 9. АНАЛІЗ, ОБГОВОРЕННЯ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ.....	104
ВИСНОВКИ.....	126
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	129
ДОДАТКИ.....	152

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ЕПО – еритропоетин

ЗЗ – загальне залізо

ЗЗЗЗ – загальна залізовв'язуюча здатність сироватки крові

НЗЗЗ – ненасичена залізовв'язуюча здатність сироватки крові

рЕПО – рекомбінантний еритропоетин

ТХО – трихлороцтова кислота

ФГ – фенілгідазин

ERFE – erythroferrone

HIF – hypoxia-inducible factor

IRE – iron-responsive element

PHZ – phenylhydrazine

ВСТУП

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 [9]. 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) [182, 189]. 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 % [8, 3] 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 [65]. Ключову роль у цій системі відіграє гепсидин – гормон, що регулює надходження заліза в організм [235, 161]. У природних умовах чинником, що впливає на вироблення гепсидину, є кровотеча і 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*

in vitro, саме гіпоксія є безпосередньою причиною цього явища [104]. Подальші дослідження показали, що хронічна гіпоксія протягом 30 днів викликає в щурів послаблення експресії гепсидину [197]. Проте надалі виявилось, що для зменшення вироблення гепсидину недостатньо самих по собі анемії і тканинної гіпоксії [183]. 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 [219]. 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 [179]. Одним з останніх на сьогоднішній день відкритих тонких гуморальних факторів, що опосередковано впливають на активність метаболізму заліза в організмі є сполука білкового походження еритроферон [152]. Еритроферон відноситься до гормонів і виробляється еритробластами у відповідь на вплив еритропоетину. 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 [151], 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 залізовв'язуючої здатності сироватки крові, ненасиченої залізовв'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 залізовв'язуючої здатності сироватки крові, ненасиченої залізовв'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 еритропоезистимульованих 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 розділи 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.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

ОБМІН ЗАЛІЗА В ОРГАНІЗМІ ТА ЙОГО РЕГУЛЯЦІЯ

1.1. Вміст заліза в організмі

Залізо відноситься до числа елементів, абсолютно необхідних для процесів життєдіяльності. Залізовмісні білки виявляються в цитоплазмі всіх клітин, починаючи з одноклітинних організмів і закінчуючи людиною. Атоми заліза входять до складу каталітичних центрів цілого ряду ферментів. Такі ферменти беруть участь у багатьох біохімічних реакціях, включаючи окислювально-відновні процеси. Залізо входить до складу молекул гемоглобіну, міоглобіну та інших переносників кисню.

В організмі дорослої людини міститься 4 г заліза [54]. 2,5 г з цієї кількості знаходяться в гемоглобіні. 1 г – у гепатоцитах і макрофагах печінки і селезінки, інша частина – в міоглобіні, цитохромах та інших феропротеїнах.

З огляду на тривалість життя еритроцитів, щодня потрібно 20-25 мг заліза, щоб заповнити його втрату. В нормальних умовах організм отримує велику частину заліза шляхом реутилізації у результаті розпаду залізовмісних клітин, що завершили свій життєвий цикл. Макрофаги печінки, селезінки і кісткового мозку фагоцитують старі або пошкоджені еритроцити, розщеплюють гемоглобін, вивільняють гем, екстрагують з нього залізо, використовуючи гемоксигеназу [145] і віддають залізо в міжклітинну рідину і плазму.

Основну частину запасу заліза в організмі містять гепатоцити і ретикулоендотеліальні клітини, включаючи макрофаги і моноцити. Залізо міститься в цих клітинах у складі спеціалізованого білка феритину.

Тільки 1-2 мг заліза втрачаються організмом протягом доби і поповнюються в результаті всмоктування заліза епітеліоцитами

дванадцятипалої кишки. Однак надходження заліза в організм людини після втрати крові може збільшитися в 20 разів, що вказує на великі резервні можливості регуляції процесу всмоктуванні. У той же час підвищене надходження заліза призводить до його надлишку в організмі, що має місце при вродженому гемохроматозі. Надлишок вільного заліза в плазмі крові викликає токсичний ефект. Він проявляється посиленням окисно-відновних реакцій, появою вільних радикалів, які пошкоджують ліпіди, білки й нуклеїнові кислоти [228].

1.2. Всмоктування заліза епітеліоцитами дванадцятипалої кишки

Вирішальну роль у регулюванні надходження заліза в організм відіграють епітеліоцити дванадцятипалої кишки. Подібно до інших клітин тонкої кишки, вони поляризовані в тому сенсі, що їх апікальна і базолатеральна мембрани мають різну функціональну організацію і відіграють різну роль у процесах всмоктування. Апікальна мембрана здійснює перенесення речовин всередину клітини, а базолатеральна – з клітини в міжклітинну рідину, звідки вони надходять у капіляри.

Перенесення заліза всередину епітеліоцитів дванадцятипалої кишки через апікальну мембрану відбувається різними шляхами. Основним шляхом є перенесення заліза в іонізованій формі. Спочатку тривалентне залізо відновлюється до двовалентного завдяки ферменту фериредуктазі, яка знаходиться на поверхні апікальної мембрани, зверненої в просвіт кишки [37]. Процес переносу іонів заліза в цитозоль здійснюється за допомогою білків-переносників плазматичної мембрани. Найбільше значення має переносник двовалентних металів (Неме Carrier Protein) [111]. Він є одним з інтегральних білків мембрани, який має 12 трансмембранних доменів. Перенесення здійснюється шляхом вторинно активного транспорту спільно з протонами, його рушійною силою є протонний градієнт [111, 195, 187]. Швидкість переносу залежить від величини мембранного потенціалу.

Переносник здійснює перенесення не тільки заліза, але й інших іонів двовалентних металів: цинку, кобальту, марганцю, міді, нікелю і свинцю. Тим не менш, залізо є кращим субстратом для перенесення [187].

Показано також, що мутація гена, відповідального за синтез цього переносника, призводить у мишей до гіпохромної анемії [165, 186]. Функціональне значення переносника двовалентних металів, його роль у перенесенні заліза підтверджена також рядом інших досліджень [166, 216, 206].

Дослідження на щурах показали, що в криптах дванадцятипалої кишки відсутній переносник двовалентних металів [69]. Він виявляється на мікроворсинках епітеліоцитів на плазматичній мембрані при дефіциті заліза в їжі й переважно в цитоплазмі в контрольних тварин. При надлишку заліза переносник знаходився лише в цитоплазмі. Таким чином, було встановлено, що при дефіциті заліза він переміщується з цитоплазми в плазматичну мембрану.

Досліди на тваринах показали, що відсутність вмісту заліза в дієті призводить до різкого підвищення концентрації переносника в дванадцятипалій кишці [101]. Цікаво, що в інших відділах тонкої кишки, де він також виявляється в невеликих концентраціях, такого підвищення не спостерігалось. Про роль переносника двовалентних металів свідчать також дослідження хворих з вродженим гемохроматозом, у яких його концентрація в дванадцятипалій кишці виявилася підвищеною [115].

Поряд з іонізованим залізом, може всмоктуватися в кишці й залізо, що входить до складу гемму. Це було виявлено ще у вісімдесяті роки ХХ століття, коли електронна мікроскопія показала, що гем, введений в просвіт дванадцятипалої кишки тварин, виявляється потім у лізосомах епітеліоцитів [139]. У людей встановлено, що в кишці всмоктується приблизно 20 % гемічного заліза, яке надходить в нього [232].

Надалі був відкритий переносник гема, який локалізується в мікроворсинках дванадцятипалої кишки [185]. Тут же було виявлено високий

вміст мРНК, що бере участь в його синтезі. Показано, що активність переносника регулюється гіпоксією і вмістом заліза в організмі. Передбачається, що гем може переноситися в кровообіг іншим шляхом, ніж залізо [51].

Існують також окремі дані про можливу участь у всмоктуванні заліза інтегринів - трансмембранних клітинних рецепторів, що взаємодіють з позаклітинним середовищем [162, 163].

Залізо, яке надходить в епітеліоцити дванадцятипалої кишки, втрачається б в результаті їх злушення. Однак існує переносник, який забезпечує подальше надходження заліза в кров – феропортин.

1.3. Надходження заліза в кров. Феропортин. Гепсидин

Феропортин відіграє вирішальну роль у процесах переносу заліза від клітин одного типу до клітин інших типів. Він був відкритий та описаний майже одночасно декількома групами дослідників [31, 38].

Дослідження проведені на рибках мутантах *Danio rerio* виявили ген, що кодує синтез специфічного інтегрального мембранного білка в клітинах жовткового мішка [210]. Було показано, що цей білок – феропортин, забезпечує транспорт заліза з жовткового мішка клітин ембріона. Його дефіцит викликає різке зниження утворення гемоглобіну. Роль феропортину, як переносника заліза була продемонстрована також у дослідах на ооцитах жаби *Xenopus* [31]. У людини феропортин був виявлений у мембрані клітин плаценти, де він забезпечує транспорт заліза з материнської крові до плода, а також у базолатеральній мембрані епітеліоцитів дванадцятипалої кишки. Тут феропортин переносить залізо з цитоплазми цих клітин у кров [31].

Аналогічні дані про роль феропортину в перенесенні заліза через базолатеральну мембрану епітеліоцитів дванадцятипалої кишки були отримані в роботі (McKie A., Marciani P., Rolfs A. et al., 2000) [38]. Було

показано, що підвищене утворення феропортину в цих клітинах є патогенетичним фактором при вродженому гемохроматозі.

Феропортин був виявлений в різних тканинах, діяльність яких пов'язана з гомеостазом заліза в організмі. До них відноситься ретикулоендотеліальна система, дванадцятипала кишка та матка при вагітності. Підвищена експресія феропортину в клітинах тканинної культури знижує вміст у них заліза, оскільки феропортин виводиться з клітин. Експресія феропортину регулюється в залежності від вмісту заліза в організмі. Дефіцит заліза викликає підвищення його експресії в клітинах дванадцятипалої кишки [210].

Таким чином, феропортин являє собою мембранний переносник заліза, синтез якого регулюється в залежності від концентрації заліза в організмі й забезпечує його гомеостаз. Роль феропортину в гомеостазі заліза була переконливо показана в дослідженні, проведеному на мишах, у яких глобально або вибірково був інактивован ген, який несе відповідальність за синтез феропортину [32]. У тварин спостерігалось накопичення заліза в епітеліоцитах дванадцятипалої кишки, макрофагах і гепатоцитах, що вказує на ключову роль феропортину в реалізації функцій цих клітин. Наслідки вибіркової інактивації феропортину в кишці підтвердили його ключову роль у процесі всмоктування заліза. Ембріональна летальність у таких тварин показала його необхідність уже на ранніх стадіях онтогенезу. Показано, що феропортин здійснює також перенесення марганцю [177] і кобальту [127].

Молекулярна структура феропортину все ще не з'ясована остаточно. Вона неодноразово піддавалася дослідженню у зв'язку зі спробами встановити біофізичну основу виникнення генетично обумовлених захворювань, пов'язаних з порушенням функцій феропортину. За даними (Liu X., Yang F., Haile D., 2005; Wallace D., Harreis J., Subramaniam V. et al., 2009) [237, 79] феропортин включає 9-12 трансмембранних доменів з локалізацією аміногруп у цитозолі. Не вирішено остаточно питання про четвертинну структуру феропортина – є він мономером або димером [79, 117, 41, 116].

Роль феропортину в трансмембранному перенесенні заліза була показана безпосередньо в дослідях на різних типах клітин, включаючи культури клітин ссавців [92]. Інкубація клітин з залізом призводила в цих дослідях до збільшення його концентрації в цитоплазмі й одночасно до підвищення рівня феритину – білка, що зв'язує залізо. Експресія феропортину призводила до зменшення рівня феритину в клітинах, що свідчило про виведення з них заліза. Транспортна активність феропортину була виміряна також шляхом визначення швидкості виведення радіоактивного ізотопу заліза, який був попередньо введений в цитоплазму ооцитів жаби *Xenopus* [134] і макрофагів миші [173].

Регулюється синтез молекул феропортину в клітинах цілим рядом факторів, які пов'язані з його фізіологічною роллю. Ці фактори впливають на різних стадіях експресії генів, які керують його синтезом. Одним з таких факторів є, анемія, що призводить до гіпоксії. Вона впливає на експресію гену феропортину на рівні транскрипції. Як показали (McKie A., Marciani P., Rolfs A. et al., 2000) [38], у щурів з експериментально викликаною анемією, в епітеліоцитах дванадцятипалої кишки відбувається збільшення рівня мРНК, яка бере участь у синтезі феропортину. Як показали дослідження на мишах з дефіцитом заліза в організмі, посилення транскрипції гену феропортину в дуоденоцитах відбувається під дією специфічного білка індукованого гіпоксією фактора 2 α (Hypoxia inducible factor 2 α - HIF2 α), який утворюється в цих клітинах [188]. На думку авторів, таким шляхом формується реакція організму на гострий або хронічний дефіцит заліза.

Іншим фактором, що впливає на експресію гена феропортину, є вміст гема й заліза. Про це свідчать дані, отримані при дослідженні ретикулоендотеліальних макрофагів миші в тканинній культурі. Видалення заліза з середовища призводило до зменшення рівня мРНК, відповідальної за синтез феропортину, а підвищення рівня заліза – до збільшення її рівня. Цей вплив блокувався актиноміцином, що вказує на зміни, що відбуваються на рівні процесу транскрипції. Після додавання еритроцитів до клітин тканинної

культури вони піддавалися фагоцитозу. При цьому в клітинах відбувалося швидке й значне збільшення рівня специфічної мРНК. Як було встановлено, це явище стало результатом вивільнення заліза з молекули гему [175]. Цей висновок був підтверджений результатами подальших досліджень (Aydemir F., Jenkitkasemwong S., Gulec S. et al., 2009) [100]. Як було показано, у результаті фагоцитозу еритроцитів макрофагами й вивільнення заліза відбувається значне підвищення рівня самого феропортину в цих клітинах, пов'язане з вивільненням заліза. В іншій роботі був продемонстрований двоякий механізм впливу рівня заліза на феропортин у культурі макрофагів миші. У результаті фагоцитозу чужорідних еритроцитів у цих клітинах спостерігалось не тільки посилення транскрипції феропортину, але й посттранскрипційні зміни, пов'язані з локалізацією переносника на плазматичній мембрані. Штучне гальмування вивільнення заліза з гема, у свою чергу, послаблювало зазначені зміни. Вони мали специфічний характер. Інкубація клітин з протопорфирином їх не викликала [52].

Ще одним фактором, що впливає на вироблення феропортину, є запалення. Встановлено, що ліпополісахариди, що виробляються бактеріями при запальному процесі, пригнічують його синтез на рівні транскрипції [160].

Дія феропортину регулюється і на посттрансляційному рівні. Молекули феропортину, синтезовані в клітині, розміщуються на плазматичній мембрані ентероциту. Саме їх концентрація на мембрані визначає кількість заліза, що виводиться з клітини. Вона, у свою чергу, залежить не тільки від швидкості синтезу феропортину, але й від швидкості його поглинання та розпаду всередині клітини. Ці процеси регулюються гепсидином, який синтезується в печінці [238].

Таким чином, феропортин відіграє ключову роль у надходженні заліза в організм з епітеліоцитів дванадцятипалої кишки. Він визначає також надходження заліза з інших клітин, що беруть участь у його обміні. На важливу роль феропортину вказує складна багатоконтурна система регулювання, яка діє на нього й забезпечує його участь у гомеостазі заліза.

Ключову роль у цій системі відіграє гепсидин – гормон, що регулює надходження заліза в організм. Гепсидин був виявлений в результаті дослідження клітин печінки мишей, організм яких був перевантажений залізом [62]. Був встановлений ген, що визначає синтез гепсидину, експресія якого була найбільш виражена в печінці. Вдалося з'ясувати, що гепсидин являє собою поліпептид, що складається з залишків 25 амінокислот [60].

У той же час (Nicolas G., Vennoum M., Devaux I. et al., 2001) [106] виявили, що накопичення заліза в печінці стимулює експресію гепсидину. Було показано значну схожість між обміном заліза в мишей з вродженим гемохроматозом та в мишей з дефіцитом гепсидину. Усе це послужило підставою для висновку про те, що гепсидин регулює надходження заліза з кишки й макрофагів та є центральним чинником, який пов'язує запаси заліза в організмі й зокрема клітинах кишки, що здійснюють його всмоктування [205].

При подальшому вивченні цієї проблеми вдалося вивести лінію мишей, з вродженою підвищеною експресією гепсидину в печінці [105]. Більшість з них гинуло незабаром після народження від важкої залізодефіцитної анемії. У небагатьох мишей, які вижили, зберігався дефіцит заліза, що вказувало на недостатнє надходження його з кишки. У подальшому дослідженні (Nicolas G., Chauvet C., Viatte L. et al., 2002) [104] було показано, що експресія гепсидину посилюється при гемолізі, що показало його роль у поповненні запасу заліза для потреб еритропоезу.

Доведено, що рецептором гепсидину є феропортин [93]. Досліди були проведені на клітинах тканинної культури. Гепсидин зв'язувався з феропортином, після чого молекули феропортину протягом години піддавалися ендоцитозу й протеолізу в лізосомах. Зв'язування гепсидину відбувалося лише з клітинами, що містять феропортин, але не з контрольними клітинами. Здатність гепсидину викликати ендоцитоз молекул феропортину з одночасним зниженням виведення заліза з клітин була підтверджена в дослідях на тканинній культурі макрофагів [174].

Таким чином, була остаточно доведена роль гепсидину в гомеостазі заліза. Гепсидин, діючи на феропортин, пригнічує основні потоки заліза, що прямують в плазму: з дуоденальних епітеліоцитів, які всмоктують залізо з їжі; з макрофагів, які здійснюють поглинання заліза зі зруйнованих еритроцитів та гепатоцитів, які містять запас заліза [90, 164, 227]. Коли концентрація гепсидину низька, залізо у відносно великій кількості надходить у плазму крові. Коли концентрація гепсидину висока, феропортин піддається ендоцитозу, а залізо затримується в епітеліоцитах кишки, макрофагах і гепатоцитах. Макрофаги селезінки більш чутливі до дії гепсидину, ніж епітеліоцити [46].

Синтез гепсидину, як і феропортину є об'єктом багаторівневої системи регулювання. У досліджах на мишах було показано, що експресія гепсидину в гепатоцитах індукується при надлишку в організмі заліза [62, 104] і пригнічується при анемії і гіпоксії [104].

У людей показали рівень гепсидину в сечі значно підвищується при надлишку заліза в організмі, а також при запальних процесах й інфекціях [91]. Пероральний прийом 65 мг заліза викликав у людей протягом дня підвищення рівня гепсидину в сечі в 5 разів. Але в наступні дні, незважаючи на продовження прийому заліза, рівень гепсидину падав до вихідного [94]. Встановлено, що регуляція вироблення гепсидину відбувається, принаймні частково, на рівні транскрипції [26].

Синтез гепсидину гепатоцитами залежить від вмісту заліза в організмі. Базові механізми цієї залежності відрізняються складністю. Залізо здатне діяти безпосередньо на гепатоцити, індукує вироблення ними гепсидину. Це було доведено дослідниками, під час яких до свіжопідготовленої культури гепатоцитів додавали голотрансферин [155]. У результаті в гепатоцитах збільшувалася експресія мРНК, відповідальної за синтез гепсидину. Чутливість гепатоцитів до заліза була підтверджена іншими дослідниками [108].

Відкритий також інший механізм дії заліза на вироблення гепсидину печінкою. Активація синтезу відбувається за участю гемоювеліна – одного з мембранних білків, порушення вироблення якого в результаті мутації викликає ювенільний гемохроматоз [107]. Гемоювелін є корецептором іншого білка - морфогенетичного білка кістки (bone morphogenetic protein), який впливає на розвиток кісткової та м'язової тканин. Крім цієї функції, морфогенетичний білок кістки спільно з гемоювеліном викликає експресію гепсидину в гепатоцитах [137, 121, 122]. Доказом цього факту є, зокрема, експресія гепсидину в мишей після введення морфогенетичного білка кістки [122].

Важливі відомості були отримані в дослідях на мишах мутантах стосовно до трансферинових рецепторів, гемоювеліну й морфогенетичному білка кістки. Порівнювали ефект короткочасної і довготривалої дії голотрансферину на експресію гепсидину в печінці. У мутантів була різко послаблена відповідь на короткотривалий вплив голотрансферину, але підсилена – на хронічне його введення. Цей результат дав підставу для висновку про те, що зазначений вище ефект дії голотрансферину забезпечує швидку зміну синтезу гепсидину. Хронічний надлишок заліза впливає через інший механізм, чутливий до його концентрації в печінці [96].

У природних умовах чинником, що впливає на вироблення гепсидину, є кровотеча й гемолітична анемія, при яких необхідно посилення всмоктування заліза в кишці та вивільнення його з депо. У цьому стані зміни експресії гепсидину мають компенсаторний характер. (G. Nicolas et al. 2002) [104] спостерігали пригнічення синтезу гепсидину в печінці при анемії і гіпоксії, спричиненої *in vivo* та *in vitro*. Вони припустили, що саме гіпоксія є безпосередньою причиною цього явища. У подальшому (P. Leung et al. 2005) [197] показали, що хронічна гіпоксія протягом 30 днів викликає в щурів ослаблення експресії гепсидину. Зменшення вмісту гепсидину в сечі було зазначено у людей при короткотривалій гіпоксії [50].

Однак у подальшому виявилось, що для зменшення вироблення гепсидину недостатньо самих по собі анемії і тканинної гіпоксії [183]. Ефект гіпоксії змінювався інгібіторами еритропоезу. Таким чином, регуляція вироблення гепсидину виявилася пов'язаною з посиленням еритропоезу.

У 2007 році дослідженнями С. Peyssonaux et al. [61] було встановлено, що зміна експресії гепсидину при нестачі кисню пов'язана з дією Нурохіа індусібель фактор - HIF, що викликається гіпоксією. Так називається група речовин, які утворюються в клітинах при зниженні парціального тиску кисню та ініціюють різноманітні реакції на гіпоксію, а вже у 2009 році Mastrogiannaki, Matak, Keith, Simon et al. [179] уточнили, що в даному випадку мова йде про один з представників цієї групи, а саме фактор-2, викликаному гіпоксією. Ними ж у 2012 році було встановлено, що ця речовина не має безпосереднього впливу на експресію гепсидину, але впливає на неї через еритропоез, що викликається дією еритропоетину [181]. Дослідження цих же авторів у 2013 році визначило зв'язок між гепсидином і фактором-2, індукованим гіпоксією, має значення як для фізіологічних умов, так і для трактування патогенезу захворювань, що виникають у результаті порушень обміну заліза [180]. Цей зв'язок діє і в процесі акліматизації до гіпоксії в умовах гірської місцевості [167].

Ще одним фактором, що значно впливає на синтез гепсидину, є запальний процес. При запаленні зменшується всмоктування заліза з кишки, затримується залізо в макрофагах, зменшується його вміст у плазмі крові. В одному з перших досліджень функції гепсидину було встановлено, що запалення, викликане терпентином, викликає у мишей зниження вмісту заліза в крові та посилення експресії гепсидину. У той же час у мишей-мутантів з порушеним синтезом гепсидину такі зміни не виникали [104]. Вплив запалення на синтез гепсидину в організмі було підтверджено спостереженнями на людях, які показали підвищення вмісту його в сечі в пацієнтів з інфекціями та запальними процесами [91].

Зв'язок між запаленням і синтезом гепсидину був показаний при дослідженні тканинної культури гепатоцитів [114]. Фактори, що зменшують секрецію запальних цитокінів, зменшували й експресію гепсидину, що викликається запаленням.

Багаточисельними дослідженнями підтверджено зв'язок між підвищенням експресії гепсидину й виникненням анемії в пацієнтів з запальними процесами та різними хронічними захворюваннями. Такий зв'язок встановлено останнім часом при хронічній обструктивній пневмонії [159], діабеті [190], хронічному захворюванні нирок [208, 147, 242], хронічному гепатиті [133], бруцельозі [99], синдром імунодефіциту [199] та інших захворюваннях.

Таким чином, відкриття і вивчення гепсидину як одного з основних факторів, що регулюють надходження заліза в кровообіг, відіграла й продовжує відігравати важливу роль у розумінні патогенезу захворювань, пов'язаних з порушеннями функцій крові.

1.4. Перенесення заліза кров'ю і надходження його в клітини.

Трансферрин. Феритин

Фізіологічна роль заліза в організмі характеризується відомою парадоксальністю [204]. З одного боку, воно життєво необхідне для перенесення кисню, транспорту електронів у дихальному ланцюгу, синтезу ДНК. З іншого боку, воно може сприяти утворенню вільних радикалів, вкрай шкідливих для життєдіяльності клітини. Особливість обміну заліза в організмі проявляється в тому, що воно не тільки засвоюється, але також транспортується і зберігається спеціальними молекулами в розчиненій і нетоксичній формі. Перенесення заліза в крові вищих тварин здійснюється за допомогою трансферину [202].

Трансферин являє собою глікопротеїн, який міститься в плазмі крові й здатний оборотно зв'язуватися з залізом. Він є переносником, завдяки якому

відбувається обмін залізом між клітинами. Трансферин синтезується в печінці [156, 44, 207]. Його молекула містить два ідентичних гетерополісахаридних комплексів, в який входять залишки молекул галактози і манози, пов'язані з поліпептидним ланцюгом [68]. У молекулі трансферину є два центри зв'язування, до кожного з яких приєднується один атом тривалентного заліза [47]. Трансферин плазми крові є одним з цілого сімейства білків, до якого належать також лактоферин, меланотрансферин, овоферин, а також деякі білки нижчих тварин [154]. Їх об'єднує здатність приєднувати залізо.

Клітини поглинають залізо, принесене трансферинем, за допомогою специфічних трансферинових рецепторів [131], які синтезуються в печінці. Вони являють собою мембранні білки, відносяться до глікопротеїнів. Трансферинові рецептори є у всіх клітинах. Але найбільш висока їх концентрація в еритроїдних клітинах, плацентарних клітинах і мітотично активних клітинах, нормальних і злоякісних [203]. У клітинах еритроїдного ряду під час їх дозрівання спостерігається швидке збільшення концентрації трансферинових рецепторів. Регуляція цього процесу відбувається на рівні транскрипції [58].

Після зв'язування молекули трансферину з трансферинним рецептором спостерігається поглинання його клітиною за допомогою ендоцитозу [43, 67, 171]. Молекули трансферину та рецептори залишаються пов'язаними при переміщенні всередині клітини [55] і мігрують в одні й ті ж структури всередині неї [53]. Ці структури не є лізосомами [132]. Далі відбувається звільнення атомів заліза з білка в результаті зниження рН всередині ендосомальної везикули й переміщення трансферинних рецепторів на плазматичну мембрану клітини. Перебіг цього процесу детально викладено в ряді оглядів [204, 203, 56, 241, 138, 36, 143].

Існують дані про інший шлях отримання клітинами заліза, пов'язаного з трансферинем. Цей шлях менш ефективний, ніж взаємодія з трансферинними рецепторами. Він полягає у неспецифічному поглинанні

молекул трансферину за допомогою піноцитозу. Передбачається, що цей механізм може набувати більшого значення при високій концентрації трансферину [209].

Місцем зберігання і джерелом заліза всередині клітин є феритин. Він належить до цілого сімейства подібних білків, які виконують подібну функцію у тварин, що перебувають на різних щаблях еволюції. Завдяки феритину залізо може знаходитися всередині клітин у концентрації, достатній для аеробного метаболізму, і в той же час не проявляти свої потенційно токсичні властивості [97]. Феритин – великий і високо спеціалізований білок. Двадцять чотири субодиниці складають білкову оболонку, всередині якої міститься кілька тисяч атомів заліза у формі гідроокису [191]. Вісім гідрофільних каналів дозволяють залізу проникати всередину молекули феритину. Існує воротний механізм, який регулює проникність цих отворів в залежності від потреби клітини у кисні [239]. Фероксидазна активність його субодиниць викликає окислення двовалентного заліза в тривалентне [191, 130]. Усередині молекули феритину воно міститься в концентраціях, які в багато разів перевищують його розчинність у воді.

1.5. Регулювання міграції заліза кров'ю і його зберігання клітинами

Перенесення заліза трансферинном, його поглинання клітинами і зберігання всередині їх є об'єктом складної системи регуляції. На експресію трансферинових рецепторів і феритину можуть впливати багато факторів: інтерлейкіни, циклічні нуклеотиди, кальцієві канали мембрани і віруси [157]. Але основну роль відіграє сама концентрація заліза.

Значення концентрації заліза в цитозолі та її регуляторний вплив на різні сторони обміну заліза були описані вперше в серії статей [169, 124, 230, 212, 170, 66, 129]. Як було показано цією групою дослідників, біосинтез

феритину, трансферинового рецептора й деяких інших речовин, що беруть участь в обміні заліза, регулюється на посттранскрипційному етапі. При цьому не відбувається жодних змін у відповідних мРНК. Координовані регуляторні зміни є результатом подібних явищ, які відбуваються в певних нетранслуючих ділянках мРНК. Ці ділянки позначаються як залізо залежні елементи (iron-responsive elements).

Було виявлено також, що у цитозолі міститься специфічний білок, який зв'язується з залізо залежними елементами мРНК, – залізорегулюючий, або залізов'язуючий білок (IRE-binding protein). Доказом його наявності послужив той факт, що видалення залізо залежних елементів мРНК усувало її взаємодії з білком і одночасно – трансляційну регуляцію синтезу феритину [230].

Експерименти показали, що залізорегулюючий білок, який має критичне значення для обміну заліза, сам є об'єктом регулювання, який залежить від рівня заліза в цитозолі й не пов'язаний зі змінами на рівні мРНК. Швидкість зміни синтезу феритину в залежності від рівня заліза може змінюватися в 30 – 40 разів [212].

Залізорегулюючий білок зв'язується з залізо залежними елементами мРНК, виконуючи функцію репресора. Його зв'язок з мРНК послаблює трансляцію феритину й стабілізує трансферинові рецептори, оберігаючи їх від швидкої деградації. Для цього зв'язування білок повинен мати вільні сульфгідрильні групи, що входять до складу залишків молекул цистеїну [170]. Агенти, що блокують сульфгідрил, пригнічують зв'язування.

Біохімічною основою змін активності залізорегулюючого білка є оборотне окислення-відновлення однієї або більшого числа залишків молекул цистеїну, які містять SH-групи. Максимальним спорідненням з залізо залежними елементами має їх відновлена форма, а мінімальним – окислена. При підвищенні концентрації заліза в цитозолі зменшується вміст відновленої форми, при її зменшенні - збільшується. Загальна кількість залізорегулюючого білка при цьому не змінюється [66].

Надмірне збільшення концентрації заліза всередині клітини порушує взаємодію між заліозалежними елементами мРНК і залізорегулюючим білком. Результатом є посилення трансляції не тільки феритину, але й еритроїдспецифічної синтази амінолевулінової кислоти, яка бере участь у синтезі гемоглобіну. Порушується стабільність і посилюється деградація трансферинових рецепторів. Таким чином, залізочутливі елементи регулюють усі основні сторони обміну заліза: проникнення в клітину, запасання його в ній і використання в синтезі гемоглобіну [98]. При цьому попереджується підвищення концентрації заліза у клітині, яке могло б становити небезпеку для її життєдіяльності [204, 202].

Одночасно з рівнем заліза, значний вплив на перенесення і зберігання заліза в організмі надає гіпоксія. Її вплив реалізується через індукований гіпоксією фактор 1 (ІГФ 1) – hypoxia-inducible factor 1. Він є одним з факторів транскрипції, що контролює синтез мРНК на матриці ДНК шляхом зв'язування з її специфічними ділянками. ІГФ 1 складається з двох субодиниць, які містять ДНК-зв'язуючі домени. Він активує складний сигнальний каскад, який забезпечує різноманітні компенсаторні реакції організму на гіпоксію [84]. Експресія ІГФ 1 відбувається при зниженні парціального тиску кисню в крові [148].

Зміна обміну заліза в організмі є однією з основних компенсаторних реакцій при виникненні гіпоксії. Відомо, що під впливом гіпоксії збільшується концентрація трансферину в сироватці крові [89]. Молекулярний механізм цього явища був з'ясований у досліджах на культурі клітин [42]. Як було встановлено, ІГФ 1 впливає на експресію генів трансферину на рівні транскрипції, зв'язуючись із відповідними ділянками геному.

У досліджах на тому ж об'єкті було показано, що інкубація в середовищі з низьким вмістом кисню викликає значне підвищення вмісту мРНК, яка бере участь у синтезі трансферину [158]. Це явище було результатом

чотирьохразового прискорення транскрипції гена трансферину під впливом гіпоксії. Як було встановлено, зазначені зміни стали результатом дії ІГФ-1.

У той же час у дослідах на клітинах лінії He La вдалося ідентифікувати елемент гена, який реагує на гіпоксію і викликає дво-трикратне прискорення експресії трансферинових рецепторів [57]. Мутація в ділянці цього елемента різко послаблювала відповідь на гіпоксію. Було показано, що в даній реакції бере участь ІГФ 1, який зв'язується з даним елементом.

До дії ІГФ 1 на рівні транскрипції додаються ефекти, які обумовлені його впливом на посттранскрипційні механізми синтезу білків, що беруть участь в обміні заліза. Як було показано (Hanson E., Leibold E. 1998, Hanson E., Foot L., Leibold E. 1999) [85, 86], гіпоксія також має вплив на активність залізорегульованих білків, які діють, у свою чергу, на процес трансляції.

Таким чином, регуляція обміну заліза в організмі являє собою процес, у якому бере участь велика кількість різних факторів. Вони діють на різні ланки цього процесу, забезпечуючи гомеостаз заліза в організмі та його пристосування до мінливих умов життєдіяльності.

1.6. Регулювання еритропоезу. Еритроцити. Стадії еритропоезу

Основним фактором, що регулює процес еритропоезу, є еритропоетин, який вперше був виділений в чистому вигляді [229]. Цьому передували тривалі дослідження, під час яких була показана роль гіпоксії в регуляції еритропоезу та існування гуморального фактора, за допомогою якого ця роль реалізується. Еритропоетин виділяється постійно в невеликих кількостях і забезпечує заміну старих еритроцитів ретикулоцитами. Його виділення різко збільшується при кровотечі, гемолізі, зменшенні рівня оксигенації артеріальної крові. Зокрема, було показано, що при виникненні гіпоксії в умовах високогір'я рівень еритропоетину в плазмі крові може збільшуватися в десять разів [194]. Таким чином, функція еритропоетину полягає в підтриманні сталості кількості еритроцитів і гемоглобіну в крові шляхом

прискорення утворення еритроцитів при кровотечі й різних станах, що пов'язані з гіпоксією.

Протягом ембріонального періоду еритропоетин синтезується в печінці. Після народження ж місцем його утворення стають в основному нирки [150]. Він утворюється в перитубулярних фібробластих, розташованих у корковому шарі поряд з мозковим [218, 56]. У невеликих кількостях еритропоетин продукується також у печінці гепатоцитами й інтерстиціальними клітинами [217] та в деяких інших органах. Еритропоетин поглинається і руйнується клітинами, які є його мішенями [34].

Процес еритропоезу регулюється еритропоетином за принципом негативного зворотного зв'язку. Гіпоксія викликає посилення продукції еритропоетину нирками. Він циркулює в плазмі й зв'язується в кістковому мозку з клітинами – попередниками еритроцитів. У результаті підвищується їх життєздатність, блокується процес апоптозу, стимулюється проліферація і диференціація, що й призводить до збільшення кількості еритроцитів. Це викликає, у свою чергу, посилення оксигенації крові та зниження виділення еритропоетину.

До теперішнього часу детально досліджена структура та молекулярні механізми дії еритропоетину на процес еритропоезу. Еритропоетин являє собою глікопротеїн, який включає 166 амінокислотних залишків і складається з чотирьох поліпептидних ланцюгів [142]. Їм відповідають чотири полісахаридних групи, які становлять 40 % загальної молекулярної маси. Приєднання полісахаридів до поліпептидного ланцюга забезпечує тривалу циркуляцію еритропоетину в крові.

Специфічні еритропоетинові рецептори розташовані на мембрані клітин – попередників еритроцитів. До них відносяться головним чином колонієутворюючі одиниці еритроцитів (colony forming unit–erythroid), на мембрані яких спостерігається максимальна щільність еритропоетинових рецепторів. Молекула еритропоетину має два центри зв'язування, які взаємодіють з рецептором за допомогою електростатичних сил [52].

Еритропоетинний рецептор являє собою димер [193]. У результаті приєднання молекули еритропоетину відбуваються конформаційні зміни рецептора, при яких два його мономери зближуються. Це призводить до активації одного з ферментів цитоплазми янус-кінази 2 (janus-kinase 2), яка передає інформацію до генів-мішеней і запускає каскад перетворень попередників еритроцитів [109].

Молекулярні механізми дії гіпоксії на синтез еритропоетину були вивчені найбільш детально в досліджах на клітинах людини. Інкубація цих клітин в середовищі з низьким вмістом кисню викликала в них значне підвищення продукції еритропоетину й одночасно збільшення вмісту відповідної мРНК [168]. Пізніше аналогічне явище було виявлено також у культурі клітин нирки [178].

Як було встановлено, в основі впливу зниженого вмісту кисню на синтез еритропоетину знаходиться дія факторів, що активуються гіпоксією (HIF). Фактор HIF-1 складається з двох субодиниць: HIF-1 α і HIF-1 β . Субодиниця HIF-1 α нестійка при нормальному вмісті кисню й піддається деградації під дією клітинних ферментів [149, 198, 223]. В умовах низького парціального тиску кисню цей процес блокується. У результаті субодиниці HIF-1 утворюють стійкі гетеродимери, проникають в ядро та діють на ДНК і посилюють процес транскрипції еритропоетину. Пізніше було показано, що на синтез еритропоетину впливає також інший з факторів, що активуються гіпоксією – HIF-2 [63]. Необхідно відзначити, що фактор HIF-2 бере участь і в регуляції метаболізму заліза [196]. Таким шляхом здійснюється координація між синтезом еритропоетину та гомеостазом заліза.

Поряд з еритропоетином, на процес еритропоезу впливають також інші гуморальні фактори. До них відноситься ангіотензин II. Введення його в кров здорової людини призводить до підвищення концентрації в ній еритропоетину [128]. Передбачається, що ангіотензин II діє на еритропоез двома шляхами: стимулює продукцію еритропоетину і є фактором росту для попередників еритроцитів [33].

Існують дані про те, що на утворення еритропоетину в нирках при гіпоксії впливають структури головного мозку. Ішемізація стовбура головного мозку в щурів викликала в них підвищення концентрації еритропоетину в плазмі крові [231]. Цей ефект не виникав після видалення нирок. Передбачається, що структури головного мозку, чутливі до гіпоксії, виділяють гуморальні фактори, які впливають на синтез еритропоетину в нирках.

З числа екстраренальних факторів необхідно відзначити дію на еритропоез ряду залоз внутрішньої секреції. Опосередкований вплив на нього чинять гормони щитоподібної залози, соматотропін, інсулін, а також гормони, які виділяються при стресі. Але, очевидно, найбільш чітко проявляється вплив на еритропоез статевих гормонів. У результаті ряду досліджень були отримані дані про те, що тестостерон стимулює вироблення еритропоетину [140, 83] і підсилює процес еритропоезу [240, 184, 29]. У той же час діетилстільбестрол пригнічує синтез еритропоетину [112, 113]. В цьому знаходять своє пояснення відмінності концентрації еритроцитів і гемоглобіну в крові чоловіків і жінок. Дія статевих гормонів на еритропоез та її механізми розглянуті у ряді оглядів [192, 135, 225, 234].

Так за даними [30, 178] посилення еритропоезу при введенні тестостерону може бути пов'язано не з впливом на вироблення еритропоетину, а з дією на інші процеси, які беруть участь в еритропоезі.

Таким чином, на даний час недостатньо вивченим та описаним є вплив тонких гуморальних факторів опосередкованої дії, що впливають на активізацію транспортної системи та рівень заліза і, як наслідок, на метаболізм заліза в організмі, появу яких реєструють у сироватці крові після стимуляції еритропоезу.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Об'єкт дослідження

У дослідженні використано кров та сироватку крові 598 білих статевозрілих безпородних лабораторних щурів самців масою 200-250 грам. Тварин отримано з віварію «Біомодельсервіс» ІФТ АМН України, ветеринарне свідоцтво № 277664, № 278532, № 042408, № 042560, № 696359, № 804397. Щури містилися у віварії ЗДМУ в акрилових клітках об'ємом 300 см³, не більш ніж 4 - 5 особин в одній клітці та знаходились на стандартному раціоні харчування згідно з «Стандартними правилами по устаткуванню, обладнанню та утриманню експериментально-біологічних клінік (віваріїв)» [7]. Для вибору достатнього для статистичних висновків об'єму вибірок керувались таблицями Стрілкова Р.Б. [25]. При проведенні досліджень тварини були розділені на групи які позначені відповідним шифром. Референтна група, експериментальні групи (кількість груп відповідає вимогам експериментальної моделі) та контрольні групи тварин. Експериментальні та контрольні групи щурів склалися з урахуванням віку, маси та статі тварин. Проведення експериментального моделювання та виведення тварин з експерименту проводились в один і той же час з урахуванням циркадних біоритмів функціональної активності тварин. Для клініко-лабораторних та біохімічних досліджень брали необхідну кількість крові тварин. Тварин виводили з експерименту шляхом гострої крововтрати під глибоким ефірним наркозом. Кількість тварин по групах та експериментах представлено в таблиці 2.1.

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).

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
пострансфузійна поліцитемія		144	18
введення безбілкового розчину сироватки		54	36
усього		10	420

Експериментальні групи тварин:

I – 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

2.2. Експериментальні моделі дослідження

2.2.1. Моделювання еритропоетиніндукованої стимуляції еритропоезу (ЕС)

Одноразове введення 0,4 мл розчину Еробіосгін з розрахунку 150МО/кг підшкірно [23, 26]. Тварини були розділені на 4 групи: 1 група – референтна група щурів (І); 2 група – щури - донори сироватки крові (Д), яким введено 0,4 мл розчину Еробіосгін з розрахунку 150МО/кг підшкірно; 3 група – щури - реципієнти сироватки крові (Р), яким введено 2 мл сироватки крові тварин 2-ї групи експерименту внутрішньоочеревинно; 4 група – контрольна (К), тваринам якої ідентично протоколу групи Д введено 0,4 мл фізіологічного розчину підшкірно та ідентично протоколу групи Р, введено 2 мл фізіологічного розчину внутрішньом'язово. Щурів групи (Д) виводили з експерименту на 1-шу, 3-тю, 5-ту добу, тварин з групи (Р) на 1-шу, 3-тю, 5-ту добу. Виведення тварин з експерименту групи (К) здійснювався на 1-шу, 3-тю, 5-ту добу. На кожен термін в експериментальних та контрольних групах по 6 щурів (табл. 2.2).

Таблиця 2.2

Розподіл тварин за групами та термінами спостереження

Доба	Група				
	І	Д		Р	
		експер.	контр.	експер.	контр.
1	10	6	6	6	6
3		24	6	6	6
5		6	6	6	6

2.2.2. Моделювання гіпоксичної гіпоксії (ГГ)

Гіпоксичну гіпоксію відтворювали шляхом поміщення щурів у барокамеру, де вони піддавалися дії гіпоксичної гіпоксії 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 [23]. Тварини були розділені на 5 груп: 1 група – референтна група щурів (І); 2 група – щури - донори сироватки крові (Д), були поміщені в барокамеру, де піддавалися дії гіпоксичної гіпоксії протягом 18 годин; 3 група – щури – реципієнти 1 сироватки крові (Р1), яким внутрішньом’язово введено 2 мл сироватки крові тварин 2-ї групи; 4 група – щури – реципієнти 2 сироватки крові (Р2), яким внутрішньом’язово введено 2 мл сироватки крові тварин 3-ї групи; 5 група – контрольна (К), тварини які ідентично протоколу групи Д поміщені в барокамеру, але без змін показників барометричного та парціального тиску кисню, та ідентично протоколу групи Р1, Р2 введено внутрішньом’язово 2 мл фізіологічного розчину. Виведення з експерименту тварин групи (І) у всіх моделях здійснювався на 1-шу добу. Тварини групи (Д) на 1-шу та 3-тю добу. Щури групи (Р1) виводились з експерименту на 1-шу добу, групи (Р2) на 1-шу, 3-тю, 5-ту, 7-му. Виведення з експерименту тварин групи (К) здійснювали на 1-шу, 3-тю, 5-ту, 7-му добу. На кожен термін у референтній групі було досліджено 10 щурів, в експериментальних та контрольних групах по 6 щурів (табл. 2.3).

Таблиця 2.3

Розподіл тварин за групами та термінами спостереження

Доба	Група						
	І	Д		Р1		Р2	
		експер.	контр.	експер.	контр.	експер.	контр.
1	10	6	6	30	6	6	6
3		30	6	-	-	6	6
5		-	-	-	-	6	6
7		-	-	-	-	6	6

2.2.3. Моделювання гемолітичної анемії (ГА)

Гемолітичну анемію моделювали шляхом одноразового введення 2 % розчину солянокислого фенілгідразину в дозі 150мг/кг внутрішньоочеревинно [22]. Тварини були розділені на 5 груп: 1 група – референтна група щурів (І); 2 група – щури - донори сироватки крові (Д), яким введено одноразово 2 % розчин солянокислого фенілгідразину (ФГ) у дозі 150мг/кг внутрішньоочеревинно; 3 група – щури – реципієнти 1 сироватки крові (Р1), яким внутрішньом’язово введено 2 мл сироватки крові тварин 2-ої групи; 4 група – щури – реципієнти 2 сироватки крові (Р2), яким внутрішньом’язово введено 2 мл сироватки крові тварин 3-ої групи; 5 група – контрольна (К), тваринам якої ідентично протоколу групи Д введено 0,4 мл фізіологічного розчину внутрішньоочеревинно та ідентично протоколу групи Р, Р1 введено 2 мл фізіологічного розчину внутрішньом’язово. Виведення тварин з експерименту групи (Д) здійснювався на 3-тю та 21-шу добу, тварин групи (Р1) на 1-шу добу, в групах (Р2), (К) на 1-шу, 3-тю, 5-ту добу. На кожен термін в експериментальних та контрольних групах по 6 щурів (табл. 2.4).

Таблиця 2.4

Розподіл тварин за групами та термінами спостереження

Доба	Група						
	І	Д		Р1		Р2	
		експер.	контр.	експер.	контр.	експер.	контр.
1	10	-	-	24	6	6	6
3		30	6	-	-	6	6
5		-	-	-	-	6	6
21		6	6	-	-	-	-

2.2.4. Моделювання посттрансфузійної поліцитемії (ПП)

Поліцитемію відтворювали шляхом одноразового введення в черевну порожнину щурів 80 % еритроцитарної суспензії (3,5мл/100г), яку отримували після триразового відмивання венозної крові тварин фізіологічним розчином [5, 28]. До зібраної крові додавали розчин гепарину (0,2 мл гепарину змішували з 2,5 мл фізіологічного розчину) з розрахунку: 0,7 мл розчину гепарину на 7 мл зібраної крові з наступним центрифугуванням (1500 обертів, 10 хвилин). Після забору надосадової рідини до еритроцитів двічі поспіль додавали фізіологічний розчин з розрахунку 1:1 та центрифугували (1500 обертів, 10 хвилин). Тварини були розділені на 6 груп: 1 - референтна група щурів (I); 2 група – щури донори сироватки крові 1 (Д1) у яких була забрана сироватка крові для виготовлення 80 % суспензії гомологічних еритроцитів; 3 група – щури реципієнти сироватки крові 1 (Р1), яким введено 3,5мл/100грам 80 % суспензії гомологічних еритроцитів внутрішньоочеревинно; 4 група - донори сироватки крові 2 (Д2), тваринам якої введено одноразово 0,4 мл розчин Ервіосгін з розрахунку 150МО/кг; 5 група – щури реципієнти сироватки крові 2 (Р2), введення щурам 5-ої доби 3-ої групи 2 мл сироватки крові тварин 4-ої групи внутрішньом'язово; 6 група – контрольна (К), тваринам якої ідентично протоколу групи Д2 введено 0,4 мл фізіологічного розчину підшкірно, ідентично протоколу групи Р1 введено 7 мл фізіологічного розчину внутрішньоочеревинно та ідентично протоколу групи Р2 введено 2 мл фізіологічного розчину внутрішньом'язово. Виведення з експерименту тварин групи (Д1) здійснювався на 1-шу добу, групи (Р1) на 5-ту, 6-ту, 8-му, 10-ту доби після введення сироватки крові щурів (Д1), тварин групи (Р2) на 1-шу, 3-тю, 5-ту доби після введення сироватки крові тварин групи (Д2). Щурів з групи (Д2) виводили з експерименту на 3-тю добу. Виведення з експерименту щурів групи (К) здійснювався на 1-шу, 3-тю, 5-ту добу. В групі (Д1) на кожен термін по 2 щура, в групах (Р), (Д2), (К) по 6 щурів (табл. 2.5).

Розподіл тварин за групами та термінами спостереження

Доба	Група							
	I	Д1	P1		Д2		P2	
			експер.	контр.	експер.	контр.	експер.	контр.
1	10	84	-	-	-	-	6	6
3			-	-	18	6	6	
5			6	6	-	-	6	
6			6		-	-	-	-
8			6		-	-	-	-
10			6		-	-	-	-

2.2.5. Моделювання еритропоетиніндукованої стимуляції еритропоезу з подальшим осадженням білків сироватки крові (ЕСББ)

Одноразове введення 0,4 мл розчину Еробіосгін з розрахунку 150МО/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 рН до 7,4 0,5 молярним розчином бікарбонату натрію під контролем рН-метра МР 220 [23, 26, 4]. Тварини були розділені на 5 груп: 1 - референтна група щурів (I); 2 – контрольна (К), тваринам якої ідентично протоколу групи Д введено 0,4 мл фізіологічного розчину підшкірно та ідентично протоколу групи Р, введено 2 мл фізіологічного розчину внутрішньом'язово; 3 - експериментальна (Д), тваринам якої введено одноразово 0,4 мл розчин Еробіосгін з розрахунку 150МО/кг; 4 – експериментальна (Р), тваринам якої введено 2мл безбілкового екстракту сироватки крові тварин групи Д з додаванням 20 % трихлороцтової кислоти; Щурів груп (К), (Р), (Д) виводили з експерименту на 1-шу, 3-тю, 5-ту добу.

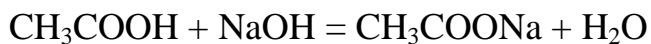
На кожен термін в експериментальних та контрольних групах по 6 щурів (табл. 2.6).

Таблиця 2.6

Розподіл тварин за групами та термінами спостереження

Доба	Група				
	I	Д		Р	
		Експер.	Контр.	Експер.	Контр.
1	10	6	6	6	6
3		24	6	6	6
5		6	6	6	6

Суміш трихлороцтової кислоти і сироватки крові при нагріванні на водяній бані дисоціює утворюючи сіалові кислоти, які гідролізуються з утворенням вільних нейрамінової і оцтової кислот [4]. Після фільтрації до сивортки додавали гідрокарбонат натрію для нейтралізації оцтової кислоти [24].



Отриманий розчин ацетату натрію (CH_3COONa) має незначну концентрацію, не впливає на досліджувані результати та не є токсичною речовиною для організму.

2.3. Методи дослідження крові та сироватки крові

В експерименті вивчалися такі показники: кількість ретикулоцитів визначали за допомогою стандартного набору РетикулоФарб «Филисит» (Україна). Для проведення аналізу тварин фіксували в спеціальному пристрої для виконання технічних маніпуляцій. Хвіст обігрівали теплою водою, дезінфікували, після чого, ножицями обрізали 1,5-2 мм кінцевого відділу, отриману кров змішували в пробірці з розчином діамантового крезилового блакитного в співвідношенні 1:1, отриману суміш перемішували, витримували 60 хвилин при температурі $+37^\circ\text{C}$ в термостаті. Наносили підготовлений зразок на знежирене предметне скло під кутом 45° за

допомогою скла з шліфованим краєм. Висушували на відкритому повітрі при кімнатній температурі. Кількість ретикулоцитів підраховувалась на 1000 еритроцитів, одиниці виміру (%), (ок. 10х, об 100х). Для визначення кількості еритроцитів, одиниці виміру ($\times 10^{12}$ /літр); гемоглобіну, одиниці виміру грам на літр (г/л); гематокриту, одиниці виміру (%) у фіксованих у пристрої тварин кров збирали в обсязі 250 мкл у стерильні пробірки для взяття капілярної крові Kima μ test (Vacutest KIMA s.r.l. – Italy) з наповнювачем K_3 -EDTA до позначеного на пробірці індикатора. Після закінчення маніпуляції закриту пробірку перевертали 8-10 разів для змішування крові з наповнювачем K_3 -EDTA та поміщали в гематологічний аналізатор MYTHIC 18 (Франція).

Для отримання великих обсягів крові застосовували метод декапітації наркотизованих тварин. Кров у кількості 9-9,5 мл збирали в заздалегідь приготовані вакуумні пробірки для біохімічних аналізів з активатором згортання (кремнієве напилення), (VF-109SP Venosafe TERUMO® - Belgium). Після завершення маніпуляції закриту пробірку одноразово перевертали та залишали на 25 хвилин у вертикальному положенні для завершення процесу згортання. Після повного згортання зібрану кров центрифугували (10 хвилин, 3000 обертів). Отриману сироватку розподіляли по 2 мл, одну частину вводили тваринам, у другій частині визначали сироваткове залізо, одиниці виміру мікромоль на літр (мкмоль/л) набором PRESTIGE 24i LQ FERRUM “CORMAY” (Польща), ненасичену залізоzw’язуючу здатність сироватки крові (H333), одиниці виміру мікромоль на літр (мкмоль/л) визначали набором PRESTIGE 24i UIBC “CORMAY” (Польща) на автоматичному біохімічному аналізаторі PRESTIGE 24i (Японія); загальну залізоzw’язуючу здатність сироватки крові (3333), одиниці виміру мікромоль на літр (мкмоль/л) вираховували за такою формулою:

Загальна залізоzw’язуюча здатність сироватки крові (мкмоль/л) дорівнює сумі концентрації заліза у сироватці крові та H333 (мкмоль/л)

Відсоток насичення трансферину дорівнює кількості заліза в сироватці крові (мкмоль/л) помножене на 100 та розділене на 3333 (мкмоль/л).

Таблиця 2.7

Методи дослідження, які використовували в роботі

№ п/п	Методи дослідження	
1	Клініко-лабораторний метод	визначення показників кількості ретикулоцитів, еритроцитів, гемоглобіну та гематокриту
2	Біохімічний метод	визначення показників сироваткового заліза, загальну залізов'язуючу здатність сироватки крові, ненасичену залізов'язуючу здатність сироватки крові, відсоток насичення трансферину
3	Математичний метод	Програма STATISTICA [®] for Windows 6.1 (StatSoft Inc США, № ліцензії AXXR712D833214FAN5).

2.4. 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 $p < 0,05$. На таблицях і графіках дані представлені у вигляді середнього арифметичного значення \pm стандартна помилка середнього. Достовірні дані виділені відповідними символами.

РОЗДІЛ 3

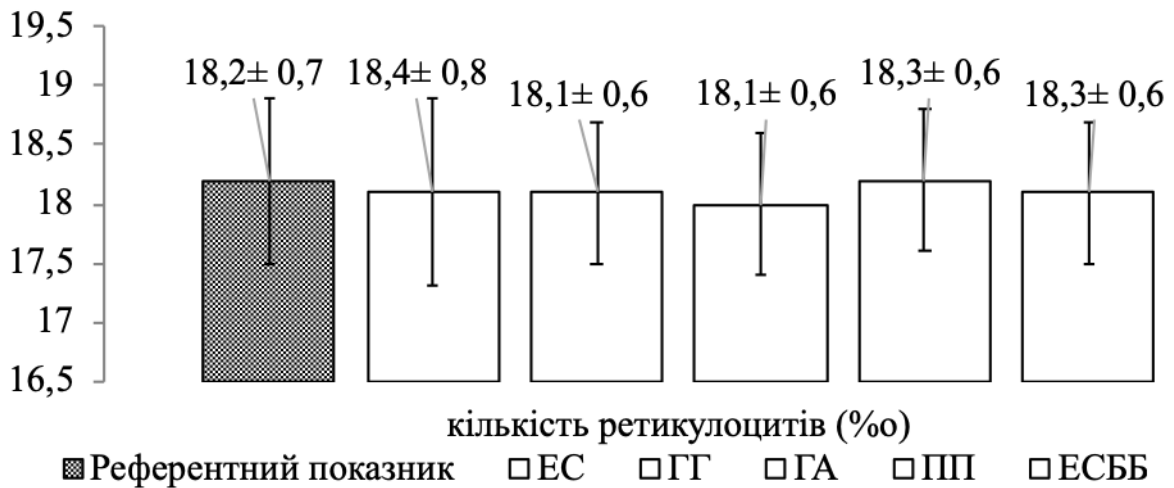
ПОРІВНЯННЯ ПОКАЗНИКІВ РЕФЕРЕНТНОЇ ТА КОНТРОЛЬНОЇ ГРУП

3.1. Порівняння даних контрольних груп, за умов відтворення ідентичного протоколу кожної експериментальної моделі, з референтною групою тварин

Враховуючи відсутність та неузгодженість як за кількістю так і за одиницями виміру стандартизованих даних, щодо меж фізіологічних норм у досліджуваних у роботі параметрів, у щурів були визначені та використовувались для порівняння референтні показники кількості ретикулоцитів, кількості еритроцитів, вміст гемоглобіну, гематокрит, а також загальний вміст сироваткового заліза, показники загальної залізо зв'язуючої здатності сироватки крові, ненасиченої залізо зв'язуючої здатності сироватки крові, та відсоток насичення трансферину (група I, n=10). Для можливості порівняння, відстеження динаміки та виключення впливу операційного стресу, при відтворенні експериментальних моделей, на достовірність результатів досліджень отримані дані співставлялися з даними контрольних груп за умов дотримання ідентичного протоколу експериментальних моделей для кожної з піддослідних груп та обраних термінів спостереження (n=6). На рисунках наведені середні значення досліджуваних величин у вигляді ($M \pm m$) по відповідному досліджуваному показнику в усіх групах контролю з урахуванням термінів спостереження.

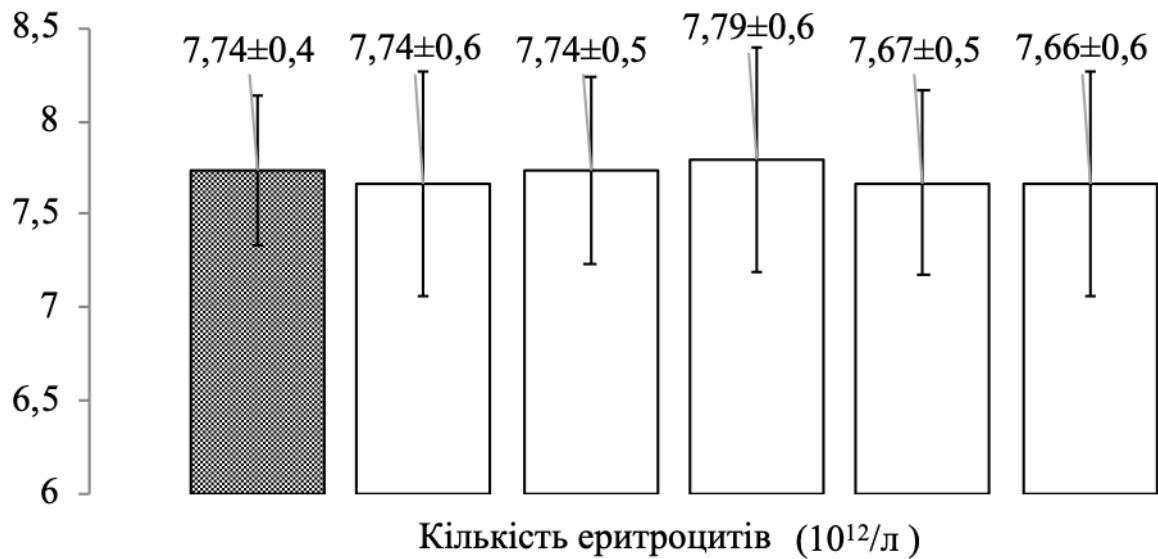
У процесі обробки результатів, дані груп контролю достовірно не відрізнялися від показників тварин референтної групи (рис. 3.1 – 3.8), тому в подальших розділах описуватись і порівнюватись між собою не будуть, та за текстом терміни «референтна» та «контрольна» групи вживатимуться як синоніми.

У щурів референтної групи показники, які досліджуються, становили:



Примітка: ЕС - введення епобіокрину; ГГ - гіпоксична гіпоксія; ГА - гемолітична анемія; ПП - посттрансфузійна поліцитемія; ЕСББ - введення сироватки без

Рис 3.1. Порівняння кількості ретикулоцитів у референтній групі та в контрольних групах відповідних експериментальних моделей у всіх термінах спостереження.



Примітка: ЕС - введення епобіокрину; ГГ - гіпоксична гіпоксія; ГА - гемолітична анемія; ПП - посттрансфузійна поліцитемія; ЕСББ - введення сироватки без білкових сполук

Рис 3.2. Порівняння кількості еритроцитів у референтній групі та в контрольних групах відповідних експериментальних моделей у всіх термінах спостереження.

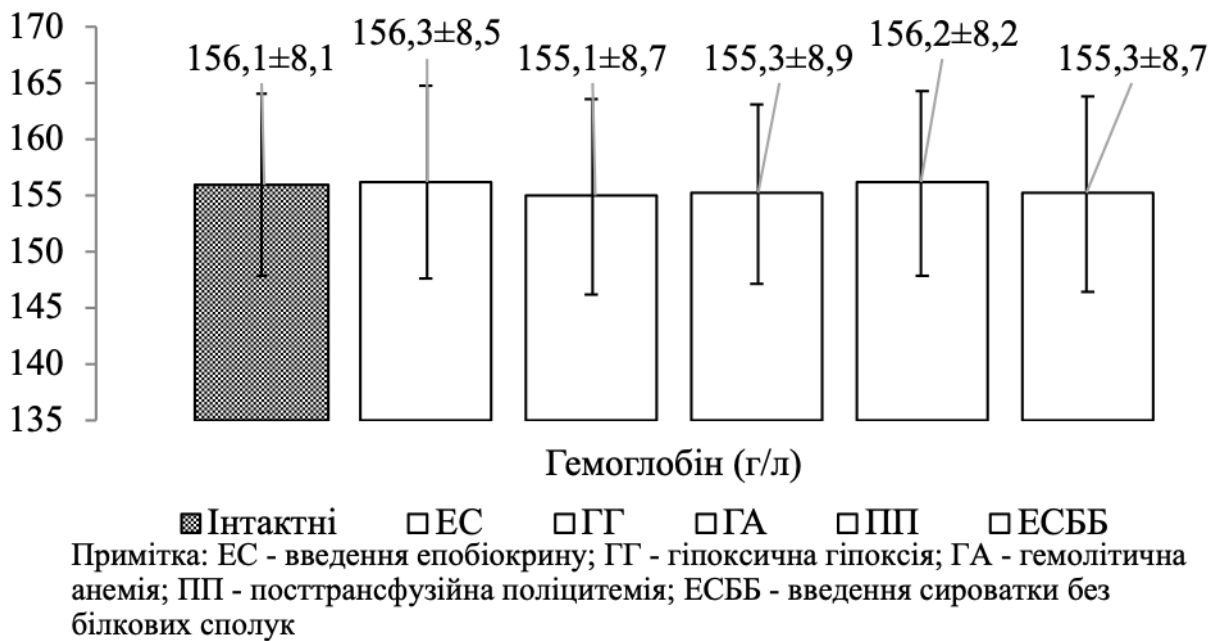


Рис 3.3. Порівняння кількості гемоглобіну у референтній групі та в контрольних групах відповідних експериментальних моделей у всіх термінах спостереження.

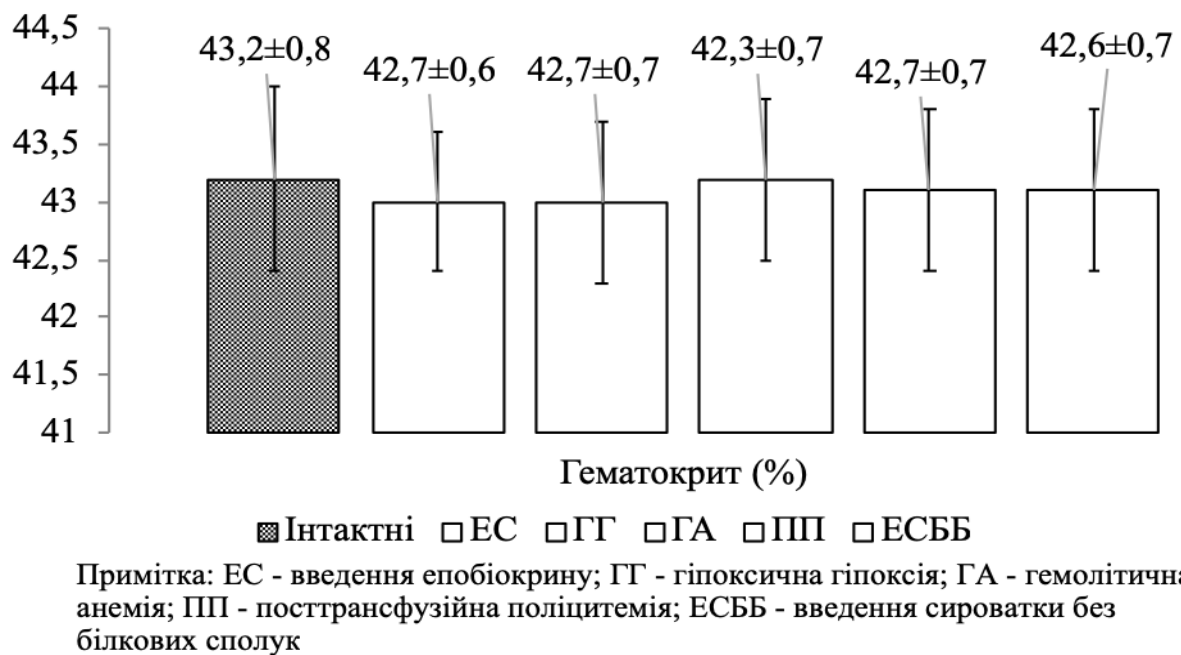
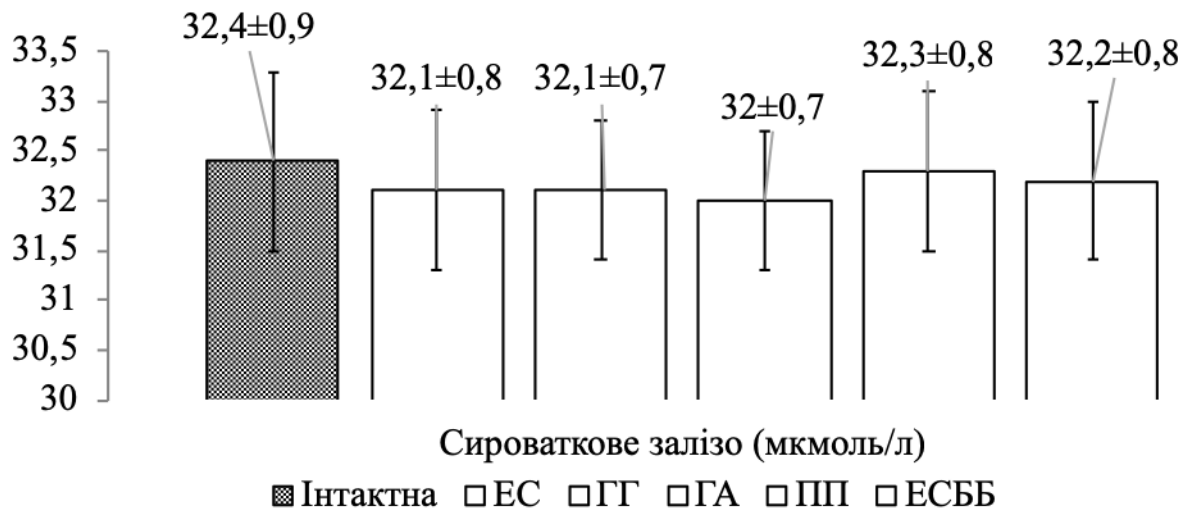
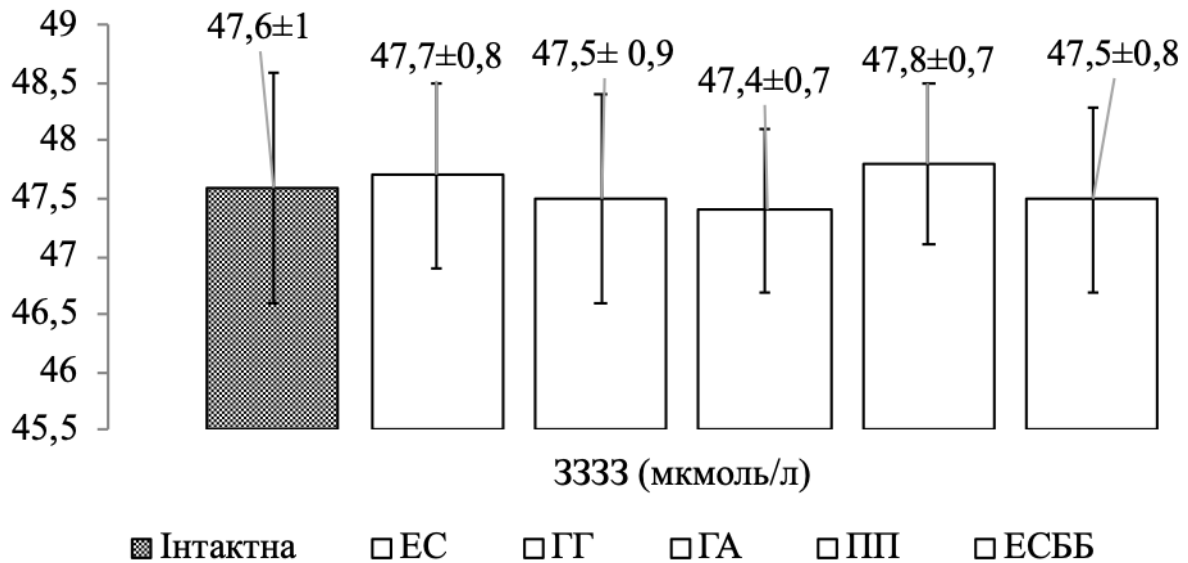


Рис 3.4. Порівняння кількості гематокриту у референтній групі та в контрольних групах відповідних експериментальних моделей у всіх термінах спостереження.



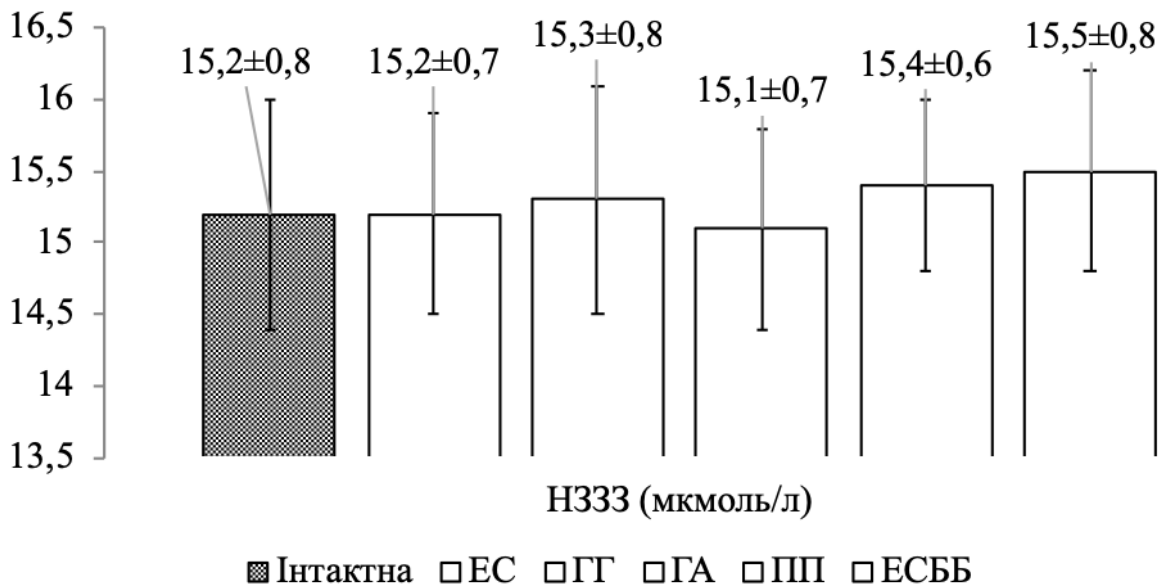
Примітка: ЕС - введення епобіокрину; ГГ - гіпоксична гіпоксія; ГА - гемолітична анемія; ПП - посттрансфузійна поліцитемія; ЕСББ - введення сироватки без білкових сполук

Рис 3.5. Порівняння кількості сироваткового заліза у референтній групі та в контрольних групах відповідних експериментальних моделей у всіх термінах спостереження.



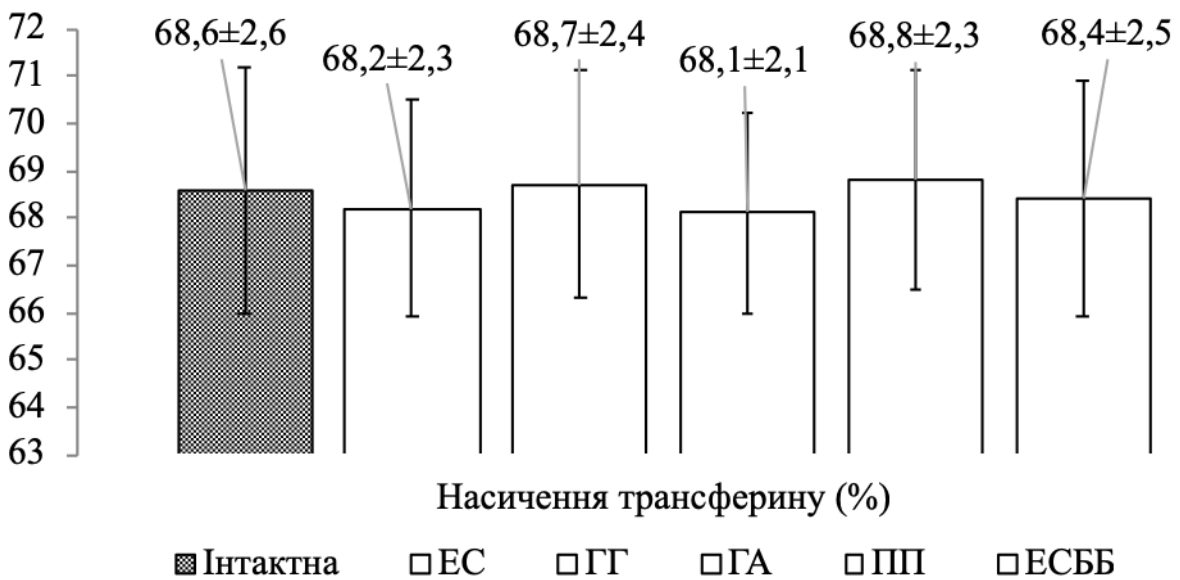
Примітка: ЕС - введення епобіокрину; ГГ - гіпоксична гіпоксія; ГА - гемолітична анемія; ПП - посттрансфузійна поліцитемія; ЕСББ - введення сироватки без білкових сполук

Рис 3.6. Порівняння загальної залізовв'язуючої здатності сироватки крові у референтній групі та в контрольних групах відповідних експериментальних моделей у всіх термінах спостереження.



Примітка: ЕС - введення епобіокрину; ГГ - гіпоксична гіпоксія; ГА - гемолітична анемія; ПП - посттрансфузійна поліцитемія; ЕСББ - введення сироватки без білкових сполук

Рис 3.7. Порівняння ненасиченої залізовв'язуючої здатності сироватки крові у референтній групі та в контрольних групах відповідних експериментальних моделей у всіх термінах спостереження.



Примітка: ЕС - введення епобіокрину; ГГ - гіпоксична гіпоксія; ГА - гемолітична анемія; ПП - посттрансфузійна поліцитемія; ЕСББ - введення сироватки без білкових сполук

Рис 3.8. Порівняння відсотка насиченості трансферину у референтній групі та в контрольних групах відповідних експериментальних моделей у всіх термінах спостереження.

РОЗДІЛ 4

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МОДЕЛЬ ЕПОБІОКРІНІНДУКОВАНОЇ СТИМУЛЯЦІЇ ЕРИТРОПОЕЗУ

4.1. Динаміка показників вмісту заліза сироватки крові в експериментальних групах після введення їм розчину епобіокрину

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 ми вивчали динаміку стану еритрона та доставки заліза для забезпечення потреб у цьому елементі в умовах стимульованого еритропоезу. Друга серія дослідів мала за мету показати та описати вплив сироватки крові, в якій був відсутній екзогенний еритропоетин та його метаболіти, отриманої від тварин після епобіокринстимульованого еритропоезу, на функцію зв'язування та переносу заліза в сироватці крові у референтних щурів.

У процесі обробки результатів першої серії було виявлено наступне: на 1-шу добу в групі Д, після введення тваринам рекомбінантного еритропоетину з розрахунку 150 МО/кг, кількість ретикулоцитів збільшилась до $25,4 \pm 0,9$ ‰, що було достовірним відносно групи контролю ($18,2 \pm 0,7$ ‰). Показники вмісту еритроцитів, гемоглобіну, гематокрит та загальна залізовв'язуюча здатність сироватки крові не відрізнялись від контролю, та знаходились на рівні показників референтної групи, а саме:

кількість еритроцитів – $7,76 \pm 0,6 \times 10^{12}/л$;

вміст гемоглобіну – $157,7 \pm 9,1$ г/л;

гематокрит – $43,6 \pm 0,8$ %.

Вміст сироваткового заліза зменшився до $25,3 \pm 0,7$ мкмоль/л, відносно групи К, де він становив $32,4 \pm 0,9$ мкмоль/л (рис. 4.1, див. рис. 1.1). Слід також відмітити, що ненасичена залізовв'язуюча здатність сироватки крові зросла до $22,9 \pm 1,1$ мкмоль/л відносно $15,2 \pm 0,8$ мкмоль/л, але відсоток насичення трансферину

достовірно знизився - $51,9 \pm 2,6$ % при порівнянні з групою контрольних щурів, де він склав $68,6 \pm 2,6$ %.

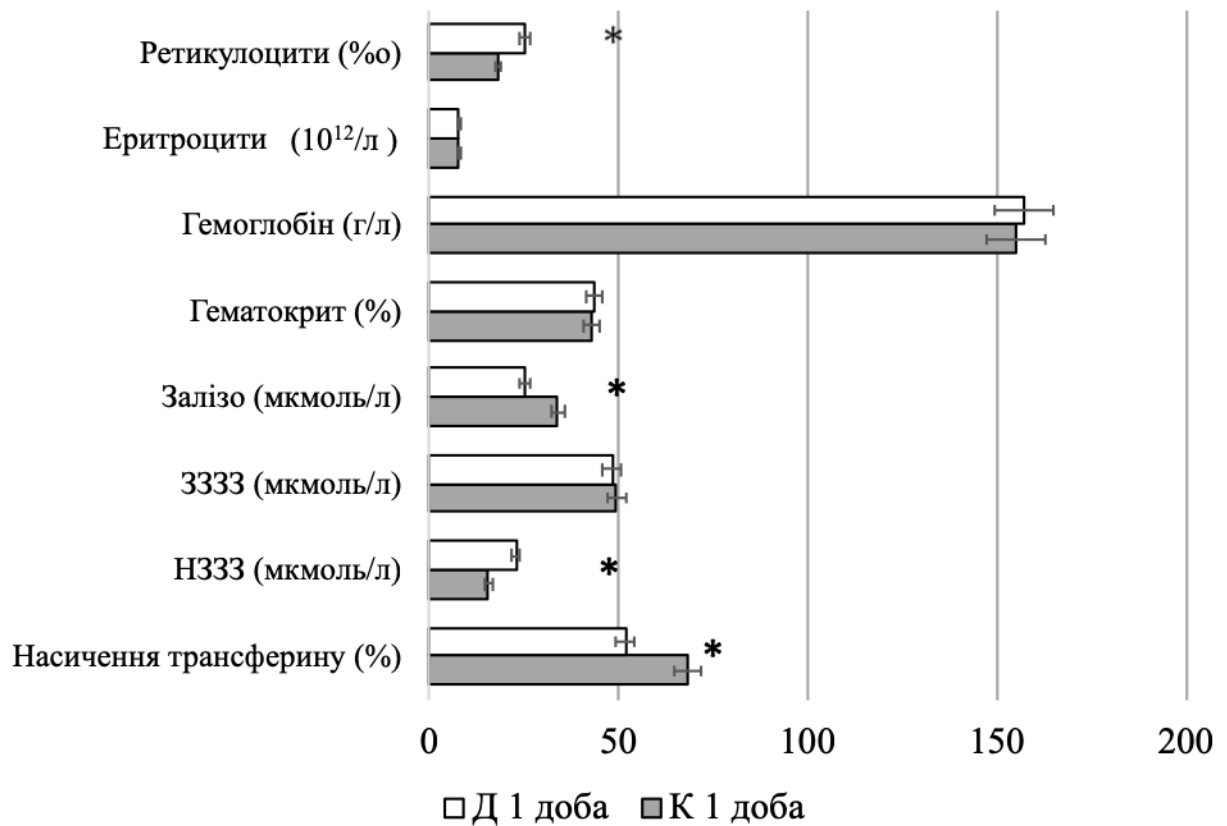


Рис. 4.1. Показники периферійної крові та залізотранспортної функції сироватки крові щурів групи (Д) на 1-шу добу.

Примітки:

ЗЗЗЗ – загальна залізовв’язуюча здатність сироватки крові;

НЗЗЗ – ненасичена залізовв’язуюча здатність сироватки крові;

(*) – результат достовірний відносно групи контролю ($p < 0,05$).

Зазначена в експерименті 3-тя доба характеризувалась стабільним зростанням кількості ретикулоцитів у тварин групи Д, що в цифровому еквіваленті мало значення $42,1 \pm 0,8$ % порівняно з $18,2 \pm 0,7$ % у контрольній групі, та, майже, вдвічі перевищило такий самий показник у групі Д попереднього терміну спостереження. Одночасно було виявлено підвищену кількість загального заліза до $41,3 \pm 0,8$ мкмоль/л по відношенню до 1-ї доби групи Д $25,3 \pm 0,7$ мкмоль/л та контрольної групи $32,4 \pm 0,9$ мкмоль/л,

зростання загальної залізовв'язуючої здатності сироватки крові до $85,7 \pm 1,2$ мкмоль/л в порівнянні з попередньою добою групи Д ($48,2 \pm 1,3$ мкмоль/л) та групою К ($47,6 \pm 1$ мкмоль/л) (рис. 4.2).

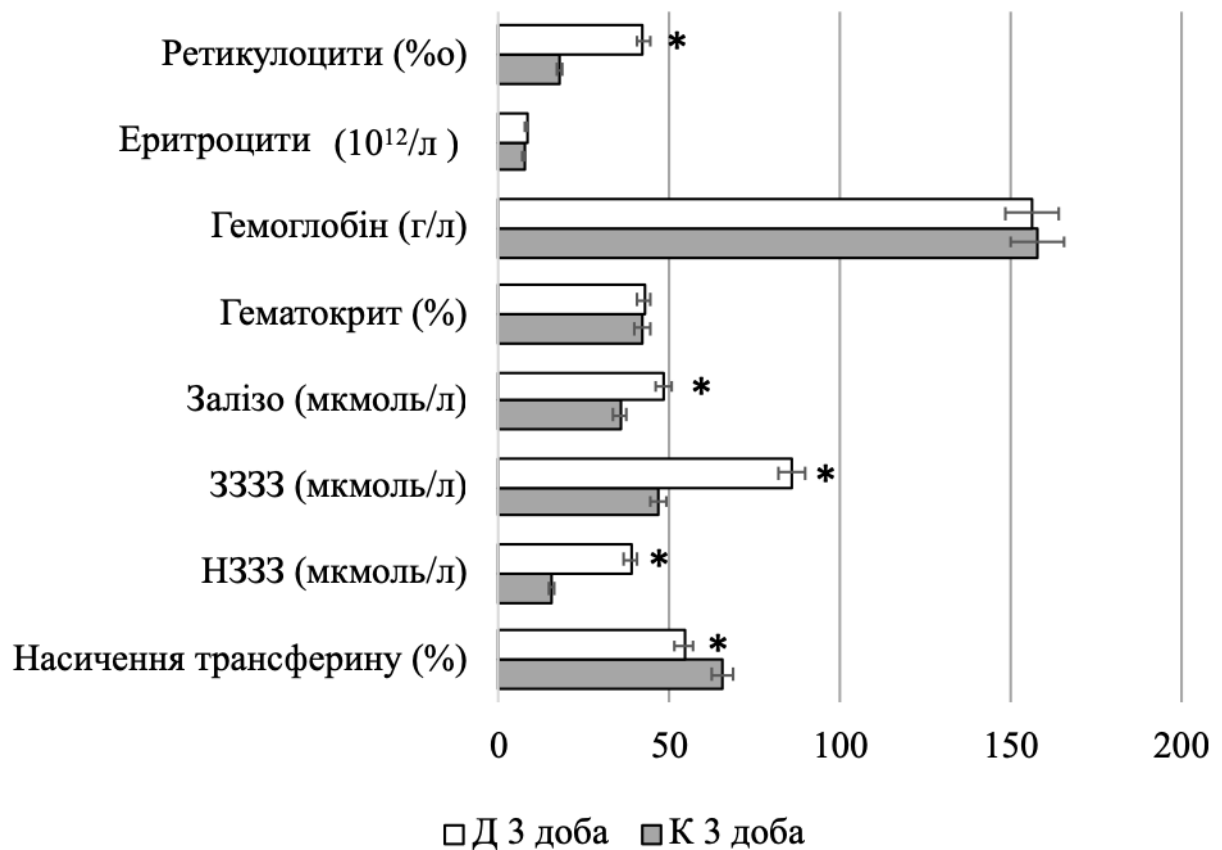


Рис. 4.2. Показники периферійної крові та залізотransпортної функції сироватки крові щурів групи (Д) на 3-тню добу.

Примітки:

ЗЗЗЗ – загальна залізовв'язуюча здатність сироватки крові;

НЗЗЗ – ненасичена залізовв'язуюча здатність сироватки крові;

(*) – результат достовірний відносно групи контролю ($p < 0,05$).

Ідентична динаміка спостерігалась стосовно показника ненасиченої залізовв'язуючої здатності сироватки крові, що збільшився по відношенню до 1-ї доби групи Д та групи К ($22,9 \pm 1,1$ мкмоль/л та $15,2 \pm 0,8$ мкмоль/л відповідно). Звернуло увагу, що відсоток насичення трансферину ($54,3 \pm 2,4$ %) став менший за показник в групі І ($68,6 \pm 2,6$ %), проте, в порівнянні з 1-ю добою групи Д не було виявлено достовірної відмінності ($51,9 \pm 2,6$ %). При цьому різниця між вмістом

еритроцитів, гемоглобіну та гематокрит також перестала бути статистично значущою підчас співставлення цих параметрів з 1-шою добою в групах донорів та контролю (див. рис. 4.2).

Проведення порівняльної оцінки результатів отриманих при аналізі показників останньої 5-ї доби спостереження, показало достовірне зменшення до $32,3 \pm 0,7$ % кількості ретикулоцитів в експериментальній групі Р, порівнюючи з $42,1 \pm 0,8$ % попереднього терміну тієї ж групи та значно вищі значення ніж кількість ретикулоцитів в групі К ($18,2 \pm 0,7$ %) (рис. 4.3).

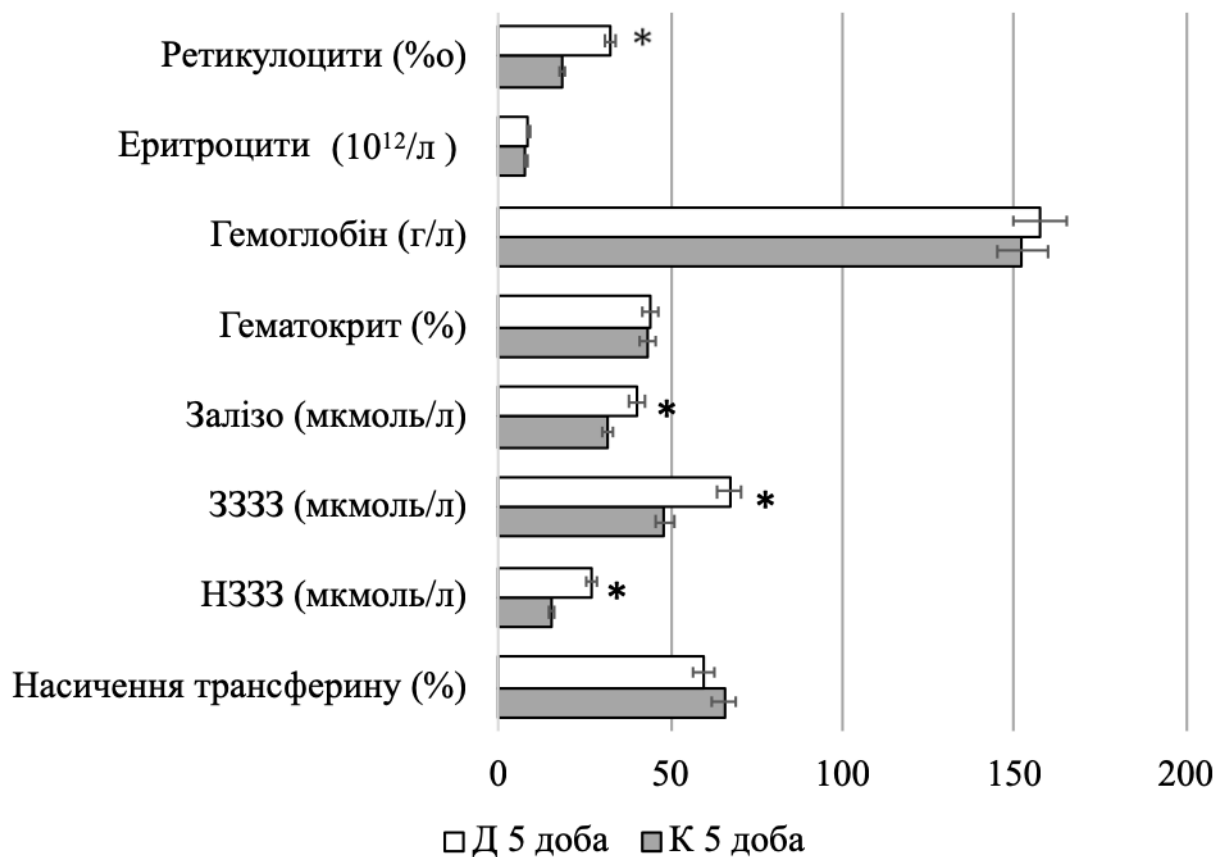


Рис. 4.3. Показники периферійної крові та залізотранспортної функції сироватки крові щурів групи (Д) на 5 добу.

Примітки:

ЗЗЗЗ – загальна залізовв’язуюча здатність сироватки крові;

НЗЗЗ – ненасичена залізовв’язуюча здатність сироватки крові;

(*) – результат достовірний відносно групи контролю ($p < 0,05$).

Сироваткове залізо також мало менше значення ($40,2 \pm 0,5$ мкмоль/л) по відношенню до 3-ої доби групи Д ($48,3 \pm 0,8$ мкмоль/л) проте такий його вміст був більшим

відносно групи К ($32,4 \pm 0,9$ мкмоль/л). Загальна залізовв'язуюча здатність сироватки крові експериментальної групи становила $67,1 \pm 1,4$ мкмоль/л, що стало достовірно меншим параметром по відношенню до попереднього терміну спостереження ($85,7 \pm 1,2$ мкмоль/л), але більшим, при порівнянні з показником загальної залізовв'язуючої здатності сироватки крові в групі контролю ($47,6 \pm 1$ мкмоль/л). У той же час спостерігалось підвищене значення показника ненасиченої залізовв'язуючої здатності сироватки крові, який склав $26,9 \pm 0,6$ мкмоль/л порівняно з $15,2 \pm 0,8$ мкмоль/л контрольної групи, проте на фоні $38,4 \pm 0,8$ мкмоль/л попереднього терміну цей показник помітно знизився. У той самий час було виявлено збільшення насичення трансферину до $59,8 \pm 2,2$ % проти показника на 3-ю добу групи Д ($54,3 \pm 2,4$ %) та зменшення насичення відносно $68,6 \pm 2,6$ % групи К. Визначення вмісту еритроцитів, гемоглобіну та гематокрит достовірно не відрізнялись від референтних показників.

4.2. Динаміка показників вмісту заліза сироватки крові в експериментальних групах після введення їм сироватки крові отриманої за умов моделювання еритропоезису індукованої стимуляції еритропоезу

В результаті порівняльного аналізу та систематизації даних, передбаченої експериментом, другої серії дослідів, після введення щурам групи Р 2мл сироватки крові тварин групи Д, на 1-шу добу статистично значущої різниці в показниках ретикулоцитів, еритроцитів, гемоглобіну, гематокриту по відношенню до контрольної групи не відмічалось. Визначення сироваткового заліза мало беззаперечні ознаки достовірного зросту до $47,2 \pm 0,8$ мкмоль/л у реципієнтів, відносно $32,4 \pm 0,9$ мкмоль/л в групі контролю. Середні величини параметрів загальної залізовв'язуючої здатності сироватки крові ($66,5 \pm 0,8$ мкмоль/л) та ненасиченої залізовв'язуючої здатності сироватки крові ($20,3 \pm 0,6$ мкмоль/л) підвищувались в порівнянні з контрольною групою, де вони становили $47,6 \pm 1$ мкмоль/л та $15,2 \pm 0,8$ мкмоль/л відповідно. Відсоток насичення

трансферину склав $72,2 \pm 2,4$ %, що, як видно з діаграми є достовірно більшим за $68,6 \pm 2,6$ % в групі К (рис. 4.4, див. табл. 1.1).

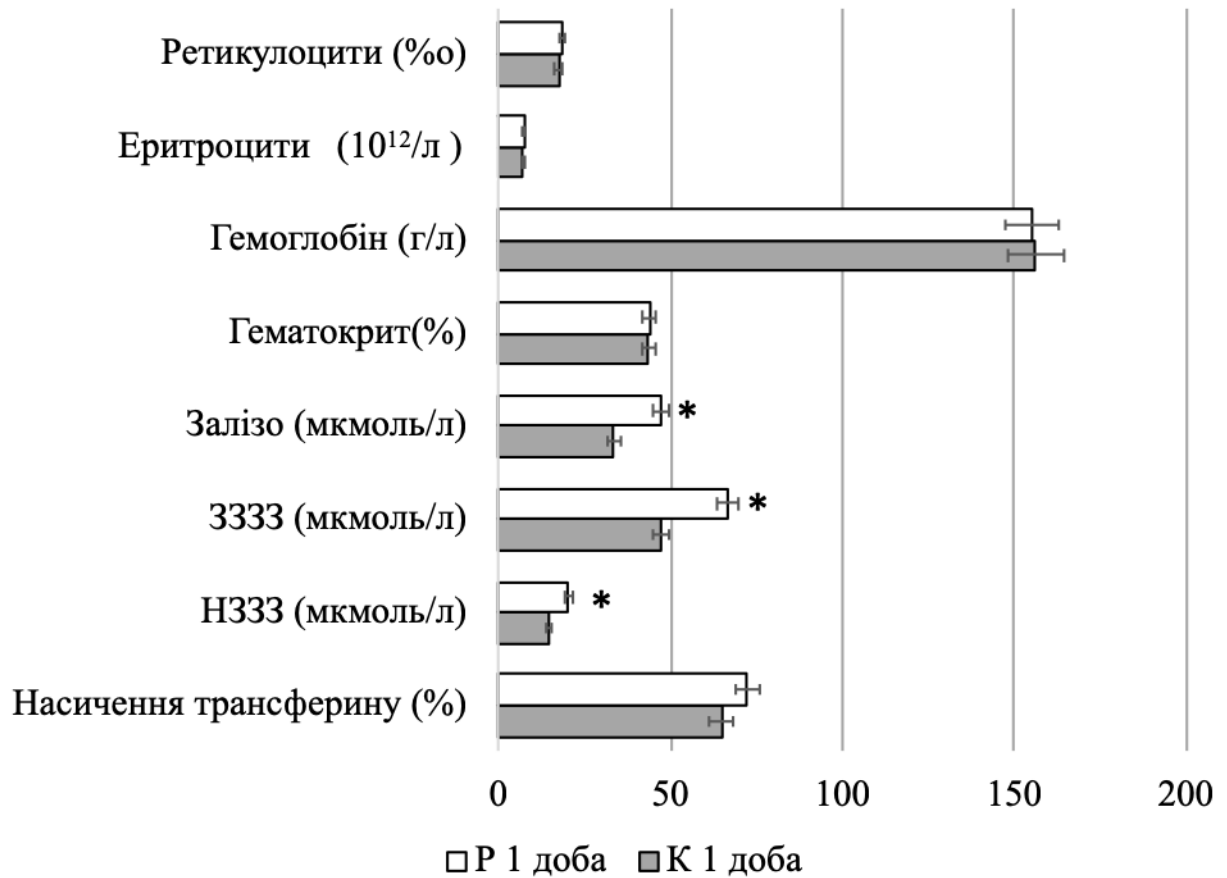


Рис. 4.4. Показники периферійної крові та залізотранспортної функції сироватки крові у щурів групи (Р) після введення сироватки крові тварин групи (Д) на 1-шу добу.

Примітки:

ЗЗЗЗ – загальна залізо зв'язуюча здатність сироватки крові;

НЗЗЗ – ненасичена залізо зв'язуюча здатність сироватки крові;

(*) – результат достовірний відносно групи контролю ($p < 0,05$).

Кількість ретикулоцитів, еритроцитів, гемоглобіну та гематокрит, на 3-тю добу спостереження, знаходились в межах допустимих варіаційних відхилень по відношенню до групи контролю та 1-ї доби групи Р. Стабільне, статистично значуще, підвищення показників просліджувалось під час визначення кількості

загального заліза, що мала рівень $86,3 \pm 0,6$ мкмоль/л при співставленні даних 1-ї доби групи Р, де вона становила $47,2 \pm 0,8$ мкмоль/л, та більш ніж вдвічі перевищувала такий самий показник групи К ($32,4 \pm 0,9$ мкмоль/л) (рис. 4.5).

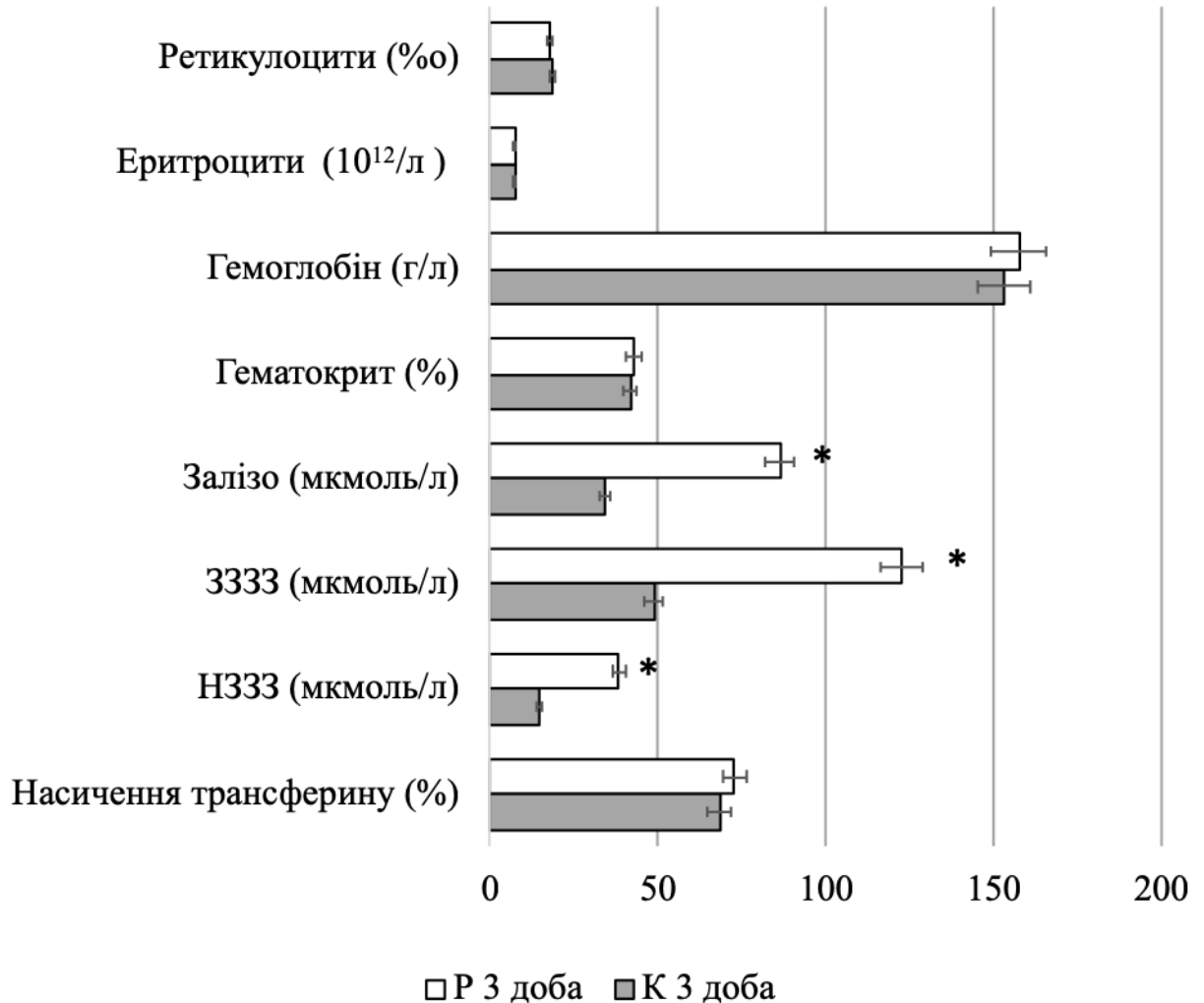


Рис. 4.5. Показники периферійної крові та залізотранспортної функції сироватки крові у щурів групи (Р) після введення сироватки крові тварин групи (Д) на 3-тю добу.

Примітки:

ЗЗЗЗ – загальна залізовв’язуюча здатність сироватки крові;

НЗЗЗ – ненасичена залізовв’язуюча здатність сироватки крові;

(*) – результат достовірний відносно групи контролю ($p < 0,05$).

Аналогічний процес спостерігався при детермінуванні спроможностей загальної залізовв’язуючої здатності сироватки крові та ненасиченої залізовв’язуючої здатності сироватки крові. Значення загальної залізовв’язуючої здатності сироватки

крові помітно збільшувались в групі Р - $122,6 \pm 1,2$ мкмоль/л, що майже у два рази перевищило показники попередньої доби групи Р ($66,5 \pm 0,8$ мкмоль/л) та, практично втричі - показник групи контролю ($47,6 \pm 1$ мкмоль/л). Достовірне збільшення показника ненасиченої залізовв'язуючої здатності сироватки крові визначилось відносно 1-ї доби спостереження групи Р та контрольної групи, в якій він становив $38,3 \pm 1,3$ мкмоль/л проти $20,3 \pm 0,6$ мкмоль/л та $15,2 \pm 0,8$ мкмоль/л відповідно. Також відбулось зростання відсотку насичення трансферину до $72,6 \pm 2,2$ % з вірогідно значущим відхиленням у бік збільшення відносно показника в групі К - $68,6 \pm 2,6$ % та протилежним порівняльним значенням з результатом попереднього терміну групи Д $72,2 \pm 2,4$ %, що показав відсутність різниці між параметрами.

Обробка усереднених показників на заключну 5-ту добу другої серії експерименту виявила, що у тварин групи Р кількість ретикулоцитів, еритроцитів, гемоглобіну та гематокрит не відрізнялись від 3-ої доби групи Р, та відповідали межам референтних показників. Порівняльний аналіз отриманих величин загального вмісту сироваткового заліза, загальної залізовв'язуючої здатності сироватки крові та ненасиченої залізовв'язуючої здатності сироватки крові вказує на деяку протилежність результатів при співставленні груп експерименту та термінів спостереження. Так, сироваткове залізо склало $58,1 \pm 0,8$ мкмоль/л, що виявилось значуще меншим за показник групи Р 3-ої доби, в якій цей параметр становив $86,3 \pm 0,6$ мкмоль/л, однак його середні величини, по відношенню до контрольної групи ($32,4 \pm 0,9$ мкмоль/л), мали достовірно більші значення. Відносно показника загальної залізовв'язуючої здатності сироватки крові 3-ої доби експерименту ($122,6 \pm 1,2$ мкмоль/л) на 5-ту добу групи Р, вміст загальної залізовв'язуючої здатності сироватки крові зменшується до $82,3 \pm 0,7$ мкмоль/л, проте залишається збільшеним відносно показника групи К ($47,6 \pm 1$ мкмоль/л). Достовірно від показника 3-ї доби групи Р ($38,3 \pm 1,3$ мкмоль/л) до $23,5 \pm 0,7$ мкмоль/л зменшується ненасичена залізовв'язуюча здатність сироватки крові та підвищується відносно показника в групі І ($15,2 \pm 0,8$ мкмоль/л). Поступово, з $72,6 \pm 2,2$ % попереднього терміну спостереження групи Р, до меж показників референтної групи ($68,6 \pm 2,6$ %) зменшується відсоток насичення трансферину (рис. 4.6).

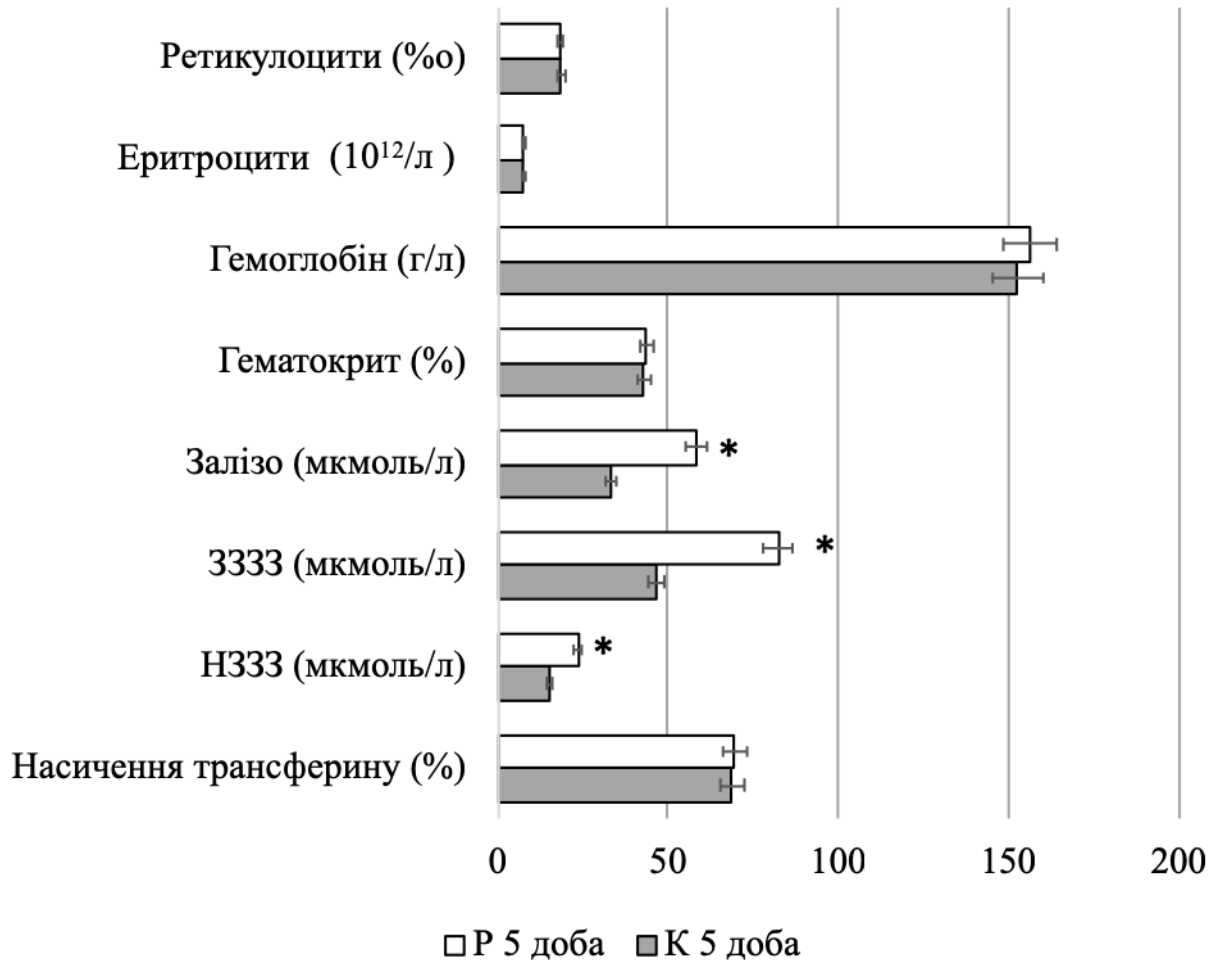


Рис. 4.6. Показники периферійної крові та залізотранспортної функції сироватки крові у щурів групи (Р) після введення сироватки крові тварин групи (Д) на 5-ту добу.

Примітки:

ЗЗЗЗ – загальна залізовв’язуюча здатність сироватки крові;

НЗЗЗ – ненасичена залізовв’язуюча здатність сироватки крові;

(*) – результат достовірний відносно групи контролю ($p < 0,05$).

Достовірне збільшення в групі донорів (Д) кількості ретикулоцитів після моделювання стимуляції еритропоезу шляхом введення щурам розчину Епобіокрину, підтвердило відтворення стану стимульованого еритропоезу. Введення сироватки крові тварин групи донорів референтним тваринам (група реципієнти (Р) на фоні незмінної кількості ретикулоцитів, еритроцитів, гемоглобіну та гематокриту, достовірно збільшувались: вміст сироваткового загального заліза (ЗЗ), загальної залізовв’язуючої здатності

сироватки крові (ЗЗЗЗ), ненасиченої залізоzv'язуючої здатності сироватки крові (НЗЗЗ) та відсоток насичення трансферину. Приріст досліджуваних показників спостерігався з 1-ої доби, на 3-тю добу експерименту сягав максимуму, на 5-ту добу поступово зменшувався, відносно попереднього терміну спостереження, маючи тенденцію повернення до меж показників референтної групи.

Результати досліджень, які наведені в цьому розділі, описані в наступних роботах:

13. І. Ю. Бурега, “Динаміка змін показників рівня заліза сироватки крові щурів в нормі та при стимуляції еритропоезу (експериментальне дослідження)”, на *Актуальні питання експериментальної, клінічної медицини та фармації: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю*, Луганськ, 2012, с. 252.

15. І. Ю. Бурега, “Особливості динаміки показників периферійної крові за умов стимуляції еритропоезу”, на *матеріали VI (68) міжнародного науково-практичного конгресу студентів та молодих вчених “Актуальні проблеми сучасної медицини”*, Київ, 2014, с. 258.

14. І. Ю. Бурега, “Особливості динаміки змін показників транспорту та насичення заліза крові у щурів при введенні сироватки крові тварин після стимуляції еритропоезу”, *Вісник проблем біології і медицини*, т. 2, № 4, с. 394-398, 2015.

РОЗДІЛ 5

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МОДЕЛЬ ВІДТВОРЕННЯ СТАНУ ГІПОКСИЧНОЇ ГІПОКСІЇ

5.1. Динаміка змін показників вмісту заліза сироватки крові у тварин групи донори після відтворення гіпоксичної гіпоксії

Представлені в розділі 4 результати одержані при переведенні сироватки крові, отриманої від тварин з епобіокриніндукованим еритропоезом залишають відкритим питання наявності таких самих змін при відтворенні іншої моделі активації цього процесу. Завданням наступного дослідження було вивчити вплив на тварин групи реципієнтів, сироватки крові отриманої від щурів зі стимульованим еритропоезом станом гіпоксичної гіпоксії. Проведено дві серії дослідів. У першій з них вивчали вплив ендогенного еритропоетину, виробленого під дією барокамери, на стимуляцію еритропоезу. Метою другої серії було встановити дію сироватки крові тварин, зі стимульованим гіпоксичною гіпоксією еритропоезом, на вміст та транспорт заліза в крові реципієнтів.

На 1-шу добу після барокамери спостерігались ознаки стимуляції еритропоезу, що підтверджувалось підвищенням кількості ретикулоцитів до $26,1 \pm 0,9$ % відносно $18,2 \pm 0,7$ % групи контролю. Загальний вміст кількості еритроцитів, гемоглобіну та гематокрит залишались однаковим в обох піддослідних групах та були такими:

кількість еритроцитів – $7,64 \pm 0,4 \times 10^{12}/л$;

вміст гемоглобіну – $155,3 \pm 7,9$ г/л;

гематокрит – $43,1 \pm 0,9$ %

В 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 залізоzv'язуюча здатність сироватки крові, відсоток насичення трансферину зменшувався з $67,1 \pm 2,1$ % до $55,7 \pm 2,7$ % (рис. 5.1, див. табл. 1.3). Різниця показників параметрів, що досліджувались, була достовірною стосовно всіх вказаних величин ($p < 0,05$).

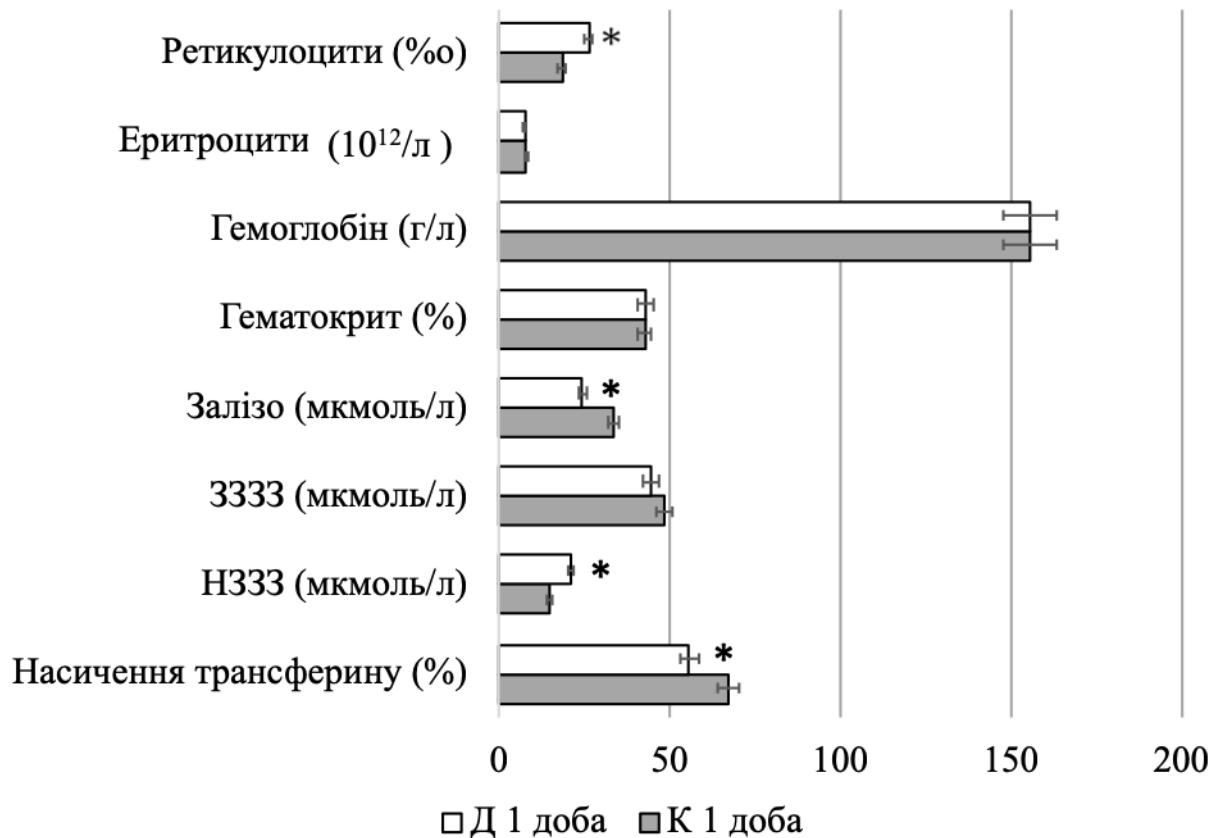


Рис. 5.1. Показники периферійної крові та залізотранспортної функції сироватки крові щурів групи (Д) на 1-шу добу.

Примітки:

ЗЗЗЗ – загальна залізовв’язуюча здатність сироватки крові;

НЗЗЗ – ненасичена залізовв’язуюча здатність сироватки крові;

(*) – результат достовірний відносно групи контролю ($p < 0,05$).

На 3-ю добу після дії гіпоксичної гіпоксії у тварин 2-ї експериментальної групи показники еритроцитів, гемоглобіну та гематокриту не відрізнялися від показників попереднього терміну спостереження (рис. 5.2), даних контрольної групи та не перевищували меж референтних показників. Кількість ретикулоцитів сягає 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 вміст ретикулоцитів контрольної групи ($18,2 \pm 0,7$ %).

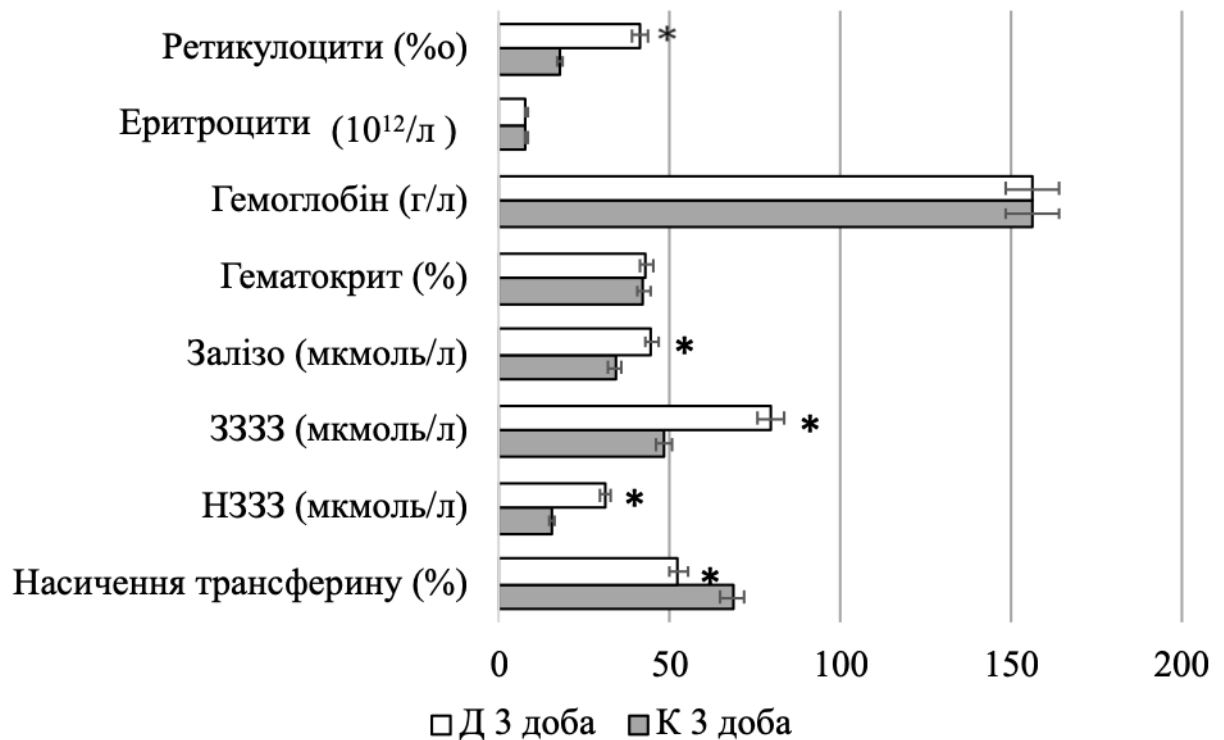


Рис. 5.2. Показники периферійної крові та залізотransпортної функції сироватки крові щурів групи (Д) на 3-тю добу.

Примітки:

ЗЗЗЗ – загальна залізовв’язуюча здатність сироватки крові;

НЗЗЗ – ненасичена залізовв’язуюча здатність сироватки крові;

(*) – результат достовірний відносно групи контролю ($p < 0,05$).

Якщо на 1-у добу після змодельованого стану гіпоксичної гіпоксії у тварин донорів вміст загального заліза сироватки крові зменшувався відносно контролю, 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 і з показниками 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. В 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 $68,2 \pm 2,2$ %.

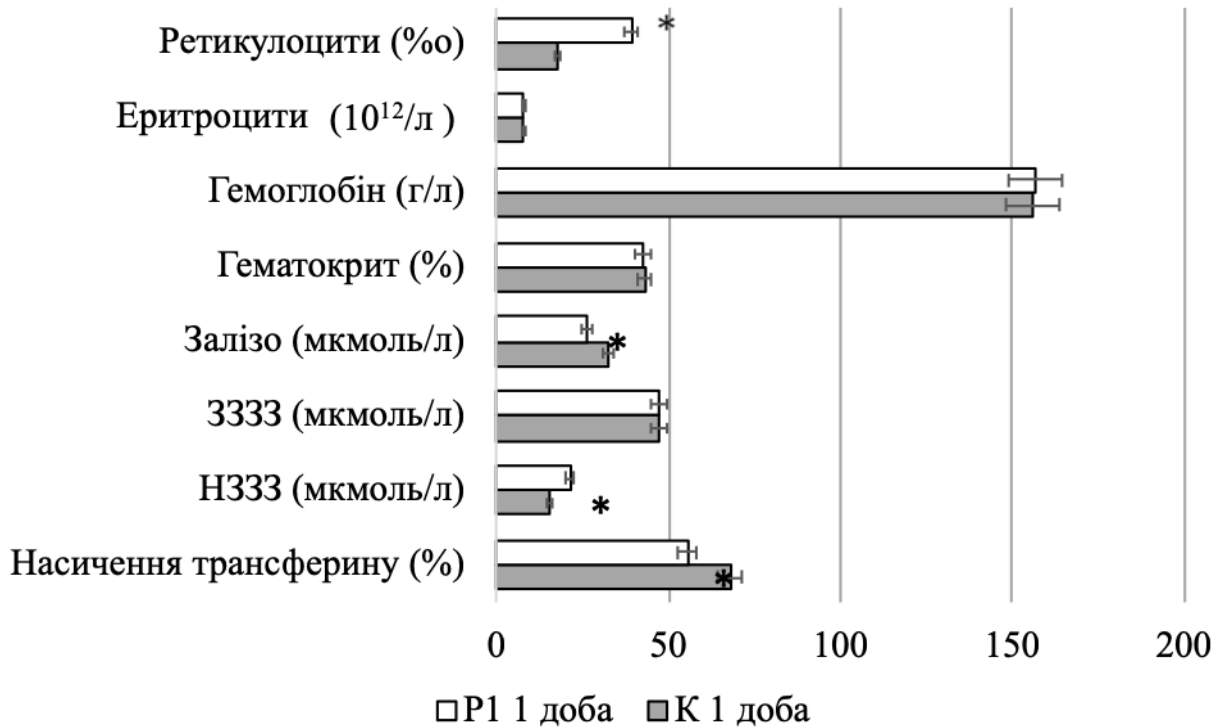


Рис. 5.3. Показники периферійної крові та залізотранспортної функції сироватки крові у щурів групи (Р1) експериментальної групи після введення сироватки крові тварин групи (Д) на 1 добу.

Примітки:

ЗЗЗЗ – загальна залізовв'язуюча здатність сироватки крові;

НЗЗЗ – ненасичена залізовв'язуюча здатність сироватки крові;

(*) – результат достовірний відносно групи контролю ($p < 0,05$).

5.2. Динаміка змін показників вмісту заліза сироватки крові у тварин групи реципієнтів після введення їм сироватки крові отриманої за умов моделювання стимуляції еритропоезу шляхом відтворення гіпоксичної гіпоксії

Результатом переведення сироватки крові щурів 3-ї доби після впливу гіпоксичної гіпоксії було значне підвищення кількості ретикулоцитів, а саме

39,1±0,6 %о відносно 18,7±0,7 %о групи контролю (див. рис. 5.3, див. табл. 1.4). Вміст еритроцитів, гемоглобіну та гематокрит не відрізнявся від референтних показників. Достовірно зменшувався до (26,3±1,6 мкмоль/л) об'єм загального заліза, (46,9±1,9 мкмоль/л) загальна залізовв'язуюча здатність сироватки крові. Збільшувався до (21,4±1,7 мкмоль/л) ненасичена залізовв'язуюча здатність сироватки крові. Зменшувався відсоток насичення трансферину до (55,6±2,4 %).

В подальшому, експериментом було передбачено введення сироватки крові тварин групи P1 з моніторингом досліджуваних параметрів на 1-у, 3-ю, 5-у, 7-у доби.

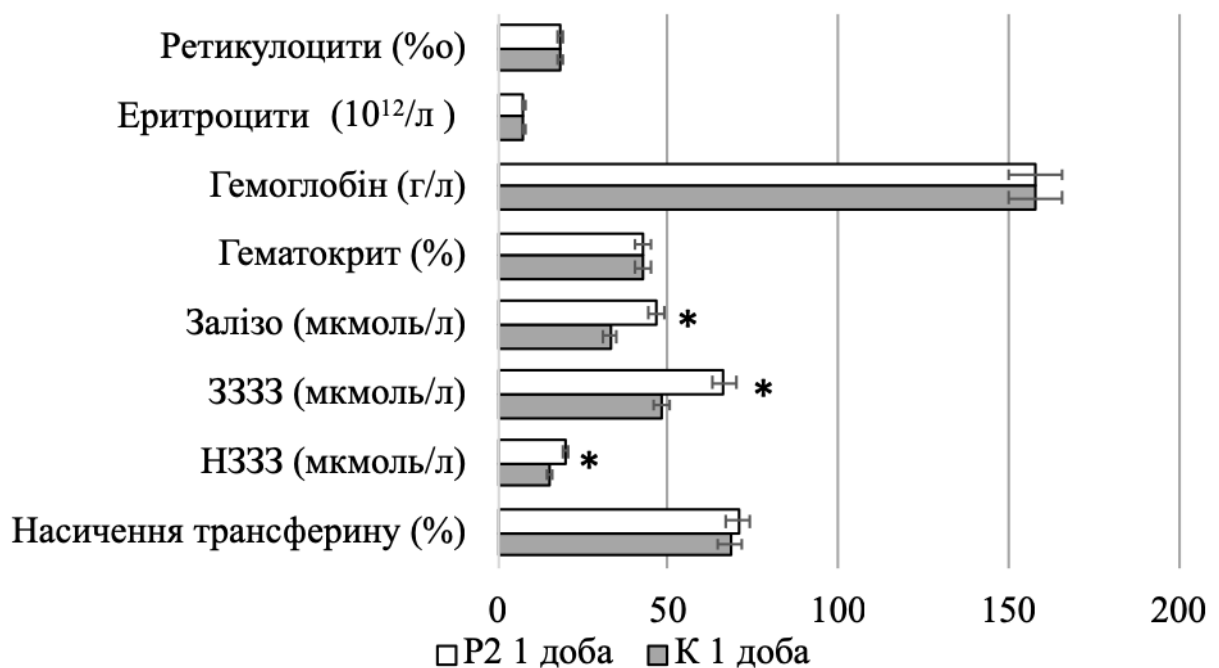


Рис. 5.4. Показники периферійної крові та залізотранспортної функції сироватки крові у щурів групи (P2) після введення сироватки крові тварин групи (P1) на 1-шу добу.

Примітки:

ЗЗЗЗ – загальна залізовв'язуюча здатність сироватки крові;

НЗЗЗ – ненасичена залізовв'язуюча здатність сироватки крові;

(*) – результат достовірний відносно групи контролю ($p < 0,05$).

На всіх термінах спостереження показники ретикулоцитів, еритроцитів, гемоглобіну та гематокриту залишалися незмінними на фоні контролю. У тварин виведених з експерименту на 1-у добу суттєво наростали вміст

загального заліза крові ($46,7 \pm 0,4$ мкмоль/л), загальної залізо зв'язуючої здатності сироватки крові ($66,4 \pm 0,6$ мкмоль/л), ненасиченої залізо зв'язуючої здатності сироватки крові ($19,7 \pm 0,7$ мкмоль/л). Відсоток насичення трансферину ($70,7 \pm 2,8$ %) показував тенденцію до зростання (див. рис. 5.4, див. табл. 1.5).

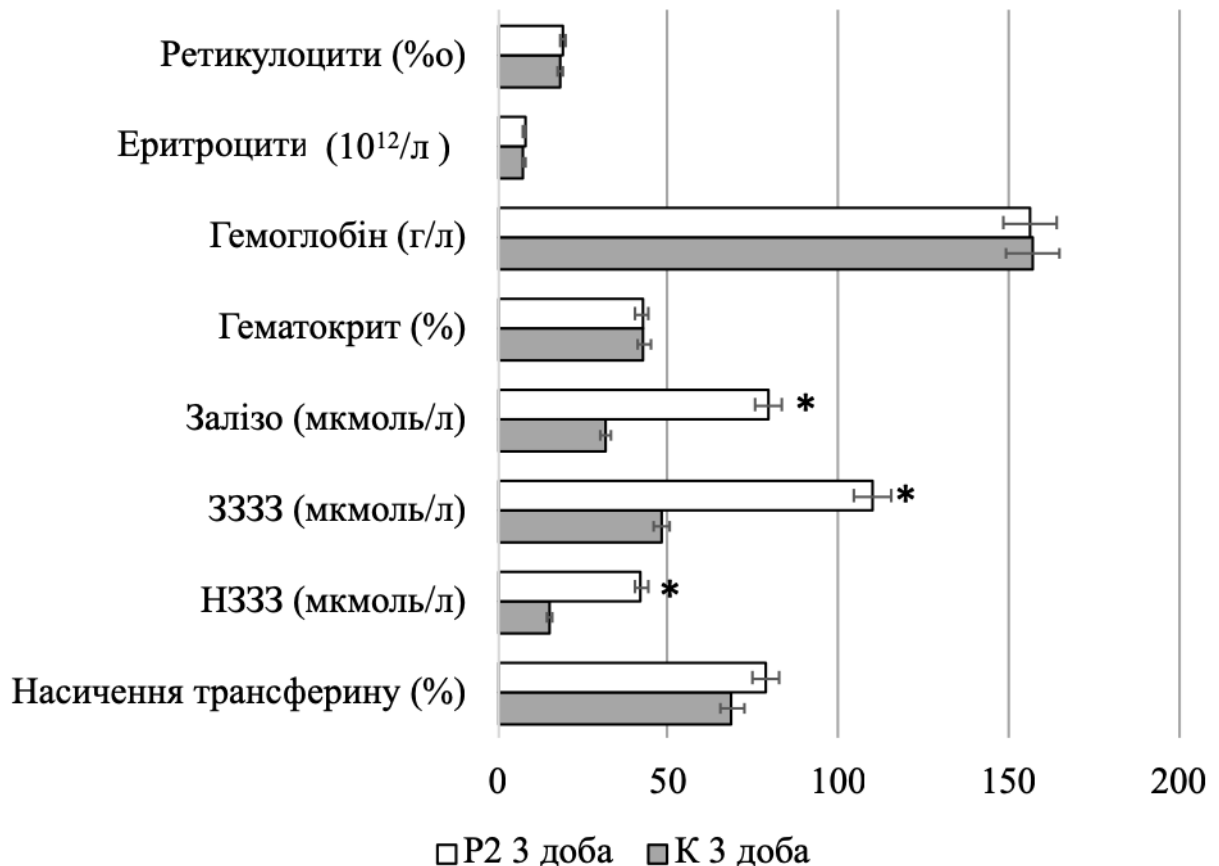


Рис. 5.5. Показники периферійної крові та залізотранспортної функції сироватки крові у щурів групи (Р2) після введення сироватки крові тварин групи (Р1) на 3-тю добу.

Примітки:

ЗЗЗЗ – загальна залізо зв'язуюча здатність сироватки крові;

НЗЗЗ – ненасичена залізо зв'язуюча здатність сироватки крові;

(*) – результат достовірний відносно групи контролю ($p < 0,05$).

Статистична обробка даних показала, що на 3-ю добу спостереження у щурів 4-ї групи експерименту вміст загального заліза сироватки крові зростає до $79,2 \pm 0,8$ мкмоль/л в порівнянні з референтною групою ($32,4 \pm 0,9$ мкмоль/л). Загальна

залізовв'язуюча здатність сироватки крові експериментальних тварин достовірно вища ($110,2 \pm 0,8$ мкмоль/л) від показників референтної групи ($47,6 \pm 1$ мкмоль/л) ($p \leq 0,05$). Ненасичена залізовв'язуюча здатність сироватки крові 4-ї групи експерименту значно зростає ($42,0 \pm 2,2$ мкмоль/л) від контролю ($15,1 \pm 1$ мкмоль/л). Показник насичення трансферину експериментальної групи більший ($79,0 \pm 2,7$ %) від показників контролю ($68,2 \pm 2,2$ %) (див. рис. 5.5).

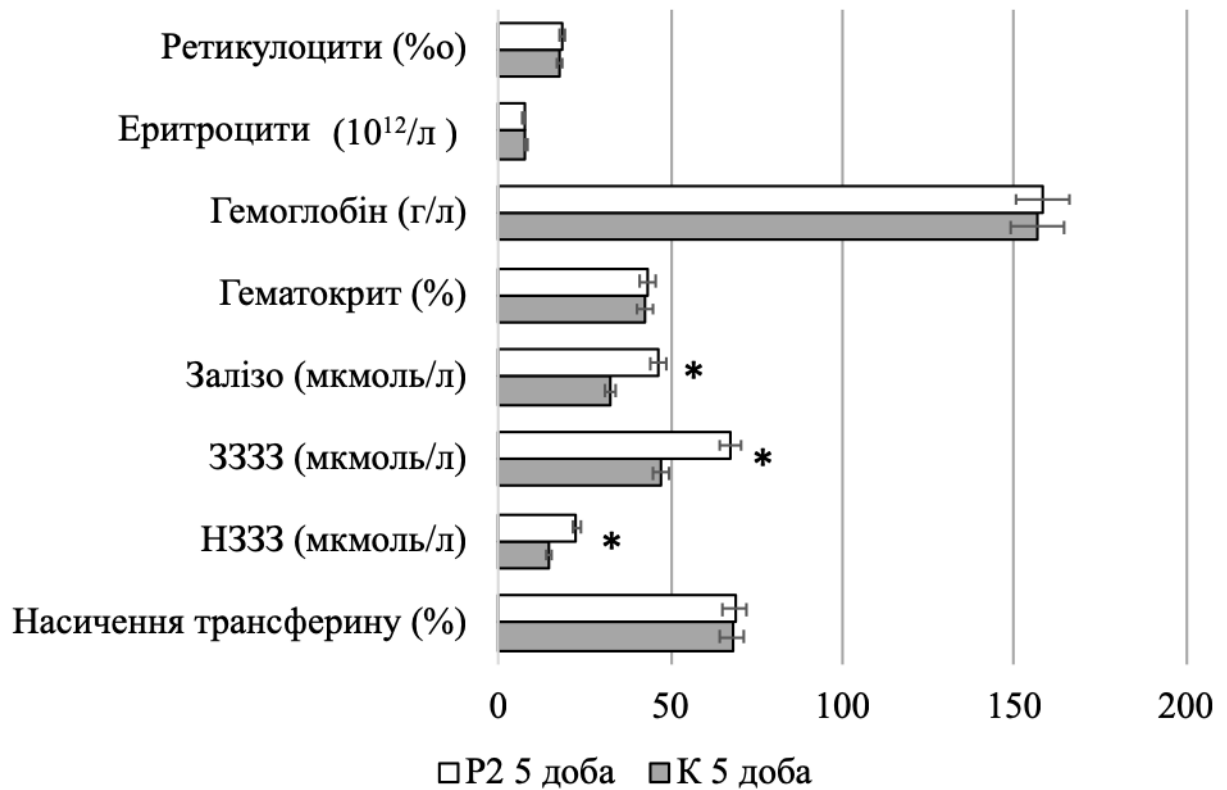


Рис. 5.6. Показники периферійної крові та залізотранспортної функції сироватки крові у щурів групи (Р2) після введення сироватки крові тварин групи (Р1) на 5-ту добу.

Примітки:

ЗЗЗЗ – загальна залізовв'язуюча здатність сироватки крові;

НЗЗЗ – ненасичена залізовв'язуюча здатність сироватки крові;

(*) – результат достовірний відносно групи контролю ($p < 0,05$).

На 5-ту добу спостерігається тенденція до зниження всіх показників, що складають: загальне залізо ($46,8 \pm 0,7$ мкмоль/л), загальна залізовв'язуюча здатність сироватки крові ($67,3 \pm 0,6$ мкмоль/л), ненасичена залізовв'язуюча здатність

сироватки крові ($22,4 \pm 2,1$ мкмоль/л), насичення трансферину ($68,6 \pm 2,4$ %) при порівнянні з попереднім строком спостереження (див. рис. 5.6).



Рис. 5.7. Показники периферійної крові та залізотранспортної функції сироватки крові у щурів групи (Р2) після введення сироватки крові тварин групи (Р1) на 7-му добу.

Примітки:

ЗЗЗЗ – загальна залізовв'язуюча здатність сироватки крові;

НЗЗЗ – ненасичена залізовв'язуюча здатність сироватки крові;

(*) – результат достовірний відносно групи контролю ($p < 0,05$).

На 7-му добу кількість загального заліза складає ($32,6 \pm 0,8$ мкмоль/л), загальної залізовв'язуючої здатності сироватки крові ($48,0 \pm 0,6$ мкмоль/л), ненасиченої залізовв'язуючої здатності сироватки крові ($15,3 \pm 0,7$ мкмоль/л), насичення трансферину ($67,2 \pm 2,3$ %), що не відрізняється від показників

групи контролю та свідчить про повернення всіх параметрів до межі показників референтної групи (див. рис. 5.7).

18 годинне перебування тварин в умовах гіпоксичної гіпоксії стимулювало еритропоез за рахунок збільшення вироблення у тварин групи донорів ендogenous еритропоетину, про що свідчив майже двократний приріст ретикулоцитів у крові та зниження показників заліза плазми крові, а саме 33, 3333, (виняток становив лише показник ненасиченої залізовв'язуючої здатності сироватки крові). У щурів 1 групи реципієнтів на 3-тю добу після введення сироватки крові тварин групи донорів, вміст заліза в плазмі крові зростає, проте кількість ретикулоцитів достовірно перевищує межі показників референтної групи, що свідчить про наявність в крові тварин еритропоетину. Щоб уникнути в експерименті впливу еритропоетину та його метаболітів, проведено перевведення сироватки крові тварин 1 групи реципієнтів референтним щурам (група реципієнтів 2 (Р 2)). Як і в попередньому експерименті, введення тваринам-реципієнтам 2 сироватки крові щурів з ознаками стимульованого еритропоезу (реципієнти 1 (Р 1)) спостерігалось статистично значуще підвищення досліджуваних параметрів сироваткового заліза. Динаміка змін показників сироваткового заліза у тварин групи донорів 2 корелює за часовими параметрами з результатами попередньо описаного експерименту. Поступове підвищення вмісту заліза з максимальним приростом на 3-тю добу, зменшенням на 5-ту, та поверненням до меж визначених референтних показників на 7-му добу.

Результати досліджень, які наведені в цьому розділі, описані в наступних роботах:

12. И. Ю. Бурега, и В. И. Филимонов, “Динамика уровня транспортного железа после стимуляции эритропоеза”, на *Научные труды IV съезда физиологов СНГ*, Сочи – Дагомыс, 2014, с. 109.

10. И. Ю. Бурега “Сравнительная характеристика динамики изменения уровня железа плазмы крови при стимуляции эритропоеза различными

путями”, на *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"*, Запоріжжя, 2012, с. 6-7.

120. I. Yu. Burega, and V. I. Filimonov, “Features of humoral regulation mechanism of iron delivery to the bone marrow in condition of hypoxic hypoxia action”, *Актуальні проблеми сучасної медицини*. vol. 15, no. 3, pp. 238-242, 2015.

РОЗДІЛ 6

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МОДЕЛЬ ВІДТВОРЕННЯ СТАНУ ГЕМОЛІТИЧНОЇ АНЕМІЇ

6.1. Динаміка показників вмісту заліза сироватки крові у тварин групи донори за умов моделювання стану гемолітичної анемії

В наступній серії нами була використана найпоширеніша модель компенсаторної стимуляції еритропоезу - відтворення стану гемолітичної анемії для описання зміни досліджуваних показників у щурів групи реципієнти, яким вводили сироватку крові тварин з фенілгідразин-індукованою анемією. Дослідження включало в себе три серії. В першій серії показано дію гемолітичного розчину на показники клініко-лабораторного аналізу крові. Проведення другої серії, з введенням сироватки крові тварин зі стимульованим еритропоезом шляхом моделювання стану гемолітичної анемії, було з метою виключення впливу ендogenous еритропоетину та гемолітичного розчину, а також їх продуктів метаболізму. Третя серія досліду проведена для описання впливу сироватки крові експериментальних щурів з відсутніми в ній стимуляторами еритропоезу на функціональний стан транспорту заліза.

На 3-тю добу після введення 150мг/кг 2 % солянокислого ФГ у тварин групи Д вихідні показники перед отриманням сироватки крові вказували на ознаки стану стимуляції еритропоезу та часткового гемолізу і становили: більш ніж на 200 % відносно групи контролю збільшилась кількість ретикулоцитів, майже втричі зменшився вміст еритроцитів та вміст гемоглобіну. Показник гематокриту впав до $17,4 \pm 0,6$ % відносно $43,2 \pm 0,8$ % в контрольній групі тварин. Вміст сироваткового заліза збільшився з $32,4 \pm 0,9$ мкмоль/л групи контролю до $48,5 \pm 1,1$ мкмоль/л в групі Д. Загальна залізовв'язуюча здатності сироватки крові та ненасичена залізовв'язуюча здатності сироватки крові в групі донори 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 $63,4 \pm 2,6$ % (рис 6.1, див. табл. 1.6).

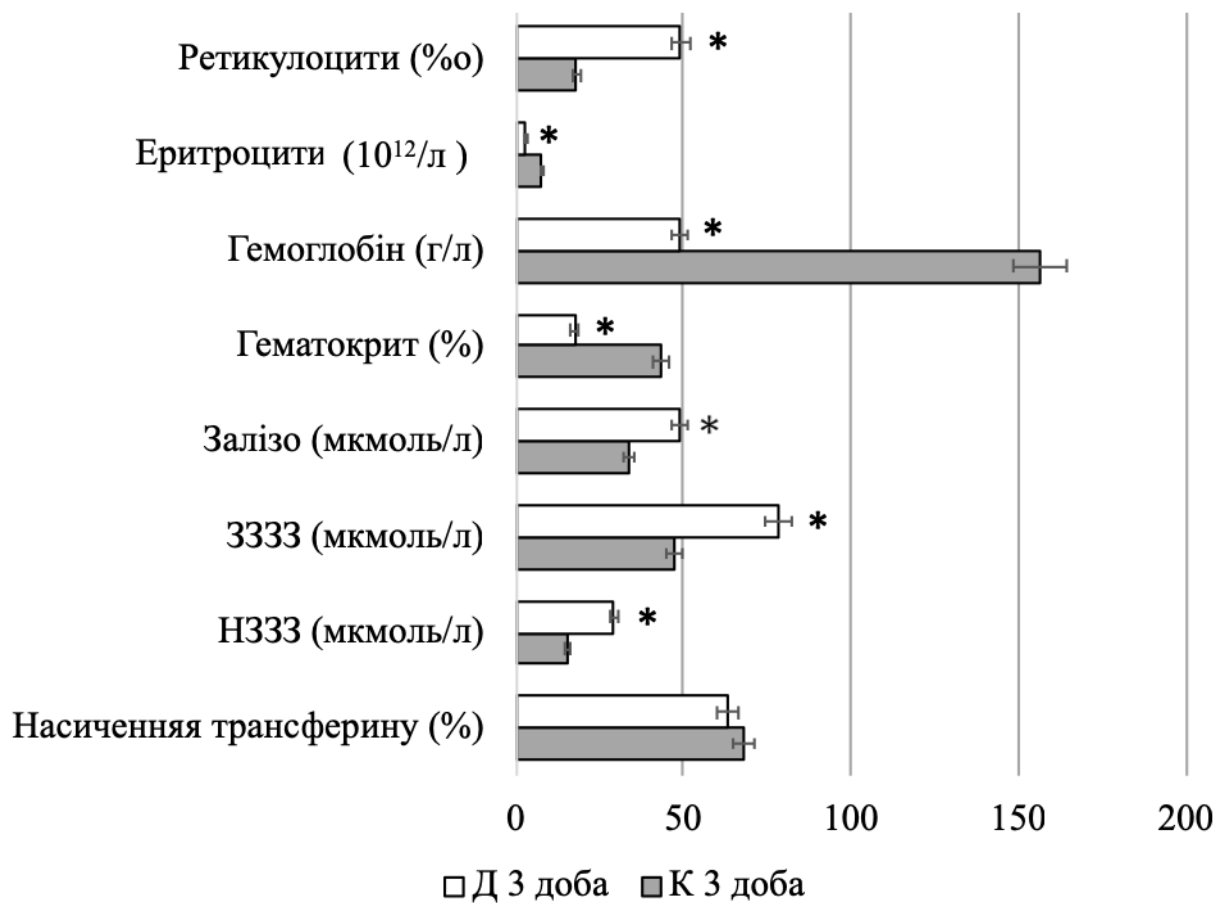


Рис. 6.1. Показники периферійної крові та залізотransпортної функції сироватки крові щурів групи (Д) на 3-тю добу.

Примітки:

ЗЗЗЗ – загальна заліозв’язуюча здатність сироватки крові;

НЗЗЗ – ненасичена заліозв’язуюча здатність сироватки крові;

(*) – результат достовірний відносно групи контролю ($p < 0,05$).

Згідно даних літератури стан гемолітичної анемії приходить до меж фізіологічної норми протягом трьох тижнів. На 21-шу добу експерименту всі досліджувані показники експериментальної групи Д при порівнянні їх з контрольною групою повертаються до межі референтних показників (рис 6.2).

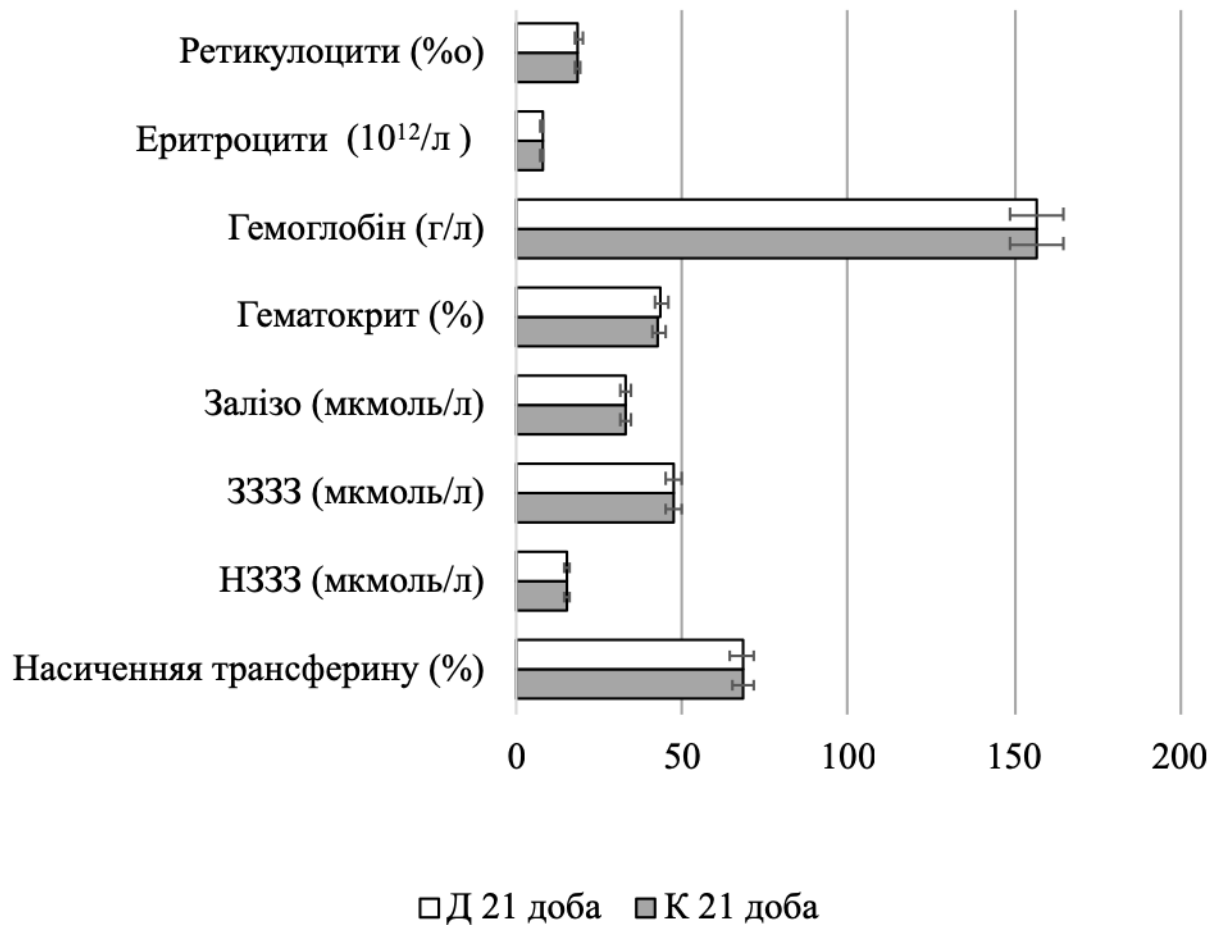


Рис. 6.2. Показники периферійної крові та залізотранспортної функції сироватки крові щурів групи (Д) на 21-шу добу.

Примітки:

ЗЗЗЗ – загальна залізовв’язуюча здатність сироватки крові;

НЗЗЗ – ненасичена залізовв’язуюча здатність сироватки крові;

(*) – результат достовірний відносно групи контролю ($p < 0,05$).

6.2. Динаміка показників вмісту заліза сироватки крові у тварин групи донори після введення їм сироватки крові отриманої за умов моделювання стимуляції еритропоезу шляхом відтворення гемолітичної анемії

Тваринам групи Р1 було введено 2 мл сироватки крові щурів групи Д взятої на 3-тю добу після моделювання стану гемолітичної анемії. 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. В показниках кількості еритроцитів, гемоглобіну, гематокриту, в порівнянні з групою К, достовірних змін не виявлено (рис. 6.3, див. табл. 1.7).

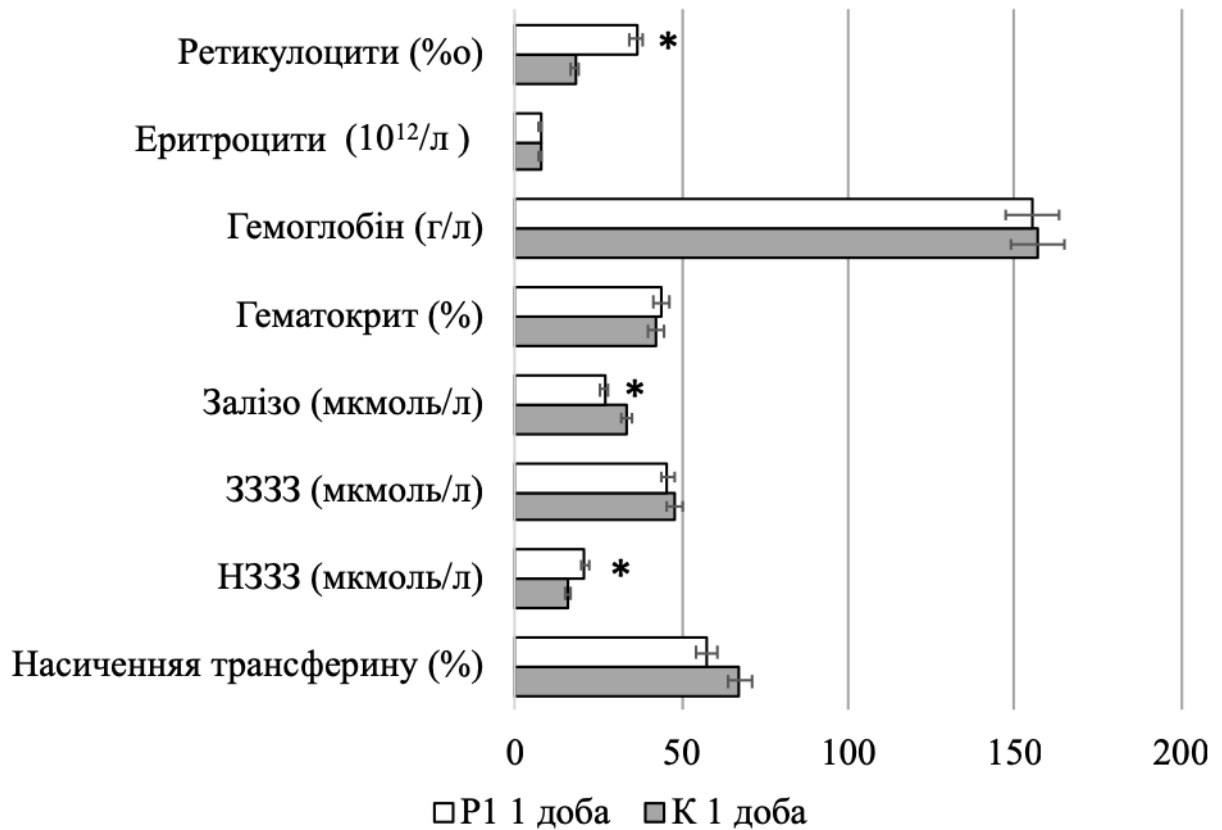


Рис. 6.3. Показники периферійної крові та залізотранспортної функції сироватки крові у щурів групи (P1) після введення сироватки крові тварин групи (Д) на 1-шу добу.

Примітки:

ЗЗЗЗ – загальна залізовв’язуюча здатність сироватки крові;

НЗЗЗ – ненасичена залізовв’язуюча здатність сироватки крові;

(*) – результат достовірний відносно групи контролю ($p < 0,05$).

Вміст загального заліза зменшується до $26,6 \pm 1$ мкмоль/л по відношенню до $32,4 \pm 0,9$ мкмоль/л в групі контролю. Незначно зменшується показник загальної залізовв’язуючої здатності сироватки крові, але збільшується ненасичена залізовв’язуюча здатність сироватки крові по відношенню до групи К. Відсоток насичення трансферину зменшується до $57,4 \pm 2,2$ %.

Після введення сироватки крові тваринам групи P2 від щурів групи P1 з 1-ої по 5-ту добу змін в показниках кількості ретикулоцитів, еритроцитів, гемоглобіну та гематокриту не встановлено.

Кількість сироваткового заліза на 1-шу добу збільшується до $46,8 \pm 0,9$ мкмоль/л в порівнянні з $32,4 \pm 0,9$ мкмоль/л у референтній групі. Загальна залізовв'язуюча здатність сироватки крові складає $63,1 \pm 1,8$ мкмоль/л, що вірогідно більше від $47,6 \pm 1$ мкмоль/л в групі К ($p < 0,05$) (рис. 6.4, див. табл. 1.8).

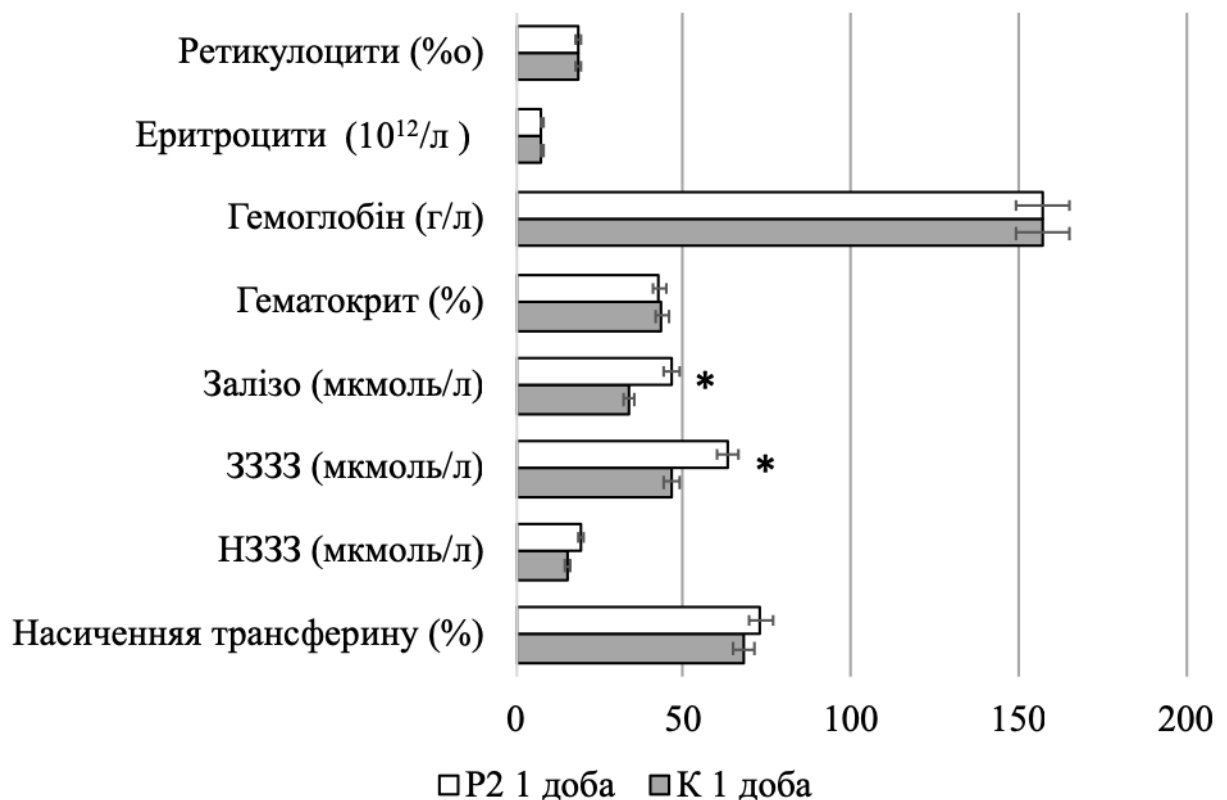


Рис. 6.4. Показники периферійної крові та залізотransпортної функції сироватки крові у щурів групи (P2) після введення сироватки крові тварин групи (P1) на 1-шу добу.

Примітки:

ЗЗЗЗ – загальна залізовв'язуюча здатність сироватки крові;

НЗЗЗ – ненасичена залізовв'язуюча здатність сироватки крові;

(*) – результат достовірний відносно групи контролю ($p < 0,05$).

До $19,3 \pm 0,7$ мкмоль/л відносно $15,2 \pm 0,8$ мкмоль/л групи контролю зростає показник ненасиченої залізовв'язуючої здатності сироватки крові. Незначне збільшення має відсоток насичення трансферину - $72,9 \pm 2,6$ % проти $68,6 \pm 2,6$ % у референтній групі.

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 групи P2 1-ї доби експерименту, та майже втричі результат групи контролю (рис. 6.5).

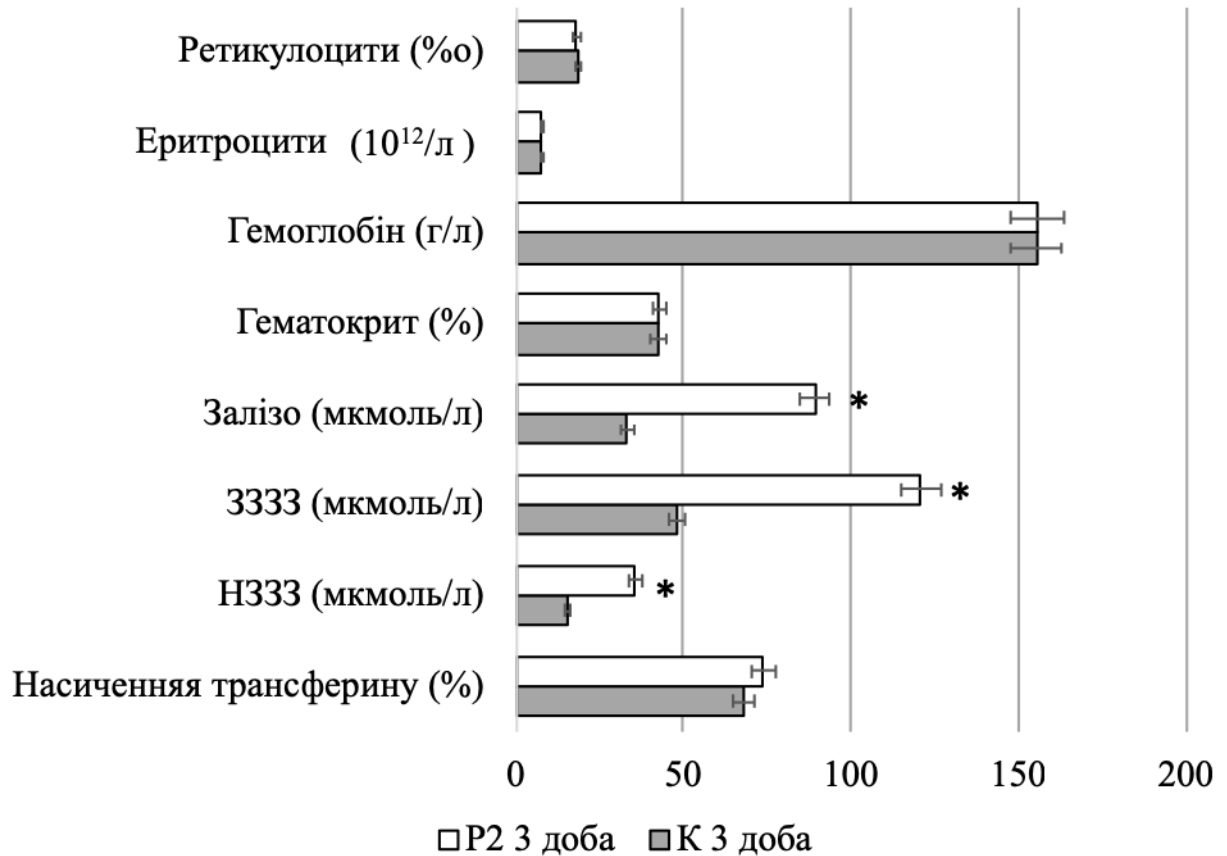


Рис. 6.5. Показники периферійної крові та залізотransпортної функції сироватки крові у щурів групи (P2) після введення сироватки крові тварин групи (P1) на 3-тю добу.

Примітки:

ЗЗЗЗ – загальна залізовв'язуюча здатність сироватки крові;

НЗЗЗ – ненасичена залізовв'язуюча здатність сироватки крові;

(*) – результат достовірний відносно групи контролю ($p < 0,05$).

Збільшується показник ненасиченої залізовв'язуючої здатності сироватки крові до $35,6 \pm 1,4$ мкмоль/л по відношенню до 1-ї доби групи P2 ($19,3 \pm 0,7$ мкмоль/л) та групи I ($15,2 \pm 0,8$ мкмоль/л). Відсоток насичення трансферину становить $73,8 \pm 2,4$ %, що

вище від показника контрольної групи та не відрізняється від показника 1-ї доби групи P2.

На 5-ту добу експерименту в групі P2 вміст заліза сироватки крові зменшується, по відношенню до 3-ої доби, але залишається підвищеним по відношенню до групи контролю, ($51,4 \pm 0,8$ мкмоль/л до $89,4 \pm 1,1$ мкмоль/л до $32,4 \pm 0,9$ мкмоль/л відповідно) (рис. 6.6).

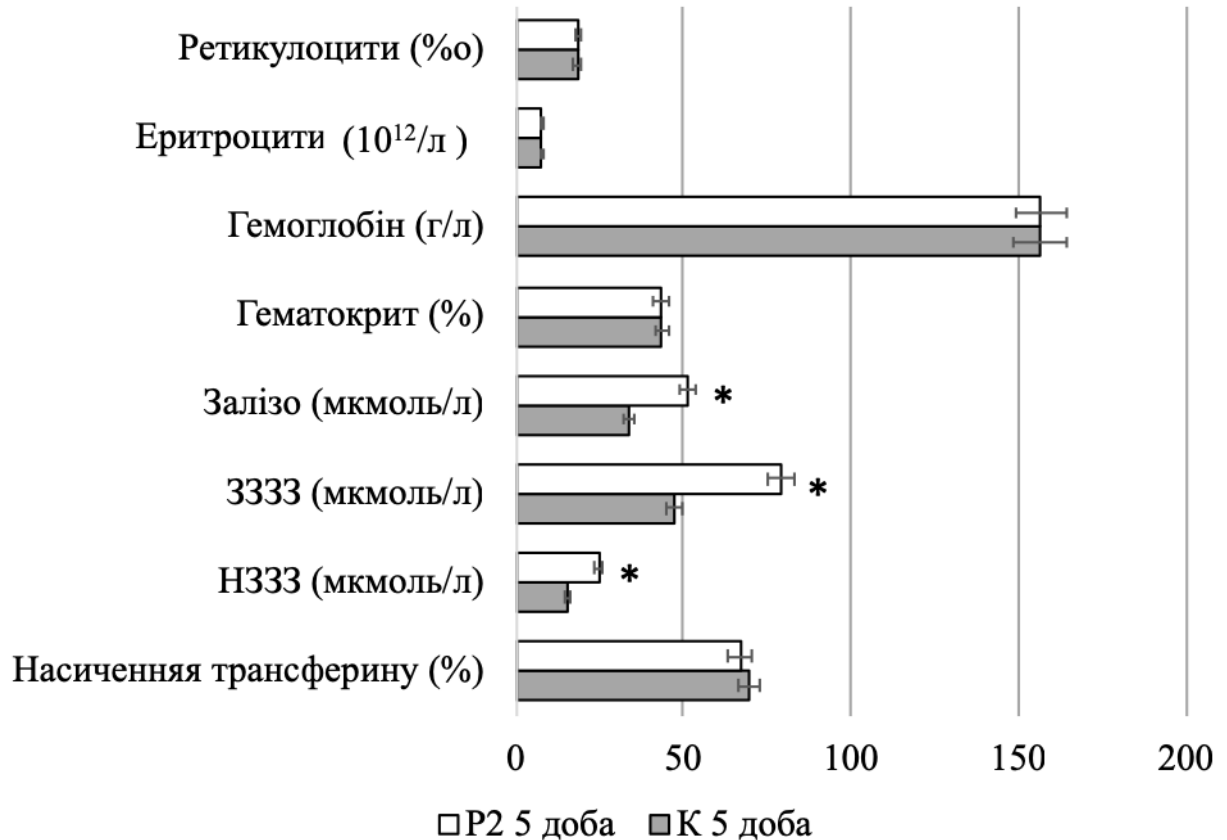


Рис. 6.6. Показники периферійної крові та залізотранспортної функції сироватки крові у щурів групи (P2) після введення сироватки крові тварин групи (P1) на 5-ту добу.

Примітки:

ЗЗЗЗ – загальна залізовв’язуюча здатність сироватки крові;

НЗЗЗ – ненасичена залізовв’язуюча здатність сироватки крові;

(*) – результат достовірний відносно групи контролю ($p < 0,05$).

Показник загальної залізовв’язуючої здатності сироватки крові вірогідно знижується до $79,2 \pm 2,7$ мкмоль/л відносно ($120,7 \pm 6,2$ мкмоль/л) на 3-ю добу групи P2, але залишається підвищеним по відношенню до групи К ($47,6 \pm 1$

мкмоль/л), $p < 0,05$. Ненасичена залізовв'язуюча здатність сироватки крові сягає $24,7 \pm 0,9$ мкмоль/л, що достовірно менше від показника попереднього терміну спостереження в групі P2 ($35,6 \pm 1,4$ мкмоль/л), але залишається збільшеною, відносно показника в групі I ($15,2 \pm 0,8$ мкмоль/л). Поступово зменшується до межі референтного показника відсоток насичення трансферину відносно показника 3-ї доби групи P2.

Таким чином, після відтворення моделі фенілгідразиніндукованої гемолітичної анемії у щурів-донорів майже втричі збільшилась кількість ретикулоцитів, втричі зменшився вміст гемоглобіну, вдвічі – еритроцитів та гематокрит. Достовірно підвищився вміст загального заліза, загальної та ненасиченої залізовв'язуючої здатності сироватки крові, зменшився відсоток насичення трансферину у порівнянні з референтними показниками, встановленої для щурів. В групі P1 проявлялась дія заплишків ендogenous еритропоетину у вигляді достовірно збільшеної кількості ретикулоцитів. Згідно умов експерименту сироватка, що вводилась тваринам-реципієнтам не повинна була мати ознак стимульованого еритропоезу. Для виключення дії ендogenous еритропоетину та його метаболітів було проведено повторне переведення сироватки крові групи P1 референтним тваринам групи реципієнтів 2 на фоні незмінної кількості ретикулоцитів, було виявлено достовірний приріст вмісту сироваткового заліза, ЗЗЗЗ, НЗЗЗ та відсотка насичення трансферину з 1-ї до 3-ї доби після введення. З 3-ї до 5-ї доби спостерігалась тенденція до зниження показників, що визначались.

Результати досліджень, які наведені в цьому розділі, описані в наступних роботах:

11. И. Ю. Бурега, В. И. Филимонов, и Г. В. Пиртя, “Особенности транспорта железа плазмой крови в условиях повышенного гемолиза эритроцитов, но различной активности кроветворения”, на *матеріали XIX-го з'їзду Українського фізіологічного товариства ім. П.Г. Костюка з міжнародною участю, присвяченого 90-річчю від дня народження академіка*

П.Г.Костюка, Львів, 2014, с. 96-97.

118. I. Yu. Burega, “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” на *Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю, присвячена дню науки «Сучасні аспекти медицини і фармації»*, Запоріжжя, 2016, с. 9-10.

17. I. Ю. Бурега, “Особливості змін показників метаболізму заліза крові щурів після введення сироватки крові, отриманої за умов моделювання експериментальної гемолітичної анемії”, *Актуальні проблеми сучасної медицини*, т. 16, № 1, с. 184-188, 2016.

РОЗДІЛ 7

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МОДЕЛЬ ВІДТВОРЕННЯ СТАНУ ПОСТТРАНСФУЗІЙНОЇ ПОЛІЦИТЕМІЇ

7.1. Динаміка змін показників вмісту заліза сироватки крові у тварин зі змодельованим станом пригнічення еритропоезу шляхом відтворення посттрансфузійної поліцитемії після введення їм сироватки крові отриманої за умов моделювання еритропоетиніндукованої стимуляції еритропоезу

В експериментальних серіях розділів 4, 5, 6 висвітлена динаміка змін в показниках залізо-регуляторної системи в результаті дії сироватки крові тварин зі стимульованим еритропоезом на фоні показників референтної групи. В наступному дослідженні 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.

Після стимуляції еритропоезу у тварин 4-ї експериментальної групи кількість ретикулоцитів зростає до $42,6 \pm 0,6$ % в порівнянні з $18,2 \pm 0,7$ % референтної групи. Кількість еритроцитів, гемоглобіну та гематокриту залишається незмінною порівняно з показниками референтної групи. Загальне залізо становить $27,1 \pm 0,8$ мкмоль/л, що вірогідно менше за показник референтної групи ($32,4 \pm 0,9$ мкмоль/л). До $47,8 \pm 1,3$ мкмоль/л зменшується загальна залізов'язуюча здатність сироватки крові. Зростає ненасичена залізов'язуюча здатність сироватки крові, порівняно з групою контролю ($21,7 \pm 0,7$ мкмоль/л та $15,2 \pm 0,8$ мкмоль/л відповідно). З $67,6 \pm 2,2$ % до $56,4 \pm 2,3$ % зменшується відсоток насичення трансферину (рис. 7.1, див. табл. 1.9).

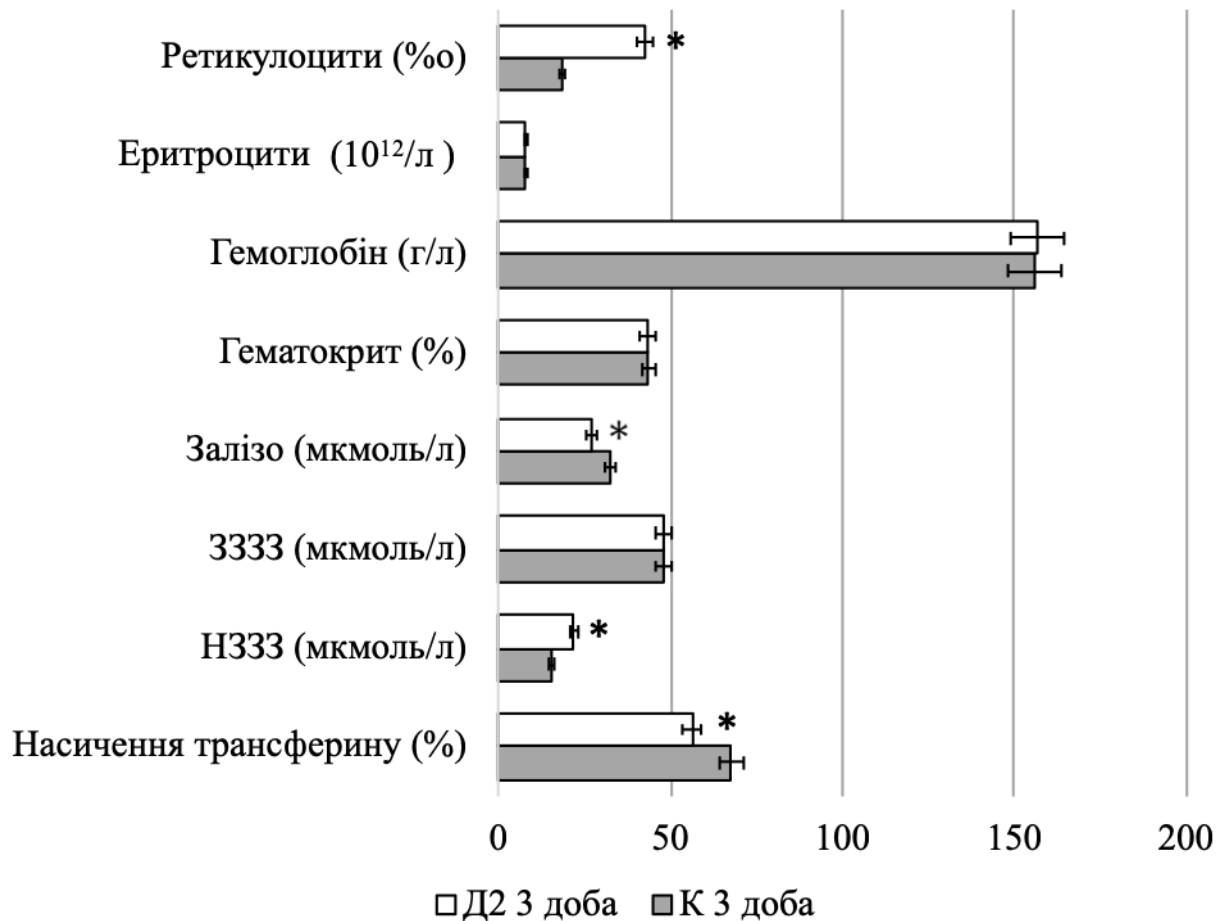


Рис. 7.1. Показники периферійної крові та залізотранспортної функції сироватки крові щурів групи (Д2) на 3-тю добу.

Примітки:

ЗЗЗЗ – загальна залізовв’язуюча здатність сироватки крові;

НЗЗЗ – ненасичена залізовв’язуюча здатність сироватки крові;

(*) – результат достовірний відносно групи контролю ($p < 0,05$).

У щурів групи 3, на момент введення сироватки крові еритропоетинстимульованих тварин (5-та доба після змодельованої поліцитемії), вміст ретикулоцитів, ЗЗЗЗ, НЗЗЗ та відсоток насичення трансферину достовірно зменшується, кількість еритроцитів, гемоглобіну, гематокрит та загальне залізо збільшується відносно групи контролю.

На 1-шу добу після введення сироватки крові щурів 4-ої групи тваринам 3-ої групи відмічається зменшення кількості ретикулоцитів до $3,4 \pm 0,5$ ‰ в порівнянні з референтною групою та не відрізняється від показників 6-ої доби 3-ої групи (рис.

7.2, див. табл. 1.10). Кількість еритроцитів в групі І становить $7,74 \pm 0,4 \times 10^{12}/\text{л}$, що менше $13,1 \pm 0,7 \times 10^{12}/\text{л}$ на 1-шу добу та не відрізняються від 6-ої доби 3-ої групи. Гемоглобін сягає $184,2 \pm 8,2$ г/л, що перевищує показник референтної групи ($156,1 \pm 8,7$ г/л) та не відрізняється від результату на 6-ту добу тварин групи 3.

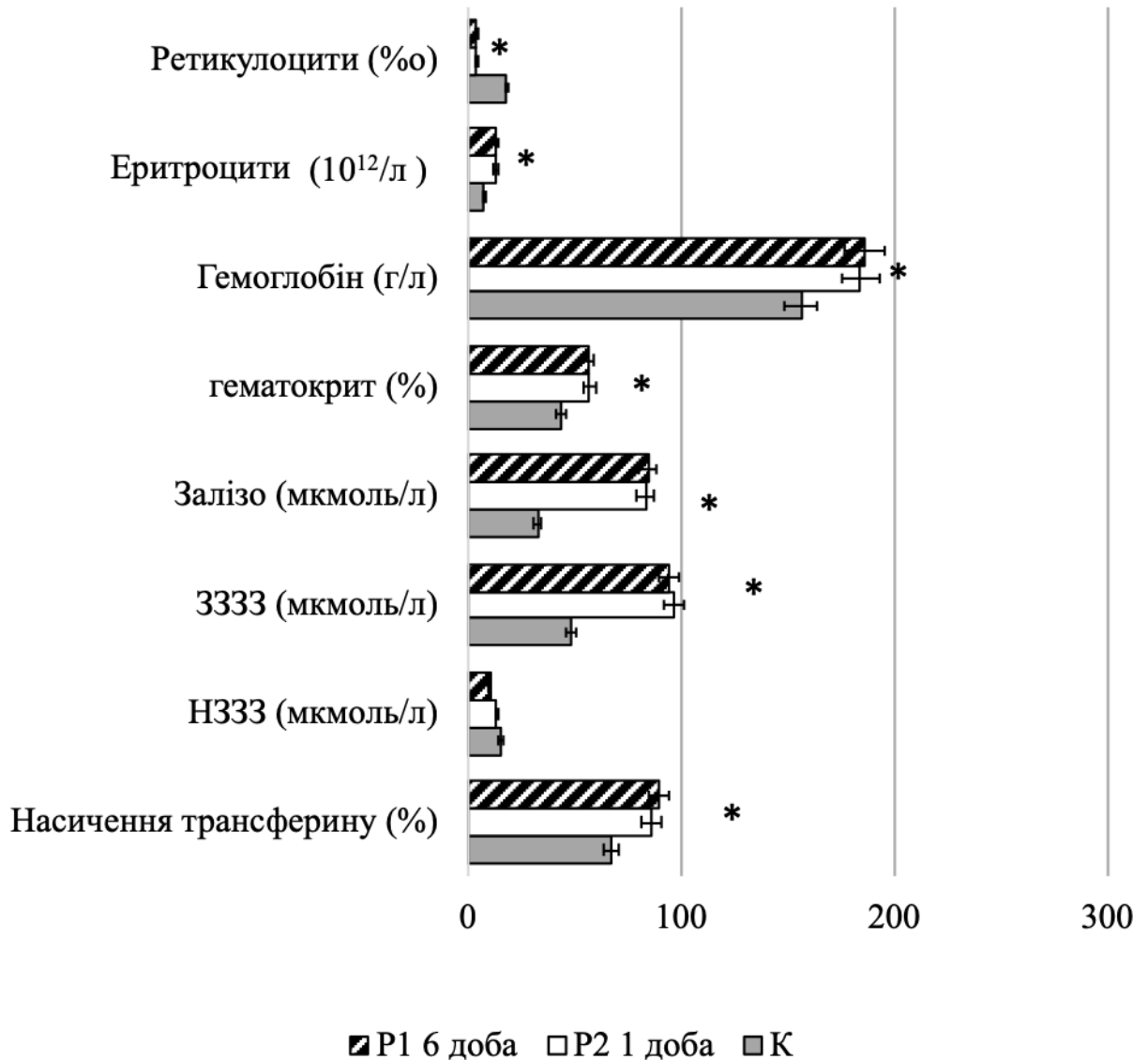


Рис. 7.2. Показники периферійної крові та залізотранспортної функції сироватки крові щурів групи (P2) на 1-шу добу.

Примітки:

ЗЗЗЗ – загальна залізовв’язуюча здатність сироватки крові;

НЗЗЗ – ненасичена залізовв’язуюча здатність сироватки крові;

(*) – результат достовірний відносно групи контролю ($p < 0,05$).

Гематокрит ($56,7 \pm 0,5$ %), що вище за показник 1-ої експериментальної групи та достовірно не відрізняється від 6-ї доби 3-ої групи. Загальне залізо крові перевищує більше ніж вдвічі за показник в групі I ($83,1 \pm 1,4$ мкмоль/л до $32,4 \pm 0,9$ мкмоль/л), але не має достовірної різниці з 6-ою добою 3-ої групи. До $96,5 \pm 1,2$ мкмоль/л збільшується показник ЗЗЗЗ, відносно показників референтних тварин ($47,6 \pm 1$ мкмоль/л), та не змінюється щодо $94,2 \pm 1,3$ мкмоль/л 6-ої доби експерименту в 3-й групі. НЗЗЗ становить $13,3 \pm 0,8$ мкмоль/л, що вірогідно перевищує показник 6-ої доби 3-ої групи ($10,2 \pm 0,6$ мкмоль/л), але залишається зменшеним порівняно з показником групи I ($15,2 \pm 0,8$ мкмоль/л). Не відрізняється відсоток насичення трансферину ($86,1 \pm 2,7$ %) проти $89,3 \pm 2,5$ % для 6-ої доби 3-ої групи та збільшений в порівнянні з показником 1-ої групи ($68,6 \pm 2,6$ %).

З 3-ої доби кількість ретикулоцитів вдвічі перевищує кількість в попередньому терміні спостереження, та не відрізняється від показника на 8-му добу 3-ої групи. Еритроцити становлять $10,7 \pm 0,9 \times 10^{12}$ /л, що менше порівняно з попереднім строком спостереження ($13,1 \pm 0,7 \times 10^{12}$ /л) та не мають різниці з 8-ою добою 3-ої групи ($10,4 \pm 0,7 \times 10^{12}$ /л). До $168,4 \pm 8,4$ г/л збільшується показник гемоглобіну відносно $156,1 \pm 8,7$ г/л у референтній групі, зменшується відносно $184,2 \pm 8,2$ г/л 1-ої доби 4-ої групи та не відрізняється від 8-ої доби 3-ої групи (рис. 7.3). Гематокрит становить $49,6 \pm 0,7$ %, це вище за показник в групі I ($43,2 \pm 0,8$ %), але менший від $56,7 \pm 0,5$ % попереднього строку спостереження та не має достовірної різниці з $48,9 \pm 0,5$ % на 8-му добу 3-ої групи. Достовірно вищий вміст загального заліза ($82,8 \pm 0,5$ мкмоль/л) відносно референтної групи і 8-ої доби 3-ої групи ($32,4 \pm 0,8$ мкмоль/л; $76,4 \pm 0,7$ мкмоль/л відповідно) та не змінюється порівняно з попереднього терміном спостереження ($83,1 \pm 1,4$ мкмоль/л). Зростає показник ЗЗЗЗ, на 3-тю добу експерименту, він сягає $100,1 \pm 1,4$ мкмоль/л, що вірогідно вище за показник 1-ої групи ($47,6 \pm 1$ мкмоль/л), попереднього терміну спостереження ($96,5 \pm 1,2$ мкмоль/л) та 8-ої доби 3-ої групи ($92,5 \pm 1,6$ мкмоль/л).

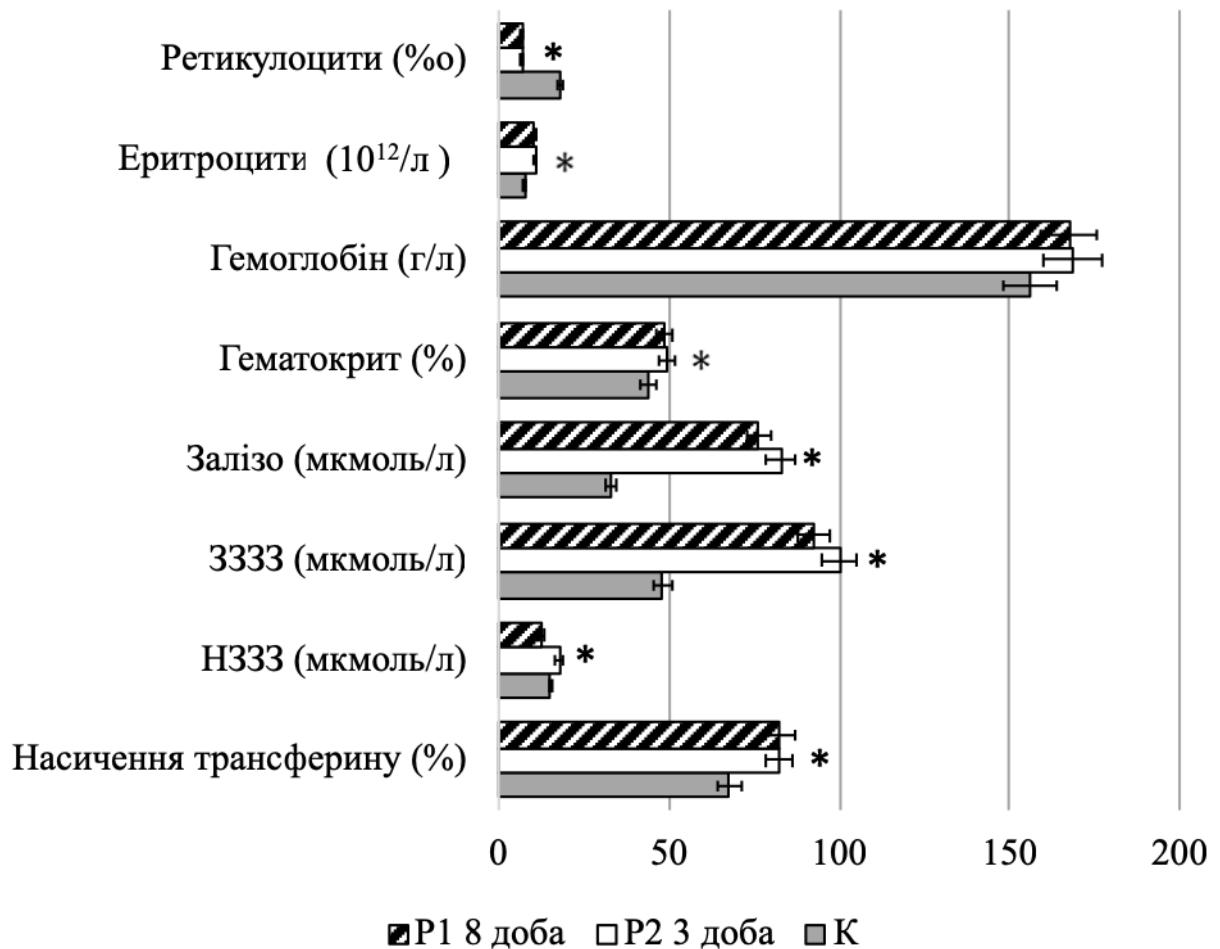


Рис. 7.3. Показники периферійної крові та залізотранспортної функції сироватки крові щурів групи (P2) на 3-тю добу.

Примітки:

ЗЗЗЗ – загальна залізовв’язуюча здатність сироватки крові

НЗЗЗ – ненасичена залізовв’язуюча здатність сироватки крові

(*) – результат достовірний відносно групи контролю ($p < 0,05$).

Збільшується НЗЗЗ та складає $17,7 \pm 0,7$ мкмоль/л, це перевищує показник референтної групи ($15,2 \pm 0,8$ мкмоль/л), попереднього строку спостереження ($13,3 \pm 0,8$ мкмоль/л), а також 8-ої доби 3-ої групи ($12,4 \pm 0,6$ мкмоль/л). Відсоток насичення трансферину ($82,2 \pm 2,8$ %) не змінюється порівняно з попереднім терміном спостереження ($86,1 \pm 2,7$ %) та 8-ою добою 3-ої групи ($86,7 \pm 2,2$ %), проте залишається завищеним відносно референтної групи ($68,6 \pm 2,6$ %).

На 5-ту добу експерименту у тварин групи 4 кількість ретикулоцитів достовірно менша від кількості ретикулоцитів в 1-ій групі, зростає по відношенню до попереднього терміну спостереження та незмінна порівняно з 10-ою добою 3-ої групи. До $8,19 \pm 0,6 \times 10^{12}/\text{л}$ зростає кількість еритроцитів щодо $7,74 \pm 0,4 \times 10^{12}/\text{л}$ у референтній групі знижується порівняно з попереднім строком спостереження ($10,7 \pm 0,9 \times 10^{12}/\text{л}$) та не відрізняється від 10-ої доби 3-ої групи ($8,3 \pm 0,4 \times 10^{12}/\text{л}$). Вміст гемоглобіну не відрізняється у всіх досліджуваних групах (рис. 7.4).

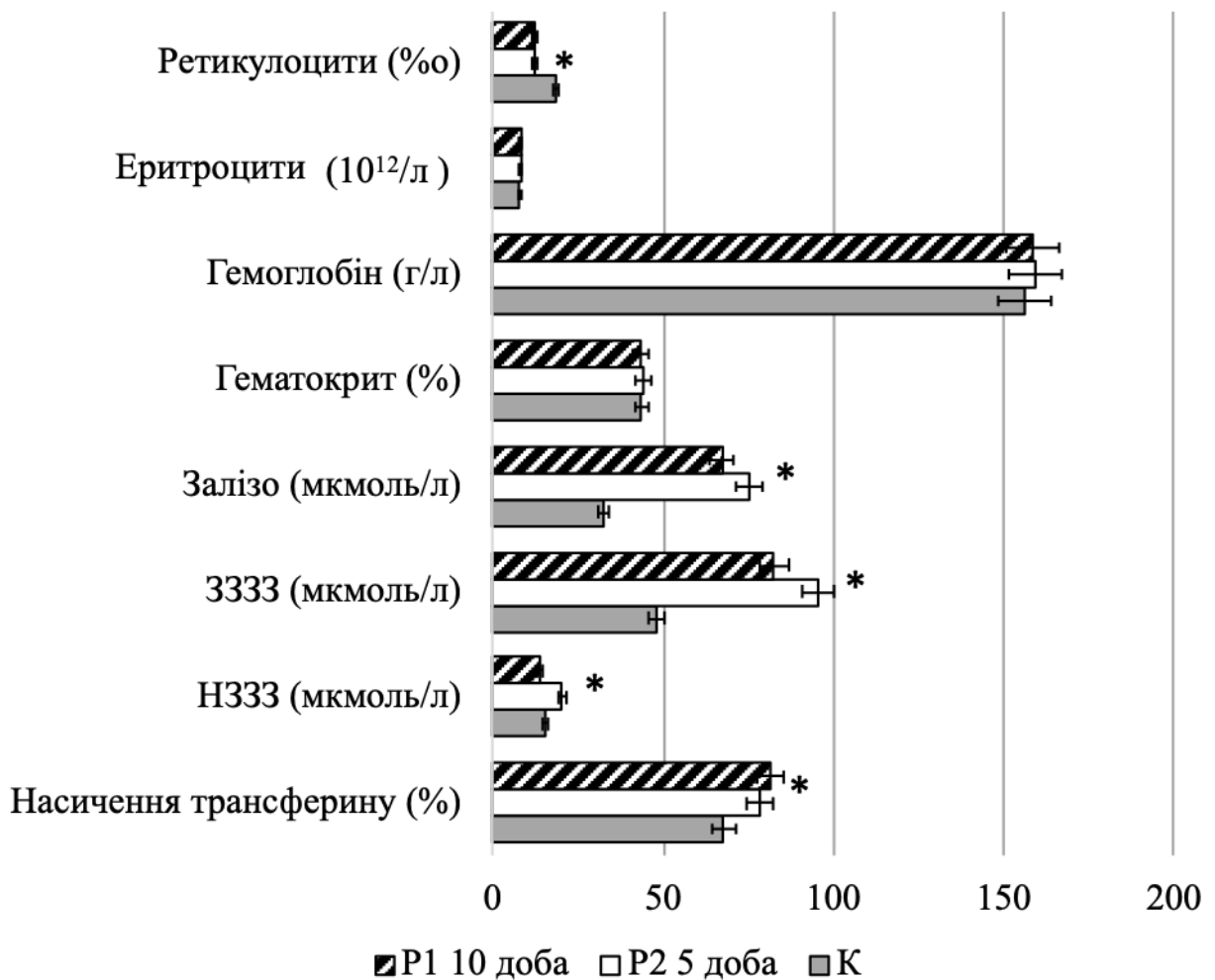


Рис. 7.4. Показники периферійної крові та залізотransпортної функції сироватки крові щурів групи (P2) на 5-ту добу.

Примітки:

ЗЗЗЗ – загальна залізовв'язуюча здатність сироватки крові;

НЗЗЗ – ненасичена залізовв'язуюча здатність сироватки крові;

(*) – результат достовірний відносно групи контролю ($p < 0,05$).

Показник гематокриту зменшується до $44,2 \pm 0,7$ % відносно $49,6 \pm 0,7$ % попереднього терміну спостереження і не має суттєвої різниці з референтною групою та 10-ою добою 3-ої групи. Загальне залізо ($75,4 \pm 0,6$ мкмоль/л) майже вдвічі перевищує показник 1-ої групи ($32,4 \pm 0,9$ мкмоль/л) зменшується порівняно з попереднім терміном спостереження та перевищує показники 10-ої доби 3-ої групи. До $95,2 \pm 1,3$ мкмоль/л зростає ЗЗЗЗ при $47,6 \pm 1$ мкмоль/л у референтній групі, $82,4 \pm 1,4$ мкмоль/л на 10-ту добу 3-ої групи та не відрізняється порівняно з $98,4 \pm 1,4$ мкмоль/л попередньому терміні спостереження. НЗЗЗ складає $20,4 \pm 0,5$ мкмоль/л, що вірогідно вище за показники в 1-ій групі ($15,2 \pm 0,8$ мкмоль/л), попередньому терміні спостереження ($17,7 \pm 0,7$ мкмоль/л) та на 10-ту добу 3-ої групи ($14,1 \pm 0,3$ мкмоль/л). Відсоток насичення трансферину зростає до $78,5 \pm 2,6$ %, що достовірно перевищує показник референтної групи ($68,6 \pm 2,6$ %), але зменшується проти $82,2 \pm 2,8$ % попереднього строку спостереження та 10-ої доби 3-ої групи ($81,3 \pm 2,1$ %).

Внутрішньоочеревене введення щурам 80 % суспензії гомологічних еритроцитів (з розрахунку 3,5 мл/100 г маси тварини) викликало у тварин групи реципієнтів стан посттрансфузійної поліцитемії. Донорами сироватки (Д 2) були щури з еритропоетиніндукованим еритропоезом. Група реципієнтів була розділена на групу Р 1 (тварини зі станом посттрансфузійної поліцитемії), та Р 2 тваринам якої на 5 добу експерименту ввели сироватку крові групи Д 2. Порівняння проводилось між групами Р 1 та Р 2. В групі реципієнтів 1 на 6-ту, 8-му та 10-ту добу після моделювання, рівень досліджуваних показників, за винятком вмісту ретикулоцитів, поступово знижувався маючи статистичну достовірність відносно попереднього терміну спостереження. У реципієнтів 2 ті ж показники на 1-шу, 3-тю та 5-ту добу експерименту, що відповідало термінам 6-ї, 8-ї та 10-ї доби реципієнтів 1, знижувались повільно, та не були статистично значущими. Достовірна різниця між швидкістю зменшення вмісту показників сироваткового заліза в групі Р 2, відносно групи Р 1, опосередковано

підтверджує що сироватка крові еритропоетинстимульованих тварин збільшує рівень заліза як за умов стимуляції так і пригнічення еритропоезу.

Результати досліджень, які наведені в цьому розділі, описані в наступних роботах:

119. I. Yu. Burega, “Features of iron metabolism in rats with the erythropoiesis oppression after administration of blood serum of erythropoietn-stimulated animals”, на *Природничі читання 2016: матеріали III науково-практичної конференції до 80-річчя від дня народження професора Володимира Миколайовича Круцяка*, Чернівці, 2016, с. 115-116.

19. I. Ю. Бурега, “Особливості метаболізму заліза у щурів з пригніченим еритропоезом після введення сироватки крові еритропоетинстимульованих тварин”, *Вісник проблем біології і медицини*, т. 1, № 1, с. 136-140, 2016.

РОЗДІЛ 8

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МОДЕЛЬ ВВЕДЕННЯ СИРОВАТКИ КРОВІ БЕЗ БІЛКОВИХ СПОЛУК

8.1. Динаміка показників вмісту заліза сироватки крові в експериментальних групах після введення їм розчину епобіокрину

З літературних даних стало відомо про нещодавно відкритий костномозковий білок – еритроферон, кількість якого значно збільшується після стимуляції еритропоезу. Еритроферон має інгібуючий вплив на гепсидин, що в свою чергу призводить до інтенсифікації всмоктування заліза в кишці. На підставі цих даних виникла доцільна необхідність дослідити вплив безбілкової сироватки крові щурів зі стимульованим еритропоезом на функцію транспорту заліза у тварин групи реципієнти.

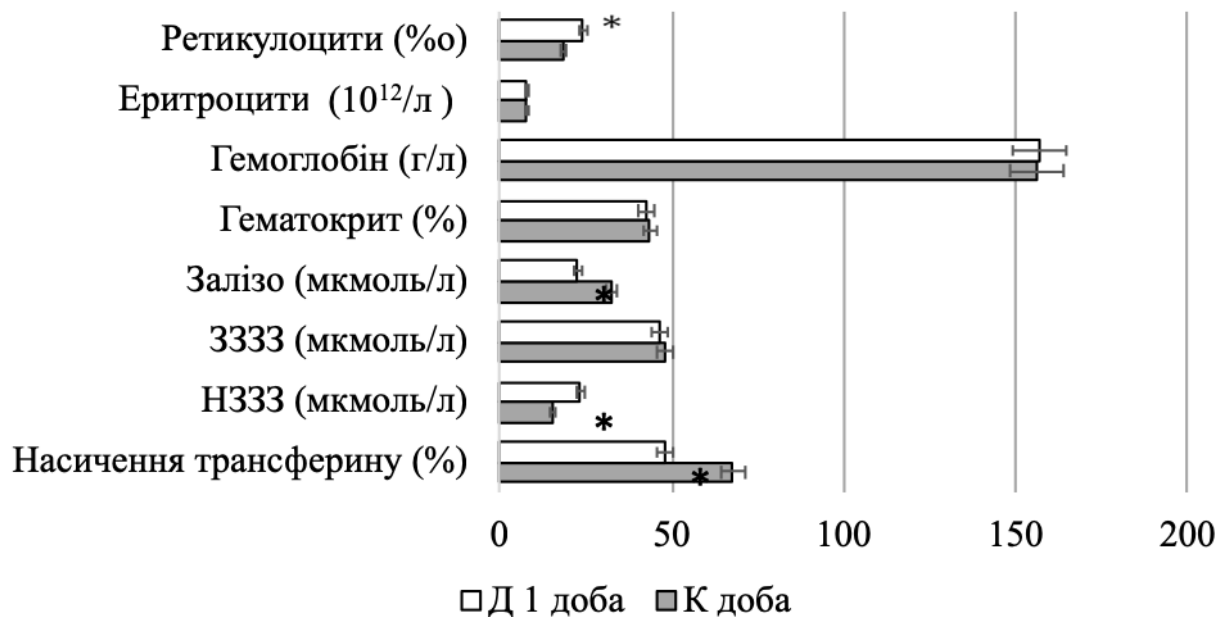


Рис. 8.1. Показники периферійної крові та залізотранспортної функції сироватки крові щурів групи (Д) на 1-шу добу.

Примітки:

ЗЗЗЗ – загальна залізо зв'язуюча здатність сироватки крові;

НЗЗЗ – ненасичена залізо зв'язуюча здатність сироватки крові;

(*) – результат достовірний відносно групи контролю ($p < 0,05$).

На 1-шу добу після введення тваринам 0,4 мл рекомбінантного еритропоєтину (рЕПО), кількість ретикулоцитів вища ($24,2 \pm 0,8$ %) в порівнянні з референтною групою ($18,2 \pm 0,7$ %). Кількість еритроцитів, гемоглобіну, гематокрит не відрізняються від даних контрольної групи. Кількість сироваткового заліза достовірно зменшується до $22,7 \pm 0,8$ мкмоль/л відносно $32,4 \pm 0,9$ мкмоль/л для групи І. Не має різниці показник загальної залізовв'язуючої здатності сироватки крові щурів групи Д в порівнянні з групою контролю. Ненасичена залізовв'язуюча здатність сироватки крові зростає ($23,2 \pm 1,3$ мкмоль/л) в порівнянні з групою контролю, де вона становить $15,2 \pm 0,8$ мкмоль/л. Достовірне зменшення має показник насичення трансферину ($48,3 \pm 2,5$ %) відносно ($68,6 \pm 2,6$ %) групи І (див. рис. 8.1).

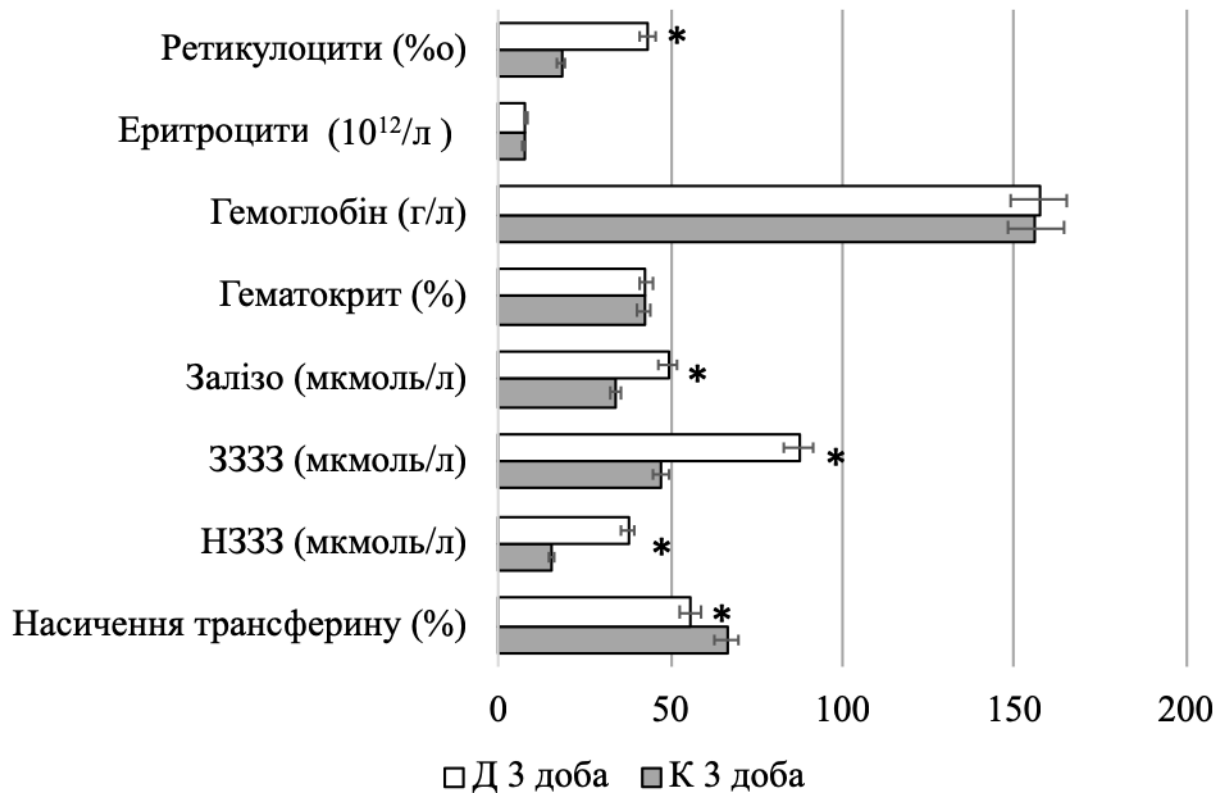


Рис. 8.2. Показники периферійної крові та залізотransпортної функції сироватки крові щурів групи (Д) на 3-тю добу.

Примітки:

ЗЗЗЗ – загальна залізовв'язуюча здатність сироватки крові;

НЗЗЗ – ненасичена залізовв'язуюча здатність сироватки крові;

(*) – результат достовірний відносно групи контролю ($p < 0,05$).

На 3-тю добу у тварин групи Д кількість ретикулоцитів зростає до $43,3 \pm 0,7$ ‰ відносно $24,2 \pm 0,8$ ‰ 1-ої доби групи Д та $18,2 \pm 0,7$ ‰ для референтної групи. Кількість еритроцитів, гемоглобіну та гематокриту не відрізняються від показників 1-ої доби групи Д та групи І. Кількість загального заліза складає $49,2 \pm 0,5$ мкмоль/л відносно 1-ї доби групи Д ($22,7 \pm 0,5$ мкмоль/л) та референтної групи ($32,4 \pm 0,9$ мкмоль/л). ЗЗЗЗ зростає до $87,3 \pm 1,4$ мкмоль/л в порівнянні з попередньою добою групи Д ($46,8 \pm 1,2$ мкмоль/л) та групою І ($47,6 \pm 1$ мкмоль/л). Збільшення має показник НЗЗЗ ($37,6 \pm 0,9$ мкмоль/л) по відношенню до 1-ої доби групи Д ($23,2 \pm 1,3$ мкмоль/л) та групи І ($15,2 \pm 0,8$ мкмоль/л). Показник насичення трансферину ($55,7 \pm 2,2$ %) достовірно менший від показника в групі І ($68,6 \pm 2,6$ %), але в порівнянні з 1-ою добою групи Д ($48,3 \pm 2,5$ %) збільшується (див. рис. 8.2, див. табл. 1.11).

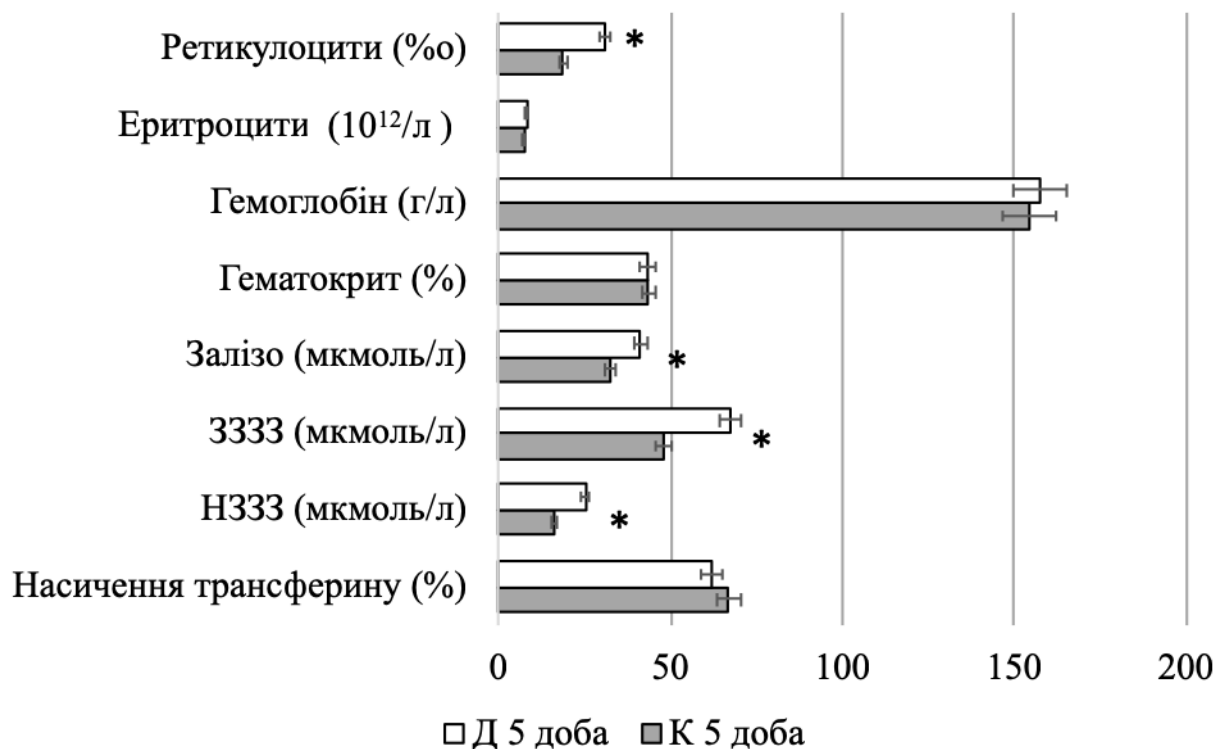


Рис. 8.3. Показники периферійної крові та залізотранспортної функції сироватки крові щурів групи (Д) на 5-ту добу.

Примітки:

ЗЗЗЗ – загальна залізовв’язуюча здатність сироватки крові;

НЗЗЗ – ненасичена залізовв’язуюча здатність сироватки крові;

(*) – результат достовірний відносно групи контролю ($p < 0,05$).

На 5-ту добу кількість ретикулоцитів в групі Д зменшується до $31,2 \pm 0,8\%$ по відношенню до 3-ої доби групи Д ($43,3 \pm 0,7\%$), але значно вище за кількість ретикулоцитів в групі І ($18,2 \pm 0,7\%$). Кількість еритроцитів, гемоглобіну та гематокриту не відрізняються від показників 3-ої доби групи Д та групи І. Сироваткове залізо має менше значення по відношенню до 3-ої доби групи Д ($49,2 \pm 0,5$ мкмоль/л) та дещо більше значення ($41,3 \pm 0,6$ мкмоль/л) по відношенню до $32,4 \pm 0,9$ мкмоль/л групи І. ЗЗЗЗ становить $67,4 \pm 1,3$ мкмоль/л, що менше в порівнянні з 3-ою добою групи Д ($87,3 \pm 1,4$ мкмоль/л), але більше від показника ЗЗЗЗ в групі І ($47,6 \pm 1$ мкмоль/л). НЗЗЗ зменшується до $25,3 \pm 0,7$ мкмоль/л в порівнянні з показником 3-ої доби групи Д, який становить $37,6 \pm 0,9$ мкмоль/л та має більше значення відносно показника в групі І ($15,2 \pm 0,8$ мкмоль/л). Збільшене значення має відсоток насичення трансферину ($62,3 \pm 2,3\%$) в порівнянні з показником на 3-тю добу ($55,7 \pm 2,2\%$) групи Д, але зменшується в порівнянні з показником групи І ($68,6 \pm 2,6\%$) (див. рис. 8.3).

8.2. Динаміка змін показників вмісту заліза сироватки крові у тварин реципієнтної групи після введення їм сироватки крові отриманої за умов моделювання еритропоетиніндукованої стимуляції еритропоезу, що не містила білкових сполук

На 1-шу добу після введення безбілкового екстракту сироватки крові тварин групи Д, у щурів групи Р значної різниці в показниках кількості ретикулоцитів, еритроцитів, гемоглобіну, гематокриту по відношенню до референтної групи не виявлено (рис. 8.4). Вміст сироваткового заліза $48,6 \pm 0,9$ мкмоль/л, що вище відносно $32,4 \pm 0,9$ мкмоль/л групи І. Показники ЗЗЗЗ ($69,7 \pm 0,7$ мкмоль/л) та НЗЗЗ ($19,5 \pm 0,7$ мкмоль/л) збільшуються в порівнянні з референтною групою ($47,6 \pm 1$ мкмоль/л) і ($15,2 \pm 0,8$ мкмоль/л) відповідно. Відсоток насичення трансферину становить $73,3 \pm 2,5\%$, що вірогідно більше відносно показника в групі І ($68,6 \pm 2,6\%$).

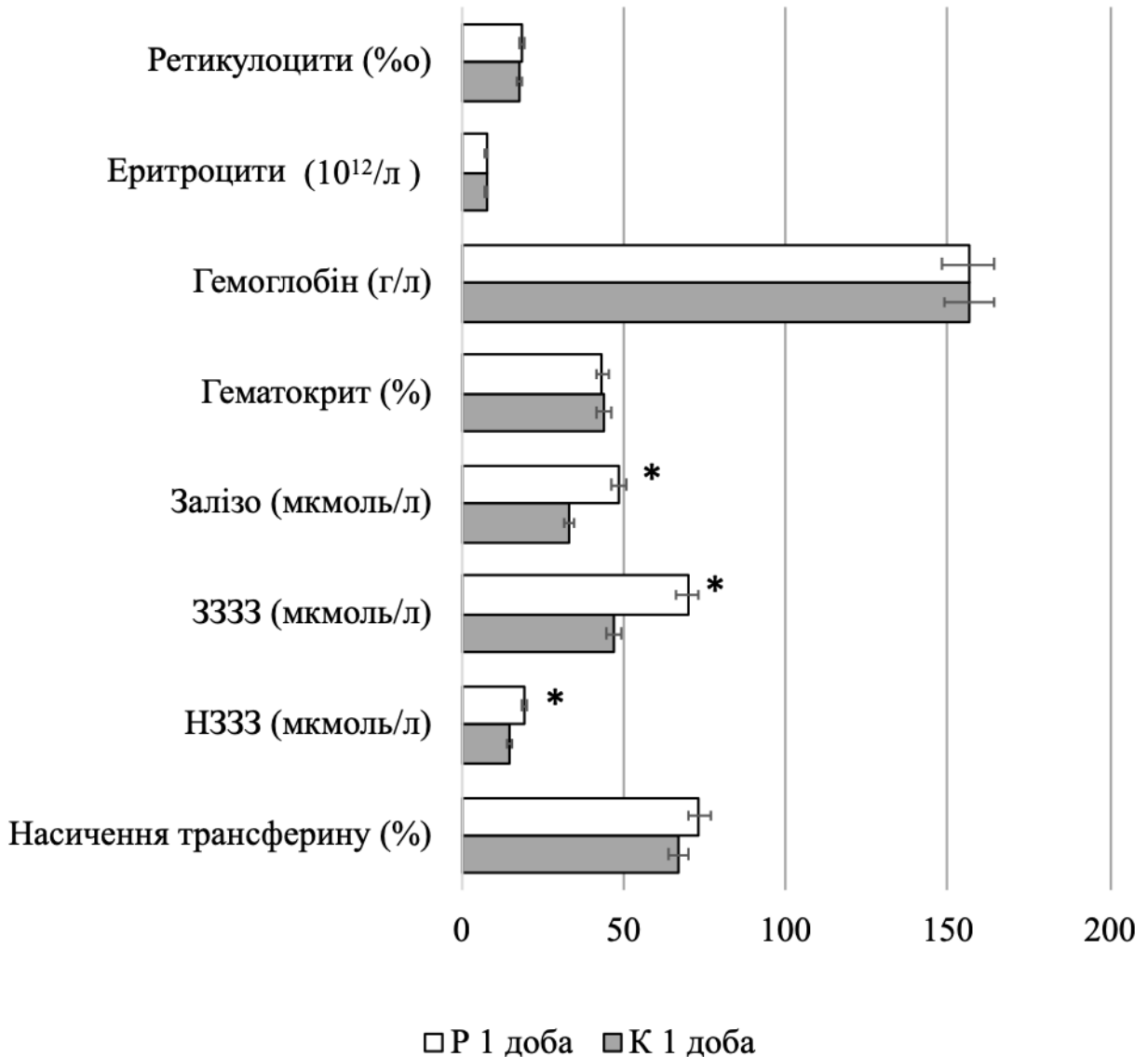


Рис. 8.4. Показники периферійної крові та залізотransпортної функції сироватки крові у щурів групи (Р) після введення сироватки крові тварин групи (Д) на 1-шу добу.

Примітки:

ЗЗЗЗ – загальна залізовв’язуюча здатність сироватки крові;

НЗЗЗ – ненасичена залізовв’язуюча здатність сироватки крові;

(*) – результат достовірний відносно групи контролю ($p < 0,05$).

На 3-тю добу кількість ретикулоцитів, еритроцитів, гемоглобіну, гематокриту вірогідно не відрізняється по відношенню до референтної групи та 1-ої доби групи Р (рис. 8.5, див. табл. 1.12).

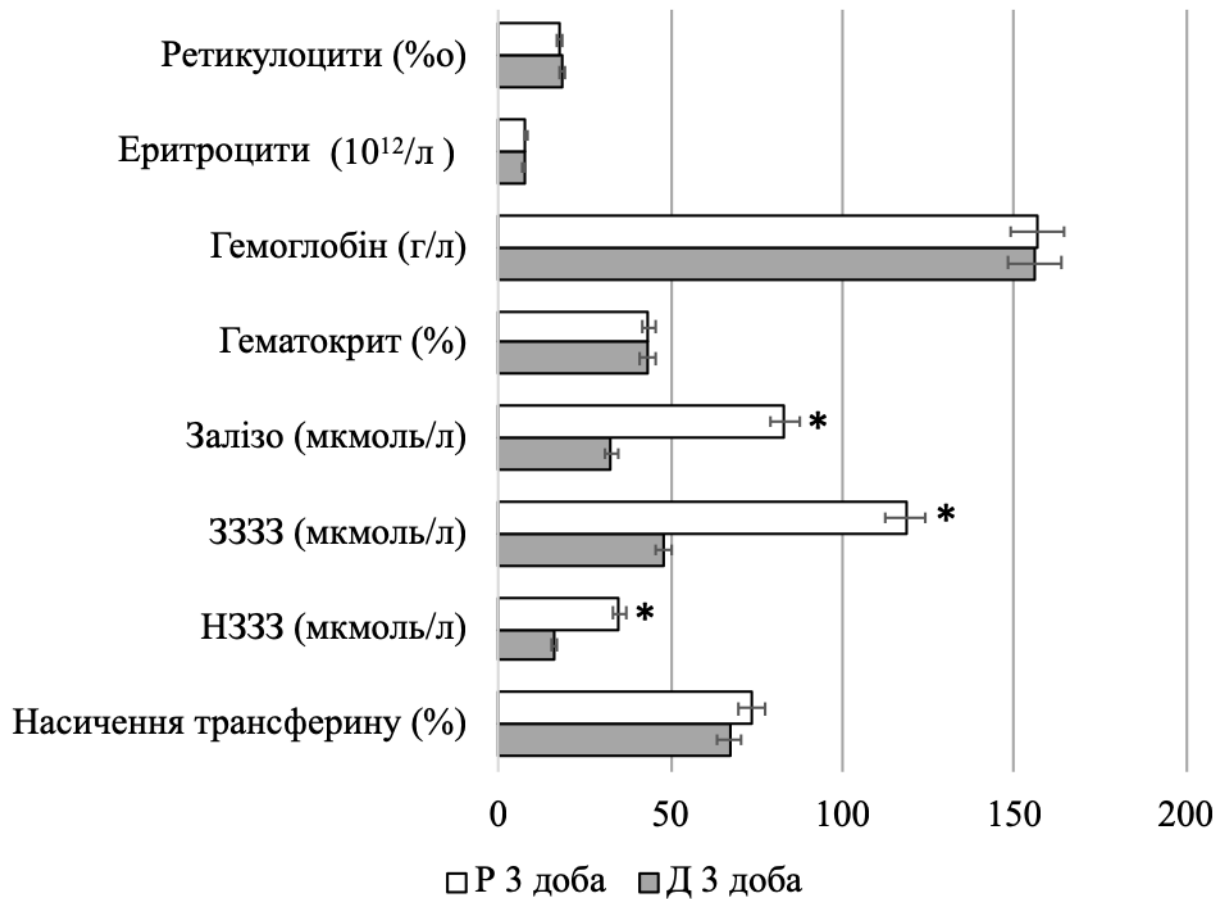


Рис. 3.36. Показники периферійної крові та залізотранспортної функції сироватки крові у щурів групи (Р) після введення сироватки крові тварин групи (Д) на 3-тю добу.

Примітки:

ЗЗЗЗ – загальна залізовв’язуюча здатність сироватки крові;

НЗЗЗ – ненасичена залізовв’язуюча здатність сироватки крові;

(*) – результат достовірний відносно групи контролю ($p < 0,05$).

Кількість загального заліза підвищується до $83,2 \pm 0,7$ мкмоль/л, що вдвічі більше відносно 1-ої доби групи Р ($48,6 \pm 0,9$ мкмоль/л) та референтної групи ($32,4 \pm 0,9$ мкмоль/л). ЗЗЗЗ становить $118,3 \pm 1,4$ мкмоль/л, що майже вдвічі більше в порівнянні з попередньою добою групи Р ($69,7 \pm 0,7$ мкмоль/л) та втричі відносно групи І ($47,6 \pm 1$ мкмоль/л). Зростає показник НЗЗЗ і становить $35,1 \pm 1,4$ мкмоль/л по відношенню до $19,5 \pm 0,7$ мкмоль/л 1-ої доби групи Р та до $15,2 \pm 0,8$ мкмоль/л групи І.

Показник насичення трансферину $73,7 \pm 2,4$ % не відрізняється від показника 1-ої доби групи Д ($73,3 \pm 2,5$ %), проте більший від показника в групі І ($68,6 \pm 2,6$ %).

На 5-ту добу кількість ретикулоцитів, еритроцитів, гемоглобіну та гематокриту не відрізняються від показників 3-ої доби групи Р та групи І (рис. 8.6).

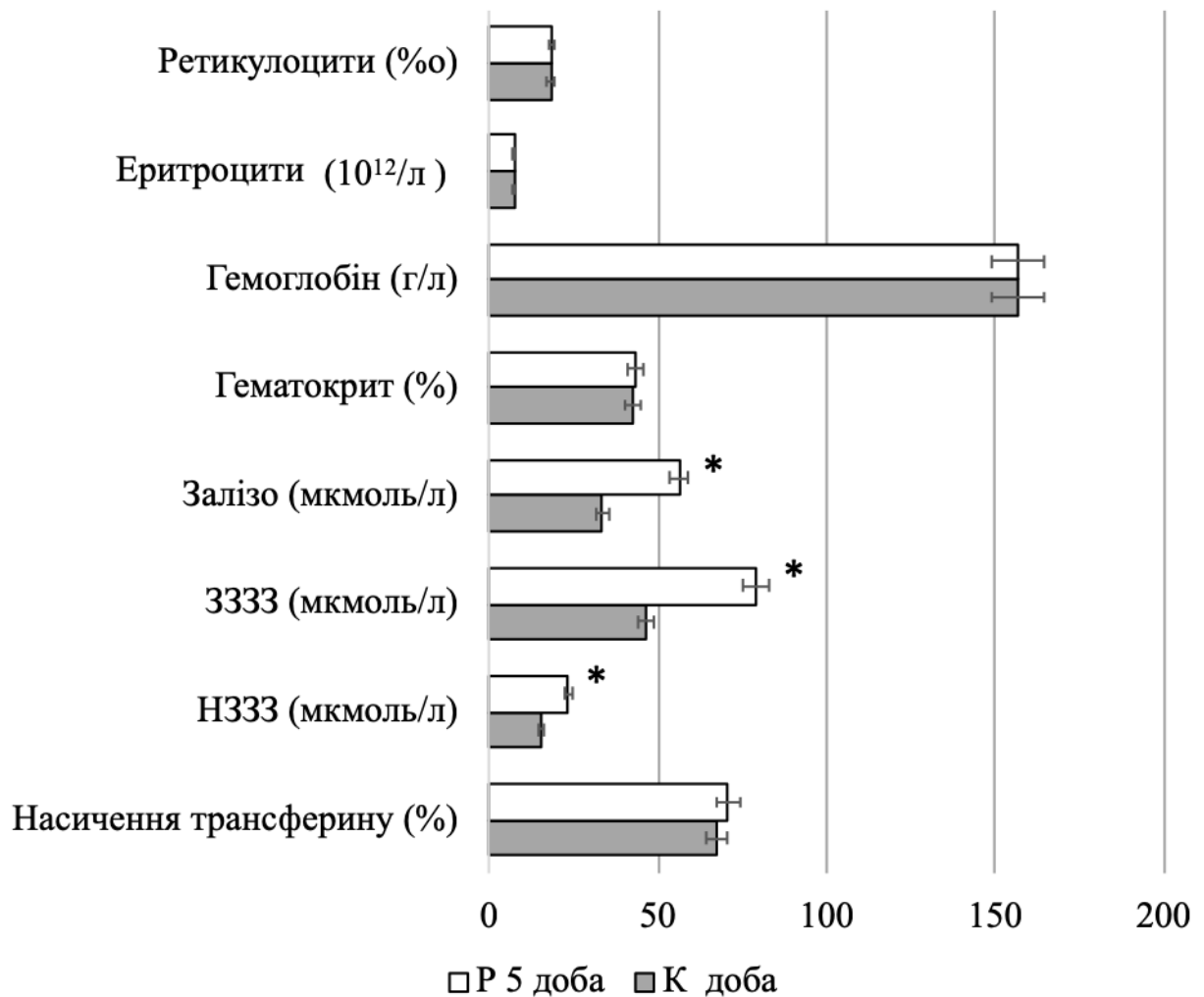


Рис. 8.6. Показники периферійної крові та залізотранспортної функції сироватки крові у щурів групи (Р) після введення сироватки крові тварин групи (Д) на 5-ту добу.

Примітки:

ЗЗЗЗ – загальна залізовв'язуюча здатність сироватки крові;

НЗЗЗ – ненасичена залізовв'язуюча здатність сироватки крові;

(*) – результат достовірний відносно групи контролю ($p < 0,05$).

Зменшується кількість сироваткового заліза до $56,3 \pm 0,6$ мкмоль/л по відношенню до 3-ої доби групи Р, але має більше значення по відношенню до

групи І ($32,4 \pm 0,9$ мкмоль/л). До $79,1 \pm 0,6$ мкмоль/л зменшується показник ЗЗЗЗ, відносно 3-ої доби групи Р, але більше за показник ЗЗЗЗ в групі І, в якій він становить $47,6 \pm 1$ мкмоль/л. До $23,3 \pm 0,8$ мкмоль/л зменшується вміст НЗЗЗ від показника 3-ої доби групи Р ($35,1 \pm 1,4$ мкмоль/л) та підвищується відносно показника в групі І ($15,2 \pm 0,8$ мкмоль/л). Відсоток насичення трансферину не відрізняється від показника групи І та показника групи Р на 3-тю добу.

Співставлення, отриманих нами в роботі, даних вказує, що після введення сироватки крові тварин, отриманої за умов попереднього моделювання стану стимуляції та пригнічення еритропоезу, достовірно збільшується рівень сироваткового заліза у референтних тварин, при цьому не впливаючи на сам еритропоез, незалежно від потреб організму в залізі.

Введення сироватки крові еритропоестинстимульованих тварин викликає поступове збільшення показників рівня сироваткового заліза з першої доби, з максимальним приростом на 3-тю добу, подальшим поступовим його зниженням на 5-ту, та повертання до меж референтних показників на 7-му добу, без додаткової корекції.

Введення сироватки крові після стимуляції еритропоезу з якої були видалені білкові сполуки референтним щурам призводило до підвищення у них рівня сироваткового заліза, загальної залізовв'язуючої здатності сироватки крові та інших показників вмісту заліза. Підвищення рівня заліза після введення сироватки еритропоестиніндукованих тварин вказує, що серед чинників, які впливають на вміст сироваткового заліза, є фактор небілкової природи.

Результати досліджень, які наведені в цьому розділі, описані в наступних роботах:

18. І. Ю. Бурега, “Особливості змін показників червоної крові та обміну заліза щурів при введенні безбілкового екстракту сироватки крові після стимульованого еритропоезу” на *Здобутки теоретичної медицини - в*

практику охорони здоров'я: всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів, Запоріжжя, 2015 с. 50-51

16. І. Ю. Бурега, “Особливості динаміки показників рівня заліза крові щурів при введенні безбілкового екстракту сироватки крові після стимуляції еритропоезу”, *Вісник проблем біології і медицини*, т. 1, № 4, с. 54-58, 2015.

РОЗДІЛ 9

АНАЛІЗ, ОБГОВОРЕННЯ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Регуляція гомеостазу заліза, є вкрай важливим процесом для нормальної життєдіяльності організму. Порушення в регуляції гомеостазу цього хімічного елемента, викликанні спадковими або набутими причинами, призводять до дефіциту його в організмі й, таким чином, визначають патогенез більшості захворювань. За даними світових гематологічних джерел на 2016 рік ці проблеми залишаються актуальними для сучасної медицини, незважаючи на великі успіхи в діагностиці й терапії захворювань. Обмін заліза в організмі є чітко регульованим процесом. За останні 10 років було відкрито велику кількість чинників, що мають пряму дію, а також факторів, що не мають безпосереднього впливу на обмін заліза, але впливають на нього через еритропоез.

У 2011 році в дослідженнях професора В. І. Філімонова [6] було експериментально встановлено та описано дію невідомого фактора гуморальної регуляції метаболізму заліза, який не впливав на швидкість еритропоезу, але різко збільшував рівень заліза сироватки крові. Вперше було висловлено припущення, що цей фактор опосередковано збільшує рівень заліза в організмі й не залежить від потреб організму в залізі [13]. Це стало головною ідеєю НДР кафедри нормальної фізіології ЗДМУ «Дослідження механізмів метаболізму заліза в умовах стимуляції і пригнічення еритропоезу», (2012-2017, № держ. реєстрації 0107U005121). Наша робота є фрагментом цієї НДР. Первинним завданням дисертаційного дослідження було - *визначити* вплив сироватки крові щурів, отриманої за умов попереднього моделювання стану стимуляції та пригнічення еритропоезу, на рівень сироваткового заліза у тварин. З цією метою було заплановано 5 експериментальних моделей які відтворюють різні стани

стимуляції та пригнічення еритропоезу, дозволяють виключити вплив екзо- та ендogenous еритропоетину та його метаболітів на динаміку вмісту заліза в сироватці крові. Згідно даних літературних джерел [5, 235, 236] – щури є найбільш вдалим об'єктом для моделювання пов'язаних з дослідженням крові протоколів. Усі експериментальні серії проводились на щурах. Досліджених тварин було поділено на групи: І – референтна група щурів (досліджувані показники яких були використані для порівняння з групами контролю та групами експерименту), Д – донори – щури донори сироватки крові в 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 цієї групи було введено сироватку крові щурів групи Р1, К – щури, які утримувалися в таких же умовах і спостерігалися протягом таких же термінів, як кожна з піддослідних груп, але не мали впливу специфічних факторів експериментальних моделей.

У всіх експериментальних моделях та термінах спостереження проаналізовані наступні параметри: кількість ретикулоцитів (%), еритроцитів ($\times 10^{12}/\text{л}$), гемоглобіну (г/л), гематокриту (%), сироваткове залізо (мкмоль/л), загальна залізо зв'язуюча здатність сироватки крові (мкмоль/л), ненасичена залізо зв'язуюча здатність сироватки крові (мкмоль/л), відсоток насичення трансферину (%).

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 було вивчено динаміку стану еритрона та доставки заліза для забезпечення потреб у цьому елементі в умовах стимульованого еритропоезу. Під час аналізу результатів першої серії на 1-шу добу в групі Д (донори сироватки крові – щури з референтними показниками, у яких було відтворено модель стимуляції еритропоезу шляхом введення 0,4 мл розчину

Еробіосріп з розрахунку 150МО/кг підшкірно) виявлено наступне: кількість ретикулоцитів збільшилась до $25,4 \pm 0,9$ ‰ (референтне значення $18,2 \pm 0,7$ ‰). Достовірне підвищення в групі донорів кількості ретикулоцитів підтвердило відтворення стану стимульованого еритропоезу. Важливо відмітити, що показники вмісту еритроцитів, гемоглобіну, гематокрит та загальна залізовв'язуюча здатність сироватки крові достовірно не відрізнялись від контролю, та знаходились на рівні референтних показників, встановлених для щурів. Вміст сироваткового заліза зменшився до $25,3 \pm 0,7$ мкмоль/л відносно групи К ($32,4 \pm 0,9$ мкмоль/л) – (контрольна, тваринам якої ідентично протоколу групи Д введено 0,4 мл фізіологічного розчину підшкірно). Слід також відмітити, що ненасичена залізовв'язуюча здатність сироватки крові зросла до $22,9 \pm 1,1$ мкмоль/л, а відсоток насичення трансферину достовірно знизився з $68,6 \pm 2,6$ ‰ референтного значення до $51,9 \pm 2,6$ ‰.

У першій серії експерименту на 3-тю добу відбувалося стабільне зростанням 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 залізовв'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 залізовв'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.

Друга серія дослідів мала за мету дослідити вплив сироватки крові, в якій був відсутній екзогенний еритропоетин та його метаболіти (T_{1/2} еритропоетину складає лише 1,5 години [161]), на функцію зв'язування та переносу заліза в сироватці крові в інтактних щурів. Таку сироватку отримували від тварин після епобіокринстимульованого еритропоезу.

У цій серії дослідів 2 мл сироватки крові тварин групи Д (донори, яким введено 0,4 мл розчину Еробіостін з розрахунку 150 МО/кг підшкірно) вводили внутрішньоочеревинно щурам групи Р (реципієнти).

На 1-шу добу в щурів групи Р статистично значущої різниці в показниках ретикулоцитів, еритроцитів, гемоглобіну, гематокриту у порівнянні з контрольною групою не встановлено. Визначення сироваткового заліза ($47,2 \pm 0,8$ мкмоль/л) мало беззаперечні ознаки достовірного зростання. Середні величини загальної залізовв'язуючої здатності сироватки крові ($66,5 \pm 0,8$ мкмоль/л) та ненасиченої залізовв'язуючої здатності сироватки крові ($20,3 \pm 0,6$ мкмоль/л) підвищувались у порівнянні з контрольною групою. Відсоток насичення трансферину ($72,2 \pm 2,4$ мкмоль) достовірно збільшувався.

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 залізовв'язуючої здатності сироватки крові ($122,6 \pm 1,2$ мкмоль/л), ненасиченої залізовв'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.

На теперішній час виявлено, що на швидкість еритропоезу впливає еритропоетин, який являє собою глікопротеїновий гормон - цитокін, основний регулятор еритропоезу, який стимулює утворення еритроцитів з пізніх клітин-попередників (він зв'язується з еритропоетинчутливими рецепторами, які знаходяться переважно на еритроблестах, сприяє активній проліферації бластних форм) і підвищує вихід ретикулоцитів з кісткового мозку [35]. Еритропоетин - надзвичайно активний гормон, який діє в організмі в пікомолярних концентраціях. Невеликі коливання його концентрації в крові призводять до суттєвих змін швидкості еритропоезу, а нормальний діапазон його концентрацій коливається від 4 до 26 МО/л. Встановлено, що поки концентрація гемоглобіну не стане нижче 105 г/л, концентрація еритропоетину не виходить за вказаний діапазон і виявити її підвищення практично неможливо [95, 48].

Синтез еритропоетину (ЕРО) у нирках та печінці регулюється індукційним гіпоксією фактором (HIF-2), киснево-сприйнятливим гетеродимерним транскрипційним фактором, які, разом з HIF-1, регулюють велику кількість біологічних процесів, що допомагають клітинам та тканинам адаптуватись до гіпоксії [235]. Діяльність HIF контролюється залізом та 2-оксиглютарат-залежним проліл-4-гідроксилазним доменом (PHD), диоксигеназами PHD1, PHD2 та PHD3, які функціонують як кисневі сенсори [233, 200]. В умовах гіпоксичного стану PHD-опосередкована гідроксиляція знижується та активується HIF сигналювання. Це, у свою чергу, є результатом транскрипційної активації множинних HIF-цільових генів, включаючи ЕРО та гени метаболізму заліза [233, 102]. Вірогідне підвищення і в показниках ретикулоцитів, і в загальній залізо зв'язуючій здатності сироватки крові та достовірне зниження рівня сироваткового гепсидину та ферритину було визначено при застосуванні пацієнтами перорального інгібітора індукваного гіпоксією фактора пролілгідроксилази (HIF-PH), що призводило до синтезу ендogenous еритропоетину й посилення мобілізації заліза [200, 179, 82, 81].

З урахуванням таких даних літератури, представлені вище результати перших двох серій дослідів з переведенням сироватки крові, отриманої від тварин з епобіокриніндукованим еритропоезом, залишають відкритим питання наявності таких самих змін при відтворенні іншої моделі активації цього процесу. Тому 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 з них вивчали вплив ендогенного еритропоетину, виробленого під дією барокамери, на стимуляцію еритропоезу. Метою другої серії було встановити дію сироватки крові тварин, зі стимульованим гіпоксичною гіпоксією еритропоезом, на вміст та транспорт заліза в крові реципієнтів.

Перша серія дослідів була проведена на поміщених в барокамеру протягом 18 годин щурах з барометричним тиском 460 мм.р.ст., що відповідало умовній «висоті» 4000 метрів над рівнем моря. При цьому парціальний тиск кисню складав 55 мм.р.ст. 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 піддослідних 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 залізо зв'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 у 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 $68,2 \pm 2,2 \%$.

Результатом переведення сироватки крові щурів 3-ї доби після впливу гіпоксичної гіпоксії було значне підвищення кількості ретикулоцитів ($39,1 \pm 0,6 \%$). Вміст еритроцитів, гемоглобіну та гематокрит не відрізнявся від показників референтної групи. Достовірно збільшувався об'єм загального заліза ($44,9 \pm 1,6$ мкмоль/л), загальна залізовв'язуюча здатність сироватки крові ($63,3 \pm 1,9$ мкмоль/л), ненасичена залізовв'язуюча здатність сироватки крові ($20,4 \pm 1,7$ мкмоль/л).

Якщо розглянути адаптаційну відповідь організму на гіпоксію як на клітинному, так і системному рівнях, а також у популяціях, що живуть на великій висоті, то, безперечно, така відповідь розвивається, щоб забезпечити відповідний рівень кисню в тканинах. Як це не парадоксально, у той час як активація гіпоксією індукцибельних факторів (HIF) забезпечує клітинну адаптацію до гіпоксії, у деяких горян варіанти в генах HIF ланцюгу (наприклад, EGLN1 і EPAS1, що кодуються для PHD2 і HIF-2Л, відповідно), які забезпечують гіпочутливість до гіпоксії відіграють вирішальну роль для адаптації до високогір'я [49]. Складного завдання підтримки внутрішньоклітинного рівня заліза достатньо для забезпечення основних клітинних функцій, проте це виявляється недостатнім для можливості уникнення утворення активних форм кисню, в основному здійснюється IRP1 і IRP2, які жорстко контролюють внутрішньоклітинний метаболізм заліза шляхом регулювання на рівні експресії генів, що кодують білки, які беруть участь у поглинанні заліза, використанні, зберіганні та експортуванні цього елемента [222]. Усі ці протеїни кодуються mRNAs зі збереженими 25-30 довгими нуклеотидними послідовностями в своїх нетранскрибованих локусах, що здатні утворювати стовбурові структури названі залізо-чутливими елементами (iron responsive elements (IREs) [144, 80, 153].

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 залишалися незмінними на фоні контролю. У виведених з експерименту на 1-у добу тварин суттєво зростали вміст загального заліза крові ($46,7 \pm 0,4$ мкмоль/л), загальної залізовв'язуючої здатності сироватки крові ($66,4 \pm 0,6$ мкмоль/л), ненасиченої залізовв'язуючої здатності сироватки крові ($19,7 \pm 0,7$ мкмоль/л) та відсоток насичення трансферину.

Статистична обробка даних показала, що на 3-ю добу спостереження у щурів 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 спостерігається тенденція до зниження всіх показників.

На 7-му добу всі параметри повертаються до меж фізіологічної норми.

Таким чином, виявлені нами зміни, вказують на те, що 18-годинне перебування тварин в умовах гіпоксичної гіпоксії стимулює еритропоез, про що свідчить приріст ретикулоцитів у крові. Це можна пояснити тим, що у відповідь на вказані умови в крові з'являється еритропетин, який і стимулює еритропоез [2]. Показники транспорту заліза плазмою крові були зниженими (виняток становив лише показник ненасиченої залізовв'язуючої здатності сироватки крові), це обумовлено тим, що стимульованому кровотворенню знадобилося більше заліза з плазми крові, а підвищення його всмоктування відстає від потреби, оскільки для збільшення всмоктування потрібно поява в тонкій кишці нових мікрворсинок, які оновлюються лише через дві доби [153]. Важливо відмітити, що на 3-тю добу транспорт заліза плазмою крові зростає, концентрація ретикулоцитів повертається до норми, оскільки плазма крові тварин зі стимульованим кровотворенням, отримана на 3-ю добу після перебування в барокамері, не містила еритропоетину, оскільки $T_{1/2}$ еритропоетину складає лише 1,5 години [161].

Вважається, що стимуляція всмоктування та реутилізації заліза в умовах гіпоксії пов'язана з пригніченням рівня гепсидина під впливом утворених при гіпоксії або індукованого гіпоксією фактора (HIF), або симулятором еритропоезу - еритропоетином [189]. Аналогічні дослідження [103, 136], що акцентували увагу на взаємодії еритропоетину, ферритину та гепсидину показали, що рівень останнього зменшувався протягом 40 годин після впливу гострої гіпоксії на висоті 3400 м над рівнем моря, досягнувши найнижчого рівня при піднятті на висоту 5400 м, що склало редукцію у 80 %.

Вміст еритропоєтину достовірно збільшувався протягом 16 годин після гіпоксичного стану, що супроводжувалось помітною еритропоєтичною відповіддю за підтримки збільшеного постачання заліза. Стійка кореляція між концентрацією сироваткового ферритину та гепсидину на кожному етапі дослідження вказує на те, що саме по собі залізо або кінетика використання заліза у відповідь на гіпоксію може свідчити про знижену регуляцію синтезу гепсидину [172, 40]. Одним із доповнень до попередньо згаданих результатів A. Piperno, S. Galimberti, R. Mariani [40], отриманих в умовах гіпоксичних змін, виявилась експресія гепсидину, ключового гормону в регуляції транспорту заліза, експресія гепсидину знижувалась внаслідок анемії та з'являлась у залежності від підвищеної активності кісткового мозку. Часові взаємозв'язки між гепсидином та залізом було вивчено після введення еритропоєтину. Поглиблена супресія гепсидину з'являлась раптово через 24 години після підшкірного введення еритропоєтину та була близькою до максимальної на початку доби, з піком у середині дня (рівень знизився на 73,2 %) з поступовим відновленням протягом наступних двох тижнів. Незначні зміни в показниках заліза плазми, спостерігалися після зниження рівня гепсидину. Дослідження D. Frazer, G. Anderson вказують на важливість швидкого реагування регуляторної системи кістковий мозок-гепсидин у залізозабезпеченні [64]. K. Poss, S. Tonegawa припускають, що цей взаємозв'язок регулюється, окрім заліза плазми, рецептора трансферину або диференційованого фактора росту-15, іншим фактором [145].

Для перевірки цієї гіпотези ми вивчали вплив сироватки тварин реципієнтів 1, яким внутрішньом'язово введено 2 мл сироватки крові щурів які були поміщені в барокамеру, де піддавалися дії гіпоксичної гіпоксії протягом 18 годин, у сироватці яких еритропоєтину вже не було. Отримані результати в групі реципієнти 2 - щури, яким внутрішньом'язово введено 2 мл сироватки крові тварин 2-ї групи, які були поміщені в барокамеру, де піддавалися дії гіпоксичної гіпоксії протягом 18 годин показують, що при активації еритропоєзу підвищення доставки заліза в кістковий мозок

стимулюється не еритропоетином. Ймовірно, під впливом цього гормону утворюється якийсь фактор, який і стимулює мобілізацію заліза.

У наступному фрагменті дисертаційного дослідження нами була використана модель відтворення стану гемолітичної анемії. Модель полягає у відтворенні компенсаторної стимуляції еритропоезу шляхом одноразового введення 2 % розчину солянокислого фенілгідазину в дозі 150 мг/кг внутрішньоочеревинно. Завданням цього фрагменту було – *встановити* реакцію ключових компонентів протеїнового регуляторного апарату еритропоезу. Для цього проведено три експериментальні серії.

У *першій серії* було показано дію гемолізу, а саме введення солянокислого фенілгідазину, на показники клініко-лабораторного аналізу крові. Гемолітична активність фенілгідазину (phenylhydrazine (PHZ)) широко вивчена при отриманому PHZ гемолізі в щурів та людей [123]. Дія фенілгідазину схожа з прийомом лікарських засобів, що викликають окислювальний стрес всередині еритроцитів. Взаємодія PHZ і гемоглобіну генерує перекис водню та руйнує пігмент через формування окислювальних похідних і вільних радикалів гідазину [39]. Для успішного моделювання фенілгідазиніндукованої гемолітичної анемії застосовують введення цього препарату тваринам у необхідних дозах, що призводить до порушень еритропоезу й всмоктування заліза. За таких умов виявилось, що концентрація сироваткового еритропоєтину була різко збільшена, майже в 5000 разів, протягом перших 2-х діб, а потім знизилась до вихідного рівня на 6-у добу після ін'єкції PHZ. Зворотній ефект спостерігався стосовно експресії mRNA еритроферону, яка швидко збільшилася в кістковому мозку й селезінці в трьохденний термін після ін'єкції PHZ, а потім поступово зменшилась, проте все ще вище вихідного рівня на 6-у добу. Також виявлено, що рівень mRNA гепсидину знижувався майже до 8 разів на 5-у добу, а надалі менш виражено, у порівнянні з контролем. Підвищення сироваткового еритропоєтину, за суттю, визначається індукцією експресії еритроферону, особливо протягом перших 3-х діб після введення PHZ [236].

Показано також за даними лабораторних досліджень А. Tuchscherer, J. Chemnitz [45], що, крім анемії, відбувається підвищення лактатдегідрогенази, некон'югованого білірубіну й ретикулоцитів, а також зниження в плазмі гаптоглобіну, або його повне зникнення.

Нашими дослідженнями в межах клініко-лабораторного аналізу було доповнено відомі результати стосовно експерсії еритроферону. Так, на 3-тю добу у тварин групи Д (щури, 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 групи контролю до $48,5 \pm 1,1$ мкмоль/л в групі Д. Загальна залізовв'язуюча здатності сироватки крові та ненасичена залізовв'язуюча здатності сироватки крові в групі донори 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 $63,4 \pm 2,6$ %.

Друга серія експерименту була проведена з метою виключення впливу ендогенного еритропоетину та гемолітичного розчину, а також продуктів їхнього метаболізму. Для цього, 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 дослідю проведена для встановлення впливу сироватки крові експериментальних щурів групи реципієнти 1, в сироватці крові яких були відсутні стимулятори еритропоезу, на функціональний стан транспорту заліза в референтних тварин.

На 21-шу добу експерименту всі досліджувані показники експериментальної групи Д (щури, яким введено одноразово 2 % розчин солянокислого фенілгідразину в дозі 150 мг/кг внутрішньоочеревинно) при порівнянні з контрольною групою повертаються до меж показників референтної групи. Такі наші дані узгоджуються з думкою ряду дослідників про те, що після гемолітичної анемії показники крові повертаються до меж фізіологічної норми протягом трьох тижнів [213, 20, 21].

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.

Кількість сироваткового заліза на 1-шу добу збільшується до $46,8 \pm 0,9$ мкмоль/л у порівнянні з $32,4 \pm 0,9$ мкмоль/л у референтній групі. Загальна залізовв'язуюча здатність сироватки крові складає $63,1 \pm 1,8$ мкмоль/л, що вірогідно більше від $47,6 \pm 1$ мкмоль/л у групі К ($p < 0,05$). До

19,3±0,7 мкмоль/л відносно 15,2±0,8 мкмоль/л групи контролю зростає показник ненасиченої залізовв'язуючої здатності сироватки крові. Незначне збільшення має відсоток насичення трансферину - 72,9±2,6 % проти 68,6±2,6 % у референтній групі.

На 3-тю добу кількість загального заліза зростає до 89,4±1,1 мкмоль/л відносно попереднього терміну спостереження та референтної групи. Загальна залізовв'язуюча здатність сироватки крові становить 120,7±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±1,4 мкмоль/л по відношенню до групи I - референтні група щурів (15,2±0,8 мкмоль/л). Відсоток насичення трансферину становить 73,8±2,4 %, що вище від показника контрольної групи (68,6±2,6 %).

З 3-ї до 5-ї доби спостерігалась тенденція до зниження показників загального заліза до 51,4±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 %.

Таким чином, після введення референтним тваринам сироватки крові, отриманої від щурів групи реципієнти 1, у якій були відсутні стимулятори еритропоезу (період напіввиведення еритропоетину становить 1,5-2 години), на фоні незмінної кількості ретикулоцитів, було виявлено достовірний приріст вмісту сироваткового заліза, загальної залізовв'язуючої здатності, ненасиченої залізовв'язуючої здатності сироватки крові та відсотка насичення трансферину з 1-ї до 3-ї доби після введення. З 3-ї до 5-ї доби спостерігалась тенденція до зниження показників загального заліза, загальної залізовв'язуючої здатності, ненасиченої залізовв'язуючої здатності сироватки крові та відсотку насичення трансферину.

Отримані результати з високою вірогідністю доводять, що в сироватці тварин, яким було введено сироватку групи тварин зі змодельованою

гемолітичною анемією, присутній гуморальний фактор опосередкованої дії, який впливає на систему транспорту заліза крові та не впливає на активність еритропоезу.

Відомо, що гемолітичні анемії складаються з корпускулярних, іммуно-і токсико-гемолітичних [110] та можуть бути асоційовані з мультифакторіальною етіологією, у тому числі спадковістю, токсичними речовинами, зокрема металами, що є рідкісним випадком, та аутоімунними порушеннями [125]. Частота виникнення поліетіологічної гемолітичної анемії оцінюється приблизно 1 на 100 000 жителів на рік у дорослих [211]. Гемолітична анемія існує паралельно з такими захворюваннями, як захворювання сполучної тканини, лімфоми або злоякісні пухлини, а також при первинному гемолітичному процесі, що виникає в багатьох випадках. Тромбоцитарні мікросудинні захворювання (наприклад тромбоцитопенія, тромбоцитопенічна пурпура або гемолітико-уремічний синдром) є ще одними важливими етіологічними факторами гемолітичної анемії. Дотепер залишаються неповністю з'ясованими механізми компенсації при анемічних станах на різних етапах каскадної мікрорівневої гормон-цитокінової регуляції, спрямованої на відновлення балансу системи еритропоезу [45].

В наших експериментальних серіях еритропоединдукованої стимуляції еритропоезу, гіпоксичної гіпоксії та гемолітичної анемії висвітлена динаміка змін в показниках залізо-регуляторної системи під впливом сироватки крові тварин зі стимульованим еритропоезом.

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.

Після стимуляції еритропоезу у тварин 4-ї експериментальної групи, яким було введено одноразово 0,4 мл розчин Ербіоскрін з розрахунку 150 МО/кг підшкірно, кількість ретикулоцитів зростає до $(42,6 \pm 0,6 \%)$. Еритроцити, гемоглобін та гематокрит залишалися незмінними порівняно з

показниками референтної групи. Вірогідно меншими за показники референтної групи складала загальний вміст сироваткового заліза, загальна залізо зв'язуюча здатність сироватки крові та відсоток насичення трансферину, проте значно збільшувалася ненасичена залізо зв'язуюча здатність сироватки крові.

На 5-ту добу щурам 3-ої групи, яким попередньо вводили 3,5 мл/100 г 80 % суспензії гомологічних еритроцитів внутрішньоочеревинно, було введено сироватку крові тварин 4-ої групи, яким було введено одноразово 0,4 мл розчин Ербіосгін з розрахунку 150 МО/кг підшкірно. Через добу після введення сироватки крові щурів 4-ої групи тваринам 3-ої групи встановлено зменшення кількості ретикулоцитів ($3,4 \pm 0,5$ %). Перевищували показники контрольної групи кількість еритроцитів ($13,1 \pm 0,75 \times 10^{12}/\text{л}$), гемоглобіну ($184,2 \pm 8,2$ г/л), показник гематокриту ($56,7 \pm 0,5$ %). Перевищували більше ніж вдвічі за показники в контрольній групі загальне залізо крові ($83,1 \pm 1,4$ мкмоль/л) та загальна залізо зв'язуюча здатність сироватки крові ($96,5 \pm 1,2$ мкмоль/л). Ненасичена залізо зв'язуюча здатність сироватки крові ($13,3 \pm 9,8$ мкмоль/л) залишалася зменшеною. Відсоток насичення трансферину ($86,1 \pm 2,7$ %) збільшувався в порівнянні з показником 1-ої групи.

Після 3-ої доби кількість ретикулоцитів ($6,9 \pm 0,6$ %) 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 показник кількість гемоглобіну ($168,4 \pm 8,4$ 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 ($49,6 \pm 0,7$ %) 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. Було

встановлено також на 3-ю добу достовірне зростання вмісту загального заліза ($82,8 \pm 0,5$ мкмоль/л) відносно референтної групи. На 8-у добу в 3-й групі спостереження (цій групі було введено 3,5 мл/100 г 80 % суспензії гомологічних еритроцитів внутрішньоочеревинно) показники вмісту загального заліза повернулися до попередніх. Зростав показник загальної залізовв'язуючої здатності сироватки крові ($100,1 \pm 1,4$ мкмоль/л) на 3-тю добу експерименту, що вірогідно вище за показник 1-ої групи (щери 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 ($17,7 \pm 0,7$ мкмоль/л), що перевищує показник контрольної групи, попереднього строку спостереження, а також 8-ої доби 3-ої групи. Відсоток насичення трансферину ($82,2 \pm 2,8$ %) 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 (їм було введено 3,5 мл/100 г 80 % суспензії гомологічних еритроцитів внутрішньоочеревинно) кількість ретикулоцитів ($12,1 \pm 0,7$ %) була достовірно меншою від кількості ретикулоцитів в 1-ій групі (щери з референтними показниками) та більшою відносно 3-ої доби спостереження та незмінною порівняно з 10-ою добою 3-ої групи. Зростала кількість еритроцитів ($8,19 \pm 0,6 \times 10^{12}$ /л) відносно показників у контрольній групі, хоча була нижчою порівняно з 3-ою добою та не відрізнялася від 10-ої доби 3-ої групи. Вміст гемоглобіну не відрізняється у всіх 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

залишаєлося незмінним порівняно з 10-ої добою 3-ої групи. Зростала загальна залізо зв'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 залізо зв'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.

Відомо, що введення щурам 80 % еритроцитарної маси сприяє пригніченню еритропоезу, що призводить до зниження потреби червоного кісткового мозку в залізі та, як наслідок, до гальмування механізму транспорту заліза [6]. Встановлено [2], що неідентифікований сигнал передає стан кістковомозкового еритропоезу в кишку. Цей процес відбувається навіть тоді, коли є системне перевантаження залізом. Для встановлення характеристик сигнальної субстанції, що передає інформацію про стан кістковомозкового еритропоезу в кишку ми вводили тваринам з пригніченим еритропоезом сироватку крові, отриману на 3-ю добу в щурів після попередньої стимуляції еритропоезу шляхом одноразового введення 0,4 мл розчину Еробіостіп з розрахунку 150 МО/кг підшкірно, яка не містить еритропоетину (період напіввиведення еритропоетину становить 1,5-2 години [161]). При введенні сироватки крові еритропоетинстимульованих тварин щурам з експериментально змодельованою поліцитемією на 5-ту добу експерименту на фоні максимального пригнічення еритропоезу [6, 27, 1] відбулося підвищення активності механізмів транспорту заліза, на що вказує вірогідний приріст ненасиченої залізо зв'язуючої здатності сироватки крові.

Отримані нами результати дозволяють розширити сучасне уявлення про системне регулювання заліза в організмі, а також припустити наявність

проміжного регулятора, що впливає на механізм транспорту заліза в організмі.

У 2011 році в роботі професора В.І.Філімонова [6] було експериментально встановлено й описано дію невідомого фактора гуморальної регуляції метаболізму заліза, який не впливав на швидкість еритропоезу, але різко збільшував рівень заліза сироватки крові. Вперше було висловлено припущення, що цей фактор належить до нуклеарних факторів і є, ймовірно, уламками ядра еритробласту та з'являється в період редукції ядра.

У 2014 Leon Kautz і Tomas Ganz відкрили фактор, який впливає на рівень заліза в плазмі та зареєстрували його як гормоноподібну сполуку білкового походження, яка отримала міжнародну номенклатурну реєстрацію ERFE (C1QTNF15) та назву ЕРИТРОФЕРОН [151]. Еритроферон, кількість якого значно збільшується після стимуляції еритропоезу має інгібуючий вплив на гепсидин, що, у свою чергу, призводить до інтенсифікації всмоктування заліза в кишці. На підставі цих даних було поставлено завдання встановити в наших дослідженнях вплив безбілкової фракції сироватки крові щурів зі стимульованим еритропоезом на функцію транспорту заліза у тварин групи «реципієнти». На 1-шу добу після введення тваринам 0,4 мл рекомбінантного еритропоетину (рЕПО), кількість ретикулоцитів вірогідно збільшувалась в порівнянні з референтною групою ($24,2 \pm 0,8$ % та $18,2 \pm 0,7$ % відповідно). Кількість еритроцитів, гемоглобіну, гематокрит не відрізнялися від даних контрольної групи. Не мав різниці показник загальної залізо зв'язуючої здатності сироватки крові щурів групи Д (донори, щурам якої було проведено одноразове введення 0,4 мл розчину Ербіосрін з розрахунку 150 МО/кг підшкірно з наступним приготуванням безбілкового екстракту з отриманої сироватки крові, яке здійснювали шляхом додаванням 20 % трихлороцтової кислоти, з наступним центрифугуванням та вирівнюванням рН до 7,4) порівняно з групою контролю. При цьому ненасичена залізо зв'язуюча здатність сироватки крові

зростала. Достовірне зменшення мав показник насичення трансферину відносно групи I (референтна група щурів).

На 3-тю добу у тварин групи Д кількість ретикулоцитів зростала до ($43,3 \pm 0,7$ %). Еритроцити, гемоглобін та гематокрит залишалися незмінними. Достовірно зростали показники сироваткового заліза ($49,2 \pm 0,5$ мкмоль/л), загальної залізоzv'язуючої здатності сироватки крові ($87,3 \pm 1,4$ мкмоль/л) та ненасиченої залізоzv'язуючої здатності сироватки крові ($37,6 \pm 0,9$ мкмоль/л). Показник насичення трансферину ($55,7 \pm 2,2$ %) був достовірно меншим.

Починаючи з 5-ої доби відбувалося достовірне зниження всіх показників.

У щурів групи Р (реципієнти, яким введено 2 мл безбілкового екстракту сироватки крові тварин групи Д, яким було проведено одноразове введення 0,4 мл розчину Ербіосрін з розрахунку 150 МО/кг підшкірно з наступним приготуванням безбілкового екстракту з отриманої сироватки крові) 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 залізоzv'язуючої здатності сироватки крові збільшились до ($69,7 \pm 0,7$ мкмоль/л) та ненасиченої залізоzv'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 залізоzv'язуючої здатності сироватки крові ($118,3 \pm 1,4$ мкмоль/л) та ненасиченої залізоzv'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.

Таким чином, у тварин групи Р (реципієнти, тваринам якої введено 2 мл безбілкового екстракту сироватки крові тварин групи Д - донори, щурам якої було проведено одноразове введення 0,4 мл розчину Ербіостіп з розрахунку 150 МО/кг підшкірно з наступним приготуванням безбілкового екстракту), яким вводилася сироватка крові, що не містила еритропоєтину, (період напіввиведення ЕПО складає 1,5-2 години [161]) та не містила білкової складової, кількість ретикулоцитів протягом 5-ти діб не відрізнялася від показника групи контролю. Кількість еритроцитів, гемоглобіну та гематокрит у групі Р з отриманої сироватки крові протягом 5-ти діб не змінювались відносно показників групи контролю, проте вміст сироваткового заліза достовірно збільшувався вже на 1-шу добу, сягав максимуму на 3-тю, та на 5-ту добу поступово зменшувався до показників фізіологічної норми. Показники загальної залізовв'язуючої здатності та ненасиченої залізовв'язуючої здатності сироватки крові збільшувалися з 1-ї до 3-ї доби та поступово зменшувалися на 5-ту добу, у порівнянні з референтною групою. Показник насичення трансферину протягом експерименту мав тенденцію до зростання відносно групи І (референтна група щурів). Аналіз отриманих нами даних про достовірне збільшення насичення залізом транспортних білків при введенні тваринам групи реципієнти сироватки крові, з якої було видалено білкову фракцію, вказує на наявність фактора тонкої гуморальної регуляції небілкової природи, що опосередковано діє на систему гепсидин – рівень заліза і, як наслідок, на рівень заліза в крові.

Обрані для дослідження експериментальні моделі та досліджувані показники забезпечують повне та інформативне уявлення про дію сироватки крові тварин зі стимульованим еритропоєзом при введенні її інтактним

тваринам з референтними показниками. Так сироватка не впливає на швидкість еритропоезу, проте збільшує рівень заліза сироватки крові. Встановлене в роботі підвищення вмісту заліза в сироватці крові щурів-реципієнтів у всіх використаних експериментальних моделях впливу на еритропоез виявляє закономірність змін рівня сироваткового заліза. Після введення сироватки крові еритропоетинстимульованих тварин виявлено підвищення вмісту заліза, яке зберігається на стабільному рівні протягом 72 годин, з поступовим зниженням до фізіологічної норми без додаткової корекції, що вказує на реактивні зміни балансу сироваткового заліза.

Результати, які отримані після введення сироватки крові тварин зі стимульованим еритропоезом, з якої були видалені білкові сполуки, свідчать, що серед речовин, які впливають на рівень заліза в сироватці крові, є фактор небілкової природи.

Аналіз даних, отриманих при відтворенні в експериментальних моделях різних станів стимуляції та пригнічення швидкості еритропоезу, дозволяє стверджувати, що сироватка крові щурів, яка отримана за умов попереднього моделювання стану стимуляції та пригнічення еритропоезу, містить чинник гуморальної регуляції, який збільшує рівень сироваткового заліза крові. Дія цього чинника не залежить від потреб організму в залізі.

У перспективі виникає обґрунтована необхідність запланувати спільні дослідження з лабораторіями аналітичної та біологічної хімії для виділення та дослідження хімічної структури цієї сполуки, властивості якої можливо буде використовувати для лабораторно-діагностичних та лікувально-профілактичних заходів при порушеннях метаболізму 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 залізовв'язуючої здатності сироватки крові, ненасиченої залізовв'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 залізовв'язуючої здатності сироватки крові ($100,1 \pm 1,4$ мкмоль/л), ненасиченої залізовв'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 досягало 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 окремій серії експерименту із 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 залізоzv'язуючої здатності сироватки крові ($118,3 \pm 1,4$ мкмоль/л) та ненасиченої залізоzv'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 ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. А. Г. Румянцев, и В. А. Аграненко, *Гемотрансфузионная терапия в педиатрии и неонатологии*. Москва, МАКС Пресс, 2002.
2. А. Д. Павлов, Е. Ф. Морщякова, и А. Г. Румянцева, *Эритропоэз, эритропоэтин, железо. Молекулярные и клинические аспекты*. Москва, ГЭОТАР-Медиа, 2011.
3. А. Л. Тихомиров, С. В. Сарсания, и А. А. Кочарян, “Железодефицитная анемия: актуальная проблема, адекватное лечение”, *«Гинекология» Патология беременности*, т. 8, № 5-6, с. 44-47, 2006.
4. В. В. Алексеев, *Медицинские лабораторные технологии: руководство по клинической лабораторной диагностике: в 2т.* Москва, ГЭОТАР-Медиа, 2013.
5. В. И. Гудим, и В. С. Иванова, “К методике биотестирования эритропоэтина на полицитемических мышцах”, *Лабораторное дело*, № 7, с. 429-430, 1977.
6. В. И. Филимонов, “Спленизм – функция селезенки как органа, осуществляющего взаимосвязь систем кровообращения и кроветворения”, *Патология*, т. 28, № 2, с. 92-96. 2013.
7. В. Шафранов, Т. Рясина, *Лабораторные животные в медицинских исследованиях*. Москва, Медицина, 1974.
8. Е. Н. Борис, и Л. Н. Онищик, “Профилактика анемии у пациенток с физиологически протекающей беременностью: многоцентровое исследование в Украине”, *Збірник наукових праць асоціації акушерів-гінекологів України*, т. 1, № 35, с. 59-65, 2015.
9. И. П. Лубянова, “Современные представления о метаболизме железа с позиции профпатолога”, *Актуальні проблеми транспортної медицини*, № 2, с. 47-57, 2010.
10. И. Ю. Бурега “Сравнительная характеристика динамики изменения уровня железа плазмы крови при стимуляции эритропоэза различными

путями”, на *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"*, Запоріжжя, 2012, с. 6-7.

11. И. Ю. Бурегга, В. И. Филимонов, и Г. В. Пиртя, “Особенности транспорта железа плазмой крови в условиях повышенного гемолиза эритроцитов, но различной активности кроветворения”, на *матеріали XIX-го з'їзду Українського фізіологічного товариства ім. П.Г. Костюка з міжнародною участю, присвяченого 90-річчю від дня народження академіка П.Г.Костюка*, Львів, 2014, с. 96-97.

12. И. Ю. Бурегга, и В. И. Филимонов, “Динамика уровня транспортного железа после стимуляции эритропоеза”, на *Научные труды IV съезда физиологов СНГ*, Сочи – Дагомыс, 2014, с. 109.

13. И. Ю. Бурегга, В. И. Филимонов, и Г. И. Бессараб, «Современные аспекты метаболизма железа и его регуляции», *Запорожский медицинский журнал*, № 4, с. 54-59, 2012.

14. І. Ю. Бурегга, “Особливості динаміки змін показників транспорту та насичення заліза крові у щурів при введенні сироватки крові тварин після стимуляції еритропоезу”, *Вісник проблем біології і медицини*, т. 2, № 4, с. 394-398, 2015.

15. І. Ю. Бурегга, “Особливості динаміки показників периферійної крові за умов стимуляції еритропоезу”, на *матеріали VI (68) міжнародного науково-практичного конгресу студентів та молодих вчених “Актуальні проблеми сучасної медицини”*, Київ, 2014, с. 258.

16. І. Ю. Бурегга, “Особливості динаміки показників рівня заліза крові щурів при введенні безбілкового екстракту сироватки крові після стимуляції еритропоезу”, *Вісник проблем біології і медицини*, т. 1, № 4, с. 54-58, 2015.

17. І. Ю. Бурегга, “Особливості змін показників метаболізму заліза крові щурів після введення сироватки крові, отриманої за умов моделювання

експериментальної гемолітичної анемії”, *Актуальні проблеми сучасної медицини*, т. 16, № 1, с. 184-188, 2016.

18. І. Ю. Бурега, “Особливості змін показників червоної крові та обміну заліза щурів при введенні безбілкового екстракту сироватки крові після стимульованого еритропоезу” на *Здобутки теоретичної медицини - в практику охорони здоров'я: всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів*, Запоріжжя, 2015 с. 50-51.

19. І. Ю. Бурега, “Особливості метаболізму заліза у щурів з пригніченим еритропоезом після введення сироватки крові еритропоезистимульованих тварин”, *Вісник проблем біології і медицини*, т. 1, № 1, с. 136-140, 2016.

20. Л. Николаева, “Причины возникновения и методы обнаружения гемолитической анемии, вызванной лекарственными препаратами”, *Российский биотерапевтический журнал*, т. 13, № 2, с. 35-40, 2014.

21. Н. И. Портяная, *Биохимия гидразинов*. Ангарск, Изд-во государственной технической академии, 2005.

22. Н. Малышева, и В. Тетерина, “Картина крови, костномозговое кроветворение и патогистологические изменения при фенилгидразиновой анемии” *Материалы теоретической и клинической медицины*, № 4, с. 42- 47, 1964.

23. Н. Н. Каркищенко, *Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях*. Москва, Профиль – 2С, 2010.

24. Р. А. Лидин, Р. А. Аликберова, и Л. П. Логинов, *Общая и неорганическая химия в вопросах: Учебное пособие для вузов*. Москва, Дрофа, 2004.

25. Р. Б. Стрелков, *Таблицы Стрелкова и экспресс-метод для статистической обработки данных: учеб.-метод. пособие [для вузов]*. Изд. 6-е доп. Москва, ПАИМС, 1998.

26. Р. У. Хабриев, *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*. Второе изд., перераб. и доп.

Москва, Медицина, 2005.

27. Ю. Е. Живова, “Анализ применения эритроцитсодержащих сред у больных хирургического профиля”, *Сибирский медицинский журнал*, т. 25, № 3, с. 47-50, 2010.
28. Ю. М. Захаров, и А. Г. Россохин, *Эритробластический островок*. Москва, Медицина, 2002.
29. A. Coviello, B. Kaplan, and K. Lakshman, “Effects of graded doses of testosterone on erythropoiesis in healthy young and older men”, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 93, no. 3, pp. 914-919., 2008.
30. A. Coviello, B. Kaplan, and K. Lakshman, “Effects of graded doses of testosterone on erythropoiesis in healthy young and older men”, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 93, no. 3, pp. 914-919., 2008.
31. A. Donovan, A. Brownlie, and Y. Zhou, “Positional cloning of zebrafish ferroportin1 identifies a conserved vertebrate iron exporter”, *Nature*, vol. 403, no. 6771, pp. 776-781, 2000.
32. A. Donovan, C. Lima, and J. Pinkus, “The iron exporter ferroportin/Slc40a1 is essential for iron homeostasis”, *Cell Metab.*, vol. 1, no. 3, pp. 191-200, 2005.
33. A. Dunn, S. Lo, and S. Donnelly, “The role of the kidney in blood volume regulation: the kidney as a regulator of the hematocrit”, *Am. J. Med. Sci.*, vol. 334, no. 1, pp. 65-71, 2007.
34. A. Gross, and H. Lodish, “Cellular trafficking and degradation of erythropoietin and novel erythropoiesis stimulating protein (NESP)”, *J. Biol. Chem.*, vol. 281, no. 4, pp. 2024-2032, 2006.
35. A. Kim, and E. Nemeth, “New insights into iron regulation and erythropoiesis”, *Curr. Opin. Hematol.*, vol. 22, no. 3, pp. 199–205, 2015.
36. A. Luck, and A. Mason, “Transferrin-mediated cellular iron”, *Curr. Top. Membr.* vol. 69, pp. 3-35, 2012.
37. A. McKie, D. Barrow, and G. Latunde-Data, “An iron-regulated ferric reductase associated with the absorption of dietary iron”, *Science.*, 2001. vol. 291, no. 5509, pp. 1755-1759, 2001.

38. A. McKie, P. Marciani, and A. Rolfs, "A novel duodenal iron-regulated transporter, IREG1, implicated in the basolateral transfer of iron to the circulation", *Mol. Cell.*, vol. 5, no 2, pp. 299-309, 2000.
39. A. Mozafari, R. Shahrooz, and A Ahmadi, "Protective effect of ethyl pyruvate on mice sperm parameters in phenylhydrazine induced hemolytic anemia", *Veterinary Research Forum*, vol. 7, no. 1, pp. 63-68, 2016.
40. A. Piperno, S. Galimberti, and R. Mariani, "Modulation of hepcidin production during hypoxia-induced erythropoiesis in humans in vivo: data from the HIGHCARE project", *Blood*, vol. 117, no. 10, pp. 2953-2959, 2011.
41. A. Rice, M. Mendez, and C. Hokanson, "Investigation of the biophysical and cell biological properties of ferroportin, a multipass integral membrane protein iron exporter", *J. Mol. Biol.* vol. 386, no. 3, pp. 717-732, 2009.
42. A. Rolfs, I. Kvietikova, and M. Gassmann, "Oxygen-regulated transferrin expression is mediated by hypoxia-inducible factor-1", *J. Biol. Chem.*, vol. 272, no. 32, pp. 20055-20062, 1997.
43. A. Sullivan, J. Grasso, and L. Weintraub, "Micropinocytosis of transferrin by developing red cells: an electron-microscopic study utilizing ferritin-conjugated transferrin and ferritin-conjugated antibodies to transferrin", *Blood*, vol. 47, no. 1, pp. 133-143. 1976.
44. A. Tavill, A. East, and E. Black, "Regulatory factors in the synthesis of plasma proteins by the isolated perfused rat liver", *Ciba Found Symp.*, vol. 1972, no. 9, pp. 155-179, 2012.
45. A. Tuchscherer, and J. Chemnitz, "Hemolytic anemia", *Internist (Berl.)*, vol. 56, no. 9, pp. 1000-1008. 2015.
46. B. Chung, T. Chaston, and J. Marks, "Hepcidin decreases iron transporter expression in vivo in mouse duodenum and spleen and in vitro in THP-1 macrophages and intestinal Caco-2 cells", *J. Nutr.*, vol. 139, no. 8, pp. 1457-1462, 2009.
47. B. Sarkar, "Metal protein interactions", *Prog. Food. Nutr. Sci.*, vol. 11, no. 3-4, pp. 363-400, 1987.

48. B. Skikne, and J. Coo, "Effect of enhanced erythropoiesis on iron absorption", *J. Lab. Clin. Med.*, vol. 5, no. 120, pp. 746–751, 1992.
49. C. Beall, "Human adaptability studies at high altitude: research designs and major concepts during fifty years of discovery", *Am. J. Hum. Biol.*, vol. 25, no. 2, pp. 141-147, 2013.
50. C. Benedict, A. Ghio, and H. Gehring, "Transient hypoxia and downregulation of circulating prohepcidin concentrations in healthy young men", *Haematologica*, vol. 92, no. 1, pp. 125-126, 2007.
51. C. Cao, C. Thomas, and K. Insogna, "Duodenal absorption and tissue utilization of dietary heme and nonheme iron differ in rats", *Nutr.*, vol. 144, no. 11, pp. 1710-1717, 2014.
52. C. Delaby, N. Pilard, and H. Puy, "Sequential regulation of ferroportin expression after erythrophagocytosis in murine macrophages: early mRNA induction by haem, followed by iron-dependent protein expression", *Biochem. J.*, vol. 411, no. 1, pp. 123-131, 2008.
53. C. Enns, J. Larrick, and H. Suomalainen, "Co-migration and internalization of transferrin and its receptor on K562 cells", *J. Cell Biol.*, vol. 97, no. 2, pp. 579-585, 1983.
54. C. Finch, "Regulators of iron balance in humans", *Blood*, vol. 84, no. 6, pp. 1697-1702, 1994.
55. C. Hopkins, and I. Trowbridge, "Internalization and processing of transferrin and the transferrin receptor in human carcinoma A431 cells", *J. Cell Biol.*, vol. 976, no. 2, pp. 508-521, 1983.
56. C. Lacombe, J. Da Silva, and P. Bruneval, "Peritubular cells are the site of erythropoietin synthesis in the murine hypoxic kidney", *J. Clin. Invest.*, vol. 81, no. 2, pp. 620-623, 1988.
57. C. Lok, and P. Ponka, "Identification of a hypoxia response element in the transferrin receptor gene", *J. Biol. Chem.*, vol. 274, no. 34, pp. 24147-24152, 1999.
58. C. Lok, and P. Ponka, "Identification of an erythroid active element in the transferrin receptor gene", *J. Biol. Chem.*, vol. 275, no. 31, pp. 24185-24190, 2000.

59. C. Mueller-Eckhardt, and A. Salama, “Drug-induced immune cytopenias: a unifying pathogenetic concept with special emphasis on the role of drug metabolites”, *Transfus Med Rev.*, vol. IV, pp. 69–77, 1990.
60. C. Park, E. Valore, and A. Waring, “Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver”, *J. Biol. Chem.*, vol. 276, no. 11, p. 7806-7810, 2001.
61. C. Peyssonnaud, A. Zinkernagel, and R. Schuepbach, “Regulation of iron homeostasis by the hypoxia-inducible transcription factors (HIFs)”, *J. Clin. Invest.*, vol. 117, no. 7, pp. 1926-1932, 2007.
62. C. Pigeon, G. Ilyin, and B. Courselaud, “A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload”, *J. Biol. Chem.*, vol. 276, no. 11, pp. 7811-7819, 2001.
63. C. Warnecke, Z. Zaborowska, and J. Kurreck, “Differentiating the functional role of hypoxia-inducible factor (HIF)-1alpha and HIF-2alpha (EPAS-1) by the use of RNA interference: erythropoietin is a HIF-2alpha target gene in Hep3B and Kelly cells”, *FASEB J.*, vol. 18, no. 12, pp. 1462-1464, 2004.
64. D. Ashby, D. Gale, and M. Busbridge, “Erythropoietin administration in humans causes a marked and prolonged reduction in circulating hepcidin”, *Haematologica*, vol. 95, no. 3, pp. 505-508, 2010.
65. D. Frazer, and G. Anderson, “The orchestration of body iron intake: how and where do enterocytes receive their cues? ”, *Blood Cells Mol. Dis.*, no. 30, pp. 288–297, 2003.
66. D. Haile, M. Hentze, and T. Rouault, “Regulation of interaction of the iron-responsive element binding protein with iron-responsive RNA elements”, *Mol. Cell Biol.*, vol. 9, no. 11, pp. 5055-5061, 1989.
67. D. Hemmaplardh, and E. Morgan, “The role of endocytosis in transferrin uptake by reticulocytes and bone marrow cells”, *Br. J. Haematol.*, vol. 36, no. 1, pp. 85-96, 1977.

68. D. Strickland, and B. Hudson, "Structural studies on rabbit transferrin: isolation and characterization of the glycopeptides", *Biochemistry*, vol. 17, no. 16, pp. 3411-3418, 1978.
69. D. Trinder, P. Oates, and C. Thomas, "Localisation of divalent metal transporter 1 (DMT1) to the microvillus membrane of rat duodenal enterocytes in iron deficiency, but to hepatocytes in iron overload", *Gut.*, vol. 46, no. 2, pp. 270-276, 2000.
79. D. Wallace, J. Harris, and V. Subramaniam, "Functional analysis and theoretical modeling of ferroportin reveals clustering of mutations according to phenotype", *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, vol. 298, no. 1, pp. 75-84, 2010.
80. D. Zhang, M. Ghosh, and T. Rouault, "The physiological function of iron regulatory proteins in iron homeostasis – an update", *Front Pharmacol.*, vol. 5, no. 124, 2014.
81. E. Anderson, M. Taylor, and X. Xue, "Intestinal HIF2alpha promotes tissue-iron accumulation in disorders of iron overload with anemia", *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* vol. 110, pp. E4922–E4930, 2013.
82. E. Anderson, X. Xue, and Y. Shah, "Intestinal hypoxia-inducible factor-2alpha (HIF-2alpha) is critical for efficient erythropoiesis", *J. Biol. Chem.*, vol. 286, pp. 19533–19540, 2011.
83. E. Bachman, T. Trivison, and S. Basaria, "Testosterone induces erythrocytosis via increased erythropoietin and suppressed hepcidin: evidence for a new erythropoietin/hemoglobin set point", *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.*, vol. 69, no. 6, pp. 725-735, 2014.
84. E. Benizri, A. Ginouvis, and E. Berra, "The magic of the hypoxia-signaling cascade", *Cell Mol. Life Sci.*, vol. 65, no. 7-8, pp. 1133-1149, 2008.
85. E. Hanson, and E. Leibold, "Regulation of iron regulatory protein 1 during hypoxia and hypoxia/reoxygenation", *J. Biol. Chem.*, vol. 273, no. 13, pp. 7588-7593, 1998.
86. E. Hanson, L. Foot, and E. Leibold, "Hypoxia post-translationally activates iron-regulatory protein 2" *J. Biol. Chem.*, vol. 274, no. 8, pp. 5047-5052, 1999.

87. E. Kemna, A. Kartikasari, and L. van Tits, "Regulation of hepcidin: insights from biochemical analyses on human serum samples", *Blood Cells Mol.*, vol. 40, no. 3, pp. 339–246, 2008.
88. E. McLean, M. Cogswell, and I. Egli, "Worldwide prevalence of anaemia, WHO Vitamin and Mineral Nutrition Information System, 1993-2005", *Public. Health. Nutr.*, vol. 4, no. 12, pp. 444-454, 2009.
89. E. Morgan, "Effect of hypoxia on serum concentration of transferrin and other serum proteins in human subjects", *J. Lab. Clin. Med.*, vol. 75, no. 6, pp. 1006-1012, 1970.
90. E. Nemeth, and T. Ganz, "Regulation of iron metabolism by hepcidin", *Annu. Rev. Nutr.*, vol. 26, pp. 323-342, 2006.
91. E. Nemeth, E. Valore, and M. Territo, "Hepcidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein", *Blood*, vol. 101, no. 7, pp. 2461-2463, 2003.
92. E. Nemeth, M. Tuttle, and J. Powelson, "Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization", *Science*, vol. 306, no. 5704, pp. 2090-2093, 2004.
93. E. Nemeth, M. Tuttle, and J. Powelson, "Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization", *Science*, vol. 306, no. 5704, pp. 2090-2093, 2004.
94. E. Nemeth, S. Rivera, and V. Gabayan, "IL-6 mediates hypoferremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin", *J. Clin. Invest.*, vol. 113, no. 9, pp. 1271-1276, 2004.
95. E. Porpiglia, D. Hidalgo, and M. Koulis, "Stat5 signaling specifies basal versus stress erythropoietic responses through distinct binary and graded dynamic modalities", *PLoS Biol.*, 2012.
96. E. Ramos, L. Kautz, and R. Rodriguez, "Evidence for distinct pathways of hepcidin regulation by acute and chronic iron loading in mice", *Hepatology*, vol. 53, no. 4, pp. 1333-1341, 2011.

97. E. Theil, "Ferritin: at the crossroads of iron and oxygen metabolism" *J. Nutr.*, vol.133, no. 5 Suppl. 1, pp. 1549S-1553S, 2003.
98. E. Theil, "The IRE (iron regulatory element) family: structures which regulate mRNA translation or stability", *Biofactors*, vol. 4, no. 2, pp. 87-93, 1993.
99. E. Yilmaz, A. Ayarci, and D. Siğirli, "Increased serum hepcidin levels in brucellosis", *Clin. Lab.*, vol. 60, no. 11, pp. 1837-1843, 2014.
100. F. Aydemir, S. Jenkitkasemwong, and S. Gulec, "Iron loading increases ferroportin heterogeneous nuclear RNA and mRNA levels in murine J774 macrophages", *J. Nutr.*, vol. 139, no. 3, pp. 434-438, 2009.
101. F. Canonne-Hergaux, S. Gruenheid, and P. Ponka, "Cellular and subcellular localization of the Nramp2 iron transporter in the intestinal brush border and regulation by dietary iron", vol. 93, no. 12, pp. 4406-4417, 1999.
102. F. Yousaf, and B. Spinowitz, "Hypoxia-inducible factor stabilizers: a new avenue for reducing BP while helping hemoglobin?", *Curr. Hypertens. Rep.*, vol. 18, pp. 23, 2016.
103. G. Braliou, M. Verga-Falzacappa, and G. Chachami, "2-Oxoglutarate-dependent oxygenases control hepcidin gene expression", *J. Hepatol.*, vol. 48, no. 5, pp. 801-810, 2008.
104. G. Nicolas, C. Chauvet, and L. Viatte, "The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation", *J. Clin. Invest.*, vol. 110, no. 7, pp. 1037-1044, 2002.
105. G. Nicolas, M. Bennoun, and A. Porteu, "Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidin", *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* vol. 99, no. 7, pp. 4596-4601, 2002.
106. G. Nicolas, M. Bennoun, and I. Devaux, "Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (USF2) knockout mice", *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, vol. 98, no. 15, pp. 8780-8785, 2001.
107. G. Papanikolaou, M. Samuels, and E. Ludwig, "Mutations in HFE2 cause iron overload in chromosome 1q-linked juvenile hemochromatosis", *Nat. Genet.*, vol. 36, no 1, pp. 77-82, 2004.

108. G. Ramey, J. Deschemin, and S. Vaulont, "Cross-talk between the mitogen activated protein kinase and bone morphogenetic protein/hemojuvelin pathways is required for the induction of hepcidin by holotransferrin in primary mouse hepatocytes", *Haematologica*, vol. 94, no. 6, pp. 765-772, 2009.
109. H. Bunn, "Erythropoietin", *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, vol. 3, no. 3, 2013.
110. H. Dietzfelbinger, and M. Hubmann, "Hemolytic anemias and vitamin B12 deficiency", *Dtsch. Med. Wochenschr.*, vol. 140, no. 17, pp. 1302-1310, 2015.
111. H. Gunshin, B. Mackenzie, and U. Berger, "Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter", *Nature.*, vol. 388, no. 6641 P. 482-488, 1997.
112. H. Horiguchi, E. Oguma, and F. Kayama, "The effects of iron deficiency on estradiol-induced suppression of erythropoietin induction in rats: implications of pregnancy-related anemia", *Blood*, vol. 106, no. 1, pp. 67-74, 2005. -209
113. H. Horiguchi, E. Oguma, and T. Sakamoto, "Suppression of erythropoietin induction by diethylstilbestrol in rats", *Arch. Toxicol.*, vol. 88, no. 1, pp. 137-144, 2014.
114. H. Xin, M. Wang, and W. Tang, "Hydrogen sulfide attenuates inflammatory hepcidin by reducing IL-6 secretion and promoting SIRT1-mediated STAT3 deacetylation", *Antioxid. Redox. Signal.*, 2015.
115. H. Zoller, A. Pietrangelo, and W. Vogel, "Duodenal metal-transporter (DMT-1, NRAMP-2) expression in patients with hereditary haemochromatosis", *Lancet.*, vol. 353, no. 9170, pp. 2120-2123, 1999.
116. I. De Domenico, D. Ward, and G. Musci, "Evidence for the multimeric structure of ferroportin", *Blood*, vol. 109, no. 5, pp. 2205-2209, 2007.
117. I. De Domenico, D. Ward, and G. Nemeth, "The molecular basis of ferroportin-linked hemochromatosis", *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, vol. 1026, no. 25, pp. 8955-8960, 2005.
118. I. Yu. Burega, "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” на *Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю, присвячена дню науки «Сучасні аспекти медицини і фармації»*, Запоріжжя, 2016, с. 9-10.

119. I. Yu. Burega, “Features of iron metabolism in rats with the erythropoiesis oppression after administration of blood serum of erythropoietn-stimulated animals”, на *Природничі читання 2016: матеріали III науково-практичної конференції до 80-річчя від дня народження професора Володимира Миколайовича Круцяка*, Чернівці, 2016, с. 115-116.

120. I. Yu. Burega, and V. I. Filimonov, “Features of humoral regulation mechanism of iron delivery to the bone marrow in condition of hypoxic hypoxia action”, *Актуальні проблеми сучасної медицини*. vol. 15, no. 3, pp. 238-242, 2015.

121. J. Babitt, F. Huang, and D. Wrighting, “Bone morphogenetic protein signaling by hemojuvelin regulates hepcidin expression”, *Nat. Genet.*, vol. 38, no. 5, pp. 531-539, 2006.

122. J. Babitt, F. Huang, and Y. Xia, “Modulation of bone morphogenetic protein signaling in vivo regulates systemic iron balance”, *J. Clin. Invest.* vol. 117, no. 7, pp. 1933-1939, 2007.

123. J. Berger, “Phenylhydrazine haematotoxicity”, *J. Appl. Biomed.*, vol. 5, pp. 125-130, 2007.

124. J. Casey, M. Hentze, and D. Koeller, “Iron-responsive elements: regulatory RNA sequences that control mRNA levels and translation”, *Science*, vol. 240, no. 4854, pp. 924-928, 1988.

125. J. Duarte, L. Correia, and A. Simão, "Metallosis: a rare cause of autoimmune hemolytic anemia", *Acta. Med. Port.*, vol. 28, no. 3, pp. 386-389, 2015.

126. J. Flanagan, J. Truksa, and H. Peng, “In vivo imaging of hepcidin promoter stimulation by iron and inflammation”, *Blood Cells Mol. Dis.*, vol. 38, no. 3, pp. 253-257, 2007.

127. J. Forbes, and P. Gros, "Iron, manganese, and cobalt transport by Nramp1 (Slc11a1) and Nramp2 (Slc11a2) expressed at the plasma membrane", *Blood*, vol. 102, no. 5, pp. 1884-1892, 2003.
128. J. Gossmann, R. Burkhardt, and S. Harder, "Angiotensin II infusion increases plasma erythropoietin levels via an angiotensin II type 1 receptor-dependent pathway", *Kidney Int.*, vol. 60, no. 1, pp. 83-86, 2001.
129. J. Harford, and R. Klausner, "Coordinate post-transcriptional regulation of ferritin and transferrin receptor expression: the role of regulated RNA-protein interaction", *Enzyme*, vol. 44, no. 1-4, pp. 28-41, 1990.
130. J. Hwang, C. Krebs, and B. Huynh, "A short Fe-Fe distance in peroxodiferric ferritin: control of Fe substrate versus cofactor decay?", *Science*, vol. 287, no. 5450, pp. 122-125, 2000.
131. J. Jandl, and J. Katz, "The plasma-to-cell cycle of transferrin", *J. Clin. Invest.*, vol. 42, pp. 314-326, 1963.
132. J. Lamb, F. Ray, and J. Ward, "Internalization and subcellular localization of transferrin and transferrin receptors in HeLa cells", *J. Biol. Chem.*, vol. 258, no. 14, pp. 8751-8758, 1983.
133. J. Maras, R. Maiwall, and H. Harsha, "Dysregulated iron homeostasis is strongly associated with multiorgan failure and early mortality in acute-on-chronic liver failure" *Hepatology*, vol. 61, no. 4, pp. 1306-1320, 2015.
134. J. McGregor, M. Shayeghi, and C. Vulpe, "Impaired iron transport activity of ferroportin 1 in hereditary iron overload" *J. Membr. Biol.*, vol. 206, no. 1, pp. 3-7, 2005.
135. J. Navarro, and C. Mora, "Androgen therapy for anemia in elderly uremic patients", *Int. Urol. Nephrol.*, vol. 32, no. 4, pp. 549-557, 2001.
136. J. Pinto, S. Ribeiro, and H. Pontes, "Erythropoietin mediates hepcidin expression in hepatocytes through EPOR signaling and regulation of C/EBPalpha", *Blood*, vol. 111, no. 12, pp. 5727-5733, 2008.
137. J. Truksa, H. Peng, and P. Lee, "Bone morphogenetic proteins 2, 4, and 9 stimulate murine hepcidin 1 expression independently of Hfe, transferrin receptor

- 2 (Tfr2), and IL-6”, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, vol. 1036, no. 27, pp. 10289-10293, 2006.
138. J. Wang, and K. Pantopoulos, “Regulation of cellular iron metabolism”, *Biochem. J.*, vol. 434, no. 3, pp. 365-381, 2011.
139. J. Wyllie, and N. Kaufman, “An electron microscopic study of heme uptake by rat duodenum”, *Lab. Invest.*, vol. 47, no. 5, pp. 471-476, 1982.
140. J. Zucali, and E. Mirand, “Effect of testosterone and oestradiol on erythropoietin production in vitro”, *Br. J. Haematol.*, vol. 35, no. 4, pp. 639-645, 1977.
141. K. Aizawa, R. Kawasaki, and Y. Tashiro, “Epoetin beta pegol, but not recombinant erythropoietin, retains its hematopoietic effect in vivo in the presence of the sialic acid-metabolizing enzyme sialidase”, *Int. J. Hematol.*, vol. 104, no. 2, pp. 182-189, 2016.
142. K. Jacobs, C. Shoemaker, and R. Rudersdorf, “Isolation and characterization of genomic and cDNA clones of human erythropoietin”, *Nature*, vol. 313, no. 6005, pp. 806-810, 1985.
143. K. Mayle, A. Le, and D. Kamei, “The intracellular trafficking pathway of transferrin”, *Biochim. Biophys. Acta.*, vol. 1820, no. 3, p. 264-281, 2012.
144. K. Pantopoulos, S. Porwal, and A. Tartakoff, “Mechanisms of mammalian iron homeostasis”, *Biochemistry*, vol. 51, no. 29, pp. 5705- 5724, 2012.
145. K. Poss, and S. Tonegawa, “Heme oxygenase 1 is required for mammalian iron reutilization”, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, vol. 94, no. 20, pp. 10919-10924, 1997.
146. K. Shea, “Nontherapeutic use of antimicrobial agents in animal agriculture: implications for pediatrics”, *Pediatrics*, no. 114, pp. 862–868, 2004.
147. L. Bârsan, A. Stanciu, and S. Stancu, “Bone marrow iron distribution, hepcidin, and ferroportin expression in renal anemia”, *Hematology*, 2015.
148. L. Huang, J. Gu, and M. Schau, “Regulation of hypoxia-inducible factor 1alpha is mediated by an O₂-dependent degradation domain via the ubiquitin-

- proteasome pathway”, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, vol. 95, no 14, pp. 7987-7992, 1998.
149. L. Huang, Z. Arany, and D. Livingston “Activation of hypoxia-inducible transcription factor depends primarily upon redox-sensitive stabilization of its alpha subunit”, *J. Biol. Chem.*, vol. 271, no. 50, pp. 32253-32259, 1996.
150. L. Jacobson, and E. Goldwasser, “The dynamic equilibrium of erythropoiesis”, *Brookhaven Symp. Biol.*, vol. 10, pp. 110-131, 1957.
151. L. Kautz, G. Jun, and V Erika, “Identification of erythroferrone as an erythroid regulator of iron metabolism”, *Nat Genet.*, vol. 7, no. 46, pp. 678–684, 2014.
152. L. Kautz, G. Jung, and E. Nemeth, “Erythroferrone contributes to recovery from anemia of inflammation”, *Blood*, vol.16, no. 124, pp. 2569-2574, 2014.
153. L. Kuhn, “Iron regulatory proteins and their role in controlling iron metabolism”, *Metallomics*, vol. 7, no. 2, pp. 232-243, 2015.
154. L. Lambert, H. Perri, and P. Halbrooks, “Evolution of the transferrin family: conservation of residues associated with iron and anion binding”, *Comp. Biochem. Physiol. Biochem. Mol. Biol.*, vol. 1426 no. 2, pp. 129-141, 2005.
155. L. Lin, E. Valore, and E. Nemeth, “Iron transferrin regulates hepcidin synthesis in primary hepatocyte culture through hemojuvelin and BMP2/4”, *Blood*, vol. 110, no. 6, pp. 2182-2189, 2007.
156. L. Mutschler, and A Gordon, “Plasma protein synthesis by the isolated perfused regenerating rat liver”, *Biochim. Biophys. Acta.*, vol. 130, no. 2, pp. 486-492, 1966.
157. L. Neckers, “Regulation of transferrin receptor expression and control of cell growth”, *Pathobiology*, vol. 59, no. 1, pp. 11-18, 1991.
158. L. Tacchini, L. Bianchi, and A. Bernelli-Zazzera, “Transferrin receptor induction by hypoxia. HIF-1-mediated transcriptional activation and cell-specific post-transcriptional regulation”, *J. Biol. Chem.*, vol. 274, no. 34, pp. 24142-24146, 1999.

159. L. Tandara, T. Grubisic, and G. Ivan, "Systemic inflammation up-regulates serum hepcidin in exacerbations and stable chronic obstructive pulmonary disease", *Clin. Biochem.*, 2015.
160. L. Viatte, J. Lesbordes-Brion, and D. Lou, "Deregulation of proteins involved in iron metabolism in hepcidin-deficient mice", *Blood*, vol. 105, no. 12, pp. 4861-4864, 2005.
161. L. Wiczorek, P. Hirth, and K. Schope, "Molecular biology of Erythropoietin", *Prod. Develop. Pharmac.*, no. 2, pp. 13-16, 1991.
162. M. Conrad, and J. Umbreit, "A concise review: iron absorption the mucin-mobilferrin-integrin pathway. A competitive pathway for metal absorption", *Am. J. Hematol.*, vol. 42, no. 1, pp. 67-73, 1993.
163. M. Conrad, J. Umbreit, and R. Peterson, "Function of integrin in duodenal mucosal uptake of iron", *Blood*, vol 81, no. 2, pp. 517-521, 1993.
164. M. Fleming, "The regulation of hepcidin and its effects on systemic and cellular iron metabolism", *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program*, pp. 151-1586 2009.
165. M. Fleming, C. Trenor, and M. Su, "Microcytic anaemia mice have a mutation in Nramp2, a candidate iron transporter gene" *Nat. Genet.*, vol. 16, no. 34, pp. 383-386, 1997.
166. M. Fleming, M. Romano, and M. Su, "Nramp2 is mutated in the anemic Belgrade (b) rat: evidence of a role for Nramp2 in endosomal iron transport", *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, vol. 95, no. 3, pp. 1148-1153, 1998.
167. M. Gassmann, and M. Muckenthaler, "Adaptation of iron requirement to hypoxic conditions at high altitude", *J. Appl. Physiol.*, 2015.
168. M. Goldberg, G. Glass, and J. Cunningham, "The regulated expression of erythropoietin by two human hepatoma cell lines", *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, vol. 84, no. 22, pp. 7972-7976, 1987.
169. M. Hentze, S. Caughman, and T. Rouault, "Identification of the iron-responsive element for the translational regulation of human ferritin mRNA", *Science*, vol. 238, no. 4833, pp. 1570-1573, 1987.

170. M. Hentze, T. Rouault, and J. Harford, "Oxidation-reduction and the molecular mechanism of a regulatory RNA-protein interaction", *Science.*, vol. 244, no. 4902, pp. 357-359, 1989.
171. M. Karin, and B. Mintz, "Receptor-mediated endocytosis of transferrin in developmentally totipotent mouse teratocarcinoma stem cells", *J. Biol. Chem.* vol. 256, no. 7, pp. 3245-3252, 1981.
172. M. Knutson, "Iron-sensing proteins that regulate hepcidin and enteric iron absorption", *Annu. Rev. Nutr.*, 2010.
173. M. Knutson, M. Oukka, and L. Koss, "Iron release from macrophages after erythrophagocytosis is up-regulated by ferroportin 1 overexpression and down-regulated by hepcidin", *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, vol. 102, no. 5, pp. 1324-1328, 2005.
174. M. Knutson, M. Oukka, and L. Koss, "Iron release from macrophages after erythrophagocytosis is up-regulated by ferroportin 1 overexpression and down-regulated by hepcidin", *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, vol. 102, no. 5, pp. 1324-1328, 2005.
175. M. Knutson, M. Vafa, and D. Haile, "Iron loading and erythrophagocytosis increase ferroportin 1 (FPN1) expression in J774 macrophages", *Blood*, vol. 102, no. 12, pp. 4191-4197, 2003.
176. M. Koury, and M. Haase, "Anaemia in kidney disease: harnessing hypoxia responses for therapy", *Nat. Rev. Nephrol.*, vol. 11, pp. 394-410, 2015.
177. M. Madejczyk, and N. Ballatori, "The iron transporter ferroportin can also function as a manganese exporter", *Biochim. Biophys. Acta.*, vol. 1818, no. 3, pp. 651-657, 2012.
178. M. Maggio, P. Snyder, and G. Ceda, "Is the haematopoietic effect of testosterone mediated by erythropoietin?", *The results of a clinical trial in older men. Andrology*, vol. 1, no. 1, pp. 24-28, 2013.
179. M. Mastrogiannaki, P. Matak, and B. Keith, "HIF-2alpha, but not HIF-1alpha, promotes iron absorption in mice", *J. Clin. Invest.*, vol. 119, no. 5, pp. 1159-1166, 2009.

180. M. Mastrogiannaki, P. Matak, and C Peyssonnaud, "The gut in iron homeostasis: role of HIF-2 under normal and pathological conditions", *Blood*, vol. 122, no. 6, pp. 885-892, 2013.
181. M. Mastrogiannaki, P. Matak, and J. Mathieu, "Hepatic hypoxia-inducible factor-2 down-regulates hepcidin expression in mice through an erythropoietin-mediated increase in erythropoiesis" *Haematologica*, vol. 97, no. 6, pp. 827-834, 2012.
182. M. Muckenthaler, "Fine tuning of hepcidin expression by positive and negative regulators", *Cell Metab.*, vol. 8, no. 1, pp. 1-3. 2008.
183. M. Pak, M. Lopez, and V. Gabayan, "Suppression of hepcidin during anemia requires erythropoietic activity", *Blood*, vol. 108, no. 12, pp. 3730-3735, 2006.
184. M. Perretta, L. Waissbluth, and U. Ludwig, "Hormonal control of RNA polymerases in rat bone marrow nuclei. The action of erythropoietin and testosterone", *Arch. Biol. Med. Exp. (Santiago)*, vol. 13, no. 2, pp. 247-257, 1980.
185. M. Shayeghi, G. Latunde-Dada, and J. Oakhill, "Identification of an intestinal heme transporter", *Cell*, vol. 122, no. 5, pp. 789-801, 2005.
186. M. Su, C. Trenor, and J. Fleming, "The G185R mutation disrupts function of the iron transporter Nramp2", *Blood* vol. 92, no. 6, pp. 2157-2163, 1998.
187. M. Tabuchi, T. Yoshida, and K. Takegawa, "Functional analysis of the human NRAMP family expressed in fission yeast", *Biochem. J.* vol. 1, no. 211, 1999.
188. M. Taylor, A. Qu, and E. Anderson, "Hypoxia-inducible factor-2 α mediates the adaptive increase of intestinal ferroportin during iron deficiency in mice", *Gastroenterology*, vol. 140, no. 7, pp. 2044-2055, 2011.
189. M. Toledano, E. Kozler, and L. Goldstein, "Hepcidin in acute iron toxicity", *Am. J. Emerg. Med.*, vol. 27, no. 7, pp. 761-764, 2009.
190. M. Wagner, R. Ashby, and C. Kurtz, "Hepcidin-25 in diabetic chronic kidney disease is predictive for mortality and progression to end stage renal disease", *PLoS One*, 2015.

191. N. Chasteen, and P. Harrison, "Mineralization in ferritin: an efficient means of iron storage", *J. Struct. Biol.*, vol. 126, no. 3, pp. 182-194, 1999.
192. N. Shahidi, "Androgens and erythropoiesis", *N. Engl. J. Med.*, vol. 289, no. 2, pp. 72-80, 1973.
193. O. Livnah, E. Stura, and S. Middleton, "Crystallographic evidence for preformed dimers of erythropoietin receptor before ligand activation", *Science*, vol. 283, no. 5404., pp. 987-990, 1999.
194. P. Abbrecht, and J. Littell, "Plasma erythropoietin in men and mice during acclimatization to different altitudes", *J. Appl. Physiol.* vol. 32, no. 1, pp. 54-58. 1972.
195. P. Courville, R. Chaloupka, and M. Cellier, "Recent progress in structure-function analyses of Nramp proton-dependent metal-ion transporters", *Biochem. Cell Biol.*, vol. 84, no. 6, pp. 960-978, 2006.
196. P. Kapitsinou, Q. Liu, and T. Unger, "Hepatic HIF-2 regulates erythropoietic responses to hypoxia in renal anemia", *Blood*, vol. 116, no. 16, pp. 3039-3048, 2010.
197. P. Leung, S. Srai, and M. Mascarenhas, "Increased duodenal iron uptake and transfer in a rat model of chronic hypoxia is accompanied by reduced hepcidin expression" *Gut.*, vol. 54, no. 10, pp. 1391-1395, 2005.
198. P. Maxwell, M. Wiesener, and G. Chang, "The tumour suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen-dependent proteolysis", *Nature*, vol. 399, no. 6733, pp. 271-275, 1999.
199. P. Minchella, A. Armitage, and B. Darboe, "Elevated Hepcidin Is Part of a Complex Relation That Links Mortality with Iron Homeostasis and Anemia in Men and Women with HIV Infection", *J. Nutr.*, vol. 145, no. 6, pp. 1194-1201, 2015.
200. P. Pergola, B. Spinowitz, and C. Hartman, "Vadadustat, a novel oral HIF stabilizer, provides effective anemia treatment in nondialysis-dependent chronic kidney disease" *Kidney Int.*, vol. 90, no. 5, pp. 1115-1122, 2016.

201. P. Ponka, "Cell biology of heme", *Am. J. Med. Sci.*, vol. 318, no. 4, pp. 241-256, 1999.
202. P. Ponka, "Cellular iron metabolism", *Kidney Int. Suppl.*, vol. 69, pp. 2-11, 1999.
203. P. Ponka, and C. Lok, "The transferrin receptor: role in health and disease" *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, vol. 316, no. 10, pp. 1111-1137, 1999.
204. P. Ponka, C. Beaumont, and D. Richardson, "Function and regulation of transferrin and ferritin", *Semin. Hematol.*, vol. 35, no. 1, pp. 35-54, 1998.
205. R. Fleming, and W. Sly, "Hepcidin: a putative iron-regulatory hormone relevant to hereditary hemochromatosis and the anemia of chronic disease", *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, vol. 98, no. 15, pp. 8160-8162, 2001.
206. R. Fleming, M. Migas, and X. Zhou, "Mechanism of increased iron absorption in murine model of hereditary hemochromatosis: increased duodenal expression of the iron transporter DMT1", *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, vol. 96, no. 6, pp. 3143-3148, 1999.
207. R. Hoffenberg, "Measurement of the synthesis of liver-produced plasma proteins with particular reference to dietary protein and amino acid supply", *Biochem. J.*, vol. 129, no. 2, pp. 3, 1972.
208. R. Mogadam, A. Nemati, and F. Amani, "Association between hepcidin, haemoglobin level and iron status in stage 4 chronic kidney disease patients with anaemia", *J. Pak. Med. Assoc.*, vol. 65, no. 4, pp. 354-357, 2015.
209. R. Sciot, P. van Eyken, and V. Desmet, "Transferrin receptor expression in normal and iron overloaded liver", *APMIS Suppl.* vol. 23, pp. 21-31, 1991.
210. S. Abboud, and D. Haile, "A novel mammalian iron-regulated protein involved in intracellular iron metabolism", *J. Biol. Chem.* vol. 275, no. 266 pp. 19906-19912. 2000.
211. S. Berentsen, T. Sundic, and T. Hervig, "Autoimmune hemolytic anemia", *Blood*, vol. 129, no. 21, pp. 2226-2231, 2009.
212. S. Caughman, M. Hentze, and T. Rouault, "The iron-responsive element is the single element responsible for iron-dependent translational regulation of

- ferritin biosynthesis. Evidence for function as the binding site for a translational repressor” *J. Biol. Chem.*, vol. 263, no. 35, pp. 19048-19052, 1988.
213. S. Chauhan, N. Sheth, and B. Suhagia, “Hematinic effect of fruits of *Opuntia elatior* Mill on phenylhydrazine-induced anemia in rats”, *Ayu.*, vol. 36, no. 2, pp. 208-213, 2015.
214. S. Elliott, T. Lorenzini, and D. Chang, “Mapping of the active site of recombinant human erythropoietin” *Blood*, vol. 89, no. 2, pp. 493-502, 1997.
215. S. Frede, P. Freitag, and L. Geuting, “Oxygen-regulated expression of the erythropoietin gene in the human renal cell line REPC”, *Blood*, vol. 117, no. 18, pp. 4905-4914, 2011.
216. S. Gruenheid, F. Canonne-Hergaux, and S. Gauthier, “The iron transport protein NRAMP2 is an integral membrane glycoprotein that colocalizes with transferrin in recycling endosomes”, *J. Exp. Med.*, vol. 189, no. 5, pp. 831-841, 1999.
217. S. Koury, M. Bondurant, and M. Koury, “Localization of cells producing erythropoietin in murine liver by in situ hybridization”, *Blood*, vol. 77, no. 11, pp. 2497-2503, 1991.
218. S. Koury, M. Bondurant, and M. Koury, “Localization of erythropoietin synthesizing cells in murine kidneys by in situ hybridization”, *Blood*, vol. 71, no. 2, pp. 524-527, 1988.
219. S. Krantz, “Erythropoietin”, *Blood*, vol. 3, no. 77, pp. 419-434, 1991.
220. S. Palmer, V. Saglimbene, and D. Mavridis, “Erythropoiesis-stimulating agents for anaemia in adults with chronic kidney disease: a network meta-analysis”, *Cochrane Database Syst Rev.*, vol. 12, 2014.
221. S. Palmer, V. Saglimbene, and J. Craig, “Darbepoetin for the anaemia of chronic kidney disease”, *Cochrane Database Syst Rev.*, vol. 3, 2014.
222. S. Recalcati, G. Minotti, and G. Cairo, “Iron regulatory proteins: from molecular mechanisms to drug development”, *Antioxid Redox Signal.* vol. 12, no. 10, pp. 1593-1616, 2010.

223. S. Salceda, and J. Caro, "Hypoxia-inducible factor 1alpha (HIF-1alpha) protein is rapidly degraded by the ubiquitin-proteasome system under normoxic conditions. Its stabilization by hypoxia depends on redox-induced changes", *J. Biol. Chem.* vol. 272, no. 36, pp. 22642-22647, 1997.
224. S. Schuster, J. Caro, and A. Erslev, "Erythropoietin current concept and future prospects", *Haematol. Pathol.*, vol. 1, no. 4, pp. 193-201, 1987
225. S. Shahani, M. Braga-Basaria, and M. Maggio, "Androgens and erythropoiesis: past and present", *J. Endocrinol. Invest.*, vol. 32, no. 8, pp. 704-716, 2009.
226. S. Tandy, M. Williams, and A. Leggett, "Nramp2 expression is associated with pH-dependent iron uptake across the apical membrane of human intestinal Caco-2 cells", *J. Biol. Chem.*, vol. 275, no. 2, pp. 1023-1029, 2000.
227. T. Ganz, "Hepcidin and the global burden of iron deficiency", *Clin. Chem.*, vol. 61, no. 4, pp. 577-578, 2015.
228. T. Ganz, and E. Nemeth, "Iron homeostasis in host defence and inflammation", *Nat. Rev. Immunol.*, 2015.
229. T. Miyake, C. Kung, and E. Goldwasser, "Purification of human erythropoietin", *J. Biol. Chem.* vol. 252, no. 15, pp. 5558-5564, 1977.
230. T. Rouault, M. Hentze, and S. Caughman, "Binding of a cytosolic protein to the iron-responsive element of human ferritin messenger RNA", *Science*, vol. 241, no. 4870, pp. 1207-1210, 1988.
231. U. von Wussow, J. Klaus, and H. Pagel, "Is the renal production of erythropoietin controlled by the brain stem?", *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, vol. 289, no. 1, pp. 82-86, 2005.
232. W. Bezwoda, T. Bothwell, and R. Charlton, "The relative dietary importance of haem and non-haem iron", *S. Afr. Med. J.*, vol. 64, no. 14, pp. 552-556, 1983.
233. W. Kaelin, and P. Ratcliffe, "Oxygen sensing by metazoans: the central role of the HIF hydroxylase pathway", *Mol. Cell.*, vol. 30, pp. 393-402, 1985

234. W. Murphy, “The sex difference in haemoglobin levels in adults - mechanisms, causes, and consequences”, *Blood Rev.* vol. 28, no 2, pp. 41-47, 2014.
235. Wei-Na Kong, Yan-Zhong Chang, and Shu-Min Wang, “Effect of erythropoietin on hepcidin, DMT1 with IRE, and hephaestin gene expression in duodenum of rats”, *J. Gastroenterol.*, no. 43. pp. 136–143, 2008.
236. X. Jiang, M. Gao, and Y. Chen, “EPO-dependent induction of erythroferrone drives hepcidin suppression and systematic iron absorption under phenylhydrazine-induced hemolytic anemia”, *Blood Cells Mol. Dis.*, vol. 58, pp. 45-51, 2016.
237. X. Liu, F. Yang, and D. Haile, “Functional consequences of ferroportin 1 mutations”, *Blood Cells Mol. Dis.*, vol. 35, no. 1, pp. 33-46, 2005.
238. X. Liu, N. Nguyen, and K. Marquess, “Regulation of hepcidin and ferroportin expression by lipopolysaccharide in splenic macrophages”, *Blood Cells Mol. Dis.*, vol. 35, no 1, pp. 47-56, 2005.
239. X. Liu, W. Jin, and E. Theil, “Opening protein pores with chaotropes enhances Fe reduction and chelation of Fe from the ferritin biomineral”, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, vol. 100, no. 7, pp. 3653-3658, 2003.
240. Y. Moriyama, and J Fisher, “Effects of testosterone and erythropoietin on erythroid colony formation in human bone marrow cultures”, *Blood* vol. 45, no. 5, pp. 665-670. 1975.
241. Z. Qian, H. Li, and H. Sun, “Targeted drug delivery via the transferrin receptor-mediated endocytosis pathway”, *Pharmacol. Rev.*, vol. 54, no. 4, pp. 561-587, 2002.
242. Z. Rubab, H. Amin, and K. Abbas, “Serum hepcidin levels in patients with end-stage renal disease on hemodialysis”, *Saudi J. Kidney Dis. Transpl.*, vol. 26, no. 1, pp. 19-25, 2015.

ДОДАТКИ

Додаток А

**НАУКОВІ ПРАЦІ, В ЯКИХ ОПУБЛІКОВАНІ ОСНОВНІ НАУКОВІ
РЕЗУЛЬТАТИ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Филимонов В. И. 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.

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. - P. 238-242.

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.

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.

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.

6. Бурега І. Ю. Особливості метаболізму заліза у щурів з пригніченим еритропоезом після введення сироватки крові еритропоестинстимульованих тварин / І. Ю. Бурега // Вісник проблем біології і медицини. - 2016. - Т. 1, № 1. - С. 136-140.

НАУКОВІ ПРАЦІ, ЯКІ ЗАСВІДЧУЮТЬ АПРОБАЦІЮ МАТЕРІАЛІВ ДИСЕРТАЦІЇ

7. Бурега І. Ю. Сравнительная характеристика динамики изменения уровня железа плазмы крови при стимуляции эритропоеза различными путями / І. 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 ХХІ 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. Бурега І. Ю. Динамика уровня транспортного железа после стимуляции эритропоеза / В. И. Филимонов, І. Ю. Бурега // Научные труды IV съезда физиологов СНГ, 8–12 октября, 2014 г., Сочи – Дагомыс. - С. 109.

10. Бурега І. Ю. Особенности транспорта железа плазмой крови в условиях повышенного гемолиза эритроцитов, но различной активности кроветворения / В. И. Филимонов, І. 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.

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 erythropoietn-stimulated animals / I. Yu. Burega // Природничі читання 2016: матеріали III науково-практичної конференції до 80-річчя від дня народження професора Володимира Миколайовича Круцяка, 19-22 травня, 2016 р., м. Чернівці. – С. 115-116.

Апробація результатів дисертації:

- Актуальні питання експериментальної, клінічної медицини та фармації: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю (25-26 жовтня, 2012 р., м. Луганськ) – усна доповідь і публікація;
- 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) – усна доповідь і публікація;
- XIX 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) – усна доповідь і публікація;

- Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів “Здобутки теоретичної медицини – в практику охорони здоров’я” (26-27 березня, 2015., м. Запоріжжя) – усна доповідь і публікація;
- III науково-практичної конференції до 80-річчя від дня народження професора Володимира Миколайовича Круцяка (19-22 травня, 2016 р., м. Чернівці) – усна доповідь і публікація;
- 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) – усна доповідь і публікація;
- 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) – публікація.

Додаток Б1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
ДЗ "Дніпропетровська медична академія"
професор _____

_____ 2016 року

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** матеріали кандидатської дисертації "Особливості механізмів метаболізму заліза при стимуляції та пригніченні еритропоезу (експериментальне дослідження).
 2. **Установа-розробник:** Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 24, кафедра нормальної фізіології, очний аспірант кафедри нормальної фізіології Бурегі І. Ю.
 3. **Джерело інформації:** Бурегі І. Ю. Особливості динаміки змін показників транспорту та насичення заліза крові у щурів при введенні сироватки крові тварин після стимуляції еритропоезу. / Бурегі І. Ю. // Вісник проблем біології і медицини. – 2015. - № 4, Т. 2. – С. 394-398.
 4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра фізіології ДЗ "Дніпропетровська медична академія".
 5. **Термін впровадження:** листопад 2015 – травень 2016 рр.
 6. **Форма впровадження:** в наукову роботу кафедри, а також у матеріали лекцій та практичних занять з фізіології.
- Відповідальний за впровадження:**
завідувач кафедри фізіології ДЗ "Дніпропетровська медична академія".
д.мед.н., професор _____

Підпис _____ Родинський О. Г.
Засвідчую
ДЗ "Дніпропетровська медична академія"
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
1890/020/01
1990/020/01
ДЗ "Дніпропетровська медична академія"
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

Додаток Б2

"ЗАТВЕРДЖУЮ"

Перший проректор

ВДНЗУ «Українська медична
стоматологічна академія»

д.мед.н., проф. Босирьов В.М.



2016 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** матеріали кандидатської дисертації «Особливості механізмів метаболізму заліза при стимуляції та пригніченні еритропоезу (експериментальне дослідження)».
2. **Установа-розробник:** Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 24, кафедра нормальної фізіології, очний аспірант кафедри нормальної фізіології Бурега І.Ю.
3. **Джерело інформації:** 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 Української медичної стоматологічної академії «Актуальні проблеми сучасної медицини». – 2016. – № 1, Т.16. – С.193 – 197.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра фізіології ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» (протокол кафедрального засідання № 17 від 10.05.2016).
5. **Термін впровадження:** травень 2016р. – вересень 2016 р.
6. **Форма впровадження:** в наукову роботу кафедри, а також у матеріали лекцій та практичних занять з фізіології.

Відповідальний за впровадження:

завідувач кафедри фізіології ВДНЗУ УМСА

д.мед.н., професор

І.В. Міщенко

Додаток БЗ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** матеріали кандидатської дисертації “Особливості механізмів метаболізму заліза при стимуляції та пригніченні еритропоезу (експериментальне дослідження).
2. **Установа-розробник:** Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 24, кафедра нормальної фізіології, очний аспірант кафедри нормальної фізіології Бурега І. Ю.
3. **Джерело інформації:** Filimonov V. Features of humoral regulation mechanism of iron delivery to the bone marrow in condition of hypoxic hypoxia action. / Filimonov V, Burega I. // Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2015. - № 3, Т. 15. – С. 238-242.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра фізіології Одеського національного медичного університету.
5. **Термін впровадження:** вересень 2015 – березень 2016 рр.
6. **Форма впровадження:** в наукову роботу кафедри, а також у матеріали лекцій та практичних занять з фізіології.

Відповідальний за впровадження:

завідувач кафедри фізіології Одеського національного медичного університету
д.мед.н., професор

Шандра О. А.

Додаток Б4

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи

Вінницького національного

медичного університету

професор



2016 року

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** матеріали кандидатської дисертації “Особливості механізмів метаболізму заліза при стимуляції та пригніченні еритропоезу (експериментальне дослідження).
2. **Установа-розробник:** Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 24, кафедра нормальної фізіології, очний аспірант кафедри нормальної фізіології Бурега І. Ю.
3. **Джерело інформації:** Бурега І. Ю. Особливості динаміки показників рівня заліза крові щурів при введенні безбілкового екстракту сироватки крові після стимуляції еритропоезу. / Бурега І. Ю. // “Вісник проблем біології і медицини”. – 2015. - № 4, Т. 1. – С. 54-58.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра нормальної фізіології Вінницького національного медичного університету.
5. **Термін впровадження:** грудень 2015 – травень 2016 рр.
6. **Форма впровадження:** в наукову роботу кафедри, а також у матеріали лекцій та практичних занять з фізіології.

Відповідальний за впровадження:

завідувач кафедри нормальної фізіології Вінницького національного медичного університету

д.мед.н., професор

Йолтухівський М. В.

Додаток Б5

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи

Харківського національного
медичного університетуПрофесор М'ясоєдов В.В.
«30» 08 2016 року

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** матеріали кандидатської дисертації «Особливості механізмів метаболізму заліза при стимуляції та пригніченні еритропоезу (експериментальне дослідження)».
2. **Установа-розробник:** Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 24, кафедра нормальної фізіології, очний аспірант кафедри нормальної фізіології Бурега І.Ю.
3. **Джерело інформації:** Бурега І.Ю. Особливості метаболізму заліза у щурів з пригніченим еритропоезом після введення сироватки крові еритропоетинстимульованих тварин. / Бурега І.Ю. // «Вісник проблем біології і медицини». – 2016. - № 1, Т. 1. – С. 136-140.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра фізіології Харківського національного медичного університету.
5. **Термін впровадження:** березень 2016 – серпень 2016 рр.
6. **Форма впровадження:** в наукову роботу кафедри, а також у матеріали лекцій та практичних занять з фізіології.

Відповідальний за впровадження:

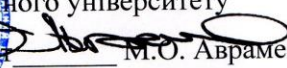
Завідувач кафедри фізіології
Харківського національного
медичного університету МОЗ
України, к.мед.н., доцент

Д.І. Маракушин

Додаток Б6

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



перший проректор
Запорізького державного
медичного університету
доцента  М.О. Авраменко

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** матеріали кандидатської дисертації “Особливості механізмів метаболізму заліза при стимуляції та пригніченні еритропоезу (експериментальне дослідження).
 2. **Установа-розробник:** Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 24, кафедра нормальної фізіології, очний аспірант кафедри нормальної фізіології Бурега І.Ю..
 3. **Джерело інформації:** Filimonov V. Features of humoral regulation mechanism of iron delivery to the bone marrow in condition of hypoxic hypoxia action. / Filimonov V., Burega I. // Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2015. - № 3, Т. 15. – С. 238-242.
Бурега І. Ю. Особливості метаболізму заліза у щурів з пригніченим еритропоезом після введення сироватки крові еритропоестинстимульованих тварин. / Бурега І. Ю. // “Вісник проблем біології і медицини”. – 2016. - № 1, Т. 1. – С. 136-140.
 4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра нормальної фізіології Запорізького державного медичного університету.
 5. **Термін впровадження:** вересень 2015 – березень 2016 рр.
 6. **Форма впровадження:** в наукову роботу кафедри, а також у матеріали лекцій та практичних занять з фізіології.
- Відповідальний за впровадження:** завідувач кафедри нормальної фізіології Запорізького державного медичного університету.
д.біол.н., професор



Куш О. Г.

Додаток В

Таблиця В.1

Показники периферійної крові та залізотранспортної функції сироватки крові щурів (донори) (n=10^{*}, n=6)

	Референт.	Контроль донори			Експеримент донори		
		1 доба	3 доба	5 доба	1 доба	3 доба	5 доба
Ретикулоцити (%)	18,2±0,7	18,1±0,8	17,6±0,6	18,3±0,7	25,4±0,9*	42,1±0,8*#	32,3±0,7*#
Еритроцити (x10 ¹² /л)	7,74±0,4	7,74±0,6	7,36±0,7	7,79±0,9	7,67±0,6	7,92±0,8	8,4±0,8
Гемоглобін (г/л)	156,1±8,7	155,3±8,8	157,5±8,4	152,4±8,8	157,2±9,1	156,2±7,9	157,3±8,1
Гематокрит (%)	43,2±0,8	42,7±0,6	41,9±0,7	43,2±0,5	43,6±0,8	42,3±0,6	44,1±0,7
Залізо (мкмоль/л)	32,4±0,9	33,8±0,8	35,3±0,7	31,7±0,8	25,3±0,7*	48,3±0,8*#	40,2±0,5*#
ЗЗЗЗ (мкмоль/л)	47,6±1	49,5±0,5	46,7±1,1	48,3±0,6	48,2±1,3	85,7±1,2*#	67,1±1,4*#
НЗЗЗ (мкмоль/л)	15,2±0,8	15,7±0,7	15,4±0,9	15,6±0,8	22,9±1,1*	38,4±0,8*#	26,9±0,6*#
Насичення трансферину (%)	68,6±2,6	68,2±2,3	65,5±2,1	65,6±2,7	51,9±2,6*	54,3±2,4*	59,8±2,2*#

Примітка: * - результат достовірний при порівнянні з референтною групою ($p \leq 0,05$); # - результат достовірний при порівнянні з попереднім терміном спостереження ($p \leq 0,05$); ● - для референтної групи

**Показники периферійної крові та залізотранспортної функції сироватки крові у щурів групи (Р) після введення сироватки крові тварин групи (Д)
(n=10^{*}, n=6)**

	Референт.	Контроль реципієнти			Експеримент реципієнти		
		1 доба	3 доба	5 доба	1 доба	3 доба	5 доба
Ретикулоцити (%)	18,2±0,7	17,3±0,8	18,5±0,7	18,6±0,7	18,3±0,6	17,4±0,8	18,1±0,9
Еритроцити (x10 ¹² /л)	7,74±0,4	7,11±0,4	7,12±0,5	7,44±0,7	7,56±0,7	7,33±0,6	7,26±0,8
Гемоглобін (г/л)	156,1±8,7	156,3±8,5	153,2±8,7	152,6±8,8	155,1±8,7	157,3±8,3	156,4±8,6
Гематокрит (%)	43,2±0,8	43,6±0,8	41,7±0,9	42,8±0,8	43,8±0,9	42,6±0,7	43,6±0,7
Залізо (мкмоль/л)	32,4±0,9	33,6±0,8	34,1±0,6	33,2±0,7	47,2±0,8*	86,3±0,6*#	58,1±0,8*#
ЗЗЗЗ (мкмоль/л)	47,6±1	47,4±0,8	48,6±0,9	46,3±0,9	66,5±0,8*	122,6±1,2*#	82,3±0,7*#
НЗЗЗ (мкмоль/л)	15,2±0,8	14,9±0,7	14,5±1,1	15,1±0,8	20,3±0,6*	38,3±1,3*#	23,5±0,7*#
Насичення трансферину (%)	68,6±2,6	64,8±2,6	68,1±2,1	68,7±2,4	72,2±2,4	72,6±2,2	69,3±2,1

Примітка: * - результат достовірний при порівнянні з референтною групою ($p \leq 0,05$); # - результат достовірний при порівнянні з попереднім терміном спостереження ($p \leq 0,05$); ● - для референтної групи

Показники периферійної крові та залізотранспортної функції сироватки крові щурів (донори) (n=10[•], n=6)

	Референт.	Контроль донори		Експеримент донори	
		1 доба	3 доба	1 доба	3 доба
Ретикулоцити (%)	18,2±0,7	18,4±0,8	17,6±0,6	26,1±0,9*	41,1±0,7*#
Еритроцити (x10 ¹² /л)	7,74±0,4	7,76±0,5	7,74±0,5	7,64±0,4	7,65±0,5
Гемоглобін (г/л)	156,1±8,7	155,4±8,7	156,2±8,1	155,3±7,9	155,8±8,4
Гематокрит (%)	43,2±0,8	42,7±0,8	42,2±0,7	43,1±0,9	42,9±0,8
Залізо (мкмоль/л)	32,4±0,9	33,4±0,7	33,7±0,8	24,2±0,9*	44,6±1,2*#
ЗЗЗЗ (мкмоль/л)	47,6±1	48,2±0,9	48,1±0,8	44,3±1,1*	79,3±1,8*#
НЗЗЗ (мкмоль/л)	15,2±0,8	15,0±0,9	15,1±1	21,1±0,8*	31,2±1,4*#
Насичення трансферину (%)	68,6±2,6	67,1±2,1	68,2±2,2	55,7±2,7*	52,3±2,8*

Примітка: * - результат достовірний при порівнянні з референтною групою (p ≤ 0,05); # - результат достовірний при порівнянні з попереднім терміном спостереження (p ≤ 0,05); • - для референтної групи

Показники периферійної крові та залізотransпортної функції сироватки крові у щурів реципієнтів 1 експериментальної групи після введення сироватки крові тварин донорів (n=10[•], n=6)

	Референт.	Контрольна Реципієнти 1	Експериментальна Реципієнти 1
Ретикулоцити (%)	18,2±0,7	17,7±0,7	39,1±0,6*
Еритроцити (x10 ¹² /л)	7,74±0,4	7,76±0,4	7,65±0,6
Гемоглобін (г/л)	156,1±8,7	156,2±8,5	156,4±8,6
Гематокрит (%)	43,2±0,8	43,1±0,7	42,5±0,6
Залізо (мкмоль/л)	32,4±0,9	32,7±1	44,9±1,6*
ЗЗЗЗ (мкмоль/л)	47,6±1	47,2±1,2	63,3±1,9*
НЗЗЗ (мкмоль/л)	15,2±0,3	15,3±0,8	20,4±1,7*
Насичення трансферину (%)	68,6±2,6	67,9±2,2	71,2±2,2

Примітка: * - результат достовірний при порівнянні з референтною групою (p ≤ 0,05); (p ≤ 0,05); ● - для референтної групи

Таблиця В.5

Показники периферійної крові та залізотранспортної функції сироватки крові у щурів реципієнтів 2 експериментальної групи після введення сироватки крові тварин реципієнтів 1 (n=10*, n=6)

	Референт.	Контрольна Реципієнти 1				Експериментальна Реципієнти 1			
		1 доба	3 доба	5 доба	7 доба	1 доба	3 доба	5 доба	7 доба
Ретикулоцити (%)	18,2±0,7	18,4±0,7	18,1±0,8	17,8±0,8	18,3±0,6	18,3±0,8	19,2±0,7	18,6±0,7	18,3±0,8
Еритроцити (x10 ¹² /л)	7,74±0,4	7,26±0,9	7,44±0,6	7,91±0,8	7,56±0,6	7,61±0,7	7,67±0,9	7,56±0,7	7,46±0,8
Гемоглобін (г/л)	156,1±8,7	158±8,8	157±9,1	156,8,9	154±8,7	157,8±9,2	156,6±9,7	158,2±8,6	155,4±8,9
Гематокрит (%)	43,2±0,8	42,6±0,8	42,9±0,9	42,4±0,7	44±0,8	42,7±0,9	42,3±0,7	43,2±0,6	42,1±0,8
Залізо (мкмоль/л)	32,4±0,9	32,8±1	31,7±0,8	32,4±0,9	32,7±0,7	46,7±0,4*	79,2±0,8*#	46,8±0,7*#	32,6±0,8#
ЗЗЗЗ (мкмоль/л)	47,6±1	48,2±0,7	48,3±0,9	47,3±0,7	48,4±0,8	66,4±0,6*	110,2±0,8*#	67,3±0,6*#	48,0±0,6#
НЗЗЗ (мкмоль/л)	15,2±0,8	15,4±0,8	15,3±0,9	14,7±0,7	15,7±0,8	19,7±0,7*	42,0±2,2*#	22,4±2,1*#	15,3±0,7#
Насичення трансферину (%)	68,6±2,6	68,1±2,2	68,7±2,4	67,9±2,8	67,5±2,7	70,7±2,8	79,0±2,7*#	68,6±2,4#	67,2±2,3

Примітка: * - результат достовірний при порівнянні з референтною групою ($p \leq 0,05$); # - результат достовірний при порівнянні з попереднім терміном спостереження ($p \leq 0,05$); ● - для референтної групи

Таблиця В.6

Показники периферійної крові та залізотранспортної функції сироватки крові щурів (донори) (n=10[•], n=6)

	Референт.	Контрольна донори		Експериментальна донори	
		3 доба	21 доба	3 доба	21 доба
Ретикулоцити (%)	18,2±0,7	18,1±0,6	18,3±0,8	49,2±1*	18,7±0,8#
Еритроцити (x10 ¹² /л)	7,74±0,4	7,81±0,6	7,76±0,3	2,81±0,5*	7,72±0,6#
Гемоглобін (г/л)	156,1±8,7	156,2±8,9	156,7±8,7	48,7±6,2*	156,7±8,5#
Гематокрит (%)	43,2±0,8	43,3±0,7	42,8±0,9	17,4±0,6*	43,5±0,7#
Залізо (мкмоль/л)	32,4±0,9	33,7±0,6	32,5±0,7	48,5±1,1*	33,2±0,9#
ЗЗЗЗ (мкмоль/л)	47,6±1	47,3±0,7	47,7±0,9	78,6±1,6*	47,1±1,9#
НЗЗЗ (мкмоль/л)	15,2±0,8	15,3±0,6	15,5±0,8	29,3±1,2*	15,4±1,1#
Насичення трансферину (%)	68,6±2,6	67,9±2,3	68,4±2,4	63,4±2,6*	67,9±2,5#

Примітка: * - результат достовірний при порівнянні з референтною групою ($p \leq 0,05$); # - результат достовірний при порівнянні з попереднім терміном спостереження ($p \leq 0,05$); ● - для референтної групи

Показники периферійної крові та залізотранспортної функції сироватки крові у щурів групи (Р1) після введення сироватки крові тварин групи (Д) (n=10^{*}, n=6)

	Референт.	Контрольна реципієнти 1	Експериментальна реципієнти 1
Ретикулоцити (‰)	18,2±0,7	17,8±0,9	36,3±1,1
Еритроцити (x10 ¹² /л)	7,74±0,4	7,68±0,7	7,61±0,8
Гемоглобін (г/л)	156,1±8,7	156,7±8,7	155,3±8,3
Гематокрит (%)	43,2±0,8	42,3±0,5	43,7±0,7
Залізо (мкмоль/л)	32,4±0,9	33,2±0,8	39,7±1*
ЗЗЗЗ (мкмоль/л)	47,6±1	47,6±1,4	57,1±1,7*
НЗЗЗ (мкмоль/л)	15,2±0,3	15,8±0,7	19,2±1,4*
Насичення трансферину (%)	68,6±2,6	67,3±2,4	67,3±2,6

Примітка: * - результат достовірний при порівнянні з референтною групою (p<0,05); ● - для референтної групи.

Показники периферійної крові та залізотранспортної функції сироватки крові у щурів групи (P2) після введення сироватки крові тварин групи (P1) (n=10^{*}, n=6)

	Референт.	Контроль реципієнти 2			Експеримент реципієнти 2		
		1 доба	3 доба	5 доба	1 доба	3 доба	5 доба
Ретикулоцити (%)	18,2±0,7	18,4±0,6	18,6±0,4	18,2±0,8	18,4±0,4	18,1±0,5	18,6±0,7
Еритроцити (x10 ¹² /л)	7,74±0,4	7,48±0,6	7,65±0,7	7,52±0,8	7,67±0,5	7,48±0,8	7,44±0,6
Гемоглобін (г/л)	156,1±8,7	157,2±8,7	155,3±8,3	156,4±8,4	157,1±8,6	155,6±8,7	156,7±8,4
Гематокрит (%)	43,2±0,8	43,5±0,6	42,6±0,5	43,6±0,7	42,7±0,8	42,8±0,5	43,2±0,8
Залізо (мкмоль/л)	32,4±0,9	33,7±0,9	33,3±0,5	33,7±0,8	46,8±0,9*	89,4±1,1*#	51,4±0,8*#
ЗЗЗЗ (мкмоль/л)	47,6±1	46,7±0,7	48,1±0,8	47,2±0,7	63,1±1,8*	120,7±6,2*#	79,2±2,7*#
НЗЗЗ (мкмоль/л)	15,2±0,8	15,6±0,7	15,4±1,1	15,5±0,8	19,3±0,7*	35,6±1,4*#	24,7±0,9*#
Насичення трансферину (%)	68,6±2,6	67,8±2,6	68,1±2,1	69,5±2,2	72,9±2,6	73,8±2,4	66,8±2,6#

Примітка: *- результат достовірний при порівнянні з референтною групою (p<0,05); # - результат достовірний при порівнянні з попереднім терміном спостереження (p<0,05); ● - для референтної групи.

Показники периферійної крові та залізотранспортної функції сироватки крові щурів 2-ої експериментальної групи (n = 10[•], n = 6)

	Референт.	Контрольна	Експериментальна
		3 доба	3 доба
Ретикулоцити (%)	18,2 ± 0,7	18,3 ± 0,6	42,6 ± 0,6*
Еритроцити (x10 ¹² /л)	7,74 ± 0,4	7,69 ± 0,7	7,74 ± 0,6
Гемоглобін (г/л)	156,1 ± 8,7	156,2 ± 8,2	156,8 ± 8,3
Гематокрит (%)	43,2 ± 0,8	43,7 ± 0,7	43,4 ± 0,7
Залізо (мкмоль/л)	32,4 ± 0,9	32,7 ± 0,6	48,3 ± 0,8*
ЗЗЗЗ (мкмоль/л)	47,6 ± 1	48,2 ± 0,6	86,9 ± 1,3*
НЗЗЗ (мкмоль/л)	15,2 ± 0,8	15,3 ± 0,6	37,1 ± 0,7*
Насичення трансферину (%)	68,6 ± 2,6	67,6 ± 2,2	56,4 ± 2,3*

Примітка: * - результат достовірний при порівнянні з референтною групою (p<0,05); • - для референтної групи.

Таблиця В.10

**Показники периферійної крові та залізотранспортної функції сироватки крові щурів
4-ої експериментальної групи (n = 10*, n = 6)**

	Референт.	Контрольна	Експериментальна 3-тя група			Експериментальна 4-та група		
			6 доба	8 доба	10 доба	1 доба	3 доба	5 доба
Ретикулоцити (%)	18,2 ± 0,7	18,3 ± 0,8	3,5 ± 0,6*	6,7 ± 0,5*#	12,2 ± 0,6*#	3,4 ± 0,5*	6,9 ± 0,6*#	12,1 ± 0,7*#
Еритроцити (x10 ¹² /л)	7,74 ± 0,4	7,69 ± 0,8	13,3 ± 0,6*	10,4 ± 0,7*#	8,3 ± 0,4#	13,1 ± 0,7*	10,7 ± 0,9*#	8,19 ± 0,6#
Гемоглобін (г/л)	156,1 ± 8,7	156,2 ± 8,5	186,3 ± 8,4*	167,6 ± 8,1*#	158,6 ± 7,5	184,2 ± 8,2*	168,4 ± 8,4*#	159,3 ± 7,8
Гематокрит (%)	43,2 ± 0,8	43,7 ± 0,6	56,2 ± 0,6*	48,9 ± 0,5*#	43,3 ± 0,6#	56,7 ± 0,5*	49,6 ± 0,7*#	44,2 ± 0,7#
Залізо (мкмоль/л)	32,4 ± 0,9	32,7 ± 0,8	84,6 ± 1,2*	76,4 ± 0,7*#	67,2 ± 0,7*#	83,1 ± 1,4*	82,8 ± 0,5*	75,4 ± 0,6*#
ЗЗЗЗ (мкмоль/л)	47,6 ± 1	48,2 ± 0,7	94,2 ± 1,3*	92,5 ± 1,6*	82,4 ± 1,4*	96,5 ± 1,2*	100,1 ± 1,4*	95,2 ± 1,3*#
НЗЗЗ (мкмоль/л)	15,2 ± 0,8	15,3 ± 0,5	10,2 ± 0,6*	12,4 ± 0,6*#	14,1 ± 0,3*#	13,3 ± 0,8*	17,7 ± 0,7*#	20,4 ± 0,5*#
Насичення трансферину (%)	68,6 ± 2,6	67,6 ± 2,3	89,3 ± 2,5*	82,7 ± 2,2	81,3 ± 2,1*	86,1 ± 2,7*	82,2 ± 2,8*	78,5 ± 2,6*

Примітки: * — результат достовірний при порівнянні з референтною групою (p < 0,05); # — результат достовірний при порівнянні з попереднім терміном спостереження (p < 0,05); ● — для референтної групи.

Показники периферійної крові та залізотранспортної функції сироватки крові щурів (донори) (n=10[•], n=6)

	Референт.	Контроль донори			Експеримент донори		
		1 доба	3 доба	5 доба	1 доба	3 доба	5 доба
Ретикулоцити (%)	18,2±0,7	18,3±0,6	18,1±0,7	18,7±0,8	24,2±0,8*	43,3±0,7*#	31,2±0,8*#
Еритроцити (x10 ¹² /л)	7,74±0,4	7,69±0,7	7,25±0,8	7,52±0,6	7,67±0,8	7,83±0,8	8,32±0,9
Гемоглобін (г/л)	156,1±8,7	156,2±8,2	156,3±8,7	154,6±8,3	156,9±7,8	157,2±8,8	157,4±8,3
Гематокрит (%)	43,2±0,8	43,7±0,7	42,3±0,5	43,6±0,7	42,7±0,7	42,8±0,8	43,3±0,6
Залізо (мкмоль/л)	32,4±0,9	32,7±0,6	34,2±0,8	32,5±0,7	22,7±0,8*	49,2±0,5*#	41,3±0,6*#
ЗЗЗЗ (мкмоль/л)	47,6±1	48,2±0,6	47,3±1,2	47,7±0,8	46,8±1,2	87,3±1,4*#	67,4±1,3*#
НЗЗЗ (мкмоль/л)	15,2±0,8	15,3±0,6	15,6±0,8	15,8±0,7	23,2±1,3*	37,6±0,9*#	25,3±0,7*#
Насичення трансферину (%)	68,6±2,6	67,6±2,2	66,3±2,3	66,8±2,5	48,3±2,5*	55,7±2,2*#	62,3±2,3*#

Примітка: * - результат достовірний при порівнянні з референтною групою ($p \leq 0,05$); # - результат достовірний при порівнянні з попереднім терміном спостереження ($p \leq 0,05$); • - для референтної групи

Показники периферійної крові та залізотранспортної функції сироватки крові у щурів групи Р після введення сироватки крові тварин групи Д (n=10^{*}, n=6)

	Референт.	Контроль реципієнти			Експеримент реципієнти тху 20 %		
		1 доба	3 доба	5 доба	1 доба	3 доба	5 доба
Ретикулоцити (‰)	18,2±0,7	17,9±0,6	18,4±0,8	18,2±0,6	18,4±0,7	17,6±0,8	18,3±0,7
Еритроцити (x10 ¹² /л)	7,74±0,4	7,56±0,6	7,43±0,7	7,48±0,8	7,61±0,6	7,58±0,7	7,52±0,8
Гемоглобін (г/л)	156,1±8,7	156,7±8,4	155,8±8,3	156,4±8,6	156,3±8,2	156,6±8,4	156,8±8,3
Гематокрит (%)	43,2±0,8	43,8±0,6	43,3±0,7	42,4±0,9	43,5±0,6	43,7±0,8	43,4±0,8
Залізо (мкмоль/л)	32,4±0,9	33,1±0,7	32,8±0,7	33,6±0,8	48,6±0,9*	83,2±0,7*#	56,3±0,6*#
ЗЗЗЗ (мкмоль/л)	47,6±1	46,9±0,7	47,8±0,6	46,8±0,8	69,7±0,7*	118,3±1,4*#	79,1±0,6*#
НЗЗЗ (мкмоль/л)	15,2±0,8	15,1±0,6	15,8±0,9	15,6±0,7	19,5±0,7*	35,1±1,4*#	23,3±0,8*#
Насичення трансферину (%)	68,6±2,6	66,9±2,4	67,1±2,2	67,3±2,3	73,3±2,5*	73,7±2,4*	74,5±2,3*

Примітка: * - результат достовірний при порівнянні з референтною групою ($p \leq 0,05$); # - результат достовірний при порівнянні з попереднім терміном спостереження ($p \leq 0,05$); ● - для референтної групи