

Л. В. Тихохід,
 Б. А. Насібуллін, *д-р мед. наук, проф.*,
 Н. О. Алексєнко, *канд. мед. наук*

МОДЕЛЮВАННЯ ЛАТЕНТНОГО ДЕФІЦИТУ ЗАЛІЗА

Український науково-дослідний інститут медичної реабілітації та курортології, Одеса

Вступ

Незважаючи на те, що вивчення обміну заліза має давню історію, ця проблема зберігає свою актуальність. Дефіцит заліза в організмі людини та його крайній ступінь — залізодефіцитна анемія (ЗДА) спричинює гіпоксію, сидеропенію та зумовлені ними морфологічні, біохімічні й функціональні зміни майже в усіх органах і системах організму [3; 4; 11].

Значне поширення залізодефіциту, необхідність глибшого вивчення особливостей порушень метаболізму заліза в організмі, недостатня ефективність залізозамісної терапії, можливість профілактики розвитку ЗДА, використання з метою корекції дефіциту заліза залістистих мінеральних вод як факторів малої інтенсивності (порівняно з ліками), а також неможливість проведення відповідних досліджень на людині та деякі інші недостатньо вивчені питання роблять актуальною розробку адекватних моделей залізодефіциту на лабораторних тваринах, зокрема на білих щурах.

У формуванні дефіциту заліза в широкому розумінні цього терміну розрізняють такі стадії: прелатентний дефіцит заліза (вичерпання запасів заліза, в першу чергу, в депонуючих органах), латентний дефіцит заліза, з якого надалі розвивається залізодефіцитна анемія [5; 11].

Під латентним (прихованим) дефіцитом заліза (ЛДЗ) розуміють ізольований тканинний дефіцит заліза без анемії (ВООЗ, 1973). Він патогене-

тично зумовлений вичерпанням запасів заліза та зниженням вмісту метаболічного заліза (ферментів, що містять його) в клітинах людського організму [10; 11; 13].

Існує незначна кількість методів утворення експериментального дефіциту заліза (гіпосидерозу):

— повторні кровопускання, достатньо часті, що ускладнюють відновлення резерву всмоктуванням;

— часткова гепатектомія в поєднанні з їжею;

— зменшення кількості заліза в їжі [13].

Виходячи з вищесказаного, ми поставили перед собою завдання вдосконалити спосіб моделювання прихованого залізодефіцитного стану, який завдяки зміненому складу раціону дозволить скоротити час відтворення моделі та підвищити точність відтворення прихованих порушень обміну заліза з наближенням до перебігу патології в людині.

Мета даної роботи — створення нової моделі латентного залізодефіцитного стану.

Матеріали та методи дослідження

Матеріалом дослідження слугували дані, отримані від піддослідних тварин (45 самок білих щурів масою 140–160 г). Щурів було розміщено в спеціальних клітках (пластмасових, без будь-яких залізовмісних деталей), і впродовж 1 міс вони щодня отримували як корм експериментальний раціон. Корм, використаний в експерименті, було виготовлено на дистильованій воді, з

рафінованих продуктів, які не містять залізо, але було збережено життєво необхідне співвідношення білків, жирів і вуглеводів (казеїн, соняшникова олія, крохмаль). Життєво необхідні макро- та мікроелементи щури отримували за рахунок штучної сольової суміші, що складалася з таких елементів, як натрій, хлор, калій, кобальт і фосфор у фізіологічній кількості. Особливість цієї суміші — наявність у ній міді та цинку в дозах, що перевищують фізіологічні норми, оскільки надлишок цинку та міді підвищує можливість виникнення залізодефіциту [6]. Кількість сольової суміші дорівнювала 100 мг / на щура на добу і мала такий склад: NaCl — 40 мг, ZnCl₂ — 25 мг, CuCl₂ — 10 мг, CoCl₂ — 5 мг, KН₂РO₄ — 20 мг. Питна вода була дистильованою.

Для підтвердження відтворення латентного залізодефіцитного стану застосовували діагностичні тести: визначали концентрацію гемоглобіну геміглобінціанідним методом, кількість еритроцитів у периферичній крові (уніфікований метод підрахунку за допомогою лічильної камери); кольоровий показник крові, концентрацію заліза у плазмі крові, загальну залізов'язуючу здатність сироватки; обраховували приховану (ненасичену або латентну) здатність організму зв'язувати залізо та коефіцієнт насичення трансферину залізом (набір реактивів Філісит-діагностика).

Визначення концентрації заліза в сироватці крові дає уявлення про рівень транспор-

тованого заліза у плазмі крові, яке зв'язане з трансферином. Трансферин належить до β -глобулінів, його головна функція — транспорт заліза, що всмокталася, до його депо (печінки та селезінки). Загальна залізо-зв'язуюча здатність сироватки крові (ЗЗЗСК) також є показником концентрації у сироватці трансферину [9]. На підставі визначення рівня заліза в сироватці та ЗЗЗСК розраховується коефіцієнт — відсоток, який складає залізо сироватки від ЗЗЗСК.

Важливу інформацію надає морфологічне дослідження, проведене в процесі експерименту та після його закінчення, що дозволяє прослідкувати розвиток патологічних і відновлювальних процесів, зрозуміти їх сутність і значущість (патологія, компенсація, адаптація) [12]. Органами-мішенями вважали тонкий кишечник і печінку.

Для оцінки біохімічних показників функціонального стану печінки також визначали активність трансаміназ — ала-

нінової та аспарагінової (АлТ і АсТ). Використовували стандартну методику визначення активності аспартат-аміно-трансферази АсАТ (AST) і аланін-аміно-трансферази АлАТ (ALT) у сироватці крові (динітрофеніл-гідразиним методом) (набір «Біо-Латест», Чехія). Також вимірювали білірубін у сироватці крові за діазореакцією в присутності акселератора за допомогою набору реактивів, що випускаються фірмою «Lachema» (Чехія) [1; 2; 8].

Контролем були показники щурів, що перебували в звичайних умовах віварію на стандартному раціоні.

Одержаний матеріал оброблявся за допомогою математичної статистики, що дозволяло робити обґрунтовані, надійні висновки щодо досліджуваного процесу в цілому [7].

Результати дослідження та їх обговорення

Правильність і відповідність отриманої моделі латентному залізодефіциту було під-

тверджено отриманими результатами (таблиця).

З наведених даних видно, що у тварин, які перебували впродовж 1 міс на спеціальній дієті, рівень гемоглобіну не змінюється і залишається вище нижньої межі норми. Але при цьому, порівняно з вихідним фоном, суттєво знижується кольоровий показник крові за рахунок вірогідного збільшення кількості еритроцитів у периферійній крові ($P < 0,001$).

За отриманими даними, наведеними в таблиці, ЗЗЗСК при моделюванні патологічного процесу вірогідно підвищується ($P < 0,05$) і вірогідно знижується концентрація заліза в плазмі крові ($P < 0,01$). Тому у тварин спостерігається зниження коефіцієнта насичення трансферину залізом ($P < 0,001$). Прихована здатність сироватки зв'язувати залізо також підвищена, що, вочевидь, пов'язане з прогресуючим використанням депо заліза.

Як видно з даних таблиці, утримання щурів протягом

Таблиця

Вплив залізодефіцитної дієти на показники крові при моделюванні латентного дефіциту заліза

Показники	Регресійні рівняння						D	P
	$M_1 \pm m_1$	n	$y = a \pm k \cdot x_n$	P	$(y_{cp}; y_{30}) \pm m$	n		
Гемоглобін, г/л	143,00 \pm 2,34	11	$y = 142,768 + 0,032 \cdot x$	>0,5	143,26 \pm 0,07	12	+0,26	>0,5
Еритроцити, т/л	7,49 \pm 0,13	11	$y = 7,485 + 0,026 \cdot x$	<0,001	8,260 \pm 0,004	12	+0,77	<0,001
Колірний показник, од.	0,57 \pm 0,01	11	$y = 0,556 - 0,001 \cdot x$	<0,01	0,526 \pm 0,001	12	-0,04	<0,001
Загальна здатність сироватки зв'язувати залізо, мкмоль/л	149,20 \pm 10,53	11	$y = 147,603 + 0,855 \cdot x$	<0,01	173,25 \pm 0,21	12	+24,05	<0,05
Концентрація заліза, мкмоль/л	70,00 \pm 5,62	11	$y = 68,711 - 0,556 \cdot x$	<0,05	52,03 \pm 0,22	12	-17,97	<0,01
Насичення трансферину залізом, %	46,90 \pm 3,10	11	$y = 46,549 - 0,557 \cdot x$	<0,01	29,84 \pm 0,15	12	-17,06	<0,001
Прихована залізо-зв'язувальна здатність крові, мкмоль/л	79,30 \pm 6,70	11	$y = 78,892 + 1,410 \cdot x$	<0,001	121,19 \pm 0,28	12	+41,89	<0,001
АлТ, ммоль/(год·л)	1,72 \pm 0,11	8	$y = 1,664 - 0,023 \cdot x$	<0,001	0,970 \pm 0,002	12	-0,75	<0,001
АсТ, ммоль/(год·л)	2,22 \pm 0,08	8	$y = 2,126 - 0,009 \cdot x$	<0,01	1,860 \pm 0,002	12	-0,36	<0,001
Загальний білірубін, ммоль/л	8,91 \pm 0,53	8	$y = 8,685 - 0,013 \cdot x$	>0,2	8,480 \pm 0,015	12	-0,43	>0,2

Примітка. ($M \pm m$) — середні значення показників; $y = a \pm k \cdot x$ — регресійні рівняння, де y — показник; a — розрахована величина; $\pm k$ — коефіцієнт регресії; x — день курсу навантаження; y_{cp} — середня величина показника за курс при відсутності вірогідної динаміки; y_{30} — значення показника за курс при наявності вірогідної динаміки; D — різниця значень показника з контролем; P — ступінь вірогідності.

місяця на залізодефіцитній дієті викликає зміни активності ферментів трансамінування. Так, після місячного курсу дієти активність ферментів АлТ і АсТ вірогідно знижується ($P < 0,001$). Разом із тим, вміст загального білірубину в цих умовах експерименту зберігається на рівні контрольних показників.

У результаті проведених гістологічних досліджень було виявлено деякі зміни в слизовій оболонці тонкого кишечника та печінки піддослідних щурів. Так, гістологічне дослідження тонкого кишечника виявило зниження кількості мікроворсинок, сплюснення високого циліндричного епітелію подекуди до кубічного. Ядра епітеліоцитів розташовуються ближче до базальної поверхні клітини, цитоплазма блідо-еозинофільна; ядро середніх розмірів з однорідним вмістом, забарвлено не яскраво. Судини ворсинок розширені, застійно повнокровні, еритроцити блідо-золотистого забарвлення.

Гістологічне дослідження печінки показало, що збережена часточкова структура, центральна вена повнокровна, а навколо неї — скупчення лімфоцитів. Невеликі, поодинокі скупчення лімфоцитів визначаються в печінковій часточці ближче до тріади. Гепатоцити блідо забарвлені, їх ядра набряклі, середніх розмірів. У деяких гепатоцитах визначаються дрібні та середні вакуолі. Отримані результати свідчать про наявність змін, характерних для латентного залізодефіцитного стану [11].

Отже, утримання піддослідних щурів на залізодефіцитному казеїновому раціоні з підвищеною кількістю та якісно зміненою сольовою сумішшю впродовж місяця призводить до виникнення в них латентного залізодефіцитного стану. Цю модель можна використувати для глибшого вивчення особливостей порушень метаболізму заліза в організмі та корекції дефіциту заліза природними факторами [14].

ЛІТЕРАТУРА

1. *Посібник з методів досліджень природних та преформованих засобів: мінеральні природні лікувально-столові та лікувальні води, напої на їхній основі; штучно-мінералізовані води; порошки, розсоли, глини, воски та препарати на їхній основі* / Н. О. Алексєєнко, О. С. Павлова, Б. А. Насібуллін, А. С. Ручкіна // Ч. 3. Експериментальні та доклінічні дослідження. — Одеса, 2002. — 120 с.

2. *Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині* / Л. В. Беркало, О. В. Бобович, Н. О. Боброва та ін. — Полтава: Полімет, 2003. — 320 с.

3. *Видиборець С. В.* Клінічне значення вмісту молекул середньої маси у сироватці крові хворих із залізодефіцитною анемією // Лікарська справа. — 2002. — № 1. — С. 60-63.

4. *Гайдукова С. М., Видиборець С. В., Колесник І. В.* Залізодефіцитна анемія: Навч. посіб. для студ. мед. університетів та лікарів. — К.: Наук. світ, 2001. — 129 с.

5. *Гусєва С. А., Вознюк В. П., Дубкова А. Г.* Анемии: принципы диагностики и лечения. — К.: Фахівець, 1999. — 288 с.

6. *Зайчик А. Ш., Чурилов Л. П.* Основы общей патологии. Ч. 2. Основы патохимии. — СПб.: ЭЛБИ, 2000. — 688 с.

7. *Каминский Л. С.* Статистическая обработка лабораторных и клинических данных. — Л.: Медицина, 1964. — 250 с.

8. *Лабораторные методы исследования в клинике* / Под ред. В. В. Меньшикова. — М.: Медицина, 1987. — 364 с.

9. *Назаренко Г. И., Кишкун А. А.* Клиническая оценка результатов лабораторных исследований. — М.: Медицина, 2000. — 544 с.

10. *Петров В. Н.* Физиология и патология обмена железа. — Л.: Наука, 1982. — 224 с.

11. *Темник І., Ковалів Ю.* Латентний дефіцит заліза і залізодефіцитна анемія. — Л., 1998. — 136 с.

12. *Методи изучения хронического действия химических и биологических загрязнителей* / И. М. Трахтенберг, Л. А. Тимофеевская, И. Я. Квятковская. — Рига: Знание, 1987. — 172 с.

13. *Железодефицитные состояния* / М. М. Щерба, В. Н. Петров, Е. С. Рысс и др. — Л.: Наука, 1975. — 267 с.

14. *Деклараційний патент «Спосіб моделювання латентного дефіциту заліза»* / Л. В. Тихохід, Н. О. Алексєєнко, Б. А. Насібуллін, С. Г. Гуца. 14473 (11). Бюл. № 5 15.06.2006.

УДК 612.392.45:616-092.9.001.57

Л. В. Тихохід, Б. А. Насібуллін, Н. О. Алексєєнко
МОДЕЛЮВАННЯ ЛАТЕНТНОГО ДЕФІЦИТУ ЗАЛІЗА

На 45 білих щурах-саміцях представлено спосіб отримання моделі латентного залізодефіцитного стану та підтвердження її реалізації. Отриману модель можна використовувати для вивчення патогенетичних механізмів корегування латентного залізодефіцитного стану.

Ключові слова: модель, дієта, латентний залізодефіцитний стан.

UDC 612.392.45:616-092.9.001.57

L. V. Tykhokhid, B. A. Nasibullin, N. O. Alekseyenko
MODELLING OF LATENT DEFICIENCY OF IRON

The way of reception of model latent iron deficiency conditions and acknowledgement of its realization is presented on 45 white rats-female. The received model can be used for studying pathogenetic mechanisms of its correction.

Key words: model, diet, latent iron deficiency conditions.