

Деякі механізми регуляції дихальної функції крові при залізодефіцитних анеміях

В экспериментальных и клинико-физиологических исследованиях изучали показатели дыхательной и кислородсвязывающей функции крови при железодефицитных анемиях (ЖДА). У крыс таковую моделировали посредством содержания на железодефицитном рационе, применением кровопусканий и введением десферала; подробно анализируется алиментарная модель ЖДА, как наиболее соответствующая клинике заболевания. Обследованы больные с ЖДА легкой, средней и тяжелой степени в условиях патогенетического лечения в Киеве и комплексного - в Приэльбрусье. Как в экспериментальных, так и в клинических исследованиях отмечено повышение содержания 2,3-ДФГ и АТФ в эритроцитах, что является механизмом снижения сродства гемоглобина к кислороду и, соответственно, улучшения оксигенации тканей. Патогенетическая терапия у крыс была более эффективной при дополнительном применении миелопида.

Вступ

Залізодефіцитні анемії (ЗДА) - це патологічний стан організму, що розвивається при порушенні обміну заліза, яке може бути пов'язане з недостатнім надходженням його, підвищеними втратами, патологією реутилізації. Від його вмісту та взаємодії з киснем залежить інтенсивність гемопоезу, синтез та активність інших залізовмісних білків і ферментів, а взагалі - кисневий режим організму, генерація біологічної енергії. Зниження гематологічних показників при ЗДА [4, 8, 9] призводить до порушень кисневотранспортної функції крові, до розвитку гемічної гіпоксії. При цьому зменшується доставка кисню тканинам організму; що супроводжується компенсаторним посиленням роботи деяких фізіологічних систем і біохімічних реакцій в самій крові. Такі ж явища спостерігаються і при гіпоксичній гіпоксії, що поріднює їх. Поряд з цим між ними є і істотні розбіжності. Так, посилене всмоктування заліза зі шлунково-кишкового тракту при гіпоксії сприяє підвищенню еритрогемопоезу, тоді як хворі на ЗДА не відповідають адекватним підвищенням кровотворення навіть на екзогенне введення еритропоєтину. Це зумовлено неспроможністю еритропоєтинз'язаних механізмів зокрема еритроноу і нирки, відповідати належним чином на зниження транспортування кисню кров'ю [8, 16], на зниження його парціального тиску в крові та утилізації, внаслідок чого розвивається гіпопластична ЗДА [4]. Можливо, більш вагоме значення при цьому набуває кейлоно-антикейлонна система регуляції еритропоезу [1], локальні стимулятори та інгібітори еритробластичного острівка [7].

Розповсюдження ЗДА, недостатність і суперечність даних про основні ланцюги її патогенезу, про механізми розвитку та компенсації гіпоксії, пов'язаної з дефіцитом заліза, недостатня ефективність залізозамісної терапії та ряд інших невивчених питань роблять актуальною розробку адекватних моделей ЗДА і всебічне її вивчення у лабораторних тварин, зокрема у білих щурів, для поширення й поглиблення знань про цю хворобу.

Мета нашого дослідження - вивчення деяких молекулярних механізмів розвитку і компенсації порушень дихальної функції крові при залізодефіцитних анеміях в експерименті та клініці.

Методика

На 160 щурах лінії Вістар масою 180-250 г проведено п'ять серій дослідів: I - серія - контроль; II - моделювання аліментарної ЗДА згодовуванням упродовж 2 міс залізодефіцитним раціоном (ЗДР), що складався з казеїну, крохмалю і олії, збагаченої сольовою сумішшю макро- та мікроелементами й вітамінами [10, 13]. У III серії аліментарну ЗДА моделювали в поєднанні з введенням десфералу. В IV серії дослідів моделювали гостру та хронічну постгеморагічну анемію ексфузую 1 % крові від маси тіла і введенням десфералу. Останній у III і IV серіях вводили щодобово протягом 10 діб внутрішньоочеревинно в дозі 10-25 мг/100 г. Утворюючи комплексну сполуку з окисним залізом (феріоксаміном), десферал виводить його з організму, сприяючи таким чином загальній анемізації. В V серію увійшли тварини з індукованою аліментарною ЗДА, яким упродовж 2 тиж проводили патогенетичну терапію: внутрішньоочеревинне введення ферум-лек з розрахунку 2,5 мг заліза на тварину. Одній групі тварин цієї серії поряд з цим вводили мієлопід. Обом групам в їжу додавали сухі пивні дріжджі, аскорбінову кислоту та розтерті таблетки Ревіту.

Паралельно в м. Києві проведено клініко-фізіологічне обстеження 142 хворих (130 жінок віком 16-72 років, 12 чоловіків віком 36-42 років) на ЗДА різної вираженості, які склали I групу. До II групи увійшло 10 жінок віком 28-42 років, які проживають в аридній зоні і проходили курс оздоровлення в Приельбруссі (с. Терскол, 2100 м над рівнем моря); III групу склали 18 дівчат з ювенільними кровотечами, які проживають у Києві й які проходили курс лікування в Приельбруссі.

Дихальну функцію крові оцінювали за такими показниками: концентрацію гемоглобіну вивчали геміглобінціанідним методом; число еритроцитів підраховували в камері Горяєва; концентрацію 2,3-дифосфогнікрату (2,3-ДФГ) і аденозинтрифосфornoї кислоти (АТФ) визначали за методом Виноградова з співавт. [3]; молекулярний спектр гемоглобіну оцінювали за вмістом його фракцій, одержаних методом вертикального диск-електрофорезу в поліакриламідному гелі на апараті і з реактивами Ренал. Статистичну обробку результатів здійснювали за критерієм t Стюдента.

Результати та їх обговорення

При моделюванні ЗДА методом крововтрат з'ясувалось (табл. 1), що зміни значень гематологічних показників виражені менше, ніж при аліментарній ЗДА. Крім цього, враховуючи те, що патоненез експериментальної аліментарної ЗДА більше відповідає перебігу її у хворих, зупинимось на аналізі саме цього варіанту ЗДА. В процесі моделювання аліментарної ЗДА у білих шурів виявилась їх висока резистентність до дефіциту заліза. Пов'язані з дефіцитом заліза показники анемії розвиваються повільно. Утримання тварин на ЗДР за наших умов експерименту протягом 1 міс привело лише до зниження вмісту гемоглобіну та еритроцитів у середньому до 10,2 % і лише після 2 міс такого утримання рівень гемоглобіну знизився на 21,4 %, а еритроцитів на 16 %. Це збігається з даними літератури [10, 12, 14], але ще не свідчить про гіпоксію кісткового мозку і порушення процесу еритрогемопоезу, оскільки зниження кисневої місткості крові може компенсуватися посиленням дихання та кровотоку. Повільний розвиток анемії пов'язаний, можливо, з коротким, порівняно з людиною, терміном життя еритроцитів у шурів і тому прискореним процесом реутилізації заліза. Здавалося б, що у шурів при невеликому запасі заліза (7-10 мг/100 г), залізодефіцитний стан може бути досягнутий лише введенням десфералу, 1 г якого за розрахунками, може зв'язати 4,25 мг окисного заліза. Результати наших дослідів свідчать, однак, про те, що сам десферал не викликає анемії, але сприяє анемізації тварин, які знаходяться на ЗДР. Вміст гемоглобіну знизився при цьому більше ніж на 33,6 %, а еритроцитів - на 25,0 %, тоді як без десфералу значення цих показників становили 21,8 і 15,8 % відповідно. Не відмічено характерної для ЗДА гіпохромії еритроцитів: величина кольорового показника у шурів менша, ніж у людини, і в нормі (0,64), істотно не змінювалась, як і середній вміст гемоглобіну в еритроциті, який у шурів також нижчий, ніж у людини.

Вважається, що збільшення долі неефективного еритропоезу при ЗДА, кісткомозковий гемоліз нежиттєздатних нормобластів і скорочення терміну життя еритроцитів, що надійшли в циркуляцію, ускладнюють перебіг анемії [14], посилюють гіпоксичний стан організму. Однією з термінових реакцій, спрямованих на адекватне постачання кисню тканинам при гіпоксії й анемії, є гемогліколіз, завдяки якому підвищується синтез таких конформаторів і регуляторів споріднення гемоблобіну до кисню, як АТФ і 2,3-ДФГ. Роль останнього в еритроцитах різноманітна: він є резервом фосфату в клітині; служить субстратним депо для синтезу АТФ; сприяє стабільності рН (а при ЗДА спостерігається тенденція до накопичення кислих валентностей); попереджує окислення гемоглобіну в метгемоглобін; молекулярно зв'язується з мембраною еритроцитів, підтримує роботу її насосних каналів. Мембранозв'язуюча фракція його взаємодіє також із спектрином, що впливає на еластичність і деформування еритроцитів, на термін їх функціонування та швидкість дифузії кисню в капілярах тканин. При повній деоксигенації гемоглобіну спектрин втрачає 2,3-ДФГ, при ок-

Т а б л и ц я 1. Зміни деяких показників дихальної функції крові при різних варіантах моделювання залізодефіцитної анемії у білих щурів ($M \pm m$)

Показник	Контроль	Залізодефіцит- ний раціон	Залізодефіцит- ний раціон і введення де- сфералу	Крововтрата та введення де- сфералу	Патогенетич- на терапія
Гемоглобін, г/л	136,0 $\pm$ 1,8 (130)	107,1 $\pm$ 1,7*	90,3 $\pm$ 2,2*	100,2 $\pm$ 3,0*	130,0 $\pm$ 2,1 (14)
Еритроцити, $\times 10^{12}/л$	6,00 $\pm$ 0,11 (120)	5,05 $\pm$ 0,12*	4,50 $\pm$ 0,12*	5,25 $\pm$ 0,11*	5,35 $\pm$ 0,12* (14)
Киснева місткість крові:					
об'ємна доля, %	18,4 $\pm$ 0,15	14,5 $\pm$ 0,36*	12,2 $\pm$ 0,25*	13,6 $\pm$ 0,34*	17,6 $\pm$ 0,31
Δ , %		-21,2	-33,7	-26,2	-4,4
Концентрація					
2,3-дифос- фогліцерату, мкмоль/мл еритроцитів	5,20 $\pm$ 0,30 (15)	8,08 $\pm$ 0,30*	7,90 $\pm$ 0,31*	7,90 $\pm$ 0,20*	7,60 $\pm$ 0,32* (10)
аденозинтри- фосфату, мкмоль/мл еритроцитів	0,80 $\pm$ 0,01 (15)	1,00 $\pm$ 0,01*	1,12 $\pm$ 0,02*	0,96 $\pm$ 0,02 (6)	1,07 $\pm$ 0,01* (10)

Примітка. * - статистично вірогідні результати, у дужках - кількість тварин.

сигенації - приєднує його. Підвищення концентрації 2,3-ДФГ в еритроцитах вважається загальнобіологічною реакцією при гіпоксії, що призводить до зниження спорідненості гемоглобіну до кисню і покращання оксигенації тканин. Величина P_{50} у хворих на ЗДА за даними [5, 18] становить 30,2 - 29,6 мм рт. ст. при 27,6 - 27,1 мм рт.ст. у нормі. Зниження спорідненості гемоглобіну до кисню у хворих на анемію на 2/3 зумовлено підвищенням вмісту 2,3-ДФГ і лише на 1/3 зниженням рН крові [19]. Правий зсув кривої деоксигенації гемоглобіну на 2,5 мм рт.ст. посилює вивільнення кисню на 15 % [5], що має важливе значення для оксигенації тканин і, особливо, кісткового мозку, як генератора еритрогемопоезу.

У дослідах на щурах з аліментарною ЗДА концентрація 2,3-ДФГ збільшилася на 53,6 %, тоді як АТФ - на 23,7 % (див. табл. 1), що узгоджується з даними літератури про вплив цих речовин на спорідненість гемоглобіну до кисню. Підвищення оксигенації тканин при цьому може бути одним з факторів їх високої резистентності до дефіциту заліза.

Т а б л и ц я 2. Зміни деяких показників дихальної функції крові у хворих на залізодефіцитну анемію ($M \pm m$)

Показник	Контроль (n=26)	Ступінь анемії		
		легка (n=58)	помірна (n=54)	тяжка (n=30)
Гемоглобін, г/л	126,8 $\pm$ 1,7	104,5 $\pm$ 1,3***	82,6 $\pm$ 1,5***	61,1 $\pm$ 1,1***
Еритроцити, $\times 10^{12}$ /л	4,07 $\pm$ 0,12	3,68 $\pm$ 0,10***	3,30 $\pm$ 0,12***	3,06 $\pm$ 0,15***
Киснева місткість крові, об'ємна доля, %	17,24 $\pm$ 1,0	13,91 $\pm$ 0,21***	11,23 $\pm$ 0,25***	8,30 $\pm$ 0,15***
Кольоровий показник	0,95 $\pm$ 0,023	0,87 $\pm$ 0,019**	0,75 $\pm$ 0,012**	0,61 $\pm$ 0,014**
Середній вміст гемоглобіну в еритроциті, пг	31,1 $\pm$ 1,2	28,3 $\pm$ 0,7**	25,0 $\pm$ 0,4**	19,9 $\pm$ 0,5**
Концентрація:				
2,3-дифосфогліцерату, мкмоль/мл еритроцитів	5,41 $\pm$ 0,01	6,58 $\pm$ 0,18***	6,83 $\pm$ 0,31***	8,76 $\pm$ 0,20***
аденозинтрифосфату, мкмоль/мл еритроцитів	1,31 $\pm$ 0,06	1,33 $\pm$ 0,10**	1,52 $\pm$ 0,10**	1,62 $\pm$ 0,13*

* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$.

Результати про зміни дихальної функції крові у хворих I групи представлені в табл. 2, з якої видно, що вміст гемоглобіну знижується відповідно до тяжкості анемії на 17,7; 34,9 і 52,6 %, а еритроцитів дещо менше - на 9,6; 19,0 і 24,9 %. Відмічається деяка гіпохромія еритроцитів, про що свідчить кольоровий показник і середній вміст гемоглобіну в еритроциті. Концентрація органічних фосфатів була підвищеною проти контролю відповідно до тяжкості анемії на 21,6 %; 26,2 % і 61,9 % для 2,3-ДФГ і на 1,5 %; 16,0 % і 23,6 % - для АТФ, що підтверджує більш важливу роль 2,3-ДФГ у взаємодії його з гемоглобіном, ніж АТФ. Підвищений вміст 2,3-ДФГ у хворих на анемію описано в літературі [5, 15, 17, 18]. Ще більше підвищення концентрації 2,3-ДФГ реєстрували у хворих II групи, чому сприяло, очевидно, посилення гемомгліколізу під впливом висотної гіпоксії, «омоложення» крові та газовий алкалоз [6].

У хворих на ЗДА відмічено і якісні зміни синтезу гемоглобіну [20] щодо швидкості α -ланцюгів відносно до β -ланцюгів. Електрофоретичний аналіз у наших дослідках не виявив змін з боку фракційного складу гемоглобіну, співвідношення наявних фракцій у здорових і хворих істотно не змінювалося. Не виявлено і змін між вмістом основної фракції гемоглобіну і його мінорних компонентів у праці Дмитрієвої з співавт. [5]. Тому можна припустити, що зниження дихальної

функції крові при ЗДА не пов'язане з пошкодженням молекулярних механізмів синтезу в гетерогенній системі гемоглобіну і його функціонування, оскільки фракційний склад змінюється в межах фізіологічної норми. Електрофоретичні дослідження гемоглобіну у хворих II групи також не виявили істотного порушення фракційного складу гемоглобіну [6]. Деяке зниження НвА₁ і НвА₂, підвищення НвF було в межах фізіологічної норми і узгоджується з літературними даними [2], враховуючи й умови проживання в аридній зоні.

При обстеженні хворих II групи не завжди виявлялася фракція НвА₁. У процесі адаптації до умов середньогір'я, покращанням загального стану та кисневотранспортної функції крові, регуляції ендокринної статевих системи [11], НвА₁ виявлявся у більшості обстежених. Додаткове застосування методу лужної денатурації гемоглобіну у цих хворих показало, що якщо до виїзду в гори рівень НвF у деяких хворих був підвищеним, а в інших - зниженим, то за умов гірського клімату він мав тенденцію до нормалізації.

Таким чином, проведені дослідження в клініці та експерименті свідчать про те, що дефіцит заліза проявляється в гальмуванні нормального кровотворення і тим істотніше, чим більший дефіцит заліза. Це, по-перше, призводить до зниження кисневої місткості крові, до кисневого забезпечення організму, його кисневих режимів, до замкненого кола, вихід з якого, з одного боку, зробив сам організм компенсуючим посиленням дихальної функції крові внаслідок підвищення синтезу органічних фосфатів, які знижують спорідненість гемоглобіну до кисню, що покращує оксигенацію тканин. По-друге, в наших дослідках на щурах виявилось, що додання мієлопіду підвищує ефективність патогенетичної терапії завдяки, мабуть, впливу цього препарату на функціональну активність стовбурових кровотворних клітин, імунологічний статус і дихальну функцію крові.

Порівняльний аналіз клінічних і експериментальних результатів свідчить про те, що моделювання аліментарної ЗДА у білих щурів є більш патофізіологічним варіантом відносно до крововтрати і краще відповідає перебігу ЗДА у хворої людини.

I.I.Lanovenko, V.P.Dudarev, A.P.Nevgad

SOME REGULATORY MECHANISMS OF BLOOD RESPIRATORY FUNCTION UNDER IRON DEFICIENCY ANEMIAS

In experiments on rats with iron-deficiency diet hemoglobin and erythrocyte number was lowered, whereas the contents of 2,3-DPG and ATP were increased by 40-40%, accordingly. Desferal injections have aggravated the anemia severity. Pathogenetic therapy using myelopid had a favourable effect on the animals with anemia. Similar changes were observed in patients with iron-deficiency anemia.

Research Institute of Blood Transfusion,
Ministry of Public Health of Ukraine, Kyiv

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бала Ю.М., Белошевский В.А. Исследования активности эритроцитарного кейлона и антикейллона при анемиях // Гематология и трансфузиология. - 1986. - 31, № 1. - С. 14-16.
2. Белошицкий П.В., Колчинская А.З., Андреева А.П. и др. Лечение больных железодефицитными анемиями жителей аридной зоны в условиях гор. - К.: Наук. думка, 1986. - С. 105-124.
3. Виноградова И.Л., Багрянцева С.Ю., Дервиз Г.В. Метод одновременного определения, 2,3-ДФГ и АТФ в эритроцитах // Лаб. дело. - 1980. - № 7. - С. 424-426.
4. Гаврилов О.К., Файнштейн Ф.Э., Турбина Н.С. Депрессия кроветворения. - М.: Медицина, 1987. - 252 с.
5. Дмитриева М.Г., Карпова И.В., Пивник А.В. и др. Роль гемоглобина в адаптации к гипоксии больных железодефицитной анемией // Гематология и трансфузиология. - 1994. - 39, № 1. - С. 13-15.
6. Дударев В.П. Дыхательная функция крови. - В кн.: Механизмы развития и компенсации гемической гипоксии. - К.: Наук. думка, 1987. - С. 19-34.
7. Захаров Ю.М., Мельников И.Ю. Эритробластический островок - функционально анатомическая единица эритропоэза // Гематология и трансфузиология. - 1984. - 2, № 10. - С. 51-56.
8. Идельсон Л.И. Гипохромные анемии. - М.: Медицина, 1981. - 189 с.
9. Истаманова Т.С. Очерки функциональной гематологии. - Л.: Гос. изд. мед. лит-ры, 1963. - 229 с.
10. Кондратьев Ю.И., Коваленко Е.А., Данилова А.К. и др. Влияние рационов с различным содержанием минеральных веществ на физиологическое состояние белых крыс в условиях гиподинамии // Биология лаб. животных. - 1970. - Вып. 2. - С. 53-60.
11. Крупко-Большова Ю.А., Вовк И.В., Жихарева К.Ф. и др. Лечение больных с ювенильными кровотечениями методом ступенчатой акклиматизации в условиях высокогорья // Специальная и клиническая физиология гипоксических состояний. - К.: Наук. думка, 1979. - Т. I. - С. 260-263.
12. Мхитарян Л.С., Короткоручко А.Г., Липкан Г.М. Вплив гіпоксії, зумовленої залізодефіцитною анемією, на фізико-хімічні властивості біологічних мембран // Фізіол. журн. - 1992. - 38, № 1. - С. 73-76.
13. Пахомов Ю.М. Влияние недостаточного поступления микроэлементов цинка и железа в организм на его иммунологическую реактивность // Гигиена и санитария. - 1969. - № 1. - С. 33-35.
14. Петров В.Н. Физиология и патология обмена железа. - Л.: Наука, 1982. - 222 с.
15. Раишкова Ф.С. Некоторые данные об изменении метаболизма в эритроцитах детей с анемией // Пробл. гематологии и переливания крови. - 1978. - № 3. - С. 9-13.
16. Шехтер С.Ю. О возможности образования ингибиторов эритропоэза при железодефицитной анемии // Там же. - 1972. - 17, № 8. - С. 31-33.
17. Fong T.P., Ko S.T., Streisyn M., Westerman M.F. Chronic anemia wound healing, and red cell 2,3-diphosphoglycerate // Surgery. - 1976. - 79, № 2. - P. 218-223.
18. Pollok A., Gotter K.P. Oxygen transport in anemia // Brit. J. Haematol. - 1973. - 25, № 5. - P. 631-636.
19. Scaroina F., Cavallari L., Oneglia C. et al. Preliminary report on the oxygen loading in blood of anemic patients // Boll. Soc. ital. Biol. sper. - 1987. - 63, № 8. - P. 749-755.
20. Zago M., Battura C. Bone marrow and peripheral blood chain biosynthesis in iron deficiency // Blut. - 1982. - 44, № 3. - P. 159-164.

Київ. наук.-дослід. ін-т гематології
та переливання крові
М-ва охорони здоров'я України

Матеріал надійшов
до редакції 07.09.94