

3,40 раза) и нарушения кислородтранспортной функции (КТФ) крови. Возрастные железodefицита приводит к углублению депрессии (развитию недостаточности) систем NO и КТФ крови. Обоснована возможность коррекции гемической гипоксии с помощью применения доноров оксида азота.

**Ключевые слова:** железodefицитная анемия, кровь, железodefицит, оксид азота, гемическая гипоксия.

## IRON DEFICIENCY INHIBITS THE ACTIVITY OF NITRIC OXIDE

I.I. Lanovenko

SI «Institute of Haematology and Transfusiology of NAMS of Ukraine», Kyiv

**Summary.** *Having examined the patients with iron deficiency anaemia (IDA) and in experiment on rats with modelling of IDA of combined genesis, we established the relationship disorders of iron metabolism and reactivity of blood nitric oxide (NO) levels. Iron deficiency causes a decrease in the content of stables metabolites NO ( $\text{NO}_2^-$  i  $\text{NO}_3^-$ ) in plasma and red blood cells (in patients: in plasma – 2.69 times, in erythrocytes – 3.04 times; in rats: in plasma – 2.74 times, in erythrocytes – 3.40 times) and damages of oxygen blood transport function (OBTf). The increase in iron deficiency leads to a deepening depression (failure development) of NO and OBTf systems. The possibility of haemic hypoxia correction by means of nitric oxide donor was grounded.*

**Key words:** iron deficiency anaemia, blood, iron deficiency, nitric oxide, haemic hypoxia.

Після відкриття механізму дії оксиду азоту (NO) на ендотелій судин вивчення біорегуляторної ролі цієї сполуки перетворилося на пріоритетний напрямок досліджень медико-біологічних наук [12, 15]. Основна роль NO пов'язана з вазодилатацією і гальмуванням процесу агрегації та адгезії тромбоцитів. Виявлені властивості NO універсально регулювати численні фізіологічні та патофізіологічні процеси, визначені впливи фундаментальних механізмів NO на ефекторні елементи різних систем організму в умовах норми і патології; отримані дані, що NO бере участь в реакціях адаптації організму до гострої і хронічної гіпоксії [3, 5, 9, 15, 16]. Однією з природних мішеней NO є гемоглобін, тому на стан NO впливають кисневозв'язуючі властивості крові. В той же час система NO може змінювати спорідненість гемоглобіну до кисню через еритроцитарні механізми регуляції, кисневозалежний характер утворення NO, дію його кінцевих метаболітів, регуляцію судинного тонуусу, транспорт і утилізацію кисню [3, 8, 11–12]. Кисневозалежні механізми дії NO можуть бути як ланцюгом адаптації до анемії, так і ланцюгом патогенезу анемії. Важливе значення для розв'язання проблеми анемії

має вивчення ведучого ланцюга патогенезу анемії – гемічної гіпоксії. Враховуючи ключову роль гемічної гіпоксії в патогенезі анемії, а також роль заліза і оксиду азоту – як універсальних регуляторів клітинних функцій, дослідження взаємодії нітроксидзалежних і кисневозалежних механізмів при анеміях є актуальним науковим завданням [1, 5–6].

**Мета роботи** – дослідити реактивність оксиду азоту при анемії, спричиненої залізодефіцитом.

**Матеріали і методи досліджень.** Проведені клініко-фізіологічні і експериментальні дослідження. Обстежено 24 хворих на залізодефіцитну анемію (ЗДА) в період верифікації діагнозу до початку лікування (17 жінок, 7 чоловіків у віці від 18 до 53 років). Контрольну групу склали 52 практично здорових осіб обох статей (36 жінок, 16 чоловіків у віці від 20 до 25 років).

Експериментальні дослідження проведені в дослідах на 40 лабораторних щурах на моделі ЗДА комбінованого генезу (послідовне застосування утворювачів залізодефіциту – утримання тварин на залізодефіцитному раціоні протягом місяця, одноразова ексфузія крові в кількості 25% ОЦК та наступне вилучення заліза з організму за допомогою десфералу).

У хворих, осіб контрольної групи і тварин проводили загальне, гематологічне та біохімічне обстеження. Визначали показники периферичної крові: кількість еритроцитів – Ер, Т/л; лейкоцитів – Л, Г/л; тромбоцитів – Тр, Г/л; концентрацію загального гемоглобіну та його похідних – метгемоглобіну, сульфгемоглобіну та загальної суми дериватів – Нб, МтНб, SHb, DHb, г/л; середній вміст гемоглобіну в еритроциті – СВГ, пг; кольоровий показник – КП; гематокритну величину – Гт,%; підраховували лейкоцитарну формулу; у тварин – мієлограму кісткового мозку. Показники метаболізму заліза: концентрацію заліза в сироватці крові – ЗС, мкмоль/л; загальну та ненасичену залізоз'язуючу здатність сироватки крові – ЗЗЗС, НЗЗС, мкмоль/л; насичення трансферину залізом – НТЗ, %.

Стан системи оксиду азоту визначали за вмістом у плазмі (пл.) та еритроцитах (ер.) крові стабільних кінцевих метаболітів NO – нітриту аніону ( $\text{NO}_2^-$ ) і нітрату аніону ( $\text{NO}_3^-$ ); визначали показники:  $\text{NO}_2^-$  пл.,  $\text{NO}_2^-$  ер.,  $\text{NO}_3^-$  пл.,  $\text{NO}_3^-$  ер.; NO пл. ( $\text{NO}_2^-$  пл. +  $\text{NO}_3^-$  пл.), NO ер. ( $\text{NO}_2^-$  ер. +  $\text{NO}_3^-$  ер.) – мкг/мл.

Клінічний стан хворих, гематологічні та біохімічні показники визначали стандартними методами. Результати оброблені методами математичної статистики за допомогою комп'ютерних прикладних програм [1–2, 4, 6–8].

**Результати та їх обговорення.** При клінічному обстеженні у хворих на ЗДА відзначалися прояви загальноанемічного синдрому (скарги на зниження апетиту, слабкість, швидку втому, головокружіння, серцебиття, задишку при невеликому фізичному навантаженні), астения,

блідість шкіряних покривів, трофічні ураження нігтів, збільшення частоти дихання і пульсу та інші типові порушення важливих функцій.

За показниками периферичної крові у хворих визначалася анемія гіпохромного типу середнього ступеня важкості: вміст Нв сягав від 39,8 до 117,0 г/л та в середньому зменшувався на 37,59% відносно контролю норми; кількість Ер зменшувалася на 12,17%, показник Гт зменшувався на 29,26%, КП зменшувалася на 27,08% відносно норми. Показник Тр коливалася у межах від  $51,0 \times 10^9/\text{л}$  до  $491,0 \times 10^9/\text{л}$  та на 14,39% був менший за норму; показник Л зменшувалася на 16,40% відносно норми (табл. 1). У лейкограмі визначено зниження відсотку зрілих форм нейтрофілів.

Виключне значення для характеристики ЗДА має дослідження метаболізму заліза. Згідно отриманих даних (табл. 1), у обстежених хворих, перш за все, значно зменшувався вміст ЗС – у 2,12 рази відносно норми ( $P < 0,001$ ). По-друге, не виявлено очікуваного збільшення (як компенсаторної реакції) ЗЗЗС, навпаки – відбувалось його зменшення (на

Таблиця 1

**Показники гемограми, обміну заліза та оксиду азоту крові при залізодефіцитній анемії ( $M \pm m$ )**

Показник	Клінічні дані		Експериментальні дані	
	Контроль норми (n= 52)	Хворі на ЗДА (n = 24)	Контроль норми (n= 20)	Модель ЗДА (n = 20)
Нв, г/л	135,87±1,50	84,79±3,35*	143,10±5,17	95,24±4,02*
Ер, Т/л	4,23±0,042	3,72±0,150*	5,78±0,18	4,31±0,36*
СВГ, пг	32,1±0,19	23,6±1,23*	25,0±1,07	21,8±1,44*
КП	0,96±0,006	0,70±0,037*	0,75±0,03	0,65±0,04*
Л, Г/л	6,34±0,20	5,30±0,31*	8,86±0,90	7,97±1,02
Тр, Г/л	241,8±6,9	207,0±16,2	509,1±53,8	510,7±45,6
Гт, %	43,4±0,58	30,7±1,50*	40,7±1,92	33,8±1,15*
ЗС, мкмоль/л	14,75±0,59	6,95±0,46*	17,62±2,30	9,15±1,76*
ЗЗЗС, мкмоль/л	59,41±1,55	46,64±2,65	54,75±3,32	65,73±3,76
НЗЗС, мкмоль/л	44,66±1,37	39,72±2,74*	37,13±2,49	56,58±2,72*
НТЗ, %	24,83±0,82	16,10±1,40*	32,18±1,63	13,90±0,65*
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> пл., мкг/мл	0,338±0,024	0,126±0,016*	0,274±0,028	0,091±0,013*
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ер., мкг/мл	0,291±0,020	0,108±0,014*	0,169±0,018	0,045±0,008*
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> пл., мкг/мл	2,342±0,120	0,871±0,117*	4,542±0,355	1,669±0,293*
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ер., мкг/мл	2,077±0,111	0,672±0,095*	2,730±0,262	0,808±0,173*
NO пл., мкг/мл	2,680±0,124	0,997±0,129*	4,816±0,368	1,760±0,306*
NO ер., мкг/мл	2,368±0,113	0,780±0,107*	2,899±0,272	0,853±0,181*

Примітка: \* –  $P < 0,05$  відносно контролю норми.

21,49% відносно норми); відповідно, спостерігалась тенденція до зменшення показнику НЗЗС. Як сумарний ефект недостатності ЗС і ЗЗЗС, виявлено значне зменшення показнику НТЗ. Статистична вибірка показнику НТЗ мала широкий розподіл: minimum – 5,95%; maximum – 28,57%; limit – 22,72%; коефіцієнт варіації (CV) – 42,47% ( $P < 0,001$ ). Визначені зміни є ознакою тяжкої патології метаболізму заліза [4].

В умовах залізодефіциту спостерігалось значне пригнічення системи NO. Про це свідчать: вміст  $\text{NO}_2^-$  пл. зменшувався в порівнянні з нормою в 2,68 рази,  $\text{NO}_2^-$  ер. – в 2,69;  $\text{NO}_3^-$  пл. – в 2,69;  $\text{NO}_3^-$  ер. – в 3,09; NO пл. – в 2,69; NO ер. – в 3,04 рази ( $P < 0,001$  у всіх випадках). Другою особливістю реакцій цієї системи, за структурним статистичним аналізом, є дуже широкий розмах варіант, а також наявність лівобічних ексцесу і асиметрії. Наприклад, показник  $\text{NO}_3^-$  ер. визначався в межах від 0,14 до 1,69 мкг/мл, а величина CV досягала 69,18%. Ці факти свідчать про нестабільність функціонування та порушення регуляції метаболізму оксиду азоту.

За статистичним аналізом визначено наявність сильних прямих кореляційних зв'язків між показниками NO і ЗС ( $r = 0,752$ ;  $P < 0,001$ ); прямих помірних – між показниками NO і киснетранспортної функції (КТФ) крові (Hb,  $\text{PaO}_2$ ,  $\text{VO}_2$ ). Виявлення функціональних взаємозв'язків свідчить, зокрема, що недостатність оксиду азоту крові обумовлена впливом залізодефіциту. Опрацьована побудова математичних регресійних моделей залежностей між показниками NO і КТФ крові при ЗДА [2].

В експериментальних дослідженнях у щурів відтворювалась модель ЗДА середнього ступеня важкості, про що свідчать, зокрема, зменшення кількості Ер і вмісту Hb в 1,3–1,5 рази відносно контролю норми, а концентрації заліза в сироватці крові – в 3,0 рази. В умовах моделі ЗДА спостерігалось зменшення концентрації метаболітів NO нітриту і нітрату аніону в 3,0–3,5 разів відносно норми. Через тиждень після утворення, на період проведення заключних вимірювань, у тварин визначалось лише незначне відновлення периферичного еритрону та обміну заліза, тобто створена модель демонструвала необхідну адекватність щодо нозології ЗДА. Кількість Ер залишалась зниженою на 25,43% в порівнянні з нормою; вміст Hb – на 33,45%, показник Гт – на 16,95%, ЗС – на 48,07% ( $P < 0,001$ ). В еритроцитах більше ніж у 2 рази збільшувався вміст дериватів Hb. Зміни у кістковому мозку полягали у зниженні кількості зрілих нейтрофілів, достовірному зростанні числа лімфоцитів, у тенденції до зниження кількості поліхроматофільних нормоцитів із збереженням кістково-мозкових індексів та Л : Е співвідношення.

На моделі ЗДА визначено зміни реактивності NO. Встановлено, що на період скінчення експерименту вміст  $\text{NO}_2^-$  пл. зменшувався в 3,01 рази порівняно з нормою,  $\text{NO}_2^-$  ер. – в 3,76 рази;  $\text{NO}_3^-$  пл. – в 2,72 рази,  $\text{NO}_3^-$  ер.

– в 3,38 рази; NO пл. – в 2,74 рази, NO ер. – в 3,40 рази ( $P < 0,001$  у всіх випадках). Виявлено високу пряму кореляційну залежність між показниками NO ( $\text{NO}_2^-$  і  $\text{NO}_3^-$ ) і показниками КТФ крові (Hb,  $\text{PaO}_2$ , 3С).

Отже, за даними клініко-фізіологічних і експериментальних досліджень, встановлені загальні закономірності змін та взаємодії систем червоної крові, метаболізму заліза та оксиду азоту при ЗДА. Наявність функціональних взаємозв'язків і взаємодії систем NO і КТФ крові при ЗДА підтверджені за допомогою кореляційного і регресійного аналізів. На підставі цих даних можна стверджувати, що значний залізодефіцит призводить до зменшення як продукції, так і активності NO, а в цілому – пригнічення реактивності та розвитку недостатності системи NO. Цілком імовірно, зменшення продукції та активності NO відбувається, зокрема, внаслідок пригнічення активності NO-синтаз, викликаного залізодефіцитом.

Отримані результати та їх аналіз свідчать, що взаємодія систем NO і КТФ крові при анемії визначається не тільки кількісними показниками власне цих систем, але й реологічними властивостями крові, наявністю інтоксикації, недостатністю тканинного дихання, ступенем розладу загального гомеостазу. Ці узагальнення є фундаментальним обґрунтуванням можливості корекції порушень КТФ крові (відповідно – гемічної гіпоксії) при анеміях шляхом впливу на утворення оксиду азоту (застосування донорів та стимуляторів утворення NO) та гіпоксичного тренування.

Залізодефіцит, який викликає ЗДА середнього та важкого ступеня важкості, відбувається суттєвими порушеннями КТФ крові, які відповідають гіпоксії гемічного та змішаного типів. Гіпоксія залізо дефіцитного походження супроводжується пригніченням кисневозалежних молекулярних механізмів функціонування системи NO.

Роль NO в генезі гемічної гіпоксії при анеміях визначається функціями, які він виконує в організмі, механізмами дії та функціональними взаємозв'язками між системами NO і КТФ крові [5, 12, 15]. Недостатність системи NO (внаслідок гіпопродукції або порушення метаболізму NO) призводить до зростання порушень кисневозалежних функцій організму (гіпоксичного характеру), завдяки можливій реалізації наступних механізмів дії: пригнічення цГМФ-залежних молекулярних механізмів NO на шляхах трансдукції утворення ЕРО; обмеження механізму NO-залежної вазодилатації та поліпшення мікроциркуляції; обмеження механізму гальмування процесу агрегації та адгезії тромбоцитів, а також поліпшення реологічних властивостей крові; обмеження механізму газообміну і транспорту кисню на рівні аерогематичного і гематопаренхіматозного бар'єрів; обмеження механізмів, які забезпечують кисневозв'язуючі властивості гемоглобіну; обмеження регуляторних механізмів нервової і гуморальної систем [3, 6–8, 10–16].

Реакції системи оксиду азоту в умовах гемічної гіпоксії, на нашу думку, мають не тільки патогенетичне, а також адаптивне і компенсаторне значення. В разі значної гіпопродукції NO (при ЗДА) це одночасно є можливим фактором обмеження утворення токсичних метаболітів.

### Висновки

1. В клініко-фізіологічних і експериментальних дослідженнях встановлено, що залізодефіцит призводить до значного зменшення (в 2,5–3,5 рази) в еритроцитах і плазмі крові вмісту кінцевих метаболітів NO, що свідчить про розвиток недостатності системи оксиду азоту при ЗДА.

2. Функціональний взаємозв'язок та взаємодія NO, еритронару та метаболізму заліза при ЗДА підтверджені за допомогою кореляційного і регресійного аналізу.

3. Обґрунтована можливість корекції порушень метаболізму заліза та КТФ крові при ЗДА шляхом впливу на метаболізм оксиду азоту (застосування донорів та активаторів NO) та гіпоксичного тренування.

### Література

1. Алексеев Н.А. Анемия: практическое руководство / Н.А. Алексеев. – СПб.: Гиппократ, 2004. – 511 с.
2. Корреляционный и регрессионный анализ при исследовании генеза гемической гипоксии / А.М. Гулал, И.И. Лановенко, Т.Я. Грачева, А.С. Воробьев // Компьютерні засоби, мережі та системи : зб. наук. праць. – 2008. – № 7. – С. 47–57.
3. Кургалюк Н.Н. Оксид азота как фактор адаптационной защиты при гипоксии / Н.Н. Кургалюк // Успехи физиол. наук. – 2002. – т. 33, № 4. – С. 65-79.
4. Лакин Г.Ф. Биометрия: 3-е изд., перераб. и доп. / Г.Ф. Лакин. – М. : Высшая школа, 1982. – 310 с.
5. Лановенко І.І. Оксид азоту – універсальний регулятор клітинних функцій / І.І. Лановенко // Гематологія і переливання крові : міжвідомчий збірник. – 2008. – Вип. 34, т. І. – С. 227–234.
6. Лановенко И.И. Некоторые фундаментальные и прикладные аспекты оценки метаболизма железа / И.И. Лановенко // Вестник гематологии. – 2012. – Том VIII, № 4. – С. 43-45.
7. Лановенко И.И. Алгоритм исследования взаимодействия оксида азота и кислородтранспортной функции крови в экспериментальных условиях / И.И. Лановенко, А.В. Коцюруба // Новое в гематологии и трансфузиологии : Междунар. науч.-практ. рецензируемый сб. – 2007. – Вып. 7. – С. 101–109.
8. Механізми розвитку і компенсації гемічної гіпоксії / М.М. Середенко, В.П. Дударев, И.И. Лановенко [и др.]. – К. : Наук. думка, 1987. – 200 с.
9. Механізми дії оксиду азоту на серцево-судинну систему та патогенетичне лікування захворювань серцево-судинної системи / В.В. Фролькіс, В.В. Безруков, Л.Т. Мала [та ін.] // Кровообіг та гемостаз. – 2003. – № 2. – С. 42–53.
10. Fisher J.W. Erythropoietin: Physiology and Pharmacology Update / J.W. Fisher // Exp. Biol. and Med. – 2003. – Vol. 228. – P. 1–14.

11. Comparing the chemical biology of NO and HNO / W. Flores-Santana, C. Switzer, D. Basudhar [et al.] // Arch. Pharm. Res. – 2009. – Vol. 32, No 8. – P. 1139–1153.
12. Furchgott R.F. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine / R.F. Furchgott, J.V. Zawadzki // Nature. – 1980. – Vol. 288, No 5789. – P. 373–376.
13. Hughes M.N. Chemistry of nitric oxide and related species / M.N. Hughes // Methods Enzymol. – 2008. – Vol. 436, No 1. – P. 3–19.
14. Nitric oxide metabolism / E. Kowalczyk, A. Kopff, M. Kopff [et al.] // Wiad. Lek. – 2006. – Vol. 59, No 11–12. – P. 889–893.
15. Moncada S. Nitric oxide. Physiology, pathophysiology and pharmacology / S. Moncada, R. M. J. Palmer, E. A. Higgs // Pharmacol. Rev. – 1991. – Vol. 43, No 2. – P. 109–142.
16. Erythrocyte consumption of nitric oxide: competition experiment and model analysis / M.W. Vaughn, K.T. Huang, L. Kuo, J.C. Liao // Nitric Oxide. – 2001. – Vol. 5, No 1. – P. 18–31.

УДК 616-092:616.155.194.7

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ МОДЕЛЮВАННЯ АПЛАСТИЧНОЇ АНЕМІЇ

**І.І. Лановенко**

ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України», Київ

**Резюме.** *Огляд літератури і власних даних про експериментальне відтворення (моделювання) апластичної анемії у лабораторних тварин за допомогою хімічних, фізичних, патофізіологічних та комбінованих пошкоджуючих впливів.*

**Ключові слова:** *апластична анемія, експериментальне моделювання.*

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ АПЛАСТИЧЕСКОЙ АНЕМИИ

**И.И. Лановенко**

ГУ «Институт гематологии и трансфузиологии НАМН Украины», Киев

**Резюме.** *Обзор литературы и собственных данных об экспериментальном воспроизведении (моделировании) апластической анемии у лабораторных животных с помощью химических, физических, патофизиологических и комбинированных повреждающих воздействий.*

**Ключевые слова:** *апластическая анемия, экспериментальное моделирование.*