

IRON METABOLISM DEPENDENCE ON THE THERMAL AND MECHANICAL RESISTANCE PROPERTIES OF ERYTHROCYTES IN REGULAR BLOOD DONORS

Derpak Yu.Yu.

Shupyk National Healthcare University of Ukraine, Kyiv

Background. The study included 62 blood donors (34 men and 28 women): 33 active donors (18 men and 15 women) donating regularly, at least 3 times a year, and 29 first-time donors (17 men and 12 women).

Extended peripheral blood tests were performed for all the examined donors. We identified the main indicators of iron metabolism and iron content in erythrocytes of peripheral venous blood as well as the key parameters of erythrocytes characterizing carbohydrate metabolism.

It was established that regular blood donations result in iron deficiency that can develop as latent iron deficiency or iron deficiency anemia, and that iron deficiency degree depends on donation career and number of donations.

It has been demonstrated that compound formulations containing therapeutic amounts of iron effectively treat iron deficiency and secondary abnormalities of carbohydrate metabolism in the peripheral venous blood erythrocytes within 2-3 months, depending on iron deficiency degree.

Materials and Methods.

62 blood donors (34 men and 28 women) were examined.

Group I – 29 donors (17 men and 12 women) donating from 2 to 5 years.

Group II – 33 donors (18 men and 15 women) donating from 6 to 9 years.

Groups of the examined donors were similar in terms of age and sex distribution.

Hemoglobin measuring, erythrocyte, leukocyte, platelet count and calculation of RBC indices were performed in the laboratory of the State Enterprise Road Blood Transfusion Station of the Northwestern Railway on the automated analyzer PCE-210 (ERMA, Japan).

Determination of serum iron was performed according to beta-phenantroline method. Total iron binding capacity (TIBC) was evaluated by transferrin (TF) saturation with three-valence iron. Unsaturated (latent) iron binding capacity (UIBC) was calculated as difference between TIBC and iron concentration. Transferrin saturation coefficient (TSC) was calculated as serum iron (SI)/TIBC ratio. Serum TF was determined by TIBC value. Serum ferritin (FN) was evaluated by radioimmunoassay technique using ИРМО-ФЕРРИТИН set (Belarus).

Determination of the chemical elements (CE) spectrum in the washed erythrocytes was performed by atomic absorption spectroscopy (AAS) on Techtron AA-4 (Varian, Australia) according to Glazkov-Larsky method (1971). CE concentration in the assayed samples was determined in mcg/g of dried RBC mass.

Mechanical resistance of erythrocytes was evaluated according to Marmont-Bianca method, acid resistance – according to Gitelson-Terskov method (1959).

All data obtained in the course of research were statistically processed. Research scope sample was analyzed by Student's t-test and Mann-Whitney nonparametric U-test, correlation and dispersion analyses.

For data analysis, IBM SPSS Statistics 22.0 and Excel XP were used

Актуальність.

Дослідження обміну заліза у регулярних донорів крові показують, що за одну повну донацію крові (420 - 450 мл) із функціонального пулу втрачається близько 250 - 270 мг заліза, теж саме відбувається і при заготівлі еритроцитів аферезним методом, який завбачує взяття однієї (180 - 200 мл) або двох доз еритроцитів, залежно від потреб реципієнта. Зважаючи, що 1 мл еритроцитів містить 1 мг заліза, то втрати останнього при аферезних методах заготівлі

еритроцитів будуть аналогічними таким, що і при доніціях цільної крові, або, навіть їх перевищувати. Отже, за умови регулярної участі у донорстві, донор крові може втрачати від 500 до 1000 мг заліза щорічно, а це в свою чергу може призводити до формування стану латентного дефіциту заліза. [1, 2, 3, 4, 6, 12].

Встановлено, що кількісний аналіз заліза в сироватці (serum Fe) з метою виявлення залізодефіцитного стану діагностичною цінністю не володіє [5, 7, 8], адже навіть при відсутності дефіциту заліза serum Fe буває зниженим при запаленні, онкопатології, гострому інфаркті міокарду. Доведено, що serum Fe є нормальним у частини хворих залізодефіцитною анемією і не відображає справжнього дефіциту. Разом з тим, збільшення загальної (ТІВС – total iron binding capacity) та латентної залізовв'язуючої здатності сироватки крові (UIBC – unsaturated iron binding capacity), трансферину сироватки (serum Tf) та його молекулярних ізоформ [9], зниження коефіцієнту насичення трансферину залізом (Tf_{Fe} – transferrin saturation) [6, 11] є досить чутливими індикаторами дефіциту заліза [4, 8, 9, 13].

Досліджено, що в сироватці крові здорової дорослої людини 1 мкг/л заліза (serum Fer) відповідає 8 - 10 мг депонованого заліза [6, 10]. Зменшення запасів заліза в макрофагальній системі є чи не єдиною причиною низьких концентрацій заліза в сироватці, що дозволяє використовувати вказаний параметр в діагностиці дефіциту заліза [14, 15]. Однак, кількість заліза як гострофазового реактанту, може збільшуватись в сироватці крові при фебрильних реакціях, анеміях хронічного захворювання на фоні запальних процесів, злоякісних новоутвореннях, гемобластозах, враженнях печінки, хронічній нирковій патології тощо [16,17,18].

Отже, рівень serum Fer корелює з запасами заліза в організмі і є маркером дефіциту цього елемента в тканинах [1, 4, 5]. На сьогодні недостатньо вивченими залишаються питання формування сидеропенічного та гіпоксичного синдромів у регулярних донорів крові, що заставило нас провести відповідні дослідження.

Мета роботи – визначити залежність показників метаболізму заліза від параметрів механічної та теплової резистентності еритроцитів у регулярних донорів крові.

Матеріал і методи.

Нами обстежено 62 донори віком від 21 до 55 років (34 чоловіків та 28 жінок). Серед них 29 особи (17 чоловіків та 12 жінок) здійснювали доніцію вперше в житті – вони склали першу (I) групу спостереження, та 33 донори (18 чоловіків та 15 жінок) були постійними донорами зі стажем донорства понад два роки і здійснювали не менше двох доніцій щорічно – вони склали другу (II) групу. Показники кількості еритроцитів та вмісту гемоглобіну в периферичній крові в обстежених були в межах норми. Донори II групи спостереження потенційно могли мати дефіцит заліза. Визначення вмісту заліза в сироватці (СЗ) крові та показника загальної залізовв'язуючої здатності сироватки (ЗЗЗС) здійснювали за батофенантроліновою методикою. Показник ненасиченої залізовв'язуючої здатності сироватки (НЗЗС) обчислювали як різницю між ЗЗЗС та СЗ. КНТЗ визначали як співвідношення вмісту СЗ до ЗЗЗС. Вміст

трансферину (ТФ) визначали за показником ЗЗЗС, феритину (ФН) - радіометричним методом, рівень заліза в еритроцитах (ЕЗ) - методом атомно-абсорбційної спектроскопії. Механічну резистентність еритроцитів визначали за методом Мармонта-Біанкі (1997). *Реактиви*: 2,8% розчин натрію цитрату, 0,5% розчин желатину, розчин Рінгера-Локка. *Методика*. Кров, об'ємом 1,0 мл, попередньо стабілізовану сумішшю реактивів (по 2,0 мл кожного) центрифугували 5 хв із частотою обертання 500 об./хв. Фрагменти еритроцитів, що утворювалися при цьому спливали у шар плазми. Плазму відбирали у чисту пробірку, а кров знову центрифугували впродовж 5 хв. Із отриманого після останнього центрифугування осаду, що містив фрагменти еритроцитів, готували мазки та нативні препарати. При мікроскопічному дослідженні серед цілих еритроцитів знаходили їх фрагменти різної величини і форми. Для кількісної оцінки ступеня руйнування еритроцитів підраховували кількість фрагментів відносно 1000 еритроцитів у мазках, забарвлених за Паппенгеймом. Теплову резистентність еритроцитів визначали за загальноприйнятою методикою, яка полягала у наступному. Для дослідження брали 5,0 мл венозної крові та поміщали у термостат на 12 год при температурі +37°C. У разі настання теплового гемолізу еритроцитів, сироватка мала забарвлюватися в рожевий колір. Інтенсивність забарвлення визначається ступенем гемолізу. Результати досліджень опрацьовували методами варіаційної статистики.

Результати та їх обговорення.

Досліджуючи показники червоної крові у обстежених донорів I та II груп, наведених у таблиці 1, видно, що кількість еритроцитів у чоловіків відповідно вище, ніж у жінок ($p < 0,001$). Вміст гемоглобіну у чоловіків вірогідно вище, ніж у жінок ($p < 0,02$). Залежності від статі показника гематокриту нами не виявлено ($p < 0,1$). Кількість еритроцитів у чоловіків II групи обстежених достовірно нижче, ніж у жінок ($p < 0,01$), відповідно концентрація гемоглобіну ($p < 0,05$) у чоловіків-донорів була вища, ніж у жінок-донорів. Нами не встановлено достовірної різниці при порівнянні середніх значень показника концентрації гемоглобіну у активних донорів і донорів контрольної групи ($p > 0,05$).

Достовірної різниці між показниками кількості еритроцитів, вмісту гемоглобіну і показниками гематокриту у обстежених I групи щодо аналогічних показників у осіб II групи нами не виявлено ($p > 0,1$).

При дослідженні основних показників обміну заліза у обстежених донорів, наведених у таблиці 2, встановлено, що вміст СЗ в групі активних донорів крові склав $16,16 \pm 1,08$ мкмоль/л, показник содержания СЗ у обстежених донорів контрольної групи в середньому склав $18,43 \pm 1,80$ мкмоль/л ($p < 0,05$). Показник ЗЗЗС у активних донорів в середньому відповідав $92,47 \pm 27,97$ мкмоль/л, у обстежених донорів I групи цей показник знаходився в межах $67,85 \pm 3,22$ мкмоль/л та був достовірно нищим аналогічного у донорів II групи ($p < 0,01$). Показник НЗЗС у активних донорів складав $76,30 \pm 28,82$ мкмоль/л при показнику $49,42 \pm 6,41$ мкмоль/л у донорів контрольної групи ($p < 0,01$). КНТЗ у групі активних донорів склав $19,13 \pm 7,70$ % при достовірному зростанні до $27,41 \pm 7,37$ % у контрольної групи ($p < 0,01$). Вміст ТФ у групі активних донорів

в середньому знаходився в межах $12,71 \pm 0,81$ г/л при показнику $2,54 \pm 0,27$ г/л у донорів I групи ($p < 0,05$). У активних донорів вміст ФН в середньому склав $3,75 \pm 1,21$ мкг/л і був достовірно нищим порівняно з показником ФН донорів контрольної групи ($p < 0,05$). Показник вмісту ЕЗ у активних донорів в середньому відповідав $25,19 \pm 0,08$ мкг/г. У донорів контрольної групи вміст ЕЗ знаходився в межах $27,00 \pm 0,78$, середнє значення якого було вище показника у донорів II групи ($p < 0,05$).

Таблиця 1 - Основні показники периферичної крові у обстежених донорів (M±m)

Показники	Групи обстежених				Досто- вірність
	Перша (n=29)		Друга (n=33)		
	Жінки (n=12)	Чоловіки (n=17)	Жінки (n=15)	Чоловіки (n=18)	
Кількість еритроцитів (M±m) × 10 ¹² /л	4,19±0,06	4,52±0,04	4,23±0,05	4,44±0,006	p ₁ <0,001 p ₂ <0,05 p ₃ >0,1
Вміст гемоглобіну (M±m) г/л	143,38± 4,52	157,00± 2,34	140,91± 1,98	148,01± 2,81	p ₁ <0,05 p ₂ <0,05 p ₃ >0,1
Гематокрит л/л	0,44±0,002	0,44±0,003	0,44±0,004	0,45±0,003	p ₁ <0,1 p ₂ <0,1 p ₃ >0,1

p₁ – достовірність різниці показників в залежності від статі у обстежених першої групи;

p₂ – достовірність показників в залежності від статі у обстежених другої групи;

p₃ – достовірність різниці показників першої та другої груп донорів крові.

Таблиця 2 - Основні показники метаболізму заліза у обстежених донорів (M±m)

Показники	Донори I групи (n=29)	Донори II групи (n=33)	Достовірність
СЗ, мкмоль/л	18,43±1,80	16,16±1,08	p<0,05
ЗЗЗС, мкмоль/л	67,85±3,22	92,47±27,97	p<0,01
НЗЗС, мкмоль/л	49,42±6,41	76,30±28,82	p<0,01
КНТЗ, %	27,41±7,37	19,13±7,70	p<0,01
ФН сыворотки, мкг/л	9,33±9,56	3,75±1,21	p<0,05
ТФ сыворотки, г/л	2,54±0,27	12,71±0,81	p<0,05
Вміст ЗЕр, мкг/л	27,00±0,78	25,19±0,08	p<0,05

p – достовірність різниці показників у обстежених донорів першої та другої груп.

Аналізуючи результати вивчення базисних показників метаболізму заліза у обстежених, з'ясували, що у донорів II групи порівняно із донорами I групи, достовірно зменшується рівень СЗ ($p < 0,05$), ФН в сироватці ($p < 0,05$) та ЕЗ ($p < 0,01$). Виявлені зміни свідчать про те, що регулярне донорство може супроводжуватись формуванням латентного дефіциту заліза. Враховуючи вищезазначене, вважали за доцільне вивчити у донорів II групи зміни порушених показників залежно від кількості донацій та тривалості донорського стажу. Встановлено, що у підгрупі донорів, які мали найбільший донорський стаж достовірно зменшувався рівень СЗ ($p < 0,05$), ФН в сироватці ($p < 0,05$), ЕЗ ($p < 0,05$), та підвищувалися показники ЗЗС ($p < 0,01$), НЗС ($p < 0,01$) та ТФ ($p < 0,05$). Виявлені зміни свідчать про те, що тривале регулярне донорство у разі відсутності адекватного медичного контролю може супроводжуватись порушенням всіх ланок метаболізму заліза: депонованого (ФН), транспортного (ТФ) та функціонального (ЕЗ).

При дослідженні показника теплової резистентності еритроцитів у донорів I і II груп, достовірних змін не було виявлено. У підгрупі донорів із низькими параметрами ФН у сироватці крові та ЕЗ нами не встановлено достовірних змін показника теплової резистентності еритроцитів.

Аналізуючи результати вивчення показника механічної резистентності у донорів I і II груп, виявлено, що фрагментація еритроцитів була незначною і коливалась в межах 0,75 – 3%, знаходячись в межах нормальних значень. При порівнянні показника механічної резистентності донорів II групи, встановлено, що у донорів із низькими показниками ФН та ЕЗ виявляли достовірно його зменшення ($p < 0,05$), що свідчило про збільшення кількості нестійких еритроцитів.

Висновки.

У регулярних донорів із низькими показниками ФН та ЕЗ на фоні порушення базисних показників метаболізму заліза спостерігається зниження механічної резистентності еритроцитів при незмінених показниках теплової резистентності. Виявлені зміни є непрямим свідченням порушень функціонального стану еритроцитів в умовах формування латентного дефіциту заліза.

Література

1. Видиборець С. В., Дерпак Ю. Ю., Сергієнко О. В. Донорство крові та метаболізм заліза: монографія. - Вінниця-Бориспіль. ТОВ "Меркьюрі-Поділля", 2012. - 144 с.
2. Видиборець С. В., Дерпак Ю. Ю. Донації крові і метаболізм заліза //ISBN 978-8-88831-933-8. DOI 10.46299/978-8-99931-933-8 BOST ON: Puflished by Primedio eLaund, – 2022. 137 s.
3. Дерпак Ю. Ю. Клиническое значение и лабораторная диагностика изменений трансферина у регулярных доноров крови //«Гематология. Трансфузиология. Восточная Европа» 2018. – том 4. № 2. - С. 189 – 193.
4. Дерпак Ю. Ю. Загальна характеристика показників ефективного еритропоезу та периферичної крові в активних донорів крові //«Шпитальна

хірургія. Журнал імені Л. Я. Ковальчука» 2016. - № 3 (75). – С. 97 – 100.

5. Дерпак Ю. Ю. Комплексная оценка морфологических изменений и физических свойств эритроцитов у активных доноров крови // Журнал научных статей «Здоровье и образование в XXI веке» SOMVOZ TM p-ISSN 2226 – 7425 e-ISSN 2412 – 9437 Since 1999 www. Clinical – journal. Com 2016, VOLUME 18. № 7. – С. 54 – 59.

6. Выдыборец С. В., Дерпак Ю. Ю. Диагностическое значение определения ферритина у активных доноров крови // "Медицинская наука и образование Урала" - № 4. - 2015. С. 82 – 85.

7. Видиборець С. В., Дерпак Ю. Ю. Вплив змін порушень обміну заліза на показники механічної та теплової резистентності еритроцитів у регулярних донорів крові // «Сімейна медицина». № 3 (59). - 2015. С. 251 – 253.

8. Дерпак Ю. Ю. Сравнительный анализ показателей железосвязывающей способности и ферритина сыворотки крови у регулярных доноров крови // «Медицинская наука и образование Урала» - № 4 - 2012. С. 56 – 58.

9. Дерпак Ю. Ю. Вивчення показників механічної, теплової та кислотної резистентності еритроцитів у регулярних донорів крові // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. Том 6. № 1 – 2011. С. 64 - 66.

10. Новое в диагностике латентного дефицита железа /С. А. Байдурин, А. А. Булганов, К. Т. Байжанова и др.//Нове в гематології та трансфузіології. - 2004. - Вип.1. - С. 76-79.

11. Морозова В.Т., Луговская С. А., Почтарь М. Е. Эритроциты: структура, функции, клинико-диагностическое значение //Клин. лаб. диагностика. - 2007. - № 10. - С. 21- 35.

12. Выдыборец С. В. Ферритин: клиническое значение и лабораторная диагностика нарушений // Лабораторная диагностика. - 2000. - № 1. - С.16 - 19.

13. Завгородний Г. Н., Бондаренко Н. И., Погодина Т. Л. Влияние количества кроводач на содержание ферритина в организме доноров //Гематология и трансфузиология. - 1991. - Т. 36, № 2. - С. 36.

14. Bergin J.J. Anemia: discerning the causes in the different clinical —settings // Consultant. - 2002. - June. - P.873 - 882.

15. Bonhsack B.L., Hirschi K.K. Nutrient regulation of cell cycle progression // Annu. Rev. Nutr. - 2004. - VoL24. - P.433 - 453.

16. Breyman Ch. Iron deficiency and anaemia in pregnancy: modern aspects of diagnosis and therapy // Blood cells, molecules and diseases. - 2002. Vol. 29, № 3. - P. 506 - 516.

17. Gill K. S. Strategies for nutritional improvement // Indian J. Matern. Child Health. - 1999. - Vol. 2, № 3. - P.70 - 71.

18. Goddard A., Mc Intyre A., Scott B. Guidelines for the management of the iron deficiency anaemia // BSG Guidelines in Gastroenterol. - 2000. - № 6. - P. 1- 5.