

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця

На правах рукопису

КОВБАСНЮК Марта Миколаївна

ВПЛИВ ЗАЛІЗИСТИХ МІНЕРАЛЬНИХ ВОД КУОРТУ СХІДНИЦЯ НА ГЕМОПОЕЗ

03.00.13 - фізіологія людини і тварин

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ - 1997

Дв. 38. 366

Дисертацією є рукопис

Робота виконана у лабораторії експериментальної бальнеології відділу фізіології водно-сольового обміну Інституту фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України

Наукові керівники: доктор медичних наук, професор

Івасівка Степан Васильович

доктор біологічних наук, професор

Яременко Михайло Сергійович

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук

Масюк Анатолій Іванович

доктор медичних наук

Третяк Наталія Миколаївна

Провідна установа: **Науковий центр радіаційної медицини**

АМН України

Захист дисертації відбудеться "23" вересня 1997 р. о "14⁰⁰" год. на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 01.13.01 при Інституті фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України за адресою: 252024, Київ-24, вул. Богомольця 4, зал засідань Вченої ради.

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України.

Автореферат розісланий "2" серпня 1997 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради

доктор біологічних наук

З.О. Сорокіна-Маріна

ЛННБ України ім.В.Стефаника



00751202 (H)

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність. Залізисті мінеральні води продовжують користуватися заслуженою популярністю при бальнеотерапії анемії різної етіології завдяки присутності в них біологічно активних сполук заліза. За хімічним і газовим складом означені води поділяються на чотири групи (Карасева А.П., 1981), серед яких дві, згідно держстандарту (ГОСТ 13273-88), є лікувальними і лікувально-столовими. Це азотні слабомінералізовані з загальною мінералізацією до 2 г/л, різного іонного складу з вмістом заліза 30-100 мг/л (Полюстровські джерела, Марціальні, Джусалінські води), і вуглекислі переважно середньої мінералізації, різного катіонного складу, з вмістом заліза 20-90 мг/л (джерела Келечин, Кука, Шмаковка, Ласточка, Кожанівські). Вуглекислі залізисті води мають найбільшу фізіологічну і бальнеотерапевтичну цінність (Чазов Е.И., 1983) завдяки двовалентним катіонам заліза, котрі всмоктуються в тонкому кишківнику з мінімальними енергетичними затратами (Щерба М.М., 1977). Серед даної групи вод виділяють в окрему підгрупу залізисті мінеральні води з підвищеним вмістом органічних речовин - вміст органічного вуглецю перевищує 5 мг/л - джерело Залізне біля озера Ведмеже, Росія, (Куликов Г.В. и др., 1991). До даної підгрупи вод можна віднести виявлені на території курорту Східниця Львівської обл., Україна води джерел (дж.) №4-а, 13, 15 і 20, що є слабомінералізованими загальною мінералізацією 0,3-0,4 г/л, з вмістом заліза 30-60 мг/л і органічного вуглецю до 14 мг/л (Маринов Н.А., Пасека И.П., 1978), що передбачає існування залізоорганічних комплексів, здатних підвищити біологічну доступність заліза і забезпечити ріст його масової долі на синтез гемоглобіну (Schwetz F., 1963).

ЛНБ ім. В. Стефаники
3 АН України

16. 38 861

Дані про біологічну, фізіологічну і бальнеотерапевтичну активність цих вод відсутні.

Метою нашого дослідження було вивчення фізіологічної активності слабомінералізованих залізистих вод з підвищеним вмістом органічних речовин при експериментальній анемії.

- Для цього необхідно було вирішити наступні завдання:
- дослідити хімічний склад і форму знаходження заліза у водах дж. № 4-а, 13, 15 і 20;
 - дослідити наявність в них залізоорганічних комплексів;
 - дослідити хімічний склад і форму знаходження заліза у воді дж. № 15 з максимальними загальним вмістом заліза і відсотком його комплексних сполук при стабілізації її аскорбіною, янтарною, лимонною кислотами, амінокислотою цистеїном;
 - порівняти антианемічну ефективність нативної залізистої води дж. № 13 з мінімальними загальним вмістом заліза і відсотком його металорганічних комплексів і дж. № 15 з максимальними відповідними показниками при постгеморагічній анемії;
 - порівняти вплив стабілізаторів заліза на антианемічну ефективність води дж. № 15 при постгеморагічній анемії;
 - дослідити фізіологічну активність нативної і стабілізованої залізистої води джерела № 15 при пострадіаційній анемії.

Наукова новизна. Вперше виявлена присутність металорганічних комплексів заліза у слабомінералізованих вуглекислих залізистих водах. Потенційними комплексоутворювачами є органічні сполуки з високореактивними карбоксильними і амінними групами. Ліофілізація нативної залізистої води у поєднанні з гел'єхромотографією дозволила візуалізувати низькомолекулярні залізоорганічні комплекси, які всмоктуються в тонкому кишківнику з максимальною ефективністю. У консервованій воді домінують комплекси заліза з відповідними стабілізаторами.

Встановлено, що завдяки залізоорганічним сполукам залізістим водам властива максимальна, порівняно з неорганічними солями заліза, гемоглобінутворююча здатність при постгеморагічній анемії.

Встановлено, що при пострадіаційній анемії вода дж. № 15 ефективно відновлює вміст гемоглобіну і заліза сироватки завдяки високій фізіологічній активності залізоорганічних сполук. Відновлення клітинності периферійної крові і кісткового мозку, а також будови слизової 12-палої кишки свідчить про здатність води стимулювати гемопоез і трофіку кишківника.

Виявлено, що стабілізатори заліза здатні модифікувати фізіологічну активність консервованої залізістої води.

Теоретичне і практичне значення. Отримані нові знання про склад слабомінералізованих залізістих вод з підвищеним вмістом органічних речовин і форму знаходження в них заліза. У досліджуваних водах залізо перебуває у формі двовалентного катіону і металорганічних комплексів. Антианемічна ефективність залізістих вод визначається, насамперед, високою фізіологічною активністю природних комплексів заліза, що здатне суттєво розширити можливості бальнеотерапії залізодефіцитних анемії. На нашу думку, досліджувані води слід рекомендувати хворим з масивними крововтратами в період кісткомозкової фази компенсації анемії (Кассирский І.А., Алексеев Г.А., 1970), коли в кістковому мозку і крові суттєво зростає чисельність ретикулоцитів, що, як відомо (Finch С.А. et al., 1982), стимулює всмоктування заліза і засвоєння його на синтез гемоглобіну. Загально визнано, що у комплексному лікуванні анемії радіаційного генезу вагоме місце посідає збалансована дієта, збагачена рослинними волокнами (клітковиною) і поліфенолами, що прискорюють виведення радіотоксинів (Смоляр

В.И., 1992), однак суттєво гальмують всмоктування заліза, що може призвести до поглиблення анемії. Застосування перед вживанням їжі залізистих вод із значним відсотком біологічно активних залізоорганічних комплексів здатне усунути ці суперечності, а їх висока гемопоетична активність забезпечить відновлення кровотворення у цілому. Збереження фізіологічної активності стабілізованих залізистих вод дає можливість використовувати їх за межами курорту.

Апробація роботи. Основні положення дисертації доповідалися на: н.-практ. конф. "Експериментальная и клиническая бальнеология вод типа "Нафтуса" (Трускавец, 1990), н.-практ. конф. "Проблеми санаторно-курортної реабілітації уражених в результаті Чорнобильської аварії на курортах Трускавець і Східниця" (Трускавець, 1991), засіданні сектору фізіології вісцеральних систем Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України (Київ, 1997).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 5 праць.

Об'єм та структура роботи. Дисертація викладена на 161 сторінці машинописного тексту, ілюстрована 24 таблицями і 13 малюнками. Робота складається з вступу, огляду літератури, викладення методик і об'єму досліджень, 3 глав результатів власних досліджень, їх обговорення, висновків, списку цитованої літератури, в котрому приводиться 212 джерел, в тому числі 108 вітчизняних і 104 закордонних авторів.

Декларація особистого внеску. Автором самостійно проведені гель-хроматографічні, гематологічні і гістологічні дослідження. Дані про склад залізистих вод отримані у співавторстві.

Основні положення, що виносяться на захист.

1. В залізистих мінеральних водах з підвищеним вмістом органічних речовин східницького родовища присутні металоргані-

чні комплекси заліза. У консервованій залізістій воді домінують комплекси заліза з відповідними стабілізаторами.

2. Стимуляція гемоглобіноутворення нативними залізістими водами в умовах постгеморагічної анемії зумовлена високою фізіологічною активністю природних залізоорганічних комплексів. Ефективність ліквідації залізодефіциту визначається як загальним вмістом заліза у мінеральній воді, так і ступенем його закомплексованості.

3. Антианемічна дія нативної залізістої води джерела № 15 при пострадіаційній анемії зумовлена високою фізіологічною активністю її залізоорганічних сполук, а також здатністю води стимулювати гемопоез і відновлювати гістологічну будову слизової тонкого кишківника.

4. Стабілізатори заліза здатні модифікувати вихідну фізіологічну активність залізістої води. Аскорбінова, янтарна, лимонна кислоти підсилюють антианемічну дію консервованої залізістої води, тоді як амінокислота цистеїн забезпечує ліквідацію лише залізодефіциту.

Матеріал і методи. Хімічне дослідження вод проводили згідно загальноприйнятих методик (Барс Е.А., Коган С.С., 1979). Форму заліза і молекулярну масу (м.м.) органічних речовин (ОР) визначали при допомозі гель-хроматографії (Івасівка С.В., 1994). Для концентрування ОР залізісті води ліофілізували (Яременко М.С., Івасівка С.В., 1992). Екстракцію ОР із ліофілізату проводили почергово: гідрофільних - бідистилюваною водою при співвідношенні порошок:рідина 1:10, гідрофобних - гексановою або хлороформною екстракцією із сухого залишку ліофілізату (1:10). Гідрофільні ОР піддавали гель-фільтрації. Комплексоутворюючі групи гідрофобних ОР оцінювали методом ІЧ - спектрофотометрії (Freifelder D., 1980). У

всіх хроматографічних пробах нативної води, ліофілізованих гідрофільних ОР, а також у хлороформних і гексанових екстрактах ліофілізату залізистих вод визначали вміст заліза.

Стабілізацію заліза досліджували у воді дж. № 15. Використовували рекомендовані ДЕСТом (ГОСТ 13273-88) аскорбінову, лимонну кислоти, а також янтарну кислоту, цистеїн (Шерба М.М., 1977). Вміст аскорбінової, янтарної, лимонної кислот і цистеїну у мінеральній воді складав відповідно 195, 130, 192 і 133 мг/л із розрахунку, що один атом заліза взаємодіє з однією молекулою ліганду (Ejchgom G., 1978). Перед дослідженнями воду зберігали 120 діб (ТИ-18-6-57-84).

Досліджували ефективність гемопоезу (Кост Е.А., 1975), осмотичну резистентність еритроцитів (Gitter A., Neilmeyer L., 1966), гістологічну будову слизової 12-палої кишки (Lillie R.D., 1969) і наявність в ній аргірофільних ендокринних клітин (Grimelius L., 1968). Концентрацію заліза сироватки (ЗС) визначали комерційними наборами фірми LACHEMA. Люмінесценцію кісткового мозку досліджували на мікроскопі МБИ-15 У4.1, флуорохром - акрединовий оранжевий, гасій флуоресценції - конго червоний, обидва у розбавленні 1:10000, (Меркулов Г.А., 1969).

Постгеморагічну анемію моделювали на щурах-самцях лінії Вістар масою тіла (м.т.) 200-210 г шляхом одноразового забору крові під нембуталовим наркозом (30 мг/кг) пастерівською піпеткою з ретроорбітального венозного сплетення у кількості 2,5% м.т. Об'єм циркулюючої крові відновлювали внутрішнім вливанням відповідної кількості поліглюкіну. Експериментальні дослідження починали на наступну добу після кровопускання. У I серії дослідів спостерігали динаміку спонтанного відтворення показників периферійної крові на 3 - у, 8 - у, 14 - у і

20-у доби після кровопускання. У I підгрупі II серії проводили тестування нативних залізистих вод дж. № 13 (1-а група) і № 15 (2-а група), а також модельного розчину сульфату Fe^{2+} (3-а група) з концентрацією заліза 60 мг/л, що зумовлено максимальним вмістом металу у воді дж. № 15 і дало змогу коректно оцінити біологічну доступність природних залізо-органічних сполук. У II підгрупі II серії проводили тестування стабілізованої аскорбіновою (4-а група), янтарною (5-а група), лимонною (6-а група) кислотами і цистеїном (7-а група) залізистої води дж. № 15. Тест-рідини у дозі 1,5% м.т. вводили тваринам у шлунок через зонд щоденно впродовж 7 днів. Контролем у II серії були анемізовані тварини, що утримувались при вільному доступі до водопровідної води (в.в.).

Для обох серій у інтактних тварин, після кровопускання, в означені терміни для тварин I серії і після закінчення курсу введення тест-рідин для тварин II серії визначали вміст гемоглобіну, еритроцитів, їх осмотичну резистентність, кольоровий показник (КП) і концентрацію ЗС. Для кожної з тест-рідин другої серії вираховували коефіцієнт засвоєння заліза на синтез гемоглобіну (Schwetz F., 1963).

Експериментальну пострадіаційну анемію моделювали на безпородних білих щурах-самцях м.т. 200-220 г шляхом загального фракційного опромінення тварин на терапевтичній рентгенустановці РУМ-11 при напрузі 180 кВ, силі струму 10 мА, віддалі до антикатода 1 м і мідному фільтрі товщиною 1 мм. Тварин опромінювали тричі з інтервалом 3 доби у дозах 0,5, 0,5 і 1 Гр (загальна доза - 2,0 Гр). Опромінених тварин розділяли на 3 групи: контрольну (1-а група) і 2 дослідні. Тварини контрольної групи отримували внутрішньогастральню в.в. у дозі 1,5% м.т. впродовж 14 днів. Аналогічно тварини дослідних

груп - нативну залісту воду джерела № 15 (2-а група) і стабілізовану аскорбіною кислотою залісту воду дж. № 15 (3-а група). У всіх трьох групах перед початком експерименту, після опромінення, а також після закінчення курсу поїння тест-рідинами оцінювали функціональний стан периферійної крові, кісткового мозку і тонкого кишківника.

Цифрові дані оброблені методами варіаційної статистики.

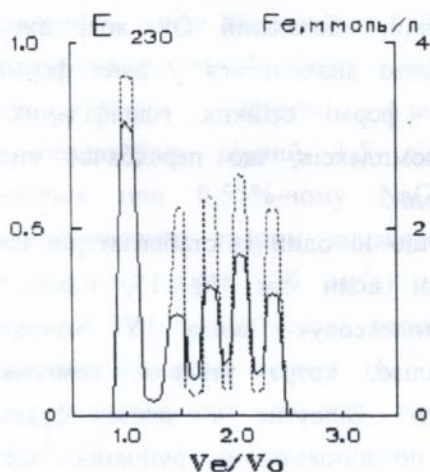
РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

1. СКЛАД СХІДНИЦЬКИХ МІНЕРАЛЬНИХ ВОД ТА ФОРМА ЗНАХОДЖЕННЯ В НИХ ЗАЛІЗА.

Згідно проведених досліджень, залістї води дж. № 4-а, 13, 15 і 20 є слабомінералізованими (0,31-0,42 г/л) з підвищеним вмістом $C_{\text{орг}}$ (7,9-11,5 мг/л), або, як прийнято у бальнеології, 15,8-23,0 мг/л ОР. Води дж. № 4-а, 20 сульфатно-гідрокарбонатні магнієво-кальцієві, вода дж. № 13 сульфатно-гідрокарбонатна натрієво-магнієво-кальцієва, вода дж. № 15 гідрокарбонатна магнієва. Серед ОР ідентифіковані жирні кислоти (0,04-0,09 мг-екв/л), $P_{\text{орг}}$ (78-116 мкг/л) і $N_{\text{орг}}$ (0,15-0,31 мг/л). Доля $N_{\text{орг}}$ (3,2-4,5 мкг/л) є амінімним. У всіх водах знайдені Мп (2,3-3,1 мг/л) і кремнієва кислота (27-39 мг/л), а також вільна вуглекислота (до 100 мг/л) і сірководень (0,14-0,30 мг/л). Кисень повністю відсутній.

Загальний вміст заліза у водах дж. № 4-а, 13 і 20 рівний 29,0-32,0 мг/л, у воді дж. № 15 - 61 мг/л. Згідно ДЕСТУ (ГОСТ 13273-88), води класифікуються як залістї (№4-а, 13 і 20) і міцні залістї (№ 15). У водах джерел № 4-а, 13 і 20 55-63% загального вмісту заліза є двовалентним катіоном, що узгоджується з формою знаходження металу у вуглекислих водах у діапазоні рН 3-8 (Куликов Г.В. и др., 1991). Масова доля Fe^{2+} у воді дж. № 15 складає лише 37,7%. Решту залі-

за у водах всіх джерел можна визначити лише при допомозі атомно-абсорбційної спектрофотометрії, що передбачає закомплексованість заліза з органічними лігандами - 36,6-62,3%.



Мал. 1. Типова хроматограма гідрофільних ОР(—) вилучених з ліюфілізату води джерела №15.
(- - -) - конц. заліза, ммоль/л.

Гель-хроматографія нативних вод дозволяє візуалізувати лише високомолекулярні залізоорганічні сполуки, м.м. 5000. Ліюфілізація нативної залізистої води дж. № 15 з максимальними загальним вмістом заліза (61 мг/л) і масовою долею його металорганічних комплексів (62,3%) як розроблений і апробований науковцями Інституту фізіології ім. О.О.Богомольця НАН метод неструктивного виділення ОР із мінеральних вод (Іва-сівка С.В., 1994) у поєднанні з гель-хроматографією дозволили ідентифікувати спектр гідрофільних ОР 5000, 540, 440, 380 і 330. Максимуми вмісту ОР і заліза співпадають (мал.1). Методом ІЧ-спектроскопії у гексановому і хлороформному екстрактах ідентифіковані довголанцюгові ОР з комплексоутворюючими карбоксильними і амінними групами. У цих же екстрактах

знайдено і певний відсоток зв'язаного заліза. Іонізоване залізо у ліофілізаті відсутнє - під час сушки гідрокарбонати переходять у нерозчинні карбонати.

Таким чином, нами встановлено, що у слабомінералізованій, гідрокарбонатній магнієвій, збагаченій ОР воді дж. № 15 східницького родовища залізо знаходиться у двох формах - як дво-валентний катіон і у формі стійких гідрофільних і гідрофобних металорганічних комплексів, що передбачає високу бальнео-активність мінеральної води.

Встановлено, що ні один із стабілізаторів не змінює хімічного складу залізиної води дж. № 15, однак, згідно гель-хроматографії, перекомплексовує залізо. У консервованій воді відсутнє іонізоване залізо, котре утворює комплекси з відповідними стабілізаторами. Відсутнє і залізо фракції ОР м.м. 5000, що правомірно розцінювати як руйнацію частини природних комплексів ОР із залізом, і останнє також комплексується з консервантом.

Таким чином, у консервованій залізистій воді дж. № 15 домінують комплекси заліза з відповідними стабілізаторами.

2. АНТИАНЕМІЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ НАТИВНИХ ЗАЛІЗИСТИХ ВОД.

2.1. ПРИ ПОСТГЕМОРАГІЧНІЙ АНЕМІЇ.

Постгеморагічну анемію моделювали на щурах-самцях лінії Вістар з вихідними даними: чисельність еритроцитів $7,34 \pm 0,19$ млн/мкл; концентрація гемоглобіну $155,0 \pm 4,6$ г/л, ЗС - $40,22 \pm 2,4$ мкмоль/л. Гемоліз еритроцитів починався при 0,48%-ній, а завершувався при 0,36%-ній концентрації NaCl.

Внаслідок кровопускання у кількості 2,5% м.т. у щурів на 8-й день після крововтрати формується виражена постгеморагічна анемія. Чисельність еритроцитів - $5,57 \pm 0,09$ млн/мкл ($p < 0,05$), концентрація гемоглобіну - 125 ± 9 г/л ($p < 0,01$), ЗС

- $19,12 \pm 2,0$ мкМ/л ($p < 0,001$). Це дозволило вважати 7-денний курс поїння тварин оптимальним для оцінки антианемічної ефективності залізистих вод.

Введення анемізованим тваринам розчину сульфату Fe^{2+} завершилося відновленням лише концентрації ЗС - $32,66 \pm 3,7$ мкМ/л, а чисельність еритроцитів ($6,51 \pm 0,07$ млн/мкл), концентрація гемоглобіну ($135,0 \pm 2,9$ г/л) були істотно зниженими ($p < 0,05$). Темп приросту гемоглобіну рівний $1,5$ г/л*доба. Гемоліз еритроцитів починається при $0,55\%$ -ному NaCl ($p < 0,05$). Навпаки, тижневе поїння анемізованих тварин залізистою водою дж. № 13 з мінімальними вмістом заліза (30 мг/л) і відсотком його комплексних сполук ($36,6\%$) і залізистою водою дж. № 15 з максимальними аналогічними показниками (61 мг/л і $62,3\%$) завершилося повним відновленням вмісту гемоглобіну (відповідно $142,7 \pm 3,5$ і $141,2 \pm 4,2$ г/л) завдяки темпу його приросту $2,6$ і $2,45$ г/л*доба. Однак у тварин, що отримували воду дж. № 13 чисельність еритроцитів ($6,5 \pm 0,2$ млн/мкл) і концентрація ЗС ($23,2 \pm 3,07$ мкмоль/л) не досягли вихідного рівня ($p < 0,05$ і $p < 0,001$), тоді як поїння тварин водою дж. № 15 завершується відновленням як чисельності еритроцитів ($7,11 \pm 0,26$ млн/мкл), так і концентрації ЗС ($37,99 \pm 1,69$ мкмоль/л). Коефіцієнт засвоєння заліза для синтезу гемоглобіну (масова доля елемента від введеної дози, що включилась у склад пігменту), (Schwetz F., 1963), для розчину сульфату Fe^{2+} рівна $28,8\%$, а для залізистих вод дж. № 13 і дж. № 15, відповідно, $97,9\%$ і $45,1\%$. Тобто, майже все залізо мінеральної води дж. № 13 використовується на синтез гемоглобіну. Однак його загальної кількості 30 мг/л, мабуть, недостатньо для покриття залізодефіциту. Мінеральна вода дж. № 15 із вдвічі більшим вмістом заліза і часткою його органічних сполук стимулює гемопоєз у цілому.

Таким чином, біологічна доступність природних комплексних сполук заліза мінеральних вод є значно вищою у порівнянні з його неорганічними препаратами, що забезпечує максимальне використання елементу на потреби гемоглобіноутворення. Ефективній стимуляції еритропоезу залізистою водою дж. № 15 сприяють, мабуть, присутні в ній у найвищій серед досліджуваних вод концентрації марганець і кремній, відомі як безпосередні регулятори кровотворення (Серебряна А.А. и др., 1983; Rich J.H. et al., 1980).

2.2. ПРИ ПОСТРАДІАЦІЙНІЙ АНЕМІЇ.

Встановлено, що загальне фракційне опромінення шурів у сумарній дозі 2,0 Гр супроводжується депресією всіх ростків гемопоезу. Число мієлокаріоцитів кісткового мозку зменшилося з $1,40 \pm 0,02$ до $1,02 \pm 0,05$ млн/мкл ($p < 0,01$) через різку депресію еритроїдного і лімфоїдного ростків, що підтвердилося даними люмінесцентної мікроскопії. У периферійній крові опромінених тварин є всі ознаки гіпохромної залізодефіцитної анемії, лейко- і лімфопенії (табл. 1). Вміст лейкоцитів периферійної крові підтримується відносно радіорезистентними популяціями гранулоцитів і моноцитів.

Згідно гістологічних досліджень, дефіцит заліза виникає через променеве ураження тонкого кишківника. В опромінених тварин спостерігається суцільна десквамація циліндричного епітелію і деструкція сполучнотканинних елементів власної пластинки слизової, що руйнує структуру ворсинок і суттєво порушує основний регуляторний механізм гомеостазу заліза - всмоктування. Втрати заліза з десквामованим епітелієм значно перевищують фізіологічну норму, що поглиблює його дисбаланс і сприяє формуванню залізодефіцитної анемії. Також значно зменшується число ендокринних аргірофільних клітин крипт -

продуцентів багаточисельних регуляторних пептидів.

Таблиця 1.

Формування залізодефіцитної анемії і лейкопенії
в опроміненних щурів

Показники	Інтактні	Опромінені
Гемоглобін, г/л	155.1±4,6(12)	95,2±3,4(10)***
Еритроцити, млн/мкл	7.34±0,19(11)	6.57±0,09(10)**
КП	0,63	0,43
Ретикулоцити, ‰	14±2(10)	6±1(8)**
млн/мкл	0,103±0,015(10)	0,039±0,007(8)**
Залізо сироватки, мкМ/л	41,44±1,02(12)	22,77±0,95(10)**
Лейкоцити, тис/мкл	18,23±0,72(10)	11,33±0,27(8)***
Лейкограма, тис/мкл		
Еозинофіли	0,73±0,09	0,91±0,11
Базофіли	0	0
Нейтрофіли		
паличкоядерні	0,73±0,05	0,57±0,07
сегментоядерні	4,56±0,18	5,67±0,45*
Лімфоцити	11,85±0,36	3,51±0,68***
Моноцити	0,36±0,07	0,57±0,05*

Примітка: Тут і в подальшому у скобках - число варіант;

*, **, *** - вірогідність $p < 0,05$, $0,01$ і $0,001$, відповідно.

Завдяки швидкій регенерації кишкових епітеліоцитів (2-3 дні) у щурів через 14 днів після опромінення у дозі 2,0 Гр слизова оболонка морфологічно відновлюється, залізо інтенсивно всмоктується з їжі (Schwetz F., 1963) і концентрація ЗС

тварин контрольної групи досягає вихідного рівня. Проте вміст гемоглобіну, чисельність еритроцитів, лейко- і лімфоцитів залишаються різко зниженими (табл. 2).

Таблиця 2.

Регенерація червоної і білої крові опромінених шурів
під впливом залізистої води джерела № 15

Показники	Контроль водопровідна вода	Дослід залізна вода
Гемоглобін, г/л	129,1±2,5(7)	153.1±3.1(7)***
Еритроцити, млн/мкл	5,15±0,43(8)	7,18±0,22(8)***
КП	0,75	0,64
Ретикулоцити,‰ млн/мкл	29±(8) 0,149±0,031(8)	16±2(8)* 0,115±0,014(8)
Залізо сироватки,мкМ/л	39,55±1,57(10)	94.78±5.8(8)***
Лейкоцити, тис/мкл	9,85±0,55(8)	20.87±2.2(8)***
Лейкограма, тис/мкл		
Еозинофіли	0,39±0,07	0,63±0,08*
Базофіли	0	0
Нейтрофіли		
паличкоядерні	0,49±0,04	1,04±0,08***
сегментоядерні	3,25±0,09	3,97±0,13***
Лімфоцити	5,32±0,09	14.40±0,17***
Моноцити	0,39±0,04	0,83±0,10***

Двотижневе введення опроміненим тваринам залізистої води дж. № 15 завершується двократним, порівняно з вихідним, ростом вмісту ЗС, а також повним відновленням вмісту гемоглобіну і чисельності еритроцитів. Спостерігається також нормалі-

зачія чисельності ретикулоцитів (табл. 2), що сукупно з ростом числа червонокривців є ознакою стабілізації еритропоезу (Козинец Г.И. и др., 1982). Лейко- і лімфоцитоз спостерігається не лише відносно контролю, але і стосовно інтактних тварин. Отримані дані можна пояснити високою біологічною доступністю природних залізоорганічних сполук мінеральної води, а також її здатністю стимулювати гемопоез, що підтверджується ростом числа мієлокаріоцитів ($2,03 \pm 0,09$ проти $1,43 \pm 0,05$ у контролі і $1,40 \pm 0,02$ млн/мкл у інтактних тварин, $p < 0,01$).

Багаторічними дослідженнями науковців Інституту фізіології ім. О.О.Богомольця НАН встановлено, що ОР лікувальної води Нафтуса (Івасівка С.В. и др., 1990) і її біотехнологічний аналог - продукти трансформації озокериту аутохтонною мікрофлорою (Івасівка С.В., Попович І.Л., 1994), індукуючи детоксикаційні системи печінки і нирок, інтенсифікують виведення з організму екзогенних отрут і шкідливих продуктів метаболізму, завдяки чому стимулюють гемопоез (Ковбаснюк М.М., Івасівка С.В., 1994; Ломейко С.М., 1996; Івасівка С.В., Томашівська Л.М., 1996; Ковбаснюк М.М. і ін., 1996). Правомірно передбачити аналогічну бальнеоактивність і у ОР залізистих вод.

Таким чином, в опроміненних щурів під впливом залізистої води дж. № 15 відбувається нормалізація гемопоезу у цілому, що згідно отриманих нами даних, є результатом високої фізіологічної активності її залізоорганічних комплексів, а також стимуляції залізистою водою відповідних ростків кровотворення.

3. АНТИАНЕМІЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ СТАБІЛІЗОВАНИХ ЗАЛІЗИСТИХ ВОД

Антианемічні властивості стабілізованої залізистої води дж. № 15 досліджували на 8-му добу після крововтрати, коли у контрольних тварин ще виражені ознаки анемії: чисельність еритроцитів - $5,83 \pm 0,61$ млн/мкл; концентрація гемоглобіну -

128,0±7,8 г/л; ЗС - 20,22±1,36 мкмоль/л.

Встановлено, що всі стабілізатори забезпечують ефективне всмоктування заліза консервованої води - у шурів, котрих по-іли залізистою водою стабілізованою аскорбіновою, янтарною, лимонною кислотами і цистеїном відновлюється вміст ЗС - від-повідно 37,4±2,55, 44,23±4,82, 33,48±4,42 і 42,87±9,96 мкМ/л ($p < 0,001$). Проте лише залізна вода стабілізована ас-корбіновою, янтарною і лимонною кислотами забезпечує повне відновлення гемоглобіну (160±6, 149±2 і 151±5 г/л) завдя-ки коефіцієнту засвоєння заліза на його синтез відповідно 83, 54 і 55%. Чисельність еритроцитів - відповідно 6,9±0,3, 6,2±0,2 і 6,6±0,2 млн/мкл. Навпаки, вода стабілізована ци-стеїном не відновлює вмісту гемоглобіну (130±5 г/л) через низький коефіцієнт засвоєння заліза - 5,2%. Відбувається ли-ше компенсаторний ріст чисельності гіпохромних еритроцитів - 7,0±0,3 млн/мкл. При однаковому рівні ЗС у тварин всіх дос-лідних груп отримані результати правомірно пояснити особли-востями метаболізму самих стабілізаторів після відщеплення від них заліза.

При пострадіаційній анемії стабілізована аскорбіновою кислотою залізна вода джерела № 15 забезпечує краще засво-єння заліза на синтез гемоглобіну, ніж нативна вода - 44,5% від введеної дози проти 31,4%. Водночас консервована вода як і нативна ефективно відновлює гемопоез опромінених шурів.

ВИСНОВКИ

1. Води джерел № 4-а, № 13, № 15 і № 20 східницького родо-вища є слабомінералізованими, з підвищеним вмістом органіч-них речовин, збагачені марганцем і кремнієм. За вмістом за-ліза води джерел № 4-а, № 13 і № 20 є залізистими, а вода джерела № 15 - міцною залізистою. У водах всіх джерел залізо

перебуває як у формі двохвалентного катіону, так і комплексів з ОР. У присутності стабілізаторів форма знаходження заліза у мінеральній воді змінюється. У стабілізованій аскорбіновою, янтарною, лимонною кислотами і амінокислотою цистеїном воді джерела № 15 відсутні як іонізоване залізо, так і природні високомолекулярні залізоорганічні комплекси, натомість візуалізовані лише сполуки заліза з відповідними консервантами.

2. У водному екстракті ліофілізату води джерела № 15 зідентифіковані високо- і низькомолекулярні залізоорганічні сполуки, у гексановому і хлороформному екстрактах - органічні ліганди з комплексоутворюючими карбоксильними і амінними групами.

3. Антианемічна ефективність залізистих вод при постгеморагічній анемії зумовлена високою фізіологічною активністю природних залізоорганічних сполук, оскільки відновлення вмісту гемоглобіну у анемізованих щурів відбувається як під впливом залізистої води джерела № 13 з їх мінімальною часткою, так і під впливом залізистої води джерела № 15 з максимальним вмістом комплексних сполук заліза.

4. Повне відновлення еритропоезу у щурів з постгеморагічною анемією відбувається лише під впливом залізистої води джерела № 15 з максимальними загальним вмістом заліза і відсотком залізоорганічних комплексів. Під впливом залізистої води джерела № 13 з вдвічі низчими аналогічними показниками спостерігається лише тенденція до відновлення чисельності червонокривців, а вміст заліза сироватки є суттєво зниженим.

5. Пострадіаційна залізодефіцитна анемія є наслідком загибелі проліферуючого пулу кісткового мозку і гальмування всмоктування заліза через променеве ураження тонкого кишків-

ника.

6. Поїння опромінених щурів залізистою водою джерела № 15 з максимальними загальним вмістом заліза і відсотком його металорганічних комплексів завершується двократним, стосовно вихідної величини і контролю, збільшенням вмісту заліза сироватки, що засвідчує високу біологічну активність природних залізоорганічних сполук. Одночасне відновлення в опромінених тварин кістковомозкового кровотворення, клітинності периферійної крові і вмісту гемоглобіну є ознакою функціональної повноцінності залізистої води.

7. Під впливом залізистої води джерела № 15 у опромінених щурів відновлюється гістологічна будова слизової дванадцятипалої кишки і вміст у ній аргірофільних ендокринних клітин, що активує всмоктування заліза у тонкому кишківнику.

8. Стабілізатори заліза: аскорбінова, янтарна, лимонна кислоти і амінокислота цистеїн є біологічно активними компонентами мінеральної води, метаболізм котрих здатний суттєво модифікувати її антианемічну ефективність. Відомі як стимулятори гемопоезу і субстрати для синтезу гему аскорбінова, янтарна і лимонна кислоти забезпечують повне відновлення кровотворення у анемізованих щурів. Присутність у мінеральній воді залізоцистеїнового комплексу супроводжується ліквідацією лише залізодефіциту, тоді як вміст гемоглобіну є суттєво зниженим, що правомірно розцінювати як несприятливий вплив даної амінокислоти на синтез еритроцитарного пігменту.

9. Стабілізована аскорбіновою кислотою заліzysta вода джерела № 15 ефективніше, порівняно з нативною, відновлює гемопоез в опромінених щурів, що підтверджує стимулюючий вплив даного консерванта на кровотворення.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. При стандартизації залізистих мінеральних вод рекомендуємо ідентифікувати залізоорганічні комплекси методом гель-хроматографії їх ліофілізатів з метою покращення бальнеотерапії залізодефіцитних анемії.
2. При розливі залізистих вод у пляшки рекомендуємо враховувати особливості метаболізму стабілізаторів заліза, що дозволить коректно застосовувати консервовані залізисті води при анеміях різної етіології.

ПЕРЕЛІК РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Журнальні статті:

1. Состав и антианемическая эффективность железосодержащих вод Сходницкого месторождения //Физиол. журн.-1989.- 35, № 4. -С. 80-85 (соавт. С.В. Ивасивка, М.В. Гавдяк, М.С. Яременко).
2. Антианемическая эффективность железистых вод Сходницкого месторождения //Вопр. курортол.-1992.- № 3.- С. 46-50 (соавт. С.В. Ивасивка, М.В. Гавдяк, А.Г. Матрошин, Ю.Д. Беца).
3. Хімічний склад і особливості впливу залізистих вод курорту Східниця на різних моделях анемії //Проблеми патології в експерименті і клініці.- Львів, 1996.- Вип. 17.- С. 189-195.

Тези доповідей на конференціях:

4. Антианемические свойства железистой минеральной воды после стабилизации различными консервантами //Экспериментальная и клиническая бальнеология вод типа "Нафтуса" : Тез. докл. н.-практ. конф.- Трускавец, 1990.- С. 96-102 (соавт. С.В. Ивасивка, М.В. Гавдяк).
5. Антианемічні властивості мінеральних вод Східниці //Проблеми санаторно-курортної реабілітації уражених в результаті Чорнобильської аварії на курортах Трускавець і Східниця : Матеріали н.-практ. конф. конф.-Трускавець, 1992.- С. 32-35 (співавт. С.В. Івасівка, М.В. Гавдяк, О.Г. Матрошин).

Kovbasnyuk M.N. The effect of chalybeat mineral waters of the spa Skhidnytsya on the hemopoiesis.

A. A. Bogomolets Institute of Physiology of Ukrainian Academy of Sciences, Kiev, 1997. Supervisors Prof. S.V. Ivasivka and Prof. M.S. Yaremenko. Dissertation (manuscript) for scientific degree of candidate of sciences (Ph.D.) on the speciality - 03.00.13- physiology of man and animals.

It is shown, that slight-mineralized chalybeat waters of springs № 4-a, 13, 15, 20 of the spa Skhidnytsya are contained organic matters, high-molecular and low-molecular organo-iron complexes (0,3-5,0 kD). In preserve chalybeat waters the organo-iron complexes with preserve compounds are predominated. It is established, that natural complex iron compounds are characterized by high physiological activity. The chalybeat waters of springs № 13 and № 15 stimulate the erythropoiesis in bled rats, also water of spring № 15 stimulates the hemopoiesis in whole-body irradiation rats. Antianemic efficiency of the preserve chalybeat water is determined by the metabolic activity of preserve compounds.

Ковбаснюк М.Н. Влияние железистых минеральных вод курорта Сходница на гемопоз. Институт физиологии им.А.А.Богомольца НАН Украины, Киев, 1997. Научные руководители - докт. мед.наук, проф. С.В. Ивасивка и докт.биол. наук, проф. М.С. Яременко. Диссертация (рукопись) на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.13 - физиология человека и животных.

Показано, что слабоминерализованные железистые воды источников № 4-а, 13, 15, 20 курорта Сходница содержат органические вещества, высокомолекулярные и низкомолекулярные железоорганические комплексы (0,3-5,0 кД). В консервированной воде преобладают комплексы железа с соответствующими стабилизаторами. Установлено, что природные комплексные соединения железа обладают высокой физиологической активностью. Железистые воды источников № 13 и № 15 стимулируют эритропоз в анемизированных крыс, а также вода источника № 15 стимулирует гемопоз в облученных крыс. Антианемическая эффективность консервированной железистой воды определяется метаболической активностью стабилизаторов.

Ключові слова: залізоорганічні комплекси, стабілізатори заліза, біологічна доступність, антианемічна ефективність.

Здано до набору 16.04.97 Підписано до друку 17.04.97
Комп'ютерний набір. Формат 60x84¹/₁₆.
Папір друкарський. Друк офсетний.
Друк...арк. 1.0
Тираж 100. Зам. № 2748 ..

Дрогобицька міська друкарня, Львівської обл.
293720, м. Дрогобич, вул. І. Мазепи, 7.

1233868

AB 38.366

Ковбасюк М.Н. The effect of hydrotherapy on the benzene...

and Prof. M.S. Yaremko. Dissertation (manuscript) for scientific degree of candidate of sciences (Ph.D.) in the speciality 03.00.13 - physiology of man and animals.

It is shown, that slight mineralized chalybeate waters of springs № 4-a, 13, 15, 20 of the spa Svaldovka are contained organic matters, high-molecular and low-molecular organic-inorganic complexes (0.3-5.0 mg/l). In chalybeate waters the organic-inorganic complexes with organic compounds are predominated. It is established, that organic-inorganic complexes compounds are characterized by high physiological activity. The chalybeate waters of springs № 13 and № 15 stimulate the metabolism in the liver, also water of spring № 13 stimulates the metabolism in the hypothalamus of albino-rats. The anabolic efficiency of the mineral chalybeate water is determined by the metabolic activity of protein compounds.

Ковбасюк М.Н. Физиологическое действие минеральных вод курорта Свалдовка на животных. Институт физиологии им. А.А. Богомольца НАН Украины, Киев, 1990. Научные рукописи - докт. диссертация. Учен. С.В. Яремко и докт. канд. наук, проф. М.С. Яремко. Док. диссертация (рукопись) на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.13 - физиология человека и животных.

Показано, что слабоминерализованные железистые воды курорта Свалдовка № 4-а, 13, 15, 20 курорта Свалдовка содержат органические вещества, высокомолекулярные и низкомолекулярные органико-неорганические комплексы (0,3-5,0 мг/л). В концентратах этих вод преобладают органико-неорганические комплексы с органическими соединениями. Установлено, что органико-неорганические комплексы характеризуются высокой физиологической активностью. Воды курорта Свалдовка № 13 и № 15 стимулируют обмен веществ в печени, также вода курорта Свалдовка № 13 стимулирует обмен веществ в гипоталамусе белых крыс. Анаболическую эффективность минеральной железистой воды курорта Свалдовка определяют по метаболической активности белковых соединений.

Кандидат наук, доцент М.Н. Ковбасюк, Киев, Украина. Профессор, доктор наук, М.С. Яремко, Киев, Украина. Ученый секретарь, кандидат наук, С.В. Яремко, Киев, Украина. Киев, Украина, 1990.