

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN—POLONIA

VOL. XXXI, 2

SECTIO D

1976

Samodzielna Pracownia Radioizotopowa. Instytut Radiologii. Akademia Medyczna w Lublinie
P.o. kierownika: dr med. Anna Tarkowska

Anna TARKOWSKA

**Dzienne wahania poziomu żelaza we krwi i utajonej zdolności
wiązania żelaza przez białka surowicy u zdrowych szczurów**

Дневные колебания уровня железа и скрытой способности связывания железа
белками сыворотки у здоровых крыс

The Diurnal Variations of the Serum Iron Level and of the Latent Iron Binding
Capacity in Normal Rats

Obserwacje prowadzone przez różnych autorów wykazały, że poziom żelaza we krwi człowieka i niektórych zwierząt ulega w ciągu doby rytmicznym wahaniom. W dostępnej literaturze znaleziono jedynie pojedyncze doniesienia nie potwierdzające tego zjawiska i przemawiające za przypadkowością zmian sideremii zachodzących w ciągu doby (3). Zdaniem większości badaczy zajmujących się tym zagadnieniem, poziom żelaza we krwi, wahając się w cyklu 24 godzin, osiąga wartości najwyższe rano, a wartości najniższe wieczorem (4, 8—18, 21, 22, 24, 25). Jedynie Wetzel (wg. 8) i Wiltink (26) obserwowali u zdrowych ludzi odmienny przebieg sideremii z najwyższymi jej wartościami w godzinach popołudniowych i wieczorem, a najniższymi w nocy i rano. Cykliczne wahania poziomu żelaza w ciągu doby wydają się mieć związek z procesem czuwania i snu (6, 8, 10, 12, 21, 25). Przyczyna tego zjawiska nie została jednak dotychczas wyjaśniona. Większość autorów jego rozwój przypisuje wpływom układu wewnątrzwydzielniczego, przede wszystkim nadnerczy (8, 24), układu nerwowego (10) lub obu tych systemów łącznie (21). Nie rozstrzygnięto również w sposób ostateczny, czy w patomechanizmie cyklicznych wahań sideremii zasadniczą rolę odgrywają zmiany w ilości żelaza dopływającego do osocza (15, 16), czy też w ilości żelaza opuszczającego osocze (17, 21, 24). Niektórzy autorzy sugerują, że rytmiczne zmiany poziomu żelaza w ciągu dnia zależą od obu tych procesów i od ich wzajemnej dynamicznej, stale zmieniającej się interakcji (4).

Ze względu na wiele niejasnych i spornych kwestii wiążących się z zagadnieniem dobowego rytmu metabolizmu żelaza postanowiono przebadać zachowanie się w różnych porach dnia niektórych parametrów przemiany tego pierwiastka w organizmie szczura. O wyborze szczurów do naszych doświadczeń zdecydowało

znaczne podobieństwo między szczurzym i ludzkim układem krwiotwórczym, a także powszechnie uznana stałość i porównywalność wyników badań przeprowadzanych u tych zwierząt (1). W pierwszej części doświadczeń, będącej przedmiotem obecnego doniesienia, określono i porównano ze sobą ranne i wieczorne wartości poziomu żelaza we krwi oraz zdolność wiązania tego pierwiastka przez białka surowicy.

MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

Badania wykonano na szczurach płci męskiej rasy Wistar, o c. ciała 246—363 g. Wszystkie zwierzęta w ciągu przynajmniej 2 tygodni poprzedzających badania znajdowały się w takich samych warunkach hodowlanych, przy czym karmione były one wodą i standardową paszą podawaną w nieograniczonych ilościach. W ciągu dnia szczury przebywały w pomieszczeniach ruchliwych i z dostępem światła słonecznego. W nocy pomieszczenia te były ciemne i ciche.

Krew do badania pobierano rano, między godziną 7.00 i 8.00, oraz wieczorem, między godziną 19.00 i 20.00. Posługiwano się przy tym plastikowymi strzykawkami i igłami ze stali nierdzewnej. Krew uzyskiwano z serca, skrwawiając zwierzęta całkowicie. Zabieg ten przeprowadzano po uprzednim uśpieniu szczurów eterem. Poziom żelaza we krwi określano metodą Ramsaya (19), przy czym ekstynkcję badanych próbek odczytywano kolorymetrem Specol przy długości fali 520 mμ. Utagoną zdolność wiązania żelaza (uzwż) oznaczano izotopową metodą Schapira (20), stosując cytrynian żelaza ^{59}Fe o aktywności właściwej około 50 μCi na 1 μg żelaza, produkowany przez OPIDI Świerk. Radioaktywność badanych próbek mierzono przy pomocy zestawu produkcji POLON, składającego się ze studzienkowego licznika scyntylacyjnego USB-2 oraz przelicznika typu ZPR-2, sterowanego czasosterelem CS-3. Dla wyników uzyskanych z rannych i wieczornych oznaczeń obu badanych parametrów wyliczono wartość średnią i odchylenie standardowe. Istotność różnic między wartościami rannymi i wieczornymi określono przy pomocy testu t Studenta (5).

WYNIKI BADAŃ

Poziom żelaza we krwi był wyższy w godzinach rannych niż w godzinach wieczornych. Różnica w wartościach średnich wynosiła aż 69 μg%, co oznacza, że poziom żelaza wieczorem był średnio o 30% niższy aniżeli rano ($P < 0,001$).

Ranne i wieczorne wartości uznawane za stwierdzone u badanych szczurów były rano wyraźnie niższe niż wieczorem. Różnica wynosiła średnio 85 μg%, co stanowi 27% wartości rannych. Różnica ta była statystycznie wysoce istotna ($P < 0,001$).

OMÓWIENIE WYNIKÓW

W badanej grupie szczurów stwierdzono występowanie w ciągu dnia wysoce istotnych zmian poziomu żelaza we krwi. Wieczorem (godz. 19.00—20.00) poziom ten był średnio o 30% niższy aniżeli rano (godz. 7.00—8.00). Wyniki te są zgodne ze spostrzeżeniami większości autorów, badających zależność między porą dnia a wielkością sideremii u ludzi oraz u niektórych zwierząt mających podobny jak człowiek reżim snu

i czuwania (4, 8—12, 14, 15, 17, 18, 21, 22, 24, 25). U szczurów obniżanie się poziomu żelaza w ciągu dnia i podwyższanie się w ciągu nocy obserwowali również Kampschmidt i wsp. (13) oraz Lynch i wsp. (16).

UZWŻ w badanym przez nas materiale zachowywała się odwrotnie niż sideremia i była wyraźnie większa w godzinach wieczornych aniżeli rano. Przy tym stwierdzony w obserwowanym przedziale czasu wzrost średnich wartości uzwż wynosił 27%, a więc był zbliżony do występującego w tym samym okresie procentowego spadku średnich wartości poziomu żelaza we krwi. Może to dowodzić, że w badanych porach dnia pojemność nośników białkowych surowicy wobec żelaza, czyli wiążąca zdolność transferyny jest taka sama lub różni się tylko nieznacznie, natomiast stopień wysycenia białek żelazem ulega wyraźnym zmianom i jest znacznie większy rano niż wieczorem. Brak istotnych zmian w całkowitej zdolności wiązania żelaza przez białka surowicy w ciągu doby obserwowali również: u szczurów Lynch i wsp. (16), u ludzi Bowie i wsp. (3), Heilmann (9), Laurell (15), Speck (22), Stengle i Schade (23) oraz u królików Fox i wsp. (6). Natomiast Wiltink i wsp. (26) stwierdzili istnienie dziennych wahań zawartości transferyny i białek całkowitych, wprowadzając znacznie mniejszych niż wahania poziomu żelaza, ale przebiegających z nimi równolegle. Wyjaśnienie powyższych rozbieżności, podobnie jak różnic w przebiegu wahań sideremii występujących między materiałem Wiltinka i wsp. a wynikami naszymi i szeregu innych autorów, wymaga dalszych badań.

Wnioski

1. Poziom żelaza we krwi szczurów ulega w ciągu dnia istotnym zmianom, przy czym wieczorem, w godz. 19.00—20.00, jest on niższy średnio o 30% aniżeli rano w godz. 7.00—8.00.

2. Utajona zdolność wiązania żelaza przez białka surowicy szczurów zmienia się odwrotnie niż poziom żelaza i wieczorem jest istotnie wyższa niż rano. Średni wzrost uzwż wynosi ok. 30%.

3. Dziennie wahania poziomu żelaza we krwi szczurów nie są związane ze zmianami w pojemności białek nośnikowych znajdujących się w osoczu.

PIŚMIENICTWO

1. Barański S., Czerski P., Krzemińska-Ławkowicz I., Krzymowski T., Ławkowicz W.: Układ krwiotwórczy zwierząt laboratoryjnych. PWN, Warszawa 1962.
2. Bearn A. G., Parker W. C.: rozdział w: Iron Metabolism. An International

- Symposium sponsored by Ciba, Aix-En-Provence. Springer Verl., Berlin—Göttingen—Heidelberg 1964, s. 60—61.
3. Bowie E. J. W., Tauxe W. N., Sjöberg W. E. Jr., Yamaguchi M. Y.: *Amer. J. Clin. Pathol.* **40**, 491—494, 1963.
 4. Brodan V., Kuhn E., Brodanová M., Válek J.: *Čas. Lek. Čes.*, **107**, 1212—1215, 1968.
 5. Czermiński J., Iwasiewicz A., Paszek Z., Sikorski A.: *Metody statystyczne w doświadczalnictwie chemicznym*. PWN, Warszawa 1970.
 6. Fox R. R., Laird C. W., Kirshenbaum J.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **145**, 421—427, 1974.
 7. Ganzoni A. M.: *Kinetik und Regulation der Erythrocytenproduktion. Experimentelle Untersuchungen an der normalen und anämischen Ratte*. Springer Verl., Berlin—Heidelberg—New York 1970.
 8. Hamilton L. D., Gubler C. J., Cartwright G. E., Wintrobe M. M.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **75**, 65—68, 1950.
 9. Heilmann E.: *Med. Klin.*, **68**, 1042—1045, 1973.
 10. Hemmeler G.: *Helv. Med. Acta* **11**, 201—207, 1944.
 11. Høyer K.: *Acta Med. Scand.*, **119**, 562—576, 1944.
 12. Høyer K.: *Acta Med. Scand.*, **119**, 577—585, 1944.
 13. Kamschmidt R. F., Upchurch H. F.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **134**, 527—529, 1970.
 14. Kuhn E., Brodan V., Brodanová M., Ryšánek K., Kordač V.: *Čas. Lek. Čes.* **106**, 1424—1426, 1967.
 15. Laurell C. B.: *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* **5**, 118—121, 1953.
 16. Lynch S. R., Simon M., Bothwell T. H., Charlton R. W.: *Clin. Sci. Mol. Med.*, **45**, 331—336, 1973.
 17. Paterson J. C. S.: *Proc. Soc. Exp. Biol.* **96**, 97—100, 1957.
 18. Paterson J. C. S., Marrack D., Wiggins H. S.: *Clin. Sci.*, **11**, 417—423, 1952.
 19. Ramsay W. N. M.: *Clin. Chim. Acta*, **2**, 214—220, 1957.
 20. Schapira F.: *Rev. Franc. Etud. Clin. Biol.*, **7**, 776, 1962.
 21. Schäfer K. H.: rozdział w: *Iron Metabolism. An International Symposium Sponsored by Ciba, Aix-En-Provence. Springer Verlag Berlin—Göttingen—Heidelberg 1964*, s. 280—288.
 22. Speck B.: *Helv. Med. Acta*, **34**, 231—238, 1968.
 23. Stengle J. M., Schade A. L.: *Brit. J. Haematol.*, **3**, 117—123, 1957.
 24. Vacek A., Rotkovská D., Raková A.: *Rev. Europ. Etud. Clin. Biol.*, **16**, 158—161, 1971.
 25. Waldenström J.: *Acta Med. Scand.*, suppl. **170**, 252—279, 1946.
 26. Wiltink W. F., Kruithof J., Mol C., Miss Gré Bos, Van Eijk H. G.: *Clin. Chim. Acta*, **49**, 99—104, 1973.
- Otrzymano 28 I 1975.

РЕЗЮМЕ

Исследования проводились на самцах крыс породы Wistar, весящих 246—363 г. Кровь для исследований брали два раза в день: с 7 до 8 и с 19 до 20 часов; определялся уровень железа и скрытая способность связывания железа белками сыворотки. Утренние и вечерние величины этих параметров сравнивались

между собой статистически. Установлено, что уровень железа в крови в вечерние часы был в среднем на 30% ниже утреннего, причем разница между полученными величинами оказалась статистически существенной ($P < 0,001$). Зато скрытая способность связывания железа вечером была выше утренней в среднем на 30% ($P < 0,001$).

Авторы считают, что дневные колебания уровня железа в крови не зависят от изменений в белках сыворотки, играющих роль носителя этого элемента.

S U M M A R Y

Investigation were carried out on normal male Wistar rats, weighing 246 g. — 363 g. The serum iron level and the latent iron binding capacity (LIBC) were determined in blood samples taken between 7 and 8 am and between 7 and 8 pm. Morning and evening values of those parameters were statistically compared.

The mean value of the serum iron level was 30% lower in the evening than in the morning. The difference was statistically highly significant ($P < 0,001$).

The mean value of LIBC on the other hand was about 30% higher in the evening than in the morning ($P < 0,001$).

It was suggested, that the diurnal serum iron variations do not depend on the changes in the iron binding proteins present in the serum.

