

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДОНЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ВАСИЛЯ СТУСА

ІЩЕНКО ІННА МИКОЛАЇВНА

Допускається до захисту
завідувач кафедри біофізики і
фізіології,
к.х.н., доцент

Доценко О. І.
« » 2024

ЛАБОРАТОРНІ ПІДХОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ АНЕМІЙ У ВАГІТНИХ

Спеціальність 091 Біологія

Кваліфікаційна (магістерська) робота

Науковий керівник:
Доценко О.І. завідувач кафедри
Біофізики і фізіології.....,
к.х.н., доцент

Оцінка: ____/____/____
(бал/за шкалою ЕКТС/за національною шкалою)

Голова Е.К.: _____
(підпис)

Вінниця 2024

Іщенко І.М. Лабораторні підходи дослідження анемій у вагітних. 091 Біологія. Донецький національний університет імені Василя Стуса. Вінниця. 2024.

Проаналізовано динаміку зміни запасів заліза (сироваткового феритину, гемоглобіну, вільного заліза, залізов'язуючої здатності сироватки, коефіцієнту насичення трансферину) з I по III триместри вагітності у 90 жінок, які не приймали препарати заліза. Виявлено помітні зрушення у гематологічній та біохімічній картині крові вагітних контрольної групи з нормальними вихідними запасами заліза. Встановлено, що у II триместрі серед вагітних контрольної групи залізодефіцитна анемія розвинулася у 3 (9,1%), а латентний дефіцит заліза – у 22 (66,6%) обстежених. В III триместрі виснаження запасів заліза виявлялося у всіх без виключення вагітних контрольної групи. При цьому у 13 (59,1%) вагітних встановлено латентний дефіцит заліза, у решти 9 (40,9%) – залізодефіцитну анемію.

Ishchenko I.M. Laboratory approaches to the study of anemia in pregnant women. 091 Biology. Vasyl' Stus Donetsk National University. Vinnytsia. 2024.

The dynamics of changes in iron stores (serum ferritin, hemoglobin, free iron, serum iron-binding capacity, transferrin saturation coefficient) from the 1st to the 3rd trimester of pregnancy in 90 women who did not take iron preparations were analyzed. Noticeable changes were found in the hematological and biochemical blood picture of pregnant women in the control group with normal initial iron stores. It was established that in the 2nd trimester, among pregnant women in the control group, iron deficiency anemia developed in 3 (9.1%), and latent iron deficiency in 22 (66.6%) of the examined. In the 3rd trimester, depletion of iron stores was detected in all pregnant women in the control group without exception. At the same time, latent iron deficiency was detected in 13 (59.1%) pregnant women, and iron deficiency anemia in the remaining 9 (40.9%)

ЗМІСТ

ВСТУП	4
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	
1.1. Метаболізм заліза в організмі людини	6
1.2. Залізодефіцитна анемія вагітних	10
1.3. Біомаркери заліза та діагностика залізодефіциту у вагітних	17
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	22
2.1. Характеристика груп дослідження	22
2.2. Лабораторні методи дослідження	23
2.2.1. Визначення показників вмісту сироваткового заліза у плазмі крові	23
2.2.2. Визначення феритину плазми крові	26
2.3. Статистичні методи дослідження	32
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТУ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ	33
3.1. Аналіз гематологічних та біохімічних показників крові у I, II та III триместрах вагітності	33
3.2. Обговорення результатів дослідження	39
ВИСНОВКИ	43
СПИСОК ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ	44

ВСТУП

Іони заліза необхідні для функціонування всіх клітин, так як у складі білків і ферментів беруть участь у доставці кисню, транспорті електронів і ферментативній активності. Клітини з високою швидкістю метаболізму вимагають більше заліза і піддаються більшому ризику дисфункції під час дефіциту заліза. Нестача заліза в організмі призводить до багатьох негативних наслідків, одним з яких є залізодефіцитна анемія (ЗДА). За даними ВООЗ, приблизно третина населення світу страждає від прихованого дефіциту заліза та залізодефіцитної анемії. ЗДА залишається серйозною проблемою екстрагенітальної патології в акушерстві, оскільки частота захворювання не знижується. Частота анемії вагітних становить 15-80% [1]. У 9 з 10 хворих анемія носить залізодефіцитний характер [2, 3]. Згідно з літературними даними, прихований дефіцит заліза (ПДЗ) у вагітних відноситься до найбільш поширених станів і зустрічається в 48-100% випадків [4-6].

Хоча спостерігається незначне зниження поширеності анемії серед вагітних жінок, останні оцінки показують, що в усьому світі 36% усіх вагітних жінок віком 15–49 років все ще страждають на анемію (це значення коливається в межах 17,2% [12,7–22,8] у країнах з високим рівнем доходу до 42,6% [39,1–46,0] у країнах із низьким рівнем доходу) [6]. Вважається, що дефіцит заліза (ДЗ) є причиною 40% анемій у всьому світі під час вагітності [4-6]. Залізо необхідне для посилення еритропоезу, що відбувається разом зі збільшенням об'єму плазми, у другому та третьому триместрах, та для розвитку плаценти та плоду [7]. Основною причиною залізодефіцитної анемії (ЗДА) у вагітних є порушення синтезу гемоглобіну внаслідок дефіциту заліза. Спочатку розвивається так званий латентний дефіцит, а згодом і ЗДА [4]. Анемія матері може призвести до ускладнень, що загрожують життю як для матері, так і для дитини, такими як низька вага при народженні, низькі запаси заліза в дитинстві, що, можливо, призводить до дитячої анемії та порушення розвитку [8]. Мозок плода, що швидко розвивається, піддається особливому ризику, який може виникнути

через дефіцит заліза матері [9]. Низьке споживання заліза під час вагітності асоціюється з аутизмом, шизофренією та аномальною структурою мозку у нащадків.

Забезпечення плода залізом повністю залежить від його транспорту через плаценту. Потрібно також враховувати, що плацента, як орган, який постійно розвивається, повинна збалансувати власні потреби в залізі з потребами матері та плоду, і її можна розглядати як центральну роль у доступності заліза під час вагітності [7]. Через низьку доступність заліза у матері внутрішньоплацентарний гомеостаз заліза є пріоритетним, незважаючи на дефіцит заліза у плода [10, 11].

Таким чином, своєчасна діагностика і адекватне лікування залізодефіцитної анемії вагітних здатні попередити розвиток значної кількості ускладнень перебігу вагітності та пологів, покращити самопочуття вагітних.

Метою цього дослідження було вивчення динаміки вмісту залізовмісних компонентів крові у жінок при фізіологічній вагітності та аналіз інформативності деяких лабораторних показників вмісту заліза.

Завдання дослідження:

1. Проаналізувати динаміку зміни запасів заліза (залізовмісних білків і вільного заліза) з I по III триместри вагітності у 100 вагітних жінок.
2. Обґрунтувати необхідність феропротекції з ранніх строків вагітності.

Об'єкт дослідження. Вміст залізовмісних компонентів крові продовж фізіологічної вагітності.

Предмет дослідження. Кров і плазма крові вагітних жінок.

Методи дослідження: загальноклінічні лабораторні інструментальні та статистичні.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Метаболізм заліза в організмі людини

Залізо є критично важливим мікроелементом, який у людини міститься в білках, що переносять кисень (гемоглобіні), і ферментах, які каталізують важливі реакції (наприклад, цитохроми та мієлопероксидаза). У середньому доросла людина містить 3–4 г заліза, причому приблизно дві третини заліза знаходяться в еритроїдному відділі [12]. Решта заліза (15-25%) зберігається у зв'язаному вигляді з феритином і гомоседерином у периферичних органах, головним чином у печінці. Залізо в плазмі (тобто залізо, доступне для забезпечення потреб клітин) майже все зв'язане з циркулюючим трансферином і має високий оборот, приблизно 25 мг заліза надходить у плазму та виходить із неї щодня. Плазма також містить феритин із рівнем, що корелює з рівнем заліза в організмі; хоча збільшення циркулюючого феритину в контексті інфекції робить його не ідеальним маркером [13].

Частина, що залишилася припадає на м'язовий міоглобін (8%), цитохроми і заліzosеропротейни, що виконують функцію транспорту електронів в мітохондріях, і залізовмісні ферменти (оксидази, супероксиддисмутази, каталази) [2, 4].

Невелика кількість (1–2 мг/добу) харчового заліза надходить у плазму через ентероцити дванадцятипалої кишки. На всмоктування харчового заліза також впливає джерело заліза та стан дванадцятипалої кишки, наприклад рН. Негемове залізо потрапляє в ентероцити через транспортер двовалентного металу 1 (DMT1) [14] на апікальній мембрані. Залізо виходить у плазму через єдиний відомий експортер заліза, феропортин (FPN), на базолатеральній мембрані. Механізм, за допомогою якого зв'язане з гемом залізо проникає в ентероцити дванадцятипалої кишки, досі не повністю вивчений.

Усе залізо плазми крові зв'язане з трансферином, що синтезується печінкою [3]. Трансферин діє як баланс між ретикулоендотеліальним

вивільненням заліза та поглинанням кістковим мозком. Коли залізо зв'язується з трансферином, воно транспортується до кісткового мозку для виробництва гемоглобіну та частини еритроцитів. Організм втрачає залізо через потовиділення, десквамацію епітеліальних клітин і менструацію. Втрата заліза є обов'язковою, і не існує спеціальних засобів для її регулювання. Таким чином, гомеостаз заліза значною мірою залежить від жорсткої регуляції всмоктування, яке відбувається здебільшого в проксимальному відділі кишечника. Зв'язаний із залізом трансферин життєво важливий для розподілу заліза між різними клітинами організму.

Трансферин зазнає конформаційних змін після зв'язування із залізом. Залізо циркулює в плазмі, поки не приєднається до рецептора трансферину на клітині-мішені. Трансферин може зв'язуватися з двома атомами Fe^{3+} з високою спорідненістю. Розвантаження зв'язаного із залізом трансферину починається зі зв'язування трансферину з рецептором трансферину на поверхні клітини. Це починається з утворення вкритих клатрином ямок і інтерналізації везикули в цитоплазму. Зниження рН у везикулі за допомогою протонних насосів (H^+ АТФ-аза) до 5,5 викликає дисоціацію зв'язаної із залізом трансферину з вивільненням іонів заліза. Крім того, зв'язування трансферину з рецепторами трансферину знижує його спорідненість із залізом. Після ендоцитозу можуть відбуватися два шляхи – шляхи деградації або рециркуляції. Шлях деградації – процес, у якому відбувається дисоціація іонів заліза (III) від трансферину з ранньої та пізньої ендосоми. Тепер залізо можна використовувати для зберігання або включати в гемоглобін. Шлях рециркуляції включає рециркуляцію трансферину. Після дисоціації заліза трансферин називають апотрансферином. Апотрансферин залишається зв'язаним зі своїм рецептором, оскільки він має високу спорідненість до своїх рецепторів при зниженому рН [7]. Він повертається назад до плазматичної мембрани, все ще зв'язаний зі своїм рецептором. При нейтральному рН апотрансферин відокремлюється від свого рецептора, потрапляючи в кровообіг, перезавантажуючи залізо та повторюючи цикл.

Перерозподіл заліза в організмі людини показаний на рис 1.1).

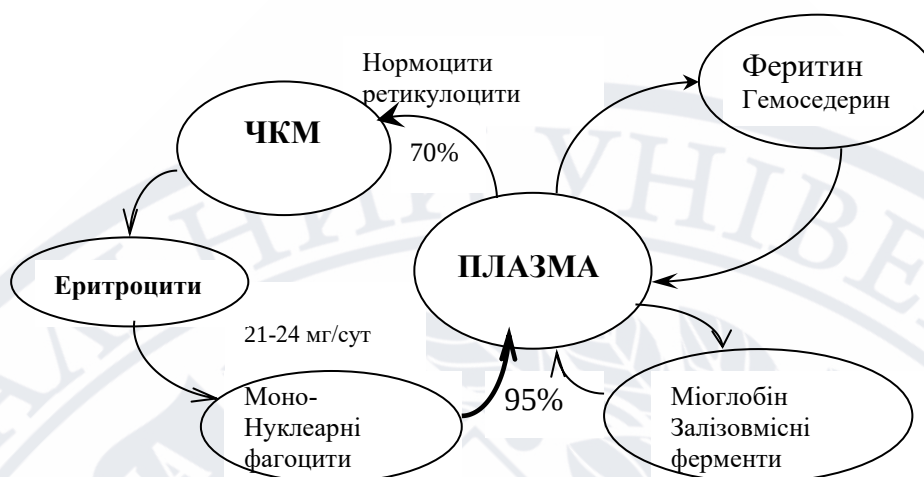


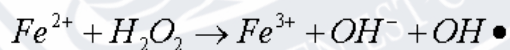
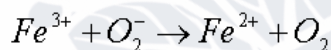
Рис. 1.1. Загальна схема обміну заліза в організмі. ЧКМ – червоний кістковий мозок.

Кількість заліза, зв'язаного з трансфериним і в кровообігу, становить приблизно 0,2 мг/кг [9,10] за нормальних умов. Запасне залізо міститься в макрофагах селезінки, кісткового мозку або печінки, а також у клітинах паренхіми печінки (5–6 мг/кг у жінок, 10–12 мг/кг у чоловіків). Макрофагальне залізо в основному одержується шляхом переробки старіючих еритроцитів, тоді як клітини паренхіми печінки отримують або вивільняють залізо з трансферину або в нього [9]. Найбільший запас заліза в організмі міститься в циркулюючих еритроцитах і еритроїдних попередниках у кістковому мозку (приблизно 28 мг/кг у жінок і 32 мг/кг у чоловіків). Майже все це еритроцитарне залізо знаходиться у формі Hb [9].

Більша частина заліза надходить у плазму (близько 25 мг/добу) шляхом вивільнення заліза, переробленого зі старіючих еритроцитів макрофагами селезінки. Надходження заліза в плазму контролюється головним регулятором заліза — печінковим гепсидином. Гепсидин зв'язується, закупорює та викликає інтерналізацію та деградацію FPN, обмежуючи клітинний експорт заліза [15]. Рівні гепсидину контролюються на рівні транскрипції за допомогою конкуруючих сигналів статусу заліза, ступеня еритропоезу, запалення та (можливо) вагітності [16, 17].

Через свою токсичність залізо в цитоплазмі зв'язується з білками, такими як полі(RC)-зв'язуючий білок 1 [10], функціонуючи як цитозольний шаперон заліза в доставці заліза до феритину. Функція феритину [13] - створення запасів заліза і швидка його мобілізація в залежності від потреби; накопичується в органах депо – у печінці (1/3 феритину), селезінці, кістковому мозку; вміст у сироватці в нормі становить 15-150 мкг/л. У молекулі феритину залізо зберігається у формі тривалентного заліза, пов'язаного з гідроксидними та фосфатними аніонами [10]. Кожна молекула феритину може секвеструвати приблизно до 4500 атомів заліза. Феритин також має ферментативні властивості, перетворюючи тривалентне залізо в двовалентне залізо, оскільки залізо засвоюється та секвеструється в мінеральному ядрі феритину. Невеликі кількості феритину також присутні в сироватці крові людини і підвищуються в умовах перевантаження залізом і запалення. Феритин сироватки бідний залізом може містити нову «G» (глікозильовану) субодиницю [10].

Вільне залізо може викликати пошкодження білків, ліпідів і нуклеїнових кислот через утворення активних форм кисню (АФК), таких як гідропероксильний радикал ($\text{HO}\cdot$), гідроксильні радикали ($\text{OH}\cdot$) і супероксид-аніони ($\text{O}_2\cdot^-$) [2]. Вільне нехелатоване залізо внаслідок його каталітичної дії в реакції $\text{Fe}^{2+} \leftrightarrow \text{Fe}^{3+}$ утворює гідроксильні радикали, які здатні викликати пошкодження клітинних мембран і загибель клітин. Їжі, його всмоктування, транспорту та депонування в нетоксичній розчинній формі.



Таким чином, іони заліза постійно знаходяться в зв'язаній формі. Головні органи, які виконують функцію зберігання заліза, - це печінка, яка містить близько 700 мг заліза, селезінка і кістковий мозок. М'язи також важливі через їх велику масу, хоча реальна концентрація заліза, що зберігається в них, низька - 40 мг/кг.

1.2. Залізодефіцитна анемія вагітних

Дефіцит заліза під час вагітності пов'язаний зі збільшенням потреби організму жінки в залізі. Добова потреба під час вагітності в залізі збільшується і становить: у I триместрі – 0,6–0,8 мг/добу, у II триместрі – 2,8–3 мг/добу, у III триместрі – 3,5–4 мг/добу [1, 5, 18].

Вагітність висуває значні вимоги до організму жінки та запускає багато фізіологічних адаптацій, які призводять до поступового збільшення об'єму крові до шостого тижня вагітності. Спочатку це досягається затримкою води та електролітів за допомогою ренін-ангіотензин-альдостеронової системи. При фізіологічній вагітності загальна кількість плазми зростає на 30-50%, а кількість еритроцитів та гемоглобіну лише на 12-18% [6]. Оскільки об'єм плазми збільшується приблизно на 1000 мл, а об'єм еритроцитів лише на 300 мл, виникає відносна «анемія», яка досягає максимуму у III триместрі (*hyperplasmia gravidarum*). При багатоплідній вагітності підвищення об'єму крові має більш виражений характер - 2000-3000 мл. Це призводить до падіння вмісту гемоглобіну приблизно до 105 г/л та гематокриту до 30%. Деякі автори вважають нижньою межею фізіологічної гемодилуції 100 г/л гемоглобіну та 3,0 млн еритроцитів [11].

Активация еритропоезу відбувається на дещо пізнішій стадії та спричинена підвищенням рівня еритропоетину у відповідь на підвищення плацентарного лактогену та прогестерону. Зазвичай сплеск виробництва еритроцитів (еритроцитів) починається на 16-му тижні та поступово прискорюється, досягаючи 25% збільшення до 36-го тижня [6]. На 16-22 тижнях досягається нова рівновага між об'ємом плазми та масою еритроцитів. Через відставання еритропоезу порівняно з більш динамічним збільшенням об'єму плазми відбувається зміна деяких параметрів загального аналізу крові, таких як зниження гемоглобіну (Hb), гематокриту (Hct) і кількості еритроцитів. Це явище називають «фізіологічною анемією вагітності». Показники еритроцитів, включаючи середній корпускулярний об'єм (MCV), середній корпускулярний

гемоглобін (МСН) і середню корпускулярну концентрацію гемоглобіну (МСНС), залишаються в межах норми для невагітних жінок. Збільшення ретикулоцитів, однак, може спричинити тимчасовий помірний макроцитоз, який не слід плутати з патологічною макроцитарною анемією. Вважається, що біологічні наслідки фізіологічної анемії під час вагітності зменшують в'язкість крові, щоб полегшити васкуляризацію та перфузію новоутвореної матково-плацентарної одиниці, а згодом забезпечити ефективну доставку кисню та поживних речовин до плоду [6].

Як і більшість процесів під час вагітності, фізіологія заліза змінюється відповідно до потреб зростаючого плоду. Примітно, що спостерігається значне зниження рівнів материнського гепсидину, що дозволяє збільшити доступ заліза до плаценти через покращене поглинання та використання заліза, що може підтримувати розвиток і ріст плаценти [19]. Тригер для цього зниження вмісту гепсидину досі невідомий. Існує сильна кореляція між періодом цього зниження гепсидину та швидким розвитком і ростом плаценти, що відбувається з початку другого триместру і далі [20]. Під час вагітності збільшення потреби в залізі виснажує запаси заліза та циркулююче залізо. Це врівноважується зниженням рівня гепсидину (спричиненого можливим плацентарним фактором), що сприяє підвищенню всмоктування заліза та, відповідно, доступу заліза до плаценти та плоду, що розвивається. Рецептори до трансферину (TfR1) на поверхні плацентарного синцитіотрофобластного шару полегшують транспорт заліза до плаценти. Комплекс Tf:TfR1 інтерналізується. З ендосоми залізо транспортується DMT1 (рис 1.2). FPN, розташований на базальній стороні синцитіотрофобласта, транспортує залізо в строму плаценти. Транспортування заліза звідти до кровообігу плода потребує подальшого з'ясування.

Плацента є посередником у всіх взаємозв'язках між матір'ю та плодом. Вона забезпечує плід усіма материнськими поживними речовинами, метаболітами, імуноглобулінами та киснем; вона виробляє гормони, необхідні для внутрішньоутробного розвитку, видаляє фетальні відходи і вуглекислий газ, дозволяючи імунній системі матері не реагувати на зростаючі тканини плоду [6].

Усе залізо, яке отримує плід, забирається з кровообігу матері плацентою і передається плоду; однак плацента оцінює потреби плоду, перш ніж доставити вантаж [6, 20].

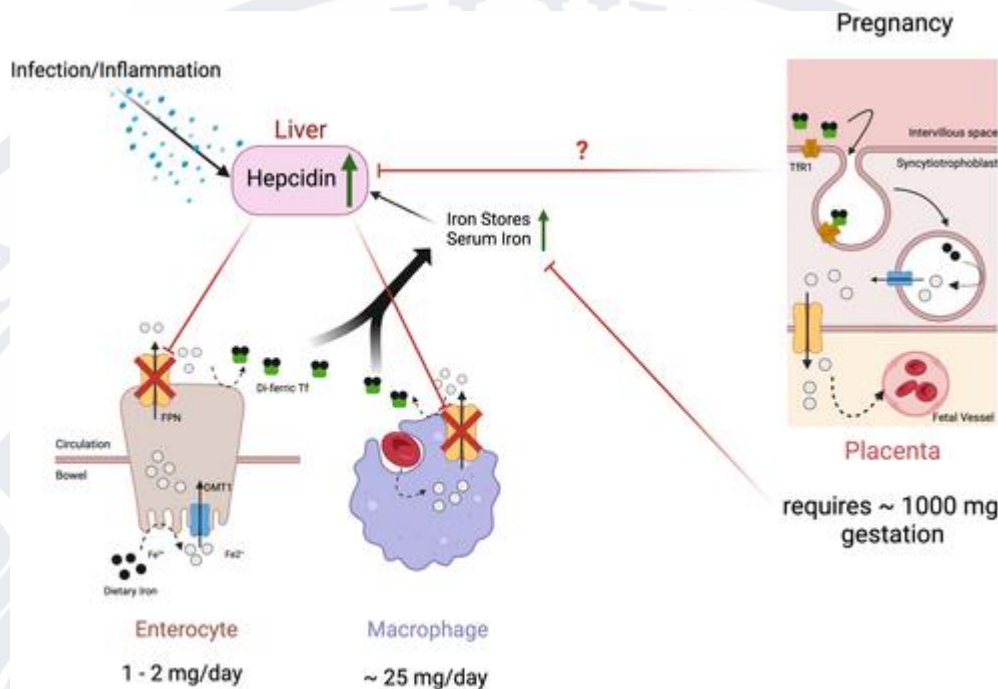


Рис. 1.2. Ключові аспекти регуляції доступності заліза [6].

Вплив статусу заліза у матері на концентрацію заліза в плаценті також незрозумілий. До певної міри плацента підтримує постійний рівень негемового заліза незалежно від стану заліза у матері чи плоду, що свідчить про наявність рівня плацентарного контролю над надходженням заліза у плода і, таким чином, механізму саморегуляції [20]. Деякі дослідження показали, що не виявили різниці між мишами з дефіцитом заліза та мишами з нормальним вмістом заліза [21]. Навпаки, інші показали явне та залежне від гестаційного віку зниження вмісту негемового заліза в плацентах мишей із дефіцитом заліза порівняно з тими, у яких було достатньо заліза [20].

Результати низки наукових досліджень підтвердили, що запаси заліза у новонароджених зменшуються, коли мати страждає на дефіцит заліза або ЗДА. Материнська регуляція біодоступності заліза запобігає ембріональному перевантаженню залізом, але не захищає ембріон/плід від дефіциту заліза. При

низькій доступності материнського заліза пріоритетним є гомеостаз плацентарного заліза, незважаючи на дефіцит заліза у плода [4, 8].

Материнська адаптація до дефіциту заліза недостатня для захисту ембріонів від ЗДА, пріоритетним є утримання плацентарного заліза, незважаючи на дефіцит заліза у плода. Здорова материнська плацентарно-плодова одиниця обробляє залізо: материнський гепсидин пригнічується, що дозволяє збільшити абсорбцію заліза з раціону і вивільнення заліза із запасів для підтримання його концентрації у сироватці крові. Це забезпечує оптимальне перенесення заліза з материнського кровотоку через плаценту до плода, де залізо потім використовується для еритропоезу, а його надлишок зберігається у печінці плода [8].

Збільшення частоти передчасних пологів та слабкості родової діяльності при ЗДА пов'язано з тим, що ДЗ веде до розвитку окислювального стресу з утворенням надмірної кількості вільних радикалів кисню.

Залізо відіграє ключову роль у процесах тканинного дихання, що визначає його біологічну значущість. У вагітних із залізодефіцитною анемією характерними є тканинна гіпоксія та пов'язані з нею патологічні стани. Основна функція гемоглобіну полягає у зв'язуванні, транспортуванні та передачі кисню. Головним негативним фактором, що впливає на організм матері та плода при дефіциті заліза, є тканинна гіпоксія, яка спричиняє подальші метаболічні порушення. Збільшення потреби в кисні під час вагітності на 15–33% поглиблює прояви гіпоксії [1, 22]. Стан гемічної гіпоксії та підвищення рівня лактату в тканинах і органах стимулюють продукцію еритропоетину нирками, що активує еритропоез при легких формах ЗДА. Проте, починаючи з другого триместру вагітності, спостерігається поступове значне зниження рівня феритину, підвищення концентрації трансферину та відносно низький рівень сироваткового заліза. Такий розвиток ферокінетичних показників відповідає сидеропенічному стану, який характеризується негативним балансом заліза та поступовим виснаженням його запасів протягом вагітності. У цьому процесі спершу зменшується кількість заліза, депонованого в органах, потім

транспортного заліза, далі заліза, що входить до складу гемовмісних ферментів, і, нарешті, заліза, яке використовується для синтезу гемоглобіну [23, 24].

Різні дослідження показали, що при дефіциті заліза вагітні жінки більш сприйнятливі до інфекційних захворювань, так як залізо бере участь в рості нервових клітин, синтезі колагену, метаболізмі порфірину, термінальному окисненні і окисному фосфорилуванні в клітинах, роботі імунної системи [1, 22]. При тривалій анемії порушується функція плаценти, розвивається плацентарна недостатність [3]. Часто (у 40-50%) приєднується гестоз, переважно набряково-протеїнуричної форми; передчасні пологи настають у 11-42%; гіпотонія і слабкість родової діяльності відзначаються у 10-15%; гіпотонічні кровотечі в пологах виникають у 10% породіль; післяпологовий період ускладнюється гнійно-септичними захворюваннями у 12% і гіпогалактією у 38% породіль [1, 22]. Навіть при прихованому дефіциті заліза у 59% жінок відзначено несприятливий перебіг вагітності у вигляді загрози її переривання і гестозу [2].

Дефіцит заліза і недостатнє депонування його в антенатальному періоді сприяють розвитку ЗДА у новонароджених дітей, приводячи до зміни метаболізму клітинних структур, порушення гемоглобіноутворення, затримки розумового і моторного розвитку, появи хронічної гіпоксії плода, а також до порушень в імунному статусі новонароджених дітей, що проявляється у зниженні рівня імуноглобулінів основних класів та комплементу, абсолютного і відносного числа В- і Т-лімфоцитів [25].

При легкому перебігу хвороби об'єктивними ознаками анемії служать тільки лабораторні показники. Клінічна симптоматика з'являється зазвичай при середньому ступені важкості анемії [22]. Вона обумовлена неповним кисневим забезпеченням тканин і проявляється у вигляді загальної слабкості, запаморочення, головного болю, серцебиття, задишки, запаморочення, зниження працездатності, безсоння. Симптоми, властиві тільки ЗДА, характеризуються змінами шкіри, нігтів, волосся, м'язовою слабкістю, що не відповідає ступеню анемії, спотворенням смакових відчуттів. Шкіра стає сухою, на ній з'являються тріщини. Спостерігається легка жовтизна рук і трикутника під носом внаслідок

порушення обміну каротину при дефіциті заліза. Іноді виникає ангулярний стоматит: тріщини в кутах рота. Змінюється форма нігтів, вони стають більш щільними і навіть стають увігнутими і ламкими.

Анемія вагітних є тим несприятливим фоном, на якому розвиваються багато ускладнень у матері і плоду [22].

Розрізняють три стадії дефіциту заліза:

Передлатентний дефіцит – зменшення запасів заліза в тканинах організму без зменшення концентрації сироваткового заліза.

Латентний дефіцит – зменшення запасів заліза в депо при збереженні концентрації гемоглобіну в периферійній крові вище від нижньої межі норми.

Власне залізодефіцитна анемія – зниження концентрації гемоглобіну нижче норми.

Лікувальна тактика при ЗДА вагітних включає білкову дієту, вітаміни, препарати заліза. Максимальна кількість заліза, яка може всмоктатися з їжі, - 2,5 мг/добу. Харчування має бути повноцінним, містити достатню кількість заліза і білка [4, 26]. Особливо корисні м'ясні продукти. З м'яса всмоктується 6% заліза, з яєць, риби - в 2 рази менше, а з рослинної їжі - тільки 0,2%. Тому рекомендована дієта [24], яка містить 120-200 г м'яса або 150-250 г риби в день, 1 яйце, до 1 кг молочних продуктів (сир, сир, кефір та ін.), 80-100 г жирів; овочів і фруктів - близько 800 г, частину з яких потрібно з'їдати в сирому вигляді (морква, ріпа, капуста, яблука). Поряд з цим показані вітаміни: С - 100 мг, А - 6600 МО, В1 - 2,5 мг, В2 - 4 мг, РР - 20 мг [22, 25].

Принципи лікування ЗДА широко представлені у роботах вітчизняних та зарубіжних авторів [1, 2, 9,10]:

1. Збалансоване харчування - використання продуктів, що містять залізо і достатню кількість білка.

2. Використання препаратів заліза. Невиправданим є призначення замість заліза вітамінно-мінеральних комплексів.

3. Переважно призначення препаратів заліза орального застосування. Лікування проводити високими добовими дозами одного препарату з хорошою

переносимістю. Ефективна мінімальна доза – 100 мг елементарного заліза на добу, а максимальна – 300 мг [11, 22].

4. Призначення гемотрансфузій проводиться тільки за життєвими показаннями. Критерієм життєвих показань є не рівень гемоглобіну, а загальний стан хворої та стан гемодинаміки.

5. Починати проведення лікування з виявлення ЗДА, а краще ЛДЗ і до досягнення повної клініко-гематологічної ремісії.

Після оцінки ефективності лікування за клініко-лабораторними ознаками, продовжити підтримуючу терапію. Експерти ВООЗ рекомендують після ліквідації гематологічної картини анемії не припиняти терапію, а лише вдвічі зменшити дозу препарату пацієнта.

6. Використовувати препарати з оптимальним співвідношенням «витрати/ефективність», що дозволяє мінімізувати витрати на лікування.

7. Усунення причини ЗДА.

Пероральні препарати двовалентного заліза повинні містити 40–100 мг елементарного заліза і прийматися щодня або через день для пом'якшення побічних ефектів [5]. Щоб максимізувати всмоктування, пацієнти повинні приймати перорально залізо з вітаміном С (250–500 мг) натщесерце, якщо добре переноситься, за 1 годину до або через 2 години після кальцію, інгібіторів протонної помпи, антацидів, тироксину, чаю, кави, молока, сої та яєць. Відповідь на пероральний прийом заліза слід оцінювати шляхом вимірювання рівня гемоглобіну через 2–4 тижні після лікування починається. Лікування має тривати щонайменше 3 місяці після нормалізації рівня гемоглобіну до 6 тижнів після пологів.

1.3. Біомаркери заліза та діагностика залізодефіциту у вагітних

Робота над точною діагностикою, лікуванням і підтриманням рівня заліза і гемоглобіну у вагітних триває. Це пояснюється тим, що поточні діагностичні тести не стандартизовані, і інтерпретація є проблематичною за наявності запалення та інфекції. Лікування залежить від діагнозу; тому перегляд обмежень щодо інтерпретації стандартних тестів необхідний для оцінки їх ефективності.

Традиційно вимірювання концентрації гемоглобіну, еритроцитів, кольорового показника, гематокриту використовувалося для пацієнтів будь-якого віку для перевірки статусу заліза, оскільки велика частина анемій у всьому світі спричинена дефіцитом заліза.

Наступні дані лабораторних досліджень можуть бути використані для постановки діагнозу ЗДА: лейкоцити без морфологічних та кількісних особливостей; кількість тромбоцитів у нормі або трохи підвищена; кількість еритроцитів, Ht та рівень Hb знижено (знижується середній вміст Hb в одному еритроциті – менше 27 пг, середня концентрація Hb в еритроциті нижче 30 г/дл), мікроцитарна (нижче 80 фл)/гіпохромна анемія (колірний показник нижче 0,80), кількість ретикулоцитів у нормі або трохи підвищена, ширина розподілу еритроцитів за об'ємом (RDW) збільшена, анізоцитоз (значне збільшення RDW), пойкилоцитоз. Про тяжкість перебігу хвороби судять за рівнем гемоглобіну. Легка ступінь анемії характеризується зниженням гемоглобіну до 110-90 г/л; середня ступінь - від 89 до 70 г/л; важка - 69 г/л і нижче [2].

Поточне тестування заліза включає феритин сироватки, який є реактантом гострої фази, на рівень якого впливає запалення; Насичення трансферину (Tf), яке коливається через добову зміну сироваткового заліза; і рівень сироваткового заліза, який знижується при злоякісних новоутвореннях, інфекції та запаленні та підвищується при захворюваннях печінки [28]. Однак вимірювання гемоглобіну, як правило, є більш надійним, і важливо встановити причину анемії, тобто спричинену запаленням або дефіцитом заліза [19]. Це допоможе запобігти непотрібному призначенню замісної терапії залізом.

При констатації гіпохромної та/або мікроцитарної анемії насамперед слід визначити рівень заліза сироватки. Такі показники обміну заліза, як рівень ЗС, ЗЗЗС і насичення Тф залізом (КНТ), неможливо точно відрізнити ЗДА від АХЗ. Визначення рівня депо заліза щодо біоптату кісткового мозку теж малоінформативно. Кількісне визначення Тф у сироватці крові можна проводити методами радіальної імунодифузії, лазерної нефелометрії з визначенням розсіювання при малих кутах відхилення; нефелометрії з використанням фотометрів. Приблизну концентрацію Тф можливо визначити за допомогою ЗЗЗС.

Коефіцієнт насичення трансферину – похідний показник, що відображає питому вагу сироваткового заліза від загальної залізовв'язувальної здатності сироватки:

$$КНТ = \frac{ЗС}{ЗЗЗС} \cdot 100\%.$$
 У нормі значення коефіцієнта насичення трансферину 16–20%.

КНТ відображає відсотковий вміст рецепторів зв'язування на сироваткових транспортних білках, сполучених з молекулами заліза. Їхня концентрація в сироватці крові першою знижується під час негативного балансу заліза, тим самим знижуючи КНТ [32].

У клінічній лабораторній діагностиці простіше визначити ЗЗЗС, тому даний тест часто підміняє визначення Тф. Співвідношення між Тф і ЗЗЗС представлено в табл 1.1.

Табл 1.1. Співвідношення між трансферином і ЗЗЗС [28]

Співвідношення	Нормальні значення
$Tf \text{ (мкмоль/л)} \cdot 2 = ЗЗЗС \text{ (мкмоль/л)}$	Трансферин 23–45 мкмоль/л ЗЗЗС 46–90 мкмоль/л
$\frac{Tf \text{ (мг/л)} \cdot 2 \cdot 56000}{88000} = ЗЗЗС \text{ (мкг/л)}$	Трансферин 200–400 мг/дл ЗЗЗС 260–500 мкг/л
$Tf \text{ (мг/л)} \cdot 1,25 = ЗЗЗС \text{ (мкг/л)}$	Трансферин 200–400 мг/дл ЗЗЗС 260–500 мкг/л

Примітка. Дані співвідношення виведені на підставі наступних даних: 1 молекула Тн зв'язує два атоми Fe; атомна маса Fe 56 Д; молекулярна маса Тф 88000 Д.

При дефіциті заліза II ступеня концентрація трансферину зростає для оптимізації здатності зв'язувати залізо для транспорту, що своєю чергою знижує КНТ ще більше. Усі ці зміни зрештою призводять до мікроцитозу або анемії. Вимірюванням КНТ підтверджено низький статус заліза серед великої кількості жінок, які страждали на анемію і мали залізодефіцит [32].

Концентрація ретикулоцитарного гемоглобіну також визначає преанемічний, домікроцитарний дефіцит заліза, а отже, може служити раннім біомаркером для його виявлення. Перевага цього методу полягає в тому, що більшість обладнання для вимірювання концентрації гемоглобіну має здатність визначати вміст останнього в ретикулоцитах [26].

Оптимальним тестом з метою оцінки запасу заліза в організмі є визначення феритину (ФС). Вміст феритину може підвищуватися при запаленнях, оскільки є острофазним білком, але ЗДА при його нормальному або підвищеному рівні є вкрай малоюмовірною. У здорових жінок рівень феритину сироватки дорівнює 32-35 мкг/л [28], при ЗДА - 12 мкг/л і менше. Плацента має надзвичайну здатність депонувати феритин, у такий спосіб уникаючи великих коливань вмісту заліза в організмі матері та плода. Феритин також діє як внутрішньоклітинний регулятор лабільного пулу заліза, вивільняючи залізо, коли це необхідно, через регульовані молекули шаперонів, такі як NCOA4 [30].

Однак існують випадки, коли підвищену чи навіть нормальну концентрацію феритину в сироватці крові важко інтерпретувати, оскільки він є реагентом гострої фази, що підвищується за наявності системного запалення [31]. Також високий рівень феритину може вказувати на істинне загальне перенасичення залізом або просто його перехід у феритин у відповідь на запалення. Нормальний рівень може маскувати залізодефіцитний стан за наявності запального процесу. Сучасні рекомендації полягають у вимірюванні біомаркера запалення, такого як С-реактивний білок, при інтерпретації сироваткового феритину в умовах запального процесу чи інфекції.

Гепсидин знижується з прогресуванням вагітності, при цьому найнижчі рівні гепсидину спостерігаються в третьому триместрі [27]. Вагітні жінки з

невизначеним гепсидином у сироватці крові передають плоду більше заліза, прийнятого матір'ю, ніж жінки з виявленим гепсидином, що вказує на те, що материнський гепсидин частково визначає біодоступність заліза для плоду. Встановлено [15, 16], що протягом гестаційного періоду гепсидин позитивно корелює з феритином і трансферином і негативно корелює з розчинними рецепторами до трансферину (sTfR) і концентрацією гемоглобіну. Це відкриття свідчить про те, що регуляція гепсидину залізом і еритропоезу зберігається під час вагітності. Наразі гепсидин оцінюють як біомаркер при вагітності.

Основний споживач трансферринового заліза — червоний кістковий мозок у зв'язку з його еритропоетичною функцією, тому серед усіх клітин тіла людини еритроцити, що розвиваються, мають найбільшу щільність трансферринових рецепторів і містять 80% від їх загальної суми [33]. Регулюючи кількість рецепторів, клітина контролює і кількість заліза, що надходить. Після дозрівання червоних кров'яних тілець позаклітинна частина рецептора або рецептор повністю відщеплюється і потрапляє в кровотік у зв'язаному з молекулою трансферину вигляді [33]. Ця позаклітинна частина, що подорожує в кровотоку, називається розчинним, або сироватковим, рецептором трансферину - sTfR (soluble/serum transferrin receptor). Логічно, що концентрація sTfR у крові прямо пропорційно залежить від швидкості еритропоезу та опосередковано вказує на загальний стан заліза в організмі. З цієї причини концентрація трансферринових рецепторів може бути швидшим показником, наприклад, ефективності лікування, ніж інші біомаркери.

Однак існують деякі неочевидні особливості, зумовлені фізіологією цього методу, які варто враховувати під час його використання:

Перший нелогічний момент полягає у залежності sTfR від вмісту накопиченого заліза у тілі людини. Зменшення його запасів ніяк не впливає на рівень рецепторів [34] доти, доки резерви мікроелемента не закінчаться повністю: тільки в цьому випадку рівень sTfR різко зростає.

Такі фактори, як, наприклад, дієта, бідна на залізо, або низький вміст у крові деяких білків, що свідчать про виснаженість запасів заліза, теж не впливають безпосередньо на концентрацію sTfR.

З перших двох пунктів можна зробити висновок, що визначення концентрації sTfR може допомогти при швидкому діагностуванні наявності вже розвинених захворювань, але не для визначення виснаженості запасів або точної концентрації заліза в організмі людини.

Також концентрація sTfR ніяк не змінюється під впливом запалень [35], тому цей показник може бути вирішальним при встановленні діагнозу: для відмінності залізодефіцитної анемії та анемії хронічних захворювань або при визначенні залізодефіцитної анемії (ЗДА) у пацієнта із запаленням [34]. Біомаркер може бути корисним для діагностування різних видів мікроцитарної анемії [34].

Деякі автори приймають за норму концентрацію рецепторів у плазмі, що дорівнює $5,6 \pm 1,4$ мг/л, але всесвітньої встановленої норми, як і для більшості інших біомаркерів заліза, не існує [35]. Підвищений рівень рецепторів – $18 \pm 11,4$ мг/л, свідчить про наявність ЗДА у пацієнта.

У сучасній медицині використовують спеціальний рецепторно-феритиновий (sTfR-F) індекс [36], що враховує обидва показники. Він обчислюється за формулою $sTfR/\log(\text{Ferritin})$ (відношення між концентрацією розчинних трансферинових рецепторів та логарифмом від концентрації сироваткового феритину). Індекс дозволяє встановити відсутність запасів заліза в організмі та правильно діагностувати захворювання. Значення цього у здорової людини перебуває у інтервалі від 0,16 до 1,8 [36].

Таким чином, гемоглобін, відсоток насичення трансферину та феритин плазми є достатніми показниками для оцінки стану заліза у більшості вагітних жінок, а комбінація анемії та феритину $<15\text{--}30$ нг/мл є діагностичним показником дефіциту заліза.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Характеристика груп дослідження

При виконанні експерименту поведено динамічне спостереження за 90 здоровими вагітними в I (до 14 тижнів), II (24-26 тижнів) та III (36-38 тижнів) триместрі вагітності.

Середній вік в усіх групах був приблизно однаковий – $26.1 \pm 0.42\%$ (I група), $26.0 \pm 0.61\%$ (II група), $26.5 \pm 0.55\%$ (III група). Статистично значних відмінностей за віком між дослідними групами не виявлено ($p = 0.826$).

Розподіл вагітних за віком так само не виявило статистично значущу відмінність у дослідних групах не було вагітних молодше 18 років, переважали жінки віком 26-30 років – $33.3 \pm 6.66\%$ у I групі, $24.7 \pm 3.32\%$ у II групі, $29.4 \pm 5.41\%$ - III група ($\chi^2=1.49$; $p=0.222$).

Усі жінки були умовно здорові, без супутніх хронічних захворювань.

Всім жінкам виконувались загальноклінічні дослідження: розгорнутий загальний аналіз крові, який проводився на гематологічному аналізаторі фірми «Sysmex» (Японія), визначали групу крові та резус-фактор. Крім визначення загальноприйнятих показників гемоглобіну, еритроцитів, тромбоцитів, лейкоцитів з лейкоцитарною формулою, лімфоцитів, моноцитів, швидкості осідання еритроцитів, часу згортання крові та гематокриту, аналізувалися показники середнього вмісту середньої концентрації гемоглобіну в еритроциті (МСНС); проводилася характеристика функції еритрону (наявність анізо- та поїкілоцитозу).

Біохімічне дослідження крові (білковий склад сироватки крові – загальний білок, альбумінова) та глобулінова фракції, альбуміно-глобуліновий коефіцієнт; фібриноген, протромбіновий індекс, сечовина, креатинін, цукор крові, сироваткове залізо, ЗЗЗС); визначення показників функціонування печінки: білірубину, активності амінотрансфераз.

Діагноз анемії ставився на підставі аналізу концентрації гемоглобіну, числа еритроцитів, сироваткового заліза, загальної залізо-зв'язуючої сироватки крові, концентрації в ній феритину.

У роботі були проаналізовані результати лабораторного обстеження вагітних, які не приймали препарати заліза з метою феропрофілактики.

Кров для дослідження брали в ранкові години натще, з ліктьової вени вільним струмом гепаринізовані, сухі і вільні від заліза пробірки. У крові, що містить антикоагулянт, визначали гематологічні показники. У плазмі крові визначали параметри статусу заліза.

2.2. Лабораторні методи дослідження

2.2.1. Визначення показників вмісту сироваткового заліза у плазмі крові

Вміст сироваткового заліза (СЗ) та загальної залізо-зв'язувальної здатності (ЗЗЗС) встановлювали біохімічними методами з використанням діагностичних наборів «Залізо» та «Загальна зв'язувальна здатність» (GRANUM, Україна) фотоколориметрично [37, 38].

Визначення концентрації заліза в сироватці (плазмі) крові засновано на здатності заліза звільнятися з залізо-зв'язуючих пептидів сироватки крові та відновлюється завдяки дії гуанідину та гідроксиламіну. Динатрієва сіль 3-(2-піридил)-5,6-біс-(4-фенілсульфонової кислоти)-1,2,4-триазину (ферозин) утворює з іонами Fe^{+2} комплексну сіль фіолотового кольору. Підвищена чутливість, отримана завдяки стабільному пурпуровому кольору комплексу залізо-ферозин, дає змогу контролювати терапію пацієнтів з анемією, використовуючи лише 500 мкл сироватки крові, без використання спеціального обладнання.

Оптична густина дослідного розчину вимірюється при довжині хвилі 562 (530-590) нм у діапазоні (0 - 1) од. опт. щільності та довжині оптичного шляху 10 мм або 5 мм.

Аналіз проводиться згідно зі схемою, наведеною у таблиці 2.1.

Проби витримують 30 хв при кімнатній температурі, вимірюють оптичну щільність дослідної ($E_{\text{ДОСЛ}}$) і калібрувальної ($E_{\text{КАЛ}}$) проб проти холостої (пробірка №3), а оптичну щільність дослідної ($E_{\text{ДОСЛ'}}$) і калібрувальної ($E_{\text{КАЛ'}}$) проб проти холостої з кольорореагентом (пробірка №3').

Таблиця 2.1. Хід визначення концентрації заліза в сироватці (плазмі) крові.

Відміряємий об'єм, мл	Дослідна проба		Калібрувальна проба		Холоста проба	
	1'	1	2'	2	3'	3
Буферний розчин	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Сироватка (плазма)	0,25	0,25	-	-	-	-
Калібр. розчин	-	-	0,25	0,25	-	-
Деіонізована вода	-	0,02	-	0,02	0,25	0,27
Кольорореагент	0,02	-	0,02	-	0,02	-
Вимір. опти. щільність	$E_{\text{ДОСЛ'}}$	$E_{\text{ДОСЛ}}$	$E_{\text{КАЛ'}}$	$E_{\text{КАЛ}}$		

Розрахунок результатів:

$$C_{\text{ЗАЛІЗА}} = C_{\text{КАЛІБРАТОРА}} \cdot (E_{\text{ДОСЛ'}} - E_{\text{ДОСЛ}}) / (E_{\text{КАЛ'}} - E_{\text{КАЛ}}),$$

де: $C_{\text{ЗАЛІЗА}}$ – концентрація заліза в пробі (мкмоль/л чи мкг);

$C_{\text{КАЛІБРАТОРА}}$ – концентрація заліза в калібрувальному розчині (20 мкмоль/л чи 112 мкг);

$E_{\text{ДОСЛ}}$, $E_{\text{ДОСЛ'}}$, $E_{\text{КАЛ}}$, $E_{\text{КАЛ'}}$ – оптичні щільності розчинів, од. опт. щільності.

Визначення загальної залізо зв'язуючої здатності сироватки крові (ЗЗЗС).

Трансферин в непатологічних сироватках зв'язує іони заліза до 1/3 свого об'єму. Для насичення трансферину сироватку обробляють надлишковою кількістю іонів Fe^{+3} . Від не зв'язаних іонів заліза розчин звільняють за допомогою карбонату магнію. Визначаючи концентрацію заліза в насиченій сироватці, знаходять її загальну залізовз'язуючу здатність (333С) чи (ТІВС). Різниця між 333З та залізом в сироватці крові - це ненасичена залізовз'язуюча здатність, Н33З, сироватки (UІВС).

333З (чи ТІВС)=концентрація заліза у сироватці + Н33З(чи UІВС).

Аналіз проводиться згідно зі схемою, наведеною у таблиці 2.2.

Таблиця 2.2. Хід визначення загальної залізовз'язуючої здатності сироватки крові (333З).

Відміряти у пробірку, мл	Напівмікроаналіз	Макроаналіз
Насичуючий розчин заліза	1,0	2,0
Сироватка (плазма)	0,5	1,0

Перемішують вміст пробірок та витримують їх (5-6) хв при кімнатній температурі (від плюс 20 до плюс 25°C). Сорбент (0,1-0,2) г (близько 0,5 мл) (0,2-0,4) г (близько 1,0 мл) на шпателі або скальпелі внести у пробірку сорбент в приблизній кількості згідно з таблицею. Тримують (5-10) хв при кімнатній температурі від плюс 20°C до плюс 25°C, збовтуючи кожні (2-3) хв. Центрифугують (9-10) хв (2000 об/хв – 5000 об/хв) та проводять визначення концентрації заліза у супернатанті.

Коефіцієнт насичення трансферину розраховували за формулою:

$$КНТ, \% = \frac{СЗ}{333} \cdot 100$$

До діагностичних критеріїв ЖДА у вагітних ми відносили такі показники: вміст Нв 110 г/л і нижче, Ер – $3,5 \times 10^{10}$ /л і нижче, колірний показник – менше 0,85; зниження гематокриту до 34% і нижче, рівень СЗ нижче 10,8-12,5 мкмоль/л.

До діагностичних ознак ЗДА відносяться зміни показників транспортного фонду заліза: підвищення показників загальної залізов'язуючої (ЗЗЗС) та латентної залізов'язуючої здатності (ЛЗЗС) сироватки більше 72 мкмоль/л та 52 мкмоль/л відповідно, а також зниження менше 17% коефіцієнта насичення трансферину (КНТ).

2.2.2. Визначення феритину плазми крові

Принцип імуноферментного визначення вмісту феритину відповідає типовому одноетапному аналізу або аналізу типу «сендвіч» (рис 2.1). В аналізі використовуються два високоспецифічні моноклональні антитіла: моноклональне антитіло, специфічне до феритину, іммобілізується на планшеті з мікролунками, а інше моноклональне антитіло, специфічне до іншої ділянки феритину, кон'югується з пероксидазою хрому (HRP). Феритину із зразка та стандартів дозволяється одночасно зв'язуватися з планшетом і кон'югатом HRP.

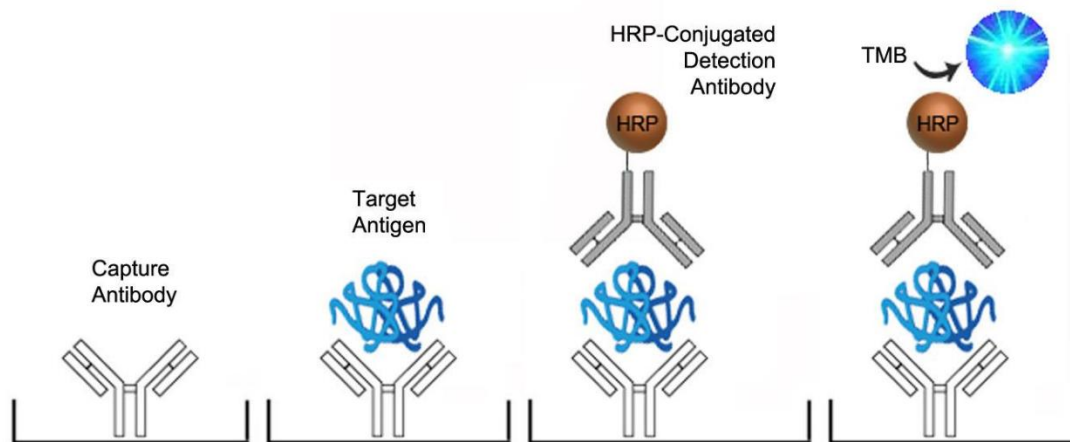


Рис 2.1. Принцип імуноферментного визначення вмісту феритину.

На етапах промивання та декантування видаляють будь-який незв'язаний кон'югат HRP. Після етапу промивання додають ферментний субстрат. Ферментативну реакцію припиняють додаванням зупиняючого розчину. Абсорбцію вимірюють на рідері мікропланшетів. Інтенсивність забарвлення, що утворюється в результаті ферментативної реакції, прямо пропорційна концентрації феритину в зразку.

Набір стандартів використовується для побудови стандартної (калібрувальної) кривої, з використанням якої визначають кількість феритину у зразках пацієнтів.

ЗБІР І ЗБЕРІГАННЯ ЗРАЗКІВ

Приблизно 0,2 мл сироватки потрібно для повторного визначення. Відбирають 4-5 мл крові в пробірку з відповідним маркуванням і дають їй згорнутися. Центрифугують та обережно видаляють шар сироватки. Зберігають при температурі 4°C протягом 24 годин або при температурі -10°C або нижче, якщо аналізи будуть проводитися пізніше.

ОБЛАДНАННЯ

1. Прецизійні піпетки для дозування 20, 50, 150, 200 і 300 мкл
2. Одноразові наконечники піпеток
3. Дистильована або деіонізована вода
4. Планшетний шейкер
5. Зчитувач мікролункових планшетів із фільтром, встановленим на 450 нм і верхньою межею OD 3,0 або більше.

РЕАГЕНТИ

1. Пластини з мікролунками, вкритими анти-феритиновими антитілами мишей. Вміст: один 96-лунковий (12x8) мікропланшет, покритий моноклональними антитілами, у пакеті, що закривається, із осушувачем.

Зберігання: Зберігати в холодильнику при 2-8°C Стабільність: 12 місяців або як зазначено на етикетці.

2. Концентрат кон'югату мишачих антитіл до феритину та пероксидази хрому (HRP) – X50. Вміст: кон'югат моноклональних антитіл проти феритину та HRP у буфері на основі білка з консервантом, що не містить ртуті.

Об'єм: 600 мкл/флаконт Зберігання: Охолоджувати при 2-8°C Стабільність: 12 місяців або як зазначено на етикетці.

Приготування: перед використанням розводять 1:50 у буфері для аналізу (наприклад, 40 мкл HRP у 2 мл буфера для аналізу). Якщо планується

використовувати весь планшет, розводять 480 мкл HRP у 24 мл буфера для аналізу. Все, що залишилося, викидають.

3. Калібратори феритину - готові до використання.

Вміст: шість флаконів, що містять феритин у білковому буфері з безртутним консервантом. Отримано шляхом додавання буфера до розчину з певною кількістю феритину. Відкалібровано відповідно до 3-го стандарту Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) IS 94/572.

Нижче наведено приблизні концентрації феритину у калібрувальних пробах, точні концентрації потрібно дивитися на етикетках флаконів.

Калібратор	Концентрація, ng/mL	Об'єм, mL
1	0	2
2	10	0.5
3	50	0.5
4	150	0.5
5	400	0.5

Зберігання: в холодильнику при 2-8°C. Стабільність: 12 місяців у закритих флаконах або як зазначено на етикетці. Після відкриття стандарти слід використати протягом 14 днів або розділити на аликвоти та зберігати в замороженому вигляді. Циклів багаторазового заморожування та відтавання потрібно уникати.

4. Елементи, готові до використання.

Вміст: два флакони, що містять феритин у буфері на білковій основі з консервантом, що не містить ртуті. Приготований шляхом додавання буфера з певною кількістю феритину.

Допустимий діапазон дивіться на етикетках флаконів.

Об'єм: 0,5 мл/флакон Зберігання: Охолоджувати при 2-8°C Стабільність: 12 місяців у закритому флаконі або як зазначено на етикетці. Після відкриття контролю слід використати протягом 14 днів або розділити на аликвоти та

зберігати в замороженому вигляді. Циклів багаторазового заморожування та відтавання потрібно уникати.

5. Концентрат промивного буфера - X10.

Вміст: одна пляшка, що містить буфер з неіонним детергентом і консервантом без ртуті. Об'єм: 50 мл/пляшка. Зберігання: в холодильнику при 2-8°C. Стабільність: 12 місяців або як зазначено на етикетці.

Приготування: перед використанням розведіть 1:10 дистильованою або деіонізованою водою. Якщо планується використовувати весь планшет, розводять 50 мл концентрату промивного буфера в 450 мл води.

6. Буфер для аналізу - готовий до використання.

Вміст: один флакон, що містить білковий буфер із безртутним консервантом. Об'єм: 25 мл/флакон Зберігання: в холодильнику при 2-8°C Стабільність: 12 місяців або як зазначено на етикетці.

7. Субстрат 3,3',5,5'-тетраметилбензидин (ТМВ) - готовий до використання.

Вміст: одна пляшка, що містить тетраметилбензидин і перекис водню в буфері, що не містить ДМФ або ДМСО.

Об'єм: 16 мл/пляшка Зберігання: в холодильнику при 2-8°C Стабільність: 12 місяців або як зазначено на етикетці.

8. Стор-реагент - готовий до використання.

Склад: 1 флакон, що містить 1 М розчин сульфатної кислоти.

Об'єм: 6 мл/флакон Зберігання: в холодильнику при 2-8°C Стабільність: 12 місяців або як зазначено на етикетці.

Перед використанням всі реагенти повинні досягти кімнатної температури. Калібратори, контролю та зразки зразків слід аналізувати в двох повторях. Після початку процедури всі етапи повинні бути завершені без перерви.

ХОД АНАЛІЗУ

1. Приготуйте робочі розчини кон'югату антиферитин-HRP і промивний буфер.

2. Вийміть необхідну кількість стрипів мікролунок. Знову закрийте пакет і поверніть невикористані смужки в холодильник.

3. Прокапайте 20 мкл кожного зразка калібратора, контролю та зразка у відповідні марковані лунки в двох повторях.

4. Внесіть 200 мкл робочого розчину кон'югату в кожну лунку (рекомендовано використовувати багатоканальну піпетку).

5. Інкубуйте на планшетному шейкері (приблизно 200 об/хв) протягом 30 хвилин при кімнатній температурі.

6. Промийте лунки 5 разів, додаючи 300 мкл розведеного промивного буфера на лунку та щільно постукайте планшет об абсорбуючий папір, щоб переконатися, що він висох.

7. Прокапайте 150 мкл субстрату TMB у кожну лунку через визначені проміжки часу.

8. Інкубуйте на планшетному шейкері протягом 10-15 хвилин при кімнатній температурі (або поки калібратор F не придбає темно-синій колір для бажаного OD).

9. Прокапайте 50 мкл стоп-розчину в кожну лунку з тими ж інтервалами часу, що й у кроці 7.

10. Зчитайте планшет на мікропланшетному рідері при 450 нм протягом 20 хвилин після додавання стоп-розчину.

* Якщо OD перевищує верхню межу виявлення або якщо фільтр 450 нм недоступний, можна замінити фільтр 405 або 415 нм. Оптична щільність буде нижчою, однак це не вплине на результати пацієнтів/контрольних зразків.

РОЗРАХУНОК

Типові експериментальні дані наведені у таблиці 2.3.

Таблиця 2.3. Результати вимірювання оптичної густини в пробах калібраторів і дослідній пробі

Калібратор	OD 1	OD 2	Mean OD	Value (ng/mL)
1	0.073	0.073	0.073	0
2	0.115	0.117	0.116	10
3	0.284	0.280	0.282	50
4	0.637	0.619	0.628	150
5	1.370	1.361	1.366	400
6	2.070	2.184	2.127	800
Проба	0.307	0.293	0.300	57.2

Типова калібрувальна залежність має вигляд, як на рисунку 2.2:

Використовуючи калібрувальну залежність $y = 1.03 \cdot x - 20.12$ ($R^2 = 0.97$), знаходять вміст феритину.

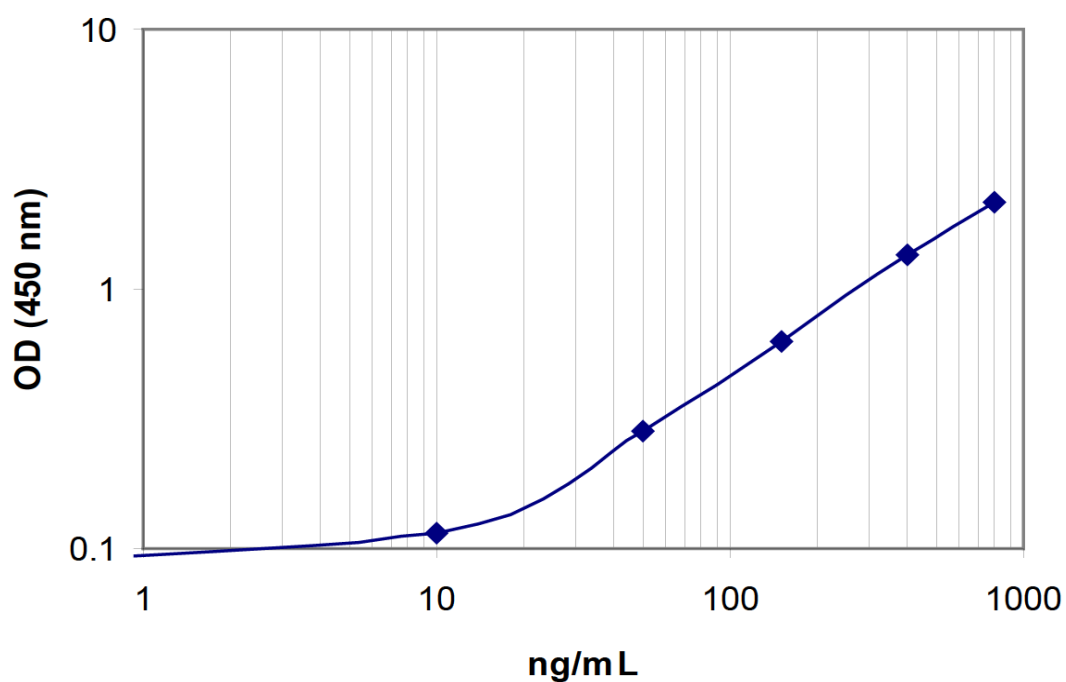


Рис. 2.2. Калібрувальна крива, побудована з використанням стандартних розчинів.

2.3. Статистичні методи дослідження

При статистичній обробці використовували пакет програм STATISTICA (StatSoft Inc., США, версія 8.0) та Excel [39, 40].

Із-за невеликого об'єму даних та відмінності вибіркового розподілу від нормального результати дослідження представлені у вигляді медіани та інтерквартильного інтервалу ($Me [Q1; Q3]$), де Me - медіана, $Q1$ - (25%) квартиль, $Q3$ - (75%) квартиль).

Для перевірки відповідності отриманих вибірок нормальному закону розподілу проводився їх аналіз за допомогою методу Шапіро-Уїлки, також були оцінені асиметрія і ексцес. За допомогою цього критерію Шапіро-Уїлки перевіряється нульова гіпотеза, яка полягає в тому, що дані розподілені нормально. Якщо по критерію Шапіро-Уїлки $P\text{-value} > 0,05$, то ймовірність того, що гіпотеза вірна, нульова. Якщо рівень значимості менше 5 % (0,05), є підстава відкинути нульову гіпотезу про те, що дані розподілені нормально.

Для виявлення відмінностей між медіанами показників вмісту заліза досліджуваних нами параметрів у жінок різного терміну вагітності був використаний t-тест для незалежних вибірок, U-критерій Манна-Уїтні, що є непараметричним критерієм для даних, розподілених не нормально [39, 40].

Відмінності між показниками груп вважали вірогідними при $p < 0.05$.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТУ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

3.1. Аналіз гематологічних та біохімічних показників крові у I, II та III триместрах вагітності

У всіх жінок вміст гемоглобіну знаходився в межах норми (табл. 3.1). Через збільшення об'єму плазми концентрація гемоглобіну може знизитися на 5 г/л під час вагітності [41]. Наразі Всесвітня організація охорони здоров'я пропонує граничні значення гемоглобіну, які змінюються залежно від триместру вагітності та повинні визначатися наступним чином: <110 г/л у першому триместрі, <105 г/л у другому триместрі та <110 г/л у III триместрі [42].

Рівень інших показників, таких як ЗЗЗС, КНТ у деяких випадках були нижчими за норму.

Середні показники крові та їх динаміка протягом терміну вагітності для двох підгруп вагітних з вихідними нормальними запасами заліза наведені у таблиці 3.1.

Таблиця 3.1. Динаміка показників крові у групі вагітних із вихідними нормальними запасами заліза, без феропрофілактики

Показник крові	Триместр вагітності		
	I(n=35)	II(n=33)	III(n=22)
Феритин, мкг/л	56.46±0.75	19.48±0.58*	4.8±0.13*
Гемоглобін, г/л	126.20±0.5	118.93±0.39*	111.74±0.5*
Сироваткове залізо, мкмоль/л	17.86±0.07	12.7±0.26*	9.67±0.11*
ЗЗЗС, мкмоль/л	61.63±0.03	72.17±0.35*	83.3±0.42*
КНТ, %	28.98±0.19	17.61±0.36*	11.21±0.14*

*— статистично значущі відмінності показників крові вагітних контрольної групи: між I та II та III триместрами.

Результати обстеження показали, що концентрація сироваткового феритину у крові вагітних (табл. 3.1), достовірно знижується у II та III триместрах (рис 3.1). Показники норми феритину у крові становлять 100 нг/мл, а будь-який показник нижче 20 нг/мл свідчить про недостатнє накопичення заліза [22]. Феритин є найбільш часто використовуваним індексом, оскільки він є важливим для встановлення статусу заліза в організмі під час вагітності та найбільш корисним і точним скринінговим тестом [41].

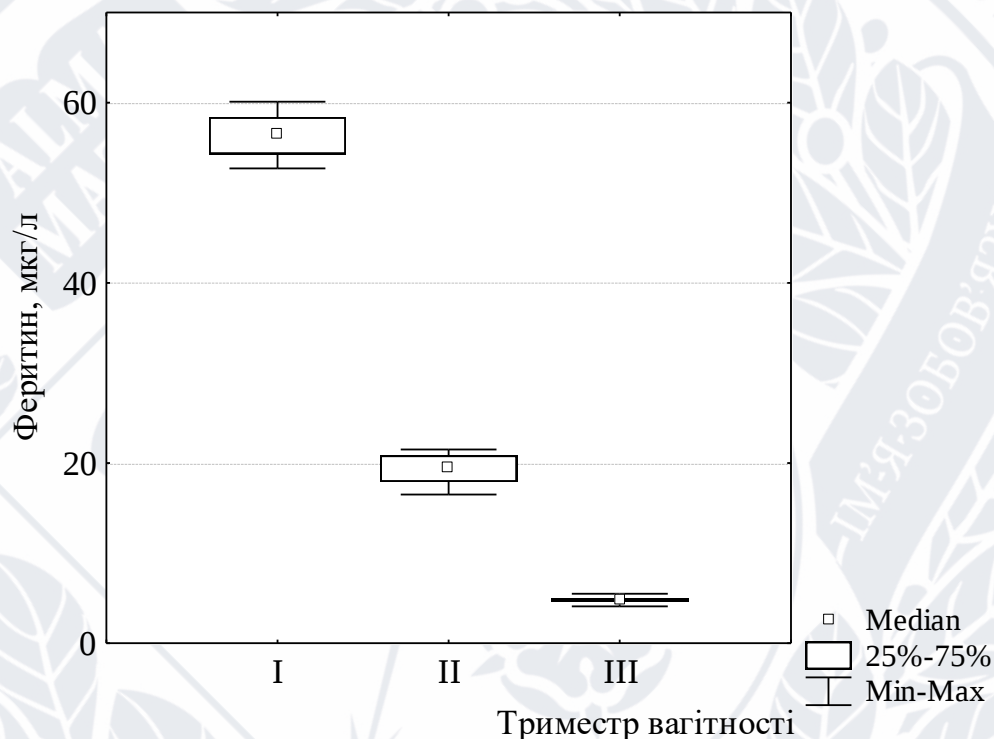


Рис 3.1. Вміст феритину в мкг/л у плазмі крові вагітних. Median – медіана, Min-Max – мінімальне – максимальне значення у вибірці.

Через підвищене споживання заліза в еритроцитами матері концентрація феритину чітко знижується між 12 і 24 тижнями вагітності. Крім того, було продемонстровано дуже значуще зниження вмісту феритину ($p = 0,01$) у третьому триместрі.

Виявлено також помітні зрушення у гематологічній та біохімічній картині крові. Значно та достовірно знижується них середні значення гемоглобіну та сироваткового заліза у другому і третьому триместрах вагітності (рис 3.2, 3.3).

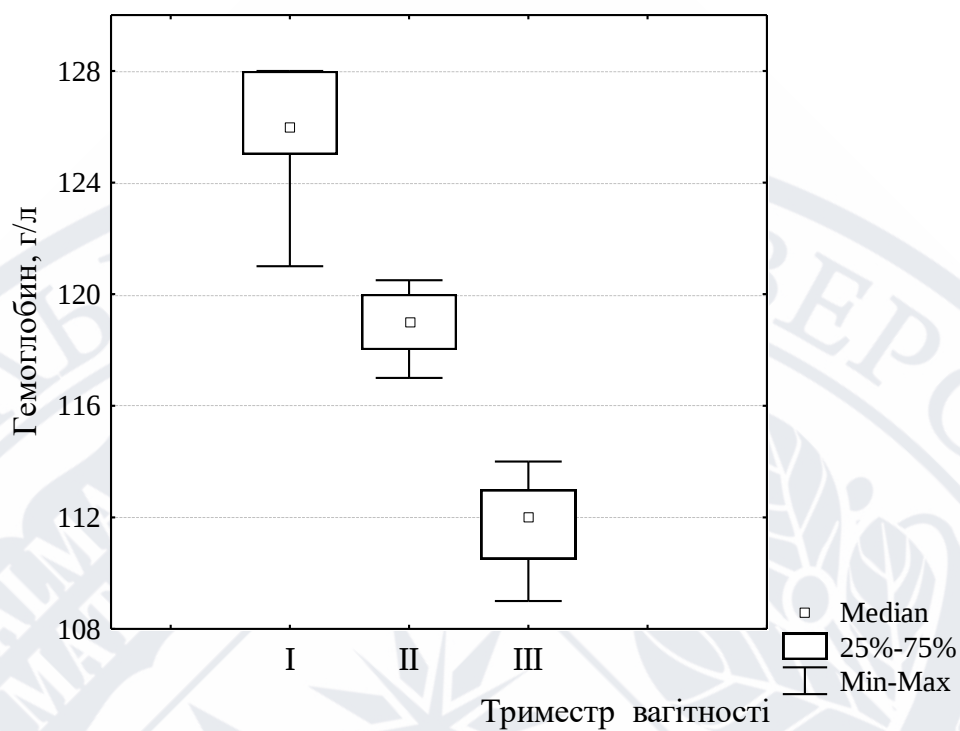


Рис. 3.2. Рівень гемоглобіну в I, II та III триместрах вагітності.

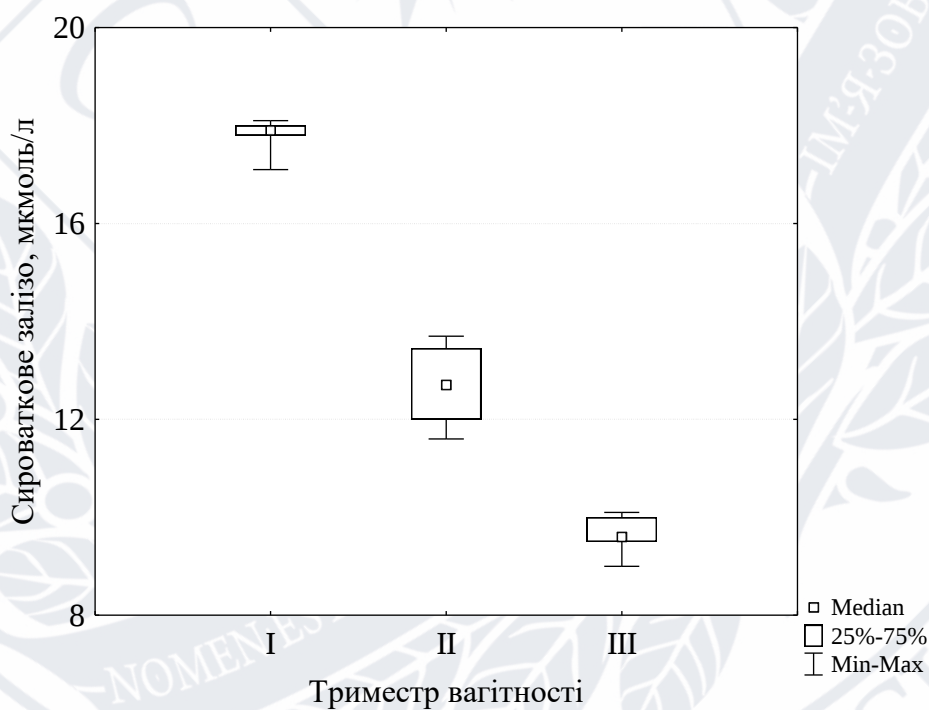


Рис 3.3. Рівень СЗ у I, II та III триместрах вагітності.

Концентрації сироваткового заліза (у нормі 13-30 мкмоль/л) [22]. З отриманих даних, суттєве зниження цього показника відбувається у третьому триместрі вагітності (рис 3.3).

Стан, пов'язаний з порушенням кровотворення внаслідок дефіциту заліза, але без явних ознак ЗДА, діагностується шляхом вимірювання залізо зв'язувальної здатності сироватки (зазвичай 45-75 мкмоль/л) [22]. Загальна залізо зв'язувальна здатність сироватки (ЗЗЗС) відображає резервну «незаповнену» залізом ємність транспортного білка – трансферину. У нормі трансферин насичений залізом на 20-45%. Здатність сироватки до зв'язування заліза поступово зростає в міру того, як тяжкість залізодефіцитного стану зростає, а концентрація заліза в сироватці крові знижується. В результаті ці протилежні зміни призводять до зниження насичення трансферину залізом (<15% від нормальних 35–50%). [22]. Насичення менш як 20% розцінюється як недостатньо активний кругообіг заліза, що виникає у разі залізодефіцитного еритропоезу.

Характер зміни ЗЗЗС у обстежених вагітних залежно від терміну вагітності показано на рис 3.4.

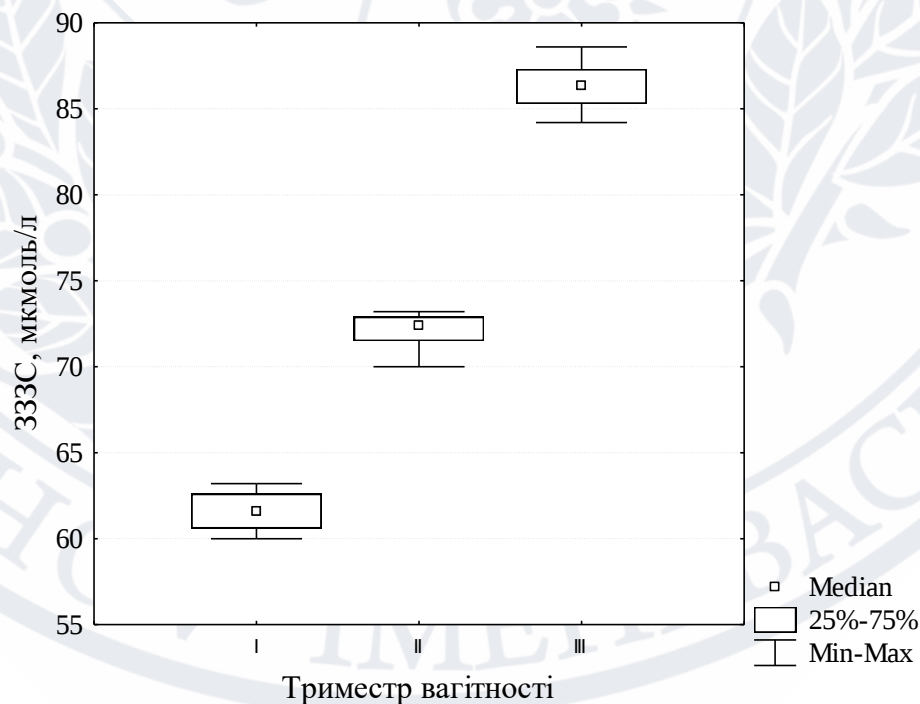


Рис. 3.4. Загальна залізо зв'язувальна здатність сироватки у I, II та III триместрах вагітності.

При ЗДА завжди спостерігається підвищення ЗЗЗС на відміну від інших типів гіпохромних анемій. Видно, що зі збільшенням терміну вагітності ЗЗЗС зростала і в третьому триместрі збільшилась у 1,35 рази, порівняно з першим триместром.

Нормальні значення концентрації трансферину (ТФ) перебувають у межах 23-45 мкмоль/л [17]. Збільшення рівня трансферину при ЗДА пов'язане з підвищенням його синтезом як компенсаторну реакцію організму людини у відповідь на тканинний дефіцит заліза [29, 30]. Однак, саме по собі значення концентрації ТФ не дуже інформативно, її визначають для того, щоб підрахувати, скільки заліза переноситься за допомогою транспортного білка (після окислення Fe^{+3} здатне з'єднуватися з трансферрином, який і доставляє його тканинам і клітинам). Цей показник називається «коефіцієнт насичення трансферину залізом» (КНТ), інформативність якого вища. Нормальний рівень КНТ для здорових чоловіків та жінок становить 15-45%. Зміна КНТ у процесі вагітності показана на рис 3.5. Видно, що при збільшенні триместру вагітності цей показник знижувався і в III триместрі він став нижчим за норму.

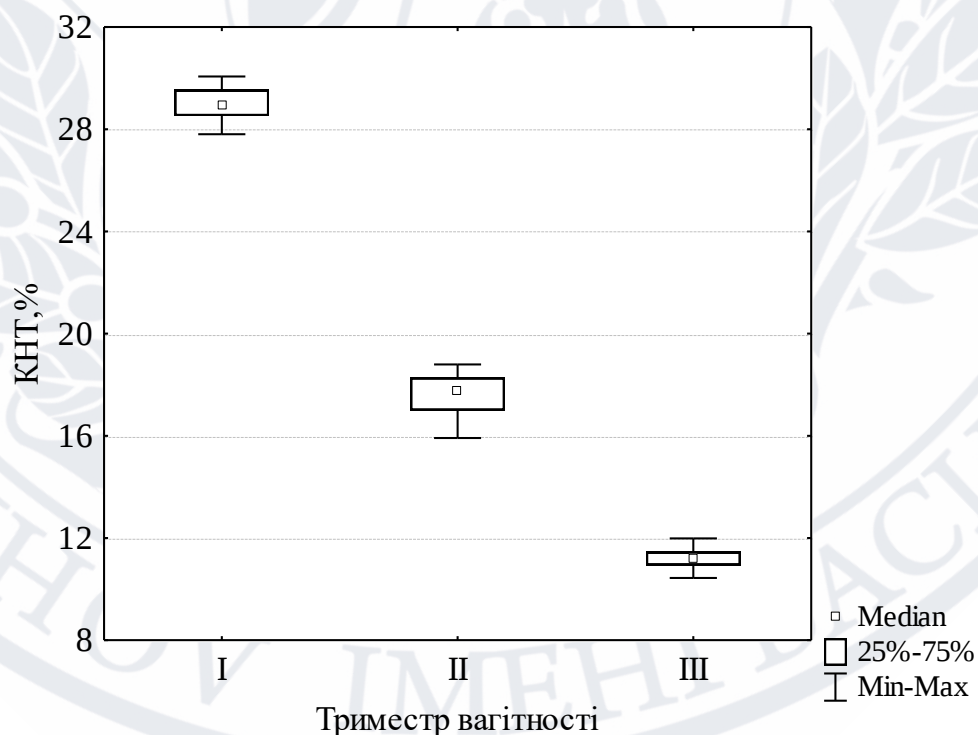


Рис 3.5. Динаміка КНТ у I, II та III триместрах вагітності.

Останніми роками були розроблені чіткі діагностичні критерії залізодефіцитних станів (предлатентний дефіцит заліза (ПДЗ), латентний дефіцит заліза ЛДЗ, ЗДА) у вагітних. У вагітних із ЛДЗ рівень феритину коливається від 20 до 30 мкг/л [20, 32]. Як показали останні роботи, що враховують взаємозалежність різних фондів метаболізму заліза та, відповідно, їх показників, для діагностики ЛДЗ допустимо орієнтуватися на рівні Hb (110-120 г/л), RBC (3,7-3,85) та Ht (35- 37%). Визначення рівня Hb, Ht і кількості RBC за відсутності умов визначення концентрації феритину є достатнім вирішення питання необхідності призначення селективної профілактики [20, 32].

Слід зазначити, що у II триместрі серед вагітних контрольної групи ЗДА розвинулася у 3 (9,1%), а латентний дефіцит заліза – у 22 (66,6%) обстежених (рис. 3.6).

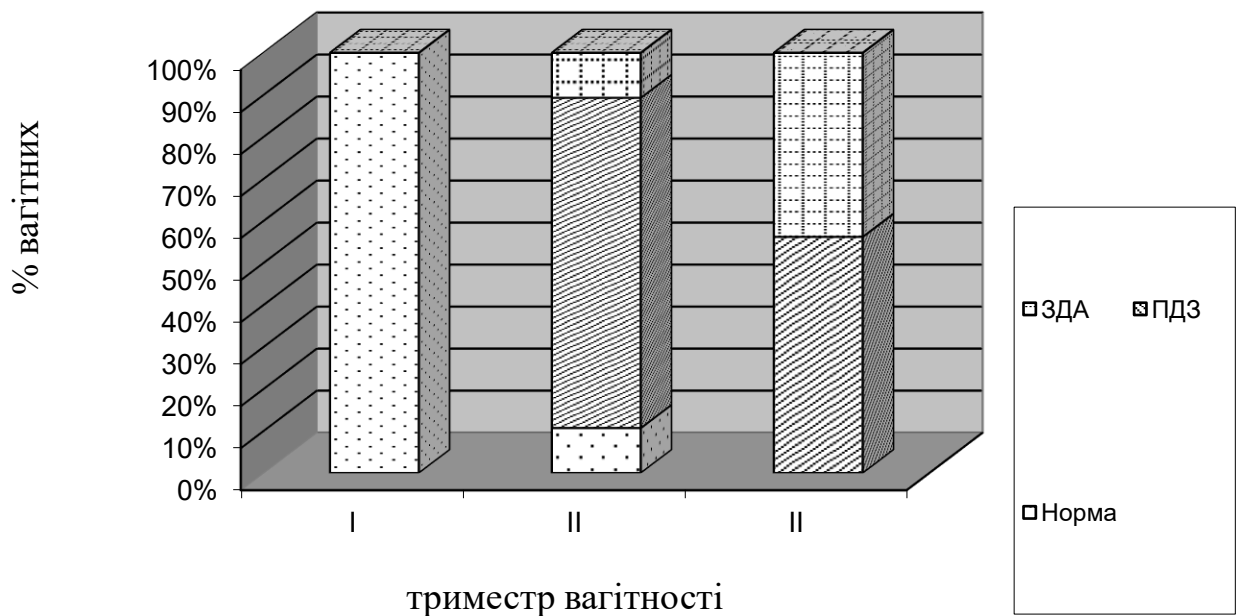


Рис 3.6. Питома вага різних стадій дефіциту заліза по триместрах вагітності.

Таким чином, протягом 2,5-3 місяців з моменту обстеження, незважаючи на нормальний вихідний рівень сироваткового феритину і транспортного заліза, прихований і явний дефіцит заліза зареєстрований у 25 з 33 вагітних, а в III триместрі виснаження запасів заліза виявлялося у всіх без виключення вагітних контрольної групи. При цьому у 13 (59,1%) вагітних встановлено ЛДЗ, у решти 9 (40,9%) – ЗДА (рис 3.6).

Отже, отримані дані свідчать, що інтенсивне споживання заліза організмом самої жінки, мобілізація його до ферроплацентарного комплексу неминуче супроводжується збідненням депо, про що можна судити щодо зниження рівня сироваткового феритину. Глибоке виснаження резервів заліза в організмі проявляється зниженням рівня гемоглобіну, сироваткового заліза та підвищенням ЗЗЗС (рис 3.2 – 3.4).

3.2. Обговорення результатів дослідження

За даними роботи [30], в якій проведено раніше дослідження поширеності анемії під час вагітності на підставі аналізу 2406 історій пологів жінок, наявність дефіциту заліза ускладнювало вагітність у 45,8% випадків, а її частота становила 7,8% у I, 23,1% у II та 31,7% у III триместрі. У цьому дослідженні з використанням сучасних методів діагностики, лікування та профілактики, частота анемії у I, II та III триместрах практично не відрізняється від результатів отриманих раніше. Дефіцит заліза прогресував під час вагітності, і у III триместрі виявлявся у всіх вагітних (латентний та ЗДА), що не приймали препарати заліза.

Всі випадки анемії у II триместрі були представлені легким ступенем тяжкості. Отже, отримані дані свідчать, що інтенсивне споживання заліза організмом самої жінки, мобілізації його в фероплацентарний комплекс неминуче супроводжується виснаженням депо, про що можна судити по зниженню рівня сироваткового феритину. Глибоке виснаження резервів заліза в організмі проявляється зниженням рівня гемоглобіну, транспортного заліза і підвищенням ЗЗЗС.

Отримані в роботі дані свідчать про необхідність феропротекції, починаючи з третього триместру вагітності.

Проте натеper існують певні протиріччя у поглядах на феропротекцію. Велика кількість дослідників протягом останніх років задавалися питанням чи є анемія під час вагітності фактором ризику виникнення ускладнень з боку матері та плоду [11]. На думку авторів [43] дефіцит заліза, як пограничний стан, несе позитивне навантаження, а саме - перешкоджає зайвій «гемоглобінізації» вагітних та підтримує гемодилуцію, яка є ефективним механізмом щодо протидії розвитку тяжкого синдрому ДВЗ під час пологів, при оперативних втручаннях або різних формах акушерської патології. Прагнення доводити рівень гемоглобіну у вагітних до максимально можливого є небезпечною практикою, особливо при наявності супутньої екстрагенітальної та акушерської патології. За даними [11, 22] анемія вагітних внаслідок гемічної гіпоксії у плацентарному ложі матки призводить до пригнічення адаптаційних механізмів. Показано, що ці зміни залежать від ступеню тяжкості анемії і можуть бути морфологічним субстратом порушень матково-плацентарного кровотоку, а в подальшому і власної гемодинаміки плоду [22]. Існують також дані про те, що для плацентарного ангиогенезу умови відносної гіпоксії є навіть більш сприятливими, ніж нормоксії або гіпероксії. Фізіологічна гіпоксія, як передбачається, захищає плід, що розвивається, від деструктивного й тератогенного впливу активних форм кисню, бере участь в регуляції інвазивних й проліферативних властивостей трофобласта, підтримує стовбурові клітини в поліпотентному стані [11]. Так при призначенні препаратів заліза в першому триместрі вагітності організм надмірно оксигенується; це спричиняє порушення процесу інвазії трофобласту у спіральні артерії. Внаслідок цього зменшується об'єм плацентарної судинної системи та формуються ділянки ішемії в плаценті, що з рештою призводить до накопичення продуктів перекисного окиснення ліпідів в материнській крові і є однією з перших ланок формування гестозу [43].

Анемія у вагітних створює умови розвитку оксидативного стресу [44], а неадекватна терапія залізом може його посилювати. Порушення балансу

антиоксидантів та прооксидантів у бік останніх створює передумови для пошкодження ендотелію. Дисфункція ендотелію, у свою чергу, є причиною синдрому неадекватної продукції еритропоєтину на гіпоксію, і, таким чином, посилює перебіг анемії та є предиктором гестозу, несприятливих наслідків вагітності та вищого ризику розвитку серцево-судинних захворювань у подальшому житті. Поява у крові циркулюючих ендотеліальних клітин є високоспецифічним маркером дисфункції ендотелію.

Варто відзначити, що клінічне значення анемії тяжкого ступеня як чинника ризику несприятливих наслідків для матері та плоду не піддавалося сумніву в жодному з досліджень.

Висока асоціація анемії вагітних із запаленням обумовлює необхідність проведення ефективної диференціальної діагностики між даними видами анемії. У цих випадках крім звичного визначення рівню гемоглобіну й сироваткового феритину доцільно проводити кількісне визначення концентрації С-реактивного білку. У разі виявлення запального процесу, терапію залізом необхідно проводити тільки після санації вогнища інфекції.

Отже, профілактика виникнення анемії у пацієнтів даної категорії повинна розпочинатись ще на етапі планування вагітності шляхом виявлення залізодефіцитних станів у прегравідарний період та їх корекції за загальноприйнятими схемами [11]. Під час вагітності профілактику залізодефіцитної анемії вважається за доцільне проводити особливим групам населення: у популяціях, де залізодефіцит є загальною проблемою, жінкам з гіперполіменореєю, що передувала вагітності, при вагітностях, що слідує одна за одною, при багатоплідній вагітності та жінкам із довготривалою лактацією. Доведено, що лікування анемії, яка маніфестує переважно у II-му й III-му триместрі вагітності, хоча й покращує гематологічну картину, але має обмежену ефективність з точки зору профілактики акушерських ризиків, що потребує ретельного оцінювання співвідношення користі лікування та можливих ризиків з боку матері та плоду [11].

Таким чином, в даний час в акушерстві панує парадигма, яка приписує нестачу заліза катастрофічних наслідків. Разом з тим, за даними огляду літератури, напрошуються такі висновки: абсолютно нормальна гематологічна адаптація до вагітності часто неправильно інтерпретується як потреба корекції недостатності заліза; у всьому світі мільйонам вагітних жінок неправомерно ставлять діагноз «анемія» та призначають препарати заліза; за винятком істинної анемії, найкраща картина розвитку вагітності пов'язана з рівнем гемоглобіну, що традиційно вважається патологічно низьким; однією з причин високої частоти акушерської патології та погіршення здоров'я матерів та новонароджених може бути необґрунтовано призначена ферротерапія.

ВИСНОВКИ

1. Результати досліджень показали, що дефіцит заліза в кінці гестаційного процесу розвивається у всіх без винятку жінок або в прихованій, або в явній формі.

2. За умов відсутності запальних процесів, рівень феритину плазми крові є чутливим показником запасів заліза. Встановлено, що концентрація феритину чітко знижується між 12 і 24 тижнями вагітності. Крім того, було продемонстровано дуже значуще зниження вмісту феритину ($p=0,01$) у третьому триместрі.

3. Виявлено помітні зрушення в гематологічній і біохімічній картині крові вагітних контрольної групи з нормальними початковими запасами заліза. Значно і достовірно знижувалися середні значення гемоглобіну, транспортного заліза, підвищувалася загальна залізо зв'язуюча здатність крові.

4. У II триместрі серед вагітних контрольної групи ЗДА розвинулася у 3 (9,1%), а латентний дефіцит заліза – у 22 (66,6%) обстежених. В III триместрі виснаження запасів заліза виявлялося у всіх без виключення вагітних контрольної групи. При цьому у 13 (59,1%) вагітних встановлено ЛДЗ, у решти 9 (40,9%) – ЗДА.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Жук, С.І., Лобастова, Т.В., & Таран, О.А. (2021) Особливості менеджменту анемії у вагітних, які перехворіли на COVID-19. Репродуктивне здоров'я жінки, 4, 19-22.
2. Кондратюк, В., & Кондратюк, К. (2021). Залізо та залізодефіцитні стани: сучасний погляд на проблему. Репродуктивне здоров'я жінки, 3, 12–15.
3. Singh, K., Fong, Y.F., & Arulkumaran S. (1998.) The role of prophylactic iron supplementation in pregnancy. *Int. J. Food. Sci. Nutr*, 49(5), 383–9.
4. Кондратюк, В., Горбань, Н., Нікітіна, І., Кондратюк, К., & Дзюба, Г. (2023). Залізо та здоров'я жінки від менархе до менопаузи. Репродуктивне здоров'я жінки, (2), 33–37.
5. Касим, Х. Ф., Рашид, Р. М., & Рахман, С. А. (2024). Гематологічні показники здорових вагітних протягом трьох триместрів гестації порівняно з невагітними жінками. Репродуктивне здоров'я жінки, (3), 83–87.
6. Ataide, R., Fielding, K., Pasricha, S. R., & Bennett, C. (2023). Iron deficiency, pregnancy, and neonatal development. *International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics*, 162 Suppl 2, 14–22.
7. Sangkhae V, & Nemeth E. (2019). Placental iron transport: the mechanism and regulatory circuits. *Free Radic Biol Med*, 133, 254-261.
8. Daru, J., Zamora, J., Fernández-Félix, B. M., Vogel, J., Oladapo, O. T., Morisaki, N., Tunçalp, Ö., Torloni, M. R., Mittal, S., Jayaratne, K., Lumbiganon, P., Togoobaatar, G., Thangaratinam, S., & Khan, K. S. (2018). Risk of maternal mortality in women with severe anaemia during pregnancy and post partum: a multilevel analysis. *The Lancet. Global health*, 6(5), e548–e554.
9. Georgieff, M. K. (2020). Iron deficiency in pregnancy. *American journal of obstetrics and gynecology*, 223(4), 516–524.

10. Smith, C., Teng, F., Branch, E., Chu, S., & Joseph, K. S. (2019). Maternal and Perinatal Morbidity and Mortality Associated With Anemia in Pregnancy. *Obstetrics and gynecology*, 134(6), 1234–1244.

11. Іванченко, С. В., & Аралова, В. О. Питання й проблеми діагностики та лікування залізодефіцитної анемії вагітних. *Східноєвропейський журнал внутрішньої та сімейної медицини*. – 2019. – № 2. – С. 101–104.

12. Camaschella, C., Nai, A., & Silvestri, L. (2020). Iron metabolism and iron disorders revisited in the hepcidin era. *Haematologica*, 105(2), 260–272.

13. Moreira, A. C., Mesquita, G., & Gomes, M. S. (2020). Ferritin: An Inflammatory Player Keeping Iron at the Core of Pathogen-Host Interactions. *Microorganisms*, 8(4), 589.

14. Shawki, A., Anthony, S. R., Nose, Y., Engevik, M. A., Niespodzany, E. J., Barrientos, T., Öhrvik, H., Worrell, R. T., Thiele, D. J., & Mackenzie, B. (2015). Intestinal DMT1 is critical for iron absorption in the mouse but is not required for the absorption of copper or manganese. *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology*, 309(8), G635–G647.

15. Billesbølle, C. B., Azumaya, C. M., Kretsch, R. C., Powers, A. S., Gonen, S., Schneider, S., Arvedson, T., Dror, R. O., Cheng, Y., & Manglik, A. (2020). Structure of hepcidin-bound ferroportin reveals iron homeostatic mechanisms. *Nature*, 586(7831), 807–811.

16. Ganz T. (2011). Hepcidin and iron regulation, 10 years later. *Blood*, 117(17), 4425–4433.

17. Koenig, M. D., Tussing-Humphreys, L., Day, J., Cadwell, B., & Nemeth, E. (2014). Hepcidin and iron homeostasis during pregnancy. *Nutrients*, 6(8), 3062–3083.

18. Amel Ivan, E., & A, M. (2013). Evaluation of anaemia in booked antenatal mothers during the last trimester. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 7(11), 2487–2490.

19. O'Brien, K. O. (2022). Maternal, fetal and placental regulation of placental iron trafficking. *Placenta*, 125, 47–53.

20. Sangkhae, V., Fisher, A. L., Wong, S., Koenig, M. D., Tussing-Humphreys, L., Chu, A., Lelić, M., Ganz, T., & Nemeth, E. (2020). Effects of maternal iron status on placental and fetal iron homeostasis. *The Journal of clinical investigation*, 130(2), 625–640.
21. Cao, C., Prado, M. A., Sun, L., Rockowitz, S., Sliz, P., Paulo, J. A., Finley, D., & Fleming, M. D. (2021). Maternal Iron Deficiency Modulates Placental Transcriptome and Proteome in Mid-Gestation of Mouse Pregnancy. *The Journal of nutrition*, 151(5), 1073–1083.
22. Вдовиченко, Ю. П., & Гопчук, О. М. (2018). Анемія вагітних – фактор ризику розвитку акушерської та перинатальної патології (огляд літератури). *Медичні аспекти здоров'я жінки*, 4(117), 51-55.
23. Запорожан, В. М. & Анчева, І. А. (2014). Залізодефіцитна анемія у вагітних: проблеми стандартизації якості медичної допомоги. *Ліки України Плюс*, № 3 (20), 14–17.
24. Iron Deficiency & Overload. NY, Humana, 2009 – 884 p.
25. Медвідь, В.І., & Кирильчук, М.Є. (2019). Профілактика залізодефіциту та анемії у вагітних. *Жіночий лікар*, 4(84).
26. Лотоцька, О. В., & Гавліч, О. Є. (2021). Значення раціонального харчування для здоров'я вагітних. *Вісник соціальної гігієни та організації охорони здоров'я України*, 3 (89), 9-17.
27. Georgieff M. K. (2020). Iron deficiency in pregnancy. *American journal of obstetrics and gynecology*, 223(4), 516–524.
28. Кисельов С.М., Назаренко О.В. (2020). Диференційна діагностика анемій: навчальний посібник. Запоріжжя: ЗДМУ, 88.
29. Breymann, C., Honegger, C., Hösli, I., & Surbek, D. (2017). Diagnosis and treatment of iron-deficiency anaemia in pregnancy and postpartum. *Archives of gynecology and obstetrics*, 296(6), 1229–1234.
30. Philpott, C. C., & Jadhav, S. (2019). The ins and outs of iron: Escorting iron through the mammalian cytosol. *Free radical biology & medicine*, 133, 112–117.

31. Suchdev, P. S., Williams, A. M., Mei, Z., Flores-Ayala, R., Pasricha, S. R., Rogers, L. M., & Namaste, S. M. (2017). Assessment of iron status in settings of inflammation: challenges and potential approaches. *The American journal of clinical nutrition*, 106(Suppl 6), 1626S–1633S.

32. Auerbach, M., Abernathy, J., Juul, S., Short, V., & Derman, R. (2021). Prevalence of iron deficiency in first trimester, nonanemic pregnant women. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstetricians*, 34(6), 1002–1005.

33. Beguin, Y. (2003). Soluble transferrin receptor for the evaluation of erythropoiesis and iron status. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 329(1-2), 9–22.

34. Gimferrer, E., Ubeda, J., Royo, M. T., Marigó, G. J., Marco, N., Fernández, N., Oliver, A., Padrós, R., & Gich, I. (1997). Serum transferrin receptor levels in different stages of iron deficiency. *Blood*, 90(3), 1332–1334.

35. Remacha, A. F., Sarda, M. P., Parellada, M., Ubeda, J., & Manteiga, R. (1998). The role of serum transferrin receptor in the diagnosis of iron deficiency. *Haematologica*, 83(11), 963–966.

36. Agorasti, A., Trivellas, T., Papadopoulos, V. & Konstantinidou, D. (2007). Innovative parameters RET-Y, sTfR, and sTfR-F index in patients with microcytic, hypochromic anemia--their special value for hemoglobinopathies. *Laboratory Hematology: Official Publication of the International Society for Laboratory Hematology*. 13, 63–8.

37. Чевари, С., & Андял Т. (1987). Определение железа в сыворотке крови и его диагностическое значение. *Лабораторное дело*, 4, 252–255.

38. Бугланов, А.А., Саяпина, Е.В., & Аверьянова, А.А. (1991). Определение железосвязывающей способности и трансферрина в сыворотке крови. *Лабораторное дело*, 6, 24-26.

39. Лапач, С.Н., Чубенко, А.В., & Бабич, П.Н. (2000). Статистические методы в медико–биологических исследованиях с использованием Excel. Киев, «Морион», 425 с.
40. Боровиков, В. (2003). STATISTICA. Искусство анализа данных на компьютере. Питер, 688 с.
41. Kasim, H. F., Rashied, R. M., & Rahman, S. A. (2024). Hematological parameters of healthy pregnant women in three trimesters compared with parameters of non-pregnant women. *Reproductive health of woman (Репродуктивне здоров'я жінки)*, 3 (74), 1-5.
42. Ohuma, E. O., Young, M. F., Martorell, R., Ismail, L. C., Peña-Rosas, J. P., Purwar, M., Garcia-Casal, M. N., Gravett, M. G., de Onis, M., Wu, Q., Carvalho, M., Jaffer, Y. A., Lambert, A., Bertino, E., Papageorgiou, A. T., Barros, F. C., Bhutta, Z. A., Kennedy, S. H., & Villar, J. (2020). International values for haemoglobin distributions in healthy pregnant women. *EClinicalMedicine*, 29-30, 100660.
43. Омертаева, Д. Е., & Вазенмиллер, Д. В. (2018). Целесообразность применения препаратов железа у беременных с гестозом. *Медицина и экология*, 3, 17 — 25.
44. Kumar, N., Chandhiok, N., Dhillon, B. S., & Kumar, P. (2009). Role of oxidative stress while controlling iron deficiency anemia during pregnancy - Indian scenario. *Indian journal of clinical biochemistry: IJCB*, 24(1), 5–14.