

Р. А. АРУТЮНЯН

ВЛИЯНИЕ ОБЩЕГО РЕНТГЕНОВСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА ЭРИТРОПОЭТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ КРОВИ АНЕМИЗИРОВАННЫХ ЖИВОТНЫХ

Вопросы влияния ионизирующей радиации на процессы образования важного гуморального фактора регуляции кроветворения—эритропоэтинов в крови животных и на степень активности самих эритропоэтинов представляет известный интерес. Имеющиеся по этой проблеме исследования позволяют прийти к некоторым предварительным представлениям. Однако количество этих работ еще недостаточно и многие вопросы нуждаются в дальнейшем освещении и уточнении.

Линман и Бетелл [14] показали, что общее рентгеновское облучение кроликов (750 р), анемизированных кровопусканием или фенилгидразиновым отравлением, приводит к снижению эритропоэтической активности безбелковых экстрактов плазмы их крови. Показателем служили содержание ретикулоцитов, эритроцитов в периферической крови и активность костного мозга.

М. Г. Кахетелидзе и Л. С. Рогачева [3], облучая собак в дозе 300, 400 и 600 р, наблюдали резкое уменьшение или полное исчезновение гемопоэтической активности сыворотки крови. Исследование велось с помощью метода определения зоны миграции лейкоцитов в лейкоцитарной пленке.

По данным Дражича, Гаждуковича и соавторов [11] на пятый день после облучения кроликов дозой 700—3000 р и отравления фенилгидразином эритропоэтическая активность крови этих животных еще сохранена. Она исчезает лишь при облучении в дозе 4000 р. Дальнейшими работами Дражича [12] было показано, что облучение животных перед кровопусканием не прекращает образование эритропоэтинов. В то же время облучение после кровопускания даже малыми дозами тормозит его.

Интересные данные были получены в последнее время И. Н. Ямшиковой [6], которая установила, что при введении подопытным крысам плазмы, богатой эритропоэтинами и последующем их рентгеновском облучении, введенные эритропоэтины не вызывают оживление процессов кроветворения (по показателям степени включения Fe^{59} в эритроциты). В контрольных опытах, где введение производилось крысам после их облучения, эритропоэтины, как бы оставаясь без изменений, проявляли свое действие и стимулировали эритропоэз.

Настоящее исследование ставит себе задачу изучить влияние общего рентгеновского облучения в дозе 600 р на эритропоэтическую активность крови предварительно анемизированных животных.

М е т о д и к а

Подопытными животными-донорами служили взрослые, здоровые кролики-самцы из породы «шиншилла» в количестве 9 штук. У последних создавалась модель постгеморрагической анемии с помощью однократного кровопускания. Кровь отсасывалась из сердца шприцом, путем пункции области пятого межреберья без применения каких-либо наркотических веществ. При каждом кровопускании извлекалась кровь по объему равная $\frac{1}{3}$ всей массы крови тела животных. Через 6 часов после кровопускания животные подвергались общему рентгеновскому облучению в дозе 600 р (условия облучения: аппарат РУМ-11, напряжение 190 кV, сила тока 20 мА, фильтр—Cu 0,5, фокусное расстояние 60 см).

Спустя 24 часа после облучения кролики полностью обескровливались. Полученная кровь стабилизировалась добавлением одной капли раствора гепарина (гепарин «Рихтер») и трехкратно центрифугировалась при 3000 об/мин в течение 10 минут. Полученная у пяти отдельных кроликов плазма сливалась в общий сосуд и из смешанного образца изготавливался безбелковый экстракт плазмы по методу Гордона и соавторов [10]. Плазма крови остальных четырех кроликов оставалась в цельном виде, их эритропоэтическую активность исследовали для каждого животного отдельно.

Эритропоэтическую активность крови подопытных кроликов-доноров исследовали двумя способами—in vivo и in vitro.

Опыты in vivo проводились у полицитемичных животных-реципиентов. Для получения экспериментальной полицитемии крысам линии Wistar весом в среднем 60 г внутрибрюшинно, два раза по 2 мл вводили 80% взвеси гомологичных эритроцитов. Через 6—7 дней отмечалось резкое подавление эритропоэза: ретикулоциты полностью исчезали из периферической крови. Полицитемичные крысы-реципиенты были разделены на две группы. Животные первой группы (8 крыс) служили подопытными. На фоне подавления эритропоэза им подкожно вводили безбелковый экстракт плазмы кроликов-доноров два раза в течение двух дней по 3 мл и 1,5 мл. Крысы второй группы (7 штук) служили контролем. В аналогичных условиях они получали физиологический раствор. Показателем изменения уровня эритропоэза служила ретикулоцитарная реакция в ответ на введение исследуемых веществ. Учитывались данные, полученные через сутки после последнего введения.

Исследования in vitro проводились путем добавления испытуемого безбелкового экстракта и проб цельной плазмы в культуру ткани костного мозга в жидкой среде. Костный мозг культивировался по методу Тайта [13] с изменениями, внесенными С. Ю. Шехтер и др. [1].

Принцип метода заключается в следующем. У кроликов из обеих бедренных костей путем пункции извлекается около 1 мл костного мозга, который помещается в две пробирки с 5 мл изотонического раствора Кэнкса, содержащего гепарин. Пробирки центрифугировались при 500 об/мин. в течение 10 минут, затем осадок костномозговых элемен-

тов из обеих пробирок переносился в один флакон, в который добавлялось такое количество раствора Хэнкса, раствора антибиотиков и гомологичной плазмы, чтобы доля плазмы во всем объеме составляла $\frac{2}{3}$. Антибиотики (пенициллин+стрептомицин) позволили бы создать и концентрацию в пробирках с посевным материалом 200 ед на мл. Содержание флакона тщательно перемешивалось и суспензия костного мозга переносилась по 0,5 мл в культуральные пробирки. Безбелковый экстракт плазмы или цельная плазма кроликов-доноров разводилась вдвое раствором Хэнкса и в количестве 0,5 мл добавлялись к суспензии костного мозга. Для контроля в одну из пробирок с костномозговой суспензией помещалось 0,5 мл раствора Хэнкса. Затем пробирки закрывались резиновыми пробирками и помещались в термостат при $t\ 38^\circ$ на 20 часов.

После окончания инкубации во всех пробирках подсчитывались общее количество миелокариоцитов, парциальная эритрограмма и вычислялось абсолютное количество элементов эритробластического ряда. Полученные цифры сравнивались с исходными и с контролем, на основании чего оценивалась эритропоэтическая активность исследуемых веществ.

Полученные данные были подвергнуты статистической обработке.

Результаты опытов

Введение безбелкового экстракта плазмы крови анемизированных и затем облученных кроликов полицитемичным крысам-реципиентам не привело к выраженным сдвигам эритропоэза у последних. Содержание ретикулоцитов в периферической крови животных подопытной группы по сравнению с контролем (введение физиологического раствора) проявляло тенденцию к небольшому увеличению, однако этот сдвиг статистически не достоверен ($P > 0,05$).

Как показывают сделанные в этом направлении исследования [8, 15], в ответ на однократную массивную кровопотерю выработка эритропоэтических веществ у анемизированных животных сильно повышается. В частности, нами было показано, что однократное кровопускание у кроликов в количестве $\frac{1}{3}$ всего объема крови приводит к снижению содержания гемоглобина в периферической крови от $12,9 \pm 1,0$ г% до $9,8 \pm 1,0$ г%. Параллельно с этим было установлено и повышение эритропоэтической активности крови подопытных животных. В ответ на введение безбелкового экстракта плазмы этих животных полицитемичным животным-реципиентам у последних развивалась отчетливая, статистически достоверная ретикулоцитарная реакция [1, 7]. В отличие от вышеотмеченного, в данном случае мы видим отсутствие эритропоэтической активности. Безбелковый экстракт плазмы анемизированных, затем подвергнутых общему рентгеновскому облучению кроликов как бы лишен этих свойств. Данные этих наблюдений приведены в табл. 1.

Аналогичные результаты были получены в опытах, проведенных *in vitro*. Добавление безбелкового экстракта плазмы или цельной плазмы в культуру костного мозга не привело к стимулированию роста элементов эритробластического ряда. Общее количество миелокариоцитов, а также процентное содержание отдельных элементов — эритробластов при

Таблица 1

Ретикулоцитарная реакция полицитемичных крыс в ответ на введение испытываемых веществ

Показатель	До введения	Введение физиологического раствора	Введение безбелкового экстракта плазмы кроликов-доноров
Количество ретикулоцитов в периферической крови в %	0	$0,4 \pm 0,3$	$0,7 \pm 0,4$

культивировании их в этих условиях мало чем отличались от данных контрольных наблюдений (культивирование костного мозга при добавлении раствора Хэнкса). Результаты этих наблюдений приведены в табл. 2 и 3.

Анализируя полученные данные можно сказать, что общее рентгеновское облучение животных, произведенное после однократного кровопускания, препятствует повышению у них эритропоэтической активности крови. Создается впечатление, что рентгеновское облучение в дозе 600 р как бы нарушает нормальное протекание процессов образования эритропоэтинов в ответ на кровопотерю организма.

Для обнаружения эритропоэтической активности нами применялись два параллельных специфических метода. Как известно, в условиях полицитемической модели у животных полностью подавляется эритропоэз. Однако при этом сохраняется возможность последующей стимуляции его под воздействием введенных в организм эритропоэтинов [4, 9]. Метод определения эритропоэтической активности путем добавления цельной плазмы или ее безбелковых экстрактов в культуру ткани костного мозга в жидкой среде в последние годы находит широкое применение. Позволяя дать количественную оценку эритропоэтической активности исследуемых веществ, этот метод одновременно предрасполагает к большой стандартизации условий опыта.

На основании имеющихся данных нам пока трудно дать объяснение вышеотмеченному явлению. С одной стороны, можно предполагать, что рентгеновские лучи, действуя на разные органы и ткани организма, одновременно влияют и на те процессы, благодаря которым осуществляется повышенная выработка эритропоэтинов в ответ на острую кровопотерю. С другой стороны, известно, что при лучевом поражении под воздействием ионизирующего излучения в тканях и органах животных происходят различные функциональные нарушения, образуются весьма активные вещества, обладающие токсическими и гемолитическими свойствами [2, 5]. Мы пока не имеем возможности дать правильную оценку механизмов предотвращения увеличения эритропоэтической актив-

ности крови в данных условиях; требуются дополнительные исследования. В этом отношении будет небезынтересно проведение параллельных наблюдений в целях сравнения подавления нарастания эритропоэтиче-

Т а б л и ц а 2

Эритропоэтическое действие испытуемого безбелкового экстракта, анемизированных и облученных кроликов - доноров

Элементы костного мозга		Исходные цифры	Добавление раствора Хенк- са (контроль)	Добавление испы- туемого безбелко- вого экстракта плазмы кроликов- доноров
Проэритробласты		1,6	0,8	0,6
Эритробласты	базофильные	2,6	1,8	1,4
	полихроматофильные	10,4	8,6	9,2
	оксифильные	4,6	10,0	8,6
Процент всех клеток эритробласти- ческого ряда		19,2	21,2	19,8
Абсолютное количество клеток эри- тробластического ряда в 1 мм ³ . .		675 ± 16	798 ± 42	759 ± 19
Количество миелокариоцитов в 1 мм ³		3517 ± 71	3766 ± 202	3833 ± 189

Т а б л и ц а 3

Эритропоэтическое действие испытуемых плазм, анемизированных и облученных кроликов-доноров

Элементы костного мозга		Исходные цифры	Добавление раствора Хенк- са (контроль)	Добавление испы- туемых плазм подопытных кро- ликов-доноров
Проэритробласты		0,8	0,6	0,5 ± 0,2
Эритробласты	базофильные	2,0	1,0	1,5 ± 0,3
	полихроматофильные	8,4	6,4	7,5 ± 1,2
	оксифильные	4,6	8,0	6,4 ± 0,9
Процент всех клеток эритробласти- ческого ряда		15,8	16,0	15,7 ± 1,6
Абсолютное количество клеток эри- тробластического ряда в 1 мм ³ .		450 ± 34	461 ± 20	410 ± 53
Количество миелокариоцитов в 1 мм ³		2850 ± 169	2883 ± 125	2804 ± 240

ской активности крови при облучении с теми некоторыми функциональными состояниями организма, при которых уровень эритропоэтической активности крови также изменяется в сторону уменьшения. Очевидно, ценные данные будут получены также при применении некоторых других методов функциональной гематологии.

Лаборатория общей физиологии и лаборатория клинической и экспериментальной гематологии Института физиологии им. И. П. Павлова АН СССР и Ереванский сектор радиобиологии АМН СССР

Поступило 5.X 1963 г.

Ի. Հ. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ

ԸՆԴՀԱՆՈՒՐ ՌԵՆՏԳԵՆՅԱՆ ՃԱՌԱԳԱՅԹՄԱՆ ԱԶԳԵՅՈՒԹՅՈՒՆԸ ԱՐՅՈՒՆԱԶՐԿՎԱԾ ԿԵՆԴԱՆԻՆԵՐԻ ԱՐՅԱՆ ԷՐԻՏՐՈՊՈՆԵՏԻԿ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Ուսումնասիրվել է 600 ո ղողայով ունեցող ճառագայթների ազդեցությանը արյունազրկված կենդանիների արյան էրիտրոպոետիկ ակտիվության վրա: Փորձերը դրվել են արու ճագարների վրա: Վերջիններս ենթարկվել են ունեցող ճառագայթման՝ արյան ողջ ծավալի $1/3$ մասի հեռացումից 6 ժամ հետո: Ճառագայթումից 24 ժամ անց փորձակենդանիներից վերցվել են արյան նմուշներ և որոշվել է նրանց էրիտրոպոետիկ ակտիվությունը: Այդ բանը կատարվել է երկու ձևով. պոլիցիտեմիկ առնետներին ուսումնասիրվող արյան պլազմայի անսպիտակուց մզվածքի ներարկումով, ինչպես նաև հեղուկ միջավայրում ոսկրածուծի հյուսվածքային կուլտուրային արյան պլազմայի և նրա անսպիտակուց մզվածքի ավելացումով:

Ստացված տվյալները ցույց են տալիս, որ սուր արյունակորստից հետո կատարվող ունեցող ճառագայթումը 600 ո ղողայով՝ կանխում է կենդանիների արյան էրիտրոպոետիկ ակտիվության ավելացումը:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Арутюнян Р. А., Шехтер С. Ю. Бюллетень эксп. биол. и мед., 6, 23—25, 1964.
2. Беневоленский В. Н. В книге «Первичные процессы лучевого поражения», М., 1957.
3. Кахетелидзе М. Г. и Рогачева Л. С. Проблемы гематологии и переливания крови, 10, 14—18, 1959.
4. Козинец Г. И., Тюбиана М., Фриндель Э. Медицинская радиология, 6, 60—63, 1963.
5. Тарусов Б. Н. Основы биологического действия радиоактивных излучений, М., 1954.
6. Ямщикова И. Н. Вопросы радиобиологии, 4, 400—405, Л., 1961.
7. Ярошевский А. Я. Эндогенные стимуляторы кроветворения (эритропоэтины), М.—Л., 1963.
8. Erslev A. J. — J. Lab. a. Clin. Med., 50, 4, 543—549, 1957.

9. Jacobson L. O., Goldwasser E. and Gurney C. W. Ciba Foundation Symposium on Haematopoiesis, 1, 423—445, 1960.
10. Gordon A. S., Piliero S. J., Kleinberg W. and Freedman H. H. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 86, 2, 255—258, 1954.
11. Dragić M. B., Adamović M. G., Hajdu-Cović S. I., Radotić M. M. Bull. Inst. Nucl. Sci. 10, 1960.
12. Dragić M. B. Цит. по Ужанскому Я. Г.—Пат. физиол. и эксп. терапия, 6, 2, 83—85, 1962.
13. Laijtha L. G. J. Clin. Path., 5, 1, 67—85, 1952.
14. Linman J. W. and Bethell F. H. Blood, 12, 2, 123—129, 1957.
15. Stohlman F., Brecher G. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 91, 1, 1—4, 1956.