

Р. А. АРУТЮНЯН

ОБ ЭРИТРОПОЭТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ЖИВОТНЫХ

В первых исследованиях по эритропоэтинам [6] было установлено, что кровь анемизированных животных приобретает высокую эритропоэтическую активность. Дальнейшими работами многочисленных исследователей этот факт был полностью подтвержден. Стало известно, что кровь обогащается особыми эндогенными веществами, которые были названы эритропоэтинами, не только при кровопотерях, но и при продолжительном нахождении организма в условиях пониженного парциального давления кислорода, приеме солей кобальта и т. д. Однако до сих пор еще не совсем выяснен вопрос: происходит ли образование эритропоэтинов лишь при нарушениях кроветворения или они постоянно существуют в крови человека и животных и в нормальных условиях, лишь увеличиваясь в количестве при усиленной регенерации крови. Мнения исследователей по этому вопросу расходятся. Ряд из них [3, 4, 10] сумел показать, что кровь здоровых животных и людей в норме содержит определенное количество эритропоэтинов. Другая группа исследователей [8, 11, 12] придерживается противоположного мнения и считает, что в нормальных условиях кровь эритропоэтической активностью не обладает. Такое положение обуславливает необходимость дальнейших экспериментов и строгого анализа полученных данных. Достаточно сказать, что на последнем, т. е. VIII европейском конгрессе гематологов этот вопрос был предметом специального обсуждения [2].

В настоящей работе мы поставили цель изучить эритропоэтическую активность крови здоровых животных. В случае положительного ответа на этот вопрос мы решили также сделать попытку выяснить соотношение содержания эритропоэтинов крови нормальных животных по сравнению с активностью крови животных с острой постгеморрагической анемией.

Методика. В качестве животных-доноров были выбраны здоровые взрослые кролики-самцы. Исследованиями отдельных показателей периферической крови было установлено, что уровень эритропоэза у них находился в пределах нормальных величин (эритроциты— $5.345.000 \pm 560.000$ в 1 мл^3 крови, гемоглобин— $12,9 \pm 0,8 \text{ г}\%$).

Для изучения эритропоэтической активности крови кроликов-доноров у них брали пробы крови без применения каких-либо наркотических веществ. Отсасывание крови производилось шприцем из сердца путем его пункции в области пятого межреберья. Полученная кровь стабилизировалась добавлением одной капли раствора гепарина (гепарин «Рихтер») и центрифугировалась трехкратно при 3000 об/мин. в течение 10

мин. В целях избежания побочных эффектов от действия чужеродных белковых веществ, содержащихся в плазме, из последней изготавливали безбелковые экстракты [7]. После взятия проб нормальной крови для получения «анемичной» крови у тех же здоровых кроликов-доноров, 3 раза, в течение трех дней, производили кровопускания. В результате удаления крови, по объему равной почти всей массе крови тела, у животных развивалась глубокая постгеморрагическая анемия. Через 24 ч. после последнего кровопускания кролики-доноры полностью обескровливались. Из полученных проб крови также изготавливали безбелковые экстракты плазмы.

Полученные экстракты вводили животным-реципиентам и у них изучали изменения кроветворения. Учитывая, что эффект влияния эритропоэтинов можно усилить путем предварительной подготовки животных-реципиентов, мы содержали подопытных кроликов-реципиентов в условиях голода (вода давалась без ограничения), а у крыс и мышей вызывали экспериментальную полицитемию (однократное внутрибрюшинное введение 80% взвеси гомологичных эритроцитов: крысам весом в среднем 60 г—5 мл, а мышам весом в среднем 20 г—1 мл). Основными показателями сдвигов в процессах кроветворения были избраны: у кроликов-реципиентов—изменения количества ретикулоцитов периферической крови эритробластического ростка костного мозга, а у полицитемичных животных—сдвиги в числе ретикулоцитов. Известно, что в работах по эритропоэтинам ретикулоцитарная реакция полицитемичных животных является одной из общепринятых. По мнению многих авторов [1, 5], этот тест надежно показывает регенераторные способности эритропоэза.

Каждая группа животных-реципиентов была разделена на три подгруппы. Животным первой подгруппы (контрольная) вводили физиологический раствор. Вторая подгруппа животных получала экстракт нормальной крови, а третья подгруппа—экстракт крови анемизированных животных. Введение исследуемых веществ производили: кроликам—внутрибрюшинно 3 раза, в течение трех дней, по 15 мл, полицитемичным животным—подкожно 2 раза, в течение двух дней (мышам—1 мл и 0,5 мл, крысам—3 мл и 1,5 мл).

Всего исследовалась эритропоэтическая активность крови 24 кроликов-доноров. В качестве животных-реципиентов были использованы 30 кроликов (по 10 в каждой подгруппе), 27 мышей-реципиентов (в каждой подгруппе 9 животных) и 24 крысы-реципиенты (в каждой подгруппе 3 животных). Полученные результаты были подвергнуты статистической обработке.

Результаты опытов и обсуждение. Вследствие лишения пищи и введения гомологичных эритроцитов у животных-реципиентов наступали значительные изменения в уровне кроветворения. Уже с первых дней голодания у кроликов-реципиентов, наряду со снижением веса тела, началось прогрессирующее уменьшение числа ретикулоцитов. На 7-й день наблюдения их содержание с исходных $2,0 \pm 0,5\%$ снизилось до $0,6 \pm 0,3\%$. Изучение эритробластического ростка костного мозга, произведен-

ное на 5-й день лишения пищи, показало, что процентное содержание элементов этого ряда от нормальных $24,5 \pm 4,9\%$ снизилось до $8,5 \pm 3,1\%$. Количество ретикулоцитов в костном мозге от исходных $1,9 \pm 0,3\%$ к 5-у дню голодания стало равным $0,8 \pm 0,3\%$.

Однократное внутрибрюшинное введение гомологических эритроцитов привело у крыс и мышей к постепенному уменьшению числа ретикулоцитов. Через 7 дней они полностью исчезли из периферической крови.

Кроликам-реципиентам исследуемые вещества вводились в первый день лишения пищи, так что они действовали на «фоне голодания». Полицитемичные крысы и мыши получали исследуемые вещества после установления «нулевого фона» в содержании ретикулоцитов. Об эритропоэтической активности нормальной крови, а также соотношении этой активности по сравнению с активностью крови анемизированных животных мы судили, сравнивая данные, полученные в разных подгруппах отдельных серий опытов.

Выяснилось, что, в отличие от кроликов-реципиентов контрольной подгруппы, у подопытных кроликов второй подгруппы, получавших экстракт нормальной плазмы, отмечался сравнительно высокий уровень эритропоэза. Начиная с третьего дня наблюдения число ретикулоцитов начало нарастать и на 7-й день наблюдения среднее количество ретикулоцитов у них возросло втрое, по сравнению с контрольными животными. Изучение эритробластического ростка костного мозга показало также сравнительно высокий уровень эритропоэза. Процентное содержание элементов эритробластического ряда у животных второй подгруппы было равно $12,0 \pm 2,0\%$, вместо $8,5 \pm 3,1\%$ в контрольной подгруппе, а среднее количество ретикулоцитов в костном мозге — $1,5 \pm 0,5\%$, вместо $0,8 \pm 0,3\%$. Введение безбелкового экстракта крови анемизированных животных привело к аналогичным, но более выраженным сдвигам в изучаемых показателях крови. Так, количество ретикулоцитов периферической крови на 7-й день наблюдения в этой подгруппе было в среднем $3,1 \pm 1,4\%$, против $0,6 \pm 0,3\%$ в первой подгруппе и $1,9 \pm 1,1\%$ во второй. Процентное содержание эритробластических элементов костного мозга к 5-у дню наблюдения было также сравнительно большим. Подробные данные этой серии опытов представлены в табл. 1.

Во второй и третьей серии опытов изучалась ретикулоцитарная реакция полицитемичных крыс и мышей на введение исследуемых веществ. Результаты опытов на контрольных подгруппах показали, что при данной модели полицитемии число ретикулоцитов держалось на «нулевом» уровне недолго. Со второго дня после исчезновения ретикулоцитов их количество начало повышаться и стало равным у крыс $0,3 \pm 0,1\%$ и у мышей $0,3 \pm 0,2\%$. Учитывая это обстоятельство, мы решили рассматривать данные, полученные во второй день наблюдения. При этом выяснилось, что в ответ на введение безбелкового экстракта плазмы крови здоровых животных у полицитемичных животных развивался выраженный ретикулоцитоз. У крыс второй подгруппы через 48 ч. после начала введения число ретикулоцитов составляло $1,6 \pm 0,5\%$ против $0,3 \pm$

Таблица 1

Изменения эритробластического ростка костного мозга и содержания ретикулоцитов периферической крови у голодающих кроликов-реципиентов при введении им исследуемых веществ

Показатели	Исходные данные (до начала голодания)	Первая подгруппа	Вторая подгруппа	Третья подгруппа
Общее количество эритробластических элементов (в ‰)	24,5±4,9	8,5±3,1	12,0±2,0	15,3±3,4
Ретикулоциты в костном мозге (в ‰)	1,9±0,3	0,8±0,3	1,5±0,5	1,8±0,8
			7-й день наблюдения	
Ретикулоциты в периферической крови (в ‰)	2,0±0,5	0,6±0,3	1,9±1,1	3,1±1,4

Первая подгруппа — введение физиологического раствора.

Вторая подгруппа — введение экстракта плазмы здоровых животных.

Третья подгруппа — введение экстракта плазмы анемизированных животных.

0,2% в контрольной подгруппе. Аналогичная картина была получена также у полицитемичных мышей. Как в опытах с кроликами, так и у полицитемичных животных введение экстракта плазмы анемизированных кроликов привело к более сильно выраженной ответной реакции со стороны органов кроветворения. Подробные сравнительные данные этих двух серий опытов представлены в табл. 2.

Таблица 2

Ретикулоцитарная реакция полицитемичных животных-реципиентов на введение исследуемых веществ ко 2-у дню наблюдения

Показатель	Полицитемичные мыши			Полицитемичные крысы		
	первая подгруппа	вторая подгруппа	третья подгруппа	первая подгруппа	вторая подгруппа	третья подгруппа
Содержание ретикулоцитов в периферической крови (в ‰)	0,3±0,2	1,4±0,7	4,2±1,6	0,3±0,1	1,6±0,5	5,0±1,0

Обозначения те же, что в таблице 1.

Таким образом, анализируя полученные результаты, можно сказать, что введение безбелкового экстракта плазмы здоровых кроликов животным-реципиентам вызвало у них определенное оживление процессов кроветворения. Последнее относится как к содержанию ретикулоцитов в периферической крови, так и к эритробластическому росту костного мозга. Это дает нам право сказать, что кровь здоровых животных в условиях нормального функционирования организма содержит в себе не-

большое количество эритропоэтинов. В состоянии острой кровопотери происходит незамедлительное усиление выработки эритропоэтинов. В результате этого наступает значительное увеличение эритропоэтической активности крови, что было установлено в наших опытах. Косвенным подтверждением такого заключения являются данные, полученные методом хроматографического исследования [9]. Было выявлено, что в фильтрате плазмы анемизированных животных содержатся те же свободные аминокислоты, что и в фильтрате нормальной плазмы (последние отличаются друг от друга лишь количественными расхождениями).

На основании всего вышеизложенного можно полагать, что в механизмах осуществления сложных и многогранных процессов кроветворения, наряду с другими общепринятыми факторами, важное место занимают и эритропоэтины крови. Очевидно, что эритропоэтины, образующиеся в самом организме, принимают участие как в восстановлении первоначального уровня состава крови при патологических его нарушениях, так и в поддержании физиологического уровня эритропоэза в условиях нормального функционирования организма.

Институт физиологии
им. акад. И. И. Павлова АН СССР,
Сектор радиобиологии АМН СССР

Поступило 15.V 1963 г.

Ռ. Հ. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ

ԱՌՈՂՋ ԿԵՆԴԱՆԻՆԵՐԻ ԱՐՅԱՆ ԷՐԻՏՐՈՊՈՅՆԵՏԻԿ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՄԱՍԻՆ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Ուսումնասիրվել է առողջ կենդանիների նորմալ արյան էրիտրոպոետիկ ակտիվությունը, ինչպես նաև նրա փոխհարաբերությունը սուր արյունապակասություն ունեցող կենդանիների արյան էրիտրոպոետիկ ակտիվության հետ:

Դոնորներ են հանդիսացել առողջ, հասուն, արու ճագարները, որոնցից արյան նմուշներ են վերցվել ինչպես նորմալ պայմաններում, այնպես էլ փորձնական սուր արյունապակասության ժամանակ: Այդ նմուշներից պատրաստվել են պլազմայի անսպիտակուց էքստրակտներ, որոնք ներարկվել են ռեցիպենտ կենդանիներին՝ քաղցած ճագարներին և «պոլիցիտեմիկ» մկներին ու առնետներին:

Տվյալները ցույց են տալիս, որ առողջ կենդանիների արյունը օրգանիզմի նորմալ կենսագործունեության ժամանակ ունի որոշ էրիտրոպոետիկ ակտիվություն: Սուր արյունապակասության պայմաններում այդ ակտիվությունը արագորեն մեծանում է: Կարելի է եզրակացնել, որ օրգանիզմի արյունաստեղծման բարդ ու բազմակողմանի պրոցեսների իրականացման գործում մյուս ճանաչված գործոնների հետ մեկտեղ իրենց սրոշակի դերն ունեն նաև էրիտրոպոետիկները:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Кассирский И. А., Алексеев Г. А. *Болезни крови и кроветворной системы*. М., 1948 г.
2. Ужанский Я. Г. *Патол. физиол. и эксп. терапия*, 1962, т. 6, 2, стр. 83.
3. Шошиев Л. Н. К механизму синтеза гемоглобина при кислородном голодании. Диссертация, Л., 1959 г.
4. Ярошевский А. Я. *Эндогенные стимуляторы кроветворения (эритропоэтины)*. М., 1963 г.
5. Тодоров Иордан. *Клинические лабораторные исследования в педиатрии*. София, 1960 г.
6. Carnot P. et Deflandr Cl. *Compt. Rend. L., Acad. Sci.*, 1906. t. 143, 384.
7. Gordon A. S., Piliero S. J., Kleiberg W., Freudman H. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, 1954, Vol. 86, 255.
8. Keighley G., Borsook H., Graybiel A. *Science*, 1956, Vol. 124, № 3219, 439.
9. Krzymowsky T., Krzymowska H. *Acta Physiol. Polonica*, 1959, Vol. X, 349.
10. Linman J. W. and Bethell H. *Factors controlling erythropoiesis*. Springfield, USA, 1960.
11. Lowy P., Keighley G., Borsook H. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, 1958, Vol. 99, № 3, 668.
12. Marinone G., Meduri D., Petronio L., Puricelli G. *Haematologica*, 1956, Vol. 41, № 12, 941.