Э. Р. ПАШИНЯН, Р. М. МАНУКЯН

К ВОПРОСУ ОБ ЭРИТРОПОЭТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ЛИЦ

За последние годы в изучении вопроса регуляции эритропоеза значительное место заняли исследования, посвященные особым гуморальным веществам — гемопоэтинам.

Гуморальные вещества сыворотки, способные стимулировать кроветворение, впервые были обнаружены Карно и Дефландром [15].

Под эритропоэтином подразумевается активный фактор типа гормона или фермента, усиленно образующийся в организме людей и животных, нуждающихся в увеличении числа эритроцитов, и оказывающий стимулирующее влияние на эритропоез в костном мозгу. Несомненно доказана возможность образования эритропоэтина в ответ на массивную кровопотерю, гемолиз и кислородное голодание.

Мощным стимулом для повышенного образования эритропоэтина является массивное разрушение эритроцитов, наблюдающееся в клинике у больных гемолитическими анемиями, а в эксперименте — после введения фенилгидразина [3, 5, 12, 13, 17]. Выраженное стимулирующее действие на выработку эритропоэтина оказывает гипоксия в любых ее проявлениях: подъем альпинистов в горы, дыхательная недостаточность вследствие заболевания легких, экспозиция животных в барокамере при пониженном атмосферном давлении [5, 8, 17] и др. Несмотря на многочисленные работы по изучению регуляции, места образования, механизма действия эритропоэтина, многое в этих вопросах остается невыясненным. Принято считать, что фактором, стимулирующим образование гемопоэтинов, является гипоксия. Однако механизм действия гипоксии на выработку гемопоэтинов остается не вполне выясненным.

По мнению Эрслев [10], имеет значение не столько содержание кислорода в крови, сколько напряжение его в тканях и, особенно, в тканях органов, регулирующих образование эритропоэтинов. Этой точки зрения придерживаются Фриед и Якобсон [14], которые полагают, что образование эритропоэтинов регулируется соотношением между доставляемым и потребляемым тканями кислородом. Установлено, что эритропоэтин не только обуславливает дифференциацию примитивных родоначальных клеток в проэритробласты, но и влияет на последующие стадии деления и созревания клеток красного ряда в костном мозгу.

Вопрос об участии эритропоэтина в нормальном физиологическом кроветворении у человека остается открытым, ввиду того, что титр эритропоэтина в нормальной плазме невысок и обуславливает полученные во многих случаях отрицательные данные. В то время как одни авторы [7, 18] и др. обнаруживали эритропоэтическую активность сыворотки здоровых людей, другие [6, 19] не смогли выявить ее.

Учитывая неоднородность литературных данных, а также то обстоятельство, что парциальное давление кислорода в условиях г. Еревана несколько ниже, ввиду высокого расположения города над уровнем моря, была предпринята настоящая работа.

Исследовалась эритропоэтическая активность здоровых первичных доноров (22 чел.) до кроводачи, проживающих в г. Ереване не менее 3 лет. Возраст их колебался от 20 до 40 лет, мужчин было 7, женщин—15. Все обследованные были подвергнуты предварительному клиничко-лабораторному исследованию. Патологических отклонений со стороны органов и систем не установлено. Изучение эритропоэтической активности сыворотки производилось с помощью культуры костного мозга в жидкой среде по методу Лайта [16], видоизмененному С. Ю. Шехтер [4].

Из локтевой вены в стерильные пробирки с разведенным гепарином брали 10 мл крови и центрифугировали до 5 мин. при 1500 об/мин. Отсосав полученную плазму и доведя pH до 6,5 (1N HCl), ставили в водяную баню на 5—15 мин. С целью получения безбелкового экстракта у молодого здорового кролика пункцией бедренных костей извлекали костный мозг, который помещался в силиконизированные стерильные пробирки с раствором Хенкса. Путем пункции сердца извлекали около 20 мл крови и поровну разливали в 2 пробирки с раствором гепарина. Костномозговую взвесь и кровь центрифугировали, первую в течение 5—7 мин. при 1000 об/мин., а вторую в течение 10 мин. при 3000 об/мин. Полученные костный мозг и плазму отсасывали во флакон, куда добавляли раствор антибиотиков и колхицина, исходя из количества костного мозга и ставящихся проб. Костномозговую взвесь культивировали с безбелковыми экстрак-

Таблица 1

Показатели периферической крови здоровых людей

Исследуемые показатели	Пределы колебаний	M	$\pm m$	S
Гемоглобин (г %)	13—15,4	13,8	0,8	3,66
Эритроциты (млн)	4,2—5,2	4,5	5,7	2,6
Ретикулоциты	4—8	6,37	0,35	1,6
Цветной показатель	0,8—1,0	0,89	0,011	0,05
РОЭ (мм/час)	3—8	5,77	0,29	1,31
Лейкоциты	5700—7400	6477	211,4	968,6
Лейкоформула				
Нейтрофилы палочкоядерн.	0—2	1,05	0,06	0,26
Сегментоядерн.	58—69	64	0,63	2,88
Эозинофилы	1—5	2,73	0,23	1,05
Моноциты	2—7	4,41	0,29	1,31
Лимфоциты	25—35	27,86	0,68	3,14

Таблица 2

Показатели эритропоэтической активности крови здоровых людей

Исследуемые растворы	Количество митозов		Ретикулоциты в %		ЛЭИ		ИСЭ		Парциальная эритрограмма				
	$M \pm m$	P	$M \pm m$	P	$M \pm m$	P	$M \pm m$	P	эритробласт	пронормобласт	H6	Hп	Ho
									$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$	$M \pm m$
Раствор Хенкса	$35 \pm 1,75$	$> 0,8$	$11 \pm 0,53$	$> 0,1$	$0,32 \pm 0,02$	$< 0,2$	$0,97 \pm 0,006$	$> 0,5$	$0,5 \pm 0,025$ $P < 0,1$	$0,5 \pm 0,025$ $P < 0,002$	$3,7 \pm 0,485$ $P > 0,05$	$4,11 \pm 1,83$ $P < 0,02$	$54,7 \pm 2,4$ $P < 0,02$
Безбелков. экстракт	$35,5 \pm 1,15$		$12 \pm 0,17$		$0,46 \pm 0,01$		$0,97 \pm 0,004$		$0,36 \pm 0,08$	$0,23 \pm 0,08$	$2,4 \pm 0,229$	$35,4 \pm 1,28$	$59,52 \pm 1,74$

тами в присутствии антибиотиков и колхицина в течение 20 час. при $+37^{\circ}$. Помимо того, брали две контрольные пробирки, где культивировалась костномозговая взвесь с раствором Хенкса. Спустя 20 час. из осадка готовились мазки, которые окрашивались по Паппенгейму. Подсчитывали в них, помимо количества митозов на 1000 способных к делению клеток эритроидного ряда, количество ретикулоцитов; выводили парциальную эритрограмму, лейко-эритробластический индекс, индекс созревания элементов эритроидного ряда. Полученные показатели сравнивали с таковыми в контрольной культуре (культивирование костного мозга в растворе Хенкса). Активность сыворотки оценивали по статомокинетическому индексу, индексу созревания элементов эритроидного ряда, парциальной эритрограмме.

Использованный нами метод позволяет оценивать эритропоэтическую активность малых количеств исследуемых жидкостей. Данные исследований статистически обработаны и представлены в таблицах (1, 2).

Показатели морфологического состава периферической крови исследуемых лиц (табл. 1) не отличались от существующих нормативов.

Можно только отметить, что ни в одном случае в лейкоформуле не обнаружены базофильные лейкоциты. Результаты исследования эритропоэтической активности здоровых людей приведены в табл. 2. Число митозов и ретикулоцитов в опытных и контрольных культурах колебалось в тех же пределах, средние показатели их существенно не отличались. В соотношении элементов белого ряда к красному так же, как и в показателях гемоглобинсодержащих элементов ко всему эритроидному ряду, изменений не выявлено. Следует отметить, что в парциальной эритрограмме культур с безбелковыми экстрактами по сравнению с контрольной наблюдалось увеличение содержания оксифильных нормобластов за счет полихроматофильных форм. Результаты проведенных исследований позволяют считать, что сыворотка исследуемых здоровых лиц по данным статомокинетического индекса, числу ретикулоцитов, показателям лейко-эритробластического индекса и индекса созревания элементов эритроидного ряда не обладает эритропоэтической активностью.

Институт кардиологии и сердечной хирургии

Поступило 12/V 1970 г.

Է. Ռ. ՓԱՇԻՆՅԱՆ, Ռ. Մ. ՄԱՆՈՒԿՅԱՆ

ԱՌՈՂՋ ՄԱՐԴԿԱՆՑ ԱՐՅԱՆ ՇԻՃՈՒԿԻ ԷՐԻՏՐՈՊՈՅԵՏԻԿ
ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՀԱՐՅԸ

Ա մ փ ո փ ս ի մ

Ուսումնասիրվել է 20—40 տարեկան 22 առողջ մարդկանց արյան շիճուկի էրիտրոպոետիկ ակտիվությունը: Ուսումնասիրությունը կատարվել է սսկրածուծի կոպտիվացիայի միջոցով, հեղուկ միջավայրում, ըստ Lajtha-ի մեթոդի՝ ձևափոխված Ս. Յու. Շեխտերի կողմից:

Կատարված ուսումնասիրությունների արդյունքները թույլ են տալիս եզրակացնել, որ առողջ մարդկանց արյան շիճուկի էրիտրոպոետիկ ակտիվությունն ըստ ստատիստիկական ինդեքսի տվյալների՝ բացասական է: էրիտրոպոետիկ ակտիվությունը բացասական է նաև ըստ ռետիկուլոցիտների քանակի, լեյկոէրիտրոբլաստիկ ինդեքսի և էրիտրոիդ շարքի էլեմենտների հասունացման ինդեքսի ցուցանիշների:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. *Արտյոնյան Բ. Ա., Շեխեր Ս. Յ.* Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 1964, 57, 6, стр. 23.
2. *Черниговский В. Н., Шехтер С. Ю., Ярошевский А. Я.* Регуляция эритропоэза. Л., 1967, стр. 38.
3. *Шенцелевич Л. Л. и Рогачева Л. С.* Проблемы гематологии и переливания крови, 1960, 5, 2, стр. 13.
4. *Шехтер С. Ю.* Патологическая физиология и экспериментальная терапия, 1965, 9, 2, стр. 81.
5. *Шошнев Л. Н.* Автореферат. Л., 1959.
6. *Ярошевский А. Я.* Эндогенные стимуляторы кровотообразования. М.—Л., 1963.
7. *Adamson J. W., Alexanian R., Martinez C., Finch G. A.* Blood., 1966, 28, 3, 354.
8. *Bonsdorf E. a. Jalavisto S.* Acta Pysiol. Scand., 1948, 16, 2—3, 150.
9. *Borsook H., Graybiel A., Keighley a. Windsor.* Blood, 9, 7, 734.
10. *Erslev A. J. J.* lab. a clin. med., 1957, 50, 4, 543.
11. *Gibelli C.* Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm., 1911, 65, 1—2, 284.
12. *Gordon A. S.* Amer. J. clin. nutr., 1957, 5, 4, 461.
13. *Jacobson L. O., Plzak L., Fried N.* Nature, 1956, 177, 4522, 1240.
14. *Jacobson L. O., Goldwasser E., Gurney C. W., Fried W., Plzak L.* Ann. N. Y. Acad. Sci., 1959, 77, 3, 703.
15. *Carnot P., Deflandre Cl.* C. R. Acad. Sci. (Paris), 1906, v. 143, p. 384.
16. *Lajtha L. Y.* In: Erythropoiesis. N. Y. a. London, 1962, 140.
17. *Stohlman F. a. Brecher G. J.* Lab. a clin. med., 1957, 49, 6, 890.
18. *Stohlman F. a. Brecher G. J.* lab. a clin. med., 1956, 49, 6, 890.
19. *Van Dyke D. C., Lawrence J. H. a. Pollycove M.* Congress of hemat., 1962, 2, Tokyo, 1004.