

ПРО ВПЛИВ ЛЕЙКОПОЕТИНІВ НА ЛЕЙКОПОЕЗ

В. Л. Скуратов, А. В. Осипенко, В. Н. Фраш

Кафедра патологічної фізіології Свердловського медичного інституту;
Свердловський інститут гігієни праці і профзахворювань

В гуморальній регуляції лейкопоезу важливе значення надається біологічно активним речовинам — лейкопоетинам [2, 3, 6, 11, 12]. Проте механізм їх дії на лейкопоез досі мало досліджений.

Ми вивчали вплив лейкопоетинів на деякі аспекти лейкопоезу — кількісний і якісний склад лейкоцитів периферичної крові і кісткового мозку, інтенсивність тканинного дихання і гліколізу в кровотворних органах, функціональну активність лейкоцитів.

Методика досліджень

Для одержання лейкопоетинів брали шурів після промивного лейкоферезу, який досягали повторним введенням в черевну порожнину стерильного фізіологічного розчину і дальшим відсмоктуванням утвореного ексудату, що містить лейкоцити. Всього видалено близько 1,5 млрд. лейкоцитів. Сироватку крові брали через добу після лейкоферезу (методика Гордона [12]).

Іншим джерелом лейкопоетинів служили шури, у яких викликали асептичне запалення введенням у черевну порожнину стерильного фізіологічного розчину (методика Менкіна [13]). У частині дослідів використовували концентрований препарат лейкопоетину, одержаний з Центрального інституту гематології і переливання крові. Цей препарат досліджували у розведеннях 1:10 і 1:100.

Ми використовували також продукти розпаду нейтрофілів здорових кроликів і сироватку крові кроликів з бензолною лейкопенією. Продукти розпаду лейкоцитів одержували осмотичним зруйнуванням (з дальшим багаторазовим заморожуванням і розморожуванням) нейтрофілів нормальних тварин. Джерелом нейтрофілів служив ексудат черевної порожнини кролика, який утворюється протягом 4 год після введення 0,1%-ного розчину глікогену. Для одержання бензолної лейкопенії кроликам вводили щодня по 0,5 мл/кг бензолу до зниження числа лейкоцитів до 1,2 тис/мкл і нижче.

Лейкопоетичну активність досліджуваних речовин визначали *in vivo* за зміною лейкопоезу шурів-реципієнтів (лейкоцитоз, лейкоцитарна формула, міелограма, інтенсивність тканинного дихання і гліколізу кісткового мозку і селезінки за Варбургом) на третю-четверту доби після одноразового внутрічеревного введення 1 мл досліджуваних речовин на 100 г ваги тварини та *in vitro* за зміною дихання і гліколізу кісткового мозку і селезінки за методом Варбурга після додавання до них досліджуваних препаратів та за зміною міграції лейкоцитів у культурі тканини лейкоцитарної плівки [1, 4, 9, 10]. У дослідях з культурою тканини через 6 і 20 год інкубації культур вимірювали площу шматочка і зони міграції лейкоцитів планіметром та різницю між другою і першою величинами по відношенню до першої розглядали як індекс міграції лейкоцитів.

Результати досліджень

При одноразовому парентеральному введенні кожної з досліджуваних речовин інтактним шурам-реципієнтам у них на третю-четверту доби після введення в периферичній крові відзначався лейкоцитоз, зумовлений дво-триразовим збільшенням вмісту нейтрофілів, та зрушення лейкоцитарної формули ліворуч (табл. 1). У цей період у кістково-

му мозку щурів-реципієнтів спостерігалась гіперплазія міелоїдного ростка зі збільшенням частки незрілих елементів цього ряду. Зміни інших клітинних форм периферичної крові (еритроцитів, ретикулоцитів і лімфоцитів) та кісткового мозку були нерегулярними. Водночас у щурів-реципієнтів відзначалось посилення гліколітичних процесів кісткового мозку (табл. 2). Інтенсивність окисних процесів кісткового мозку і селезінки змінювалась недостовірно.

Таблиця 1

Нейтрофілопоз щурів-реципієнтів при дії лейкопоетинів

Введена речовина	Периферична кров. Нейтрофіли (тис/мкл) $M \pm m$	Індекс ядерного зрушення $M \pm m$	Парціальна мієлограма				Загальний процент нейтрофілів у кістковому мозку $M \pm m$
			Мієлобласти $M \pm m$	Промієлоцити+мієлоцити $M \pm m$	Метамієлоцити нейтрофілі $M \pm m$	П-ядерні +с-ядерні нейтрофіли $M \pm m$	
Без введення (контроль)	1,8±0,15	0,4±0,03	1,74±0,3	14,0±1,4	22,6±2,26	61,6±5,1	57,5±3,0
Сироватка нормальних щурів	1,9±0,3	0,4±0,03	1,8±0,3	15,1±2,0	23,0±2,2	60,1±4,3	54,0±2,7
Сироватка щурів після лейкокафезу	5,1±0,4 (<0,001)	1,7±0,2 (<0,001)	7,2±1,4 (<0,001)	15,3±1,5 (>0,1)	26,8±2,3 (>0,1)	50,8±4,0 (>0,1)	69,4±3,3 (<0,005)
Сироватка щурів при асептичному запаленні	4,5±1,0 (<0,05)	1,6±0,2 (<0,001)	5,4±0,9 (<0,001)	21,2±1,8 (<0,02)	24,0±2,1 (>0,1)	49,4±4,0 (>0,1)	69,8±3,1 (<0,005)
Ексудат з осередку асептичного запалення	5,9±0,4 (<0,001)	2,4±0,3 (<0,001)	6,2±1,0 (<0,001)	20,5±1,6 (>0,02)	25,0±2,2 (>0,1)	48,2±4,1 (>0,1)	70,2±3,0 (<0,005)
Лейкопоетин (1:10)	3,6±0,8 (<0,05)	1,5±0,2 (<0,001)	6,0±1,0 (<0,001)	20,2±1,4 (<0,02)	23,5±2,2 (>0,1)	50,3±4,0 (>0,1)	70,5±3,1 (<0,005)
Сироватка нормальних кроликів	1,7±0,3	0,4±0,04	1,76±0,4	14,0±1,5	22,6±2,3	61,0±4,0	56,0±2,8
Сироватка «бензольних» кроликів	5,1±0,25 (<0,001)	0,7±0,08 (<0,05)	3,57±0,6 (>0,01)	19,0±1,9 (<0,01)	24,3±2,1 (>0,1)	53,1±4,0 (>0,1)	60,0±3,8 (>0,1)
Продукти розпаду нейтрофілів кроликів	3,1±0,3 (<0,01)	0,7±0,06 (<0,05)	4,35±0,6 (<0,001)	30,55±4,1 (<0,001)	24,0±3,1 (>0,1)	39,1±3,5 (<0,01)	71,5±2,9 (<0,01)

Примітка. У дужках наведені значення p .

У дослідах *in vitro* при дії досліджуваних речовин на тканину кісткового мозку у ній посилювався анаеробний гліколіз (табл. 2), у селезінці змін гліколізу не відзначено.

Вивчення впливу досліджуваних речовин у культурі тканини лейкоцитарної плівки показало, що вони викликали стимуляцію міграції лейкоцитів, що проявлялось у збільшенні індексу міграції (табл. 3).

В деяких випадках (ексудат з осередку асептичного запалення, сироватка крові кроликів з бензольною лейкопенією) достовірна стимуляція росту культури тканини лейкоцитарної плівки виявлялась лише в один з строків дослідження (через 6 або 20 год інкубації). Найбільша активність властива препарату лейкопоетину (в розведенні 1:100, $p < 0,01$ в порівнянні з іншими дослідженими речовинами), що свідчить, очевидно, про високу активність цього препарату.

Анаеробний гліколіз кісткового мозку
(в мкл CO_2 на 1

Досліджувана речовина	Глі
Без введення	7
Сироватка крові інтактних щурів	7
Сироватка крові щурів після лейкокафезу	9
Сироватка крові щурів при асептичному запаленні	11
Ексудат з осередку асептичного запалення	9
Лейкопоетин (розведення 1:10)	9
Сироватка крові інтактних кроликів	7
Сироватка крові «бензольних» кроликів	10
Продукти розпаду нейтрофілів кроликів	8

Вплив лейкопоетинів на ріст к

Досліджувана речовина	М
Контроль (з плазмою щурів)	0,86
Сироватка крові щурів після лейкокафезу	1,15
Сироватка крові щурів з асептичним запаленням	1,08
Ексудат з осередку асептичного запалення	1,20
Лейкопоетин (розведення 1:10)	1,90
Лейкопоетин (розведення 1:100)	2,71
Контроль (з плазмою кролика)	1,62
Сироватка крові «бензольних» кроликів	1,42
Продукти розпаду нейтрофілів кроликів	2,64

Таблиця 2

Анаеробний гліколіз кісткового мозку щурів при дії лейкопоетинів
(в мкл CO_2 на 1 мг сухої ваги за 1 год)

Досліджувана речовина	Гліколіз кісткового мозку щурів-реципієнтів		Гліколіз кісткового мозку при додаванні лейкопоетинів	
	$M \pm m$	p	$M \pm m$	p
Без введення	$7,2 \pm 0,5$		$7,2 \pm 0,5$	
Сироватка крові інтактних щурів	$7,6 \pm 0,5$	$>0,1$	$7,2 \pm 0,6$	
Сироватка крові щурів після лейкоферезу	$9,4 \pm 0,6$	$<0,02$	$10,7 \pm 1,0$	$<0,002$
Сироватка крові щурів при асептичному запаленні	$11,6 \pm 1,5$	$<0,02$	$11,5 \pm 1,6$	$<0,02$
Ексудат з осередку асептичного запалення	$9,6 \pm 0,7$	$<0,02$	$10,7 \pm 1,4$	$<0,01$
Лейкопоетин (розведення 1:10)	$9,2 \pm 0,6$	$<0,02$	$10,9 \pm 1,1$	$<0,01$
Сироватка крові інтактних кроликів	$7,6 \pm 0,5$	$>0,1$	$7,2 \pm 0,6$	
Сироватка крові «бензолних» кроликів	$10,0 \pm 1,0$	$<0,001$	$10,6 \pm 1,0$	$<0,01$
Продукти розпаду нейтрофілів кроликів	$8,4 \pm 0,4$	$<0,05$	$8,9 \pm 0,4$	$<0,05$

Таблиця 3

Вплив лейкопоетинів на ріст культури тканини лейкоцитарної плівки

Досліджувана речовина	Індекс міграції					
	Через 6 год			Через 20 год		
	$M \pm m$	%	p	$M \pm m$	%	p
Контроль (з плазмою щурів)	$0,80 \pm 0,04$	100		$1,21 \pm 0,10$	100	
Сироватка крові щурів після лейкокаферезу	$1,15 \pm 0,13$	144	$<0,03$	$1,80 \pm 0,10$	150	$<0,01$
Сироватка крові щурів з асептичним запаленням	$1,08 \pm 0,15$	135	$<0,01$	$2,12 \pm 0,31$	174	$<0,001$
Ексудат з осередку асептичного запалення	$1,20 \pm 0,04$	150	$<0,01$	$1,21 \pm 0,10$	100	—
Лейкопоетин (розведення 1:10)	$1,90 \pm 0,19$	238	$<0,001$	$1,90 \pm 0,10$	158	$<0,01$
Лейкопоетин (розведення 1:100)	$2,71 \pm 0,70$	338	$<0,02$	$6,60 \pm 2,00$	550	$<0,03$
Контроль (з плазмою кролика)	$1,62 \pm 0,12$	100		$2,10 \pm 0,20$	100	
Сироватка крові «бензолних» кроликів	$1,42 \pm 0,20$	88	$>0,1$	$4,22 \pm 0,31$	201	$<0,001$
Продукти розпаду нейтрофілів кроликів	$2,64 \pm 0,34$	163	$<0,01$	$3,17 \pm 0,33$	151	$<0,01$

Обговорення результатів досліджень

Досліджені нами речовини — сироватка крові щурів після лейкофери, сироватка крові кроликів з бензольною лейкопенією, сироватка крові і ексудат щурів з асептичним запаленням, продукти розпаду нейтрофілів здорових кроликів, а також препарат лейкопоетину — мають виразну лейкопоетичну активність — на третю-четверту доби після введення вони викликають нейтрофільний лейкоцитоз у периферичній крові, супроводжуваний регенеративним зрушенням лейкоцитарної формули ліворуч. Вивчення морфологічного складу кісткового мозку показало, що ця стимуляція носила істинний характер, оскільки вона супроводжувалась гіперплазією нейтрофільного ростка кісткового мозку зі збільшенням процентного вмісту молодих клітин.

Раніше нами було показано, що лейкопоетично активні речовини викликають нейтрофільний лейкоцитоз і через 4—10 год після їх введення, проте цей ефект був викликаний переважно перерозподілом зрілих і дозріваючих нейтрофілів з кістковомозкового депо в циркулюючу кров [4, 7, 8]. Наведені дані показують, що згодом за фазою перерозподілу нейтрофілів спостерігається фаза істинної стимуляції нейтрофілопоезу. Одним з проявів стимуляції нейтрофілопоезу слід вважати і спостережану нами активацію анаеробного гліколізу кісткового мозку, оскільки анаеробний гліколіз типовий для обміну клітин білого ряду кісткового мозку [5, 6, 14].

При додаванні досліджуваних речовин до проб кісткового мозку також спостерігалось посилення гліколітичних процесів у ньому. Оскільки при такій постановці досліду виключається опосередкований вплив на гемопоєз за рахунок змін функцій будь-яких органів і систем організму, можна припустити, що досліджені нами лейкопоетини здатні спричиняти прямий активуючий вплив на енергетичні процеси в кістковому мозку.

Лейкопоетинам властивий, очевидно, вибірко́вий вплив на лейкопоєз у кістковому мозку, оскільки змін еритро- і лімфопоєзу (в тому числі і енергетики селезінки) не відзначено.

Виходячи з даних про те, що переважно гліколітичні процеси забезпечують функціональну активність лейкоцитів, зокрема їх рухливість, ми досліджували вплив лейкопоетинів на міграцію лейкоцитів у культурі тканини лейкоцитарної плівки. Виявилось, що всі досліджувані речовини стимулювали міграцію лейкоцитів. Паралелізм стимулюючого впливу цих речовин на міграцію лейкоцитів у культурі тканини з аналогічною дією лейкопоетинів і в досліді *in vitro* дає підставу для використання методу культури тканини лейкоцитарної плівки для визначення наявності лейкопоетинів у досліджуваних середовищах.

Висновки

1. Сироватка крові щурів після лейкофери, сироватка крові і ексудат щурів з асептичним запаленням, сироватка крові кроликів з бензольною лейкопенією і продукти розпаду нейтрофілів кроликів містять лейкопоетини.

2. Лейкопоетини викликають гіперплазію мієлоїдного ростка кісткового мозку, супроводжану посиленням енергетичної, синтетичної і проліферативної активності його клітин, вони підвищують і функціональну активність лейкоцитів периферичної крові.

1. Кахетелидзе М. Г.— Экспериментальная гематология с помощью нового метода, 1967.
2. Кахетелидзе М. Г.— Патология крови, 1967.
3. Маркосян В. С.— Лейкопоетин при некоторых патол. сост., Автореферат, 1967.
4. Осипенко А. В.— Изучение роли лейкопоетина, Автореферат, Свердловск, 1971.
5. Сейц И. Ф., Луганова И. И.— Нормы и при лейкозах, Л., 1967.
6. Сибиряков А. Г.— К вопросу о лейкопоетине, Свердловск, 1971.
7. Скуратов В. Л.— В кн.: Экспериментальная гематология, 1971, 80.
8. Фраш В. Н.— В кн.: Экспериментальная гематология, 1971, 80.
9. Хлопин Н. Г.— Культура тканей, 1945.
10. Хрущов Г. К.— Роль лейкоцитоза, 1945.
11. Bierman H., Marschall G., Tokyo, 1962, 1922.
12. Gordon A.— In: Ciba found. symposium, 1962, 1922.
13. Menkin W.— Biochemical Mechanisms of Cancer, 1962, 1922.
14. Warren C.— Amer. J. Physiol., 1962, 1922.

ON THE EFFECT OF LEUCOPOIETINES ON LEUCOCYTES

V. L. Skuratov, A. V. Osipenko, V. N. Frash

Department of Pathologic Physiology, Institute of Labour and Health, Moscow

Leucopoietic activity was studied in serum and exudate from the abdominal cavity of mice with peritonitis, in serum of rabbits with benzene leukopenia, in products of neutrophil decomposition, and in products of neutrophil decomposition. It is established that all these substances have a specific effect on the leucopoiesis in the bone marrow, expressed in a shift of the leucocyte formula to the left, accompanied by a rise in the portion of young cells. The effect is accompanied by an increase in the glycolytic processes in the bone marrow tissue samples of bone-marrow granulocytes. The results suggest that the investigated leucopoietic active substances have a direct stimulating effect on the energy processes in the bone marrow culture of leucocyte film as well.

Література

1. Кахетелидзе М. Г.— Экспер.-патол. исслед. гемопоэтического фактора жёлудка с помощью нового метода, Автореф. дисс., М., 1952.
2. Кахетелидзе М. Г.— Патол. физиол. и exper. терапия, 1970, 14, 5, 83.
3. Маркосян В. С.— Лейкопоэтическая активность крови животных в норме и при некоторых патол. сост., Автореф. дисс., Ереван, 1970.
4. Осипенко А. В.— Изучение роли продуктов распада лейкоцитов в механизме лейкопоэза, Автореф. дисс., Свердловск, 1971.
5. Сейц И. Ф., Луганова И. С.— Биохимия клеток крови и костного мозга в норме и при лейкозах, Л., 1967.
6. Сибиряков А. Г.— К вопросу о роли лейкопоэтинов в регуляции лейкоцитоза и лейкопоэза, Свердловск, 1971.
7. Скуратов В. Л.— В кн.: Экспер. исслед. механизмов лейкопоэза, Свердловск, 1971, 80.
8. Фраш В. Н.— В кн.: Экспер. исслед. механизмов гемопоэза, Свердловск, 1971, 131.
9. Хлопин Н. Г.— Культура тканей, М.—Л., 1940.
10. Хрущов Г. К.— Роль лейкоцитов крови в восстановит. процессах в тканях, М.—Л., 1945.
11. Bierman H., Marshall G., Vick E.— Proc. VIII Intern. Congr. of Haematology, Tokyo, 1962, 1922.
12. Gordon A.— In: Ciba found. symp. on haematopoiesis, L., 1960, 325.
13. Menkin W.— Biochemical Mechanisms in Inflammation, N. Y., 1956.
14. Warren C.— Amer. J. Physiol., 1940, 131, 176.

Надійшла до редакції
24.VII 1972 р.

ON THE EFFECT OF LEUCOPOIETINES ON LEUCOPOIESIS

V. L. Skuratov, A. V. Osipenko, V. N. Frash

Department of Pathologic Physiology, Medical Institute, Sverdlovsk, Institute of Hygiene of Labour and Occupational Diseases

Summary

Leucopoietic activity was studied in blood serum of rats with leucapheresis, in blood serum and exudate from the abdominal cavity of rats with aseptic inflammation, in decomposition products of neutrophils and blood serum of rabbits with benzene leucopenia. It is established that all these substances evoke stimulation of neutrophilopoiesis in rats recipients, that is expressed in neutrophilous leucocytosis in peripheral blood with a shift of the leucocyte formula to the left, in an increase of the granulocyte bone-marrow process with a rise in the portion of younger forms of neutrophilous series and intensification of glycolytic processes in bone-marrow. When adding the studied substances to the tissue samples of bone-marrow glycolysis intensification was observed. All the investigated leucopoietic active substances stimulated migration of leucocytes in the tissue culture of leucocyte film as well

ейка-
ватка
ней-
гають
і вве-
і кро-
орму-
каза-
упро-
ку зі

овини
зеде-
тріліх
кров
юділу
поєзу,
стере-
скіль-
істко-

мозку
іскіль-
вплив
ганізі-
спри-
ювому

лейко-
му чи-

забез-
ивість,
куль-
ані ре-
ючого
анало-
икори-
ачення

зі і ек-
з бен-
містять

а кіст-
ичної і
іональ-