

УДК 612-018.2:612.111+611-018.51

ЭНДОКРИНОЛОГИЯ

Академик АН УССР В. П. КОМИССАРЕНКО, К. П. ЗАК, Н. Н. БАБЕЦ

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ГИДРОКОРТИЗОНА НА ПОВЕРХНОСТЬ И ФОРМУ ЭРИТРОЦИТОВ С ПОМОЩЬЮ СКАНИРУЮЩЕГО ЭЛЕКТРОННОГО МИКРОСКОПА

Механизмы, регулирующие содержание и функционирование эритроцитов в крови, еще недостаточно изучены. В последние годы наряду с выяснением значения в этом процессе эритропоэтина существенное место занимали исследования роли гормонов, особенно кортикостероидов. Установлено, что недостаток глюкокортикоидов в организме человека и животных приводит к развитию анемии, которая в значительной мере может быть устранена заместительной терапией. При избыточном введении гидрокортизона интактным животным гиперпродукции красных кровяных телец не происходит, наоборот, при этом нередко наступает снижение содержания гемоглобина и эритроцитов в крови (¹). В предыдущих наших исследованиях (²) было показано, что анемия, возникающая у кроликов после применения, особенно многократного, фармакологических доз гидрокортизона, сопровождается изменением соотношения различных по своему диаметру эритроцитов: снижается число клеток с диаметром 5,4—6,8 мкм и увеличивается содержание эритроцитов малого (3,5 мкм) и большого (9,6—10,3 мкм) диаметра, что под микроскопом в фиксированных и окрашенных мазках выявляется как анизоцитоз.

Для дальнейшей информации о влиянии гидрокортизона на эритроциты был использован метод сканирующей электронной микроскопии, дающий возможность получить трехмерное изображение поверхности этих клеток.

Исследования проведены на кроликах-самцах породы шиншилла. Гидрокортизон фирмы «Рихтер» вводили внутримышечно в дозе 5 мг/кг.

Таблица 1

Содержание различных форм эритроцитов (%) в крови 48 кроликов до и после однократного (5 мг/кг) и многократного (5 мг/кг ежедневно в течение 15 дней) введения гидрокортизона

Форма эритроцитов	До введения гидрокортизона	После однократного введения	После многократного введения
Дискоциты	32,4±1,6	28,4±1,4 <i>P</i> <0,02	26,8±1,4 <i>P</i> <0,01
Эхиноциты I	48,9±1,8	49,1±2,7 <i>P</i> >0,05	42,9±2,1 <i>P</i> <0,01
Эхиноциты II+III	5,9±0,4	8,8±0,6 <i>P</i> <0,01	6,0±0,5 <i>P</i> >0,5
Стоматоциты I	9,0±0,5	8,4±0,6 <i>P</i> >0,5	9,8±0,7 <i>P</i> <0,2
Стоматоциты II	3,9±0,5	4,0±0,6 <i>P</i> >0,5	6,1±1,3 <i>P</i> <0,01
Бугорчатые эритроциты	0	0	8,5±0,8

Электронно-микроскопическое изучение эритроцитов проводили до, через 6 час. после однократного и через 15 дней после многократного ежедневного введения гормона. Эритроциты, выделенные путем центрифугирования из гепаринизированной крови краевой вены уха, фиксировали в 1,6% растворе глутаральдегида на 0,067 *M* фосфатном буфере с последующей фиксацией в 1% растворе тетраоксида осмия на том же буфере, обезвоживали в спиртах восходящей крепости и ацетоне. Затем эритроциты помещали на поверхность посеребренных пластинок, которые напыляли углеродом (80–100 Å) и золотом пробы 1000 (100–150 Å) в вакуумном испарителе

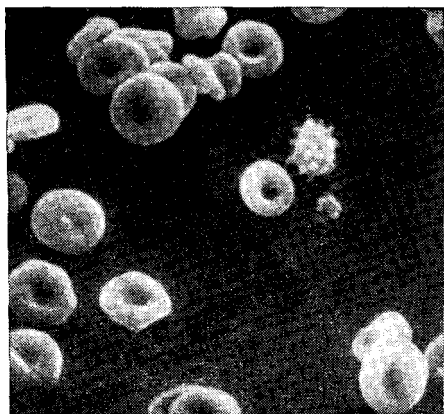


Рис. 1. Эритроциты крови интактного кролика, 1800×

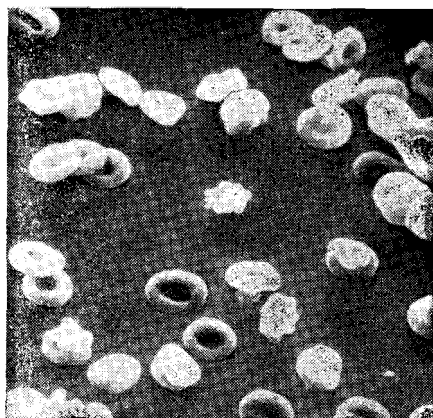


Рис. 2. Эритроциты крови кролика через 6 час. после однократного введения 5 мг/кг гидрокортизона. 1400×

J-4B («JECL») на специальном вращающемся столике. Образцы просматривали на сканирующем электронном микроскопе S4-10 (Cambridge) под углом в 45° при ускоряющем напряжении 20 кВ и апертурной диафрагме 200 мкм.

Наряду с изучением ультраструктуры клеточной мембраны проводили подсчет различных форм эритроцитов на 100 клеток при малом увеличении микроскопа в каждой серии опытов. Статистически обработанные результаты представлены в табл. 1.

Проведенные исследования показали, что при использовании описанного выше метода фиксации, обезвоживания и высушивания препаратов большинство эритроцитов крови интактных кроликов имеет (табл. 1) правильную дискоидную форму — дискоциты — или форму диска с очень небольшими, иногда еле различимыми выступами — эхиноциты I (рис. 1). Последняя форма считается самой ранней стадией обратимой трансформации дискоцитов при переносе эритроцитов из плазмы в другую искусственную среду⁽³⁾. Реже встречаются эритроциты с более значительными выступами, по форме напоминающие морского ежа — эхиноциты II и III (рис. 1), которые являются дальнейшими этапами трансформации дискоцитов. Эти формы также жизнеспособны и могут снова превращаться в дискоциты⁽³⁾. В исследуемых образцах наблюдали небольшое число куполообразных форм эритроцитов с небольшими углублениями — стоматоциты I и более выраженными — стоматоциты II. Парообразные формы эритроцитов (сферо-эхиноцитов или сферно-стоматоцитов) почти не обнаруживались.

Через 6 час. после однократного введения гидрокортизона, т. е. в тот период времени, когда, как показали наши предыдущие исследования⁽²⁾, наблюдается небольшое снижение содержания гемоглобина и числа эритроцитов в крови кроликов, выявляется лишь слабо выраженное изменение

соотношения различных форм эритроцитов: незначительное, но статистически достоверное увеличение числа эхиноцитов II и III и уменьшение количества дискоцитов (табл. 1). Появления каких-либо других форм эритроцитов не отмечали (рис. 2).

Более существенные изменения наблюдали при многократном ежедневном введении гидрокортизона в течение 15 дней, когда показатели эритропоэза отчетливо снижаются (²). При этом число дискоцитов правильной формы и эхиноцитов I несколько уменьшается наряду с увеличением количества эритроцитов куполообразной формы, особенно стоматоцитов II (табл. 1). Появляются эритроциты, довольно редко встречающиеся в крови

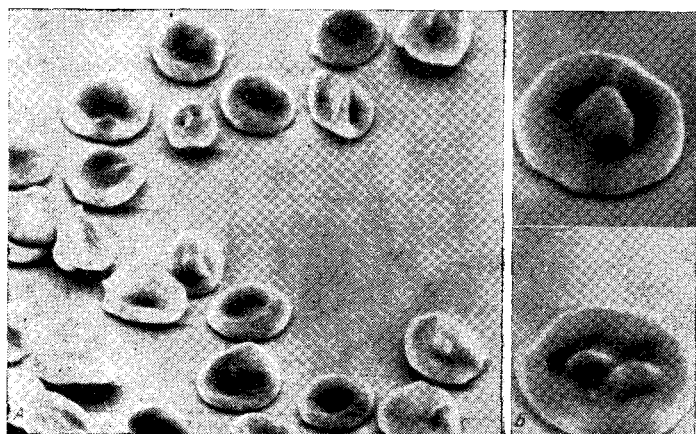


Рис. 3. Эритроциты крови кролика через 15 дней после ежедневного введения 5 мг/кг гидрокортизона. А — общий вид, 1800 $\times$; Б — бугорчатые клетки при большом увеличении, 6100 $\times$

интактных кроликов. Это дискоциты, содержащие один или два куполообразных бугорка (рис. 3). Иногда эти формы похожи на сомбреро или дамскую шляпку (рис. 3Б). Они имеют некоторое сходство с колоколообразными клетками — тороцитами или с «конечными» клетками — кодоцитами (⁴), но отличаются от них меньшим утолщением периферического края. Как известно, подобные формы описаны при анемиях и как артефакт при нарушениях процессов фиксации и высушивания образцов (⁴). Последнее предположение полностью отвергается тем, что подобные формы эритроцитов почти не встречаются при использовании тех же методов до введения гормона, а также тем, что они выявляются среди совсем не измененных дискоцитов.

Следует отметить, что среди описанных видов эритроцитов много микроформ (рис. 3А), что согласуется с предыдущими нашими данными (²) об относительном увеличении числа эритроцитов с малым диаметром при гиперкортицизме.

Таким образом, проведенные исследования показывают, что повышение уровня глюкокортикоидов в организме животных сопровождается изменением не только числа и размера, но и формы эритроцитов крови. В настоящее время трудно указать истинную причину этого явления. Это может быть следствием снижения содержания гемоглобина, нарушения пока мало изученного колебательного движения плазматической мембраны, отражающего внутриклеточный обмен и функцию клетки (в частности, участие в переносе кислорода и углекислоты), и, наконец, физико-химических свойств микроокружения.

Вместе с тем, полученные данные показывают, что использование метода сканирующей электронной микроскопии, дающей возможность полу-

чить дополнительную важную информацию о состоянии эритроцитов, может иметь большое значение как для цитологического и физиологического изучения этих клеток, так и для диагностики различных нарушений эритропоэза.

Киевский научно-исследовательский
институт эндокринологии и обмена веществ

Поступило
1 VIII 1975

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ В. П. Комиссаренко, К. П. Зак, Усп. совр. биол., т. 70, № 6, 413 (1970). ² К. П. Зак, Б. М. Хоменко, В сб.: Вопр. эндокринологии и обмена веществ, Киев, 1970, в. 1, стр. 62. ³ M. Bessis, Nouvelle Rev. Franc. Hematol., v. 12, № 6, 721 (1972). ⁴ M. Bessis, Living Blood Cells and their Ultrastructure, N. Y., 1973.