

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ ЭРИТРОЦИТОВ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ МЕТОДОМ КИСЛОТНЫХ ЭРИТРОГРАММ

Одной из составных частей крови являются эритроциты, которые обычно изучаются по их морфологической характеристике. Однако во многих случаях при морфологически однородной массе эритроцитов изучение их функциональных свойств совершенно невозможно. Не дают полного представления о функциональных особенностях эритроцитов учет незрелых и дегенерировавших форм, диаметр и объем клеток, их количество и содержание гемоглобина, определение минимальной и максимальной резистентности.

Учитывая, что эритроциты не в меньшей мере, чем лейкоциты, реагируют на патологические факторы и повреждаются ими, в клинике наиболее часто для выяснения функциональных особенностей эритроцитов используются методы определения их резистентности.

Существует две точки зрения относительно резистентности различных по возрасту эритроцитов. Одни ученые считают наиболее устойчивыми молодые эритроциты, другие — зрелые. Так, М. А. Бараболин и М. Н. Грунская (1927), К. И. Полковникова (1946), Н. С. Джавадян (1955) и др. полагают, что молодые эритроциты обладают более высокой резистентностью, чем взрослые.

И. И. Гительзон и И. А. Терсков (1956) пишут: «Наш опыт исследования осмотической резистентности фотоэлектрическим методом заставляет со всей определенностью высказаться в пользу представления о большей стойкости молодого эритроцита и ее снижении по мере старения клетки». Такой же точки зрения придержи-

живаются Г. Ф. Ланг (1901), А. Л. Мясников и Т. С. Истаманова (1926) и др.

Кей (Key, 1921) считает, что молодые ретикулоциты более резистентны к осмотическому гемолизу. Бард (Bard, 1956) отмечает, что после повторных кровопотерь эритроциты становятся более резистентными к гипотоническим растворам. По мнению П. С. Митрофанова (1936), при увеличении количества незрелых эритроцитов значительно снижается резистентность, так как они имеют низкую устойчивость к гипотоническим растворам хлористого натрия.

Вместе с тем накоплено много данных, указывающих на зависимость стойкости от факторов, не связанных с возрастом эритроцитов. М. В. Яновский (1900) утверждает, что резистентность эритроцитов связана с появлением в крови токсических продуктов, под влиянием которых повышается осмотическая устойчивость эритроцитов к гипотоническим растворам.

Гарисс, Мак Алистер, Пранкерд (Harris, Mc Alister, Prankerd, 1957) и др. считают, что у взрослых эритроцитов осмотическая резистентность уменьшается. Они связывают это с постепенной потерей ретикулоцитами липоидов и с тем, что взрослые эритроциты становятся тяжелее, чем ретикулоциты. Меньшую устойчивость молодых форм эритроцитов к гипотоническим растворам, благодаря разному содержанию липоидов в зрелых и молодых эритроцитах, отмечают также Н. М. Шустров и Х. Х. Владос (1930).

Несмотря на большое количество работ, посвященных изучению резистентности эритроцитов, клиника не получила эффективного метода определения состояния эритроцитов по их резистентности, в связи с чем разработка методов, позволяющих более полно характеризовать устойчивость эритроцитов к повреждающим воздействиям, имеет существенное значение для клинической практики. В 1957 г. И. А. Терсковым и И. И. Гительзоном был предложен новый метод фотоэлектрической регистрации кинетики кислотного гемолиза эритроцитов. Метод фотоэлектрической регистрации кислотного гемолиза позволяет морфологически однородные эритроциты подразделять по их стойкости на определенные группы, что дает возможность учитывать возрастной состав красной крови, а также более глубоко вскрывать механизмы, ле-

жащие в основе разнообразных нарушений функций эритроцитов. Графическое изображение распределения эритроцитов по группам стойкости (по аналогии с лейкограммой) названо Терсковым и Гительзоном эритрограммой.

Проведенные исследования крови клинически здоровых животных (52 головы крупного рогатого скота, 18 овец, 15 свиней и 8 лошадей) методом кислотных эритрограмм показали, что эритрограммы этих животных, полученные при одинаковых условиях, весьма различны между собой. Установленные по кислотной стойкости различия в качественном составе красной крови могут использоваться для определения функциональных особенностей эритроцитов сельскохозяйственных животных.

Определение кислотных эритрограмм проводится на фотоэлектроколориметре ФЭК-М с подключением водяного термостата ТС-15М. Исследуемую кровь помещают в термостабилизированную кювету, которую ставят в левое плечо фотоколориметра, в правое плечо помещают компенсирующую кювету с дистиллированной водой или слабым раствором медного купороса. Уравнивание световых потоков производится фотометрическим клином, а сам ход фотометрирования ведется при красном светофильтре.

Кровь для исследования берут у животного из вены и стабилизируют гепарином, затем ее разводят физиологическим раствором. В качестве гемолизирующей жидкости используется соляная кислота 0,004 нормальной концентрации, приготовленная на 0,85%-ном растворе NaCl.

Для анализа готовят взвесь эритроцитов стандартной концентрации. За стандартную принята концентрация эритроцитов, оптическая плотность которой составляет 0,700 по шкале левого барабана фотоколориметра. Из полученной стандартной концентрации эритроцитов в термостабилизированной кювете оставляют 2 мл взвеси, а левый барабан переводят на деление 0,450. После установления оптической плотности на левом барабане в термостабилизированную кювету вводят 2 мл гемолизирующей жидкости. С момента введения этой жидкости начинается счет времени гемолиза, и каждые 30 секунд отсчитываются показания прибора по шкале оптической

плотности левого барабана. В результате отсчетов получается ряд убывающих экстинкций, каждая из которых указывает на степень гемолиза к моменту отсчета, что соответствует распределению эритроцитов на группы стойкости. Конец процесса гемолиза определяется по прекращению отклонения стрелки прибора от нулевого положения. Весь ход анализа проводится при постоянной температуре 24°.

Таблица 1

Изменение оптической плотности крови в зависимости от гемолиза эритроцитов

Время, мин.	Оптическая плотность	Разность оптической плотности	Процент эритроцитов	Сумма нарастающих процентов
0,5	0,414	0,015	3,9	3,9
1,0	0,399	0,017	4,4	8,3
1,5	0,382	0,018	4,7	13,0
2,0	0,364	0,015	3,9	16,9
2,5	0,349	0,032	8,4	25,3
3,0	0,317	0,030	7,8	33,1
3,5	0,287	0,076	20,0	53,1
4,0	0,211	0,150	39,1	92,2
4,5	0,061	0,030	7,8	100,0
5,0	0,031	0,000		
5,5	0,031			
	0,383	0,383	100,0	

В табл. 1 приведены цифровые данные оптической плотности крови крупного рогатого скота, при математической обработке которых представляется возможным учесть стойкость эритроцитов и вывести эритрограмму.

Если распределение эритроцитов по стойкости изобразить графически, то получим кривую, или эритрограмму. Для построения эритрограммы используются показатели времени начала и конца гемолиза, ширина интервала и максимум гемолиза.

Из анализа эритрограммы (рис. 1) видно, что начало гемолиза находится в первом 30-секундном интервале.

Продолжительность гемолиза составляет 5 минут с резким максимумом на четвертой минуте. По форме эритрограмма асимметрична. Ее левое плечо характеризует наличие в крови исследуемого животного более старых клеток, которые, как установлено рядом исследователей, обладают пониженной стойкостью. Правое плечо указывает

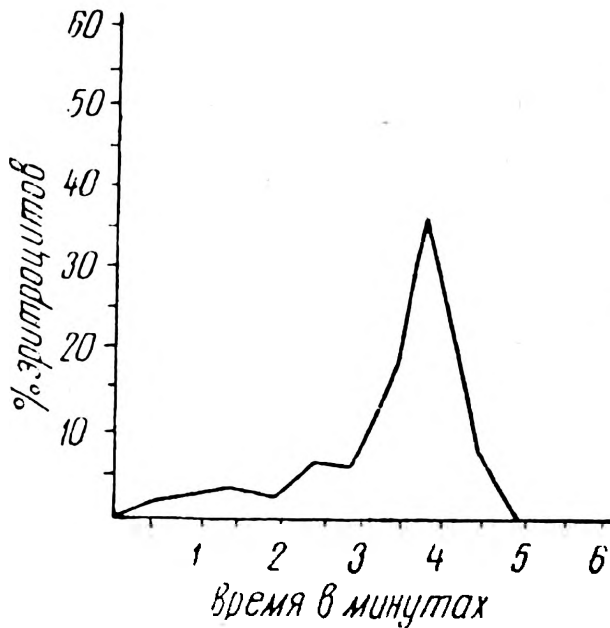


Рис. 1. Эритрограмма крови крупного рогатого скота (построена по данным табл. 1).

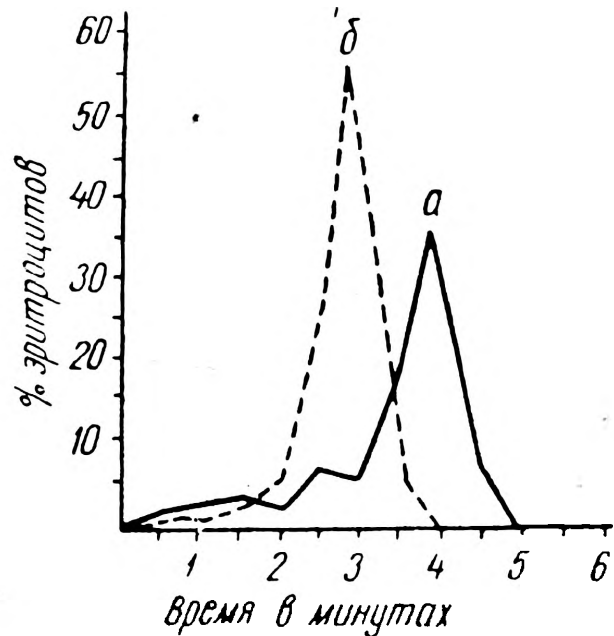


Рис. 2. Эритрограммы крови крупного рогатого скота:
а — клинически здорового животного;
б — больного злокачественной катаральной горячкой.

на наличие в крови молодых форм эритроцитов, имеющих большую стойкость.

Если весь период гемолиза разделить на три части по времени (от 30 секунд до 2 минут, от 2 минут до 3,5 минуты и от 3,5 минуты до 5 минут), то это позволит выделить в исследуемой крови эритроциты трех различных групп стойкости: первая группа (продолжительность гемолиза от 30 секунд до 2 минут) — пониженностойкие эритроциты, вторая группа (продолжительность гемолиза от 2 до 3,5 минуты) — среднестойкие и третья группа (гемолиз продолжался от 3,5 до 5 минут) — повышенностойкие.

Из расчета (последняя графа табл. 1) следует, что количество эритроцитов пониженностойкой группы составляет 16,9%, среднестойкой группы — 36,2 и повышенностойкой — 46,9%.

Как видно из данных табл. 2, в организме больного злокачественной катаральной горячкой животного отмечается нарушение эритропоза, что ведет к преоблада-

Таблица 2

Распределение эритроцитов по группам стойкости у крупного рогатого скота, клинически здорового и больного злокачественной катаральной горячкой

Животные	Количество, тыс.		Гемоглобин, ед.	Процент эритроцитов		
	эритроцитов	лейкоцитов		пониженно-стойких	среднестойких	повышенно-стойких
Клинически здоровое	5760	8,9	56	16,9	36,2	46,9
Больное	5100	2,25	55	17,8	80,9	1,3

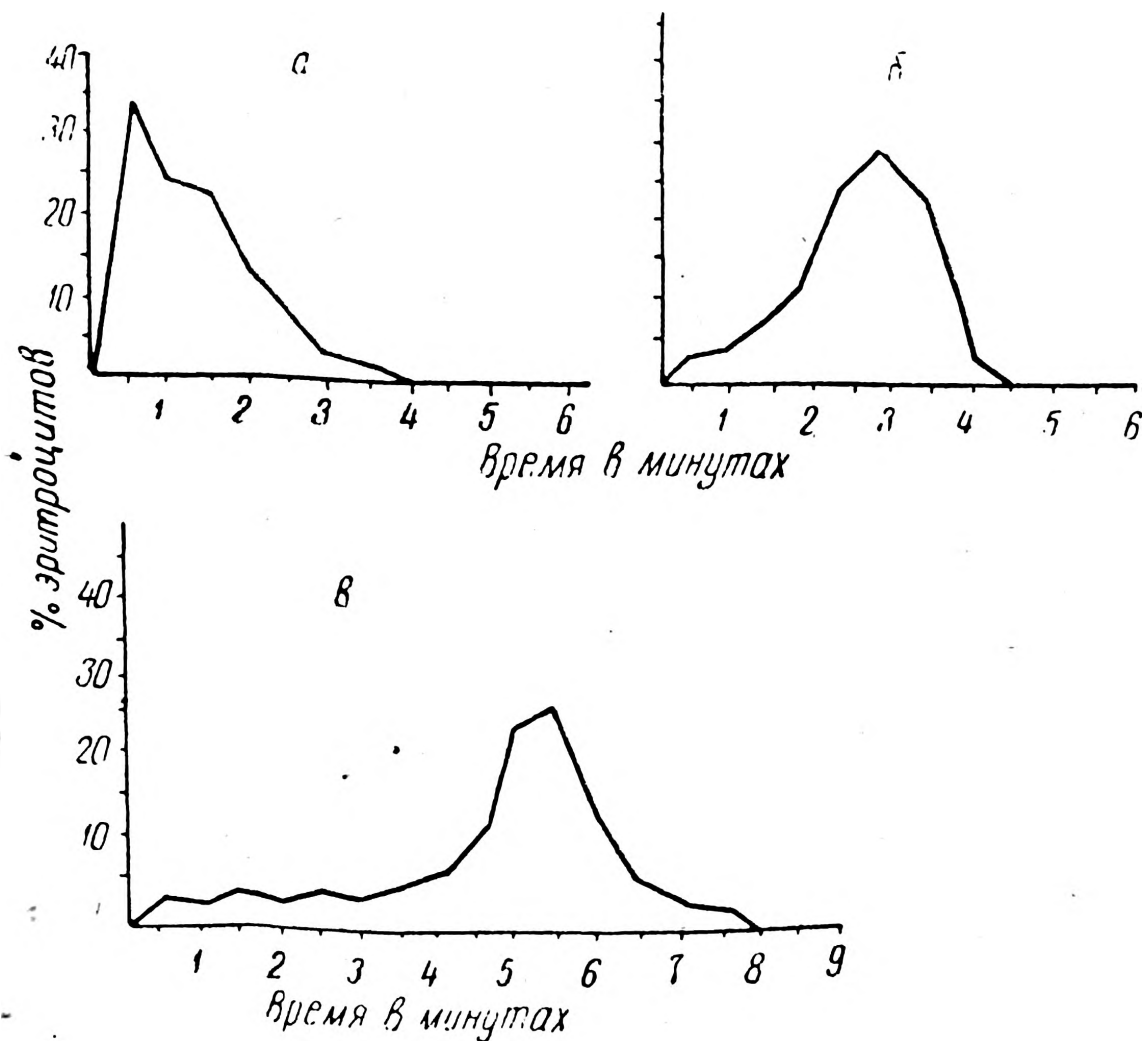


Рис. 3. Эритрограммы клинически здоровых животных:
а — овцы; б — свиньи; в — лошади.

нию в крови более старых пониженностойких и среднестойких эритроцитов. Эритрограмма (рис. 2) имеет заметный сдвиг влево со смещением влево и ее максимума. Ширина эритрограммы укорочена из-за дефицита молодых повышенностойких эритроцитов.

Для характеристики функциональных особенностей эритроцитов других сельскохозяйственных животных, выявленных методом кислотных эритрограмм, на рис. 3 показаны эритрограммы овцы, свиньи и лошади. Методика анализа крови и обработка данных фотометрирования во всех случаях выведения эритрограмм у этих животных была одинаковой и стабильной.

Как видно на рис. 1 и 3, в эритрограммах сельскохозяйственных животных (крупный рогатый скот, овцы, свиньи, лошади) наблюдается определенная закономерность в распределении эритроцитов по стойкости и они заметно различны между собой. Это различие в кислотной стойкости эритроцитов позволяет использовать эритрограммы в качестве метода исследования крови в ветеринарной клинической диагностике.

ВЫВОДЫ

1. Для определения функциональных особенностей эритроцитов сельскохозяйственных животных можно использовать метод кислотных эритрограмм.

2. Эритрограмма дает возможность следить за изменениями качественного состава эритроцитов, определять состояние эритропоэза и дифференцировать возраст эритроцитов по стойкости.

3. При оценке характера отклонения эритроцитов от нормы по стойкости могут использоваться такие показатели, как точки начала и конца гемолиза, ширина интервала стойкости, положение и высота максимума.

ЛИТЕРАТУРА

Бараболин М. А., Грунская М. Н. 1927. Диагностическое значение и взаимоотношение реакций резистентности эритроцитов и определение протеолитического антифермента крови. «Клиническая медицина», т. V, 20.

Васильев А. В. 1948. Гематология сельскохозяйственных животных. М., Сельхозгиз.

Гиттельзон И. И., Терсков И. А. 1956. Фотоэлектрическое исследование эритроцитов и некоторые результаты его применения. «Физиологический журнал СССР им. Сеченова», т. 42, 5.

1959. Эритрограммы как метод клинического исследования крови. Красноярск.

1960. Распределение эритроцитов по стойкости в связи с физиологическим состоянием системы красной крови. В кн.: «Вопросы биофизики, биохимии и патологии эритроцитов». Красноярск.

Гительзон И. И., Терсков И. А., Тиханович Л. Б. 1960. Изменение качественного состава красной крови в эмбриональном и раннем постэмбриональном развитии млекопитающих. В кн.: «Вопросы биофизики, биохимии и патологии эритроцитов». Красноярск.

Джавадян Н. С. 1955. Влияние болевого раздражения на картину крови, скорость оседания эритроцитов и их осмотическую резистентность. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, т. XXXIV.

Кассирский И. А., Алексеев Г. А. 1948. Болезни крови и кровотворной системы. М., Медгиз.

Кудрявцев А. А. 1948. Исследование крови в ветеринарной диагностике. М., Сельхозгиз.

Ланг Г. Ф. 1901. О диагностическом значении повышения стойкости красных кровяных телец при раке желудка. Дисс., Спб.

Митрофанов П. С. 1936. О зависимости осмотической резистентности эритроцитов от их возрастной дифференциации. Ученые записки Казанского зооветеринарного института им. Баумана, т. 46.

Мясников А. Л., Истаманова Т. С. 1926. О связи между возрастом красных кровяных телец и их осмотической стойкостью. «Врачебное дело», 10, 11.

Полковникова К. И. 1946. Об осмотической резистентности незрелых и дегенерированных форм эритроцитов. Канд. дисс., Томск.

Терсков И. А., Гительзон И. И. 1957. Метод химических (кислотных) эритрограмм. Биофизика, т. II, вып. 2.

Фридман Л. Я. 1955. Осмотическая и механическая резистентность эритроцитов при анемических состояниях. Доктор. дисс. Тбилиси.

Черняк Я. И. 1927. Об устойчивости эритроцитов в гипотоническом растворе. Труды VII съезда Российских терапевтов. М.—Л.

Шустров Н. М. 1922. О механизме колебания резистентности эритроцитов. «Московский медицинский журнал», 1, 2.

Шустров Н. М., Владос Х. Х. 1930. Клиническая гематология. М., Госиздат.

Яновский М. В. 1900. О стойкости красных кровяных телец. Известия Военно-Медицинской академии, т. I.

Key I. A. 1921. Studies on erythrocytes with special reference to reticulum, polychromatophilia and metochondria. Arch. Intern. Med., 28.

Bard P. 1956. Medical Physiology. St. Louis, Mosby Co., 10 cd.

Harris J. M., McAlister J. M., Pranker T. A. 1957. Glin. Sci. 16.

Jacobs M. H., Parpart A. K. 1931. Influence of pH, temperature and oxygen tension on hemolysis by hypotonic solutions. Biological Bull., 60.

Ponder E., Barreto P. 1955. General physiology., 1.

Ponder E. 1956. Lidee d'heterogencite apliauce aux globules rouges, a leurs stromas et aux cellulex en general. Rev. hematol., N 2.