

А. Л. ШАБАДАШ

**ГЛИКОГЕН КРОВИ КАК ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНЫЙ  
ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЙ ПРИЗНАК**

(Представлено академиком Н. Н. Аничковым 11 VII 1949)

Изучение гликогена в крови осложняется двумя группами обстоятельств. Во-первых, его аналитическое определение складывается из многих последовательных процедур, большое число которых обуславливает дополнительные источники неточностей; полисахарид учитывается после полного гидролиза по глюкозе, причем расхождения в цифрах разных исследователей весьма значительны, повидимому, из-за примеси других редуцирующих веществ; длительность одиночного анализа составляет 9—10 час., что затрудняет серийное изучение, особенно у человека. Во-вторых, химическое определение не выясняет дифференциального распределения гликогена среди различных форменных элементов, хотя 70—80% полисахарида сосредоточено в клетках крови (1-6).

Высказывались мнения, что гликоген содержится в гранулоцитах и отсутствует в моноцитах и лимфоцитах (7), но и это ориентировочное суждение не имеет убедительных доказательств. Строгая проверка опубликованных гистохимических данных выясняет, что дело ограничивается признанием «иодофильных включений» невыясненной природы, причем в нормальной крови реакция, как правило, не удается (8, 9). «Иодофильная проба» при больших увеличениях микроскопа настолько расплывчата, что диагностика природы клеток, которым приписывают наличие гликогена, не реальна. Таким образом, и в отношении углеводного обмена лейкоцитов следует согласиться с А. А. Заварзиным, что «изучение биохимических свойств не дает определенных результатов» (13) и до сих пор не помогало анализу запутанных проблем гемопоэза.

Нами разработан метод гистохимического анализа гликогена, при котором, наряду с ориентировочным количественным заключением, четко выясняется биологическое своеобразие каждого морфологического элемента. Цитохимия гликогена интересна, как показывают факты, не только как показатель специфически форм обмена, но и как признак динамических различий, избирательно характеризующий зрелые и эмбриональные клетки. Для экспресс-анализа нужна только одна капля крови, мазок которой обрабатывается описанной ранее техникой (10, 11). Длительность изготовления препарата 45—60 мин., в условиях обычной гематологической лаборатории. Минимальное количество крови, нужное для исследования, позволяет внедрить гистохимию в повседневное и серийное изучение форменных элементов человека.

Изученный нами значительный нормальный и патологический материал подтверждает, что у человека большая часть гликогена крови связана с ее структурными компонентами; в то же время четкость позитивной реакции и возможность ее изучения сильнейшими иммерсионными

системами позволяют по-новому оценить биоморфологию полисахаридных накоплений.

**Гранулоциты.** Существует три различных типа гликогенопексии в зернистых лейкоцитах, присущих нейтрофилу, эозинофилу и базофилу. В нейтрофилах наблюдается массивное отложение гликогена в цитоплазме в виде мельчайших зернышек, не отличимых по форме, величине и расположению от специфических для клетки нейтрофильных гранул. Густота локализации зернышек гликогена заставляет предполагать, что полисахарид связан с веществом специальных гранул и образует с ними симплекс\*. Полиморфное, сегментированное ядро полностью свободно от гликогена и ясно видимо на фоне окрашенных зерен цитоплазмы; в зоне расположения ядра особенно хорошо различимы глыбчатые включения цитоплазмы. Форма клетки и характерная конфигурация ядра безошибочно определяемы по гистохимическому препарату, без применения дополнительной окраски, хотя вполне возможно докрасить ядерные структуры метиловою зеленью. Количество гликогена в нейтрофилах изменчиво (особенно в патологии), однако мелкозернистая, пылевидная форма его накопления обуславливает наибольшее содержание полисахарида (на единицу вещества) в этих гранулоцитах, по сравнению с двумя другими типами. Прижизненная фиксация мазка крови с несомненностью обнаруживает феномен клазматоза, т. е. отшнурование гликогеносодержащих гранул от клеток и переход их в цитоплазму; наблюдаются все градации высвобождения зерен, от шиповидных выступов по ободку нейтрофила, через стадию псевдоподиальных выростов, до полного отрыва и перехода в плазму. Для всего нейтрофильного миелопоэза, начиная от стадии миэлобласта, характерно наличие мелкозернистого гликогена, заполняющего клетку; количественный уровень его нарастает параллельно созреванию специального лейкоцита.

Совершенно иначе оформлено содержание гликогена в эозинофиле: синтез и накопление осуществляются в цитоплазме, но эозинофильные глыбки не участвуют в этих процессах. Поэтому и при среднем и особенно при высоком содержании полисахарида структуры клетки обрисованы исключительно типично: двух- или трехлопастное ядро полностью свободно от полисахарида, а облегающая его цитоплазма имеет вид кружевной каймы, с прозрачными и правильно округлыми просветами, соответствующими по величине и очертаниям крупным эозинофильным глыбкам. Если в нейтрофиле обмен и отложение гликогена связаны со специальным гранулярным аппаратом, то в эозинофиле, наоборот, характерная для него зернистость совершенно не участвует в этих процессах. Полисахарид в гиалоплазме эозинофила распределяется диффузно (или чрезвычайно мелко распылен) и вырисовывает органоиды клетки (гранулы, ядро) благодаря контрастному количественному различию. Позитивная гистохимическая реакция цитоплазмы тем более примечательна, что при всех гематологических окрасках (по Романовскому, Май-Грюнвальду, Паппенгейму и др.) она остается бесцветной и лишь в миэлоцитах проявляет едва заметную базофилию; принято считать ее бесструктурной гиалоплазмой, однако в действительности она является ареной беспорного синтеза и отложения гликогена.

Третья форма гликогенопексии присуща базофилу: в известной мере она схожа с локализацией полисахарида в нейтрофиле, ибо несомненно связана с гранулярными органоидами клетки. Но налицо и существенные отличия, первое из которых, очевидно, связано с природой базофильной зернистости; гликогеновые включения в цитоплазме представлены крупными, овальными или угловатыми, редко разбросанными глыбками. Второе отличие более существенно и состоит в особом оттен-

\* Подобно тому, как это описано мною для нервной клетки (11).

же цветовой реакции, которая при интенсивном искусственном освещении имеет темный сине-фиолетовый цвет. Зернышки гликогенового симплекса в нейтрофиле при тех же условиях представляются вишнево-рубиновыми. Разница оттенков резульативной реакции закономерно повторяется и отображает особенности состава симплексов в обоих случаях: на основании ориентировочных проб можно высказать предварительное мнение о наличии в базофилах полисахаридов с эфирно-серными группировками. Ядро клетки, так же как у рассмотренных ранее форм, в норме не содержит гликогена.

Таким образом, каждый из признаваемых гематологами типов гранулоцитов характеризуется особой биоморфологией гликогенового обмена, специфичность которой настолько ясна и постоянна, что позволяет диагностировать и сосчитать гранулоциты с точностью, равной (и даже превосходящей) точность при стандартной технике окраски азуроэозином.

А гранулоциты, по данным биохимических анализов (7), не содержат гликогена; это неверно. Обнаружение полисахаридов в моно-

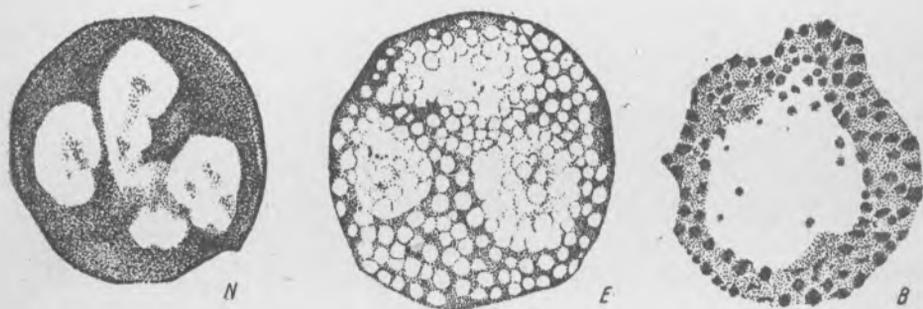


Рис. 1. Положительная гистохимическая реакция на гликоген в нейтрофиле (N), эозинофиле (E) и базофиле (B)

цитах и лимфоцитах сложно, но даже в периферической крови удается у нормальных людей установить несомненное наличие включений в виде небольших, правильно округлых зерен, редко разбросанных в узком кольце цитоплазмы вокруг ядра. Незначительная величина полисахаридных гранул затрудняет их оценку, однако цветовая тональность реакции сближает их, несколько неожиданно, с крупными глыбками базофила. Химическая близость отложений полисахарида в столь отдаленных группах клеток, как моноциты и большие лимфоциты, с одной стороны, и базофильные гранулоциты, с другой, намечает новые линии изучения «метаболического родства», заманчивые по перспективе.

Тромбоциты, по данным химических анализов (2), не содержат гликогена, хотя по более ранним морфологическим пробам обнаруживались «иодофильные включения». На наших препаратах как в норме, так и при ряде патологических состояний (диабет, малярия) нераспавшиеся тромбоциты неизменно содержат в своей сердцевине глыбки полисахарида, интенсивно окрашенного в цвет зернышек нейтрофилов. Имеется достаточно оснований считать эти глыбки гликогеном. Групповое расположение тромбоцитов и характерные, большей частью треугольные очертания с округлыми включениями полисахарида облегчают их распознавание и отличают их от зернышек, отделившихся в процессе клазматоза от нейтрофилов. В новейших гистохимических работах Вислоцкого с сотрудниками (12) утверждается, что ни тромбоциты, ни мегакарициты не содержат гликогена; ошибочный вывод авторов отражает лишь несовершенство применяемой ими методики. При распаде тромбо-

цитов и образовании нитей фибрина в последних обнаруживается значительное количество полисахаридов.

Само собою разумеется, что уровень гликогена в крови закономерно изменяется при питании, работе, эмоциях и пр., однако освещение вопроса о фазовых колебаниях гликогена и наблюдениях у постели больного требует особых сообщений.

Единственным морфологическим элементом крови, не содержащим гликогена, являются эритроциты. Сотни просмотренных мною мазков не выявили даже намеков на полисахариды в них; этот факт особенно примечателен, так как кровяная плазма, которая бедна гликогеном, на мазках, превышающих несколько толщину «идеального», обнаруживает наличие полисахарида, особенно при некоторых заболеваниях.

### Выводы

1. Новая гистохимическая методика избирательно обнаруживает гликоген и сложные полисахаридные комплексы в форменных элементах крови.
2. Каждый из типов гранулоцитов — нейтрофил, эозинофил и базофил — обладает типичной формой и уровнем накопления полисахаридов, четко различимыми в зрелых и эмбриональных клетках.
3. Моноциты и лимфоциты (особенно большие) содержат беспорядочные зернышки полисахарида, близкие по химическому составу аналогичным включениям базофила, но отличные от них по величине и численности.
4. Тромбоциты обладают включениями гликогена.
5. Гликоген, динамический показатель биологических свойств клетки, является ценным признаком для выяснения путей и возможностей в гемопоэзе.

Московский стоматологический институт

Поступило  
6 VII 1949

### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> E. Suter, *Helv. physiol. pharmac. Acta*, 5 (1947). <sup>2</sup> R. Wagner, *Arch. Biochem.*, 11, 249 (1946). <sup>3</sup> С. С. Вайнштейн и А. А. Шаталова, *Терап. архив*, 12, в. 4 (1934). <sup>4</sup> Л. Ф. Шварц и Г. Н. Покровская, *Арх. биол. наук*, 38, в. 3 (1935). <sup>5</sup> А. М. Генкин, *Гликоген крови у детей*, Л., 1939. <sup>6</sup> Д. Е. Альперн и Н. Н. Транквилитати, *Арх. патологии*, 2, в. 1 (1936). <sup>7</sup> R. Willstätter u. Rohdewald, *Zs. physiol. Chem.*, 225, 103 (1934). <sup>8</sup> К. С. Воскресенский, *Гликоген лейкоцитов и его клиническое значение*, Диссертация, М., 1907. <sup>9</sup> P. Kammer, *Dtsch. med. Wschr.* (1899). <sup>10</sup> А. Л. Шабадаш, *Изв. АН СССР, сер. биол.*, 6, 745 (1947). <sup>11</sup> А. Л. Шабадаш, *Проблемы гистохимич. исследования гликогена нормальной нервной системы*, М., 1939. <sup>12</sup> T. Wislocki, H. Bunting and E. Dempsey, *Anat. Record*, 58, 527 (1947). <sup>13</sup> А. А. Заварзин, *Основы учения о соединительной ткани и крови*, 2, Л., 1947, стр. 188.