

Е.И. Зерчанинова, В.А. Плотникова,
Е.В. Буторина,

ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ МЕГАКАРИОЦИТАРНОГО РОСТКА ГЕМОПОЭЗА НА ГИПОКСИЮ

Уральская государственная медицинская академия;
Институт иммунофизиологии УрО РАН

Среди важнейших факторов, влияющих на здоровье человека, содержание кислорода в атмосферном воздухе занимает ведущее место. Учитывая это, представляет интерес исследование влияния гипоксии на адаптивные возможности организма в целом и его отдельных систем, в частности, крови. Однако до настоящего времени в литературе присутствуют сведения о ее влиянии на эритро- и лейкопоэз. Что же касается тромбоцитарного роста, то данные весьма ограничены и противоречивы.

Большинством авторов отмечается развитие тромбоцитоза при гипоксии, например, при задержке дыхания, в условиях высокогорья, а также при “подъеме” и “спуске” животных в барокамере [3, 5, 7, 9]. При этом в тромбоцитограмме наблюдается сдвиг в сторону крупных форм, включая гигантские тромбоциты с нежной структурой [3, 5, 6], а в костном мозге — признаки активации мегакариопоэза [9], сопровождающейся увеличением тромбоцитопоэтической активности крови [8].

Н.Н. Петрищев считает, что тромбоцитоз в ближайшее время после воздействия носит перераспределительный характер, как и при других видах стресса, в то время как при продолжающемся воздействии происходит стимуляция тромбоцитопоэза [7].

Кроме того, все авторы отмечают повышенные адгезивной и агрегационной активности пластинок, чем объясняется имеющиеся описания случаев тромбоэмболических осложнений высотной гипоксии, определяющие тяжесть и исход патологического процесса [5, 6].

Цель исследования – изучить динамику изменений количества и функциональной активности тромбоцитов при острой и хронической гипоксии.

Материалы и методы исследования

В качестве экспериментальных животных использовали 25 белых беспородных крыс-самцов массой 150-200 г. Гипоксические условия создавали в барокамере с приточно-вытяжной вентиляцией, с разряжением воздуха до 40,98 кПа, что соответствует подъему на высоту 7000 м. Скорость “подъема” и “спуска” животных не превышала 306 кПа/мин. (или 300 м/мин.). В первой серии опытов для моделирования острой гипоксии животных “поднимали” на “высоту” 7000 м на 6 часов. В другой серии опытов воздействие носило периодический характер в виде ежедневных сеансов с 9 до 15 часов в течение 5 дней [10]. Исследования периферической крови, костного мозга и селезенки проводили сразу после “спуска” животных в случае “острой” гипоксии и сразу по окончании последнего сеанса в случае “хронической” гипоксии.

Определяли общее количество тромбоцитов в периферической крови, полученной из хвостовой вены животных с помощью автоматического гематологического анализатора “Microx SX” фирмы “Hoffman La Roche”. Подсчитывали тромбоцитограмму в мазках периферической крови с добавлением 14%-ного раствора сульфата магния, окрашенных гематоксилин-эозином в течение 4 часов. При этом использовали классификацию кровяных пластинок, выделяющую нормальные (зрелые), юные (незрелые), старые тромбоциты и формы раздражения [4]. Размеры пластинок определяли с помощью окуляр-микрометра. Исследовали гистологические срезы кроветворных органов. Для приготовления препаратов использовали бедренную кость и селезенку крыс. Материал фиксировали в 10%-ном нейтральном растворе формалина. Кость после фиксации промывали в проточной воде и декальцинировали в 25%-ном растворе трилона-Б при температуре 37°C в течение 2 недель. Затем вновь промывали в проточной воде и после обычной проводки по спиртам заливали в парафин. Делали продольные срезы центральной части бедренной кости толщиной 3-5 мкм, которые окрашивали гематоксилин-эозином.

Оценивали плотность всех гемопоэтических клеток и клеток мегакариоцитарного ряда в проксимальном и дистальном эпифизах, центральной и эндостальной зоне диафиза на 1 мм² с помощью сетки Г.Г. Автандилова [1, 2]. Подсчитывали парциальную мегакариоцитограну. Подсчитывали среднее число ядерных долей в мегакариоцитах. В гистологических срезах селезенки определяли плотность мегакариоцитов на 1 мм². Диаметр клеток ряда измеряли окуляр-микрометром.

Обработку результатов проводили на основе методов вариационной статистики с при-

менением параметрических критериев, используя компьютерную программу Microsoft Excell.

Результаты исследования и их обсуждение

Результатом воздействия острой гипоксии является ускорение перехода промегакариоцитов в мегакариоциты, что проявляется уменьшением содержания первых и повышением числа вторых, а также увеличение размеров обоих типов клеток и клеток роста в целом. При этом среднее число ядерных сегментов мегакариоцитов остается на контрольном уровне (таблица 1).

Таблица 1

Изменение содержания и среднего диаметра различных типов клеток мегакариоцитарного ряда в костном мозге бедренной кости крыс при гипоксической гипоксии

Срок эксперимента	Мегакариобласты	Промегакариоциты	Мегакариоциты	В целом
<i>Содержание клеток, тыс./100 г массы тела</i>				
Интактные	0,28±0,15	6,87±1,02	62,91±1,14	70,06±12,51
Острая	0,25±0,13	3,72±0,67*	80,64±0,68*	84,62±8,46
Хроническая	0,70±0,25	4,51±0,70	94,98±0,68*	100,19±9,45
<i>Средний диаметр клеток, мкм</i>				
Интактные	12,38±1,11	18,92±0,44	21,97±0,18	21,63±0,18
Острая	10,70±0,83	20,99±0,60*	24,20±0,15*	24,02±0,15*
Хроническая	9,96±0,65	22,38±0,58*	25,06±0,17*	24,84±0,17*

Примечание: * p<0,01 относительно показателя у интактных животных

Указанные процессы обеспечивают поддержание концентрации тромбоцитов в периферической крови на исходном уровне при некотором повышении содержания юных (таблица 2).

Продолжение воздействия приводит к восстановлению числа промегакариоцитов до контрольного значения, при этом сохраняется увеличение количества мегакариоцитов и размерах указанных двух типов клеток и клеток роста в целом (таблица 1) и неизмен-

ном среднем количестве ядерных сегментов мегакариоцитов.

При этом происходит развитие системы демаркационных мембран в цитоплазме мегакариоцитов, следствием чего является развитие тромбоцитоза за счет увеличения концентрации старых и уменьшение тромбоцитов в размерах (таблица 2). Последние две особенности могут быть также следствием старения и распада уже циркулирующих пластинок.

Таблица 2

Изменение тромбоцитограммы, содержания и размеров различных форм тромбоцитов периферической крови крыс при гипоксической гипоксии

Срок эксперимента	Юные	Зрелые	Старые	Формы раздражения	В целом
<i>Содержание тромбоцитов (Г/л)</i>					
Исход	27,93±5,59	596,34±8,03	72,62±2,51	1,40±1,26	698,29±31,56
Острая	86,43±6,96*	568,37±25,49	77,64±20,44	0	732,44±28,70
Хроническая	29,68±8,91	605,23±22,10	184,70±21,69*	4,95±4,45	824,57±42,23*
<i>Средний диаметр тромбоцитов (мкм)</i>					
Исход	2,28±0,05	1,38±0,01	0,76±0,01	2,87±0,01	1,35±0,01
Острая	2,10±0,05*	1,27±0,01*	0,79±0,01	—	1,33±0,01
Хроническая	2,45±0,15	1,17±0,01*	0,75±0,01	1,68±0,16*	1,13±0,01*

Примечание: * p<0,01 относительно показателя в исходе

Особенностью реакции ростка на гипоксию является повышение плотности клеток в костном мозге (острая $50,0 \pm 5,0 / \text{мм}^2$, хроническая $53,0 \pm 5,0 / \text{мм}^2$, в контроле $28,0 \pm 5,0 / \text{мм}^2$, $p < 0,01$) главным образом за счет эпифизов (проксимальный эпифиз: острая $18,0 \pm 4,0 / \text{мм}^2$, хроническая $56,0 \pm 7,0 / \text{мм}^2$, в контроле $5,0 \pm 3,0 / \text{мм}^2$; дистальный эпифиз: острая $56,0 \pm 7,0 / \text{мм}^2$, хроническая $83,0 \pm 7,0 / \text{мм}^2$, в контроле $20,0 \pm 6,0 / \text{мм}^2$, $p < 0,01$). Кроме того при обоих видах гипоксии мегакариоциты селезенки реагируют также, как костномозговые, увеличиваясь в размерах (острая $27,05 \pm 1,17$ мкм, хроническая $28,44 \pm 1,33$ мкм, в контроле $21,72 \pm 1,05$ мкм, $p < 0,01$).

Таким образом, острая гипоксия вызывает усиление дифференцировки клеток мегакариоцитарного ряда в костном мозге и увеличение их размеров, что способствует поддержанию концентрации тромбоцитов в периферической крови на исходном уровне с возрастанием количества юных пластинок, являющихся более функционально активными.

Хроническое воздействие способствует дальнейшему усилению процессов дифференцировки клеток ряда, что наряду с увеличением размеров мегакариоцитов и созреванием их цитоплазмы приводит к развитию тромбоцитоза с увеличением содержания старых тромбоцитов, уменьшенных в размерах.

При обоих видах гипоксии увеличиваются в размерах селезеночные мегакариоциты, а плотность их в костном мозге увеличиваются за счет эпифизарных зон.

Выводы

1. Острая и хроническая гипоксия вызывает в костном мозге ускорение пролиферации и дифференцировки клеток мегакариоцитарного ряда, усиление их функциональной активности;

2. В периферической крови острое воздействие приводит к увеличению содержания функционально активных юных форм, а при хроническом — тромбоцитоз с возрастанием числа старых тромбоцитов, функционально менее активных;

3. Особенностью реакции мегакариоцитарного ростка на гипоксию является повышение

плотности клеток в эпифизарных зонах костного мозга и увеличение размеров мегакариоцитов в селезенке.

Литература

1. Автандилов Г.Г. Морфометрия в патологии. - М.: Медицина, 1973. - 247 с.
2. Автандилов Г.Г., Александров В.Г. Окулярная стереометрическая сетка для исследования печени // Бюлл. эксп. биол. и мед. - 1986. - Вып. 102, № 10. - С. 498-499.
3. Исабаева В.А. Система свертывания крови и адаптация к природной гипоксии. - Л.: Наука, 1983. - 152 с.
4. Козинец Г.И., Терентьева Э.И., Файнштейн Ф.Э., Шишиканова Э.Г., Дульцина С.М., Ярустовская Л.Э., Липац А.А. Морфологическая и функциональная характеристика клеток костного мозга и крови // В кн.: Нормальное кроветворение и его регуляция. Под ред. Федорова Н.А. - М.: Медицина, 1976. - С. 98-155.
5. Маркосян А.А. Физиология тромбоцитов. - Л.: Наука, 1973. - 164 с.
6. Миррахимов М.М. Лечение внутренних болезней горным климатом. - Л.: Медицина, 1977. - 208 с.
7. Петрищев Н.Н. Тромборезистентность сосудов. - С.-Петербург, 1994. - 130 с.
8. Пономарева Т.А. Тромбоцитопозитическая активность сыворотки крови у животных при кратковременной адаптации к условиям высокогорья // Физиол. журн. им. И.М. Сеченова. - 1975. - Т. 61, № 2. - С. 239-243.
9. Эсенбекова Э.Э. Влияние ионизирующего излучения на гемостаз животных в процессе их адаптации к высокогорью // Автореферат дисс. ... канд. наук. - Фрунзе, 1983. - 28 с.
10. Ястребов А.П. О роли гипоксии в механизмах регенераторных процессов // Дисс. ... докт. мед. наук. - Свердловск, 1972. - 486 с.