

УДК 616-008:612.603:616-092.39

Б.Г.Юшков, С.В.Сазонов

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ КРОВЕТВОРНОЙ ТКАНИ

Кафедра нормальной физиологии и Центральная научно-исследовательская лаборатория

В последние годы в изучении кроветворения наметилось новое направление - исследование пространственной организации кроветворной ткани, которое позволяет с иных позиции оценивать многие вопросы регуляции гемопоэза. Кроветворная ткань в организме распределена неравномерно, а в костях представлена участками или фрагментами, играющими различную роль в поддержании кроветворения. Неодинаковые условия для гемопоэза как в различных частях скелета, так и в различных участках одной и той же кости создают морфологические особенности костной ткани, неравномерность кровоснабжения костного мозга, различная скорость кровотока в его разных участках, особенности гемопоэзиндуцирующего микроокружения и др. На основании данных о морфологической и функциональной мозаичности кроветворной ткани была сформулирована гипотеза местной регуляции кроветворения [4].

Целью настоящей работы было проследить связь между пролиферативной активностью кроветворных клеток и состоянием гемопоэзиндуцирующего микроокружения в различных участках костного мозга.

Костный мозг изучали в бедренных костях мышей СВА. Кости делили по длиннику на пять одинаковых фрагментов. Первым считали расположенный в дистальной части органа. Состояние гемопоэза оценивали как вдоль костномозгового канала, так и по направлению от кости к его центру. Синтез ДНК оценивали по включению Н-тимидина в клетки и методом проточной ДНК-цитометрии [7]. Концентрацию гликозаминогликанов - основного биохимического компонента гемопоэзиндуцирующего микроокружения определяли: нейтральных по методу [9], кислых по [7]. На гистологических срезах, окрашенных гематоксилин-эозином проводили морфометрические исследования. На отдельных препаратах, окрашенных акридиновым оранжевым, изучали содержание кислых гликозаминогликанов [1]. Селективное выявление тучных клеток проводили при окраске основным коричневым по методу Шубича [2].

При изучении включения <sup>3</sup>Н-тимидина в клетки из различных участков костного мозга *in vitro* найдено, что клетки эпифизарных фрагментов (первого и пятого) характеризуются повышенным синтезом ДНК (табл.1).

Зона наиболее активного кроветворения примыкает к эндосту. Здесь обнаруживаются преимущественно ранние формы клеток миелоидного ряда, в то время как метамиелоциты и зрелые гранулоциты сосредоточены в центральных участках. Концентрация КОЕ-С в миелоидной ткани бедренной кости так же возрастает от продольной центральной оси костномозгового канала в внутренней поверхности кости, т.е. от центра к периферии. Подобная закономерность в содержании прослеживается и для КОЕ-К и БОЕ-Э. Однако для них характерно уменьшение концентрации клеток около

Таблица 1

Состояние синтетических процессов в клетках костного мозга интактных мышей СВА из различных фрагментов бедренной кости

Фрагмент	Включение (беккерелей на 106 клеток)	Синтез ДНК	Пролиферативный пул клеток, % (ДНК-цитометрия)
1	4,61±0,70	141,3±14,5	26,8±3,42
2	4,80±11,40	115,2±14,4	-
3	3,10±0,28	101,1±10,5	18,7±2,10
4	2,60±0,30	107,4±6,4	-
5	4,20±0,25	154,8±15,5	22,7±2,85

самого эндоста. Авторадиографические исследования клеток костного мозга, меченых ЭН-тимидином, показали, что наиболее активное включение изотопа в клетки и наивысший индекс метки отмечаются в зоне, прилегающей непосредственно к эндостальной поверхности кости. Изучение с помощью проточной ДНК-цитометрии клеток миелоидной ткани, расположенных непосредственно у эндоста, полученных путем их вымывания из костномозгового канала после удаления мозга из диафиза показало, что величина пролиферативного пула клеток составляет 22,9±2,50% от всех миелоцитов. При этом величина пролиферативного пула всех миелоидных клеток, находящихся в диафизе оказалась ниже этих значений (18,7±2,10%). Это позволяет сделать вывод о увеличении активности пролиферативных процессов в клетках миелоидной ткани, располагающихся ближе к эндосту. Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что активность пролиферативных процессов в гемопозитической ткани диафиза менее выражена по сравнению с метафизами, а в пределах диафиза она снижается по мере удаления от эндоста в толщу костного мозга.

Неоднородность кроветворной ткани показали и исследования компонентов гемопозиндуцирующего микроокружения. Так концентрация ГАГов в эпифизах значительно выше, чем в диафизах. Однако если в дистальном эпифизе преобладают кислые ГАГы, то в проксимальном - нейтральные (табл. 2).

Таблица 2

Содержание гликозаминогликанов в костном мозгу интактных мышей СВА по фрагментам, мг/г

Фрагменты	Гликозаминогликаны		
	Кислые	Нейтральные	Отношение кислых к нейтральным
1	29,20± 3,90	8,65±0,75	3,40
2	6,85±1,60	10,60±2,7	0,65
3	4,40±0,43	19,10±1,7	0,44
4	4,80±0,72	12,40±1,2	0,39
5	5,58±0,71	20,10±1,5	0,28

Особый интерес для нас представляла возможность связать различия в содержании ГАГов и клеточного компонента гемопозиндуцирующего микроокружения. Считается, что протеогликановые молекулы локализуются в цитоплазме многих клеток: тучных, кле-

ток мегакариоцитарного ряда, полиморфноядерных лейкоцитов и некоторых других. Учитывая специфику их внутриклеточной локализации в гранулах, можно предполагать, что все гранулярные клетки содержат эти соединения. Нами были изучены препараты костного мозга, окрашенные, с целью выявления ГАГов, акридиновым оранжевым при низких значениях pH [1]. В этих условиях при люминесцентномикроскопическом исследовании выявляются исключительно сульфатированные мукополисахариды - кГАГы. Оказалось, что кГАГы в таких препаратах выявляются преимущественно в тучных клетках. При этом концентрация кГАГ в цитоплазме этих клеток на несколько порядков выше, чем во всех других компонентах гемопозэиндуцирующего микроокружения. Дополнительные исследования позволили установить, что кГАГы представлены в тучных клетках костного мозга преимущественно гепарином. Тучные клетки. в красном костном мозгу находятся непосредственно между элементами миелоидной ткани. Морфометрический анализ клеток костного мозга свидетельствует, что тучные клетки имеют достаточно четкую закономерность в своем расположении. Так, их совершенно не встречается в толще столбика костного мозга. Все изучаемые клетки располагались в непосредственной близости от эндоста, при этом их количество увеличивалось в районе метафизов кости.

Таким образом, функциональная неоднородность кроветворной ткани может быть связана с неравномерностью распределения в ней и функциональной активностью тучных клеток, в частности с продукцией последними ГАГов. Это дает основание предположить, что гемопозэическая ткань состоит из отдельных субтканевых единиц, объединяющих группы близколежащих клеток, которые внутри себя регулируют процессы пролиферации и дифференцировки. Наиболее активные из них расположены в эндостальной зоне. Связь между отдельными единицами осуществляется за счет миграции клеток. Исходя из этого можно выделить и два уровня управления: регуляция на уровне субтканевой единицы и кроветворной ткани в целом.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Зеленин А.В. Люминесцентная цитохимия нуклеиновых кислот. М.: Наука, 1967. 136 с.
2. Шубич М.Г., Могильная Г.М. Гликопротеины и протеогликаны. Принципы их гистохимического анализа//Арх. анат., 1979. Т.77, зып.8. С. 92-99.
3. Юшков Б.Г., Попов Г.К., Северин М.В., Ястребов А.П. Гликопротеиды и гемопозэ. Екатеринбург: Изд. УГМИ, 1994. 127с.
4. Ястребов А.П., Юшков Б.Г., В.Н.Большаков. Регуляция гемопозэа при воздействии на организм экстремальных факторов. Свердловск: Изд. УрО АН СССР, 1986. 152 с.
5. Barlogie B., Spitzer G., Hart D.S. et al. DNA histogram analysis of human hemopoetic cells//Blood.1976. Vol.48. P.245-258.
6. Bitter T., Muir H.M. A modified uronic acid carbazole reaction // Anal. Biochem., 1962, V. 4, N 4, P. 330-334.
7. Givan A.L. Flow cytometry: first principles. New York, 1992.202 F.
5. Taylor W., Milthorpe B.K. An evaluation of DNA fluorochromes, staining techniques and analysis for flow cytometry//J-Histochem.Cytochem. 1930. Vol.28. P.1224-1232.
6. Warren L. Thiobarbituric acid assay of sialic acid//J. Biol. Chem., 1959, V. 234, N 8, P. 1971-1975