

**КОРОТКОВ  
Артем  
Владимирович**

*Медицинский представитель компании  
«Дельрус», кандидат медицинских наук*

## **РОЛЬ ПРОСТАГЛАНДИНОБРАЗУЮЩЕЙ СИСТЕМЫ ПОЧЕК В МЕХАНИЗМАХ РЕГУЛЯЦИИ ГЕМОПОЭЗА ПРИ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ НА ОРГАНИЗМ**

Идеи Анатолия Петровича, щедрой рукой посеянные в нас, дали бурные всходы единения мысли. Каждый из нас был счастлив работать под его руководством и просто рядом, плечом к плечу с ним.

И где бы мы ни были, какие бы коллизии ни встречались на нашем пути, мы ощущаем рядом его плечо и данное нам тепло частицы души.

Роль простагландинов в регуляции гемопоэза при экстремальных воздействиях на организм остается во многом неясной. Имеющиеся в настоящее время данные литературы позволяют предположить, что в формировании спектра простагландинов в костном мозге кроме самой кроветворной ткани принимают участие и другие органы. Последнее прежде всего относится к почкам, поскольку почки, с одной стороны, занимают важное место в регуляции кроветворения, а с другой — являются активным продуцентом простагландинов [1]. Однако в доступной нам литературе мы не встречали исследований, посвященных прямому участию почечных простагландинов в регуляции гемопоэза в нормальных или экстремальных условиях.

Мы полагали, что исследование роли почечных простагландинов в регуляции гемопоэза позволит пролить свет на истинное участие простагландинов почек в механизмах гемопоэза и даст основание для предложений об использовании простагландинов в гематологической практике.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводились на линейных лабораторных мышах (СВА F1, 334 животных) и белых беспородных мышах-самцах весом 16—24 граммов (200 животных).

Изменение концентрации простагландинов в организме животных моделировали путем внутрибрюшинного введения индометацина 5 мг на килограмм массы, что вызывает 3-кратное снижение синтеза простагландинов или простагландина A<sub>2</sub> в дозе 375 мкг на 100 граммов массы тела животного, что сопровождается 3—4-кратным повышением его концентрации в крови.

Активность простагландин-синтетазы оценивалась с помощью определения концентрации конечных продуктов синтеза — простагландинов. В качестве субстрата использовалась структурно меченая арахидоновая кислота с удельной активностью 5,6 ТБк/моль производства фирмы Amersham (Англия). Тонкослойная хроматография конечных продуктов производилась на пластинках Silufol 252 UV (Чехословакия).

Концентрацию простагландинов в органах и тканях животных определяли радиоиммунным методом и использованием наборов производства Institute of isotopes (Венгрия) по методу, рекомендуемому фирмой-изготовителем. Разделение смеси простагландинов на отдельные простагландины производилось с использованием хроматографических микроколонок Amprep фирмы Amersham (Англия). Конечное определение осуществляли на сцинтилляционном счетчике «Бета-2».

С целью оценки распределения экзогенных меченых простагландинов между органами и тканями экспериментальных животных, экспериментальным мышам и группе контрольных мышей линии СВА за 30 минут до забоя внутрибрюшинно вводили 4 МБк меченого по тритию простагландина A<sub>2</sub>. Полученные результаты распределения радиоактивности выражали в беккерелях на миллиграмм сухого веса органа.

Для определения связывания простагландинов с белками крови и эритроцитами в кровь животного добавляли меченый по тритию простагландин A<sub>2</sub> и инкубировали в течение 18 часов при температуре 0—2 °С. По окончании срока инкубации добавляли суспензию активированного, покрытого декстраном угля (Венгрия). В после-

дующем пробы центрифугировали, супернатант радиометрировали. Результаты представляли в беккерелях на миллиграмм белка. Полученные на предыдущем этапе эритроциты ресуспендировали, подсчитывали и инкубировали в присутствии 940 беккерелей простагландина в течение 30 минут при комнатной температуре, а затем осаждали на нитроцеллюлозные фильтры фирмы Millipore (США). После высушивания фильтры радиометрировали в простом толуоловом сцинтилляторе. Результаты представляли в беккерелях на  $10^6$  клеток.

Гипоксия моделировалась в проточной барокамере, животных выдерживали в камере в течение 6 часов ежедневно на протяжении 6 суток при давлении 0,4 АТА.

Кровопотеря моделировалась путем кровопускания из ретроорбитального синуса в объеме 2% от массы животного.

Асептическое воспаление получали подкожным введением в область боковой поверхности бедра стерильного геля Sephadex G-200.

Лучевое поражение моделировали облучением животных на гамма установке ИГУР в дозе 4 Грея.

Полученные результаты обрабатывались методами вариационной статистики при помощи пакета прикладных программ.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Было установлено, что возникающие в результате действия экстремальных факторов изменения гомеостаза сопровождаются стимуляцией активности простагландин-синтетазы почек. Повышение активности простагландин-синтетазы зарегистрировано уже спустя 6 часов после воздействия экстремального фактора, а наибольшая активность наблюдается спустя трое суток. К исходу 6 суток активность простагландин-синтетазы почек снижается, однако остается достоверно выше контрольных значений. Вместе с тем, степень увеличения синтеза конкретного простагландина зависит от характера экстремального воздействия (табл. 1).

Известно, что стимулирующим эффектом в отношении активности комплекса ферментов, ответственных за синтез простагландинов в почках, обладают воздействия, сопровождающиеся снижением парциального давления кислорода в крови [10], развитием почечной гипотензии [8], нарушением адренэргической и холинэргической иннерва-

Таблица 1

**Динамика изменения активности простагландин-синтазы почек в отношении синтеза простагландинов группы А, Е и F в экстремальных условиях**

| Простагландин   | Воздействие | Активность PG-синтазы пМ/мг/30 минут |               |              |
|-----------------|-------------|--------------------------------------|---------------|--------------|
|                 |             | 6 часов                              | 3 сутки       | 6 суток      |
| A <sub>2</sub>  | Контроль    | 15,28±2,44                           | 15,28±2,44    | 15,28±2,44   |
|                 | Гипоксия    | 28,90±2,83 *                         | 58,34±8,17 *  | 18,78±2,45   |
|                 | Облучение   | 27,68±2,83 *                         | 34,26±5,82 *  | 25,79±5,42 * |
|                 | Воспаление  | 24,53±6,13 *                         | 47,62±10,00*  | 24,10±3,78 * |
|                 | Кровопотеря | 29,28±3,15 *                         | 50,63±10,63 * | 24,17±3,14 * |
| E <sub>1</sub>  | Контроль    | 12,51±2,00                           | 12,51±2,00    | 12,51±2,00   |
|                 | Гипоксия    | 20,43±4,90 *                         | 13,74±3,98    | 11,57±1,62   |
|                 | Облучение   | 48,02±7,68 *                         | 24,18±4,11 *  | 11,24±2,36   |
|                 | Воспаление  | 32,13±3,03 *                         | 41,59±8,73 *  | 29,48±7,08 * |
|                 | Кровопотеря | 91,13±17,31 *                        | 34,94±7,34 *  | 25,50±3,31 * |
| E <sub>2</sub>  | Контроль    | 38,69±1,19                           | 38,69±1,19    | 38,69±1,19   |
|                 | Гипоксия    | 94,40±22,66 *                        | 43,85±0,14 *  | 36,42±2,76   |
|                 | Облучение   | 94,82±15,17 *                        | 44,02±0,48 *  | 34,54±3,25   |
|                 | Воспаление  | 78,45±26,11 *                        | 48,37±3,16 *  | 49,77±3,94 * |
|                 | Кровопотеря | 88,56±16,83 *                        | 45,50±1,56 *  | 54,18±2,04 * |
| F <sub>2α</sub> | Контроль    | 11,22±1,80                           | 11,22±1,80    | 11,22±1,80   |
|                 | Гипоксия    | 23,47±1,91 *                         | 52,04±7,29 *  | 28,19±8,18 * |
|                 | Облучение   | 46,75±3,48 *                         | 28,05±4,77 *  | 29,49±6,18 * |
|                 | Воспаление  | 68,54±12,13 *                        | 26,74±3,52 *  | 21,76±5,22 * |
|                 | Кровопотеря | 47,44±7,81 *                         | 24,39±5,12 *  | 23,00±4,29 * |

\* отличие от контроля достоверно при  $P \leq 0,05$

ции почек [13], изменением концентрации стероидных гормонов [4], изменением рН и осмоляльности протекающей через почки крови [5].

Проведенные исследования динамики концентрации простагландинов в крови при экстремальных воздействиях на организм показали, что стимуляция синтеза простагландинов в почках сопровождается повышением их количества в кровеносном русле, причем наблюдается корреляция между уровнем синтеза простагландинов в почке и их количеством в крови, наиболее выраженная в отношении простагландина  $A_2$ . Данное наблюдение можно объяснить тем, что простагландин  $A_2$  синтезируется практически исключительно в почках [1], в то время как источником прочих простагландинов в крови могут быть как клетки самой крови, так и другие органы, синтез простагландинов в которых в данных условиях будет так же повышен [9].

Полученные результаты исследований и известные данные литературы свидетельствуют, что действие экстремальных факторов сопровождается накоплением простагландинов в крови, которые значительно различаются по своей способности к продолжительности циркуляции в ней. Так, простагландины группы  $A$  значительное время циркулируют в кровеносном русле и без изменений химической структуры проходят через ферментативные барьеры печени и легких [1]. Кроме того, показано, что, находясь в кровеносном русле, простагландины способны образовывать комплексы с белками крови [2, 3] и клетками крови, в частности с эритроцитами. Подобное комплексобразование может предохранять простагландины от разрушения в русле крови и служить транспортной системой для простагландинов на их пути из почек в костный мозг.

Проведенные исследования динамики процесса связывания простагландинов с белками и эритроцитами крови на фоне действия экстремальных факторов показали, что наиболее активно с ними взаимодействует простагландин  $A_2$ , что возможно и является причиной его повышенной стабильности. Ингибция синтеза простагландинов в организме интактных животных индометацином сопровождается повышением связывания их экзогенно меченых аналогов, в то время как повышение концентрации простагландинов в русле крови при внутрибрюшинном введении животным синтетических простагландинов данных групп приводит к дополнительному снижению комплексобразования. Вероятно, что при действии экстремальных факторов прочность связывания между белком и простагландином

*Роль простагландинообразующей системы почек в механизмах регуляции гемопозза при экстремальных воздействиях на организм*

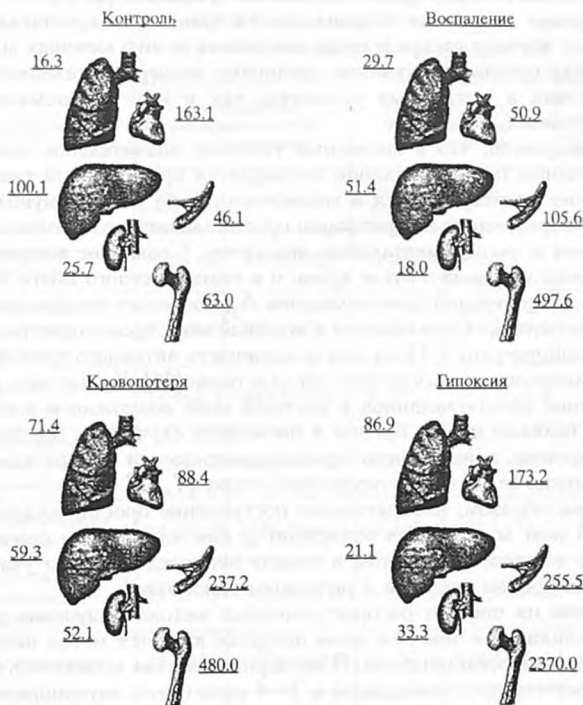


Рис. 1. Распределение меченого простагландина  $A_2$  между органами и тканями экспериментальных животных (в беккерелях на грамм сухой массы органа)

снижается, что в свою очередь приводит к ускорению обмена простагландинами между кровью и тканями организма [2, 3].

С целью выяснения направленности транспорта простагландинов было изучено распределение введенных *in vivo* меченых аналогов между органами и тканями организма экспериментальных животных как в интактных условиях, так и при экстремальных воздействиях (рис. 1).

Обнаружено, что в интактных условиях значительное количество меченых простагландинов поглощается кроветворной тканью. Последнее подтверждается в экспериментах по радиоиммунологическому определению концентрации простагландинов в костном мозге интактных и экспериментальных животных. Сравнение концентрации простагландинов в русле крови и в ткани костного мозга, в частности концентраций простагландина  $A_2$ , позволяет предположить, что транспорт простагландинов в костный мозг происходит по градиенту концентраций. Показана возможность активного транспорта простагландинов из сосудистого русла в ткани [11]. Кроме того, проникновение простагландинов в костный мозг возможно и в комплексе с белками крови, причем в последнем случае так же продемонстрирована возможность одностороннего и избирательного прохождения белка через сосудистую стенку [7, 12].

Таким образом, избирательное поступление простагландинов в костный мозг может быть объяснено целым комплексом причин и служить важным аргументом в пользу непосредственного участия почечных простагландинов в регуляции гемопоеза.

Одним из широко распространенных методов изучения роли простагландинов в том или ином процессе является метод ингибции синтеза простагландинов. В экспериментах мы добивались снижения синтеза простагландинов в 3–4 раза путем внутрибрюшинного введения животным индометацина. Ингибция синтеза простагландинов у интактных животных сопровождалась увеличением количества КОЕс при одновременном достоверном снижении числа колониеобразующих единиц, находящихся в S-фазе клеточного цикла (табл. 2).

Гистологический анализ эндоколоний в селезенках летально облученных реципиентов показал, что при этом снижается число клеток — предшественников эритропоеза и возрастает число родоначальных элементов белого ростка кроветворения. Подобная картина

Таблица 2

**Количество экзоколоний селезенки в костном мозге мышей**

| Группы животных                                 | Количество экзоколоний                                      |              |                                                                |             |                                                     |
|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|--------------|----------------------------------------------------------------|-------------|-----------------------------------------------------|
|                                                 | До обработки<br>миелокариоцитов<br><sup>3</sup> H-тимидином |              | После обработки<br>миелокариоцитов<br><sup>3</sup> H-тимидином |             | Соотноше-<br>ние клеток,<br>находящихся<br>в S-фазе |
|                                                 | на 10 <sup>5</sup><br>клеток                                | на бедро     | на 10 <sup>5</sup><br>клеток                                   | на бедро    | в %                                                 |
| Интактные<br>животные                           | 11,3±1,4                                                    | 806,8±53,5   | 10,0±1,4                                                       | 714,0±92,2  | 11,4±1,1                                            |
| Интактные<br>животные,<br>индометацин           | 16,2±2,8                                                    | 980,1±77,4   | 14,5±1,8                                                       | 877,3±15,3  | 4,3±0,9                                             |
| Постгеморраги-<br>ческая анемия                 | 14,6±2,1                                                    | 1242,5±104,4 | 8,5±1,1                                                        | 723,1±94,8  | 41,6±5,2                                            |
| Постгеморраги-<br>ческая анемия,<br>индометацин | 11,9±1,5                                                    | 821,1±43,0   | 8,8±1,1                                                        | 607,2±78,9  | 26,1±5,7                                            |
| Гипоксическая<br>гипоксия                       | 12,9±1,6                                                    | 1196,5±44,4  | 10,2±1,3                                                       | 867,3±13,7  | 21,1±3,7                                            |
| Гипоксическая<br>гипоксия,<br>индометацин       | 13,0±1,2                                                    | 725,4±34,0   | 11,5±1,3                                                       | 641,7±80,8  | 11,5±2,0                                            |
| Воспаление                                      | 13,8±1,8                                                    | 1098,5±42,7  | 11,0±1,4                                                       | 875,6±13,8  | 20,3±2,4                                            |
| Воспаление,<br>индометацин                      | 20,2±1,6                                                    | 1751,3±27,6  | 14,5±1,8                                                       | 1257,2±73,4 | 28,2±5,9                                            |

наблюдается при всех экстремах, за исключением асептического воспаления. В последнем случае отмечено как возрастание общего числа КОЕс при ингибции синтеза простагландинов, так и числа КОЕс в S-фазе. Существенно меняется характер костномозгового кроветворения. Наряду со снижением клеточности костного мозга интакт-



ных животных отмечено прогрессирующее снижение количества зрелых клеток прочих ростков кроветворения. Снижение клеточности костного мозга, особенно ярко выраженное в отношении эритроцитарного ростка, в котором падение числа зрелых клеток наблюдается и при ингибции синтеза простагландинов на фоне гипоксии и развития постгеморрагической анемии. Костномозговое кроветворение в условиях ингибции образования простагландинов связано, вероятно, с их участием в регуляции биохимических процессов в клетке, обеспечивающих стадию G1 и переход клеток в стадию S клеточного цикла [6, 14].

С целью дополнительной проверки выводов относительно роли простагландинов, синтезируемых почками в процессах регуляции гемопоэза, была проведена специальная серия экспериментов, в которой изучались процессы кроветворения на фоне повышения содержания в организме экспериментальных животных одного из основных почечных простагландинов — простагландина A2. Последнее достигалось введением животным его синтетического аналога. Было установлено, что введение контрольным животным простагландина A2 сопровождается повышением содержания в периферической крови эритроцитов, ретикулоцитов, нейтрофильных лейкоцитов. При экстремальных воздействиях, сопровождающихся стимуляцией эритропоэза, основные изменения в картине периферической крови выражались в значительном повышении числа ретикулоцитов и содержания гемоглобина, по сравнению с животными, не получавшими препарат.

Введение простагландина A2 экспериментальным животным сопровождается увеличением количества КОЕс, находящихся в S-фазе клеточного цикла при их неизменном общем количестве. Среди клеток, формирующих эндоколонии в селезенках летально облученных реципиентов, отмечено преобладание предшественников эритроидного ростка кроветворения.

## **Выводы**

1. При действии экстремальных факторов на организм активизируется функция простагландин-образующей системы почек. На интенсивность синтеза конкретной группы простагландинов существенно влияет характер экстремального воздействия.

2. Стимуляция синтеза простагландинов в органах и тканях сопровождается повышением их содержания в крови. Роль транспортной системы для простагландинов выполняют белки крови и эритроциты, которые предохраняют их от быстрого разрушения. Концентрация простагландина A<sub>2</sub> в крови коррелирует с интенсивностью его синтеза в почках.

3. Поступление простагландинов в костный мозг, в условиях действия экстремальных факторов, увеличивается. Этому способствует возрастание их концентрации в крови, снижение прочности комплекса простагландин-белок, повышение проницаемости стенки сосудов костного мозга. Возрастание содержания простагландина A<sub>2</sub> в костном мозге связано главным образом с его поступлением из крови, в то время как синтез его в этой ткани практически не изменяется.

4. Ингибция образования простагландинов, вызванная введением индометацина, сопровождается угнетением гемопоэза. Последнее проявляется в снижении митотической активности стволовых элементов костного мозга, падении клеточности костного мозга в основном за счет эритроидного ряда, уменьшении содержания гемоглобина и числа ретикулоцитов в периферической крови.

5. Введение простагландина A<sub>2</sub> животным, подвергнутым воздействию экстремальных факторов, существенно усиливает процессы кроветворения, главным образом эритропоэза. Последнее проявляется в возрастании гематокрита, содержания ретикулоцитов и гемоглобина в крови, стимуляции митотической активности стволовых элементов костного мозга, их перераспределения в сторону эритроидного роста кроветворения, повышении клеточности костного мозга.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ажгихин И.С. Простагландины. — М.: Медицина, 1978. — 451 с.
2. Буко В.У., Заводник И.Б., Степура И.И. Взаимодействие простагландина E<sub>2</sub> с сывороточным альбумином. // Биохимия. — 1987. — Т. 52, № 6. — С. 891-895.
3. Мазурец А.Ф., Головская Г.Г., Борисенко С.Н. Особенности сывороточного альбумина при экспериментальном миокардите и инфаркте миокарда. // Деп. ВИНТИ 7029В. — 1986.

4. Grunfeld J.-P., Eloy L., Araujo A., Russo-Mari F. Effects of gluco- and antigluco-corticoids on renal and aortic prostaglandin synthesis. // *Amer. J. Physiol.* — 1986. — V. 251. — № 5. Pt. 2. — P. 810-816.
5. Harris R.C., Munger K.A., Badr K.F., Takahashi K. Mediation of renal vascular effects of epidermal growth factor by arachidonate metabolites. // *JASEB Journal.* — 1990. — V. 4. — № 6. — P. 1654-1660.
6. Little P., Skouteris G.G., Ord M.G., Stocken L.A. Serum from partially hepatectomized rats induces primary hepatocytes to enter S-phase: a role for prostaglandins. // *J. Cull. Sci.* — 1988. — V. 91. — N 4. — P. 549-553.
7. Peterson Michael W., Stone Phillip, Shasby D. Michael. Cationic neutrophil proteins increase transeendothelial albumin movement. // *J. Appl. Physiol.* — 1987. — V. 62. — N 4. — P. 1521-1530.
8. Ratcliffe Peter J., Moonen Chrit T.W., Holloway paul A.H., Lidengham John G.G., Radda George K. Acute renal failure in hemorrhagic hypotension: cellular energetics and renal function. // *Kidney Int.* — 1986. — V. 30. — N 3. — P. 355-360.
9. Reed M.K., Taylor B., Myens S.I. The effect of hypoxia on rat splanchnic prostanoid output. // *Prostaglandins.* — 1989. — V. 38. — N 5. — P. 599-608.
10. Roszinski S., Jelkmann W. Effect of  $PO_2$  on prostaglandin E2 production in renal cell cultures. // *Respir. Physiol.* — 1987. — V. 70. — N 2. — P. 131-141.
11. Ryan C.W. Processing of angiotensins, kinins, prostaglandins and adenine nucleotides by pulmonary endothelium: Relevance to homeostasis. // *Atemwegs und Lungenerkrankh.* — 1988. — V. 14. Suppl. 1. — P. 53-56.
12. Togl-Leimuller A., Egger G., Porta S. Albumin as one-way transport vehicle into sites of inflammation. // *Exp. Pathol.* — 1986. — V. 30. — N 2. — P. 91-96.
13. Vikse A., Hordaas H., Sejersted O.M., Kill F. Haemodynamic conditions for renal PGE2 and renin release during a- and b-adrenergic stimulation in dogs. // *Acta physiol. scand.* — 1985. — V. 124. — N 2. — P. 163-172.
14. Wickremasinghe R.G. The role prostaglandins in the regulation of cell proliferation. // *Prostagland. Leukotrienes. and Essent. Fatty Acids.* — 1988. — V. 31. — N 3. — P. 171-179.