УДК 616.092.19 : 612.119

ЮШКОВ Борис Германович

Заведующий кафедрой нормальной физиологии УГМА, академик МАНЭБ, член-корреспондент РАЕН, профессор, доктор медицинских наук

Особенности реакции кроветворной ткани при действии на организм экстремальных факторов

Участие в настоящем сборнике для автора весьма лестно, а быть причисленным к ученикам Анатолия Петровича Ястребова является высокой честью, поскольку периоды моего ученичества, становления как исследователя и педагога проходили на возглавляемой юбиляром кафедре патологической физиологии Уральской государственной медицинской академии. Именно тогда и под непосредственным влиянием руководителя кафедрального коллектива сформировались мои представления о проблеме регенерации крови, были поставлены вопросы по расшифровке механизмов регуляции кроветворения, поиск ответов на которые продолжается и сегодня, но уже на другой кафедре с другими сотрудниками. Однако в сердце сохраняется благодарность и кафедре, и А.П. Ястребову за годы совместной работы, за горячие дискуссии, споры, за поддержку казавшихся безумными идей, за великую радость общения и за возможность, как в былые времена, обратиться со своими вопросами и сомнениями в расчете на понимание возникшей проблемы. Это сообщение представляет собой своеобразный отчет по развитию идей, зарождавшихся у автора во время работы с Анатолием Петровичем.

Реакция кроветворной ткани на экстремальные воздействия представляет собой целый комплекс тесно связанных между собой, хорошо сбалансированных механизмов, как дальноранговых (гемопоэтины, ингибиторы кроветворения, продукты распада клеток крови, гормоны, нервная система и др.), так и локальных, которые следу-

ет рассматривать лишь в совокупности. Вычленение же одного или нескольких из общей системы неизбежно приводит к ошибочным заключениям.

На начальных этапах развития экспериментальной гематологии внимание исследователей было сосредоточено на изучении гуморальной и эндокринной регуляции отдельных ростков кроветворения.

Вместе с тем в настоящее время все отчетливее проявляется тенденция изучения реакций кроветворной ткани на экстремальные воздействия как ткани в целом.

На основании анализа многочисленных данных литературы и накопленных в лаборатории руководимой А.П. Ястребовым кафедры патологической физиологии экспериментальных данных было высказано предположение, что эта реакция представляет собой каскад тесно связанных между собой, хорошо сбалансированных процессов, находящихся под контролем как дальнорановых (гемопоэтины, ингибиторы кроветворения, продукты распада клеток крови, гормоны, нервная система и др.), так и локальных механизмов [4].

Состояние кровоснабжения кроветворной ткани занимает существенное место в этом каскаде, о чем свидетельствуют изменения гемопоэза при нарушениях общей гемодинамики (Ужанский Я.Г., 1968) и, как было продемонстрировано А.М. Чирковой и А.П. Ястребовым (1972), увеличение числа функционирующих капилляров в костном мозге при попадании организма в гипоксические условия. Отталкиваясь от этих данных, сотрудники нашей лаборатории В.Г. Климин, С.Н. Легранд, Е.И. Зерчанинова, Т.О. Фурса провели измерение объемной доли сосудов в гистологических препаратах костного мозга бедренной кости крыс при массивной кровопотере, острой и хронической гипоксии, острой и хронической нормобарической гипероксии, воспалении, иммобилизационном стрессе. Оказалось, что при всех перечисленных воздействиях она увеличивается в центре костномозгового канала. Возрастают как число синусоидов, так и диаметр сосудов. В эпифизах показатель практически не меняется, а в эндостальной зоне может даже уменьшаться. В экспериментах с иммобилизационным стрессом выявляется, что реакция может быть отнесена к зависимым от надпочечников, поскольку не проявляется у адреналэктомированных животных.

Увеличение объемной доли сосудов в костном мозге наблюдается при введении животным гидрокортизона, адреналина и в меньшей степени ацетилхолина. Под влиянием гистамина выраженная реакция сосудов проявляется уже в эпифизах и эндостальной зоне диафиза и сводится к уменьшению объема, занимаемого сосудами. Такой же, но менее выраженный эффект в эндостальной зоне оказывает и гепарин. Особый интерес представляет тот факт, что действие гистамина и гепарина проявляется в тех участках кроветворной ткани, в которых, по данным гистологических исследований, сосредоточена основная масса тучных клеток костного мозга, являющихся основными производителями этих физиологически активных веществ.

Миелоидная ткань располагается и осуществляет свою кроветворную функцию в жестко ограниченном костной тканью пространстве костномозговой полости. Следовательно, необходима особая буферная структура, которая бы при гиперплазии (а значит увеличении объемной доли) того или иного ростка, сокращая свой объем, давала дополнительное пространство для гемопоэтических клеток, а при гипоплазии, наоборот, заполняла освобождающееся пространство. На роль такого буфера в полной мере могут претендовать жировые клетки. В числе первых исследований, посвященных изучению липолитической активности костного мозга на фоне измененного гемопоэза, следует назвать работы А.П. Ястребова и Е.А. Яценко (1971). И по нашим данным, реакция жировых клеток является обязательным компонентом ответа кроветворной системы на экстремальный фактор, но имеет ряд особенностей в зависимости от природы последнего. Так, при постгеморрагической анемии объемная доля жировых клеток в гемопоэтически активной эндостальной зоне сокращается уже с первых часов после кровопотери, в то время как в эпифизах и центре диафиза показатель достоверно уменьшается лишь с 3-х суток, когда гемопоэз резко активирован. Указанные изменения, очевидно, обусловлены гипоксией, поскольку они еще более выражены и развиваются быстрее при острой и хронической импульсной гипоксии. Гипероксия, наоборот, вызывает увеличение показателя в гемопоэтически активной эндостальной зоне, а воспаление в центральной. При постлучевом (4,5 и 9,0 Гр) опустошении костного мозга объемная доля

жировых клеток резко возрастает. Однако они не способны (или не успевают) заполнить все освобождающееся пространство и в процесс включается повышение отложения гиалина. При сопоставлении результатов исследований нашей лаборатории с данными, полученными на кафедре патологической физиологии УГМА В.Н. Мещаниновым (1983), отметившим повышение активности в костном мозге перекисного окисления липидов — ПОЛ — в ранний период действия экстремального фактора и снижение в поздний, четко прослеживается закономерность — активация ПОЛ, предшествующая сокращению объемной доли жировых клеток в кроветворной ткани, и его снижение в период минимальных значений показателя. Уменьшение содержания адипоцитов мало зависит от надпочечников, поскольку реакция на иммобилизацию адреналэктомированных крыс практически не отличается от таковой у животных, операции не подвергавшихся.

Сокращение объемной доли жировых клеток сопровождается увеличением объема, занимаемого кроветворными клетками, что находит свое отражение в расширении слоя эндостально расположенных клеток вплоть до диффузного заполнения костномозговой полости. При этом плотность клеток на единицу площади либо не изменяется, либо падает. В случае же воспаления, когда в центральной зоне снижение содержания жировых клеток не происходит, ширина эндостального слоя клеток меняется незначительно и плотность клеток в нем в период максимальной активации гранулоцитопоэза возрастает.

Следует заметить, что выход гемопоэза из стационарного состояния сопровождается не только количественными сдвигами в содержании жировых клеток, но и изменением функциональной активности последних, которые в определенной степени зависят от вида воздействия. В экспериментах на кроликах показано резкое снижение сухой массы клеток через 3 ч после кровопотери и нормализация показателя через 18 ч с повышением в последнем случае содержания кислых гликозаминогликанов — ГАГ, в то время как 3-часовая гипоксия никак не сказывается ни на сухой массе, ни на концентрации ГАГ. При асептическом воспалении сухая масса клеток падает, но одновременно возрастает содержание а адипоцитах ГАГ. В опытах с дозированным сужением a. iliaca interna с помо-

щью серебряного кольца и использовании в качестве контроля костного мозга неоперированной конечности сделано предположение о связи между накоплением кислых ГАГ в жировых клетках и гемодинамикой в кроветворной ткани и относительной независимости показателя от насыщения крови кислородом. Остается открытым вопрос, синтезируются ли ГАГ адипоцитами или клетки связывают их из окружающей среды, повышая локальную концентрацию. В последнем случае в качестве источника ГАГ могут выступать опять же тучные клетки костного мозга. Повышение содержания в жировых клетках кислых ГАГ, которым приписывается гранулоцитопоэз стимулирующий эффект, а также синтез ими высокоактивного КСФ [7, 8], очевидно, могут объяснить способность адипоцитов поддерживать гранулоцитопоэз [5]. Содержание жировых клеток в кроветворной ткани находится под контролем регуляторных систем организма. Так, показана их чувствительность к эритропоэтину [6], а по нашим данным, и к гидрокортизону, адреналину, ацетилхолину. Факт уменьшения объемной доли жировых клеток в костном мозге под влиянием гистамина указывает на возможность влияния на них тучных клеток.

Выполненные нами еще на кафедре патологической физиологии исследования, показавшие значительные колебания в кроветворной ткани концентрации кислых ГАГ, относимых к локальным регуляторам кроветворения, в экстремальных условиях [2, 3, 4], а также факт влияния гистамина на гемопоэз, привели нас к предположению об участии тучных клеток в физиологической регуляции кроветворения и формировании ответной реакции гемопоэтической ткани на экстремальные воздействия. Для проверки гипотезы были проведены специальные исследования тучных клеток костного мозга бедренной кости крыс. Оказалось, что в физиологических условиях они располагаются эндостально, в то время как их концентрация в центре костномозгового канала ниже. При действии на организм большинства экстремальных факторов (острая и хроническая гипоксия, острая и хроническая нормобарическая гипоксия, облучение) отмечается в основном достаточно стереотипная реакция, состоящая в уменьшении абсолютного количества лаброцитов в костном мозге. Только в первые 6 ч после кровопотери и при асептическом воспалении

содержание тучных клеток в кроветворной ткани увеличивается. Уменьшение количества тучных клеток в костном мозге можно рассматривать как элемент стресс-реакции, поскольку оно выражено и при классическом иммобилизационном стрессе. Однако феномен не зависит от надпочечников, поскольку сохраняется и при иммобилизации адреналэктомированных животных. Снижение общего количества лаброцитов в бедренной кости вызывают гидрокортизон, адреналин, гистамин и гепарин, а под действием ацетилхолина клетки практически совсем исчезают. Второй особенностью реакции тучных клеток является увеличение их среднего диаметра практически при всех использованных воздействиях за исключением воспаления, при котором размеры клеток не меняются. Это явление нельзя объяснить проявлением стресс-реакции, поскольку при иммобилизации животных показатель на протяжении первых 4-х суток ниже, чем у интактных животных, и лишь к 6-м суткам начинает увеличиваться. У адреналэктомированных животных иммобилизация вызывает лишь кратковременное (12 ч) уменьшение среднего диаметра лаброцитов, с последующим увеличением размеров клеток. Кроме того, и гидрокортизон, и адреналин вызывают уменьшение размеров тучных клеток. Такой же эффект оказывают гистамин и гепарин. Следовательно, для стресс-реакции характерно уменьшение лаброцитов в размерах, хотя оно может быть обусловлено и выделяемыми ими физиологически активными веществами.

Хорошо известно, что тучные клетки представляют собой весьма гетерогенную популяцию, в связи с чем специально исследовали соотношение между различными типами клеток. Выделяли 4 типа клеток: 1 тип — клетки, содержащие небольшое количество гранул секрета, расположенных около мембраны, 2 тип — клетки, содержащие в цитоплазме большие плотные гранулы секрета, 3 тип — клетки с хорошо контурированными ядром и мембраной, с плотным расположением гранул в цитоплазме и 4 тип — дегранулированные клетки с выходом секрета в строму и разрывом клеточной мембраны. Средний диаметр клеток, определяемый в гистологических препаратах костного мозга, прогрессивно нарастает (1-й тип — 10,65 $\pm$ 0,18 мкм, 2-й — 11,22 $\pm$ 0,16 мкм, 3-й — 11,42 $\pm$ 0,16 мкм и 4-й — 13,53 $\pm$ 0,18 мкм).

В отличие от изменений абсолютного количества лаброцитов и среднего их диаметра в распределении тучных клеток прослеживается связь с видом экстремального воздействия. При воздействиях с отчетливо выраженной гипоксией (первые 3-е суток после массивной кровопотери, острая и хроническая гипоксия) возрастает доля клеток 1-го типа и уменьшается 2, 3 и 4-го типов. Клетки 1-го типа также увеличиваются и в размерах. В случае острой и хронической нормобарической гипероксии и в поздние сроки после кровопотери (5-7-е сутки) наблюдается противоположная картина: уменьшение процента клеток 1-го типа, увеличение 2 и 3-го типов. 4-й же тип, как и в предыдущем варианте, уменьшен. Воспаление вызывает аналогичные изменения. Лучевое поражение костного мозга характеризуется уменьшением количества клеток 1—3 типов и увеличением 4-го. Для стресс-реакции, вызванной 6-часовой иммобилизацией животных, характерно уменьшение доли клеток 1 и 2-го типов с первых часов и до 6 суток после окончания воздействия, колебания в содержании клеток 3-го типа и увеличение доли лаброцитов 4-го типа. Адреналэктомия несколько изменяет реакцию, в частности через 6 ч возрастает процент клеток 2-го типа и уменьшается 4-го, на 1—4-е сутки растет процент лаброцитов 1-го типа, из чего следует, что по крайней мере реакция клеток 1 и 2-го типов зависит от надпочечников. Гидрокортизон вызывает уменьшение количества клеток 1 и 2-го типов и увеличение 3 и 4-го, адреналин в первые 6 ч вызывает увеличение процента клеток 3-го типа, уменьшение 4-го, но на 1-4 сутки уменьшено содержание уже клеток 1—3-го типов, а 4-го увеличено. Под влиянием гистамина падает процент клеток 1—3-го типов и растет 4-го, а гепарин уменьшает количество клеток 1 и 4-го типов и увеличивает процент лаброцитов 2 и 3-го типов.

Представленные данные свидетельствуют о различной чувствительности отдельных видов лаброцитов к разным экстремальным воздействиям и физиологическим регуляторам.

Тучные клетки не только неоднородны по своему составу, но они и продуцируют достаточно широкий спектр физиологически активных факторов. В связи с этим специально исследовали влияние гистамина, гепарина, хондроитинсульфатов А и В, глюкуроновой кислоты, синтез которых в тучных клетках общепризнан. При этом оценивали их влияние не только на кроветворные клетки, что уста-

новлено многими авторами, но в культуре фибробластов на стромальные механоциты.

Гистамин вызывает отчетливо выраженную анемизацию животных, в ответ на которую активируется гемопоэз, о чем свидетельствует гиперплазия костного мозга. Однако препарат обладает отчетливо выраженным ингибирующим эффектом на культуру фибробластов, что проявляется в замедлении скорости образования монослоя, уменьшении способности клеток прилипать к стеклу, уменьшении числа синтезирующих ДНК и митотически делящихся клеток. Этот эффект зависит от дозы препарата. Интересно отметить, что 30-минутная предварительная инкубация клеток с препаратом и последующей их отмывкой перед посевом вызывает точно такие же изменения, что и его непосредственное добавление в культуру. Следовательно, для достижения эффекта достаточно кратковременного (не более 30 мин) контакта клеток с гистамином.

Гепарин также вызывает анемизацию животных, в основе которой лежит гемолиз эритроцитов, активирует лейкопоэз. На культуру фибробластов он оказывает аналогичное гистамину действие.

Что касается глюкуроновой кислоты, ходроитинсульфатов А и В, то они оказывают на гемопоэз сходное действие — вызывают анемию и активируют гранулоцитопоэз. При исследовании влияния данных разновидностей кислых ГАГ исходили из предположения, что в физиологических условиях их содержание в кроветворной ткани является оптимальным для обеспечения равновесия между пролиферацией клеток и убылью их из костного мозга, в том числе и стромальных механоцитов, а изменение их концентрации должно это равновесие нарушать. Концентрацию ГАГ в культуре фибробластов изменяли путем добавления в нее различных доз глюкуроновой кислоты, хондроитинсульфатов А, В или ферментов, их разрушающих (хондроитин-4-сульфатазы, хондроитин-6-сульфатазы, глюкуронидазы). Все препараты производства фирмы Sigma. Полученные результаты подтвердили, что в физиологических условиях содержание этих веществ в надмембранном слое клеток и экстрацеллюлярном матриксе оптимально для образования монослоя, для способности клеток прилипать к стеклу, а для глюкуроновой кислоты и для митотической активности фибро-бластов, в то время как для хондроитинсульфатов А и В пик синте-

тической и митотической активности смещен в сторону более высоких их концентраций. Значительное отклонение содержания кислых ГАГ в культуре как в сторону повышения, так и в сторону понижения оказывает ингибирующий эффект.

Существенное влияние на гемопоэз оказывает и продуцируемый фибробластами коллаген. Изменение его концентрации в культуре фибробластов оказывает аналогичный ГАГ эффект, а повышение содержания в строме селезенки снижает способность последней воспринимать КОЕ.

Таким образом, регуляция кроветворения в экстремальных условиях представляет комплекс сложных взаимосвязанных реакций, в котором наряду с кроветворными клетками важную регуляторную роль играют сосуды, жировые клетки, тучные клетки, стромальные механоциты и др. Взаимоотношение между этими элементами представляет перспективное направление в экспериментальной и клинической гематологии.

Литература

1. *Мещанинов В.Н.* Исследования перекисного окисления липидов кроветворной ткани в условиях изменения гемопоэза при экстремальных воздействиях: Автореф. дис... канд. мед. наук. Челябинск: Челяб. гос. мед. ин-т, 1983. — 12 с.

2. *Юшков Б.Г.* Механизмы повреждения и компенсации системы гемопоэза в условиях воздействия на организм экстремальных факторов: Автореф. дис... докт. мед. наук. Томск: Томск. гос. мед. ин-т, 1984.— 31 с.

3. *Юшков Б.Г., Попов Г.К., Северин М.В., Ястребов А.П.* Гликопротеины и гемопоэз. Екатеринбург: Изд. УрГМИ, 1994. — 127 с.

4. *Ястребов А.П., Юшков Б.Г., Большаков В.Н.* Регуляция гемопоэза при воздействии на организм экстремальных факторов. Свердловск: УрО АН СССР, 1988. — 152 с.

5. *Allen T.D.* Haemopoietic microenvironments in vitro: ultrastructural aspects. — In: Microenvironments in haemopoietic and lymphoid differentiation/Ed. R. Porter a. J. Whelan. London, 1981. — P. 38-60.

6. *Brookoff D., Weiss L.* — Blood, 1982. — V. 60, N 6. — P. 1337-1344.

7. *Garnett H.M., Cronkite E.P., Harigaya K.* Regulation of colony-stimulating activity produced by murine marrow — derived cell line (H-1). — Proc. Natl. Acad. Sci USA, 1982. — V. 79, N 5. — P. 1545-1548.

8. *Hines D.L.* Lipid accumulation and production of colony-stimulating activity by the 266 AD cell line derivedfrom mouse bone marrow. — Blood, 1983. — V. 61. — N 2. — P. 397-402.