

МАКЕЕВ
Олег
Германович

*Заведующий лабораторией радиоизотопных
методов исследования ЦНИЛ УГМА,
доктор медицинских наук,
старший научный сотрудник*

РОЛЬ ГУМОРАЛЬНЫХ ФАКТОРОВ В РЕГУЛЯЦИИ КРОВЕТВОРЕНИЯ ПРИ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ НА ОРГАНИЗМ

Четверть века назад студентом-первокурсником я перешагнул порог кафедры с верой, надеждой и любовью.

Хотя нет... это пришло позже, когда навстречу вышел человек большой, с огромным лбом, теплой ладонью и неподражаемым оптимизмом в глазах. Это был ОН. После той встречи иного пути, кроме определенного ИМ, уже не было.

Окидывая взглядом прошедшие годы, все больше понимаешь, что в основе знаний, идей и умений лежит конкретная сила — сила мысли **РУКОВОДИТЕЛЯ**, заложившего в нас основу движения вперед с Верой, Надеждой и Любовью.

В механизмах компенсации экстремов глобальная роль отводится гуморальным факторам [11], к которым клетки поврежденного организма приобретают чрезвычайно высокую чувствительность [4].

По характеру взаимодействия с клетками гуморальные факторы подразделяются на метаболические, лишенные видовой и тканевой специфичности, и факторы роста, синтезируемые относительно узким спектром клеток и отличающиеся выраженной специфичностью своего действия на клетки-мишени. Приведенная последовательность, вероятно, отражает процесс эволюционного формирования клеточных систем восприятия гуморальных факторов. Критерием специализации регуляторных систем в процессе эволюции является появление на клетках-мишенях специализированных рецепторных структур, транслирующих микроуровень метаболитов в специфический клеточный ответ.

Субстратное регулирование присуще практически всем гуморальным регуляторам в высокой концентрации. Однако промежуточные продукты обмена нуклеиновых кислот, кислот цикла Кребса, энерго-субстраты, продукты липидного обмена известны исключительно как субстратные регуляторы. Повышение их концентрации в околоклеточной среде и клетках приводит к изменению соответствующего обмена, что находит проявление в усилении или торможении синтетической активности клеток, увеличении или снижении клеточной пролиферации [5, 6, 11].

Однако крайне важным представляется то, что общепризнанные метаболиты обменных циклов способны изменять параметры реакции клеток на регуляторы, к которым имеются специфические рецепторные структуры.

До настоящего времени сохраняется высокий интерес к эйкозаноидам, с одной стороны, обладающим всеми свойствами, присущими метаболитам, но с другой — отличающимся иными характеристиками взаимодействия с клетками благодаря связыванию с мембранами рецепторными структурами, параметры которых для простагландинов (ПГ), лейкотриенов, тромбоксанов и простаглицлинов близки к таковым для факторов роста [14, 19, 25].

Такая двойственность эйкозаноидов проявляется их значимостью практически во всех основных процессах от растений и простейших до эукариотов на организменном, тканевом, клеточном и молекулярном уровнях организации биосистем.

В настоящее время распространение получил взгляд на метаболиты как на локальные регуляторы, в том числе индуцирующего кроветворного микроокружения, а их способность изменять образование других, в частности специфических, факторов роста и опосредовать действие последних на клетки-мишени не позволяет исключить их существенную роль в регуляции гемопоэза при воздействии на организм экстремальных факторов.

В свою очередь, если принимать во внимание возрастание концентрации метаболитов в этих условиях не только в тканях, но и в крови и предположить способность метаболитов к связыванию с белками и клетками крови, то это позволит кардинально пересмотреть отношение к ним исключительно с позиции локальной регуляции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования выполнены на мышах-самцах СВА и кроликах-самцах породы Шиншилла.

Работа выполнена как на интактных животных, так и при моделировании прерывистой гипоксической гипоксии (42,7 кПа, 1 раз в сутки по 6 часов, шестикратно), постгеморрагической анемии (в объеме 1,5–2,0% от массы животного), асептического воспаления (введение стерильного геля на основе Sephadex G-200-LKB), однократного облучения в дозе 4 Грея. Влияние метаболитов изучалось на модели перфузии изолированных селезенок мышей и кроликов, а также на кратковременной инкубационной культуре кроветворных клеток.

Высокую концентрацию метаболитов в организме животных моделировали внутрибрюшинным введением β -оксибутирата натрия — 50 мг/кг, сукцината натрия и инозина — 40 мг/кг, цАМФ, N-ацетилнейраминовой кислоты — 20 мг/кг, гиалуроновокислого калия — 120 мг/кг, ПГ A_2 , E_1 , E_2 и $F_{2\alpha}$ в дозе 3,5–5,0 мг/кг массы, что сопровождается 3–4-кратным повышением их концентрации в крови через 20 минут после введения. Торможение синтеза ПГ моделировали введением в организм животных индометацина в дозе 5 мг/кг, что приводит к трехкратному падению ПГ-образования.

Введение ПГ Е и F в перфузат селезенки кролика осуществляли двукратно: в начале и спустя три часа до конечной концентрации 10^{-6} М (с учетом распада ПГ в системе).

В работе использовались преимущественно стандартные методики исследования морфологического состава крови, костного мозга (с расчетом дополнительного показателя — соотношение числа всех клеток эритроидного или гранулоцитарного ростков к соответствующим клеткам, утратившим способность к делению), в том числе радиоавтографического, а также исследования состава КОЕ селезенки.

Число стволовых кроветворных клеток оценивали по методике Till, McCulloch [28], а количество ДНК-синтезирующих КОЕс — по убыли, методом «тимидинового самоубийства».

ПГ-синтезную активность костного мозга оценивали по выходу конечных продуктов окисления ^{14}C -арахидоновой кислоты [15].

Распределение ПГ в организме экспериментальных животных изучали посредством введения меченых экзогенных аналогов с последующей экстракцией ПГ из органов и радиометрией [22].

Параметры ПГ-транспортной системы, включающей белковый и эритроцитарный компоненты, определяли по оригинальной методике [8].

Для оценки концентрации некоторых веществ использовали стандартные методики и наборы реактивов для радиоиммунологического исследования: ПГ А и ПГ Е — фирмы Baxter Travenol Diagnostics, Inc. (USA), ПГ F — Institute of Isotopes (Hungary).

Параметры ПГ и ИЛ-2-чувствительных рецепторов оценивали по методам, описанным в литературе [3, 7].

Показатели синтетической активности клеток исследовали по включению меченых предшественников синтеза макромолекул: 2^{14}C -тимидина, U^{14}C -аденина, 2^{14}C -глицина.

Для радиометрии образцов использовали жидкостный сцинтилляционный счетчик Бета-2 (эффективность счета по ^3H — 58% и ^{14}C — 98%).

Радиоактивность выражали в беккерелях (Бк).

Полученные результаты обрабатывались на ПЭВМ ATARI-520ST (USA) с использованием пакета программ VIP-Professional и других.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Шестикратное введение в организм интактных животных (1 раз в сутки) исследуемых метаболитов сопровождалось существенным увеличением созревания КОЕс в костном мозге мышей (табл. 1). При введении сукцината на 41%, β -оксибутирата — 31,5%, инозина — 113%, цАМФ — 31,5%, N-ацетилнейраминовой кислоты — 26%, а гиалуроновокислого калия — 46%. Этот эффект отмечался и в пересчете на все клетки бедра животного.

Однонаправленность влияния столь разнообразных метаболитов позволяет предполагать общее звено, определяющее в целом или в части очевидное сходство.

В качестве такого звена может выступать синтез эйкозаноидов. Для проверки этого положения наряду с исследуемым метаболитом животному вводили ингибитор синтеза ПГ — индометацин (табл. 1).

Торможение синтеза ПГ не только снимает метаболит-обусловленное возрастание числа КОЕс, но и приводит к снижению концентрационного показателя КОЕс при введении сукцината, инозина и цАМФ на 57, 67, 40%, а нейтральных и кислых гликозаминогликанов — на 59 и 62% соответственно.

Таблица 1

**Влияние метаболитов на число КОЕс
в кровеносной ткани мышц**

Группы животных	Содержание КОЕс в костном мозге		Содержание КОЕс в костном мозге на фоне введения индометацина	
	на 10^5 клеток	на весь костный мозг бедра	на 10^5 клеток	на весь костный мозг бедра
Контроль	$14,6 \pm 0,5$	$1108,5 \pm 23,1$	$16,2 \pm 2,8$	$980,1 \pm 107,4$
Введение препарата:				
Сукцинат натрия	$20,6 \pm 1,0^*$	$1630,0 \pm 56,0^*$	$10,3 \pm 0,35^*$	$1257,0 \pm 80,7^*$
β -оксипутирата натрия	$16,2 \pm 0,35^*$	$1393,2 \pm 106,0^*$	$13,8 \pm 0,81$	$1333,0 \pm 45,8^*$
Инозина	$31,2 \pm 3,0^*$	$2783,0 \pm 51,0^*$	$9,7 \pm 0,92^*$	$1712,1 \pm 211,1^*$
цАМФ	$19,2 \pm 1,9$	$1910,0 \pm 98,0^*$	$11,6 \pm 0,67^*$	$1327,0 \pm 67,0^*$
N-ацетилглютаминовой кислоты	$18,4 \pm 1,2^*$	$1401,0 \pm 119,0^*$	$10,2 \pm 0,77^*$	$1667,0 \pm 188,0^*$
Гиалуроновой кислоты	$21,3 \pm 0,9^*$	$1514,0 \pm 40,0^*$	$10,0 \pm 0,25^*$	$1516,8 \pm 360,1^*$

* отличие от соответствующей группы контроля достоверно с $P \leq 0,05$.

Однако при расчете числа КОЕс на весь костный мозг метаболиты сохраняют способность увеличивать этот показатель исключительно за счет роста числа клеток в бедре.

Полученные данные указывают на то, что ПГ могут являться тем звеном, через которое метаболиты реализуют свое действие на стволовые кроветворные клетки, а влияние самих ПГ — рассматриваться в более широком контексте, особенно при воздействии на организм экстремальных факторов, когда значение гуморальной регуляции резко возрастает.

В настоящее время не вызывает сомнения факт увеличения концентрации эйкозаноидов в тканях при различной патологии за счет

*Роль гуморальных факторов в регуляции кроветворения
при экстремальных воздействиях на организм*

активации каскада окисления фосфолипидов клеточных мембран при прямом или опосредованном метаболитами повреждении [16, 27].

На основании проведенных экспериментов было установлено, что при гипоксической гипоксии, постгеморрагической анемии, асептическом воспалении и облучении концентрация ПГ изменяется сходным образом. При этом важным источником повышения ПГ A_2 , E_1 , E_2 и F_{2a} в костном мозге при экстремальных воздействиях является внескостномозговой, который наряду с внутрикостномозговым синтезом формирует стабильно более высокий уровень ПГ в кроветворной ткани.

Исследования возможных механизмов повышения концентрации ПГ в костном мозге позволили выявить ПГ-транспортную систему крови, включающую белки и эритроциты, связывание с которыми способно предотвратить деградацию ПГ под действием ферментативных систем. Транспортная система характеризуется предельностью мест связывания и обратной зависимостью между уровнем ПГ и прочностью связывания с носителем. Наличие этих свойств обуславливает более высокие темпы обмена ПГ между комплексами, образуемыми ПГ и носителями, и тканями, что, по нашим данным, является маркером развития стресс-реакции [8].

Анализ литературы дает ограниченную отправную базу сведений о том, что ПГ активируют или ингибируют как эритропоэз [13, 20], так и лейкопоэз [17, 30]. Эти разночтения могут быть обусловлены свойством ПГ как регулировать образование, так и опосредовать действие известных гемопоэтинов [12, 21].

Шестикратное введение ПГ (на примере постгеморрагической анемии) вызывает увеличение как числа ДНК-синтезирующих предшественников эритроидных, грануломоноцитарных и смешанных микроколоний, так и макроколоний на селезенке в S-фазе, но не абсолютных количественных значений предшественников КОЕс (кроме предшественников эритроидных колоний при введении ПГ A_2 и E_2). Одновременно возрастает синтетическая активность селезенки с образовавшимися колониями (табл. 2).

В отношении дифференцируемых клеток костного мозга введение ПГ A_2 , E_1 , E_2 к 3 суткам на фоне гипоксии и анемии (рис. 1) вызывает снижение клеточности бедра в основном за счет клеток эритроидного и, отчасти, грануломоноцитарного и лимфоидного ростков кроветворения с увеличением доли незрелых гемопоэтических

клеток (рис. 1). Клетки характеризуются высокой степенью связывания ПГ и сниженным неэффективным гемопоэзом (рис. 2). Перечисленные изменения в костном мозге по времени совпадают с массивным ретикулоцитозом, лейкоцитозом крови, снижением цветного показателя (рис. 3), что указывает на предшествующий исследованию выброс клеток из костного мозга в кровь.

Таким образом, выявленное увеличение в крови и кроветворной ткани концентрации ПГ, превышающей некий пороговый уровень, играет важную регуляторную роль в процессах компенсации повреждения в системе крови. При этом ПГ оказываются эффективны в отношении стволовых кроветворных клеток (увеличение доли клеток-предшественников в S-фазе), дифференцированных клеток костного мозга (возрастание относительно незрелых клеточных форм), периферической крови (увеличение массы циркулирующих клеток); названное приводит к ускорению компенсации гипоксической гипоксии, постгеморрагической анемии и воспаления, но не лучевого воздействия, ввиду ПГ-индуцируемого нарастания числа клеток-мишеней. Ускорение компенсации повреждения при введении ПГ в организм животных обусловлено вазоактивной реакцией, проявляющейся выбросом из костного мозга в кровь эритроцитов, лейкоцитов (72 часа) с последующим восстановлением клеточной популяции кроветворной ткани за счет увеличения плацдарма эффективной составляющей всех ростков и снижением неэффективного гемопоэза (144 часа).

С целью детализации вопросов, связанных с вазоактивным действием ПГ, эксперименты были проведены на модели перфузии изолированных селезенки летально облученных мышей (для исследования влияния ПГ на миграцию и распределение КОЕс) и кроликов (для оценки влияния ПГ на миграцию лимфоцитов и их параметры).

Оказалось, что в значение фактора распределения КОЕс существенный вклад вносит миграция стволовых клеток, учет которой устанавливает фактор f на уровне 0,28 (0,17 по Siminovich) [26]. При этом ПГ E_1 и E_2 увеличивают миграцию КОЕ (рис. 4), а ПГ E_{2a} тормозит этот процесс в первые сутки после трансплантации. Тем самым подтверждается способность ПГ E уже в первые сутки за счет миграции снижать КОЕс в костном мозге бедра, удаляя часть этих клеток, что позволяет объяснить феномен увеличения под влиянием ПГ исключительно ДНК-синтезирующих КОЕ. В свою

Роль гуморальных факторов в регуляции кроветворения
при экстремальных воздействиях на организм

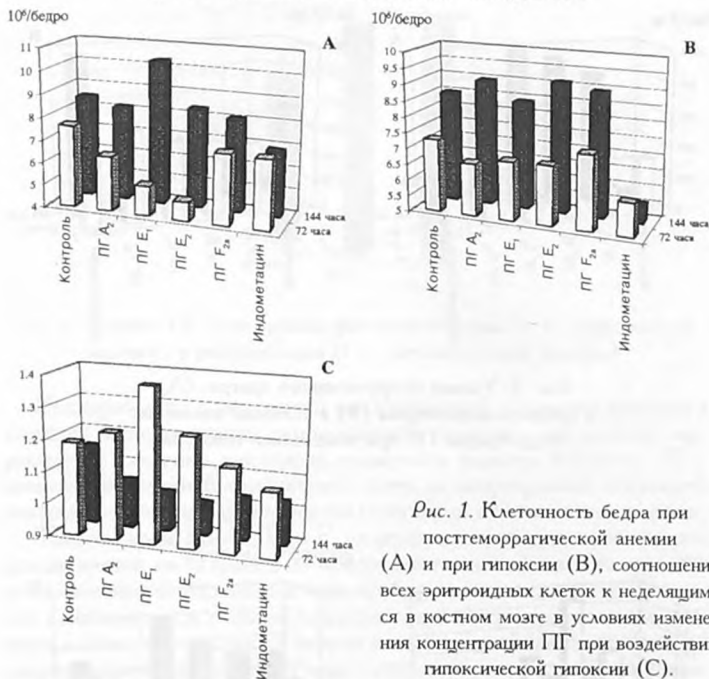


Рис. 1. Клеточность бедра при постгеморрагической анемии (А) и при гипоксии (В), соотношение всех эритроидных клеток к неделящимся в костном мозге в условиях изменения концентрации ПГ при воздействии гипоксической гипоксии (С).

очередь, полученные результаты не позволяют исключить способность ПГ F_{2α} к изменению миграции КОЕ в последующие сроки, что коррелирует с поздней вазоактивной реакцией, индуцируемой этим ПГ в экспериментах *in vivo*. Особенности метода, в частности введение в систему лишь предварительно проинкубированных с ПГ миелокариодитов [9], и полученные данные дают основание приписывать ПГ способность к трансформации элементов микроокружения и предполагать их участие в реализации «чувства собственного пула» стволовых кроветворных клеток, обуславливающего равномерное распределение КОЕ по всей массе гемопоэтической ткани.

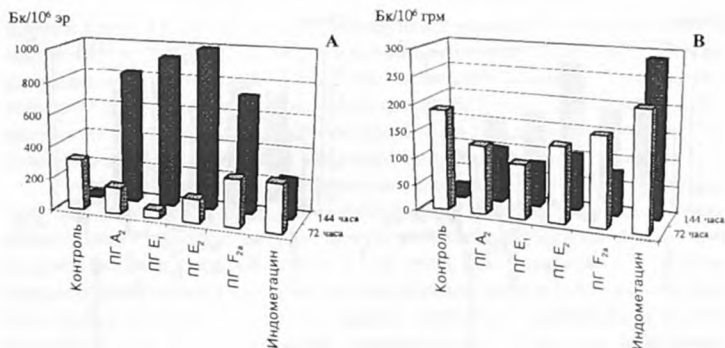


Рис. 2. Уровни неэффективного эритро- (А) и грануломоноцитопеэа (В) в условиях изменения концентрации ПГ при воздействии гипоксии

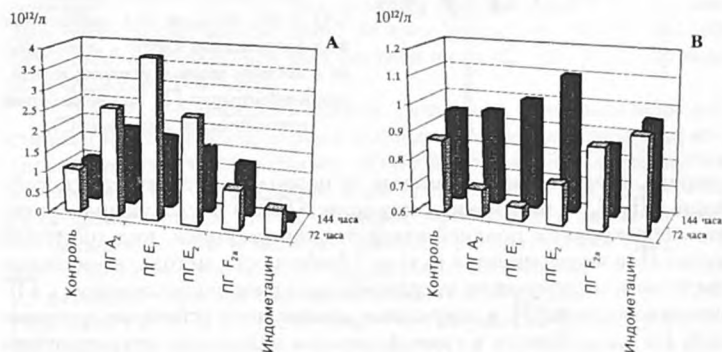


Рис. 3. Количество ретикулоцитов (А) и цветной показатель (В) в периферической крови в условиях изменения концентрации ПГ при воздействии гипоксии

*Роль гуморальных факторов в регуляции кроветворения
при экстремальных воздействиях на организм*

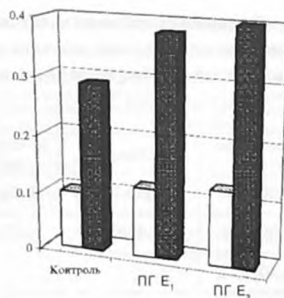


Рис. 4. Влияние ПГ Е на уровень факторов миграции (т — тонированные колонки) и распределения (f — нетонированные колонки)

Эксперименты с перфузией изолированной селезенки кролика в условиях моделирования гипоксической гипоксии снижением парциального давления кислорода позволили связать действие ПГ с важнейшей реакцией лимфоидной ткани на повреждение: миграцией лимфоцитов, отличающихся своими свойствами от оставшихся в органе.

Так, введение ПГ E₁, E₂ и F_{2α} в перфузат приводит к увеличению выхода клеток на 123, 24 и 21% соответственно. Анализ направленности изменений параметров мигрирующих спленоцитов по сравнению с оставшимися в органе указывает на селективный выход в перфузат клеток, отличающихся низкой концентрацией Ca₂⁺, но высокой концентрацией циклических нуклеотидов и гликозаминогликанов. Последнее, в плане рассмотрения предположения об определенной селективности эффекта различных ПГ, наиболее существенно. Так, под влиянием ПГ группы E в мигрирующих клетках возрастает концентрация нейтральных, а ПГ F_{2α} — кислых гликозаминогликанов, обладающих способностью активировать эритро- и лейкопоз соответственно [11] при их миграции в кроветворную ткань при гипоксии, что было продемонстрировано ранее [10].

На роль системы обмена ПГ между внутриклеточной и околоклеточной средой претендуют как специфические мембранные высокоаффинные и низкоаффинные рецепторные образования, так и неспецифические, обеспечивающие простую диффузию ПГ по градиенту концентрации.

**Влияние шестикратного введения ПГ A₂, E₁,
при постгемморрагической анемии на характеристики
реципиентов костномозговых клеток (количество**

Группы доноров миелохариоцитов и число животных в группах (n)		Макроскопические колонии на		Микроскопические колонии на	
		10 ⁶ введенных клеток	бедро	10 ⁶ введенных клеток	бедро
Интактные животные (n=10)	A	11,30±2,40	806,80±153,50	38,30±5,50	2734,60±400,30
	Б	10,00±2,40	714,00±92,20	36,00±5,20	2570,40±380,70
	В	11,40±2,40			
Постгемморрагическая анемия (n=5)	A	14,60±2,10	1242,50±204,40*	46,90±6,00	3991,20±689,90*
	Б	8,50±1,10	723,40±94,80	36,30±5,30	3089,10±463,30
	В	41,60±5,20*			
Введение ПГ A ₂ (n=5)	A	14,20±2,10	1158,70±174,70*	50,50±7,70	4120,80±618,10*
	Б	4,80±0,70* **	391,70±59,10* **	33,80±5,10	2758,10±413,70
	В	66,10±9,90* **			
Введение ПГ E ₁ (n=5)	A	16,30±2,90	1682,20±329,70*	53,20±9,40	5490,20±1093,00*
	Б	7,80±1,60	804,90±103,50	37,10±7,20	3828,70±540,80*
	В	52,40±5,20* **			
Введение ПГ E ₂ (n=5)	A	16,00±2,10*	1342,40±290,50*	59,30±10,20*	4975,30±1508,40*
	Б	4,50±1,00* **	377,60±102,00* **	31,40±4,80	2634,50±350,70
	В	71,90±10,10* **			
Введение ПГ F ₁ (n=5)	A	15,10±2,40	1220,10±299,30	59,80±9,40*	4831,80±554,00*
	Б	6,80±0,90	549,40±97,30	40,90±6,10	3304,70±379,40
	В	55,30±7,00* **			
Введение индометацина (n=5)	A	11,90±2,50	821,10±143,00**	31,10±4,60**	2145,90±320,10**
	Б	8,80±1,10	607,20±78,90	28,50±4,10	1966,50±294,90**
	В	26,10±3,70			

**Е₂, А_{2a} и индометацина донорам миелокариоцитов
макроскопических и микроскопических колоний селезенки
исследованных селезенек реципиентов в каждой группе 8-10)** Таблица 2

Количество гистологических типов микроколоний на 10 ⁵ введенных клеток			Включение ³ H-тимидина в селезенку, Бк/сел./кол.
эритроидные	грануло- моноцитарные	смешанные	
19,40±3,30	10,90±2,10	8,00±1,60	0,131±0,022
18,00±3,60	10,10±2,00	7,90±1,20	0,080±0,010
7,20±2,20	7,30±1,60	1,30±0,20	36,600±2,100
25,40±2,50*	13,00±2,60	8,50±1,70	0,112±0,019
18,30±3,10	9,10±1,80	8,90±1,20	0,066±0,015
28,00±2,20*	30,00±2,50*	0,00±0,00*	41,300±4,200
31,00±2,40* **	11,40±2,70	8,10±1,20	0,194±0,024 * **
17,70±2,70	8,10±1,30	8,00±1,20	0,053±0,014 *
42,90±6,30* **	28,70±4,30*	1,20±0,20**	72,600±10,900* **
27,00±4,00*	15,20±2,80	11,00±2,00	0,218±0,025 * **
18,00±2,90	9,30±1,30	9,80±1,20	0,086±0,011
33,30±5,40*	38,80±5,40* **	10,90±2,00***	60,800±10,200* **
33,00±5,00* **	16,10±4,40*	10,20±2,10	0,112±0,038
15,70±2,00	8,00±0,90	7,70±1,30	0,044±0,008 *
52,40±10,90* **	50,30±6,00* **	24,50±1,30***	61,000±7,900* **
27,00±3,00	20,10±3,10* **	12,70±2,60*	0,194±0,040* **
22,60±2,90	8,80±2,00	9,50±1,40	0,097±0,011 **
16,30±2,80* **	56,20±10,80* **	25,20±4,70**	49,900±4,200* **
17,00±3,40**	9,00±1,80	5,10±1,10**	0,080±0,010* **
15,20±3,00	6,90±1,30	6,40±1,20	0,069±0,008
10,60±2,20**	23,30±4,60*	0,00±0,00*	14,200±2,700* **

А — показате-
ли без инку-
бации с ³H-ти-
мидином;

Б — после
предваритель-
ной инкубации
миелокариоти-
тов доноров с
высокомечен-
ным ³H-тими-
дином;

В — доля по-
казателя А в %,
приходящаяся
на ДНК-синтези-
рующие клетки.

* отличие от
группы интакт-
ных животных
достоверно с
P≤0,05;

** достовер-
ное отличие от
группы интакт-
ных животных,
находящихся
после кровопо-
тери.

В динамике развития гипоксической гипоксии, постгеморрагической анемии, асептического воспаления и постлучевой реакции изменения показателей связывания ПГ A_2 , E_1 , E_2 и F_{2a} с миелокариоцитами мышей подчиняются определенной закономерности. Так, спустя 6 часов после воздействия всех экстремов отмечается преимущественное возрастание числа рецепторов обоих типов, а также уровня неспецифического связывания. Вместе с тем сродство рецепторов к лиганду изменяется разнонаправленно — возрастает для высокоаффинных и снижается для низкоаффинных. 72-часовой рубеж компенсаторной реакции отличает выраженный полиморфизм, заключающийся в тенденции к сглаживанию увеличенных или сниженных показателей связывания.

Через 6 суток большинство показателей связывания ПГ либо соответствует контролю (интактные миелокариоциты), либо изменяется на обратные по сравнению с первыми часами действия экстремального фактора.

Принимая во внимание выявленные параметры ПГ-низкочувствительных рецепторов, клеточное происхождение ПГ и необходимость существования эффективной системы удаления ПГ из клетки, следует рассматривать диффузию основным путем поступления ПГ в клетку. Это подтверждается сходством динамики показателей уровня неспецифического связывания и накопления ПГ в клетках практически во всех случаях. В то же время на уровень накопления ПГ в клетках в зависимости от достижения состояния компенсации экстремов оказывает влияние неспецифический компонент, представленный ПГ-каналами, обеспечивающими энергозависимый процесс выведения ПГ. Эквивалентом этих каналов могут явиться так называемые ПГ-низкочувствительные рецепторы.

Между тем баланс между диффузией ПГ и их выведением объясняет прямой путь активации синтеза макромолекул и не дает должной интерпретации не только способности ПГ к торможению синтетической активности, но и роли ПГ-высокоаффинных рецепторов, обеспечивающих, в связи с максимальным сродством к лиганду, раннее взаимодействие клеток с ПГ.

Разработка данного вопроса была выполнена на лимфоидных клетках, по отношению к которым ПГ рассматриваются как эндогенная супрессорная система [24].

Были исследованы реакции лимфоцитов периферической крови больных доброкачественной и прогрессирующей формами В-варианта хронического лимфолейкоза (В-ХЛЛ) и здоровых доноров в условиях введения в инкубационную среду индуктора бласттрансформации лимфоцитов-фитогемагглютина (ФГА). Изучалось влияние ПГ E_1 , E_2 и F_{2a} и индометацина на параметры синтетической активности (по включению в клетку и макромолекулу меченых тимидина, уридина, лейцина), уровень ПГ-высоко- и ПГ-низкоаффинных рецепторов, накопление в культуральной среде интерлейкина-2 (ИЛ-2) в качестве маркера функционирования Т-хелперов, высоко- и низкоаффинные участки связывания ИЛ-2, соответствующие β -цепи ИЛ-2-рецепторов (ИЛ-2 R β 75), присутствующей исключительно на Т-лимфоцитах, обладающих супрессорной и киллерной активностью, и α -цепи (ИЛ-2 R α 55), идентифицируемой на большинстве клеток [18].

В процессе исследования выявлено, что у интактных доноров и у больных доброкачественной формой В-ХЛЛ ПГ ингибируют ФГА-индуцированную синтетическую активность, а на лимфоцитах больных прогрессирующей формой этот эффект не отмечается. Одновременно лимфоциты последних, в отличие от доноров и больных доброкачественной формой, обладают большим сродством ПГ-высокоаффинных и крайне низким сродством ПГ-низкоаффинных рецепторов. Концентрация ИЛ-2 в культуральной среде лимфоцитов больных ниже, чем у доноров, и пропорциональна числу Т-хелперных клеток. В то же время ПГ групп E и F вызывают снижение уровня ИЛ-2 в среде лимфоцитов доноров и больных доброкачественной, но не прогрессирующей формой заболевания, при которой этот показатель практически не изменяется.

ПГ E_1 , E_2 и F_{2a} вызывают снижение числа ИЛ-2 R β 75 на Т-лимфоцитах доноров и больных с доброкачественной формой В-ХЛЛ, а также уменьшение сродства рецептора к лиганду у больных и увеличение у доноров. В то же время у больных с прогрессирующей формой ПГ не оказывают влияния на параметры ИЛ-2 R β 75 лимфоцитов.

Индометацин в условиях культуры производит качественно близкое ПГ действие на синтетическую активность, показатели ИЛ-2-высокоаффинных рецепторов и вызывает увеличение образования ИЛ-2 лимфоцитами доноров и больных с доброкачественным течением В-ХЛЛ.

Полученные результаты дают возможность трактовки роли рецепторов к ПГ и связи ПГ с рецепторами для специфических факторов роста.

Появление ПГ в околоклеточной среде в минимальной концентрации сопровождается их взаимодействием с ПГ-высокочувствительными рецепторами эффекторных клеток, что обусловлено высоким сродством ПГ-высокоаффинных рецепторов, выигрывающих конкуренцию за ПГ.

Внешние воздействия, увеличивающие концентрацию ПГ в среде, приводят к оккупации оставшихся свободных высокоаффинных рецепторов и экспрессии рецепторов на клетках к специфическим факторам роста.

Экспрессия рецепторов сопровождается закономерным увеличением мест связывания для факторов роста на клетках в сочетании со снижением аффинитета за счет проявления неспецифических участков связывания.

Наличие в среде факторов роста в эффективной концентрации и их взаимодействие с рецепторами обуславливает специфическую составляющую клеточных реакций, являющихся обязательным этапом для перехода поли- и унипотентных клеток в фазу синтеза.

Увеличение внеклеточного уровня ПГ до значений, превышающих внутриклеточный, приводит к диффузии ПГ в клетки по градиенту концентраций, промежуточным показателем которой является внутримембранное неспецифическое связывание.

Баланс между системами поступления ПГ в клетку по градиенту концентраций и активного выведения обуславливает ПГ-индуцируемый рост синтетической активности клеток уже в первые минуты после внесения ПГ в околоклеточную среду, относительно кратковременность эффекта на клетки после однократного контакта.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выполненные исследования позволяют представить механизм метаболической регуляции гемопоэза.

Разнообразные по химической природе метаболиты, накапливающиеся в тканях как при интенсификации их функционирова-

ния, так и при воздействии повреждающих факторов, проявляют эффект как самостоятельно в виде субстратной активации синтетической активности кроветворных клеток, так и опосредованно — через увеличение синтеза эйкозаноидов. Опосредованная составляющая действия метаболитов обуславливает их свойство активировать пул стволовых кроветворных клеток. Важным доказательством этого является индометацин-обусловленная отмена свойства метаболитов увеличивать число КОЕс в костном мозге через шесть суток от начала введения. Еще одним подтверждением является и нивелирование резкого снижения числа КОЕс в костном мозге спустя сутки после начала введения нейтральных и кислых гликозаминогликанов ($1,13 \pm 0,21$ и $6,45 \pm 0,69$ на 10^5 клеток миелокариоцитов соответственно, при $14,6 \pm 0,5$ у интактных животных [11]; на фоне введения индометацина — $12,94 \pm 1,36$ и $15,03 \pm 0,44$ соответственно).

Наиболее удовлетворительно ПГ-опосредованный компонент влияния метаболитов на стволовые кроветворные клетки может быть объяснен с позиции стохастической модели кроветворения [29]. При этом полипотентные стволовые кроветворные клетки, находясь в «нишах», не реагируют на действие внешних стимулов [23]. Процесс выхода из «ниши» может быть обусловлен действием вазоактивных факторов, к которым могут быть отнесены ПГ. В этих условиях снижения синтеза ПГ индометацином должно неизбежно приводить к торможению выхода стволовых клеток из «ниш», сохранению количества КОЕс в костном мозге в ранние сроки после введения метаболитов и снижению величины роста КОЕс в кроветворной ткани в поздние сроки на фоне продолжающейся индукции метаболитами свободных стволовых клеток.

В свою очередь, ПГ обладают самостоятельным вазоактивным влиянием на кроветворную ткань, о чем свидетельствует не только их способность самостоятельно вызывать увеличение числа макро- и микроколоний селезенки летально облученных мышей при их введении как интактным животным, так и на фоне воздействия экстремальных факторов (постгеморрагической анемии, гипоксии, воспаления и снижать при облучении ввиду роста количества клеток-мишеней), но и вызывать увеличение фактора миграции КОЕс в условиях суточной перфузии селезенки от летально облученного животного до 0,28.

Одной из важных характеристик вазоактивного влияния ПГ можно считать их способность к избирательному выбросу клеток, обладающих характеристиками, отличными от оставшихся в органе, что было показано при моделировании гипоксической гипоксии в условиях перфузии изолированной селезенки.

Ключевым моментом интерпретации существования общего звена действия метаболитов могут быть антиокислительные свойства всех исследованных препаратов, относящихся, в основном, к природным антиоксидантам [2]. Если принять во внимание то, что субстратом перекисного окисления липидов и синтеза эйкозаноидов являются преимущественно полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) фосфолипидов клеточных мембран, то торможение перекисного окисления липидов приводит к перераспределению окисления ПНЖК по пути активации образования эйкозаноидов [1], появлению их в эффективной концентрации в кроветворной ткани.

Способностью эйкозаноидов определять одну из составляющих действия метаболитов их эффект не ограничивается. Показано, что ПГ обладают способностью изменять параметры рецепторов к факторам роста, продемонстрированной на лимфоцитах периферической крови. При этом принципиальную роль играют как высоко-, так и низкоаффинные рецепторы к ПГ.

Экстремальные факторы, а также метаболиты, образующиеся в тканях в этих условиях и обладающие свойством изменять концентрацию ПГ, приобретают способность к конформации рецепторов для факторов роста. Это объясняет роль ПГ в гемопоез-регулирующем действии многочисленных биологически активных веществ, различающихся по происхождению, но сходных по влиянию на кроветворение.

Таким образом, ПГ обуславливают одну из составляющих действия метаболитов в кроветворении, реакционноспособность клеток, являющуюся необходимой для взаимодействия со специфическими факторами роста, а также стимуляцию и ингибцию синтетической активности клеток в зависимости от состояния кроветворной ткани в условиях действия на организм экстремальных факторов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ажгихин И.С. Простагландины. // М.: Медицина, 1978. — 451 с.
2. Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов. // М.: Медицина, 1989. — 368 с.
3. Келети Т. Основы ферментативной кинетики. // М.: Мир. — 1990. — 348 с.
4. Кеннон В., Розенблюм А. Повышение чувствительности денервированных структур. // М.: Иностран. литер. — 1951. — 262 с.
5. Конышев В.А. Стимуляторы и ингибиторы роста органов и тканей животных. // М.: Медицина, 1974.
6. Меерсон Ф.Э. Адаптация, стресс и профилактика. // М.: Наука, 1981.
7. Сергеев П.В., Шимановский Н.Л. Рецепторы. // М.: Медицина, 1987. — 400 с.
8. Способ определения стресс-реакции: А.С. № 1783440. // Оpubл. 23.12.92. — Бюлл. № 47.
9. Способ определения эффективности препарата для терапии лучевой болезни: А.С. № 1573566. // Оpubл. 23.06.90.
10. Ястребов А.П., Попугайло М.В. О роли лимфоидных клеток в регуляции эритропоэза. // Проблема патофизиологии гемопоэза и циркуляции крови. Красноярск, 1978. — С. 20-22.
11. Ястребов А.П., Юшков Б.Г., Большаков В.Н. Регуляция гемопоэза при воздействии на организм экстремальных факторов. // Свердловск: УрО АН СССР. — 1988. — 152 с.
12. Breviario F., Proserpio P., Bertocchi F., Lampugnani M.G., Mantovani A., Dejana E. Interleukin-1 stimulates prostacyclin production by cultured human endothelial cells by increasing arachidonic acid mobilization and conversion. // Arteriosclerosis. — 1990. — V. 10. — N. 1. — P. 129-134.
13. Gidali J., Fehér J. The effect of E type prostaglandins on the proliferation of haemopoietic stem cells in vivo. // Cell and Tissue Kinet. — 1977. — V. 10. — N. 4. — P. 365-373.
14. Jaschonek K., Muller C.P. Platelet and vessel associated prostacyclin and thromboxane A_2 -prostaglandin endoperoxide receptors. // Eur. J. Clin. Invest. — 1988. — V. 18. — N. 1. — P. 1-8.
15. Jeremy J.Y., Mikhailidis D.P., Dandona P. Prostanoid synthesis by the rat urinary bladder: evidence for stimulation through muscarine receptor-

linked calcium channels. // Nauny-Schmiedeberg's. Arch. Pharmacol. — 1986. — V. 334. — N. 4. — P. 463-467.

16. Karmazun M. Synthesis and relevance of cardiac eicosanoids with particular emphasis on ischemia and reperfusion. // Can. J. Physiol. and Pharmacol. — 1989. — V. 67. — N. 8. — P. 912-921.

17. Kurland I. G., Broxmeyer H.J., Pelus L.M., Bockman R.S., Moore M.A.S. Role for Monocyte-Macrophage derived Colony-stimulating factor and Prostaglandin E in the Positive and Negative Feed-back Control of Myeloid Stem Cell Proliferation. // Blood. — 1978. — V. 52. — N. 2. — P. 388-407.

18. Kuzel W.A. Interleukin-2 and the Interleukin-2 receptor: new insights into structure and function. // J. Investigate. Dermatol. — 1990. — V. 94. — Suppl 6. — P. 27-32.

19. Limas C.H., Limas C.J. Prostaglandin receptor in rat kidney. // Arch. Biochem and Biophys. — 1984. — N. 233. — P. 32-42.

20. Meyeux P., Billat C., Filex L.M., Lacquot R. Mode of action of erythropoietin and glucocorticoids on the hepatic erythroid precursor cell: role prostaglandins. // Cell. Differ. — 1986. — V. 18. — N. 1. — P. 17-26.

21. Modat G., Domand J., Bernad N., Junquero D., Mary A., Muller A., Bonne C. LPS-stimulated bovine aortic endothelial cells produce IL-1 and IL-6 like activities. // Agents and Action. — 1990. — V. 30. — N. 3-4. — P. 403-411.

22. Principles of Toxicokinetic Studies. // W.H.O., Geneva, 1986. — 167 p.

23. Schofield R. Stem cell concept. // Brit. J. Haematol. — 1982. — V. 52. — N. 1. — P. 142-151.

24. Schultz R.M. The role of macrophage-derived arachidonic acid oxygenation products in modulation of macrophage and lymphocytes function. // Reticuloendothel. Syst. Compr. Treatise. New York, London, 1985. — V. 8. — P. 129-153.

25. Shimizu N., Nakamura T. Prostaglandins as hormones. // Dig. Diseases and Sci. — 1985. — V. 30. — N. 11. Suppl. — P. 109-113.

26. Siminovitch L., McCulloch E.A., Till J.E. The distribution of colony-forming cells among spleen colonies. // J. Cell. Compar. Physiol. — 1963. — V. 63. — N. 3. — P. 327-336.

27. Smith W.L. The eicosanoids and their biochemical mechanism of action. // Biochem. J. — 1989. — V. 259. — N. 2. — P. 315-324.

28. Till J.E., Mc Culloch E.A. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. // Rad. Res. — 1961. — V. 14. — N. 2. — P. 213-222.

29. Till J.E., Mc Culloch E.A., Siminovitch L. A stochastic model of stem cell proliferation, based on the growth of spleen colony-forming cells. // Proc. Nat. Acad. Sci. — 1964. — N. 51. — P. 29-36.

30. Vore S., Eling T.E., Daniłowicz R.M., Tucker A.N., Luster M.J. Regulation of murine hematopoiesis by arachidonic acid metabolites. // Int. J. Immunopharmacol. — 1989. — V. 11. — N. 5. — P. 435-442.