

РЕАКЦИИ КОСТНОГО МОЗГА В ДИНАМИКЕ ОСТРОГО ВОСПАЛЕНИЯ

Н.А. Шутова

Харьковский национальный медицинский университет

Резюме. На модели карагиненового острого асептического перитонита прослежены реакции костного мозга в подробной динамике воспаления. Приведенные результаты свидетельствуют об усилении гемопоэза при остром воспалении с самого начала процесса и до конца исследуемого периода (10-х суток). Отмечен фазный характер клеточных реакций костного мозга, зависящий от соотношения активности гемопоэза и выхода клеток из костного мозга и очага воспаления.

Ключевые слова: воспаление, система крови, костный мозг, гемопоэз

Известно, что система крови является основной эффекторной системой воспаления. Реакции системы крови при воспалении включают эмиграцию лейкоцитов из крови в очаг, поступление лейкоцитов из костномозгового резервного пула в кровь, активацию кроветворения и, соответственно, транзиторную лейкопению и лейкоцитоз [1, 2]. Изменения в периферической крови служат в клинике основным критерием распространенности, течения, этапа воспаления, эффективности противовоспалительных средств и соответствующей терапии. Закономерности реакций костного мозга в динамике воспаления изучены менее, т.к. их исследование возможно преимущественно в эксперименте.

Цель исследования: изучить клеточные реакции костного мозга в подробной динамике при остром воспалении.

Материалы и методы. Работа выполнена в осенне-зимний период в утренние часы на 78 крысах-самцах линии Вистар массой 180-200 г. Все болезненные и стрессовые процедуры, а также выведение животных из эксперимента проводили под анестезией с использованием диэтилового эфира в соответствии с типовым положением по вопросам этики МЗ Украины № 66 от 13.02.2006 г.

Моделью воспаления служил острый асептический перитонит, который воспроизводили внутрибрюшинным введением 5 мг λ -карагинена (“Sigma”, США) в 1 мл изотонического раствора хлорида натрия [3]. Раствор карагинена перед введением стерилизовали автоклавированием при 121⁰С в течение 15 мин. Животных забивали через 3, 6, 12 ч, 1, 2, 3, 5, 7, 10 сут. Сроки воспаления отсчитывали от момента введения флоггена. У животного забирали костный мозг из бедра. Критерием воспаления служила клеточная динамика экссудата, костного мозга и периферической крови.

Клеточные реакции костного мозга изучали путем подсчета общего количества кариоцитов (ОКК) и клеточного состава костного мозга [4]. Для получения костного мозга бедренную кость очищали от мягких тканей и тщательно промывали костномозговой канал 1 мл 3 % уксусной кислоты, содержащей гепарин (50 ЕД/мл) и подкрашенной генцианвиолетом. Для определения ОКК использовали меланжерный метод. 1 мкл суспендированного костного мозга набирали в меланжер для белой крови и разводили 3 % уксусной кислотой. Подсчет общего количества миелокариоцитов на бедро осуществляли с помощью камеры Горяева. Клеточный состав костного мозга исследовали путем подсчета миелограмм в мазках костного мозга. Для этого костный мозг выдавливали из дистального конца бедренной кости на обезжиренное стекло и разводили изологической сывороткой. Мазки фиксировали в метаноле и окрашивали азуром II – эозином по методу Романовского-Гимзы. Подсчитывали количество бластных клеток, зрелых и незрелых нейтрофильных гранулоцитов, эозинофилов, моноцитов, лимфоцитов, эритроидных клеток и

мегакариоцитов. Процентное содержание кариоцитов перерасчитывали на абсолютное количество клеток на основании ОКК.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью методов вариационной статистики с использованием *t*-критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. ОКК в костном мозге к 3-му ч воспаления по сравнению с таковым у интактных крыс снижалось (таблица), что связано с вымыванием кариоцитов из постмитотического резервного пула в кровь. Оно объясняется рефлекторным и гуморальным ускорением кровотока в костном мозге вследствие расширения сосудов, в частности под влиянием медиаторов воспаления, таких как простагландины, окись азота и др., высвобождающихся из активированных лейкоцитов очага и периферической крови [1,2]. Однако уже к 6-му ч ОКК не только восстанавливалось, но и превышало исходное, что свидетельствует об активации гемопоэза, а к 12-му ч отмечался первый пик увеличения ОКК. В последующем ОКК в целом нарастало, но волнообразно, снижаясь, по сравнению с предыдущими сроками исследования, на 1-е, 3-и и 10-е сут и возрастая на 2-е сут (2-й пик увеличения ОКК) и 5-е – 7-е сут (3-й пик возрастания ОКК на 7-е сут). Таким образом, начиная с 6-го ч воспаления и до конца исследования (10-е сут) ОКК было увеличено по сравнению с контролем, но соотношение между гемопоэзом и выходом кариоцитов в кровь фазно изменялось. При этом по бластным клеткам видно, что активация гемопоэза наблюдается уже на 6-й ч воспаления. В дальнейшем количество бластных клеток также изменяется волнообразно, в некоторые сроки (особенно на 1-е сут) будучи даже несколько ниже исходного, а на 2-е и 7-е сут достигая пиков (максимального – на 7-е), но следует иметь в виду, что количество бластных клеток зависит от соотношения между их образованием и превращением в более зрелые клетки.

Содержание как палочкоядерных, так и сегментоядерных нейтрофилов практически повторяло динамику ОКК (см. таблицу). В

отличие от этого число эозинофилов вначале не снижалось, а несколько нарастало и удерживалось на примерно таком же уровне до 1-х сут, а после 1-х сут совпадало с динамикой ОКК и нейтрофилов.

Таблица

ОКК и клеточный состав костного мозга ($\times 10^6$ /бедро) в динамике карагиненового острого асептического перитонита у крыс ($M \pm m$), $n=6$

Срок ис-ия	ОКК	Бластные клетки	Нейтрофилы		Эозинофилы
			палочкоядерные	сегментоядерные	
К	40±1,45	0,4±0,07	8,3±0,66	11,6±0,47	3,1±0,35
3 час	36±0,95 **	0,54±0,03	1,7±0,32 ***	8,2±0,71 **	3,9±0,56
6 час	58±2,13 **	0,29±0,19	3,9±0,18 ***	14,9±0,77 **	4,4±0,42 *
12 час	69,17±6,79**	0,34±0,21	9,1±0,74	25,2±3,15 **	4,2±0,15 *
1 сут	54±2,62 **	0,2±0,07	6,1±1,9	15,2±1,47*	4,2±0,59
2 сут	96±3,17 ***	0,98±0,50	8,4±1,2 ***	29,1±3,15 ***	6,9±1,8 ***
3 сут	62±7,22 **	0,9±0,39	7,5±2,1	20,3±1,75 **	4,3±0,19 **
5 сут	81±1,1***	0,4±0,23	15,6±1,4***	24,7±4,08 ***	5,2±1,08 ***
7 сут	103±2,96**	2,03±0,3***	15,3±1,9 ***	32,1±2,4 ***	11,8±1,07**
10 сут	79,0±2,96***	0,79±0,3	14,5±1,7 ***	32,1±2,1 ***	10,56±1,12***

Продолжение таблицы

Срок	Моноциты	Лимфоциты	Эритроидные клетки
К	2,34±0,02	5,78±0,18	8,9±0,36
3 час	2,46±0,04 *	6,8±0,47	12,2±0,59 ***
6 час	5,84±0,02 **	9,8±0,45 ***	18,8±1,20 ***
12 час	6,63±0,02 ***	9,1±1,3 ***	14,6±1,95 ***
1 сут	3,83±0,12 ***	11,3±1,15 ***	13,2±0,71 ***
2 сут	2,1±0,25	13,1±0,14 ***	35,1±1,9 ***

3 сут	3,1±0,29 **	7,3±1,2	20,3±3,80 ***
5 сут	3,6±0,19 ***	6,8±2,2	24,6±1,86 ***
7 сут	1,83±0,07 ***	6,1±0,19	34,1±1,42 ***
10 сут	1,85±0,12 **	6,4±0,9	12,36±1,26 ***

* - $p < 0.05$, ** - $p < 0.01$, *** - $p < 0.001$ в сравнении с контролем

Число моноцитов после первого увеличения на 3-й и, особенно, на 6-й и 12-й ч возвращалось к исходному на 2-е сут и повторно, но меньше, возрастало на 3-и и 5-е сут с максимумом на 5-е, а на 7-е и 10-е сут было достоверно меньше контроля. Содержание лимфоцитов постепенно увеличивалось (достоверно – на 6-й ч – 2-е сут) с максимумом на 2-е сут, а с 3-х до 10-х сут практически не отличалось от контроля.

Количество эритроидных клеток было увеличено во все сроки исследования с пиками на 6-й ч и, особенно, на 2-е и 7-е сут. Оно, по-видимому, в наибольшей степени отражает общие закономерности изменений гемопоэза при воспалении, поскольку не связано с активным выходом этих клеток в очаг [5], и показывает, что активация гемопоэза, действительно, наблюдается уже на 3-й ч воспаления, достигает первого пика на 6-й ч, несколько стихает на 12-й ч – 1-е сут, еще больше возрастает в дальнейшем, изменяясь волнообразно, с примерно одинаковыми пиками на 2-е и 7-е сут, а на 10-е сут значительно ослабевает по сравнению с 7-ми сут, но остается достоверно выше исходной.

Сопоставление количества эритроидных клеток с ОКК и содержанием отдельных видов лейкоцитов в костном мозге показывает, что снижение ОКК на 3-й ч объясняется увеличением выхода нейтрофилов в кровь на фоне активации гемопоэза и, соответственно, увеличения числа бластных клеток, эозинофилов, моноцитов, лимфоцитов и эритроидных клеток. На 6-й ч активация гемопоэза нарастает, о чем свидетельствует дальнейшее увеличение числа эозинофилов, моноцитов, лимфоцитов, эритроидных клеток, восстановление и даже превышение исходного со

стороны ОКК и сегментоядерных нейтрофилов, заметное восстановление содержания палочкоядерных нейтрофилов, причем на фоне продолжающегося выхода лейкоцитов в кровь и очаг. На 12-й ч гемопоэз несколько стихает, судя по количеству эритроидных клеток, однако в это время наблюдаются первый пик ОКК, числа сегментоядерных нейтрофилов, максимум содержания моноцитов, восстановление количества палочкоядерных нейтрофилов, что, по-видимому, объясняется некоторым снижением выхода лейкоцитов в кровь и очаг в это время. На 1-е сут, на фоне примерно такого же количества эритроидных клеток, как и на 12-й ч, заметно снижается по сравнению с 12-м ч ОКК, содержание нейтрофилов и моноцитов, что свидетельствует о новом усилении выхода нейтрофилов, а также о значительном выходе моноцитов. На 2-е сут наблюдается новый, более мощный, виток активации гемопоэза – отмечается второй, более выраженный, пик ОКК и содержания всех форм клеток, за исключением моноцитов, которые именно в это время, как известно, усиленно выходят в кровь и очаг [6]. На 3-и сут гемопоэз вновь стихает (по сравнению со 2-ми сут, но остается больше такового в контроле) одновременно с некоторым усилением выхода лейкоцитов (нейтрофилов, эозинофилов, лимфоцитов) в очаг. На 5-е – 7-е сут наблюдается третий виток активации гемопоэза с пиком на 7-е сут. По количеству эритроидных клеток, он выражен почти так же, как и второй виток, однако ОКК, содержание нейтрофилов и эозинофилов являются максимальными, что отражает сниженный выход гранулоцитов. Вместе с тем не увеличивается и даже снижается количество моноцитов и лимфоцитов, по-видимому, в связи с их усиленным выходом. На 10-е сут интенсивность гемопоэза вновь снижается (по сравнению с 7-ми сут, оставаясь выше таковой в контроле), соответственно уменьшается и ОКК, но содержание отдельных форм лейкоцитов остается практически на том же уровне, что свидетельствует о снижении их выхода.

Вывод

При остром воспалении гемопоэз усилен с самого начала воспаления и до конца исследованного периода (10-е сут). Вместе с тем изменения в клеточности костного мозга носят фазный характер, в связи с изменением соотношения активности гемопоэза и выхода клеток в кровь и очаг. В течение исследованного периода карагиненового воспаления они являются трехфазными. Пики активации гемопоэза наблюдаются на 6-й ч (умеренный), 2-е и 7-е сут (более выраженные, между собой – практически одинаковые). Усиленные выходы лейкоцитов наблюдаются на 3-й ч (выход нейтрофилов из резервного пула на фоне активации гемопоэза), 1-е сут (выход нейтрофилов и моноцитов), 3-и сут (выход гранулоцитов и лимфоцитов). Значительное ОКК на 12-й ч и 10-е сут связано со снижением выхода клеток в кровь; во многом это касается и 5-х – 7-х сут, наряду с очередным витком активации гемопоэза в это время.

Литература:

1. Клименко Н.А. Общие принципы противовоспалительной терапии // Харьков. мед. журн. – 1997. – Т. 9, № 1. – С. 5-11.
2. Клименко Н.А. Медиаторы патологии // Эксперим. і клін. мед. – 2001. – № 1. – С. 6-10.
3. Клименко Н.А. Роль лейкоцитов в реакции тучных клеток очага воспаления // Бюл. эксерим. биол. и мед. – 1993. – Т. 116, № 9. – С. 249-253.
4. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.
5. Роль тучных клеток в регуляции эритропоэза при воспалении / Н.А. Клименко, А.М. Дыгай, Б.Ю. Гумилевский и др. // Бюл. экперим. биол. и мед. – 1997. – Т. 123, № 6. – С. 626-629.

6. Дыгай А.М., Клименко Н.А. Воспаление и гемопоэз. – Томск: Изд-во Том. ун-та, 1992. – 276с.

7. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Хлусов И.А. Итоги изучения механизмов регуляции кроветворения в норме и при патологии // Вестн. РАМН. – 1997. – № 5. – С. 56-59.