

УДК 616-002.192-036.12-092:612.419:615.275

А.Н. Шевченко, Л.И. Коваленко

Харьковский национальный медицинский университет

КОСТНО-МОЗГОВОЕ КРОВЕТВОРЕНИЕ ПРИ ВТОРИЧНО ХРОНИЧЕСКОМ ВОСПАЛЕНИИ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ НАТРИЯ НУКЛЕИНАТА

При вторично хроническом воспалении на фоне применения натрия нуклеината по сравнению с естественным течением процесса в ранние сроки происходит большее вымывание клеток из костного мозга в кровь, более выраженная активация гемопоэза, а в более поздние сроки, соответствующие периоду хронизации воспаления, – меньшая активация гемопоэза. Это согласуется с тем, что в ранние сроки воспаления в очаг эмигрирует большее количество лейкоцитов, а в более поздние сроки – меньшее. Это, в свою очередь, объясняется тем, что усиленная эмиграция лейкоцитов в ранние сроки воспаления обеспечивает более эффективную борьбу с флогогеном и, соответственно, меньшую хронизацию процесса. Применение натрия нуклеината приводит к снижению хронизации воспаления в результате большей активации гемопоэза и, следовательно, поступления лейкоцитов в кровь и очаг в ранние сроки воспаления.

Ключевые слова: *вторично хроническое воспаление, костный мозг, натрий нуклеинат, активация гемопоэза.*

Воспаление является центральной проблемой медицины. Особое значение имеет вторично хроническое воспаление – отрицательный исход острого воспаления. Существенный интерес в качестве перспективного средства для профилактики и лечения хронического воспаления представляет натрий нуклеинат – иммуностимулятор, обладающий широким спектром биологической активности. Натрий нуклеинат также стимулирует деятельность костного мозга, активирует лейкопоэз. Однако возможность его применения для профилактики хронического воспаления не изучалась.

В предыдущих исследованиях было показано, что применение натрия нуклеината при вторично хроническом воспалении значительно снижает выраженность лейкоцитарной реакции в очаге в период хронизации воспаления [1, 2]. Очень важно изучить влияние натрия нуклеината на центральное звено системы крови – костно-мозговое кроветворение при воспалении, что и стало целью настоящего исследования.

Материал и методы. Опыты проведены на 132 крысах-самцах линии Вистар массой

180–200 г. Вторично хроническое воспаление вызывали подкожным введением в область бедра 10 мг 1-карагинена (Sigma, США) в 1 мл изотонического раствора натрия хлорида [3]. Натрий нуклеинат вводили без последующего воспаления под кожу спины крыс в дозе 12 мг в 0,5 мл изотонического раствора натрия хлорида ежедневно в течение всего эксперимента; дозу препарата для крыс, определяемую по константе биологической активности, рассчитывали по формуле Рыболовлева [4, 5]. Контролем (естественное течение воспаления) служили интактные крысы. Животных забивали декапитацией под наркозом на 6-й час, 1, 2, 3, 5, 7, 10, 14, 21 и 28-е сутки воспаления. Для получения костного мозга выделяли бедренную кость крысы, очищали её от мягких тканей бедра и тщательно промывали костно-мозговой канал 1 мл 3%-ной уксусной кислоты. Общее количество кариоцитов подсчитывали с помощью камеры Горяева. Клеточный состав костного мозга определяли путём подсчёта миелограмм в мазках костного мозга. Для приготовления мазков костный мозг выдавливали из дистального конца бедренной кости на обез-

© А.Н. Шевченко, Л.И. Коваленко, 2013

жиренное предметное стекло и разводили изологической сывороткой. Мазки фиксировали в этаноле и окрашивали азуром II-эозином по методу Романовского–Гимзы. Подсчитывали относительное количество бластных клеток, зрелых и незрелых нейтрофильных гранулоцитов, эозинофилов, моноцитов, лимфоцитов и эритроидных клеток. Процентное содержание клеток перерасчитывали на их абсолютное количество на основании общего количества кариоцитов [6]. Полученные результаты статистически обработали с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. При естественном течении воспаления общее количество кариоцитов в костном мозге изменяется волнообразно и при этом достоверно повышено по сравнению с контролем на протяжении практически всего исследования, за исключением вторых суток, что свидетельствует о постоянно усиленном гемопоэзе (рисунок). Наблюдаются три волны значительного повышения общего количества кариоцитов: на 6-й час – 1-е сутки, 3-и – 7-е и 21-е – 28-е сутки. Первая волна связана с активацией гемопоэза, в первую очередь с нейтрофильной реакцией. При этом, несмотря на интенсивный выход лейкоцитов в очаг в это время и клеток из костного мозга в кровь, общее количество кариоцитов в костном мозге не снижается, а увеличивается, что свидетельствует о преобладании активации гемопоэза над выходом клеток в кровь. На 2-е сутки эти явления уравниваются и общее количество кариоцитов достоверно не отличается от такового в контроле. Это, по-видимому, объясняется как снижением выхода лейкоцитов в очаг, так и уменьшением интенсивности гемопоэза по сравнению с 6-м часом – 1-ми сутками в связи с переходом нейтрофильной реакции в моноцитарно-макрофагальную. Вторая волна повышения общего количества кариоцитов соответствует периоду выраженной моноцитарно-макрофагальной реакции и гиперплазии костного мозга. Третья волна повышения общего количества кариоцитов свидетельствует о дальнейшей активации гемопоэза в связи с хронизацией воспаления [7].

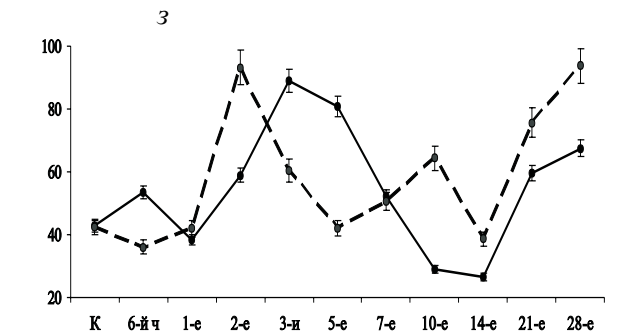
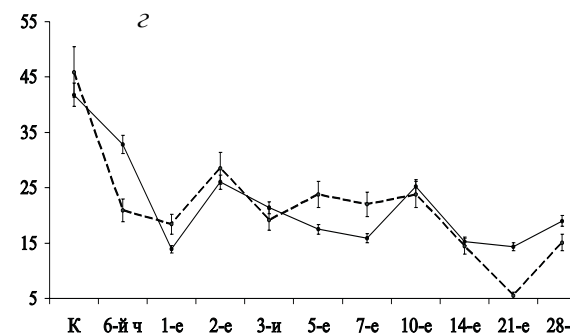
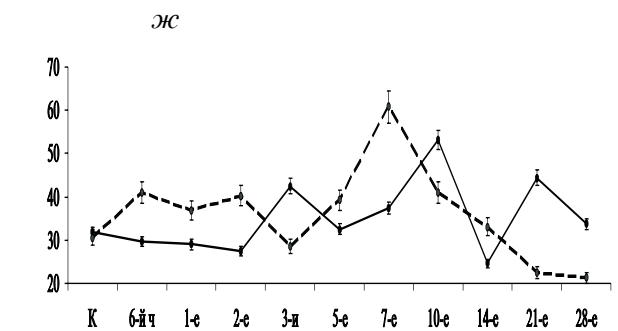
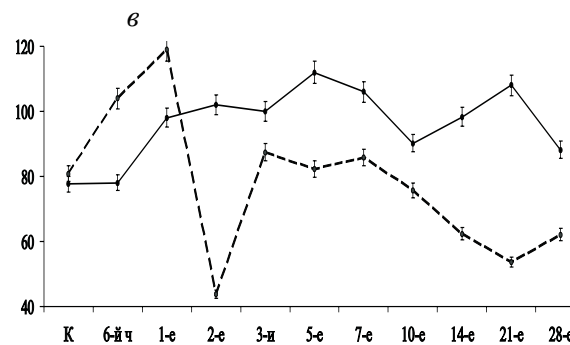
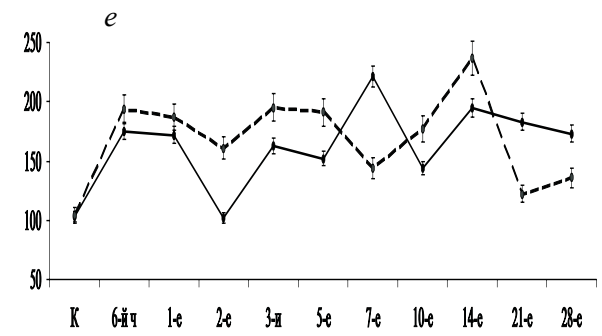
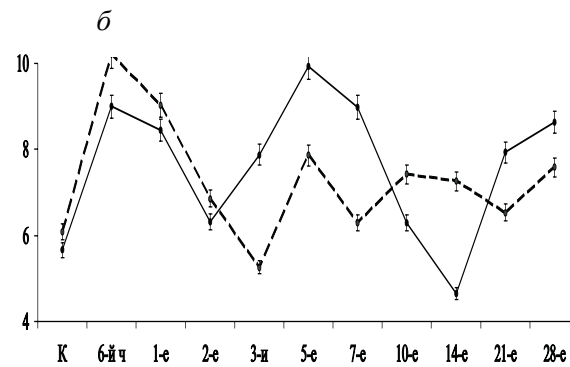
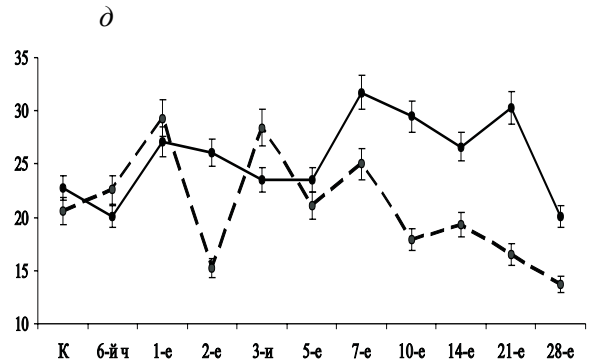
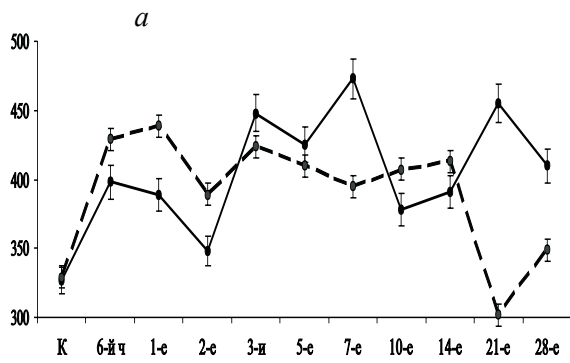
При воспалении, вызванном применением натрия нуклеината, по сравнению с естественным течением процесса общее количество кариоцитов имеет тенденцию к превышению на 6-й час – 2-е сутки и достоверно ниже на

7-е, 21-е и 28-е сутки (соответственно в 1,2 раза, $p < 0,05$; 1,5 раза, $p < 0,001$ и 1,17 раза, $p < 0,01$).

Таким образом, при воспалении, вызванном применением натрия нуклеината, общее количество кариоцитов в ранние сроки несколько выше, а в более поздние сроки – достоверно ниже, чем при естественном течении процесса. Кроме того, в то время как при естественном течении воспаления общее количество кариоцитов достоверно увеличивается по сравнению с исходным на протяжении всего исследования (до 28-х суток), при воспалении на фоне применения натрия нуклеината – только до 14-х суток.

Количество бластных клеток при естественном течении воспаления также изменяется волнообразно, как и общее количество кариоцитов. Оно достоверно увеличено на 6-й час – 1-е сутки, 3-и – 7-е и 21-е – 28-е сутки, а в остальные сроки исследования статистически не отличается от такового в контроле. Как видно, динамика количества бластных клеток сходна с динамикой общего количества кариоцитов. В то же время амплитуда волн выше для бластных клеток, чем для общего количества кариоцитов, что связано с тем, что количество бластных клеток отражает собственно состояние гемопоэза, а общее количество кариоцитов – одновременно и выход клеток из костного мозга в кровь.

При воспалении на фоне применения натрия нуклеината по сравнению с естественным течением воспаления количество бластных клеток имеет тенденцию к превышению на 6-й час – 1-е сутки, достоверно больше на 5-е и 14-е сутки и меньше на 3-и, 7-е и 21-е сутки. Такие отличия связаны с тем, что происходит сдвиг второго пика повышения числа бластных клеток с 7-х на 5-е сутки, что отражает более выраженную активацию гемопоэза, в частности гиперплазию костного мозга. В целом же количество бластных клеток в ранние сроки воспаления, вызванного введением препарата, выше, а в более поздние – ниже, чем при естественном течении воспаления. Кроме того, в то время как при естественном течении воспаления достоверные отличия количества бластных клеток от исходного наблюдаются до конца исследования (28-х суток), при воспалении на фоне применения натрия нуклеината – только по 5-е сутки.



Общее количество миелокариоцитов (а), содержание бластных клеток (б), зрелых (в) и незрелых (з) нейтрофилов, эозинофилов (д), лимфоцитов (е), моноцитов (ж), эритроидных клеток (з) в костном мозге в динамике карагиненового вторично хронического воспаления у крыс при естественном его течении (—) и на фоне применения натрия нуклеината (---)

Количество зрелых нейтрофилов при естественном течении воспаления повышено с 1-х по 7-е сутки с максимумом на 5-е, а также на 14-е – 21-е сутки и не отличается от контроля в остальные сроки. Отсутствие достоверного увеличения их содержания на 6-й час, несмотря на активацию гемопоэза, по-видимому, объясняется усиленным их выходом из костного мозга в кровь. Повторная активация нейтропоэза на 14-е – 21-е сутки, как и повышение общего количества кариоцитов и количества бластных клеток в это время, связана с хронизацией воспаления.

При воспалении на фоне применения натрия нуклеината по сравнению с естественным течением воспаления количество зрелых нейтрофилов выше на 6-й час – 1-е сутки и ниже в остальные сроки, достоверно на 2-е, 5-е и 10-е – 28-е сутки. Судя по разнице в общем количестве кариоцитов и количестве бластных клеток, превышение количества зрелых нейтрофилов на 6-й час – 1-е сутки можно объяснить более интенсивным гемопоэзом, отставание на 2-е и 5-е сутки – более интенсивным выходом клеток из костного мозга в кровь, отставание на 10-е – 28-е сутки – менее интенсивным гемопоэзом в период хронизации воспаления в связи с уменьшением хронизации.

Количество незрелых нейтрофилов при естественном течении воспаления в период до 5-х суток включительно достоверно не отличается от исходного; наблюдается лишь тенденция к его увеличению на 1-е – 2-е сутки, с максимумом на 1-е. Достоверное повышение его содержания отмечается на 7-е – 10-е и 21-е сутки. Отсутствие достоверного увеличения количества незрелых нейтрофилов по 5-е сутки, по-видимому, связано с усиленным их выходом из костного мозга в кровь; повышение содержания на 7-е – 10-е сутки (с максимумом на 10-е) – с гиперплазией костного мозга; повторное возрастание на 21-е сутки – с хронизацией воспаления.

При воспалении на фоне применения натрия нуклеината по сравнению с естественным его течением количество незрелых нейтрофилов имеет тенденцию к превышению на 6-й час и 3-и сутки и достоверно ниже на 2-е и 7-е – 28-е сутки. Как и применительно к зрелым нейтрофилам, отставание в количестве клеток на 2-е сутки свидетельствует о более интенсив-

ном их выходе из костного мозга в кровь, а отставание с 7-х по 28-е сутки – о менее интенсивном гемопоэзе в период хронизации воспаления в связи с уменьшением хронизации. Происходит также сдвиг второго пика повышения количества незрелых нейтрофилов с 7-х на 3-и сутки, что, как и в отношении бластных клеток, отражает более интенсивную активацию гемопоэза и более раннее развитие гиперплазии костного мозга.

Содержание эозинофилов в костном мозге при естественном течении воспаления также изменяется волнообразно, однако во все сроки исследования оно достоверно ниже, чем в контроле, с минимумами на 1-е, 7-е и 14-е сутки и некоторым восстановлением на 2-е, 10-е и 28-е сутки. Результаты показывают, что в течение всей исследованной динамики воспаления выход эозинофилов из костного мозга преобладает над их продукцией, особенно на 1-е, 3-и – 7-е и 14-е – 21-е сутки. Усиленный выход эозинофилов в кровь на 1-е и 3-и – 7-е сутки воспаления отражает их эмиграцию в очаг в острый период процесса, а на 14-е – 21-е сутки – хронизацию воспаления.

При воспалении на фоне применения натрия нуклеината по сравнению с естественным течением процесса содержание эозинофилов достоверно меньше на 6-й час и 21-е – 28-е сутки и больше на 7-е сутки. Это свидетельствует о большем выходе эозинофилов в кровь на 6-й час, большей активации гемопоэза на 7-е сутки и менее интенсивном гемопоэзе, чем при естественном течении воспаления, на 21-е – 28-е сутки, т. е. в период хронизации воспаления в связи с меньшей его хронизацией.

Количество моноцитов в костном мозге при естественном течении воспаления достоверно увеличивается на 3-и – 10-е и 21-е сутки, а в остальные сроки статистически не отличается от контроля. Повышение содержания моноцитов на 3-и сутки, по-видимому, отражает усиленную их продукцию в связи с тем, что это период моноцитарно-макрофагальной реакции при воспалении. Возвращение количества моноцитов к исходному на 5-е сутки свидетельствует об уравнивании их эмиграции и продукции. Повторные увеличения выработки моноцитов на 10-е и 21-е сутки и восстановления их количества до исходного на 14-е и 28-е сутки отражают повторную моноци-

тарно-макрофагальную инфильтрацию, характерную для хронического воспаления.

При воспалении на фоне применения натрия нуклеината по сравнению с естественным его течением содержание моноцитов достоверно больше на 6-й час, 2-е, 5-е – 7-е и 14-е сутки и меньше на 3-и, 10-е и 21-е – 28-е сутки. Такие отличия объясняются тем, что происходит сдвиг первого пика повышения количества моноцитов с 3-х суток на 6-й час – 2-е сутки, второго пика – с 10-х на 7-е сутки, а третий пик, наблюдающийся при естественном воспалении на 21-е сутки, при воспалении на фоне применения натрия нуклеината не выражен или, можно предполагать, слабо выражен на 14-е сутки. Таким образом, при воспалении на фоне применения натрия нуклеината по сравнению с естественным его течением активация моноцитопоза в ранние сроки выражена больше, а в более поздние сроки – меньше. Последнее связано с уменьшением хронизации воспаления.

Количество лимфоцитов в костном мозге при естественном течении воспаления достоверно больше, чем в контроле, почти во все сроки исследования, за исключением вторых суток, когда оно практически такое же, как и в контроле. При этом динамика содержания лимфоцитов сходна с таковой для общего количества клеток и количества бластных клеток. Наблюдается, по меньшей мере, три волны подъёма количества клеток: на 6-й час – 1-е сутки, 3-и – 7-е и 14-е – 28-е сутки. Изменения количества лимфоцитов прежде всего отражают общие закономерности реагирования гемопоэза при воспалении у крыс, для которых, как известно, характерна лимфоидная формула крови. Значительное повышение количества лимфоцитов в костном мозге на 6-й час – 1-е сутки воспаления, видимо, обусловлено не только активацией лимфопоэза, но и хомингом периферических лимфоцитов в костный мозг для активации гемопоэза [7]. Дальнейшее волнообразное увеличение содержания лимфоцитов в костном мозге, по-видимому, отражает повторную активацию лимфопоэза в связи с повторной лимфоцитарной инфильтрацией очага воспаления, характерной для хронического воспаления.

При воспалении на фоне применения натрия нуклеината по сравнению с естественным его течением содержание лимфоцитов достоверно выше на 2-е – 5-е и 10-е – 14-е сутки и

ниже – на 7-е и 21-е – 28-е сутки, т. е. отличается почти во все сроки исследования. При этом оно больше на протяжении первых 14 суток воспаления и меньше в более поздние сроки, соответствующие периоду хронизации процесса. Эти данные показывают, что активация лимфопоэза в этом случае в основном больше, чем при естественном течении воспаления, а в период хронизации процесса – меньше, что свидетельствует об уменьшении хронизации.

Содержание эритроидных клеток в костном мозге при естественном течении воспаления достоверно увеличивается на 6-й час, 2-е – 5-е сутки, с пиком на 3-и, уменьшается относительно контроля на 10-е – 14-е сутки и вновь повышается по сравнению с контролем на 21-е – 28-е сутки. Как известно, при воспалении активируется не только лейкопоэз, но и эритропоэз [7]. Активация эритропоэза на 6-й час и 2-е – 5-е сутки соответствует стимуляции гемопоэза в целом и развитию гиперплазии костного мозга. На 10-е – 14-е сутки эритропоэз стихает, так что количество эритроидных клеток в костном мозге даже ниже исходного, что свидетельствует о завершении острого периода воспаления. Повторная активация эритропоэза на 21-е – 28-е сутки свидетельствует о хронизации воспаления.

При воспалении на фоне применения натрия нуклеината по сравнению с естественным его течением содержание эритроидных клеток достоверно меньше на 6-й час и 3-и – 5-е сутки и больше на 2-е и 10-е – 28-е сутки. Происходит сдвиг его максимума с 3-х на 2-е сутки. Эти данные свидетельствуют о большем вымывании костно-мозговых клеток на 6-й час и большей активации гемопоэза по сравнению с естественным течением воспаления.

В целом, при воспалении на фоне применения натрия нуклеината по сравнению с естественным течением процесса в ранние сроки происходит большее вымывание клеток из костного мозга в кровь, более выраженная активация гемопоэза, а в более поздние сроки, соответствующие периоду хронизации воспаления, – меньшая активация гемопоэза. Это согласуется с тем, что в ранние сроки воспаления в очаг эмигрирует большее количество лейкоцитов, а в более поздние сроки – меньшее. Это, в свою очередь, объясняется тем, что усиленная эмиграция лейкоцитов в ранние сроки воспаления обеспечивает более эффек-

тивную борьбу с флогогеном и, соответственно, меньшую хронизацию процесса.

Применение натрия нуклеината приводит к снижению хронизации воспаления за счёт большей активации гемопоэза и, следовательно, поступления лейкоцитов в кровь и очаг в ранние сроки воспаления.

Таким образом, по данным костно-мозгового кроветворения в динамике вторично хронического воспаления, применение натрия нуклеината приводит к уменьшению хронизации процесса, что свидетельствует о возможности использования препарата для профилактики хронического воспаления.

Список литературы

1. Шевченко А.Н. Морфологическая характеристика очага воспаления при карагиненовом воспалении на фоне введения натрия нуклеината / А.Н. Шевченко, Л.И. Коваленко // Укр. морфол. альманах. – 2011. – Т. 9, № 2. – С. 120–123.
2. Шевченко А.Н. Клеточно-тканевая динамика очага вторично хронического воспаления на фоне введения натрия нуклеината / А.Н. Шевченко, Л.И. Коваленко // Укр. морфол. альманах. – 2011. – Т. 9, № 4. – С. 149–151.
3. Обоснование модели хронизирующегося (вторично хронического) воспаления / Н.А. Клименко, С.В. Татарко, А.Н. Шевченко [и др.] // Эксперим. і кліні. медицина. – 2007. – № 2. – С. 12–17.
4. Машковский М.Д. Лекарственные средства. – 16-е изд. / М.Д. Машковский. – М.: Медицина, 2010. – 1216 с.
5. Рыболовлев Ю.Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности / Ю.Р. Рыболовлев, Р.С. Рыболовлев // Журн. АМН СССР. – 1979. – Т. 247, № 6. – С. 1513–1516.
6. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.
7. Дыгай А.М. Воспаление и гемопоэз / А.М. Дыгай, Н.А. Клименко. – Томск: Изд-во Томск. ун-та, 1992. – 276 с.

О.М. Шевченко, Л.І. Коваленко

КІСТКОВО-МОЗКОВЕ КРОВОТВОРЕННЯ ПРИ ВТОРИННО ХРОНІЧНОМУ ЗАПАЛЕННІ НА ТЛІ ЗАСТОСУВАННЯ НАТРІЮ НУКЛЕЙНАТУ

При вторинно хронічному запаленні на тлі застосування натрію нуклеїнату в порівнянні з природним перебігом процесу в ранні терміни відбувається більше вимивання клітин з кісткового мозку в кров, більш виражена активація гемопоезу, а в більш пізні терміни, відповідні періоду хронізації запалення, – менша активація гемопоезу. Це узгоджується з тим, що в ранні терміни запалення у вогнище мігрує більша кількість лейкоцитів, а в більш пізні – менша. Це, у свою чергу, пояснюється тим, що посилена міграція лейкоцитів у ранні терміни запалення забезпечує більш ефективну боротьбу з флогогеном і, відповідно, меншу хронізацію процесу. Застосування натрію нуклеїнату приводить до зниження хронізації запалення внаслідок більшої активації гемопоезу і, отже, надходження лейкоцитів у кров і вогнище в ранні терміни запалення.

Ключові слова: вторинно хронічне запалення, кістковий мозок, натрію нуклеїнат, активізація гемопоезу.

A.N. Shevchenko, L.I. Kovalenko

THE BONE MARROW HEMATOPOIESIS IN THE TIME OF SECONDARY CHRONIC INFLAMMATION DURING TREATMENT WITH SODIUM NUCLEINATE

In the secondary chronic inflammation during treatment with sodium nucleinate compared to the natural course of the process at early stages the cell outcome from the bone marrow into the blood and pronounced activation of hematopoiesis are more, and in the later stages, corresponding to the period of inflammation chronization, activation of hematopoiesis is less. This is consistent with the fact that in the early stages a lot of leukocytes emigrate to the inflammatory focus, and at later stages – less. This, in turn, is explained by the fact that the enhanced leukocyte emigration in the early stages of inflammation provides a more effective

fight against phlogogen and accordingly less inflammation chronization. Accordingly, the use of sodium nucleinate reduces inflammation chronization due to greater activation of hematopoiesis and, consequently, the leukocyte income to the blood and inflammatory focus in the early stages of inflammation.

Key words: *secondary chronic inflammation, bone marrow, sodium nucleinate, hemopoiesis activation.*

Поступила 20.03.13