

УДК 616-002.1-092:612.419

*Н.А. Шутова**Харьковский национальный медицинский университет***РЕАКЦИИ КОСТНОГО МОЗГА В ДИНАМИКЕ ОСТРОГО ВОСПАЛЕНИЯ**

На модели карагиненового острого асептического перитонита прослежены реакции костного мозга в динамике воспаления. Приведённые 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 [1–3]. Изменения в периферической крови служат в клинике основным критерием распространённости, течения, этапа воспаления, эффективности противовоспалительных средств и соответствующей терапии. Закономерности реакций костного мозга в динамике воспаления менее изучены, так как их исследование возможно преимущественно в эксперименте.

Целью исследования было изучить клеточные реакции костного мозга в динамике при остром воспалении.

Материал 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 Минздрава 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 [4]. Раствор карагинена перед введением

стерилизовали автоклавированием при 121 °С в течение 15 мин. Животных забивали через 3, 6, 12 часов, 1, 2, 3, 5, 7, 10 суток. Сроки воспаления отсчитывали от момента введения флогогена. У животного забирали костный мозг из бедра. Критерием воспаления служила клеточная динамика экссудата, костного мозга и периферической крови.

Клеточные реакции костного мозга изучали путём подсчёта общего количества кардиоцитов (ОКК) и клеточного состава костного мозга [5]. Для получения костного мозга бедренную кость очищали от мягких тканей и тщательно промывали костномозговой канал 1 мл 3% -ной 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% -ной уксусной кислотой. Подсчёт общего количества миелокариоцитов на бедро осуществляли с помощью камеры Горяева. Клеточный состав костного мозга исследовали путём подсчёта миелограмм в мазках костного мозга. Для этого костный мозг выдавливали из дистального конца бедренной кости на обезжиренное стекло и разводили сывороткой крови. 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 кардиоцитов пере-

© Н.А. Шутова, 2012

рассчитывали 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 часу воспаления по сравнению с таковым у интактных крыс снижалось (таблица), что связано с вымыванием кариоцитов из постмитотического ре-

количество бластных клеток также изменяется волнообразно, в некоторые сроки (особенно на 1-е сутки) бывает даже несколько ниже исходного, а на 2-е и 7-е сутки достигает 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 практиче-

Общее количество кариоцитов (ОКК) и клеточный состав костного мозга ($\times 10^6$ /бедра)

Срок исследования	ОКК	Бластные клетки	Нейтрофилы	
			палочкоядерные	сегментоядерные
К	40,00±1,45	0,40±0,07	8,30±0,66	11,60±0,47
3 ч	36,00±0,95 [#]	0,54±0,03	1,70±0,32 [^]	8,20±0,71 [#]
6 ч	58,00±2,13 [#]	0,29±0,19	3,90±0,18 [^]	14,90±0,77 [#]
12 ч	69,17±6,79 [#]	0,34±0,21	9,10±0,74	25,20±3,15 [#]
1-е сут	54,00±2,62 [#]	0,20±0,07	6,10±1,90	15,20±1,47 [#]
2-е сут	96,00±3,17 [^]	0,98±0,50	8,40±1,20 [^]	29,10±3,15 [^]
3-и сут	62,00±7,22 [#]	0,90±0,39	7,50±2,10	20,30±1,75 [#]
5-е сут	81,00±1,10 [^]	0,40±0,23	15,60±1,40 [^]	24,70±4,08 [^]
7-е сут	103,00±2,96 [#]	2,03±0,30 [^]	15,30±1,90 [^]	32,10±2,40 [^]
10-е сут	79,00±2,96 ^{#*}	0,79±0,30	14,50±1,70 [^]	32,10±2,10 [^]

Примечание. * $p < 0,05$, # $p < 0,01$, ^ $p < 0,001$ в сравнении с контролем.

зервного 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 [1–3]. Однако уже к 6-му часу ОКК не только восстанавливалось, но и превышало исходное, что свидетельствует об активации гемопоэза, а к 12-му часу 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 сутки и возрастая на 2-е сутки (2-й пик увеличения ОКК) и 5-е – 7-е сутки (3-й пик возрастания ОКК на 7-е сутки).

Таким образом, начиная с 6-го часа воспаления и до конца исследования (10-е сутки) 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 час воспаления. В дальнейшем

ски повторяло динамику ОКК (таблица). В отличие от этого число эозинофилов вначале не снижалось, а несколько нарастало и удерживалось на примерно таком же уровне до первых суток, а после первых суток совпадало с динамикой ОКК и нейтрофилов.

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

Количество эритроидных клеток было увеличено во все сроки исследования с пиками на 6-й час и особенно на 2-е и 7-е сутки. Оно, по-видимому, в наибольшей степени отражает общие закономерности изменений гемопоэза при воспалении, поскольку не связано с активным выходом этих клеток в очаг [6, 7], и показывает, что активация гемопоэза действительно наблюдается уже

на 3-й час воспаления, достигает первого пика на 6-й, несколько стихает на 12-й час – 1-е сутки, но ещё больше возрастает в дальнейшем, изменяясь волнообразно, с примерно одинаковыми пиками на 2-е и 7-е сутки. На 10-е сутки активность гемопоэза значительно ослабевает по сравнению с седьмыми, но остаётся достоверно выше исходной.

Сопоставление количества эритроидных клеток с ОКК и содержанием отдельных видов лейкоцитов в костном мозге показы-

12-й час, заметно снижается по сравнению с 12-м часом ОКК, содержание нейтрофилов и моноцитов, что свидетельствует о новом усилении выхода нейтрофилов, а также о значительном выходе моноцитов. На 2-е сутки 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

в динамике карагиненового острого асептического перитонита у крыс ($M \pm m, n=6$)

Эозинофилы	Моноциты	Лимфоциты	Эритроидные клетки
3,10±0,35	2,34±0,02	5,78±0,18	8,90±0,36
3,90±0,56	2,46±0,04*	6,80±0,47	12,20±0,59^
4,40±0,42*	5,84±0,02 [#]	9,80±0,45^	18,80±1,20^
4,20±0,15	6,63±0,02^	9,10±1,30^	14,60±1,95^
4,20±0,59	3,83±0,12^	11,30±1,15^	13,20±0,71^
6,90±1,80^	2,10±0,25	13,10±0,14^	35,10±1,90^
4,30±0,19 [#]	3,10±0,29 [#]	7,30±1,20	20,30±3,80^
5,20±1,08^	3,60±0,19^	6,80±2,20	24,60±1,86^
11,80±1,07 [#]	1,83±0,07^	6,10±0,19	34,10±1,42^
10,56±1,12^	1,85±0,12 [#]	6,40±0,90	12,36±1,26^

вает, что снижение ОКК на 3-й час 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 час активация гемопоэза нарастает, о чём 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 час 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 сутки на фоне примерно такого же количества эритроидных клеток, как и на

[8, 9]. На 3-и сутки гемопоэз вновь стихает (по сравнению со вторыми сутками, но остаётся больше такового в контроле) одновременно с некоторым усилением выхода лейкоцитов (нейтрофилов, эозинофилов, лимфоцитов) в очаг. На 5-е – 7-е сутки наблюдается третий виток активации гемопоэза с пиком на 7-е сутки. По количеству эритроидных клеток он выражен почти так же, как и второй виток, однако ОКК, содержание нейтрофилов и эозинофилов максимальные, 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 сутки интенсивность гемопоэза вновь снижается (по сравнению с седьмыми сутками, оставаясь выше таковой в контроле), соответственно уменьшается и ОКК, но содержание отдельных форм лейкоцитов остаётся практически на том же уровне, что свидетельствует о снижении их выхода.

Выводы

При остром воспалении гемопоэз усилен с самого начала и до конца исследованного

періода (10-е сутки). 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 трёхфазными. Пики активации гемопоэза наблюдаются на 6-й час (умеренный), 2-е и 7-е сутки (более выраженные, между собой практически одинаково).

Усиленные выходы лейкоцитов наблюдаются на 3-й час (выход нейтрофилов из резервного пула на фоне активации гемопоэза), 1-е сутки (выход нейтрофилов и моноцитов), 3-и сутки (выход гранулоцитов и лимфоцитов). Значительное ОКК на 12-й час и 10-е сутки связано со снижением выхода клеток в кровь; во многом это касается и 5-х – 7-х суток, наряду с очередным витком активации гемопоэза в это время.

Список литературы

1. Клименко Н. А. Общие принципы противовоспалительной терапии / Н. А. Клименко // Харьковск. мед. журн. – 1997. – Т. 9, № 1. – С. 5–11.
2. Клименко Н. А. Медиаторы патологии / Н. А. Клименко // Эксперим. і кліні. мед. – 2001. – № 1. – С. 6–10.
3. Реакції кісткового мозку в процесі хронізації запалення / Н. А. Клименко, О. М. Шевченко, В. В. Яворський [та ін.] // Гематологія і переливання крові / міжвідомч. збірник. – Харків, 2009. – Вип. 34 (додатковий).
4. Клименко Н. А. Роль лейкоцитов в реакции тучных клеток очага воспаления / Н. А. Клименко // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1993. – Т. 116, № 9. – С. 249–253.
5. Лабораторные методы исследования в клинике : справочник / под ред. В. В. Меньшикова. – М. : Медицина, 1987. – 368 с.
6. Дыгай А. М. Воспаление и гемопоэз / А. М. Дыгай, Н. А. Клименко. – Томск : Изд-во Томск. ун-та, 1992. – 276 с.
7. Transient expression of Ym1, a heparin-binding lectin? During developmental hematopoiesis and inflammation / S. L. Hung, A. C. Chang, I. Kato [et al.] // J. Leukocyte Biol. – 2002. – Vol. 72, № 7. – P. 72–82.
8. Гольдберг Е. Д. Итоги изучения механизмов регуляции кроветворения в норме и при патологии / Е. Д. Гольдберг, А. М. Дыгай, И. А. Хлусов // Вестн. РАМН. – 1997. – № 5. – С. 56–59.
9. Роль тучных клеток в регуляции эритропоэза при воспалении / Н. А. Клименко, А. М. Дыгай, Б. Ю. Гумилевский [и др.] // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1997. – Т. 123, № 6. – С. 626–629.

Н. А. Штотова

РЕАКЦІЇ КІСТКОВОГО МОЗКУ В ДИНАМІЦІ ГОСТРОГО ЗАПАЛЕННЯ

На моделі карагиненового гострого асептичного перитоніту досліджені реакції кісткового мозку в динаміці запалення. Результати свідчать про посилення гемопоезу при гострому запаленні з самого початку розвитку процесу і до кінця досліджуваного періоду (10-ї доби). Відмічений фазний характер клітинних реакцій кісткового мозку, який залежить від співвідношення активності гемопоезу і виходу клітин із кісткового мозку і вогнища запалення.

Ключові слова: запалення, система крові, кістковий мозок, гемопоез.

N. A. Shutova

REACTIONS OF THE BONE MARROW IN DYNAMICS OF ACUTE INFLAMMATIONS

The reactions of the bone marrow are traced on the model of carragenan-induced acute aseptic peritonitis in rats in dynamics of inflammation. The listed results prove the strengthening of hemopoiesis of acute inflammation from the beginning of the process and to the end of the experimental period (10th days). Set phase character of cellular reactions of the bone marrow, depending on the correlation of hemopoiesis activity and efflux cells from the bone marrow and inflammatory focus was observed.

Key words: inflammation, blood system, bone marrow, hemopoiesis.

Поступила 01.12.11