

УДК 616-002.2-092.9:615.462:612.419

А.Н. Шевченко, В.А. Бибиченко

Харьковский национальный медицинский университет

ОСОБЕННОСТИ КОСТНО-МОЗГОВОГО КРОВЕТВОРЕНИЯ ПРИ ВТОРИЧНО ХРОНИЧЕСКОМ ВОСПАЛЕНИИ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ ГЛЮКОЗАМИНИЛМУРАМИЛДИПЕПТИДА

При воспалении на фоне применения глюкозаминилмурамилдипептида по сравнению с естественным течением процесса в ранние сроки происходит больший выход клеток из костного мозга в кровь, более выражена стимуляция гемопоэза, а в более поздние сроки, соответствующие периоду хронизации воспаления, происходит снижение активации гемопоэза. Результаты исследований костно-мозгового кроветворения в динамике вторично хронического воспаления показывают, что применение глюкозаминилмурамилдипептида приводит к уменьшению хронизации процесса, что свидетельствует о целесообразности использования его для профилактики хронического воспаления.

Ключевые слова: *вторично хроническое воспаление, костный мозг, гемопоэз, глюкозаминилмурамилдипептид.*

Воспаление составляет основу большинства болезней человека и является центральной проблемой медицины на протяжении всей истории. Острые воспалительные процессы встречаются все чаще и чаще, приобретают затяжной характер. Вместе с этим растет количество первично хронических воспалительных заболеваний [1–3]. Это, очевидно, связано с ухудшением экологической ситуации, изменениями общей и иммунологической реактивности из-за неблагоприятного воздействия факторов внешней среды [4–6].

Воспаление в эволюционном плане – защитно-приспособительная реакция в форме патологии, аварийный способ защиты всего организма ценой повреждения его части [3, 7]. Но хроническое воспаление характеризуется потерей защитно-приспособительной функции и превращается в самостоятельный патогенный фактор [5, 6]. Несмотря на большое количество исследований, посвященных хроническим воспалительным заболеваниям [3], общая патология и профилактика хронического воспаления исследуются недостаточно.

На эффекторном уровне хронизация воспаления связана прежде всего с недостаточностью системы крови – выходными из-

менениями в системе крови, или с тем, что обычные реакции системы крови оказываются недостаточными из-за персистенции флогогена [3]. Профилактика и лечение хронического воспаления возможны с помощью гемостимулятора, в частности Г-КСФ, а также натрия нуклеината [8, 9]. Возможно также использование и других гемомодуляторов для профилактики хронического воспаления, которые стимулируют синтез цитокинов, влияющих на содержание их в периферической крови. Нами был выбран глюкозаминилмурамилдипептид, который стимулирует функциональную активность макрофагов и синтез цитокинов. Он применяется в комплексной терапии иммунодефицитных состояний при хронических вялопротекающих рецидивирующих инфекционно-воспалительных заболеваниях различной локализации [10, 11].

Изучение влияния глюкозаминилмурамилдипептида на центральное звено системы крови, то есть костно-мозговое кроветворение, явилось целью настоящего исследования.

Материал и методы. Опыты проведены на 132 крысах-самцах линии Вистар массой 180–200 г. Вторично хроническое воспаление вызывали внутримышечным введением в

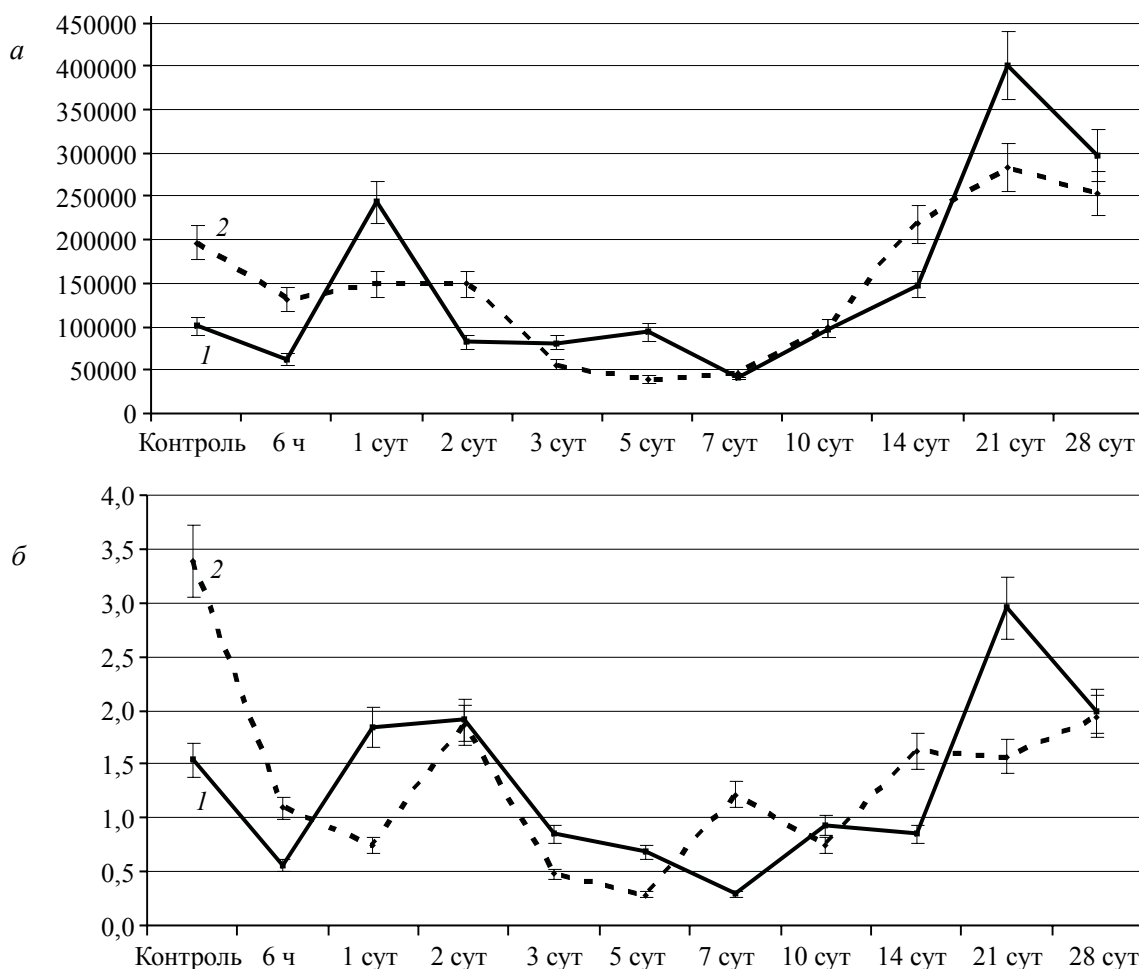
область бедра 10 мг λ -карагинена (Sigma, США) в 1 мл изотонического раствора натрия хлорида [12, 13].

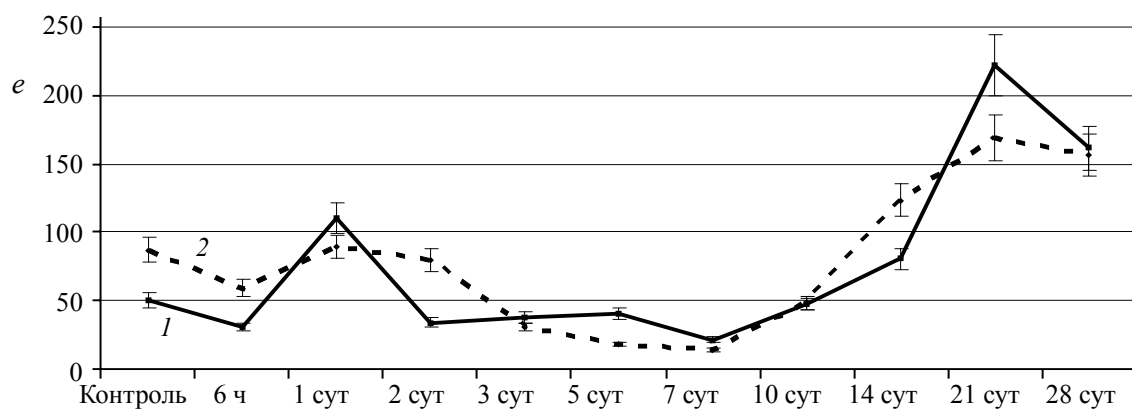
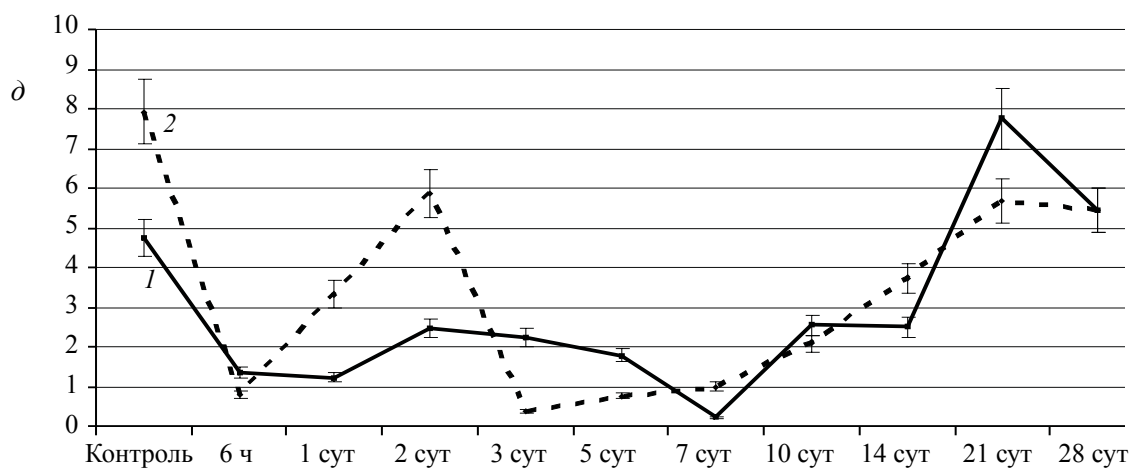
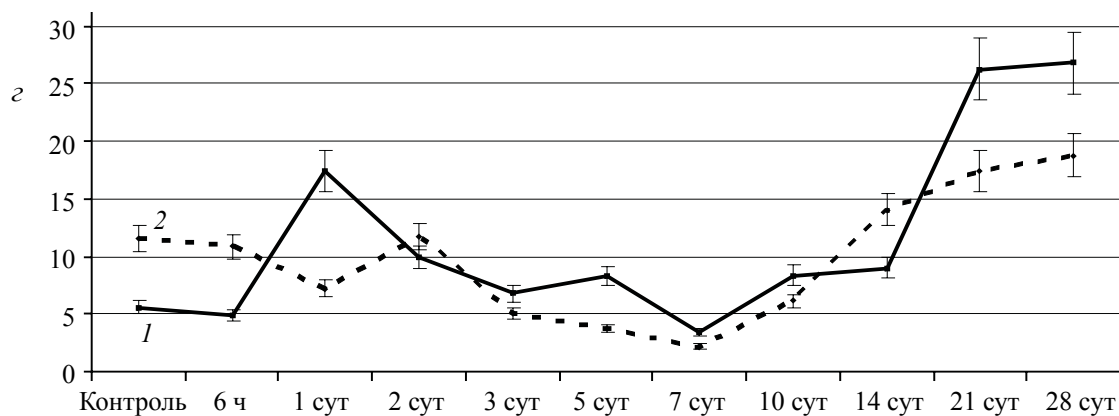
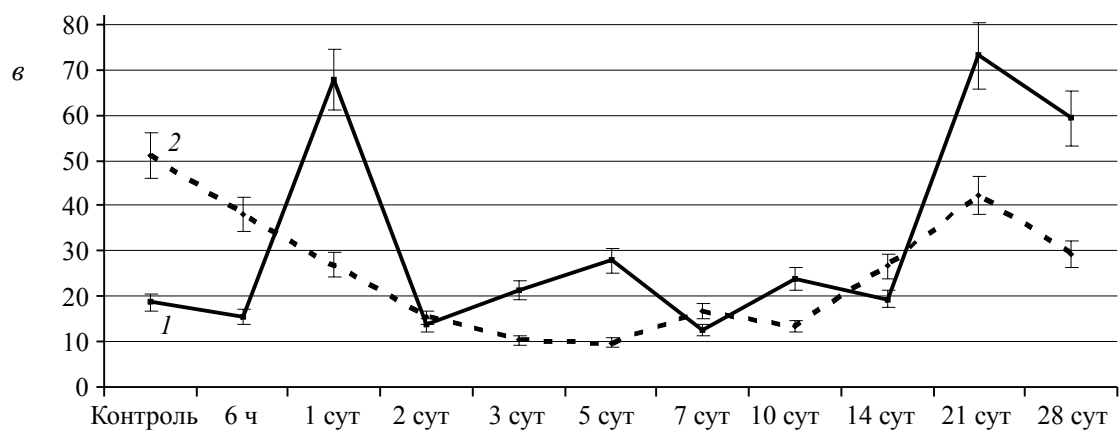
Глюкозаминилмурамилдипептид вводили под кожу спины крысам в дозе 0,1 мг в 0,5 мл изотонического раствора натрия хлорида ежедневно на протяжении всего эксперимента. Дозу для крыс определяли по формуле Р.С. Рыболовлева [14, 15].

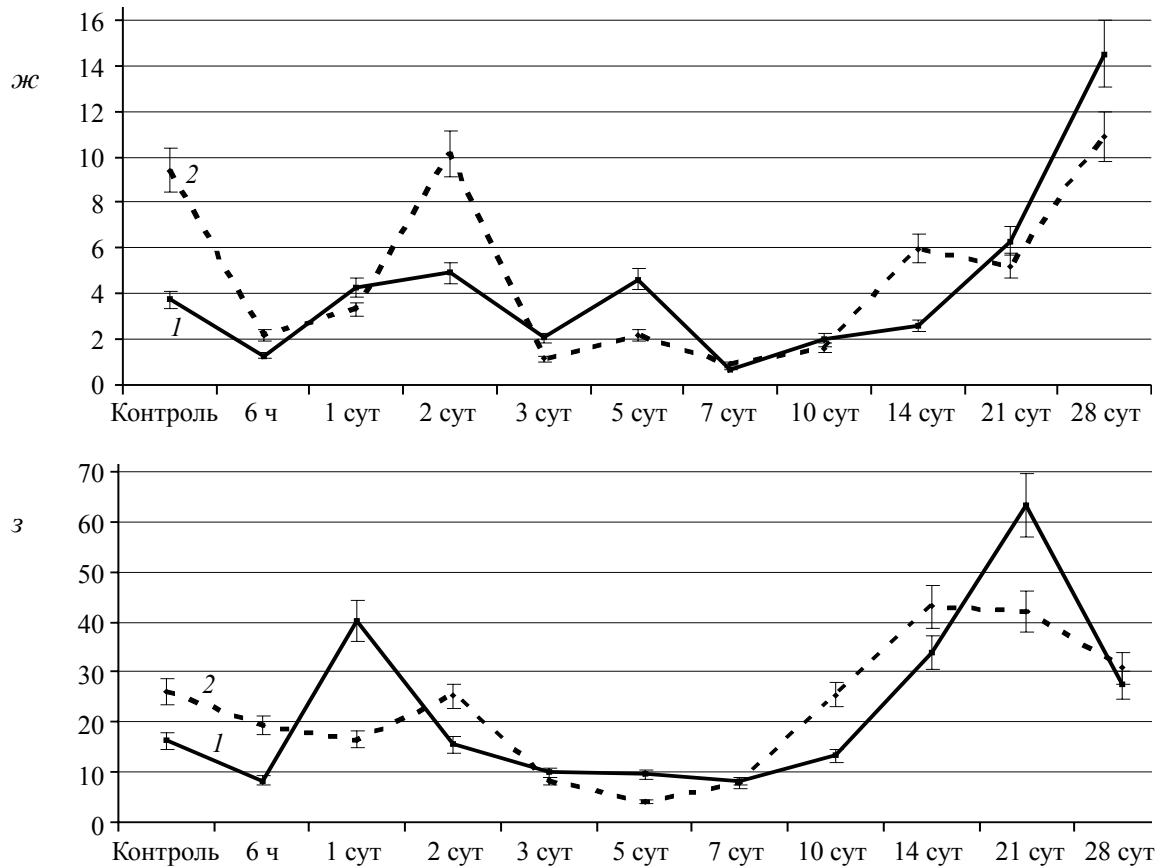
Контролем для естественного течения воспаления были интактные крысы, для воспаления на фоне применения глюкозаминилмурамилдипептида – крысы, которым вводили препарат без последующего вызывания воспаления. Животных забивали декапитацией под наркозом на 6-й час, 1-е, 2-е, 3-и, 5-е, 7-е, 10-е, 14-е, 21-е и 28-е сутки воспаления. Состояние костно-мозгового кроветворения определяли в костном мозге бедра. Исследовали общее количество кариоцитов и клеточный состав костного мозга. Для получения костного мозга выделяли бедренную кость крысы, очищали ее 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 путем подсчета миелограмм в мазках костного мозга из бедренной кости. Для этого костный мозг выдавливали из дистального конца бедренной кости на обезжиренное предметное стекло и разводили 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. Перерасчитывали процентное содержание клеток на их абсолютное количество на основании общего количества кариоцитов [16]. Полученные результаты обрабатывали с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. При естественном течении воспаления общее количество миелокариоцитов в костном мозге изменяется волнообразно (рисунок). Оно до-







Общее количество миелокариоцитов (а), 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 (1) и на фоне применения глюкозаминилмурамилдипептида (2)

стительно повышено по сравнению с контролем на 1-е, 21-е и 28-е сутки (соответственно в 2,4 раза, $p < 0,05$; 3,98 раза, $p < 0,001$, и 2,94 раза, $p < 0,05$). Наблюдаются три волны значительного повышения общего количества миелокариоцитов. Первая волна связана с активацией гемопоэза за счет усиления нейтрофильной реакции. Вторая и третья волны повышения общего количества кариоцитов свидетельствуют о дальнейшей активации гемопоэза в связи с хронизацией воспаления. Кроме того, при естественном течении воспаления общее количество кариоцитов на 7-е сутки достоверно снижено по сравнению с контролем в 2,2 раза, $p < 0,05$. Это, по-видимому, связано с усиленным выходом лейкоцитов в очаг, несмотря на выраженный период моноцитарно-макрофагальной реакции, а также выраженной гиперплазии костного мозга.

При воспалении, вызванном применением глюкозаминилмурамилдипептида, по сравнению с естественным течением процесса

общее количество кариоцитов достоверно выше на 6-й час в 2,1 раза, $p < 0,01$, и достоверно ниже на 5-е и 21-е сутки (соответственно в 2,4 раза, $p < 0,001$, и в 1,41 раза, $p < 0,05$).

Таким образом, при воспалении, вызванном применением глюкозаминилмурамилдипептида, общее количество кариоцитов в ранние сроки несколько выше, а в более поздние – достоверно ниже, чем при естественном течении процесса.

Количество бластных клеток при естественном течении воспаления достоверно снижено на 7-е сутки по сравнению с контролем (в 5,3 раза, $p < 0,05$), а в остальные сроки исследования статистически не отличается от такового в контроле.

Как видно, динамика изучения количества бластных клеток сходна с динамикой общего количества кариоцитов. Наблюдается также тенденция повышения количества бластных клеток на 1-е – 2-е и 21-е – 28-е сутки.

При воспалении на фоне применения глюкозаминилмурамилдипептида по сра-

внению с естественным течением воспаления общее количество бластных клеток имеет тенденцию к превышению на 6-й час, достоверно больше на 14-е сутки (в 1,9 раза, $p < 0,05$) и достоверно ниже на 21-е сутки (в 1,88 раза, $p < 0,05$), наблюдается тенденция к снижению количества бластных клеток к 28-м суткам. В целом, количество бластных клеток в ранние сроки воспаления, вызванного введением глюкозаминилмурамилдипептида, выше, а в более поздние – ниже, чем при естественном течении воспаления.

Количество незрелых нейтрофилов при естественном течении воспаления достоверно повышено на 1-е; 21-е и 28-е сутки (соответственно в 3,13 раза, $p < 0,05$; в 4,72 раза, $p < 0,01$, и в 4,82 раза, $p < 0,05$). Отсутствие достоверности их увеличения на 14-е сутки, по-видимому, связано с усиленным выходом их из костного мозга в кровь, несмотря на развитие гиперплазии костного мозга (на 7-е – 10-е сутки), повышенное возрастание на 21-е сутки – с хронизацией воспаления.

При воспалении на фоне применения глюкозаминилмурамилдипептида по сравнению с естественным течением воспаления наблюдается достоверное увеличение количества незрелых нейтрофилов на 6-й час и 14-е сутки (соответственно в 1,6 раза, $p < 0,05$, и в 2,2 раза, $p < 0,05$). Также наблюдается достоверное снижение количества незрелых нейтрофилов на 1-е, 5-е сутки (соответственно в 2,4 раза, $p < 0,05$, и в 2,2 раза, $p < 0,01$). Отставание в количестве клеток на 1-е и 5-е сутки свидетельствует о более интенсивном их выходе из костного мозга в кровь, а с 21-х по 28-е сутки – о менее интенсивном гемопоэзе в период хронизации воспаления в связи с уменьшением хронизации. Происходит сдвиг пика с 21-х суток на 14-е, что так же, как и в отношении бластных клеток, отражает более раннюю активацию гемопоэза.

Динамика изменения количества зрелых нейтрофилов при естественном течении воспаления весьма сходна с количественными изменениями незрелых гранулоцитов. Наблюдаются фазные изменения количества зрелых гранулоцитов. Достоверное их увеличение наблюдается на 1-е, 21-е и 28-е сутки (соответственно в 3,64 раза, $p < 0,01$; в 3,92 раза, $p < 0,001$, и в 3,18 раза, $p < 0,05$).

Отсутствие достоверного увеличения их содержания на 6-й час с учетом активации гемопоэза, по-видимому, можно объяснить усиленным их выходом из костного мозга в

кровь. Повторная активация нейтропоэза на 21-е и 28-е сутки, как и повышение общего количества кариоцитов и количества бластных клеток в это время, связана с хронизацией воспаления. При воспалении на фоне применения глюкозаминилмурамилдипептида по сравнению с естественным течением воспаления количество зрелых нейтрофилов достоверно выше на 6-й час (в 2,46 раза, $p < 0,01$), а также достоверно ниже на 1-е и 5-е сутки (соответственно в 2,53 раза, $p < 0,05$, и 2,87 раза, $p < 0,05$). Превышение количества зрелых нейтрофилов на 6-й час можно объяснить более интенсивным гемопоэзом, отставание на 1-е – 5-е сутки – более интенсивным выходом клеток из костного мозга в кровь, отставание на 21-е и 28-е сутки – менее интенсивным гемопоэзом в период хронизации воспаления в связи с уменьшением хронизации.

Содержание эозинофилов в костном мозге при естественном течении воспаления также изменяется волнообразно: наблюдается достоверное снижение содержания эозинофилов на 6-й час, 1-е, 5-е и 7-е сутки (соответственно в 3,5 раза, $p < 0,05$; в 3,89 раза, $p < 0,05$; в 2,65 раза, $p < 0,05$, и в 20,6 раза, $p < 0,01$) и последующее восстановление их количества на 21-е и 28-е сутки.

В течение всей исследованной динамики воспаления выход эозинофилов из костного мозга в кровь преобладает над их продукцией, особенно на 6-й час, 1-е, 5-е и 7-е сутки. Усиленный выход эозинофилов в кровь в эти сроки воспаления отражает их эмиграцию в очаг в острый период воспаления, а на 14-е и 28-е сутки – хронизацию воспаления, по-видимому, в связи с тем, что эозинофилы – полифункциональные лейкоциты, обнаруживаются в избытке в крови и очаге гранулематозного воспаления [17].

При воспалении на фоне применения глюкозаминилмурамилдипептида по сравнению с естественным течением воспаления содержание эозинофилов достоверно меньше на 3-и и 5-е сутки (соответственно в 6,2 раза, $p < 0,05$, и в 2,4 раза, $p < 0,001$), но достоверно выше на 7-е сутки (в 4,3 раза, $p < 0,01$). Это свидетельствует о том, что больше эозинофилов выходит в кровь на 3-и и 5-е сутки, а также о большей активации гемопоэза на 7-е сутки в связи с гиперплазией костного мозга, чем при естественном течении процесса. Наблюдается снижение содержания эозинофилов в костном мозге на 21-е – 28-е сутки, то есть в период хронизации воспаления.

Количество моноцитов в костном мозге при естественном течении воспаления достоверно снижалось на 6-й час и 7-е сутки (соответственно в 2,94 раза, $p < 0,05$, и 5,37 раза, $p < 0,01$) и достоверно повышалось на 21-е и 28-е сутки (соответственно в 1,67 раза, $p < 0,05$, и 3,86 раза, $p < 0,05$). В остальные сроки содержание моноцитов в костном мозге статистически не отличалось от контрольного значения. Уменьшение содержания моноцитов на 6-й час и 7-е сутки связано с усиленным их выходом из костного мозга в периферическую кровь и в последующем в очаг воспаления. Повышение содержания моноцитов на 21-е и 28-е сутки свидетельствует о моноцитарно-макрофагальной инфильтрации, которая характерна для хронического воспаления.

При воспалении на фоне применения глюкозаминилмурамилдипептида по сравнению с естественным его течением содержание моноцитов достоверно больше на 14-е сутки и меньше на 5-е сутки (соответственно в 2,3 раза, $p < 0,001$, и в 2,13 раза, $p < 0,001$). Таким образом, при воспалении на фоне применения глюкозаминилмурамилдипептида по сравнению с естественным течением активация моноцитопоза в ранние сроки выражена больше, а в более поздние сроки – меньше. Это связано с уменьшением хронизации воспаления.

Количество лимфоцитов в костном мозге при естественном течении воспаления достоверно больше на 1-е, 21-е и 28-е сутки (соответственно в 2,2 раза, $p < 0,05$; в 4,4 раза, $p < 0,001$, и в 3,2 раза, $p < 0,05$), чем в контроле. Также наблюдается на 7-е сутки достоверное снижение количества лимфоцитов. Динамика содержания лимфоцитов сходна с таковой для общего количества миелокариоцитов, бластных клеток. Изменение содержания лимфоцитов, по-видимому, отражает общие закономерности реагирования гемопоэза при воспалении у крыс, так как для них характерна лимфоидная формула крови. Существенное повышение количества лимфоцитов в костном мозге на 1-е сутки воспаления обусловлено не только активацией лимфопоэза, но и хомингом периферических лимфоцитов в костный мозг для активации гемопоэза. Увеличение содержания лимфоцитов на 21-е и 28-е сутки отражает повторную активацию лимфопоэза в связи с повторной лимфоцитарной инфильтрацией очага воспаления, характерного для хронического воспаления.

При воспалении на фоне применения глюкозаминилмурамилдипептида по сравнению с естественным его течением содержание лимфоцитов достоверно выше на 6-й час, 2-е и 14-е сутки (соответственно в 1,93 раза, $p < 0,05$, в 2,33 раза, $p < 0,05$, и в 1,53 раза, $p < 0,05$) и ниже на 5-е, 21-е сутки (соответственно в 2,2 раза, $p < 0,001$, в 1,3 раза, $p < 0,05$).

Таким образом, содержание лимфоцитов больше на протяжении первых 14 суток воспаления и меньше в более поздние сроки, которые соответствуют периоду хронизации воспаления. Активация лимфопоэза в данном случае 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 1-е, 14-е и 21-е сутки (соответственно в 2,48 раза, $p < 0,05$, в 2,08 раза, $p < 0,05$, и в 3,89 раза, $p < 0,001$), уменьшается относительно контроля на 6-й час и 7-е сутки (соответственно в 1,9 раза, $p < 0,05$; в 2,13 раза, $p < 0,05$). На 5-е – 10-е сутки в связи с гиперплазией костного мозга [18, 19] наблюдается усиленный выход их из костного мозга в кровь, что и соответствует снижению их в костном мозге и свидетельствует о завершении острого периода воспаления. Повторная активация эритроцитов на 21-е – 28-е сутки свидетельствует о хронизации воспаления.

При воспалении на фоне применения глюкозаминилмурамилдипептида по сравнению с естественным его течением содержание эритроидных клеток достоверно больше на 6-й час и 10-е сутки (соответственно в 2,34 раза, $p < 0,01$, в 1,91 раза, $p < 0,05$) и достоверно меньше на 1-е, 5-е и 21-е сутки (соответственно в 2,44 раза, $p < 0,05$, в 2,34 раза, $p < 0,01$, и в 1,5 раза, $p < 0,05$). Происходит сдвиг максимума с 1-х суток на 6-й час, что свидетельствует о большей активации гемопоэза по сравнению с естественным течением воспаления.

Таким образом, при воспалении на фоне применения глюкозаминилмурамилдипептида по сравнению с естественным течением процесса в ранние сроки воспаления в очаг эмигрирует больше лейкоцитов, чем в более отдаленные сроки, так как их выходит меньшее количество. Показано также, что в ранние сроки вымывается больше клеток из костного мозга в кровь, что более существенно стимулирует гемопоэз, а в более поздние сроки,

соответствующие периоду хронизации воспаления, меньше активация гемопоэза. Это, по-видимому, связано с тем, что усиленная эмиграция лейкоцитов в очаг воспаления в начальные сроки процесса обеспечивает более эффективную борьбу с флогогеном и, соответственно, меньшую хронизацию процесса.

Применение глюкозаминилмурамилдипептида приводит к снижению хронизации воспаления за счет большей активации гемопоэза и, следовательно, к поступлению лейкоцитов в кровь и очаг в начальные сроки воспаления.

Литература

1. Chronic inflammation: molecular pathophysiology, nutritional and therapeutic interventions / eds. S. Roy, D. Bagchi, S. P. Raychaudhuri. – Boca Raton : CRC Press, 2012. – 472 p.
2. Don't sit on chronic inflammation / T.J. White, A. Cronin, M.F. Lo, et al. // ANZ J. Surg. – 2012. – Vol. 82, № 3. – P. 181–182.
3. Клименко Н.А. Гематологические механизмы хронизации воспаления / Н.А. Клименко, А.Н. Шевченко. – Харьков : ХНМУ, 2010. – 88 с.
4. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология / Г.Н. Дранник. – К.: Полиграфия Плюс, 2010. – 604 с.
5. Гусев Е.Ю. Системное воспаление: теоретические и методические подходы к описанию модели общепатологического процесса. Ч. 2. Эволюционные аспекты / Е.Ю. Гусев, В.А. Черешков // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 2013. – № 1. – С. 3–14.
6. Гусев Е.Ю. Системное воспаление: теоретические и методические подходы к описанию модели общепатологического процесса. Ч. 1. Общая характеристика процесса / Е.Ю. Гусев, В.А. Черешков // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 2012. – № 4. – С. 3–14.
7. Клименко Н.А. Роль воспаления в патологии / Н.А. Клименко // Заг. патологія та патол. фізіологія. – 2010. – № 2. – С. 20–21.
8. Одинец Ю.В. Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор в комплексной терапии воспалительных заболеваний инфекционного генеза, не сопровождающихся нейтропенией / Ю.В. Одинец, И.А. Клименко, А.Н. Шевченко // Врачебная практика. – 2004. – № 5. – С. 32–42.
9. Шевченко А.Н. Костно-мозговое кроветворение при вторично хроническом воспалении на фоне применения натрия нуклеината / А.Н. Шевченко, Л.И. Коваленко // Експериментальна і клінічна медицина. – 2013. – № 2 (59). – С. 67–73.
10. Чумакова М.И. Ликопид – эффективное и безопасное иммуностропное средство / М.И. Чумакова // Фармация. – 2002. – № 3. – С. 34–35.
11. Никитин А.А. Поиск эффективных модуляторов цитокинпродуцирующей функции макрофагов / А.А. Никитин, М.Т. Абидов, Е.О. Ковалевская и др. // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2004. – № 9. – С. 293–295.
12. Обоснование модели хронизирующегося (вторично хронического) воспаления / Н.А. Клименко, С.В. Татарко, А.Н. Шевченко, Г.И. Губина-Вакулик // Експериментальна і клінічна медицина. – 2007. – № 2. – С. 24–28.
13. Клименко Н.А. Роль лейкоцитов в реакции тучных клеток очага воспаления / Н.А. Клименко // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1993. – № 9. – С. 249–253.
14. Рыболовлев Ю.Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности / Ю.Р. Рыболовлев, Р.С. Рыболовлев // Журн. Акад. мед. наук СССР. – 1979. – № 6. – С. 1513–1516.
15. Машковский М.Д. Лекарственные средства : пособие для врачей / М.Д. Машковский. – 16-е изд., перераб., испр. и доп. – Москва: Новая волна, 2010. – 1216 с.
16. Лабораторные методы исследования в клинике : справочник / под ред. В. В. Миньшикова. – Москва: Медицина, 1987. – 364 с.

Таким образом, результаты наших исследований костно-мозгового кроветворения в динамике вторично хронического воспаления показывают, что применение глюкозаминилмурамилдипептида приводит к уменьшению хронизации процесса, что свидетельствует о целесообразности использования его для профилактики хронического воспаления.

Перспектива дальнейших исследований связана с усовершенствованием патогенетической терапии, а также профилактики хронического воспаления.

17. Колобовникова Ю.В. Особенности функциональной активности эозинофильных гранулоцитов крови при туберкулезе легких / Ю.В. Колобовникова, О.И. Указова, В.В. Новицкий // Бюл. Сибирской медицины. – 2014. – Т. 13, № 5. – С. 42–48.

18. Дыгай А.М. Воспаление и гемопоэз / А.М. Дыгай, Н.А. Клименко. – Томск : Изд-во Томск. ун-та, 1992. – 275 с.

19. Дыгай А.М. Теория регуляции кроветворения / А. М. Дыгай // Бюл. Сибирской медицины. – 2004. – № 4. – С. 5–17.

О.М. Шевченко, В.О. Бібіченко

ОСОБЛИВОСТІ КІСТКОВО-МОЗКОВОГО КРОВОТВОРЕННЯ ПРИ ВТОРИННО ХРОНІЧНОМУ ЗАПАЛЕННІ НА ТЛІ ЗАСТОСУВАННЯ ГЛЮКОЗАМІНІЛМУРАМІЛДИПЕПТИДУ

При запаленні на тлі застосування глюкозамінілмурамілдіпептиду в порівнянні з природним перебігом процесу в ранні терміни відбувається більший вихід клітин з кісткового мозку в кров, більш виражена стимуляція гемопоезу, а в більш пізні терміни, відповідні періоду хронізації запалення, відбувається зниження активації гемопоезу. Результати досліджень кістково-мозкового кровотворення в динаміці вторинно хронічного запалення показують, що застосування глюкозамінілмурамілдіпептиду призводить до зменшення хронізації процесу, що показує доцільність використання його для профілактики хронічного запалення.

Ключові слова: вторинно хронічне запалення, кістковий мозок, гемопоез, глюкозамінілмурамілдіпептид.

A.N. Shevchenko, V.A. Bibichenko

FEATURES OF THE BONE MARROW HEMATOPOIESIS IN THE TIME OF SECONDARY CHRONIC INFLAMMATION DURING TREATMENT WITH GLYUCOSAMINILMURAMILDYPEPTID

In the inflammation during treatment with glyucosaminilmuramildipeptid compared with the natural course of the process in the early stages there is a greater yield of bone marrow cells in the blood, more pronounced stimulation of hematopoiesis, and in the later stages, corresponding to the period of chronic inflammation the activation of hematopoiesis is less. The results of studies of the bone marrow hematopoiesis into the dynamics of the secondary chronic inflammation show that treatment with glyucosaminilmuramildipeptid leads to a reduction of chronic process that shows its usefulness for the prevention of chronic inflammation.

Key words: secondary chronic inflammation, bone marrow, hemopoiesis, glyucosaminilmuramildipeptid.

Поступила 15.02.16