

МЕХАНИЗМЫ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ СДВИГОВ В ПОСТГИПОКСИЧЕСКОМ ПЕРИОДЕ*

ГУ НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН, Томск

Изучены реакции системы крови после острой гипоксии и при развитии постгипоксической энцефалопатии. Наличие патологии мозга сопровождается повреждением пролиферирующих коммитированных клеток-предшественников на фоне сохранения функциональной активности стромальных элементов гемопоэзиндуцирующего микроокружения, что в конечном итоге приводит к снижению выраженности гиперплазии эритроидного компартмента кроветворной ткани, расширению плацдарма костномозгового гранулоцитопоза и снижению продукции функционально полноценных эритроцитов в постгипоксическом периоде.

Ключевые слова: гемопоэз, гипоксия, энцефалопатия

В последние годы получен ряд данных, значительно расширивших представление о механизмах и времени развития различных изменений в тканях при гипоксии. Выраженное энергетическое голодание как следствие окислительной недостаточности приводит к существенным перестройкам интегративных систем (в первую очередь ЦНС) и формированию качественно нового паттерна их взаимодействия, а в случае декомпенсации адаптивных возможностей – патологического влияния вновь сложившегося функционального “континиума” на другие органы, обеспечивающие постоянство внутренней среды. Данное обстоятельство является одним из основных факторов развития различных нарушений жизнедеятельности организма, перенесшего гипоксическую травму [6]. С учетом того, что система крови самым непосредственным образом участвует в поддержании гомеостаза, весьма актуальным представляется изучение гематологических сдвигов при гипоксии различной степени тяжести.

Целью настоящей работы явилось исследование реакций системы крови и механизмов их развития в постгипоксическом периоде.

Методика. Эксперименты выполнены на мышках-самцах линии СВА/СаЛас в количестве 540 штук массой 18–20 г. Животные 1-й категории, конвенциональные линейные мыши, получены из питомника отдела экспериментального биомедицинского моделирования НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН (имеется сертификат). Гипоксическое воздействие моделировалось с помощью гермокамеры объемом 500 мл в двух вариантах. Животные извлекались после окончания генерализованных судорог и/или остановки дыхания (определяемой визуально) в течение 10–15 с. При коротком варианте гипоксии (однократное воздействие) не регистрировалось достоверных изменений психо-неврологического статуса. Длительное воздей-

ствие (двукратное помещение мышей в камеру с промежутком в 10 мин) с 1-х сут приводило к формированию энцефалопатии, которую регистрировали по развитию амнезии при воспроизведении условного рефлекса пассивного избегания и нарушению ориентировочно-исследовательского поведения в открытом поле (с 1-х по 10-е сут) [1, 10]. На 1–10 сут животных умерщвляли дислокацией шейных позвонков и определяли показатели периферической крови, костномозгового кроветворения [8]; осмотическую резистентность эритроцитов [2]; содержание клеток-предшественников в костном мозге (КОЕ), их пролиферативную активность и интенсивность дифференцировки, а также продукцию гуморальных гемопоэтических факторов отдельными фракциями гемопоэзиндуцирующего микроокружения (ГИМ) и структурно-функциональную организацию костного мозга [3]. Обработку результатов проводили методом вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты. В ходе эксперимента гипоксия гермообъема приводила к гиперплазии костномозгового кроветворения (рис.1 А). Так, содержание эритрокариоцитов было увеличенным на протяжении всего периода наблюдения (с 1-х по 10-е сут), что сопровождалось развитием выраженного ретикулеза (1–6, 8, 9-е сут) и эритроцитоза (7, 8, 9-е сут) в периферической крови (рис.1 Г). Реакция грануломоноцитарного ростка была не столь однозначной. Отмечалось накопление незрелых нейтрофильных гранулоцитов в кроветворной ткани (1–3, 5, 6, 8, 9-е сут) при сохранении числа их зрелых форм на уровне, не превышающем исходных значений, и снижение количества сегментоядерных нейтрофилов в периферической крови (3, 5, 8, 9-е сут) (рис.1 Б, В). Указанным изменениям предшествовало усиление выхода эритроидных (Э) и грануломоноцитарных (ГМ) КОЕ в метилцеллю-

*Работа выполнена при поддержке РФФИ. № гранта 00-040-48745.

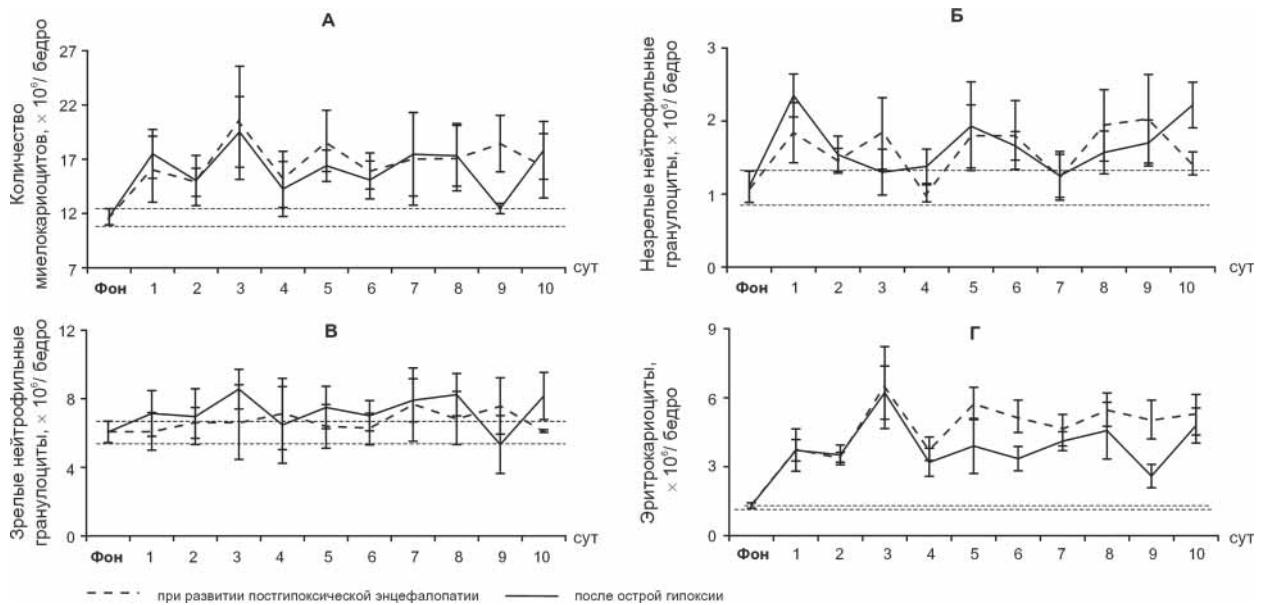


Рис. 1. Динамика содержания общего количества миелокарицитов, незрелых нейтрофильных гранулоцитов, зрелых нейтрофильных гранулоцитов и эритрокарицитов в костном мозге мышей-самцов линии СВА/СаЛас после острой гипоксии, при развитии постгипоксической энцефалопатии.

А – динамика общей клеточности костного мозга; Б – содержание незрелых гранулоцитов; В – содержание зрелых нейтрофильных гранулоцитов; Г – содержание эритрокарицитов. Доверительные интервалы при $p < 0,05$

лострой среде, повышение их пролиферативной активности и ускорение созревания прекурсоров эритропоэза при нарушении реализации дифференцировочных потенций гранулоцитомакрофагальных предшественников (рис. 2, 3). Состояние пула клоногенных клеток определялось возрастом продукции эритропоэтически активных факторов (ЭПА) прилипающими и непрлипающими клетками костного мозга, а также повышением секреции колониестимулирующей активности (КСА) адгезирующими элементами, несмотря на снижение уровня колониобразования в 7-суточных культурах тест-системы с использованием надосадочной жидкости неадгезирующих нуклеаров на 7, 8-е сут. Кроме того, имело место повышение концентрации гуморальных регуляторов в сыворотке крови. Изучение структурно-функциональной организации костного мозга показало увеличение выхода клеточных комплексов, ассоциированных как с макрофагальными (2, 3, 7, 9-е сут), так и фибробластоидными элементами (2, 3, 8, 9-е сут), а их качественный анализ – повышение числа эритроидных гемопоэтических островков (ГО) на протяжении практически всего периода наблюдения (2, 3, 5, 6, 8–10-е сут) при достоверном возрастании количества их смешанных и гранулоцитарных типов лишь на 2, 3-и сут эксперимента (до 127–137% и 154–156% соответственно). Последнее, очевидно, явилось следствием накопления соответствующих клеток-предшественников в костномозговой ткани и не было связано с изменением способности механоцитов к взаимодействию с кроветворными клетками.

Таким образом, кислородное голодание, не вызывающее “грубых” нарушений психо-неврологического статуса, приводило к резкой гиперплазии костномозгового эритропоэза за счет повышения функциональной активности КОЕ-Э в результате как возрастания фидерной способности клеточных компонентов ГИМ, массивного поступления продуктов распада эритроцитов в сосудистое русло и непосредственно гипоксического стимула, так и активации стресс-реализующих систем и миграции Т-лимфоцитов-регуляторов гемопоэза (лимфоцитоз в периферической крови с 1-х по 10-е сут, $p < 0,05$) в кроветворную ткань, (3-и сут, $p < 0,05$) в костный мозг [4]. Реакция грануломоноцитарного роста в постгипоксическом периоде, в целом, соответствовала изменениям, характерным для общего адаптационного синдрома [5]. Выявленное разобщение процессов пролиферации и дифференцировки КОЕ-ГМ при этом, вероятно, связано со спецификой (природой) повреждающего фактора и отсутствием у него “прямого” стимулирующего действия на грануломоноцитопоэз.

Большинство осложнений постреанимационного периода напрямую зависят от поражения мозговых структур [7, 9]. С другой стороны, считается доказанным участие кроветворной ткани, включающей взаимосвязанные локальные и дистантные (нейроэндокринные) контролируемые механизмы [4]. Исследование возможного влияния гемопоэза позволило вскрыть ряд особенностей. В частности, у животных с патологией мозга наблюдалось падение роста КОЕ-Э в 3-суточных культу-

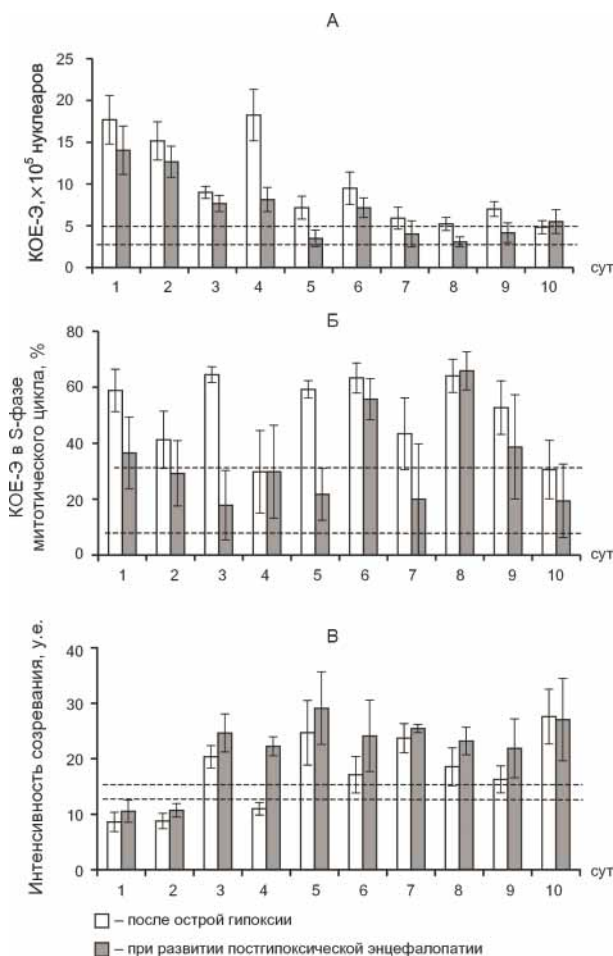


Рис. 2. Динамика содержания КОЕ-Э в костном мозге, их доля в S-фазе митотического цикла и интенсивность созревания у мышей-самцов линии СВА/СаЛас после острой гипоксии, при развитии постгипоксической энцефалопатии.

А — динамика содержания КОЕ-Э в костном мозге после острой гипоксии, при развитии постгипоксической энцефалопатии; Б — их доля в S-фазе митотического цикла; В — интенсивность созревания. Доверительные интервалы при $p < 0,05$

рах на 4, 5, 8 и 9-е сут опыта, а также снижение их митотической активности на 1, 3 и 5-е сут. Изменения соответствующих параметров грануломоноцитопоза носили аналогичный характер, но статистической значимости достигало лишь уменьшение числа пролиферирующих КОЕ-ГМ на 3-и сут наблюдения. Снижение темпа деления КОЕ-Э могло быть связано с уменьшением продукции эритропоэтически активных субстанций непрлипающими клетками ГИМ. Однако данные изменения регистрировались только на 4-е сут, что исключает ведущую роль указанного механизма в нарушении процессов пролиферации КОЕ-Э в постгипоксическом периоде. Кроме того, выработка ЭПА прилипающими миелокариоцитами и эрит-

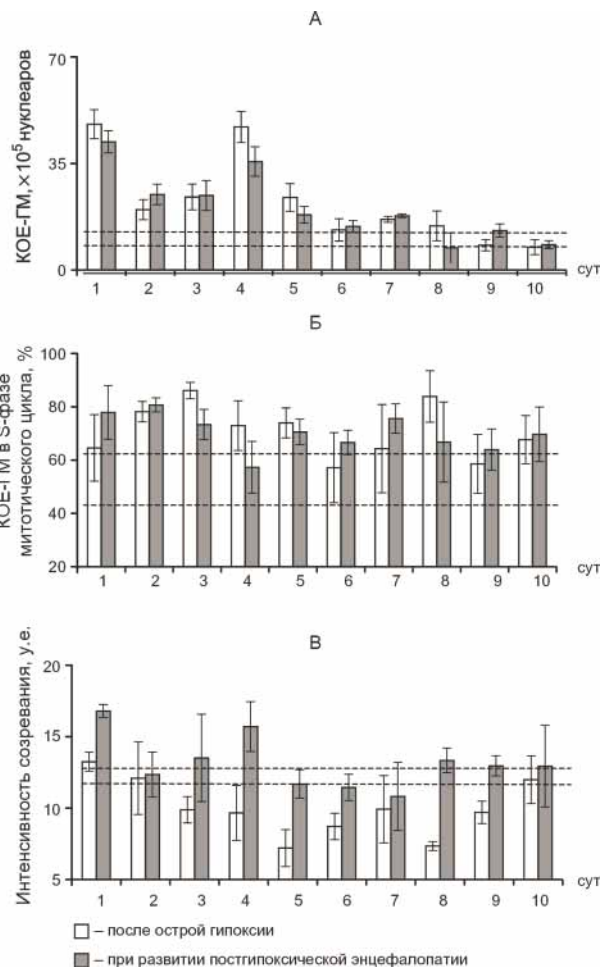


Рис. 3. Динамика содержания КОЕ-ГМ в костном мозге, их доля в S-фазе митотического цикла и интенсивность созревания у мышей-самцов линии СВА/СаЛас после острой гипоксии, при развитии постгипоксической энцефалопатии.

А — динамика содержания КОЕ-ГМ в костном мозге после острой гипоксии, при развитии постгипоксической энцефалопатии; Б — их доля в S-фазе митотического цикла; В — интенсивность созревания. Доверительные интервалы при $p < 0,05$

ропоэтическая активность сыворотки крови, напротив, увеличивались (2, 8-е сут и 2, 4-е сут соответственно). Изучение уровней КСА кондиционных сред адгезирующих и неадгезирующих нуклеаров костного мозга и сыворотки крови, так же выявило их возрастание. В целом, эффект повышения концентрации гуморальных регуляторов в биологических жидкостях проявлялся в компенсаторном ускорении дифференцировки как эритроидных прекурсоров на 4-е сут опыта, так и предшественников грануломоноцитопоза на 3, 5, 6 и 8-е сут эксперимента. Существенные сдвиги были обнаружены и при исследовании структурно-функциональной организации кроветворной ткани. Так, наблюдалось значительное усиление способ-

ности ретикулярных клеток к формированию гемопозитических островков (2–4, 6, 8, 9-е сут), что сопровождалось достоверным увеличением числа клеточных комплексов гранулоцитарного (3, 4, 6, 8-е сут) и смешанного (2–6, 8, 9-е сут) типов. Изменения состояния пула родоначальных клеток, несмотря на выраженность компенсаторных реакций, приводили к снижению количества эритрокарицитов в костном мозге на 5, 6, 9-е сут после воздействия относительно гипоксического контроля. В то время как усиление реализации дифференцировочного потенциала КОЕ-ГМ оказывалось вполне достаточным для повышения уровня содержания зрелых нейтрофильных гранулоцитов в гемопозитической ткани на 3, 7, 8, 10-е сут исследования, а также увеличения числа сегментоядерных нейтрофилов в периферической крови на 3, 4, 7-е сут. Кроме того, имело место развитие анемии гемолитического характера на 8, 10-е сут эксперимента, что, в свою очередь, явилось результатом снижения осмотической резистентности эритроцитов (8-е сут) и закономерного усиления эритродиеретических процессов клеточными элементами системы мононуклеарных фагоцитов.

Итак, высокая степень гипоксии предопределяет повреждение кроветворных прекурсоров на фоне сохранения функциональной активности относительно резистентных стромальных компонентов ГИМ, что в конечном итоге приводит к расширению плацдарма костномозгового грануломоноцитопоза и снижению выхода полноценных специализированных клеток красной крови в сосудистое русло. Таким образом, кислородная недостаточность, вызывающая поражение мозговых структур, существенно нарушает адаптивные реакции со стороны системы крови, что еще в большей мере усугубляет окислительное обеспечение тканей организма, перенесшего терминальное состояние.

THE MECHANISMS OF HEAMATOPOIESIS IN POSTHYPOXIC PERIOD

G.N. Zyuzkov

The reactions of hematopoiesis after acute hypoxia and during the development of post hypoxic encephalopathy have been studied. The results of our experimental researches have detected, that pathology of brain is accompanied by damage of proliferative colony forming units in the presence of active stromal cells, enhance bone marrow granulomonocytopenia and decrease in production of functional full-blooded erythrocytes. We consider, that hypoxic brain injury significantly disturbed the adaptive reactions of blood system in posthypoxic period.

ЛИТЕРАТУРА

1. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Дж. П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения: Пер. с англ. / Под ред. проф. А.С. Батуева. М., 1991. 398 с.
2. Голованов М.В. Способ определения гипертонической устойчивости эритроцитов // Гематология и трансфузиология. 1991. №7. С. 39-40.
3. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Шахов В.П. Методы культуры ткани в гематологии. Томск, 1992.
4. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Хлусов И.А. Роль вегетативной нервной системы в регуляции гемопоэза. Томск, 1997. С. 65-66.
5. Горизонтов П.Д. Роль симпатической нервной системы в ранних неспецифических реакциях органов кроветворения // Патол. физиол. и эксперим. терапия. 1975. № 3. С. 34-38.
6. Гурвич А.М., Алексеева Г.В., Семченко В.В. Постреанимационная энцефалопатия. Омск, 1996. С.10
7. Гурвич А.М. Значение нейрофизиологических механизмов в постреанимационной патологии и постреанимационном восстановлении функций центральной нервной системы // Экспериментальные, клинические и организационные проблемы общей реаниматологии: Сб. тр. М., 1996. С. 13-14.
8. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. В.В. Меньшикова. М., 1987.
9. Krause G.S., White B.C., Aust S.D. et al. Brain cell death following ischemia and reperfusion: a proposed biochemical sequence // Crit Care Med. 1988. Vol. 1. P. 726.
10. Walsh R.N., Cummins R.A. The open-field test: a critical review. // Psychol. Bull. 1976. Vol. 83. P. 482-504.