

На правах рукописи

Улитко Мария Валерьевна

РОЛЬ МОНОЦИТОВ-МАКРОФАГОВ В АДАПТИВНЫХ РЕАКЦИЯХ  
КРОВЕТВОРНОЙ ТКАНИ ПРИ ДЕЙСТВИИ НА ОРГАНИЗМ  
ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ФАКТОРОВ

03.00.13. – «Физиология»

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Екатеринбург - 2008

Работа выполнена на кафедре физиологии человека и животных Уральского государственного университета им. А.М.Горького и в лаборатории иммунофизиологии института иммунологии и физиологии УрО РАН

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор,  
заслуженный деятель науки РФ  
Юшков Борис Германович

Официальные оппоненты: академик РАМН, доктор медицинских наук,  
профессор, заслуженный деятель науки РФ  
Захаров Юрий Михайлович  
  
доктор биологических наук  
Проценко Юрий Леонидович

Ведущая организация: ГУ Гематологический научный центр РАМН, г. Москва

Защита состоится «    » июля 2008 года в    часов на заседании диссертационного совета Д 004.027.01 в Институте иммунологии и физиологии УрО РАН по адресу: 620049, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 106

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке УрО РАН (620219, г. Екатеринбург, ул. С.Ковалевской / Академическая, 22/20), с авторефератом – на сайте Института иммунологии и физиологии УрО РАН – [http://www. iip.uran.ru](http://www.iip.uran.ru)

Автореферат разослан «    »    2008 года

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
доктор медицинских наук, профессор

Тузанкина И. А.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

*Актуальность исследования.* Проблема иммунологической регуляции гемопоэза в физиологических условиях и при экстремальных воздействиях на организм является актуальной в современной биологии и медицине. Важную роль в регуляции функциональной активности гемопоэтических клеток отводят системе мононуклеарных фагоцитов [Ю.М. Захаров и А.Г. Рассохин, 2002, Y. Sadahira et al., 1999, T. Yokoyama et al., 2003]. Моноциты-макрофаги костного мозга, являясь центральной клеткой эритробластического островка, обладают высоким аффинитетом по отношению к эритроидным клеткам [M. Bessis et J. Breton-Gorius, 1961, M. Bessis, 1978, M. Haspal, 1997, B.O. Fabriek, 2007], регулируют их пролиферацию и дифференцировку [Y.M. Zakharov, M. Prenant, 1982, E. Ingleby et al., 2004], создают специфическое гемопоэтическое микроокружение [Н.В. Тишевская, 2003], продуцируют биологически активные гуморальные факторы [И.С.Фрейдлин, 1995, I.N. Rich, 1988], обеспечивая адаптивные реакции кроветворной ткани при экстремальных воздействиях.

В настоящее время установлено, что эритропоэтические свойства центральных макрофагов эритробластических островков зависят от функционального состояния системы мононуклеарных фагоцитов [Н.М. Новиков, 1982, Ю.М. Захаров, 1992], которое, в свою очередь, находится под контролем большого количества взаимосвязанных между собой факторов. Существенная роль в регуляции гемопоэтической функции макрофагов отводится межклеточному взаимодействию и влиянию нейроэндокринной системы [Е.Д. Гольдберг и соавт., 2000, А.М. Дыгай и соавт., 2004].

Вместе с тем, многие вопросы, касающиеся роли моноцитов-макрофагов костного мозга в адаптивных реакциях системы крови, еще далеки от своего решения.

Это касается, прежде всего, реакции системы мононуклеарных фагоцитов при воздействии на организм экстремальных факторов. Требуют дальнейшей расшифровки конкретные регуляторные механизмы эритропоэза, протекающие с участием макрофагов. Не полностью идентифицированы вырабатываемые макрофагами гуморальные факторы и механизмы регуляции функциональной активности макрофагов костного мозга.

Не менее важным представляется вопрос о взаимосвязи макрофагальных механизмов регуляции эритропоэза с другими регуляторными системами организма, в частности с нейроэндокринной системой. В современной литературе эта проблема освещена достаточно противоречиво [В.Э. Цейликман и соавт., 1991, Е.Д. Гольдберг и соавт., 1997, Е.Г. Скурихин и соавт., 2001, А.М. Дыгай и соавт., 2004, D.O. Adams, 1994].

Данные литературы свидетельствуют о реализации нейроэндокринных влияний на функциональную активность моноцитов-макрофагов костного мозга через локальные клеточные взаимодействия [А.М. Дыгай и соавт., 1989, В.А. Клименко и соавт., 1991, Ю.М. Захаров и Н.В. Тишевская, 1997]. Однако исследованы далеко не все конкретные способы межклеточного взаимодействия центральных макрофагов эритробластических островков с другими компонентами гемопозиндуцирующего микроокружения. До конца не расшифрованы и механизмы межклеточной кооперации макрофагов и Т-лимфоцитов [В.П. Шахов и соавт., 1999].

Попытки изменения функциональной активности мононуклеарных фагоцитов с помощью иммуномодуляторов [Р.М. Хаитов и соавт., 1995, 2003], ставят вопрос о поисках эффективных лекарственных препаратов, для целенаправленной модуляции гемопозитической функции макрофагов

Таким образом, многие вопросы, касающиеся роли макрофагов в регуляции функциональной активности гемопозитических клеток при воздействии на организм экстремальных факторов, расшифровка конкретных механизмов эритропоэза, протекающих с участием моноцитов-макрофагов костного мозга, а также изучение взаимосвязи макрофагальных механизмов регуляции эритропоэза с другими регуляторными системами являются актуальной научной проблемой и требуют специальных целенаправленных исследований.

**Цель исследования:** оценить роль моноцитов-макрофагов костного мозга в адаптивных реакциях кроветворной ткани при действии на организм экстремальных факторов.

***Задачи исследования:***

1. Охарактеризовать реакцию моноцитарного ростка кроветворения при действии на организм различных экстремальных факторов: кровопотери, гипоксии, фенилгидразиновой анемии, иммобилизационного стресса, частичной гепатэктомии.
2. Проанализировать изменения эритропоэтической активности моноцитов-макрофагов костного мозга при действии на организм экстремальных факторов.
3. Оценить эритропоэтическую функцию моноцитов-макрофагов на фоне стимуляции функциональной активности системы мононуклеарных фагоцитов тамеритом.
4. Оценить эритропоэтическую функцию моноцитов-макрофагов при ингибировании функциональной активности системы мононуклеарных фагоцитов карагинаном.
5. Проанализировать некоторые механизмы регуляторного влияния надпочечников на эритропоэтическую функцию моноцитов-макрофагов.
6. Определить роль медиаторов вегетативной нервной системы - адреналина и ацетилхолина в макрофагальной регуляции эритропоэза.
7. Исследовать влияние продуктов секреции тучных клеток – гепарина и гистамина на реакции моноцитов-макрофагов костного мозга.

***Научная новизна исследования:***

Проведен сравнительный анализ реакции моноцитов-макрофагов костного мозга при действии на организм экстремальных факторов. Показано, что активация моноцитопоэза является неспецифической реакцией моноцитарного ростка кроветворения на экстремальные воздействия.

Доказано, что эритропоэтическая функция моноцитов-макрофагов костного мозга зависит от количества и функционального состояния клеток системы мононуклеарных фагоцитов.

Установлено, что гормоны надпочечников, медиаторы вегетативной нервной системы и физиологически активные вещества, секретируемые тучными клетками, могут оказывать влияние на макрофагальную регуляцию эритропоэза, регулируя скорость и продолжительность развития адаптивных реакций в эритробластических островках.

Показана возможность целенаправленного воздействия на эритропоэтическую функцию макрофагов с помощью иммуномодуляторов, избирательно изменяющих функциональную активность моноцитарно-макрофагального звена.

***Теоретическая значимость работы.*** Результаты исследования позволяют расширить современные представления о роли системы мононуклеарных фагоцитов в формировании адаптивных и компенсаторных реакций гемopoэтической ткани при действии на организм экстремальных факторов. Выявлено, что реакция моноцитов-макрофагов костного мозга на экстремальные воздействия носит неспецифический характер и проявляется увеличением общего количества клеток моноцитарного ряда.

Результаты исследования позволяют раскрыть существенные моменты макрофагальной регуляции гемopoэза. Полученные данные доказывают, что для проявления эритропоэтической функции макрофагов эритробластических островков важным является функциональное состояние всей системы мононуклеарных фагоцитов.

Продемонстрировано, что реакция моноцитарного ростка кроветворения и эритропоэтическая функция макрофагов костного мозга контролируется нейроэндокринной системой и гемopoэзиндуцирующим микроокружением.

Проведенное исследование создает теоретическую основу для разработки новых методов влияния на макрофагальную регуляцию гемopoэза путем воздействия на функциональное состояние системы мононуклеарных фагоцитов.

***Практическая значимость работы.*** Теоретически обоснована возможность коррекции гемopoэтической функции макрофагов в клинической практике при гематологических заболеваниях, связанных с активацией или угнетением эритропоэза, путем целенаправленного воздействия на функциональную активность моноцитарно-макрофагального звена с помощью иммуностропных лекарственных препаратов.

***Положения, выносимые на защиту:***

1. Реакция мононуклеарных фагоцитов костного мозга на экстремальные воздействия проявляется неспецифическим увеличением общего количества клеток моноцитарного ряда. Выраженность и характер реакции активации моноцитопоеза определяется природой экстремального фактора.
2. Активация моноцитопоеза сопровождается изменением эритропоэтической функции моноцитов-макрофагов костного мозга и развитием адаптивной реакции в эритробластических островках костного мозга.
3. На эритропоэтическую функцию моноцитов-макрофагов костного мозга оказывают влияние количество и функциональное состояние клеток системы мононуклеарных фагоцитов.
4. Регуляции моноцитопоеза и эритропоэтических свойств макрофагов осуществляется с участием эндокринной и нервной систем, а также гемопоезиндуцирующего микроокружения.

***Апробация работы.*** Работа апробирована на заседании XI международного симпозиума «Эколого-физиологические проблемы адаптации» (г. Москва, 2003 г.), на I Всероссийской конференции « Физиология иммунной системы» (г. Сочи, 2003 г.), на III конференции иммунологов Урала (г. Челябинск, 2003 г.), на XIX съезде физиологического общества им. И.П.Павлова (г. Екатеринбург, 2004 г.), на 2-ой Всероссийской научно-практической конференции «Компенсаторно-приспособительные процессы: фундаментальные, экологические и клинические аспекты» (г. Новосибирск, 2004 г.), на Международном симпозиуме «Молекулярные механизмы регуляции функции клетки» (г. Тюмень, 2005), на I съезде физиологов СНГ (г. Сочи, 2005 г.), на Межрегиональной научно-практической конференции с международным участием «Типовые патологические процессы» (г. Уфа, 2005 г.), на V конференции иммунологов Урала (г. Оренбург, 2006 г.), на III съезде физиологов Урала (г. Екатеринбург, 2006 г.), на Региональной научно-практической конференции «Вопросы

интегративной физиологии» (г. Красноярск, 2007 г.). По материалам исследования опубликовано 15 научных работ, из них в изданиях, рекомендованных ВАК -3.

**Внедрение.** Результаты диссертационной работы используются в учебном процессе на кафедре физиологии человека и животных Уральского государственного университета имени А.М. Горького, в научных разработках Института иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация состоит из введения, шести глав, заключения и выводов. Работа изложена на 181 странице печатного текста, содержит 42 таблицы и 35 рисунков. Библиографический указатель включает 212 названий (из них 162 отечественных).

## СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

**Методические вопросы исследования.** В экспериментах использовали 440 белых беспородных крыс. В качестве экстремальных факторов применяли кровопотерю, гипоксическую гипоксию, фенилгидразиновую анемию, частичную гепатэктомию, иммобилизационный стресс.

Постгеморрагическую анемию у крыс вызывали однократным кровопусканием из хвостовой вены. Величина кровопотери составляла 2 % от массы тела животного. Исследование моноцитопоза и параметров системы эритрона проводили через 6 часов, на 1-е, 3-и, 7-е, 10-е и 14-е сутки после воздействия.

Прерывистую гипоксическую гипоксию получали путём помещения животных в барокамеру с приточно-вытяжной вентиляцией с разряжением 40,98 кПа, на 6 часов ежедневно в течение 7 суток. Показатели моноцитопоза и эритропоза оценивали после 4-го и 7-го сеансов.

Для моделирования фенилгидразиновой анемии применяли однократное внутрибрюшинное введение фенилгидразина в дозе 15мг/кг массы тела. Оценку показателей моноцитопоза и параметров системы эритрона проводили на 1-е, 3-и и 7-е сутки после воздействия.



Репаративную регенерацию печени индуцировали удалением 2/3 массы органа [G. M. Higgins, R. M. Anderson, 1931]. Исследование моноцитопоеза и параметров системы эритрона проводили через 4 и 17 часов после операции. Эти сроки соответствуют 2-м фазам регенерации пострезекционной печени: деструктивно-реактивной и пролиферативной, каждая из которых характеризуется своими особенностями пролиферативных процессов и метаболических реакций.

В качестве стрессорного фактора применяли иммобилизацию крыс (с сохраненными и удаленными надпочечниками) на операционном столике на спине в течение 6 часов однократно. Активность моноцитопоеза и эритропоеза оценивали сразу после иммобилизации и через 2-е суток после воздействия.

С целью изменения функционального состояния макрофагов были использованы препараты с противоположным действием: стимулятор функциональной активности макрофагов тамерит в дозе 2 мг/кг и ингибитор их функциональной активности каррагинан в дозе 10 мг / кг. Активность моноцитопоеза и эритропоеза оценивали через 4 часа и 17 часов после воздействия.

Для исследования роли нейроэндокринной системы в регуляции моноцитопоеза и эритропоетической функции моноцитов-макрофагов использовали методику адреналэктомии, введение гормонов надпочечников и медиаторов вегетативной нервной системы – преднизолона в дозе 12 мг/кг массы тела, адреналина в дозе 0.5 мг и ацетилхолина в дозе 125 мг/кг. Иммобилизацию животных проводили на 4-е сутки после двухсторонней адреналэктомии. Активность моноцитопоеза и эритропоеза оценивали сразу после иммобилизации и через 2-е суток после воздействия.

Для определения роли системы тучных клеток в регуляции моноцитопоеза и эритропоетической функции моноцитов-макрофагов применяли введение гепарина в дозе 150 ед. и гистамина в дозе 450 мг/кг. Активность моноцитопоеза и эритропоеза оценивали на 1-е и 3-и сутки после воздействия.

Активность моноцитопоеза и распределение моноцитов в кроветворной ткани определяли путем подсчета общего количества клеток моноцитарного ряда в миелограмме, а также в мазках и срезах костного мозга. Для идентификации всех элемен-

тов системы мононуклеарных фагоцитов применяли методику цитохимического выявления активности неспецифической эстеразы в клетках моноцитарно-макрофагального ряда в модификации G.Gomori. Подсчет моноцитов проводили на светооптическом микроскопе «Micros 4000» с масляной иммерсией при увеличении  $\times 1000$ .

Для оценки эритропоэтической функции моноцитов-макрофагов исследовали показатели красной крови, количественный и качественный состав эритробластических островков (ЭО), рассчитывали функциональные показатели эритропоэза в эритробластических островках, кроме того, оценивали «внеостровковый» эритропоэз. В данной работе под «внеостровковым» эритропоэзом понимается число свободных эритроидных клеток, не связанных с короной эритробластического островка. Этот показатель рассчитывали как разность между общим числом эритроидных клеток, определенным по миелограмме и их количеством в эритробластических островках костного мозга крыс.

Периферическую кровь исследовали с помощью гематологического анализатора Micros 60 фирмы ABX diagnostic.

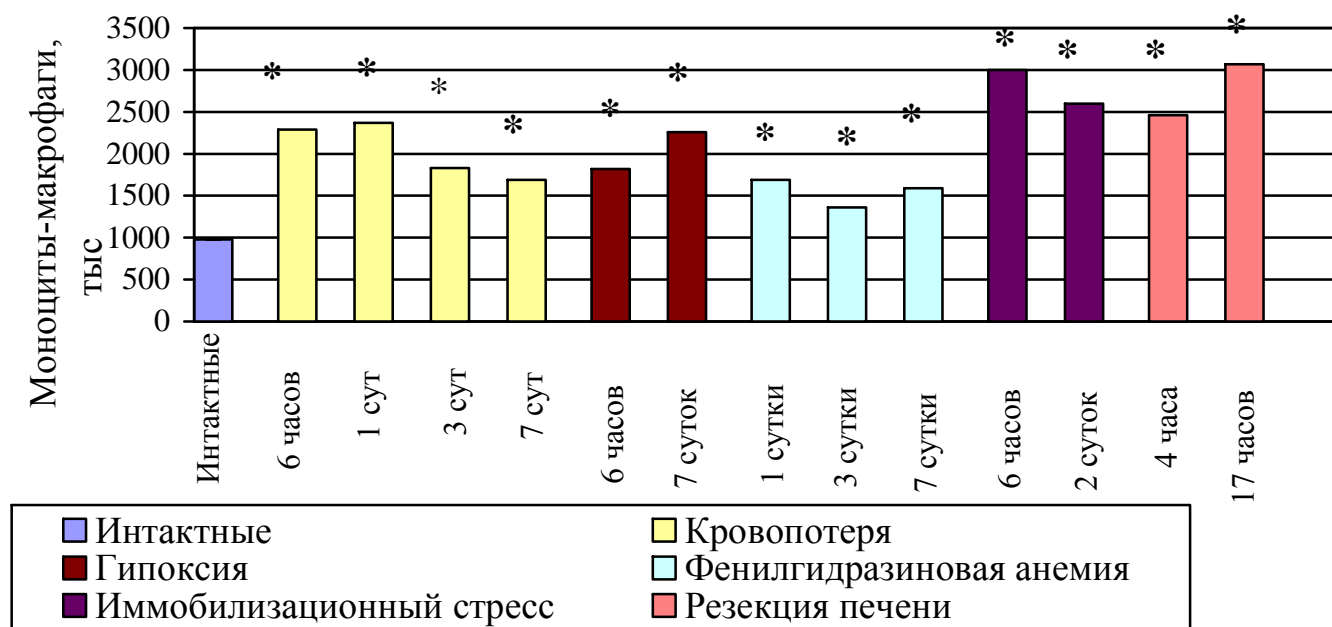
Выделение, количественная оценка и морфологическое исследование эритробластических островков костного мозга проводились по методике, разработанной Ю.М. Захаровым, И.Ю.Мельниковым и А.Г. Рассохиным (1984). Изучение морфологии и определение классов зрелости эритробластических островков осуществляли при увеличении  $\times 1000$  с масляной иммерсией. На основании полученных данных об абсолютном количестве ЭО в костном мозге животных и их распределении по классам зрелости рассчитывали функциональные показатели, дополнительно характеризующие состояние эритропоэза: общее количество эритроцитарных колониеобразующих единиц (КОЕэ), вступивших в дифференциацию, показатель интенсивности вовлечения КОЕэ в дифференциацию, показатель длительности созревания ЭО, показатель повторного вовлечения макрофагов в эритропоэз.

Обработку результатов проводили на основе методов вариационной статистики, используя компьютерную программу «Microsoft Excel» и «Статистика». Вычис-

лялась средняя арифметическая величина, стандартное отклонение, ошибка средней арифметической величины. Для оценки значимости различий между группами использовали критерии Стьюдента и Манна-Уитни.

### **Результаты исследования и их обсуждение.**

Полученные данные свидетельствуют, что реакция моноцитарного ростка на различные экстремальные воздействия складывается из неспецифического и специфического компонентов. Неспецифический проявляется увеличением общего количества клеток моноцитарного ряда в костном мозге при всех исследованных видах воздействий (рисунок 1). Выраженность и характер реакции активации моноцитопоэза можно рассматривать, как специфический компонент, определяемый природой экстремального фактора.



**Рисунок 1. Динамика общего количества моноцитов-макрофагов в костном мозге бедренной кости крыс при экстремальных воздействиях**

Примечание: \*- достоверные отличия от группы интактных животных

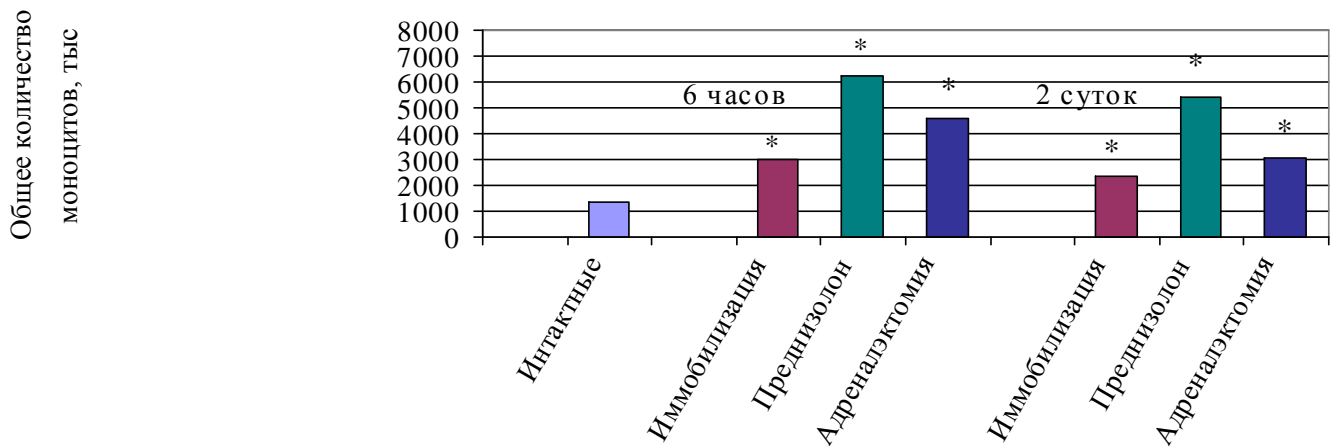
При гипоксических воздействиях проявление реакции моноцитарного ростка зависит от скорости и механизма развития тканевой гипоксии. В результате быстрого удаления из циркуляции эритроцитов и гемоглобина при кровопотере, или в связи с разрушением эритроцитов при фенилгидразиновой анемии активация моноци-

топозза наиболее выражена уже в 1-е сутки после воздействия. При гипоксической гипоксии активация моноцитопоза развивается постепенно, по мере увеличения числа сеансов и развития тканевой гипоксии. Возможно, данный эффект объясняется чувствительностью макрофагов к эритропоэтину, продукция которого при тканевой гипоксии резко возрастает. Согласно литературным данным, эритропоэтин повышает фагоцитарную активность макрофагов, стимулирует лизосомальные процессы, а также, при взаимодействии с КСФ-ГМ и ИЛ-3, способствует пролиферации данных клеток [Е.Д. Громыхина и соавт.,1997, Ю.М. Захаров и соавт.,1997, В.А. Козлов, 2003, I.N. Rich, 1991].

Иммобилизация активует моноцитарный росток кроветворения в течение 6 часов после воздействия. Этот эффект может быть обусловлен действием гормонов надпочечников, которые индуцируют секреторную функцию макрофагов [Д.Н. Маянский, 1981, Е.Д. Гольдберг, 1991, Е.Л.,Насонов, 1999], блокируют синтез ФНО- $\alpha$ , угнетающего моноцитопоз, вызывают вазоконстрикцию и снижают проницаемость сосудов, замедляя миграцию моноцитов из костного мозга в кровь [Д.Н. Маянский, 1985, Е.Д. Гольдберг и соавт., 1990]. При стрессе может иметь значение усиление миграции в костный мозг Т-лимфоцитов, которые в кооперации с элементами гемопоэзиндуцирующего микроокружения усиливают пролиферацию и дифференцировку кроветворных клеток-предшественников [А.М. Дыгай и соавт.,1989, В.П. Шахов и соавт., 1999].

Участие глюкокортикоидных гормонов в регуляции моноцитопоза подтверждается в экспериментах с введением синтетического глюкокортикоидного препарата – преднизолона. Под влиянием преднизолона наблюдается более значительное, чем при иммобилизационном стрессе увеличение количества клеток моноцитарного ряда в костном мозге, не сопровождающееся моноцитозом в периферической крови (рисунок 2). Полученные результаты косвенно подтверждают предположение некоторых авторов о «сдерживающем» влиянии глюкокортикоидных гормонов на миграцию клеток крови из костного мозга, предохраняющем пул стволовых клеток от «перерасхода» [Е.Е. Фомичева и соавт., 1981, В.А. Козлов и соавт., 1982].

Результаты данного исследования позволяют ожидать угнетения моноцитопоэза при удалении надпочечников. Однако эксперименты с иммобилизацией адреналэктомированных крыс (рисунок 2), свидетельствуют об активации моноцитарного роста после воздействия, сопровождающейся увеличением выхода зрелых моноцитов в циркуляцию.



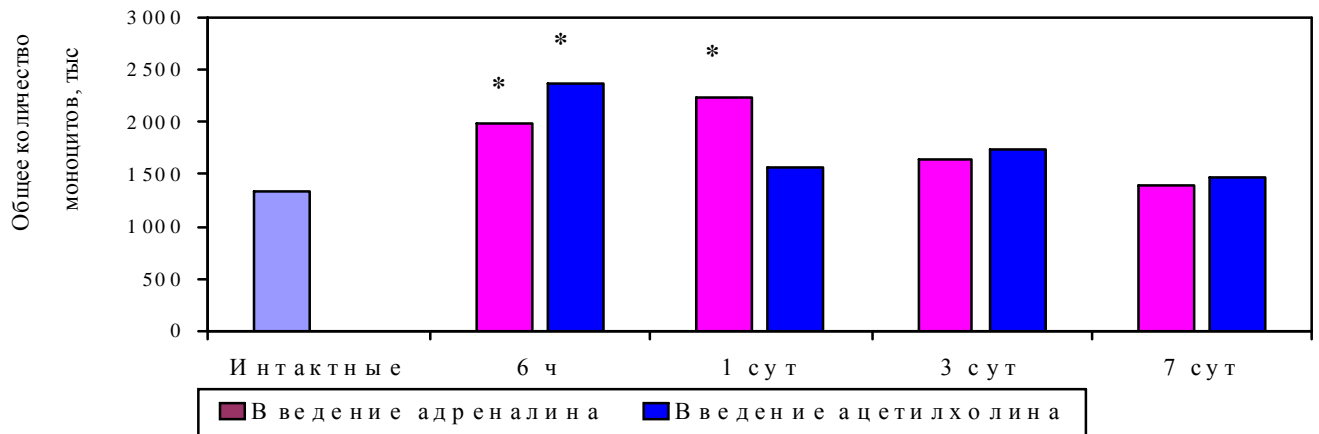
**Рисунок 2. Динамика общего количества моноцитов-макрофагов в костном мозге бедренной кости адреналэктомированных крыс после иммобилизации и у крыс после введения преднизолона**

Примечание: \*- достоверные отличия от группы интактных животных

Характерный для стресса эффект активации моноцитопоэза у адреналэктомированных животных свидетельствует о наличии дублирующих механизмов регуляции активности системы мононуклеарных фагоцитов (СМФ). В качестве такого механизма может выступать вегетативная нервная система. Введение адреналина и ацетилхолина вызывает быстрое, но кратковременное повышение общего количества моноцитов в костном мозге, а также активирует выход зрелых моноцитов в кровотоки (рисунок.3). Активирующее влияние медиаторов нервной системы может реализовываться через  $\alpha$ -адрено- и холинорецепторы, обнаруженные на мембране моноцитов [А.С. Савина и соавт., 1980, Е.Д. Гольдберг и соавт., 1997, А.Н. Grabowoi, 2002].

Сходство ранней реакции моноцитарного роста при стрессе у адреналэктомированных животных и у животных после введения адреналина и ацетилхолина, позволяет предположить, что именно вегетативная нервная система обеспечивает срочную регуляцию адаптивной реакции со стороны кроветворной ткани, на кото-

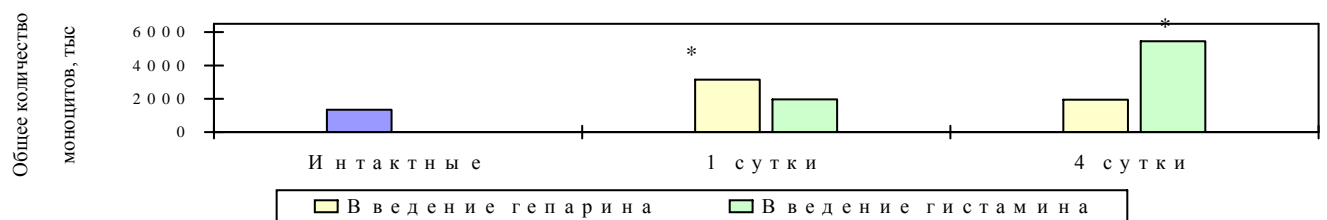
рую в реальных условиях накладывается влияние глюкокортикоидных гормонов и других факторов.



**Рисунок 3. Динамика общего количества моноцитов-макрофагов в костном мозге бедренной кости крыс после введения адреналина и ацетилхолина**

Примечание: \*- достоверные отличия от группы интактных животных

В регуляции моноцитопоеза участвует и гемопоезидирующее окружение, в частности тучные клетки, выделяющие широкий спектр биологически активных веществ. При введении гепарина в костном мозге происходит быстрое, но кратковременное увеличение числа моноцитов, сходное с реакцией моноцитарного роста при иммобилизационном стрессе или введении медиаторов вегетативной нервной системы. Гистамин вызывает более позднюю и значительную гиперплазию моноцитарного роста кроветворения (рисунок 4).



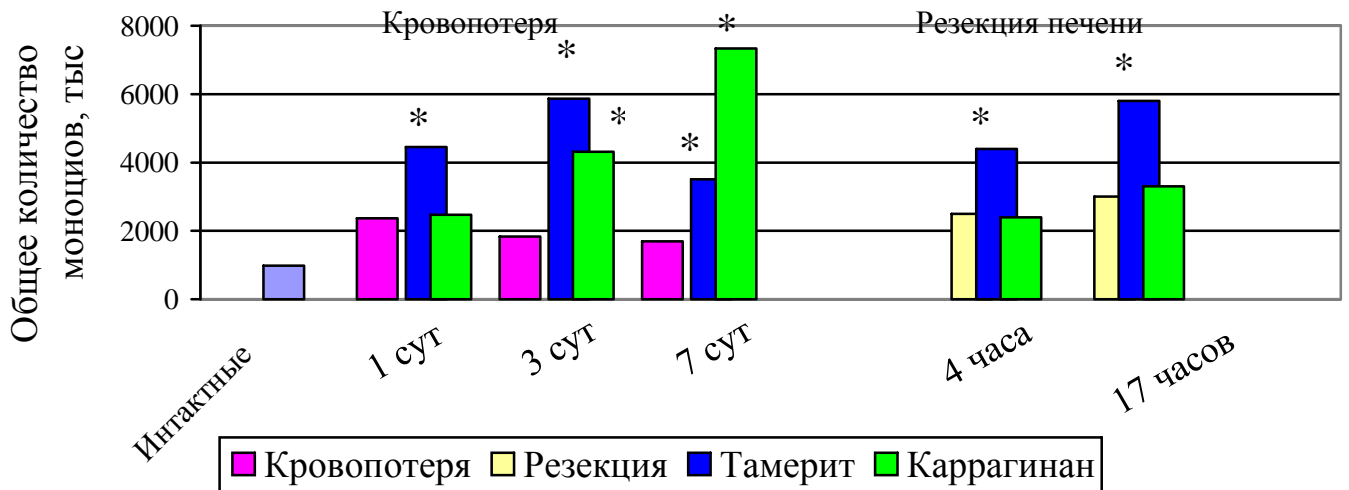
**Рисунок 4. Динамика общего количества моноцитов-макрофагов в костном мозге бедренной кости крысы после введения гепарина и гистамина**

Примечание: \*- достоверные отличия от группы интактных животных

Реакция моноцитарного роста на действие экстремальных факторов зависит от функционального состояния клеток СМФ. Стимуляция функциональной активно-

сти макрофагов иммуномодулятором тамеритом значительно усиливает и удлиняет время активации моноцитопоэза в ответ на кровопотерю и резекцию печени (рисунок 5).

При ингибировании функциональной активности макрофагов каррагинаном на фоне кровопотери, число моноцитов в костном мозге, начиная с 3-х суток, возрастает. Введение каррагинана при снижении количества клеток СМФ существенно не влияет на реакцию моноцитарного ростка.



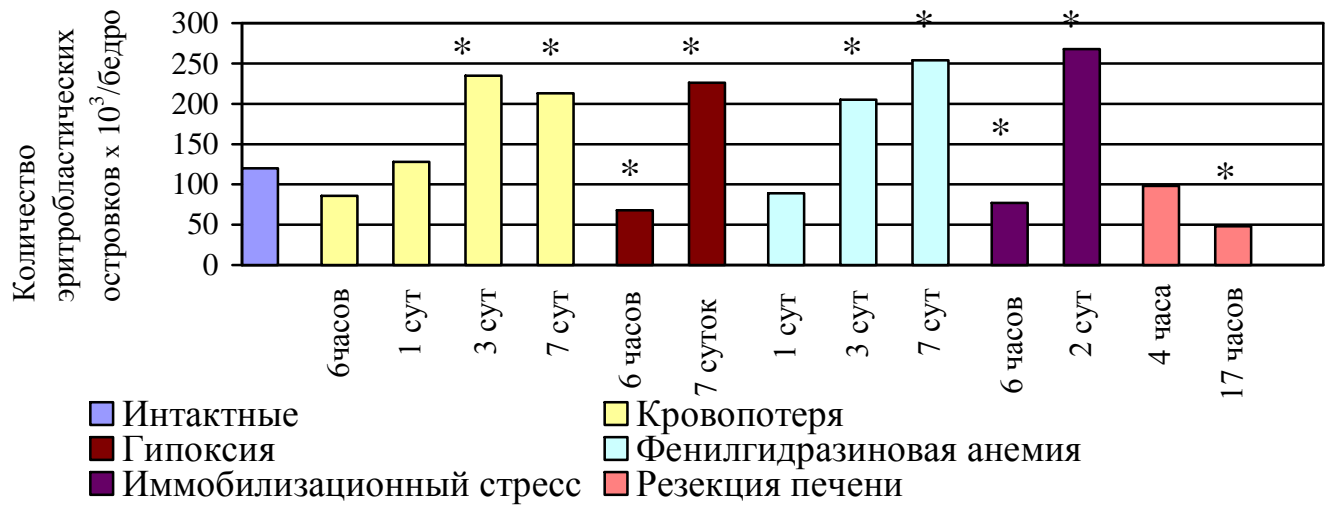
**Рисунок 5. Динамика общего количества моноцитов-макрофагов в костном мозге бедренной кости крысы после кровопотери и резекции печени при изменении функциональной активности системы мононуклеарных фагоцитов**

Примечание: \*- достоверные отличия от группы интактных животных

Одно из проявлений адаптивной роли макрофагов – их участие в образовании эритробластических островков и в регуляции пролиферации и созревания эритроидных клеток. Макрофаги эритробластических островков составляют лишь часть системы мононуклеарных фагоцитов костного мозга. Большая часть клеток моноцитарного ряда не участвует в формировании ЭО и составляет популяцию свободных моноцитов-макрофагов. Вместе с тем, роль макрофагов ЭО весьма существенна для адаптивной перестройки эритропоэза.

Все исследованные воздействия: кровопотеря, гипоксическая гипоксия, введение фенилгидразина, иммобилизация, изменяют эритропоэтическую функцию макрофагов (рисунок.б). Изменения эритропоэза затрагивают также «внеостровковую» часть кроветворной ткани и протекают в две стадии. Ранняя реакция кроветворной

ткани на действие экстремальных факторов является достаточно типичной и проявляется в ускорении созревания эритроидных клеток в ЭО. Полученные данные согласуются с современными представлениями о запуске стресс-эритропоэза в ранние сроки после действия экстремального фактора [Захаров Ю.М. с соавт., 2002].



**Рисунок 6. Содержание эритробластических островков в костном мозге крыс при экстремальных воздействиях**

Примечание: \*- достоверные отличия от группы интактных животных

Последующее изменение эритропоэза характеризуется специфическими для каждого вида воздействия особенностями, касающимися скорости и механизма развития этой реакции.

Восполнение потери эритроцитов при кровопотере обеспечивается компенсаторным выходом эритроидных клеток из «внеостровковой» части костного мозга в периферическую кровь, процессами активного образования новых ЭО и повторного вовлечения макрофагов в эритропоэз. Фенилгидразиновая анемия также сопровождается выходом «внеостровковых» эритроидных клеток в периферическую кровь и образования новых ЭО. При гипоксии основным фактором активации эритропоэза является новообразование ЭО и происходит накопление эритроидных клеток в костном мозге.

Иммобилизационный стресс характеризуется образованием новых эритробластических островков и повторным вовлечением макрофагов в этот процесс. Активация эритропоэза сопровождается интенсивным выходом «внеостровковых» эритроидных клеток из костного мозга.



На эритропоэтическую функцию макрофагов в ЭО влияют, как общее количество клеток системы мононуклеарных фагоцитов, так и их функциональная активность.

При уменьшении в организме числа клеток СМФ, в результате частичной резекции печени, наблюдается сокращение общего количества ЭО (рисунок 6). Эритропоэтическая функция обеспечивается повторным вовлечением макрофагов в эритропоэз, тогда как включения новых моноцитов в образование ЭО и расширения плацдарма эритропоэза не происходит, что, вероятно, объясняется участием моноцитов-макрофагов в регенераторных процессах печени.

Стимуляция функциональной активности макрофагов тамеритом при кровопотере приводит к более активному образованию новых ЭО и усилению повторного вовлечения макрофагов в эритропоэз (таблица 1). Однако при повреждении печени тамерит не оказывает стимулирующего влияния на эритропоэтическую функцию макрофагов (таблица 2), что свидетельствует о значении функционального состояния всей СМФ в эритропоэзе.

Таблица 1

**Динамика абсолютного количества эритробластических островков (ЭО) разных классов зрелости в костном мозге крыс после кровопотери при изменении функциональной активности системы мононуклеарных фагоцитов (? 10?/ бедро)**

Срок после кровопотери	Абсолютное количество ЭО	ЭО 1-го класса	ЭО 2-го класса	ЭО 3-го класса	Инволюцирующие ЭО	Реконструирующиеся ЭО
Интактные	118,89±11,51	4,66±0,92	16,24±0,52	18,61±1,06	55,97±2,33	23,42±0,36
<b>Тамерит</b>						
1 сут	100,28±9,36	22,74±1,63*	14,32±2,04	16,42±1,30* **	35,85±2,85*	13,57±0,74* **
3 сут	205,64±11,6	72,03±5,42* **	44,23±1,2* **	29,75±1,98*	34,41±2,63	26,13±4,73* **
7 сут	232,56±10,72	57,34±2,31* **	42,54±3,95* **	35,12±3,64	63,07±6,78	35,25±2,68* **
<b>Каррагинан</b>						
1 сут	36,6±2,38* **	8,04±0,13* **	9,76±0,58* **	7,85±0,51* **	4,53±0,64* **	6,95±0,75* **
3 сут	28,1±3,67* **	15,7±0,78* **	5,85±0,22* **	1,28±0,18* **	2,83±0,12* **	2,64±0,18* **
7 сут	7,86±0,27* **	2,87±0,18* **	2,28±0,25* **	1,73±0,35* **	0,82±0,02* **	0,74±0,04* **

Примечание: \* - достоверные отличия от группы интактных животных

\*\* - достоверные отличия от группы животных без введения препаратов

Таблица 2

**Динамика абсолютного количества эритробластических островков (ЭО) разных классов зрелости в костном мозге крыс после резекции печени на фоне изменения функциональной активности клеток системы мононуклеарных фагоцитов (? 10?/ бедро)**

Срок после воздействия	Интактные животные	Гамерит		Каррагинан	
		4 часа	17 часов	4 часа	17 часов
Абсолютное количество ЭО	90 ± 2,35	133,33 ± 6,08* **	61,66 ± 6,73*	79,34 ± 5,51	58,33 ± 8,37*
ЭО 1-го класса	3,87 ± 0,41	27,99 ± 1,39*	25,9 ± 1,55*	25,83 ± 1,80*	6,73 ± 0,47* **
ЭО 2-го класса	12,87 ± 1,54	22,21 ± 1,33*	12,63 ± 0,76*	21,33 ± 1,49*	13,39 ± 1,07
ЭО 3-го класса	10,44 ± 0,83	36,04 ± 2,16*	6,83 ± 0,4*	15,7 ± 1,25* **	16,76 ± 1,17* **
Инволюцирующие ЭО	47,61 ± 2,25	35,11 ± 1,75* **	11,41 ± 0,79* **	9,64 ± 0,67* **	13,39 ± 0,97* **
Реконструирующиеся ЭО	15,39 ± 1,37	11,70 ± 0,58*	4,39 ± 0,31*	6,08 ± 0,43* **	6,73 ± 0,54*

Примечание: \* - достоверные отличия от группы интактных животных

\*\* - достоверные отличия от группы животных без введения препаратов

Блокада фагоцитарной активности макрофагов каррагинаном при кровопотере вызывает резкое сокращение образования новых эритробластических островков и повторного вовлечения макрофагов в эритропоз. На фоне резекции печени угнетение эритропоэтической функции моноцитов костного мозга, проявляется в меньшей степени.

В организме функциональная активность макрофагов, а, следовательно, и их эритропоэтические свойства регулируются тесно взаимосвязанными нервными, эндокринными и локальными механизмами.

Большое значение для поддержания эритропоза в эритробластических островках имеют гормоны надпочечников [Захаров Ю.М. с соавт., 2002, Дыгай А.М. с соавт., 2004]. Активация эритропоза в эритробластических островках у животных после иммобилизационного стресса проявляется усилением формирования новых эритробластических островков, увеличением реконструкции уже существующих эритробластических островков, ускорением созревания эритроидных клеток и развитием ретикулоцитоза.

Эти процессы являются результатом взаимодействия гормонов коркового и мозгового вещества надпочечников. В результате целенаправленного воздействия на отдельные звенья надпочечниковой системы была предпринята попытка определить роль каждого компонента в регуляции эритропоэза.

После введения преднизолона в костном мозге происходит немедленная активация эритропоэза в эритробластических островках: повышается интенсивность вовлечения КОЕэ в дифференцировку, повторное вовлечения макрофагов в образование эритробластических островков, скорость созревания эритроидных клеток (таблица 3). В условия стресса эти изменения развиваются постепенно, ко 2-м суткам после начала воздействия. Подобный эффект, вероятно, обусловлен свойством глюкокортикоидных гормонов индуцировать секреторную функцию макрофагов, блокировать синтез цитокинов ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО -  $\alpha$ , угнетающих эритропоэз, и цитокиновых рецепторов. Доказано также, что глюкокортикоиды вызывают вторичную вазоконстрикцию и снижают проницаемость сосудов [Насонов Е.Л., 1987].

Таблица 3

**Динамика абсолютного количества эритробластических островков (ЭО) разных классов зрелости в костном мозге крыс после иммобилизационного стресса и после введения преднизолона (? 10?/ бедро)**

Время после воздействия	Абсолютное количество ЭО	ЭО 1-го класса	ЭО 2-го класса	ЭО 3-го класса	Инволюцирующие ЭО	Реконструирующиеся ЭО
Интактные	135,26±6,46	5,26±0,87	18,35±1,08	20,59±2,02	63,95±5,33	26,31±1,35
<b>Иммобилизация</b>						
6 час	76,64±10,16*	8,13±1,3*	20,80±3,61	12,88±2,08*	12,73±2,1*	18,88±3,8
2 сут	268,31±17,18*	58,78±6,8*	75,02±6,8*	23,03±3,39	47,02±8,7	51,22±6,8*
<b>Адреналэктомия +иммобилизация</b>						
6 часов	60,55±5,4*	9,81±2,18*	14,44±2,8	6,02±0,82* **	17,98±4,7*	12,22±1,88*
2 сутки	142,65±27,23**	41,99±9,04*	42,91±11,9* **	14,09±6,2	19,26±7,3* **	22,37±1,08**
<b>Преднизолон</b>						
6 часов	188,65±15,83*	44,37±5,48*	49,10±13,64*	18,73±2,78	41,1±6,7*	52,17±8,52*
2 сутки	157,98±7,35	64,03±3,7*	44,21±3,17*	7,4±1,05*	13,52±2,5*	28,56±1,8

Примечание: \* - достоверные отличия от группы интактных животных

\*\* - достоверные отличия от группы животных без адреналэктомии

Удаление надпочечников в целом не нарушает реализацию эритропоэтической функции моноцитов-макрофагов, но уменьшает выраженность адаптивной реакции эритроидной ткани на иммобилизацию. Так, у адреналэктомированных крыс наблюдается меньшая, по сравнению с неоперированными животными интенсивность образования эритропоэтических островков, более медленное созревание эритроидных клеток, менее активное повторное вовлечение макрофагов в эритропоэз, замедленное восстановление внеостровковой части эритрона после компенсаторной реакции выхода ретикулоцитов в циркуляцию. Уровень эритропоэтической активности у адреналэктомированных крыс практически не превышает физиологический, тогда как у здоровых животных иммобилизация приводит к напряжению эритропоэза (таблица 3).

Влияние медиаторов вегетативной нервной системы и физиологически активных веществ, секретируемые тучными клетками на эритропоэтическую функцию моноцитов-макрофагов реализуется различными способами (таблица 4). Адреналин способствует вовлечению новых макрофагов в эритропоэз, ацетилхолин и гистамин увеличивают интенсивность повторного вовлечения макрофагов в эритропоэз. Введение этих веществ приводит к ускорению созревания и выхода эритроидных клеток из зрелых эритробластических островков и «внеостровковой» части костного мозга. Под воздействием гепарина снижается интенсивность вовлечения КОЕэ в дифференцировку, замедляется скорость созревания и выход в кровь эритроидных клеток.

Как медиаторы вегетативной нервной системы, так и физиологически активные вещества, секретируемые тучными клетками могут оказывать модулирующее влияние на костномозговое кроветворение через моноциты, изменяя их функциональное состояние моноцитов, например, фагоцитарную или секреторную активность. Показано, что гистамин, действуя через  $H_1$  - рецепторы способен усиливать активность  $\alpha$ -нафтилацетатэстеразы в моноцитах и стимулировать секреторную активность мононуклеарных клеток. Действие адреналина и ацетилолина может реализовываться через адрено- и холинорецепторы на мембране полипотентной стволовой клетки крови и зрелых моноцитах [Е.Д. Гольдберг соавт., 1990].

Угнетающее воздействие гепарина на эритропозз вероятно связано с описанным в литературе отрицательным влиянием этого препарата на функциональную активность моноцитов, в частности, блокадой ряда макрофагальных ферментов [А.М. Дыгай с соавт., 1992].

Таблица 4

**Динамика абсолютного количества эритробластических островков (ЭО) разных классов зрелости в костном мозге крыс после введения препаратов (?10% бедро)**

Время после введения	Абсолютное количество	ЭО 1-го класса	ЭО 2-го класса	ЭО 3-го класса	Инволюцирующие ЭО	Реконструирующиеся ЭО
Интактные	118,89±11,5	4,66±0,92	16,24±0,52	18,61±1,06	55,97±2,33	23,42±0,36
<b>Адреналин</b>						
6 часов	88,14±9,69	21,02±4,72*	16,12±3,12	3,35±2,26*	23,54±3,3*	24,61±3,16
1 сутки	72,83±5,77*	19,74±2,38*	14,68±0,05*	4,21±0,45*	17,04±1,79*	22,54±0,59
3 сутки	281,78±23,31*	47,34±8,83*	46,68±4,32*	42,32±6,61*	82,55±9,57*	62,93±7,92*
7 сутки	97,61±13,39	6,32±1,09	26,91±6,42	29,01±6,42	11,48±2,1*	23,94±3,9
<b>Ацетилхолин</b>						
6 часов	86,90±10,11	8,76±2,28*	18,19±2,81	26,59±2,89	16,19±0,84*	16,66±2,13*
1 сутки	54,26±6,54*	16,27±3,39*	11,25±2,25	13,56±2,88	5,24±1,18*	7,96±1,72*
3 сутки	98,97±23,31	12,28±2,58*	30,2±7,65*	5,82±1,32*	21,46±2,2*	23,28±4,98
7 сутки	97,61±11,48	36,26±5,28*	35,32±3,67*	18,04±3,68	16,58±5,44*	5,76±1,85*
<b>Гепарин</b>						
1 сутки	51,32±5,01*	1,79±0,64*	2,88±1,05*	8,73±1,30*	23,35±2,72*	14,54±1,03*
4 сутки	29,44±4,16*	2,43±0,67*	2,49±0,56*	4,39±0,70*	13,64±1,9	7,71±1,16**
<b>Гистамин</b>						
1 сутки	76,99±6,13*	26,04±2,65*	24,88±1,91	8,65±0,75*	10,51±1,34*	5,88±1,34*
4 сутки	265,39±28,49*	46,18±5,13*	97,45±10,06*	39,65±4,53*	27,92±3,41*	56,12±6,01*

Примечание: \*- достоверные отличия от группы интактных животных

Таким образом, регуляции моноцитопоза и эритропоэтических свойств макрофагов осуществляется различными взаимосвязанными механизмами с участием эндокринной и нервной систем, а также гемопоэз-индуцирующего микроокружения.

## ВЫВОДЫ

1. Типичной реакцией моноцитарного ростка кроветворения на различные экстремальные воздействия является неспецифическая активация моноцитопоза. Скорость и продолжительность этой реакции определяются природой экстремального фактора.

2. Активация моноцитопоза сопровождается изменением эритропоэтической функции моноцитов-макрофагов костного мозга и развитием адаптивной реакции в эритробластических островках и «внеостровковой» части костного мозга. Ранние сроки после действия экстремального фактора характеризуются ускорением созревания и выхода эритроидных клеток из эритробластических островков. Дальнейшая активация эритропоэза определяется специфическими для каждого воздействия особенностями.

3. При острой кровопотере адаптивная реакция эритроидного ростка кроветворения обеспечиваются компенсаторным выходом эритроидных клеток из «внеостровковой» части костного мозга в периферическую кровь, а также процессами активного образования новых эритробластических островков и повторного вовлечения макрофагов в эритропоэз.

4. Адаптивная реакция кроветворной ткани при фенилгидразиновой анемии проявляется новообразованием эритробластических островков и выходом «внеостровковых» эритроидных клеток в периферическую кровь.

5. При гипоксической гипоксии активация эритропоэза разворачивается главным образом в эритробластических островках костного мозга. Основным фактором активации эритропоэза являются пролиферативные процессы во вновь образованных эритробластических островках, сопровождающиеся накоплением эритроидных клеток в костном мозге.

6. Иммобилизационный стресс сопровождается образованием новых эритробластических островков, повторным вовлечением макрофагов в этот процесс и выходом «внеостровковых» эритроидных клеток из костного мозга.

7. Эритропоэтическая функция макрофагов зависит как от количества клеток, так и от функционального состояния клеток системы мононуклеарных фагоцитов. На удаление части клеток системы мононуклеарных фагоцитов костный мозг отвечает уменьшением числа эритробластических островков и активацией повторного вовлечения макрофагов в эритропоэз. Стимуляция функциональной активности макрофагов тамеритом приводит к усилению эритропоэтической функции макрофагов ко-

стного мозга. Блокада фагоцитарной активности макрофагов каррагинаном угнетает эритропоэтическую функцию моноцитов костного мозга.

8. Эритропоэтическая функция моноцитов - макрофагов находится под контролем эндокринной системы, регулирующей интенсивность развития адаптивных реакций в эритробластических островках. Введение преднизолона сопровождается немедленной активацией эритропоэза в эритробластических островках. У адреналэктомированных животных наблюдается менее интенсивная активация эритропоэза.

9. Медиаторы вегетативной нервной системы адреналин и ацетилхолин активируют эритропоэтическую функцию макрофагов и выход «внеостровковых» эритроидных клеток из костного мозга. Адреналин способствует расширению плацдарма эритропоэза за счет новообразования эритробластических островков. Ацетилхолин увеличивает интенсивность повторного вовлечения макрофагов в эритропоэз.

10. Регуляция эритропоэза в эритробластических островках осуществляется при взаимодействии макрофагов с тучными клетками. Под воздействием гистамина увеличивается интенсивность образования новых эритробластических островков, повторного вовлечения макрофагов в эритропоэз, скорость созревания и выхода эритроидных клеток из эритробластических островков. Гепарин снижает интенсивность образования эритробластических островков, замедляет скорость созревания и выход в кровь эритроидных клеток.

### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Улитко М.В., Юшков Б.Г. Особенности реакции костного мозга на гипоксию // Иммунология Урала. – 2003. – № 1 (3). – С.68-69.
2. Улитко М.В. Особенности реакции моноцитарного ростка кроветворения на кровопотерю // Эколого-физиологические проблемы адаптации: материалы XI международного симпозиума. – М., 2003. – С.557-558.
3. Улитко М.В., Юшков Б.Г. Роль моноцитов-макрофагов в адаптивных реакциях кроветворной ткани при экстремальных воздействиях // International Journal on Immunorehabilitation. – М., 2003. – Т.5. – №2. – С.166.

4. Сумин М.Н., Данилова И.Г., Улитко М.В., Юшков Б.Г. Реакция системы эритрона белых крыс на резекцию печени // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2004. – Т. 90, № 8. – Прил., ч.2. – С.149.
5. Улитко М.В., Юшков Б.Г. Роль моноцитов костного мозга в адаптивных реакциях кроветворной ткани при стимуляции эритропоэза // Российский физиологический журнал им. И.М.Сеченова. – 2004. – Т. 90, № 8. – Прил., ч.2. – С.242-243.
6. Улитко М.В., Юшков Б.Г. Участие моноцитов-макрофагов в компенсаторно-приспособительных реакциях кроветворной ткани // Компенсаторно-приспособительные процессы: фундаментальные, экологические и клинические аспекты: материалы второй Всероссийской научно-практической конференции.- Новосибирск, 2004. – С.79.
7. Абидов М.Т., Юшков Б.Г., Данилова И.Г., Сумин М.Н., Улитко М.В., Старовойтенко Ю.Л. Изменение эритропоэза в процессе регенерации печени после частичной гепатэктомии // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2005. – Т. 139. – №5. – С.507-513.
8. Юшков Б.Г., Абидов М.Т., Данилова И.Г., Сумин М.Н., Улитко М.В. Роль отдельных звеньев иммунной системы в формировании реакций красной крови после частичной гепатэктомии // Молекулярные механизмы регуляции функции клетки: международный симпозиум. – Тюмень, 2005. – С.106-107.
9. Улитко М.В., Юшков Б.Г., Ослина Д.С. Влияние медиаторов вегетативной нервной системы на макрофагальную регуляцию эритропоэза // Научные труды I съезда физиологов СНГ. – М., 2005. –Т. 2. – С.94.
10. Юшков Б.Г., Данилова И.Г., Улитко М.В., Чиши М.А., Игнатенко И.Н.. Особенности эритропоэза в эритробластических островках костного мозга в процессе регенерации печени после частичной гепатэктомии // Здравоохранение Башкортостана. – 2005. – № 7. – С.221-224.



11. Улитко М.В., Быкова М.Ю., Юшков Б.Г. Роль гормонов надпочечников в макрофагальной регуляции эритропоэза // Иммунология Урала. – 2006. – № 1(5). – С.29-30.
12. Улитко М.В., Шутова С.А., Юшков Б.Г. Влияние гепарина и гистамина на эритропоэтическую функцию моноцитов-макрофагов костного мозга // Иммунология Урала. – 2006. – № 1(5). – С.30-31.
13. Юшков Б.Г., Улитко М.В., Быкова М.Ю., Шутова С.В. Надпочечниковая регуляция эритропоэтической функции макрофагов // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2006. – № 2-3 (15). – С.48.
14. Улитко М.В., Кореньяк Д.А., Изменения в центральном звене эритропоэза в условиях адаптивного переноса лимфоцитов // Материалы региональной научно-практической конференции. – Красноярск, 2007. – С.165-167.
15. Данилова И.Г., Юшков Б.Г., Абидов М.Т., Чиши М.А., Тюменцева Н.В., Гетте И.Ф., Улитко М.В. Влияние макрофагального звена иммунной системы на восстановительный рост тканей // Сибирский консилиум: медико-фармацевтический журнал. – 2007. – № 7 (62). – С.33.

## **СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

КОЕэ - колониеобразующая единица эритроцитарная

ЭО - эритробластический островок

СМФ - система мононуклеарных фагоцитов

КСФ-ГМ - колониестимулирующий фактор гранулоцитарно-моноцитарный

ИЛ - интерлейкин

ФНО - фактор некроза опухоли