

УДК 616.411-003.971

**ХАРАКТЕР ИЗМЕНЕНИЯ ЭРИТРОПОЭЗА В ЭРИТРОБЛАСТИЧЕСКИХ
ОСТРОВКАХ ПОСЛЕ ОСТРОГО ГАММА-ОБЛУЧЕНИЯ
В СУБЛЕТАЛЬНОЙ ДОЗЕ**

Тишевская Н.В., Лебедева Я.Е.

ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, Россия (454092, Челябинск, ул. Воровского, 64), e-mail: natalya-tishevskaya@yandex.ru

Характер эритропоэза оценивали по качественному и количественному составу эритробластических островков в костном мозге крыс, рассчитывали показатели созревания эритробластов, индексы вовлечения колониеобразующих единиц эритроцитарных (КОЕ-Э) и макрофагов в эритропоэз. Острое однократное γ -облучение в сублетальной дозе приводит к торможению эритропоэза в эритробластических островках костного мозга крыс. В костном мозге подопытных животных через 14 суток после облучения общее количество эритробластических островков в 2 раза меньше, чем у контрольных животных, а эритропоэз поддерживается только за счет присоединения КОЕ-Э к макрофагам involuцирующих островков, т.е. за счет процесса реконструкции (эритропоэз de repeto). У облученных крыс в центральном звене эритроноса замедляется созревание эритробластов, снижается общее количество начавших дифференцировку КОЕ-Э и интенсивность их вовлечения в эритропоэз.

Ключевые слова: γ -облучение, эритропоэз, эритробластический островок, колониеобразующая единица эритроцитарная

**NATURE OF CHANGE ERYTHROPOIESIS IN ERYTHROBLASTIC ISLANDS
AFTER ACUTE GAMMA IRRADIATION IN A SUBLETHAL DOSE**

Tishevskaya N.V., Lebedeva Ya.E.

South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia (454092, Chelyabinsk, Vorovsky str., 64), e-mail: natalya-tishevskaya@yandex.ru

The nature of the erythropoiesis we assessed by qualitative and quantitative composition of erythroblastic islands in the bone marrow of rats, was calculated indices of maturing erythroblasts, involvement erythrocyte colony forming units (CFU-E) and macrophages in erythropoiesis. Acute single γ -irradiation in a sublethal dose leads to inhibition of erythropoiesis in erythroblastic islands of rat's bone marrow. In the bone marrow of experimental animals 14 days after irradiation the total number of erythroblastic islands is 2 times less than in the control rats', erythropoiesis is maintained only by the adhesion of CFU-E with macrophages of mature islets (erythropoiesis de repeto). After irradiation in the central part erythron the maturation of erythroblasts slowed down, total number of differentiating CFU-E and the intensity of their involvement in the erythropoiesis reduced.

Keywords: γ -irradiation, erythropoiesis, erythroblastic island, erythrocyte colony forming units, CFU-E

Введение

Конечный этап развития эритроидных клеток в костном мозге у млекопитающих происходит в эритробластических островках (ЭО) – клеточных ассоциациях, представляющих собой центрально расположенный макрофаг с «коронной» эритроидных клеток разной степени зрелости. Изучение количественного и качественного состава ЭО позволяет изучить особенности взаимодействия между клетками разных гемопоэтических линий, охарактеризовать эффекты цитокинов, гормонов, различных биологически активных веществ и лекарственных препаратов на эритропоэз *in vivo* и *in vitro* [2,4,6,8,9]. Морфологический анализ клеток, входящих в состав ЭО, дает возможность рассчитать в единице объема кровяной ткани количество колониеобразующих единиц эритроцитарных (КОЕэ), вступивших в дифференцировку в костном мозге, определить синхронность волн амплификации при дифференцировке и созревании эритробластов, оценить характер из-

менения межклеточных взаимодействий в костном мозге при разных состояниях эритропоэза. Так, при экспериментальной полицитемии, при воздействии молекул средней массы, выделенных из крови обожженных животных, при добавлении в культуральную среду тормозящих эритропоэз соединений, при моделировании застойной спленомегалии были выявлены нарушение процесса формирования новых ЭО и замедление созревания эритроидных клеток как в условиях *in vitro*, так и в костном мозге подопытных животных [1,7]. Воздействие эритропоэтина, катехоламинов или антиоксидантов, напротив, приводило к активации эритропоэза в ЭО, проявляющейся ускорением процесса формирования новых ЭО на основе контактов свободных костномозговых макрофагов с КОЕэ и стимуляцией реконструкции островков, уже имеющих зрелую эритроидную «корону» [2,3,5]. Целью данного исследования явилось определение характера влияния острого γ -облучения на развитие эритроидных клеток в ЭО костно-

го мозга и выявление закономерностей постлучевой регенерации эритроидной ткани, связанных с интенсивностью новообразования ЭО и их поэтапным развитием.

Материалы и методы

Эксперименты были проведены в соответствии с Национальным стандартом Российской Федерации «Принципы надлежащей лабораторной практики», утвержденным и введенным в действие Приказом Ростехрегулирования №544-ст от 02.12.2009. Все манипуляции с животными производили под эфирным наркозом, эвтаназию грызунов осуществляли путем цервикальной дислокации, также проводимой под эфирным наркозом. 20 белых беспородных крыс-самок массой 200-230 г были подвергнуты однократному острому сублетальному γ -облучению, поглощенная доза радиации для каждой крысы составила 6 Гр, эквивалентная доза – 6 Зв. Через 14 суток после облучения животные были выведены из эксперимента с целью оценки состояния эритропоэза. В суспензии костного мозга определяли общее количество ЭО, а после адгезии островков к поверхности чашки Петри – их распределение по классам зрелости согласно классификации Ю.М. Захарова. «Корона» ЭО 1 класса (ЭО1) была представлена проэритробластами и базофильными эритробластами с числом клеток от 2 до 8; «корона» ЭО 2 класса (ЭО2) – базофильными и полихроматофильными эритробластами с числом клеток от 9 до 16; ЭО 3 класса (ЭО3) содержали от 17 до 32 полихроматофильных и оксифильных эритробластов; «корона» инволюцирующих островков (ЭОинв) состояла из полихроматофильных, оксифильных эритробластов и ретикулоцитов с числом ядросодержащих клеток менее 16. Реконструирующиеся островки (ЭОрек) имели в своей «короне» как зрелые клетки (оксифильные эритробласты и ретикулоциты), так и молодые проэритробласты и/или базофильные эри-

тробласты. Для оценки темпа развития ЭО в культуре использовались расчетные показатели: 1. интенсивность вовлечения КОЕэ в дифференцировку (ЭО1 + ЭОрек); 2. общее количество КОЕэ, вступивших в дифференцировку (число ЭО всех классов зрелости + ЭОрек); 3. показатель созревания эритробластов (ЭО3 + ЭОинв / ЭО1 + ЭО2 + ЭОрек); 4. показатель повторного вовлечения макрофагов в эритропоэз (ЭОрек / ЭОинв). Полученные результаты обрабатывались методами описательной статистики с расчетом средних значений, ошибки среднего, доверительных интервалов, стандартного отклонения. Сравнения групп проводились методами непараметрической статистики с использованием критериев Манна-Уитни и хи-квадрат.

Результаты и обсуждение

Через 14 дней после однократного острого γ -облучения в сублетальной дозе общее количество ЭО в костном мозге крыс было в 2 раза меньше, чем у интактных животных (таблица). При анализе качественного состава ЭО было установлено, что функции центрального звена эритрона у облученных животных к этому сроку поддерживались, в основном, за счет реконструкции: новые островки формировались только при присоединении КОЕэ к макрофагам, уже имеющим зрелую эритроидную «корону» (образование ЭОрек – эритропоэз de repeto). В то же время сам процесс повторного вовлечения макрофагов в эритропоэз тоже был существенно замедлен, что нашло свое отражение в изменении показателя повторного вовлечения макрофагов в эритропоэз – после лучевого воздействия он уменьшился в 3 раза.

Эритропоэз в ЭО после острого γ -облучения

| | контроль (n=10) | опыт (n=10) |
|---|-----------------|-------------|
| Общее количество ЭО (103/бедр. кость) | 281,3±5,1 | 149,6±2,2* |
| % ЭО1 | 5,2±0,01 | 0,2±0,001* |
| % ЭО2 | 7,4±0,02 | 0,5±0,01* |
| % ЭО3 | 26,5±0,08 | 13,4±0,05* |
| % ЭОинв | 50,1±0,1 | 79,2±0,2* |
| % ЭОрек | 11,3±0,01 | 5,8±0,02* |
| Общее количество КОЕэ, вступивших в дифференцировку в ЭО (103/бедр. кость) | 310,3±3,4 | 158,5±0,8* |
| Интенсивность вовлечения КОЕэ в дифференцировку (103/бедр. кость) | 45,7±1,1 | 9,1±0,04* |
| Показатель созревания эритробластов (усл. ед.) | 3,3±0,01 | 5,3±0,01* |
| Показатель повторного вовлечения макрофагов в эритропоэз (усл. ед.) | 0,22±0,001 | 0,07±0,001* |
| Примечание: * – достоверность различий между опытной и контрольной группами (p<0,05). | | |

ЭО1 и ЭО2 в костном мозге облученных животных практически отсутствовали, что свидетельствует о нарушении меха-

низмов комплексации свободных костномозговых макрофагов с КОЕэ. Общее количество КОЕэ, вступивших в последнюю ста-

дию дифференцировки, в этот момент было в 2 раза меньше, чем в здоровом организме, а интенсивность вовлечения этих эритроидных клеток-предшественниц в эритропоэз в ЭО уменьшилась в 5 раз. В целом, вся совокупность ЭО в костном мозге облученных животных через 2 недели после воздействия более чем на 90% представляла собой ассоциации макрофагов с созревающими и зрелыми эритроидными элементами – оксифильными эритробластами и ретикулоцитами.

При анализе последовательности этапов развития эритроидных клеток ЭО (от ЭО1 до ЭОинв) нами было отмечено явное несоответствие между числом ЭО2 и ЭО3 (ЭО2 составляли только 0,5% от всех островков, а ЭО3 – 13,4%). Это свидетельствует о том, что острое лучевое воздействие привело к нарушению не только пролиферации и дифференцировки эритроидных клеток, но и к замедлению их созревания, что подтверждается изменением показателя созревания эритробластов, который в группе подопытных животных был в 1,6 раза выше, чем в контроле.

Таким образом, угнетение эритроидного ростка кроветворения, возникающее после радиационного воздействия, связано не только с торможением пролиферации ранних клеток-предшественниц в костном мозге [10], но и с нарушением терминальных стадий эритропоэза. Эти нарушения возникают на всех этапах формирования и развития ЭО: при присоединении КОЕэ/проэритробластов к свободным костномозговым макрофагам (эритропоэз *de novo*), при адгезии КОЕэ/проэритробластов к «короне» зрелых островков, а также при созревании оксифильных эритробластов.

Список литературы

1. Волчегорский И.А., Тишевская Н.В., Кузнецов Д.А. Влияние «средних молекул», выделенных из плазмы крови интактных и обожженных животных, на клеточный состав культур эритробластических островков костного мозга. Вестник Российской академии медицинских наук. 2002. № 2. С. 30-36.
2. Волчегорский И.А., Тишевская Н.В., Дементьева Е.В. Антианемическое действие реамберина в остром периоде аллоксанового диабета у крыс. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2008. Т. 71. № 6. С. 23-27.
3. Захаров Ю.М., Тишевская Н.В., Шемяков С.А., Макарова Н.А., Шапошник И.И. Антигипоксические и протекторные свойства эритропоэтина. Медицинская наука и образование Урала. 2008. Т. 9. № 2. С. 40-43.
4. Корнилова Н.В., Захаров Ю.М., Рассохин А.Г. О возможной роли кислых гликозаминогликанов в поддержании эритропоэза в эритробластических островках костного мозга. Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 1994. Т. 80. № 3. С. 83-87.
5. Тишевская Н.В. Влияние катехоламинов на эритропоэз в культуре эритробластических островков. Известия Челябинского научного центра УрО РАН. 2004. № 8. С. 97-101.
6. Тишевская Н.В., Болотов А.А., Захаров Ю.М. Математическое моделирование межклеточных взаимодействий в культуре эритробластических островков. Медицинский академический журнал. 2005. Т. 5. № 4. С. 50-59.
7. Тишевской И.А., Захаров Ю.М., Тишевская Н.В. Влияние острой застойной спленомегалии на состояние эритронов у крыс. Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 2001. Т. 87. № 3. С. 353-359.
8. Харченко М.Ф., Корнилова Н.В., Захаров Ю.М., Битюкова Е.С. Гликозаминогликаны эритробластических островков костного мозга крыс. Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 1994. Т. 80. № 11. С. 32-36.
9. Харченко М.Ф., Корнилова Н.В., Захаров Ю.М., Битюкова Е.С. Гликозаминогликаны эритробластических островков при угнетении и последующей стимуляции эритропоэза. Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. 1995. Т. 81. № 7. С. 141-144.
10. Щербакова Е.Н. Поражение и восстановление системы крови при острой лучевой патологии. Механизмы лучевой патологии (под ред. Ю.Б. Кудряшова). М.: Изд-во МГУ. 1984. С. 62-70.