

УДК 616.155.1 – 007.1 – 07

## КОСТНЫЙ МОЗГ ПОСЛЕ КРОВОПОТЕРИ: СОДЕРЖАНИЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА МИЕЛОКАРИОЦИТОВ

Бельченко Д.И., Фомина Ю.В., Есипова А.В.

*Тверская государственная медицинская академия, Тверь*

**Острая массивная кровопотеря сопровождается быстрым и продолжительным уменьшением клеточности костного мозга подопытных животных и содержания в нём миелокариоцитов гранулоцитарного и в меньшей степени эритроидного рядов. При этом изменяются и функциональные свойства миелокариоцитов, в частности, их цитолитическая активность. Высказано предположение, что уменьшение клеточности костного мозга после кровопотери обусловлено выбросом миелокариоцитов в кровеносное русло, что в известной мере подтверждается одновременным существенным увеличением содержания в крови лейкоцитов и созревающих форм гранулоцитов. Одновременно наблюдалась сохранность количества клеток-предшественниц кроветворения - эритробластов, что могло быть вызвано увеличением инкреции эритропоэтина, и нарастание количества миелобластов, что может быть связано с потерей костным мозгом большого количества гранулоцитов. Обсуждается влияние нейроэндокринных сдвигов, вызванных кровопотерей, на изменения состава костного мозга после кровопотери.**

Острая массивная кровопотеря вызывает интенсивно развивающиеся изменения жизнедеятельности организма, среди которых подробно изучены защитно-приспособительные реакции нейроэндокринной, сердечно-сосудистой, дыхательной и выделительной систем и патогенные последствия циркуляторных расстройств, активации тромбоцитарной, свёртывающей и противосвёртывающей систем, метаболических сдвигов. Но состояние костного мозга, основного фактора, восполняющего потерю форменных элементов крови, практически не исследовано. Известно лишь, что одним из приспособительных изменений костномозгового кроветворения, направленных на восполнение объёма кислородоносителя, является активация эритропоэза, вызванная возросшей инкрецией эритропоэтина юкстагломерулярным аппаратом почек под влиянием развившейся циркуляторно - гемической гипоксии. Других сведений о реакции костного мозга на острую кровопотерю и сведений о влиянии кровопотери на его клеточный состав в доступной литературе не найдено. Дефицит информации во многом объясняется отсутствием необходимости исследования костного мозга при лечении последствий острой кровопотери. Это побудило провести его исследование при острой массивной кровопотере в условиях эксперимента. Выявленные при этом изменения клеточного состава костного мозга позволили предположить их обусловленность вызванными кровопотерей реакциями нейроэндокринной системы. Для выяснения реальности этого предположения было

исследовано влияние преднизолона на состояние костного мозга.

### МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В экспериментах было использовано 25 интактных беспородных кроликов массой тела от 2.5 до 3 кг. Костный мозг аспирировали пункцией эпифизов большеберцовых и бедренных костей под местной новокаиновой анестезией. Мазки аспирированных после их фиксации окрашивали по Гимзе. Одновременно подсчитывали содержание миелокариоцитов. Для суждения о функциональной активности миелокариоцитов при подсчёте миелограммы учитывали количество эритрокластических кластеров с экзоцитарным лизисом эритроцитов и без него [1]. Острую кровопотерю воспроизводили у 15 интактных кроликов выпуская из краевой вены уха 30-45% объёма циркулирующей крови. Преднизолон 10 интактным кроликам вводили внутривенно медленно из расчёта 2 мкг на кг массы животных. Мазки аспирированных костного мозга исследовали световой микроскопией. Статистическую обработку результатов исследования проводили на компьютере с использованием программы «Биостатистика».

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

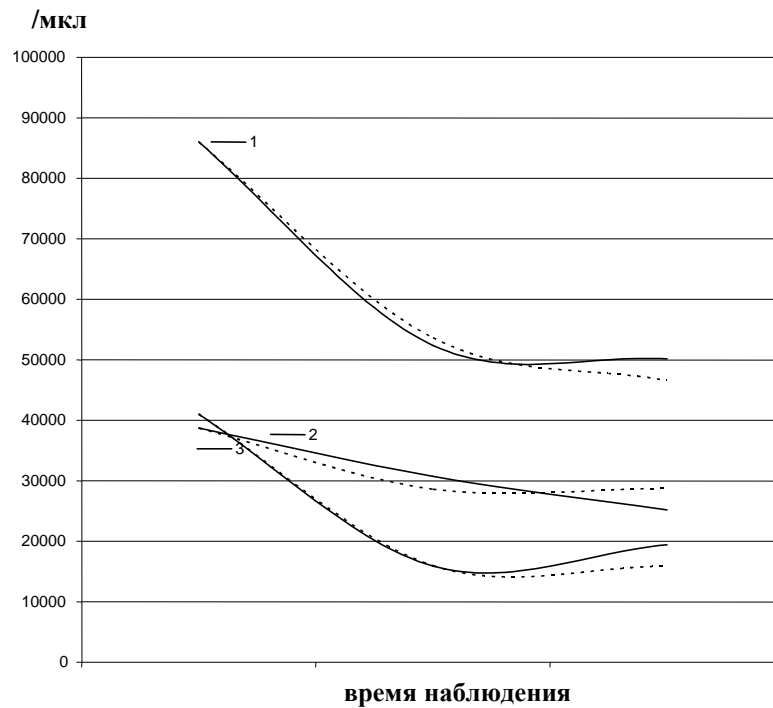
Через день после острой массивной кровопотери и на протяжении последующих трёх дней слежения наблюдалось значительное уменьшение клеточности костного мозга подопытных животных: Количество миелокариоцитов в мкл костного мозга после кровопотери и в последующие дни снижалось с  $86000 \pm 6300$  до

43290±4800 ( $P < 0.001$ ). При этом преимущественно уменьшалось содержание клеток гранулоцитарного ряда всех степеней зрелости: от промиелоцитов до сегментоядерных нейтрофилов включительно, во всех случаях  $P < 0.01$ . Количество эозинофильных и базофильных миелокариоцитов на протяжении 4-х дней после кровопотери было уменьшено наполовину. Однако одновременно постепенно увеличивалось количество миелобластов, возраставшее к концу исследования в два раза, что можно рассматривать как реакцию костного мозга, направленную на восполнение уменьшенного количества миелокариоцитов гранулоцитарного ряда. В меньшей степени, но статистически значимо, уменьшалось и количество нормоцитов, тогда как содержание эритробластов и пронормоцитов не изменялось. Возможно, сохранность количества этих клеток обеспечивалась увеличением инкреции эритропоэтина, вызванной острой кровопотерей. Это подтверждается появлением в костном мозге на следующий после кровопотери день и в последующие дни больших количеств делящихся эритрокариоцитов.

Таким образом, на протяжении 4-х дней после острой кровопотери наблюдалась убыль гранулоцитов всех стадий созревания. Её величина была постоянной и составляла 47-62% от исходного количества этих клеток. В этот же период содержание нормоцитов постепенно уменьшалось: их убыль возрастала от 20% до 45% от исходного количества. В итоге вместо предполагавшегося увеличения клеточности костного мозга после кровопотери наблюдалось быстрое и значительное уменьшение количества миелокариоцитов эритроидного и гранулоцитарного рядов. Это могло быть связано с ускорением созревания этих клеток. Однако предпочтительнее объяснить это явление вторичными, вызванными кровопотерей, защитно-приспособительными реакциями, в частности, резкой активацией нейроэндокринной системы. Действительно, массивная кровопотеря вызывает возбуждение ведущих стресс-реализующих систем - гипоталамо-симпато-адренормедуллярной и гипоталамо-гипофизарно-кортикоадреналовой, что приводит к увеличению содержания в крови адреналина (иногда в 100 раз), глюкокортикоидов и альдостерона [3,4]. Поэтому было исследовано влияние преднизолона на состояние костного мозга подопытных животных. Высказанное выше

предположение подтвердилось возникновением реакции костного мозга на введение преднизолона уже через несколько часов. Она характеризовалась существенными изменениями клеточного состава костного мозга, совпадающими с характером изменений состава костного мозга после кровопотери. Как и после кровопотери, после введения преднизолона почти в 2 раза уменьшилось общее количество миелокариоцитов: с 86000±6300 в мкл костного мозга до 46600±3570 ( $P < 0.001$ ). Так же, как и после кровопотери значительно снизилось содержание промиелоцитов, миелоцитов, палочкоядерных, и особенно сегментоядерных нейтрофилов. Во всех случаях  $P < 0.001$ . Уменьшилось и количество базофилов. Уменьшение количества гранулоцитов сопровождалось выраженным уменьшением содержания в костном мозге эритробластов, пронормоцитов и нормоцитов ( $P < 0.01$ ). Уменьшение содержания в аспиратах костного мозга эритробластов и пронормоцитов и отсутствие делящихся эритрокариоцитов после введения преднизолона могло быть вызвано отсутствием увеличения инкреции эритропоэтина и адреналина, также стимулирующего костномозговой эритропоэз [6], тогда как после острой кровопотери содержание в крови этих гормонов значительно возрастает [5]. Это, по всей вероятности, и обуславливает сохранность при ней исходного количества клеток-предшественниц эритропоэза.

Суммарная убыль гранулоцитарных миелокариоцитов после введения преднизолона составила 34%, эритроидных – 47% от их исходных величин. Таким образом, изменения состава костного мозга после острой кровопотери и после введения преднизолона имеют качественно сходный характер (рис.1). При обоих исследованных состояниях происходит быстрое и значительное уменьшение содержания в костном мозге эритроидных и гранулоцитарных миелокариоцитов, трудно объяснимое изменениями кроветворения в течение нескольких часов после введения преднизолона или через день после острой кровопотери. Более вероятным представляется объяснить это явление выбросом миелокариоцитов из костного мозга в кровеносное русло. Это предположение подтверждается наблюдавшимся через день после острой кровопотери и в последующие дни существенным увеличением содержания в крови метамиелоцитов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов.



**Риснок 1.** Характер изменения содержания миелокарицитов в мкл. костного мозга кроликов после острой кровопотери или введения преднизолона

— Изменение количества миелокарицитов после острой кровопотери

----Тоже после введения преднизолона

1 – общее содержание миелокарицитов

2 – содержание эритрокарицитов

3 – содержание гранулоцитарных миелокарицитов

Изменения количества различных видов миелокарицитов после введения преднизолона (то есть, после увеличения концентрации в крови глюкокортикоидов) могли быть вызваны его непосредственным воздействием на структурно-функциональные образования костного мозга. Поэтому и сходство реакций костного мозга на острую кровопотерю и на введение преднизолона может быть объяснено одним, общим для обоих состояний обстоятельством - возникающим при кровопотере и после введения преднизолона увеличением содержания в крови глюкокортикоидов.

Изменения состава костного мозга при исследуемых состояниях сопровождались изменениями функциональных свойств миелокарицитов. Уже на следующий день после кровопотери наблюдалось уменьшение образования образуемых миелокарицитами из эритроцитов эритроклазических кластеров с  $4060 \pm 121$  до  $2180 \pm 350$  ( $P < 0.001$ ) в мкл костного мозга. Уменьшенным оно оставалось и в последующие 4 дня. Уменьшение количества эритроклазических кластеров было обусловлено уменьшением после кровопотери количества миелокарицитов. Это подтверждается статистически достоверной связью между изменениями величин количеств миелокари-

цитов и образованных ими эритроклазических кластеров ( $r=0.92$ ,  $P=0.03$ ). В наибольшей степени уменьшалось количество кластеров, образованных миелокарицитами гранулоцитарного ряда. Одновременно с уменьшением количества гранулоцитарных миелокарицитов, всё большая их часть образовывала эритроклазические кластеры. Так, перед кровопотерей кластеры образовывали 0.7% гранулоцитарных миелокарицитов, через день после неё 1,1%, через 2 дня – 4.3%, через 3 – 2.4% и через 4 дня – 3.7%, различие с исходной величиной во всех случаях статистически достоверно:  $P < 0.01$ . Это свидетельствует об увеличении кластеробразующей способности гранулоцитов. Несмотря на уменьшение содержания эритрокарицитов, количество образованных ими эритроклазических кластеров после кровопотери не изменялось. Следовательно, их способность к кластерообразованию после кровопотери возрастала. Более чем в 2 раза увеличивалась способность макрофагов образовывать эритроклазические кластеры. Таким образом, кровопотеря сопровождается увеличением способности миелокарицитов эритроидного и гранулоцитарного рядов и костномозговых макрофагов к кластерообразованию. При этом существенно возрастала и интенсивность происходяще-

го в эритроклазических кластерах экзоцитарного лизиса эритроцитов. До кровопотери экзоцитарный лизис эритроцитов в кластерах осуществляли 0.7% гранулоцитов и 0.3% эритрокариоцитов, после неё – соответственно 2.35% гранулоцитов и 0.7% эритрокариоцитов. В эритроклазических кластерах, образованных макрофагами до кровопотери, экзоцитарного лизиса эритроцитов не происходило. Но уже на следующий день после неё и в последующие дни он наблюдался в 3.1% – 5.2% макрофагальных кластеров. Таким образом, цитолитическая активность гранулоцитов, эритрокариоцитов и макрофагов после кровопотери возрастала.

После введения преднизолона, так же, как и после кровопотери, общее количество эритроклазических кластеров, как и количество образующих их миелокариоцитов, уменьшалось почти в 2 раза. При этом количество гранулоцитарных кластеров уменьшалось наполовину. Резко уменьшалось и количество кластеров, образованных эритрокариоцитами, что в обоих случаях было с уменьшением количества этих клеток. Количество эритроклазических кластеров, образованных макрофагами, после введения преднизолона не изменялось. Эти данные свидетельствуют о подавлении преднизолоном кластеробразующей активности миелокариоцитов гранулоцитарного и эритроидного рядов. Уменьшение образования гранулоцитарных эритроклазических кластеров после введения преднизолона сопровождалось активацией происходящего в них экзоцитарного лизиса эритроцитов. Цитолитическая активность гранулоцитов возрастала при этом более, чем в 2 раза. Цитолитическая активность кластерообразующих эритрокариоцитов после введения преднизолона уменьшалась пропорционально уменьшению количества этих клеток. В эритроклазических кластерах, образованных макрофагами, экзоцитарный лизис

эритроцитов после введения преднизолона полностью отсутствовал во все сроки наблюдения. Следовательно, преднизолон увеличивал цитолитическую активность гранулоцитарных миелокариоцитов и подавлял её у макрофагов и эритрокариоцитов.

Таким образом, острая кровопотеря и введение преднизолона приводили к быстрому и продолжительному уменьшению содержания в костном мозге миелокариоцитов гранулоцитарного и эритроидного рядов. Но функциональные свойства гранулоцитарных миелокариоцитов, эритрокариоцитов и макрофагов изменялись различно. Сходство изменений количества миелокариоцитов после кровопотери или введения преднизолона, вызвано увеличением концентрации в крови глюкокортикоидов при этих состояниях. Различие реагирования эритрокариоцитов на кровопотерю и преднизолон обусловлены преобладающим влиянием на эти клетки увеличения при кровопотере содержания в крови эритропэтина и адреналина, не происходившего после введения преднизолона.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бельченко, Д.И. //Клин. лаб. диагностика. - 1993. - N 4. - С. 9-13.
2. Воробьев А.И. //Врач, 2003, № 2, С. 3-4.
3. Воробьев А.И., В.М. Городецкий, Е.М. Шулуто, С.А. Васильев «Острая массивная кровопотеря», 2001, М.: Издательский дом РОЭТАР-МЕД, 176 с.
4. Кожура В.Л., И.С. Новодержкина, А.К. Кирсанов //Анестезиология и реаниматология, 2002, №6, С. 73-77.
5. Морщакова Е.Ф. //Антибиотики и химиотерапия, 2000, Т. 45, № 12., С. 12-15.
6. Скурихин Е.Г., А.М. Дыгай, Н.В. Привалова, М.Ю. Минакова, Н.И. Сулова //Бюлл. эксп. биол. и мед., 2005, №5, С. 495-501.

#### **MARROW AFTER KROVOPOTERI: CONTENTS AND FUNCTIONAL CHARACTERISTIC MIELOKARIOCITOV**

*Bel'chenko D.I., Fomina Yu.V., Esipova A.V.  
Tverskaya state medical academy, Tver*

Acute massive hemorrhage is accompanied by fast and long – term reduction in the bone marrow cellularity and its myelokariocytes content of granulocytic and to a lesser extent of erytroid lines in experimental animals. Along with this functional properties of myelokariocytes are altered their cytolytic activity in particular. A suggestion has been made that bone marrow cellularity reduction after blood loss is due to myelokariocytes release into the bloodstream – the fact that is to a certain extent confirmed by simultaneous significant increase in the content of leucocytes and maturing granulocytes forms in blood. At the same time the number of the cells – precursors of hemopoiesis – erythroblasts – remained unchanged that might be the result of elevation of erythropoietin increment and the rise in myeloblasts number and this might be associated with great number of granulocytes lost by bone marrow. The effect of neuroendocrine shifts caused by blood loss on the changes of bone marrow structure after hemorrhage is discussed.