

## Механизмы регуляции системы крови при кислородной недостаточности и участие нейральных стволовых клеток в адаптации к гипоксии

Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Зюзьков Г.Н.

### Blood system regulation mechanisms in oxygen insufficiency and participation of neural stem cells in the adaptation to hypoxia

Goldberg Ye.D., Dygai A.M., Zyuz'kov G.N.

НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН, г. Томск

© Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Зюзьков Г.Н.

Проведено развернутое исследование механизмов регуляции и дизадаптации системы крови при гипоксии различного генеза. Показана отрицательная роль энцефалопатии и связанной с ней активации адренергической системы организма на кроветворение, проявляющаяся в нарушении эритропоэза и продукции патологических форм эритроцитов. Установлено участие мезенхимальных стволовых клеток костного мозга в формировании гематологических сдвигов и увеличение содержания нейральных клеток-предшественников в центральной нервной системе в условиях дефицита кислорода. Выявлена несостоятельность указанных механизмов адаптации «глубокого резерва» при тяжелых формах гипоксии, проявляющаяся в конечном итоге в развитии энцефалопатии и дизадаптации кроветворной ткани.

Ключевые слова: гипоксия, энцефалопатия, гемопоэз, гемопоэз-индуцирующее микроокружение, мезенхимальные стволовые клетки, нейральные клетки-предшественники.

Large-scale study of regulation and disadaptation mechanisms of blood system in hypoxia of different genesis is performed. Negative influence of encephalopathy and associated with it adrenergic system activation on hemopoiesis is shown which manifests in disturbed erythropoiesis and production of pathologic forms of erythrocytes. Participation of bone marrow mesenchymal stem cells and increased content of neural cells-precursors in central nervous system in conditions of oxygen deficiency are revealed. Failure of the given adaptation mechanisms of "deep reserve" in severe hypoxia which manifests in the development of encephalopathy and disadaptation of hemopoietic tissue is revealed.

Key words: hypoxia, encephalopathy, hemopoiesis, hemopoiesis-induced micro-environment, mesenchymal stem cells, neural cells-precursors.

УДК 612.1:512.273.2].001.6

#### Введение

В середине 30-х гг. прошлого столетия основным направлением исследований Д.И. Гольдберга было изучение структуры нормальных и патологических форм эритроцитов. Итогом выполненных работ стала его докторская диссертация «Базофильная субстанция эритроцитов» (1938), в которой на модели фенилгидразиновой анемии были продемонстрированы принципиально новые данные о сущности патологической регенерации эритроцитов и предложена оригинальная проба для ее измерения (индекс патологической регенерации) [4]. В конце 1940-х гг. под руководством профессора Д.И. Гольдберга на кафедре патофизиологии Томского мединститута был проведен цикл работ, направленных на исследование роли центральной нервной системы (ЦНС) в патогенезе гемолитической анемии, представ-

ляющей собой по современной классификации один из вариантов гемической кислородной недостаточности. В экспериментах на моделях гипоксии, вызываемой введением фенилгидразина и других гемолитических ядов, были изучены особенности течения и исхода развивающихся патологических состояний в условиях наркоза, декорткации, создания парабактериального торможения, перерезки спинного мозга, спинномозговой анестезии, а также влияние коркового динамического стереотипа на характер формирующихся гематологических сдвигов. Проведенные исследования показали, что в развитии анемии имеет значение не только непосредственное поражение эритроцитов гемолитическим ядом, но и функциональное состояние различных отделов нервной системы, которая в ряде случаев может оказывать защитный эффект [5].

Продолжением исследований в данном направлении, касающихся изучения механизмов регуляции кроветворения и факторов, влияющих на формирование гематологических сдвигов уже при различных видах кислородной недостаточности (гипоксическая гипоксия, гемолитическая анемия и кровопотеря), стали работы, выполненные в лаборатории патофизиологии и экспериментальной терапии НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН (г. Томск) под руководством академика РАМН Е.Д. Гольдберга.

На сегодняшний день известно, что унетение аэробного окисления в тканях головного мозга при гипоксии существенно реорганизует ЦНС, а в случае декомпенсации механизмов адаптации запускает цепь патологических процессов, приводящих к прогрессирующим расстройствам деятельности многих внутренних органов [1]. В то же время при гипоксии мозг сам становится объектом влияния органной патологии: нарушений гемодинамики, иммунного статуса, гемостаза и прочих факторов [1, 2]. Система крови играет одну из ключевых ролей в поддержании гомеостаза и формировании адекватных компенсаторно-приспособительных реакций организма при кислородной недостаточности.

С другой стороны, согласно имеющимся представлениям, регуляция кроветворения осуществляется тесным взаимодействием локальных и дистантных контролирующих механизмов. При этом координирующая функция в развитии ответа гемопозитической ткани на воздействия неблагоприятных факторов принадлежит именно центральному (нейроэндокринному) звену регуляции [7, 10]. В литературе достаточно подробно описаны изменения состояния периферической крови и костномозгового кроветворения при различных гипоксических воздействиях. Из многочисленных данных о регуляции гемопоза следует, что она осуществляется комплексом факторов, обладающих разнонаправленным действием и образующих сложную многоступенчатую систему, последовательность включения отдельных звеньев которой, их значимость в адаптации и компенсации определяются как степенью выраженности воздействия, так и его продолжительностью [2, 3, 17, 21]. Однако до сих пор во многом еще не изучена роль как локальных, так и дистантных механизмов регуляции гемопоза при гипоксии различного генеза и степени тяжести. Кроме того, в мировой литературе отсутствуют сведения об участии механизмов адаптации к гипоксии «глубокого резерва» костного мозга — мезенхимальных стволовых клеток (МСК), обладающих уникальной способностью к самоподдержанию, миграции в отдаленные органы и высокой пластичностью [8, 24, 26], — в развитии ответа гемопозитической ткани на гипоксию, а также о роли регионарных ней-

ральных стволовых клеток головного мозга, способных, по современным представлениям, существенно влиять на пластичность ЦНС [23], в компенсации нарушений деятельности головного мозга, вызванных дефицитом кислорода.

В связи с вышеизложенным было проведено развернутое исследование механизмов регуляции и дизадаптации системы крови при кислородной недостаточности [8, 13–15], а также изучение динамики содержания регионарных нейральных стволовых клеток в головном мозге при гипоксии различного генеза и степени тяжести [16].

Исследования были выполнены на мышцах линии СВА/СaLac массой 18–20 г ( $n = 3147$ ). Экспериментальными моделями служили гипоксия гермообъема (ГГО); гемолитическая анемия (ГА), моделируемая введением солянокислого фенилгидразина в дозе 30 мг на 1 кг массы тела животного; кровопотеря (КТ) в объеме 30% от объема циркулирующей крови; а также энцефалопатия, вызванная гипоксией гермообъема [18]; энцефалопатия, развивающаяся вследствие введения высокой дозы гемолитического яда [19], и энцефалопатия, связанная с массивной кровопотерей [20]. Показатели системы крови определяли на 1–10-е сут с помощью автоматического гематологического анализатора, стандартных, культуральных, иммунологических [11] и иммуноферментных методов. Кроме того, изучали содержание нейральных клеток-предшественников в паравентрикулярной области головного мозга [16, 23] и количество мезенхимальных стволовых клеток в костном мозге и периферической крови [24].

Гипоксия различного генеза приводила к выраженной гиперплазии эритроидного ростка кроветворения. Отражением активации костномозгового компартмента системы эритрона в периферической крови являлось возрастание количества ретикулоцитов, достигающее максимальных значений после введения гемолитического яда. Динамика содержания эритроцитов при этом определялась спецификой воздействия и характеризовалась падением числа эритроцитов и гематокрита после эксфузии 30% объема циркулирующей крови и введения фенилгидразина и, напротив, развитием эритроцитоза после гипоксической гипоксии. При этом качественный анализ форменных элементов во всех трех группах показал снижение осмотической резистентности эритроцитов на фоне увеличения их объема, вероятно, являющегося следствием поступления большого количества молодых форм эритроцитов в кровь [6]. Со стороны гранулоцитопоза при моделировании гипоксии любой этиологии имело место в разной мере выраженное повышение содержания незрелых и зрелых нейтрофильных гранулоцитов в ге-

мопозитической ткани, сопровождаемое развитием незначительного нейтрофильного лейкоцитоза.

Указанным изменениям гемопоэза предшествовало усиление колониеобразующей способности костного мозга. Кислородная недостаточность независимо от вида воздействия сопровождалась увеличением выхода как эритроидных (Э), так и гранулоцитарно-макрофагальных (ГМ) колониеобразующих единиц (КОЕ) в метилцеллюлозной среде, возрастанием темпа их деления и ускорением созревания эритроидных прекурсоров, а при ГА также повышением реализации дифференцировочных потенциалов клеток-предшественников грануломоноцитопоэза.

Состояние пула клоногенных клеток, как известно, во многом определяется способностью клеточных компонентов гемопоэзиндуцирующего микроокружения (ГИМ) к продукции широкого спектра гуморальных гемопоэтических факторов [7], суммарный эффект которых регистрируется в качестве эритропоэтической (ЭПА) и колониестимулирующей активностей (КСА) [11]. Изучение секреторной функции отдельных фракций костного мозга при моделировании кислородной недостаточности во всех группах выявило возрастание ЭПА кондиционных сред прилипающих и неприлипающих нуклеаров практически во все сроки наблюдения и повышение КСА супернатантов от адгезирующих элементов, а после введения гемолитического яда и от неадгезирующих миелокариоцитов. В то же время гипоксическая гипоксия и эофузия крови, напротив, снижали продукцию КСА неприлипающей фракцией костного мозга.

Важное значение в регуляции кроветворения, особенно при экстремальных воздействиях, принадлежит также гуморальным факторам сыворотки крови, в частности, гормонам надпочечников, опиоидным пептидам, эйкозаноидам и другим эндогенным биологически активным веществам. Данные соединения, вырабатываемые различными органами и тканями организма, поступая в кровь, способны оказывать как прямое, так и опосредованное (через элементы ГИМ) влияние на гемопоэтические клетки [7]. В ходе эксперимента было обнаружено, что гипоксия, независимо от вызвавшей ее причины, приводит к возрастанию КСА сыворотки крови. В то же время развертывание адаптивных реакций кроветворной ткани при окислительной недостаточности в большей степени определяется функциональной активностью эритропоэтинпродуцирующего аппарата почек [7, 27]. Вместе с тем считается доказанным факт стимуляции эритроидного роста кроветворения продуктами деградации эритроцитов (свободный гемоглобин, его дериваты, фрагменты мембран и др.) [7]. Известно, что гипоксические воз-

действия приводят к возрастанию активности эритроидеретических процессов [21].

При изучении значимости гуморальных факторов в формировании гематологических сдвигов при кислородной недостаточности *in vivo* во всех моделях было выявлено повышение концентрации ЭПА сыворотки крови. Однако если динамика ЭПА во всех случаях носила однотипный характер, то в содержании эритропоэтина (ЭПО) при моделировании гипоксических состояний отмечались существенные различия, заключающиеся как в сроках, так и в уровне возрастания данного показателя. При этом ни в одном из вариантов гипоксии не наблюдалось полного соответствия динамики ЭПА и концентрации эритропоэтина, что свидетельствовало о далеко не исключительной роли последнего в формировании «суммарной» ЭПА сыворотки [15]. В то же время в те сроки, когда наблюдалось несоответствие между ЭПА и концентрацией ЭПО в сыворотке крови, во всех моделях обнаруживалось значительное возрастание интенсивности гемолиза, указывающее на вклад продуктов деградации эритроцитов в формирование сывороточной ЭПА *in vivo* при гипоксии.

Взаимодействие стромальных компонентов ГИМ с кроветворными клетками осуществляется также посредством образования прямых межклеточных контактов и формирования гемопоэтических островков (ГО), в составе которых и происходит размножение и созревание коммитированных клеток-предшественников. Межмембранное связывание при этом служит для сообщения регуляторной информации, передачи необходимых веществ, хоминга прекурсоров в специфических участках кроветворной ткани и предоставления ростовых факторов в биологически доступной форме [7, 22]. При исследовании взаимодействия стромальных компонентов гемопоэзиндуцирующего микроокружения с кроветворными клетками посредством образования прямых межклеточных контактов было обнаружено увеличение способности как макрофагальных, так и фибробластоидных элементов к формированию клеточных комплексов, что во всех экспериментальных моделях сопровождалось достоверным повышением выхода эритроидных гемопоэтических островков.

Согласно имеющимся представлениям, одними из наиболее активных и мобильных элементов ГИМ являются Т-лимфоциты. Их популяция легко изменяет свой качественный и количественный состав в гемопоэтической ткани и посредством выделения гуморальных регуляторов и межклеточного взаимодействия с другими элементами микроокружения контролирует процессы пролиферации и дифференцировки

кроветворных прекурсоров. Миграция Т-клеток, экспрессирующих на своей мембране антигены  $\text{Thy-1,2}^+$ , в гемопоэтическую ткань зачастую является пусковым механизмом развития феномена гиперплазии костномозгового кроветворения при воздействии экстремальных факторов [7, 10]. Изучение роли  $\text{Thy-1,2}^+$ -клеток в регуляции гемопоэза при кислородной недостаточности выявило во всех случаях существенное возрастание их числа в гемопоэтической ткани. Проведенные исследования показали, что свое стимулирующее действие на коммитированные клетки-предшественники эритропоэза  $\text{Thy-1,2}^+$ -клетки оказывали как за счет непосредственного влияния, так и через их взаимодействие с адгезирующими элементами, а в отношении гранулоцитарно-макрофагальных прекурсоров они проявляли свою фидерную активность только опосредованно — через кооперацию со стромальными элементами.

Таким образом, гипоксия различного генеза, не вызывающая поражения ЦНС, приводила к развитию ярко выраженных компенсаторно-адаптивных реакций со стороны системы крови, заключающихся в выраженной гиперплазии эритроидного ростка кроветворения, отвечающего за окислительное обеспечение тканей, и стимуляции гранулоцитопоэза как проявления активации стресс-реализующих систем [10]. Данные изменения определялись миграцией Т-клеток-регуляторов гемопоэза в костный мозг, их кооперацией со стромальными элементами гемопоэтической ткани, повышением фидерной активности клеточных компонентов ГИМ и возрастанием содержания гемопоэтически активных субстанций в сыворотке крови (рис. 1).

Учитывая важную роль ЦНС в регуляции жизнедеятельности кроветворной ткани при экстремальных воздействиях [12], дальнейшим этапом работы явилось изучение возможного влияния энцефалопатии как механизма дизрегуляции

кроветворения на формирование гематологических сдвигов при гипоксии высокой степени тяжести.

Исследования реакций гемопоэтической ткани у животных с патологией мозга, вызванной дефицитом кислорода, позволили выявить ряд особенностей. Наличие энцефалопатии, независимо от вызвавшей ее причины, сопровождалось отсроченным снижением уровня гиперплазии эритроидного ростка кроветворения, являющимся результатом падения содержания КОЕ-Э при снижении их пролиферативной активности. В то же время во всех моделях наблюдалась компенсаторная активация процессов дифференцировки КОЕ-Э, связанная с усилением секреторной функции адгезирующих миелокариоцитов, повышением ЭПА сыворотки крови, а при обоих вариантах гемической гипоксии еще и с увеличением способности стромальных элементов к формированию ГО эритроидного типа.

Исследование Т-лимфоцитарных механизмов регуляции в условиях тяжелого дефицита кислорода выявило, что развитие патологии ЦНС во всех случаях приводило к резкому и продолжительному падению числа  $\text{Thy-1,2}^+$ -клеток в костном мозге. В то же время было отмечено, что даже незначительное присутствие данных элементов в культуре оказывало выраженный стимулирующий эффект в отношении КОЕ-Э, но исключительно при их взаимодействии с элементами адгезирующей фракции ГИМ. Таким образом, сохранение активности одного из пусковых звеньев стимуляции эритропоэза (миграции Т-клеток в костный мозг) при гипоксии высокой степени тяжести связано не с количественными изменениями костномозговой популяции  $\text{Thy-1,2}^+$ -клеток, а с их функциональным состоянием.

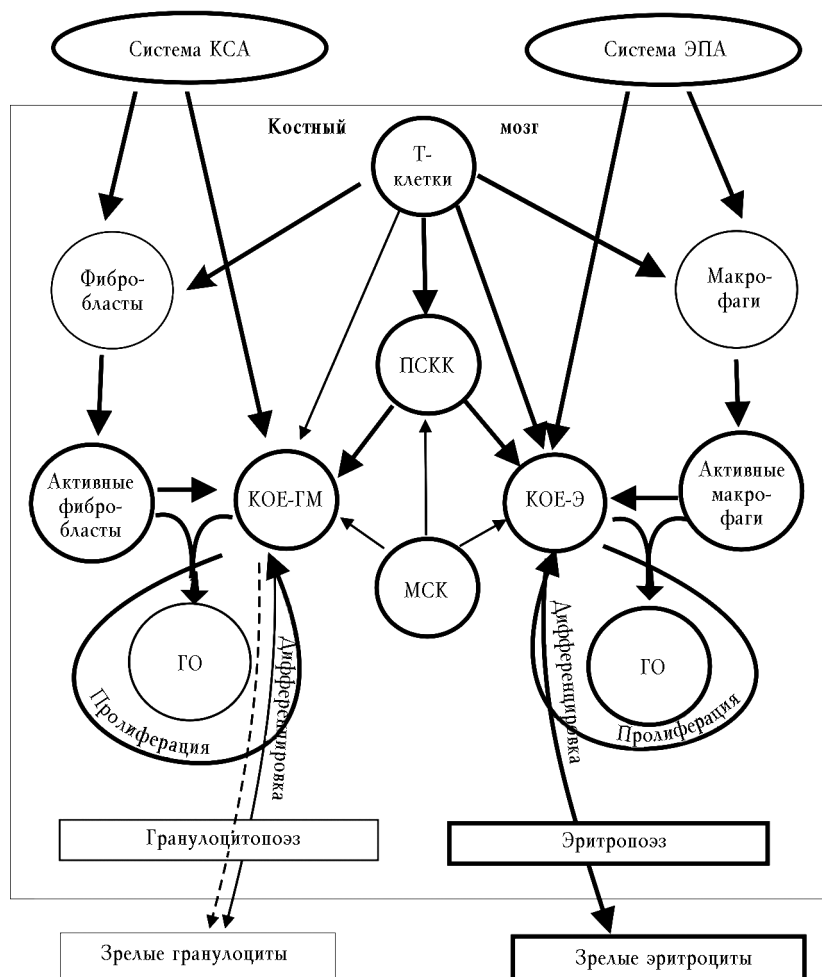


Рис. 1. Схема регуляции кроветворения при гипоксии различного генеза, не вызывающей нарушения психо-неврологического статуса. Здесь и на рис. 2: КСА — колониестимулирующая активность, ЭПА — эритропоэтическая активность, КОЕ-ГМ — гранулоцитаро-макрофагальные колониобразующие единицы, КОЕ-Э — эритроидные колониобразующие единицы, ПСКК — полипотентные стволовые кроветворные клетки, МСК — мезенхимальные стволовые клетки; тонкие линии — изменения практически отсутствуют; жирные — активация; пунктирные — ингибирование

Изменения исследуемых параметров грануломоцитарного роста кроветворения во многом были аналогичны динамике показателей эритропоэза: отмечалось падение количества КОЕ-ГМ в костном мозге, снижение темпа их деления и увеличение скорости созревания грануломоцитарных прекурсоров на фоне возрастания прямых и опосредованных фидерных свойств  $\text{Thy-1,2}^+$ -клеток в отношении КОЕ-ГМ и повышения КСА в тестируемых биологических жидкостях.

Тем не менее, несмотря на однотипность во всех моделях энцефалопатии сдвигов в состоянии пула КОЕ-ГМ и значительную схожесть изменений в механизмах регуляции, между опытными группами наблюдались существенные различия в содержании в гемопоэтической ткани морфологически идентифицируемых клеток гранулоцитарного ряда. Так, если при массивном гемолизе и в постгеморрагическом пе-

риод отмечалось снижение представительства незрелых и зрелых нейтрофильных гранулоцитов в костном мозге относительно фоновых значений, то в случае гипоксии гермообъема, напротив, наблюдалось увеличение числа их зрелых форм. В периферической же крови во всех случаях выявлялось развитие нейтрофильного лейкоцитоза, достигающего при энцефалопатии, вызванной введением гемолитического агента, максимально высоких значений, что, по-видимому, связано не столько с ускорением дифференцировки грануломоцитарных прекурсоров, сколько с нарушением эффлюкса токсически поврежденных [6] лейкоцитов в ткани.

Поражение центральной нервной системы приводило к изменению показателей периферического звена системы эритроноза. Во всех опытных группах отмечалось развитие либо усугубление тяжести анемии. Причем при массивной

КП и введении высокой дозы фенилгидразина она была связана как со спецификой воздействия, так и, несмотря на наличие ярко выраженной ретикулоцитарной реакции, с нарушением динамики восстановления уровня эритроцитов в результате развития макроцитоза и, как следствие, быстрого диереза вновь образующихся крупных эритроцитов. При повреждении головного мозга гипоксической гипоксией анемия носила отсроченный и гипохромный характер, что, вероятно, являлось следствием чрезмерного увеличения размеров зрелых клеток красной крови и снижения степени их гемоглобинизации в условиях «напряженного» эритропоэза.

Полученные результаты в целом позволяют охарактеризовать состояние системы крови, являющееся следствием несостоятельности компенсаторно-приспособительных механизмов кроветворения при кислородной недостаточности, как эритропоэтический дистресс, проявляющийся в дизадаптации гемопоэтической ткани и продукции патологических форм эритроцитов. При этом падение содержания кроветворных прекурсоров в костном мозге могло быть связано с их повреждением под влиянием чрезмерной активации симпатoadреналовой и гипофизарно-надпочечниковой систем [10], причиной которой при гипоксии могла послужить декомпенсация тормозных медиаторных механизмов, так как в ряде случаев известна наибольшая уязвимость данных структур к недостатку кислорода [1, 12].

Для подтверждения предположений о центральном генезе выявленных гематологических феноменов при тяжелой окислительной недостаточности мышцам на фоне моделирования гипоксии высокой степени тяжести однократно вводили оксibuтират натрия в высокой дозе, что полностью отменяло появление признаков энцефалопатии. Фармакологическая защита мозга повышала количество КОЕ-Э в костномозговой ткани как при гипоксической гипоксии высокой степени тяжести, так и при индуцированном гемолизе и обильной кровопотере. Данные изменения во всех случаях отмечались на фоне возрастания пролиферативной способности прекурсоров. Компенсация нарушений состояния пула коммитированных клеток-предшественников закономерно приводила к нивелированию снижения уровня гиперплазии эритроидного ростка кроветворения, а также отмене развития гипохромной анемии в постгипоксическом периоде при ГТО и увеличению количества эритроцитов в периферической крови при ее гемических вариантах. Во всех моделях отмечалась нормализация величины размеров зрелых клеток красной крови. Изучение секреторной функции отдельных компонентов ГИМ на фоне нейропротекции выявило снижение продукции ЭПА стромальными клетками костного

мозга при отсутствии значительного влияния оксibuтирата натрия на секреторную функцию неприлипающих миелокариоцитов, состояние пула Thy-1,2<sup>+</sup>-клеток и эритропоэтическую активность сыворотки, что свидетельствует о непосредственном (прямом) действии именно гипоксии (а не ее влияния через структуры ЦНС) на мобильные клеточные элементы ГИМ и на дистантные гуморальные механизмы регуляции эритропоэза в условиях глобального дефицита кислорода.

Введение оксibuтирата натрия увеличивало также содержание прекурсоров гранулоцитопоэза в гемопоэтической ткани и повышало скорость их деления. В то же время во всех случаях отмечалось падение индекса созревания КОЕ-ГМ, связанное со снижением выработки КСА прилипающими нуклеарами костного мозга. Тем не менее интенсивность дифференцировки КОЕ-ГМ при введении антигипоксанта все же достоверно превосходила аналогичные показатели у животных, подвергшихся соответствующим видам гипоксии, не вызывающим поражения ЦНС. Такая сравнительно высокая скорость созревания клеток-предшественников гранулоцитопоэза во всех случаях была связана с сохранением фидерной активности Thy-1,2<sup>+</sup>-клеток в отношении КОЕ-ГМ, усиленной выработкой КСА неадгезирующими миелокариоцитами и повышением уровня гемопоэтинов в сыворотке крови. В конечном итоге изменения пролиферативно-дифференцировочного статуса КОЕ-ГМ приводили к увеличению числа зрелых нейтрофильных гранулоцитов в костном мозге при ГА и КП и не оказывали значимого влияния на количество морфологически идентифицируемых клеток гранулоцитопоэза при ГТО. Отражением описанных неоднозначных изменений костномозгового гранулоцитопоэза при введении оксibuтирата натрия в периферической крови во всех случаях явилось снижение количества сегментоядерных нейтрофилов относительно контрольных значений на фоне повышенного уровня их содержания по сравнению с соответствующими показателями у животных после аналогичных по своей природе воздействий, не вызывающих энцефалопатию. В основе сохранения высокого уровня продукции нейтрофилов, вероятно, лежит физиологически обусловленная необходимость очищения тканей от детрита, образование которого существенно увеличивается при возрастании степени тяжести гипоксии [25].

Полученные экспериментальные данные однозначно свидетельствуют о связи патологии головного мозга, вызванной глобальной гипоксией различного генеза, со снижением количества кроветворных прекурсоров в гемопоэтиче-

ской ткани, повышением фидерной активности стромальных компонентов ГИМ и продукцией патологических форм эритроцитов. Вместе с тем, как было отмечено выше, непосредственной причиной дизадаптации системы крови, наиболее значимыми проявлениями которой, безусловно, являются нарушения эритропоэза, при гипоксии высокой степени тяжести могло быть повреждение гемопоэтических клеток под влиянием адренергических стимулов. При этом, согласно литературным данным, эффекты катехоламинов на эритропоэз реализуются преимущественно через  $\beta$ -адренергические рецепторы [10]. Исследование роли адренергических механизмов регуляции гемопоэза в формировании гематологических сдвигов при гипоксии, сопровождающейся развитием энцефалопатии, показало, что блокада  $\beta$ -адренорецепторов с помощью пропранолола приводила к увеличению в периферической крови числа эритроцитов, содержания гемоглобина, отмене развития гипохромной анемии при ГТО и ускорению динамики восстановления показателей красной крови после моделирования ГА и КП высоких степеней тяжести. Во всех случаях отмечалась четкая тенденция к нормализации размеров эритроцитов. Указанные изменения явились закономерным отражением динамики костномозгового эритропоэза: увеличения количества эритрокариоцитов, повышения содержания КОЕ-Э в костном мозге на фоне возрастания их пролиферативной активности.

Со стороны грануломоноцитарного ростка кроветворения при введении  $\beta$ -адреноблокатора изменения носили в основном перераспределительный характер и заключались преимущественно в нарушении поступления молодых нейтрофилов в кровь.

В целом проведенные эксперименты позволили установить, что чрезмерная активация адренергических систем организма при гипоксии высокой степени тяжести оказывала негативное влияние на эритропоэз [14]. При этом указанный «извращенный» эффект избытка катехоламинов, очевидно, был связан с повреждением измененных экстремальным

фактором эритроидных прекурсоров и реализовался через  $\beta$ -адренорецепторы, локализованные на их мембранах [10].

Таким образом, поражение мозговых структур при кислородной недостаточности существенно нарушает развитие адекватных адаптивных реакций системы крови, что, в свою очередь, еще в большей мере ухудшает окислительное обеспечение тканей организма, подвергнувшегося гипоксии (рис. 2).

Изучение механизмов адаптации «глубокого резерва» при гипоксии различного генеза [16], не вызывающих грубых нарушений психоневрологического статуса, во всех случаях выявило увеличение содержания МСК в костном мозге в начальные сроки исследования с быстрой последующей нормализацией значений данного показателя. В то же время во всех моделях отмечалась тенденция к увеличению содержания регионарных нейтральных клеток-предшественников в головном мозге. Схожие, но более выраженные сдвиги исследуемых параметров наблюдались при кислородной недостаточности, вызывающей нарушение деятельности ЦНС. Однако ни при одном из вариантов гипоксии не наблюдалось развития так называемого феномена мобилизации МСК (т.е. их выхода в кровь).

Полученные результаты свидетельствуют об участии МСК костного мозга в формировании реакций системы крови при кислородной недостаточности различного генеза, особенно при ее тяжелых формах. Вместе с тем очевидно, что даже выраженное повышение функциональной активности костномозговых МСК при гипоксии высокой степени тяжести не способно предотвратить падение числа коммитированных кроветворных прекурсоров в гемопоэтической ткани, являющееся причиной эритропоэтического дистресса в случаях развития энцефалопатии. Кроме того, из полученных результатов следует, что увеличение количества стволовых клеток в головном мозге при гипоксии связано со стимуляцией непосредственно регионарных нейтральных клеток-предшественников и не зависит от состояния пула МСК в костном мозге.

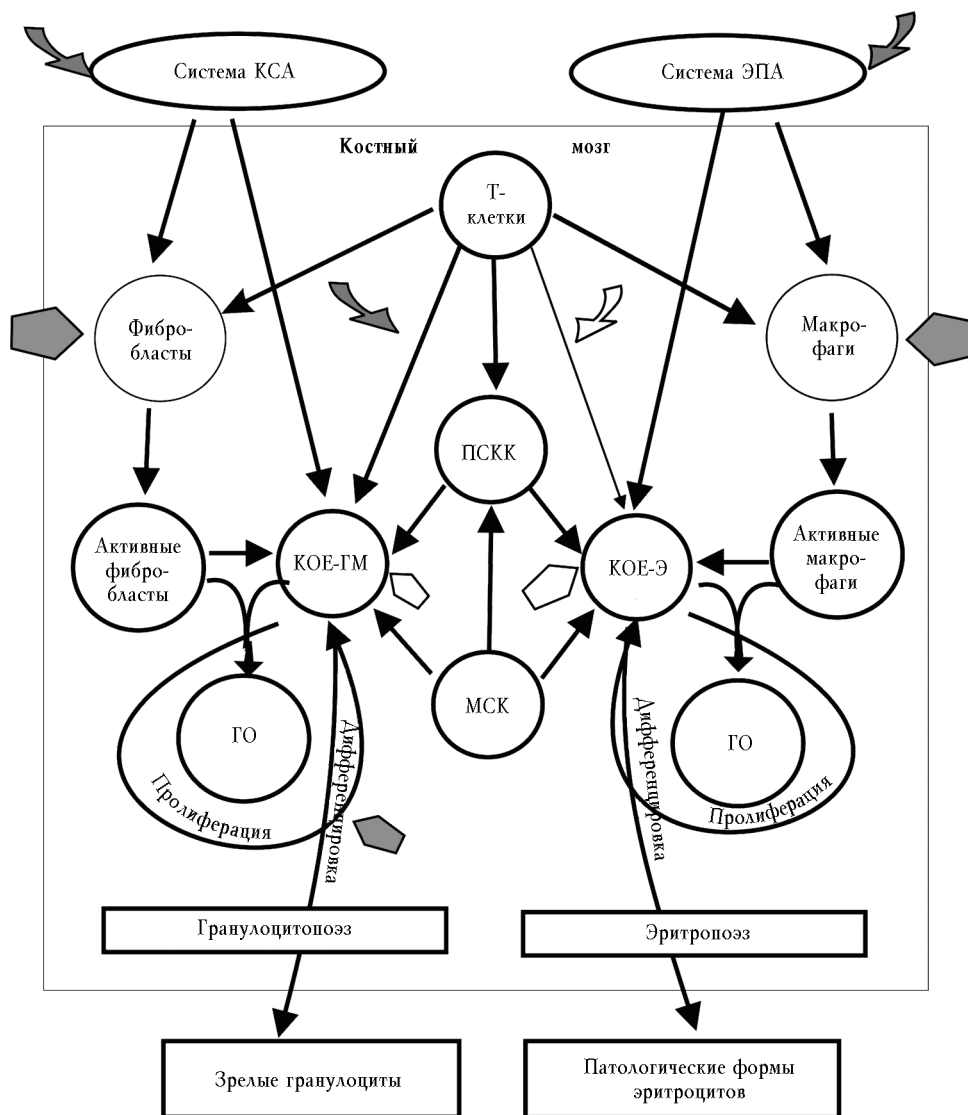


Рис. 2. Схема регуляции кроветворения при гипоксии высокой степени тяжести различного генеза, сопровождающейся развитием энцефалопатии. Пятиугольные стрелки – изменения напрямую связаны с повреждением мозговых структур; изогнутые стрелки – изменения вызваны непосредственно влиянием гипоксии; серые стрелки – активирующее; белые – ингибирующее влияние

Таким образом, гипоксические воздействия различной этиологии приводят к активации механизмов адаптации «глубокого резерва» — стволовых клеток, которые, однако, оказываются недостаточными и несостоятельными при гипоксии высокой степени тяжести, что в конечном итоге проявляется в развитии энцефалопатии и дизадаптации кроветворной ткани.

#### Литература

1. Алексеева Г.В., Гурвич А.М., Семченко В.В. Постреанимационная энцефалопатия (патогенез, клиника, профилактика и лечение). Омск: Омская обл. тип., 2003. 152 с.

2. Ван Лир Э., Стикней К. Гипоксия. М.: Медицина, 1967. 368 с.  
 3. Гипоксия. Адаптация, патогенез, клиника / Под ред. Ю.Л. Шевченко. СПб.: ООО «ЭЛБИ-СПб.», 2000. 384 с.  
 4. Гольдберг Д.И. Базофильная субстанция эритроцитов: Дис. ... д-ра мед. наук. Томск, 1938.  
 5. Гольдберг Д.И. Очерки гематологии. Кроветворение и нервная система. Томск, 1952. 232 с.  
 6. Гольдберг Е.Д. Справочник по гематологии. Томск: Изд-во Том. ун-та, 1989. 468 с.  
 7. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Жданов В.В. Роль гемопозиндуцирующего микроокружения при цитостатических миелосупрессиях. Томск: СТТ, 1999. 114 с.  
 8. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Жданов В.В. Современные взгляды на проблему стволовых клеток и возможности их использования в медицине // Клеточные технологии в биологии и меди-



- цине. 2005. №4. С. 184–199.
9. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Зюзьков Г.Н. и др. Реакции эритроидного ростка кроветворения и механизмы их развития при гипоксии различной степени тяжести // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2002. №8. С. 142–145.
  10. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Хлусов И.А. Роль вегетативной нервной системы в регуляции гемопоэза. Томск Изд-во Том. ун-та, 1997. 218 с.
  11. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Шахов В.П. Методы культуры ткани в гематологии. Томск Изд-во Том. ун-та, 1992. 264 с.
  12. Дизрегуляторная патология / Под ред. Г.Н. Кривяковского. М.: Медицина, 2002. 652 с.
  13. Зюзьков Г.Н., Гурьянцева Л.А., Суслев Н.И. и др. Реакции гранулоцитарного ростка кроветворения при гипоксии различной степени тяжести // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2002. №10. С. 379–382.
  14. Зюзьков Г.Н., Абрамова Е.В., Дыгай А.М., Гольдберг Е.Д. Роль адренергических механизмов регуляции эритропоэза при гипоксии высокой степени тяжести // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2005. №7. С. 18–23.
  15. Зюзьков Г.Н., Дыгай А.М., Гольдберг Е.Д. Гуморальные механизмы регуляции эритропоэза при гипоксии // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2005. №2. С. 133–137.
  16. Зюзьков Г.Н., Суслев Н.И., Дыгай А.М. и др. Роль стволовых клеток в адаптации к гипоксии и механизмы нейропротективного действия гранулоцитарного колониестимулирующего фактора // Клеточные технологии в биологии и медицине. 2005. №4. С. 202–208.
  17. Малкин В.Б., Гиленрейтер Е.Б. Острая и хроническая гипоксия. М.: Наука, 1977. 315 с.
  18. Способ моделирования постгипоксической энцефалопатии и связанных с ней нарушений в системе крови: Пат. №2240604. РФ. Опубл. 20.11.2004. Бюл. №32.
  19. Способ моделирования гипоксической энцефалопатии: Пат. №2253152. РФ. Опубл. 27.05.2005. Бюл. №15.
  20. Способ моделирования постгеморрагической энцефалопатии: Пат. №2257620. РФ. Опубл. 27.06.2005. Бюл. №21.
  21. Ужанский Я.Г. Физиологические механизмы регенерации крови. М.: Медицина, 1968. 264 с.
  22. Crocker P.R., Gordon S. Isolation and characterisation of resident macrophages and hemopoietic cell cluster from mouse bone marrow // J. Exp. Med. 1985. V. 162. №3. P. 993–1014.
  23. Gritti A., Bonfanti L., Doetsch F. et al. Multipotent Neural Stem Cells Reside into the Rostral Extension and Olfactory Bulb of Adult Rodents // J. Neuroscience. 2002. V. 22. P. 437–445.
  24. In't Anker P.S., Noort W.A., Scherjon S.A. et al. Mesenchymal stem cells in human second-trimester bone marrow, liver, lung, and spleen exhibit a similar immunophenotype but a heterogenous multilineage differentiation potential // Haematologica. 2003. V. 88. P. 845–852.
  25. Li C., Jackson R.M. Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury // Am. J. Physiol. Cell Physiol. (USA). 2002. V. 282. №2. P. 227–241.
  26. Owen M., Friedenstein A.J. Stromal stem cells: marrow-derived osteogenic precursors // Ciba Found Symp. 1988. V. 136. P. 42–60.
  27. Sakata S., Enoki Y., Ueda M. Relationship between erythropoietin and erythroid colony-stimulating activity in mouse plasma // Zool. Sci. 1992. V. 9. №6. P. 1251.

Поступила в редакцию 02.04.2006 г.