

МАМЫЛИНА Наталья Владимировна
ПАВЛОВА Вера Ивановна

СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ «ЭРИТРОН» У ЖИВОТНЫХ ПРИ ЭМОЦИОНАЛЬНО-БОЛЕВОМ СТРЕССЕ И НА ФОНЕ КОРРЕКЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	8
Глава 1. Состояние системы «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» у животных, перенесших эмоционально-болевого стресс.....	12
1.1. Влияние острого эмоционально-болевого стресса на стресс-реализующую систему перекисного окисления липидов (ПОЛ) в периферической крови и ткани костного мозга у экспериментальных животных.....	13
1.2. Влияние эмоционально-болевого стресса на антиоксидательную активность (АОА) сыворотки крови, динамику показателей активности антиоксидантных ферментов в плазме крови и костном мозге у экспериментальных животных, подвергшихся действию эмоционально-болевого стресса	34
Резюме по первой главе.....	53
Глава 2. Влияние эмоционально-болевого стресса на уровни цитокинов в крови и костном мозге животных.....	55
2.1. Динамика содержания провоспалительных цитокинов в	

сыворотке крови и ткани костного мозга у экспериментальных животных, подвергшихся действию эмоционально-болевого стресса.....	60
2.2. Динамика содержания противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови и костном мозге у экспериментальных животных, подвергшихся действию эмоционально-болевого стресса.....	71
2.3. Содержание эритропоэтина в сыворотке крови и ткани костного мозга у экспериментальных животных, подвергшихся действию эмоционально-болевого стресса.....	73
Резюме по второй главе.....	80
Глава 3. Влияние эмоционально-болевого стресса на центральный и периферический отделы эритрона у животных.....	81
3.1. Показатели периферической крови, костномозгового кровотока, парциальной эритрограммы костного мозга животных, перенесших эмоционально-болевой стресс.....	99
3.2. Влияние эмоционально-болевого стресса на изменения абсолютного и относительного содержания ЭО костного мозга и их распределение по классам зрелости у экспериментальных животных.....	107
3.3. Расчётные функциональные показатели эритропоэза в эритробластических островках костного мозга у экспериментальных животных, подвергнутых действию эмоционально-болевого стресса.....	123
3.4. Влияние эмоционально-болевого стресса на митотическую активность эритроидных клеток эритробластических островков костного мозга.....	134

3.5. Число ядросодержащих эритроидных клеток и число ретикулоцитов в эритробластических островках костного мозга крыс при эмоционально-болевым стрессе и в восстановительных периодах как показатель состояния эритропоэза в островках.....	135
3.6. Статмокинетический индекс эритроидных клеток костного мозга животных, перенесших эмоционально-болевым стресс.....	145
Глава 4. Влияние препаратов церулоплазмина и эритропоэтина на систему эритрон у экспериментальных животных, подвергшихся действию эмоционально-болевым стресса.....	147
4.1. Влияние предварительного введения препарата церулоплазмина на содержание молекулярных продуктов ПОЛ и активность антиоксидантных ферментов в крови и ткани костного мозга у экспериментальных животных, подвергшихся действию эмоционально-болевым стресса.....	147
4.2. Показатели эритропоэза в костном мозге животных, перенесших эмоционально-болевым стресс на фоне предварительного введения церулоплазмина	166
4.2.1. Показатели периферической крови и костномозгового кроветворения животных, перенесших эмоционально-болевым стресс, на фоне предварительного введения церулоплазмина	168
4.2.2. Содержание и классы зрелости эритробластических островков костного мозга животных, перенесших эмоционально-болевым стресс, на фоне предварительного введения церулоплазмина	174
4.2.3. Расчётные функциональные показатели эритропоэза в эритробластических островках костного мозга	

животных, перенесших эмоционально-болевого стресс, на фоне введения церулоплазмينا.....	180
4.2.4. Влияние введения церулоплазмينا на показатели парциальной эритрограммы костного мозга животных, подвергнутых действию эмоционально-болевого стресса.....	184
4.3. Влияние предварительного введения эритропоэтина на показатели эритропоэза в костном мозге крыс после эмоционально-болевого стресса.....	186
4.3.1. Влияние предварительного введения эритропоэтина на показатели периферической крови животных после эмоционально-болевого стресса.....	192
4.3.2. Показатели костномозгового кроветворения животных, перенесших эмоционально-болевого стресс, на фоне предварительного введения эритропоэтина.....	195
4.3.3. Содержание и классы зрелости эритробластических островков костного мозга животных, перенесших эмоционально-болевого стресс, на фоне предварительного введения эритропоэтина.....	199
4.3.4. Расчётные функциональные показатели эритропоэза в эритробластических островках костного мозга животных, перенесших эмоционально-болевого стресс, на фоне введения эритропоэтина.....	208
4.3.5. Влияние введения эритропоэтина на показатели парциальной эритрограммы костного мозга	

животных, подвергнутых действию эмоцио- нально-болевого стресса.....	213
Резюме по третьей и четвёртой главам.....	219
Заключение.....	222
Библиографический список.....	246

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АОА – антиокислительная активность крови;
- АФК – активные формы кислорода;
- ГР – глутатионредуктаза;
- TNF- α – фактор некроза опухоли;
- ЛПВП – липопротеиды высокой плотности;
- ЛПНП – липопротеиды низкой плотности;
- МДА – малоновый диальдегид;
- мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота;
- ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты;
- ПИЭПД – показатель интенсивности вовлечения эритроидных прекурсоров в дифференцировку;
- ППВМЭ – показатель повторного вовлечения макрофагов в эритропоэз;
- ПСЭО – показатель длительности созревания эритроидных островков;
- ПОЛ – перекисное окисление липидов;
- рЭПО – рецептор эритропоэтина;
- РЭПО – рекомбинантный эритропоэтин;
- СР – свободные радикалы;
- СРП – С-реактивный протеин;
- СОД – супероксиддисмутаза;
- ТБК-РП – тиобарбитуровая кислота-реагирующие продукты;
- ТК – триеновые конъюгаты;
- ЦП – церулоплазмин;
- ШО – шиффовы основания;
- ЭО – эритробластические островки;
- ЭОинв – эритробластические островки, инволюцирующие;
- ЭОрек – эритробластические островки, реконструирующиеся;
- ЭПО – эритропоэтин.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. В настоящее время концепция стресса, вообще, и эмоционально-болевого стресса, в частности, приобрела особую актуальность в связи с тем, что современная жизнь постоянно поддерживает у многих людей повышенный уровень эмоционального напряжения, создавая угрозу здоровью и даже жизни. Причиной этого являются имеющие место в современной жизни террористические акты, боевые действия, сопровождающиеся ранениями, болью, кровопотерей. Все эти обстоятельства обусловили актуальность изучения механизмов влияния эмоционально-болевого стресса на организм человека. Следует учитывать, что стресс представляет собой неспецифический компонент адаптации, который играет мобилизующую роль в отношении энергетических и пластических ресурсов для специфической адаптационной перестройки различных систем организма.

В настоящее время известно, что система крови является одной из быстро реагирующих систем организма и играет большую роль в процессе развития краткосрочной и долговременной адаптации при изменении условий окружающей среды (П.Д. Горизонтов, 1983; Ю.М. Захаров, А.Г. Рассохин, 1992; И.А. Волчегорский, 1993; Б.Г. Юшков, 1996; В.Э. Цейликман, 1998; В.А. Черешнев, 2004; Е.Д. Гольдберг, 2005; А.М. Дыгай, 2005; Д.З. Шибкова, А.В. Аклеев, 2006; В.П. Шахов, 2008; А.П. Ястребов, 2009). Различные стрессорные воздействия вызывают изменения в периферических отделах системы крови, обусловленные предшествующими преобразованиями в центральном звене, т.е. костном мозге (Ю.М. Захаров, А.Г. Рассохин, 2002; В.И. Павлова, В.П. Шахов,

2009). Поэтому изучение функционирования кроветворной ткани, как в норме, так и при остром стрессе, способствует выяснению компенсаторных возможностей организма в целом, а системы эритроциты, в частности.

Эритроидные клетки способны экспрессировать и продуцировать ряд гемо- и иммунорегуляторных цитокинов, с помощью которых они могут участвовать в регуляции гемо- и иммунопоэза, а также оказывать саморегулирующее влияние на пролиферацию и дифференцировку своего ростка (С.В. Сенников, 2001).

Костный мозг вместе с другими органами и системами организма способен отвечать на воздействие внешней среды и обеспечивать устойчивость организма человека и животных к гипоксии, инфекции, травме и т.д. Ответ каждого типа клеток кроветворной ткани на специфические для него раздражители характеризуется скоординированным увеличением продукции и функциональной активности клеток разных линий. Компенсаторные процессы являются частной разновидностью адаптационных реакций, выражающихся в возмещении нарушенных функций организма за счет деятельности неповрежденных систем, реализуемых на различных уровнях организации организма. Компенсаторно-приспособительные реакции системы гемопоэза изучены при хроническом радиационном воздействии (Д.З. Шибкова, А.В. Аклеев, 2006; Н.В. Ефимова, 2007), на моделях гипокинетического (Я.В. Латышин, В.И. Павлова, 2010), иммобилизационного (В.Э. Цейликман, 1998; М.В. Улитко, 2008), холодового (Ю.И. Баженов, Л.Н. Катаева, О.В. Пиксендеева, 1997) стрессов. Степень развития стресс-реакции во многом определяется видом стрессорного воздействия. Кратковременное острое стрессирование, в частности, эмоционально-болевой стресс, приводит к экстремному повышению адаптивных способностей организма в целом и системы эритроциты в частности. Но многие аспекты молекулярно-

клеточных механизмов формирования адаптационно-компенсаторных реакций в организме животных при воздействии эмоционально-болевого стресса остаются в настоящее время неизученными.

В исследованиях М. Бессис (1961); Ю.М. Захарова, А.Г. Рассохина (1988) показано, что эритропоэз у человека и животных протекает в эритробластических островках (ЭО) костного мозга, была проанализирована кинетика формирования ЭО в кроветворной ткани. Благодаря разработке достаточно простых методов выделения и подсчета ЭО, удалось развернуть широкое фундаментальное изучение их в эксперименте. В лаборатории профессора Ю.М. Захарова были разработаны методы исследования эритропоэза в ЭО, изучены закономерности его течения в физиологических условиях, при гипоксии разного генеза, при экспериментально воспроизводимых нарушениях эритронона и при некоторых заболеваниях системы крови у человека.

Исследований влияния эмоционально-болевого стресса на эритронон крайне мало, что и определило актуальность нашего исследования. Имеются противоречивые сведения об участии иммунорегулирующих цитокинов и их уровнях в крови при стрессе (С.Н. Шанин, 1999; Е.А. Корнева, Е.Г. Рыбакина, 2001; А.С. Симбирцев, 2005). В динамике развития стрессорной реакции наблюдаются изменения не только продукции цитокинов, но и механизмов их лиганд-рецепторных взаимодействий с клетками-мишенями. Остаются открытыми вопросы коррекции повреждающего действия ЭБС на организм человека и животных вообще и систему эритронон, в частности.

В связи с отсутствием обобщенных и систематизированных данных о влиянии эмоционально-болевого стресса на периферический и центральный отделы системы эритронон, регулирующего влияния цитокинов на эритронон при ЭБС, является актуальным.

Материалы монографии отражают молекулярно-клеточные изменения в эритробластических островках костного мозга под влиянием ЭБС и возможность коррекции повреждающего действия ЭБС на эритропоэз в костном мозге.

Г Л А В А 1

СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ «ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ – АНТИОКСИДАНТНАЯ ЗАЩИТА» У ЖИВОТНЫХ, ПЕРЕНЕСШИХ ЭМОЦИОНАЛЬНО-БОЛЕВОЙ СТРЕСС

В различных сериях экспериментов было использовано 550 половозрелых крыс-самцов линии «Вистар» массой 180–200 г (в каждой группе по 10 животных). Животные содержались в виварии при температуре воздуха 23–24⁰ С в общих больших секциях с естественной сменой светового цикла или в стандартных клетках по 4–5 голов без ограничения подвижности, освещенности и доступа к воде и пище. Состав пищевого рациона включал молоко, зерно, хлеб, комбикорм, растительный жир. Все болезненные манипуляции, включая инъекции растворов, забор крови и исследуемого материала, проводили под ингаляционным наркозом, используя эфир. В постановке опытов руководствовались «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утверждёнными на заседании этической комиссии НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАМН (Протокол № 1 от 3 сентября 2005 г.), требованиями Всемирного Общества защиты животных (WSPA) и Европейской конвенции по защите экспериментальных животных.

Острый стресс воспроизводили у крыс линии «Вистар» по методике О. Десидерато (1974) [200] в форме так называемого невроза тревоги, продолжающегося 1 и 6 часов, а также два часа после 6-часового эмоционально-болевого стресса (ЭБС) и 1, 2, 5 суток после 6-часового ЭБС. Главными чертами этой модели ЭБС являются, во-первых, наличие конфликта между выработанным

условным рефлексом избегания тока путём ухода на платформу и безусловным болевым раздражением на этой же платформе, в которых, напряжённое ожидание электроболевого воздействия, обусловленного тем, что электрические раздражения на платформе наносились через достаточно длительные и случайные промежутки времени. После завершения стрессирования животных забивали под лёгким эфирным наркозом.

Статистическая обработка результатов исследований проводилась с использованием программы Excel 2000 и STATISTICA 8.0. Ввиду малого объёма выборки для проверки гипотезы о наличии или отсутствии различий между опытными и контрольной группами использовали непараметрический метод – критерий Манна–Уитни и регрессионный анализ. Рассчитывали M среднее, различия считались достоверными при $P < 0,05$. Статистические взаимосвязи изучали при помощи непараметрического корреляционного анализа по Спирмену (r_s).

1.1. Влияние острого эмоционально-болевого стресса на стресс-реализующую систему перекисного окисления липидов (ПОЛ) в периферической крови и ткани костного мозга у экспериментальных животных

Процесс ПОЛ протекает по цепному свободнорадикальному (СР) механизму [4; 15; 21; 82]. Обязательным условием его протекания является наличие активных форм кислорода (АФК), металлов переменной валентности, субстратов окисления, в качестве которых выступают преимущественно ПНЖК (полиненасыщенные жирные кислоты), фосфолипиды биомембран [9; 14; 21; 84].

Скорость образования свободных радикалов в липидах зависит от структурной организации липидного бислоя: чем плотнее

упаковка ПНЖК в фосфолипидах мембран, тем меньше доступ АФК и ниже скорость зарождения радикалов. Поэтому любое воздействие, нарушающее упаковку ПНЖК (хаотропные агенты), вызывающие изменение состава фосфолипидов мембран (количество двойных связей ПНЖК), могут существенно влиять на общую скорость ПОЛ [61; 93].

Выявленный ранее уровень ферментемии [105] доказывает повреждающее действие острого эмоционально-болевого стресса на организм животных. Разрушение лизосомальных мембран и выход ферментов в кровь сопровождается активацией перекисного окисления липидов в различных органах и тканях подвергнутых стрессу животных [105]. Известно, что активация ПОЛ приводит к накоплению продуктов липопероксидации, обладающих высокой реакционной способностью, которые могут оказывать системное повреждающее действие на клетки [4; 9].

Установление ключевой роли перекисного окисления липидов в реализации стрессорных повреждений мембран клеток при эмоционально-болевым стрессе создает предпосылки для исследования возможности защитного действия антиоксидантов при стрессе.

Повреждение β -адренорецепторов при ЭБС опосредовано активацией ПОЛ. Действительно, ЭБС приводит к накоплению продуктов ПОЛ в головном мозге и крови, сопровождающемуся снижением супероксидперехватывающей активности – важнейшего элемента антиоксидантной системы организма [83].

Нами изучались реакции стресс-реализующей системы ПОЛ в крови, костном мозге животных при эмоционально-болевым стрессе. Перекисное окисление липидов (ПОЛ) костного мозга изучали по методике И.А. Волчегорского (1989) [24; 84].

Таблица 1

Динамика показателей содержания продуктов липопероксидации в плазме крови животных, подвергшихся действию эмоционально-болевого стресса ($M \pm m$)

Параметры / сроки стресса	Изопропанольная фаза		Гептановая фаза	
	Первичные продукты E_{232}/E_{220}	Вторичные продукты E_{278}/E_{220}	Первичные продукты E_{232}/E_{220}	Вторичные продукты E_{278}/E_{220}
Контроль	0,593±0,014	0,325±0,009	0,607±0,017	0,275±0,008
ЭБС 1 час	0,624±0,003	0,358±0,004*	0,569±0,003	0,317±0,002*
ЭБС 6 часов	0,627±0,004	0,390±0,004***	0,580±0,002	0,358±0,003***
ЭБС 6 + 1 сут.	0,608±0,003	0,369±0,003*	0,611±0,002	0,317±0,002*
ЭБС 6 + 2 сут.	0,602±0,003	0,351±0,003*	0,609±0,002	0,303±0,002*
ЭБС 6 + 5 сут.	0,583±0,005	0,334±0,002	0,577±0,002	0,286±0,002

Примечание: 1) в таблице представлены уровни первичных (ацилгидроперексидов и диеновых конъюгатов) и вторичных (кетодиенов и сопряжённых триенов) продуктов ПОЛ; 2) уровень продуктов ПОЛ рассчитывали в у.е. окислительного индекса, который вычисляли как отношение оптических плотностей E_{232}/E_{220} для первичных и E_{278}/E_{220} для вторичных продуктов ПОЛ; 3) достоверность отличий от контроля, рассчитанных с помощью теста Манна-Уитни: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Влияние эмоционально-болевого стресса на стресс-реализующую систему ПОЛ в плазме крови крыс представлено в таблице 1.

После 1, 6-часового ЭБС, а также спустя 1, 2 суток после 6-часового ЭБС содержание вторичных изопропанол-растворимых продуктов ПОЛ в плазме крови увеличилось соответственно на 10,2% ($p < 0,05$); 20,0% ($p < 0,001$); 13,5% ($p < 0,05$); 8,0% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. В гептановой фазе вторичные продукты ПОЛ в эти сроки увеличились соответственно на 15,3% ($p < 0,05$); 30,2% ($p < 0,001$); 15,3% ($p < 0,05$); 10,2% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем.

Таким образом, 1- и 6-часовой острый ЭБС оказывал значительное влияние на соотношение различных категорий продуктов липопероксидации в крови экспериментальных животных. Максимальное содержание кетодиенов и сопряжённых триенов, растворимых в гептане₂ и изопропанолем₂, было зафиксировано в плазме крови после 1-часового и 6-часового ЭБС, но данные показатели оставались повышенными спустя 1, 2 суток после 6-часового ЭБС.

Одним из вторичных продуктов ПОЛ является малоновый диальдегид (МДА), динамика которого в плазме крови в результате действия ЭБС представлена на рис.2.

После 1 и 6-часового ЭБС содержание МДА в плазме крови увеличилось соответственно на 40,0% ($p < 0,001$) и 98,3% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. Через 1 и 2 суток после 6-часового ЭБС содержание МДА в плазме крови превышало контроль соответственно на 60,0% ($p < 0,001$) и 53,9% ($p < 0,001$), а эти показатели по сравнению с 6-часовым ЭБС были ниже на 19,3% ($p < 0,001$) и 22,4% ($p < 0,001$) соответственно. Через 5 суток после 6-часового ЭБС содержание МДА в плазме крови превышало контроль на 10,0% ($p < 0,05$) и на 44,5% ($p < 0,001$) было ниже данного показателя после 6-часового ЭБС.

Известно, что циркулирующие продукты ПОЛ могут вызывать генерализацию процесса липопероксидации в органах и тканях. В связи с этим нам представилось интересным изучить влияние эмоционально-болевого стресса на стресс-реализующую систему ПОЛ в липидных экстрактах костного мозга. Повреждающее действие стрессорных факторов на костный мозг проявляется, в частности, в нарушении функционирования его мембранных структур. Содержание первичных и вторичных продуктов ПОЛ в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта при ЭБС в костном мозге не изучено.

МКМОЛЬ/МЛ

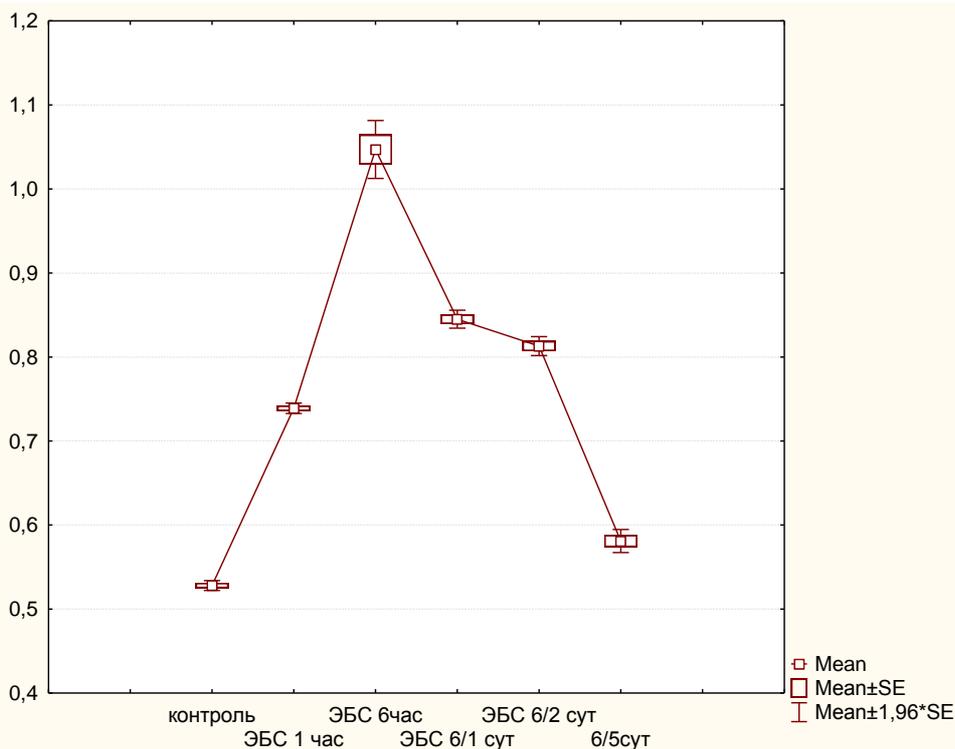


Рис. 2. Влияние эмоционально-болевого стресса на динамику малонового диальдегида (МДА) (мкмоль/мл) в плазме крови животных. Достоверность отличий от контроля рассчитана с помощью теста Манна–Уитни

Из данных таблицы 2 следует, что после 1-часового ЭБС содержание молекулярных продуктов ПОЛ, растворимых в изопропаноле $_{1,2}$, в костном мозге не отличалось от контрольных величин. В гептановой фазе вторичные продукты ПОЛ костного мозга увеличились на 12,0% ($p < 0,01$) по сравнению с контролем.

После 6-часового ЭБС содержание вторичных изопропанол-растворимых продуктов ПОЛ увеличилось на 25,4% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. В гептановой фазе вторичные продукты ПОЛ увеличились на 30,0% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем.

Через 1 и 2 суток после 6-часового ЭБС содержание молекулярных продуктов ПОЛ, растворимых в изопропанол₂, превышало контроль на 14,9% ($p < 0,01$) и 9,6% ($p < 0,05$) соответственно. В гептановой фазе первичные продукты ПОЛ были на уровне контрольных величин, а вторичные выше на 18,9% ($p < 0,001$) и 12,0% ($p < 0,01$) соответственно по сравнению с контролем. Содержание вторичных изопропанол-растворимых продуктов ПОЛ в костном мозге через 1 и 2 суток после 6-часового ЭБС было уменьшено соответственно на 8,4% ($p < 0,05$) и 12,6% ($p < 0,01$) по сравнению с 6-часовым ЭБС, а содержание молекулярных продуктов ПОЛ, растворимых в гептане₂, было ниже на 8,5% ($p < 0,05$) и 13,9% ($p < 0,01$) соответственно по сравнению с 6-часовым ЭБС.

Через 5 суток после 6-часового ЭБС содержание первичных и вторичных изопропанол-растворимых продуктов ПОЛ в костном мозге было в пределах контрольных величин. Содержание молекулярных продуктов ПОЛ, растворимых в обеих фазах липидного экстракта, было достоверно ниже по сравнению с 6-часовым ЭБС.

Таким образом, после 6-часового ЭБС содержание вторичных изопропанол-растворимых продуктов ПОЛ (кетодиенов и сопряжённых триенов) в костном мозге было достоверно повышено по сравнению с контролем. В гептановой фазе первичные продукты ПОЛ, представленные нейтральными липидами, уменьшились по сравнению с контролем, а вторичные достоверно возросли, что свидетельствует о повреждающем действии ЭБС на ткань костного мозга.

Через 1 и 2 суток после 6-часового ЭБС содержание вторичных продуктов ПОЛ в обеих фазах липидного экстракта продолжало оставаться повышенным. Окончательная нормализация содержания продуктов ПОЛ в обеих фазах липидного экстракта костного мозга произошла через 5 суток после ЭБС.

Усиление ПОЛ и накопление продуктов липопероксидации, которые обладают высокой реакционной способностью, могут оказывать системное повреждающее действие на клетки [20; 21; 141], которое проявляется в первую очередь изменением состава липидного матрикса и мембранных белков. Образующиеся в процессе взаимодействия АФК с фосфолипидами (ФЛ) гидроперекиси ФЛ с гидроксильными группами – являются более полярными соединениями, чем сами ФЛ. Они обуславливают переход мембраны из гидрофобного состояния в гидрофильное [89].

Таблица 2

Динамика показателей содержания продуктов липопероксидации в ткани костного мозга крыс, подвергшихся действию эмоционально-болевого стресса (M±m)

Параметры / сроки стресса	Изопропанольная фаза		Гептановая фаза	
	Первичные продукты E ₂₃₂ /E ₂₂₀	Вторичные продукты E ₂₇₈ /E ₂₂₀	Первичные продукты E ₂₃₂ /E ₂₂₀	Вторичные продукты E ₂₇₈ /E ₂₂₀
Контроль	0,979±0,017	0,114±0,003	0,607±0,013	0,433±0,009
ЭБС 1 час	0,981±0,016	0,115±0,003	0,583±0,004	0,485±0,003**
ЭБС 6 часов	1,028±0,014	0,143±0,003***	0,589±0,004	0,563±0,004***
ЭБС 6 + 1 сут.	1,008±0,008	0,131±0,004**	0,612±0,012	0,515±0,003***
ЭБС 6 + 2 сут.	0,959±0,005	0,125±0,003*	0,611±0,011	0,485±0,004**
ЭБС 6 + 5 сут.	0,974±0,004	0,115±0,003	0,606±0,003	0,450±0,004

Примечание: 1) в таблице представлены уровни первичных (ацилгидроперексидов и углеводородных конъюгатов) и вторичных (кетодиенов и сопряжённых триенов) продуктов ПОЛ; 2) уровень продуктов ПОЛ рассчитывали в у.е. окислительного индекса, который вычисляли как отношение оптических плотностей E₂₃₂/E₂₂₀ для первичных и E₂₇₈/E₂₂₀ для вторичных продуктов ПОЛ; 3) достоверность отличий от контроля, рассчитанных с помощью теста Манна–Уитни: * – p<0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001.

Динамика содержания малонового диальдегида в костном мозге в результате действия ЭБС представлена на рис. 3.

После 1 и 6-часового ЭБС содержание МДА в костном мозге увеличилось соответственно на 19,9% ($p < 0,01$) и 39,8% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. Через 1, 2, 5 суток после 6-часового ЭБС содержание МДА в костном мозге превышало контроль на 37,9% ($p < 0,001$); 29,9% ($p < 0,001$); 14,9% ($p < 0,01$) соответственно.

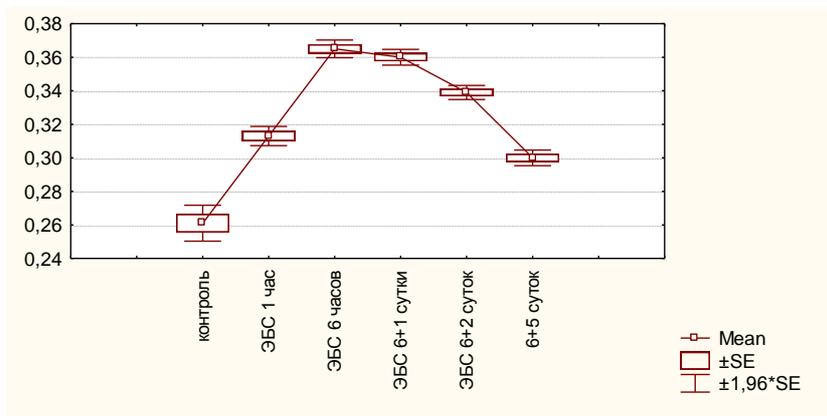


Рис. 3. Влияние эмоционально-болевого стресса на динамику малонового диальдегида (МДА) (мкмоль/мл) в костном мозге крыс

Группируясь, гидроперекиси образуют так называемые кластеры, которые представляют собой сквозные каналы [9; 167], что приводит к увеличению ионной проницаемости клеточной мембраны и появлению избытка конов натрия, кальция в клетке. Нарушение гомеостаза ионов кальция ведет к ряду тяжелых последствий [9; 20]: механическому повреждению митохондриальных мембран за счёт образования преципитатов (Са-фосфат), нарушению окислительного фосфорилирования митохондрий; активации выброса АФК из нейтрофилов; переводу железа из связанной формы в свободную; агрегации тромбоцитов, активации фосфолипаз и протеаз.

На этом фоне мембрана теряет свои барьерные свойства, изменяются количественный и качественный составы. Уменьшается содержание ФЛ, содержащих ненасыщенные жирные кислоты, что может быть связано с большей растворимостью окисленных ФЛ или увеличением их сродства к белкам-переносчикам (белкам-«экстракторам»), которые «вынимают» окисленные липиды из мембран [14; 15]. Снижается текучесть мембран, а это существенно влияет на функцию липид-зависимых ферментов, их подвижность в мембране, конформацию и доступность для субстрата [9; 206].

При любом экстремальном воздействии активность ПОЛ может осуществляться через обычные механизмы острого и хронического стрессов. Через ПОЛ реализуется влияние гормонов, выполняющих ведущую роль в неспецифической фазе адаптации [4; 231]. Одними из первых структур в ответную реакцию организма на повреждающее воздействие включаются эритроциты. Основным признаком повреждения мембран эритроцитов становится потеря последними текучих свойств. Показано, что в результате активации ПОЛ ускоряется перенос холестерина с липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) на эритроциты и замедляется его перенос с эритроцитов на липопротеиды высокой плотности (ЛПВП) [14]. Происходит модификация ФЛ-липидного бислоя, повреждение белкового скелета, в итоге это приводит к снижению эластичности мембран эритроцитов, трансформации их в ригидные формы, застревающие в капиллярном русле. Установлено участие свободных радикалов во внутрисосудистом гемолизе эритроцитов. Наиболее важными факторами, определяющими гемолитический эффект свободных радикалов, считают окисление ПНЖК в составе мембранного фосфатидилэтаноламина и тиоловых групп спектрина, ингибирование транспортных АТФаз и другие процессы, ведущие к снижению осмотической стойкости эритроцитов.

В соответствии с концепцией В.А. Барабоя, И.И. Брехмана, В.Г. Гольбина, О.Б. Кудряшова (1992) первичная интенсификация ПОЛ активирует основные стресс-реализующие системы: симпато-адрено-медуллярную и гипоталамо-гипофизарно-кортикальную [4]. Активация стресс-реализующих систем и является ответной реакцией организма, эволюционно отработанной и генетически запрограммированной на сдвиг про- и антиоксидантного равновесия, на увеличение количества АФК в органе-мишени. Стресс-реакция – это универсальная адаптационная реакция, которая развивается в результате повреждающего действия экстремального агента и реализуется при посредстве медиатора, в качестве которого выступают продукты окислительной деградации, АФК. Важным эффекторным звеном этого стресс-реализующего механизма является также активация ПОЛ, обусловленная многократным увеличением в циркуляции количества катехоламинов [4].

Активация симпато-адреналовой и гипофизарно-адреналовой систем с повышением концентраций глюкокортикоидов в крови играет важную роль в развитии стресс-реакции. В исследованиях Ф.З. Меерсона [91] было установлено повышение в 3–4 раза концентрации кортикостерона в коре надпочечников, плазме крови и сердце при эмоционально-болевым стрессе.

Свободнорадикальный гомеостаз клеток и тканей обеспечивается равновесием между ферментативными и неферментативными системами генерации активных форм кислорода, с одной стороны, и системами их элиминации, с другой стороны. Развитие патологических состояний, как правило, сопровождается возникновением неустойчивости в этом равновесии. Наиболее часто отмечается дисбаланс между этими системами, сопровождающийся сдвигом в сторону избыточной генерации свободных радикалов и/или дефицита антиоксидантов, который принято называть состоянием окислительного стресса [56; 57; 125; 126]. В настоящее

время признано, что окислительный стресс опосредует разнообразные повреждения внутренних органов и ЦНС при стрессе.

Поэтому повреждающая роль активных форм кислорода зачастую связана не столько с их прямым действием на клеточные структуры, а сколько с инициацией каскада процессов, ведущих к клеточному повреждению и развитию патологических состояний организма [126].

Содержание первичных и вторичных изопропанол-растворимых продуктов ПОЛ, представленных фосфолипидами, в плазме крови в результате действия ЭБС было повышено по сравнению с контролем. Содержание вторичных гептан-растворимых продуктов ПОЛ, содержащих нейтральные липиды, также достоверно превышало контрольные величины, что указывает на активизацию процессов липопероксидации в результате действия острого стресса. В течение 1, 2 суток после ЭБС не происходило нормализации данных показателей по сравнению с контролем. Содержание малонового диальдегида в плазме крови значительно повысилось в результате действия острого эмоционально-болевого стресса, а также в течение двух суток после него.

Содержание первичных изопропанол-растворимых продуктов ПОЛ в костном мозге в результате действия острого ЭБС практически не отличалось от контрольных величин. В результате действия 6-часового ЭБС в ткани костного мозга наблюдалось увеличение содержания вторичных изопропанолрастворимых продуктов ПОЛ, представленных кетодиенами и сопряжёнными триенами, аналогичная тенденция имела место и для вторичных гептан-растворимых продуктов ПОЛ, содержащих нейтральные липиды. В течение 1, 2 суток после ЭБС в костном мозге уровень вторичных продуктов ПОЛ в обеих фазах липидного экстракта продолжал оставаться достоверно повышенным по сравнению с

контролем. Только в течение пяти суток наблюдалась нормализация показателей ПОЛ в обеих фазах липидного экстракта.

Таким образом, острое стрессирование вызывало активацию процессов липопероксидации в крови и костном мозге. Мы предполагаем, что костный мозг обладает мощной антиоксидантной системой, обеспечивающей незначительное повреждение мембранных структур его клеток и изменение их метаболизма.

В крови в гептановой фазе липидного экстракта, представленной преимущественно нейтральными липидами, отмечалось наибольшее увеличение продуктов ПОЛ в отличие от изопропанольной фазы, в которую экстрагируются преимущественно фосфолипиды.

М.В. Северин, Б.Г. Юшков, А.П. Ястребов [131] отмечают, что уменьшение притока липидов в мембрану приводит к переключению клетки из состояния пролиферации в состояние покоя. При этом приток липидов в мембрану имеет определенное отношение к процессам перекисного окисления, а состояние последнего подвержено значительным изменениям. Таким образом, авторы утверждают, что взаимодействие легкоокисляющихся липидов, свободных радикалов и антиоксидантов является необходимым условием для прохождения клеток по их жизненному циклу. В.Н. Мещаниновым (1983) [131] показано, что в ситуациях, требующих изменения интенсивности физиологической регенерации кроветворной ткани (например, при гипоксии), уже через час отмечалась активация перекисного окисления липидов как в цельном костном мозге, так и в миелокариocyтах, что вполне согласуется с полученными нами данными. К 6-му часу гипоксии уровень ПОЛ в костном мозге оставался повышенным, в то время как содержание МДА в миелокариocyтах становилось ниже нормы. При более длительном действии (хроническая гипоксия) содержание продуктов ПОЛ в миелокариocyтах снижается. Подобные изменения

происходили и с диеновыми конъюгатами. Активация ПОЛ в ранние сроки и снижение его уровня в поздние отмечены и при кровопотере, при введении в организм солей кобальта. Авторы отмечают, что снижение процессов ПОЛ наблюдалось в тот период, когда количество пролиферирующих клеток резко увеличено. То есть, активация ПОЛ на начальных этапах возникновения потребности в активации физиологической регенерации способствовала обеднению клеточной мембраны легкоокисляемыми липидами, увеличивала ее проницаемость для метаболитов, в том числе индукторов гемопоэза. В поздние сроки, когда увеличено количество делящихся клеток и расширился плацдарм кроветворения, уровень ПОЛ снижался. Одновременно происходящая активация антиокислительных ферментов способствовала появлению ненасыщенных жирных кислот, повышенное содержание которых могло существенно повлиять на состояние микроциркуляторного русла костного мозга, характер которого в значительной мере определяет процессы гемопоэза в кроветворной ткани [131].

Активные формы кислорода (АФК) взаимодействуя с белками или ДНК, вызывают окислительную модификацию структуры и антигенных свойств этих макромолекул [18]. Подобный механизм возникновения аутоантигенов отличается от хорошо известного способа их образования путем присоединения гаптена, но он приводит к развитию аутоиммунного процесса, который в своей основе имеет иммунофизиологический характер и может стать причиной развития аутоиммунных патологических нарушений [82]. Если гидроксильный радикал взаимодействует не с ДНК и белками, а с липидами клеточной мембраны, то запускается цепная реакция ПОЛ. Способностью запускать ПОЛ обладает также синглетный кислород, в то время как супероксид и пероксид водорода не имеют достаточной химической активности, чтобы инициировать ПОЛ [125]. Химическая активность липидных радикалов

ниже, чем гидроксильного радикала, в связи с этим инициирование процесса ПОЛ в определенной мере выступает в роли защитного механизма от воздействия гидроксильного радикала. В основе ПОЛ лежит саморазвивающаяся цепная реакция, а не ферментативный процесс, как, например, при активации бактерицидной системы фагоцитов. Это различие указывает на то, что генерализация АФК необходима организму периодически, при определённых условиях. Процесс ПОЛ, напротив, должен протекать в организме постоянно. Если бы в основе ПОЛ лежала ферментативная реакция, её пришлось бы активировать непрерывно. В ходе эволюции для ПОЛ стал использоваться гораздо более экономный химический процесс – цепная реакция. Как показал академик Ю.А. Владимиров (1998), для коррекции ПОЛ в организме требуется не купирование, а регуляция скорости этого процесса. Регуляция интенсивности ПОЛ осуществляется не только с помощью антиоксидантов, сколько путем изменения состава жирных кислот, входящих в липидный бислой клеточных мембран. Это происходит потому, что под влиянием АФК стимулируется как ПОЛ, так и фосфолиполиз.

Таким образом, развитие этапа индивидуальной долговременной адаптации под влиянием факторов окружающей среды, в том числе гипоксии, и условий жизнедеятельности, в частности, эмоционально-болевого стресса, начинается с образования активных форм кислорода. Последние при длительной или избыточной генерации приводят к возникновению энергетического дефицита в клетках и тканях, а указанное состояние, по Ф.З. Меерсону (1993) [92], служит сигналом для запуска генетического аппарата клетки и формирования структурного следа в системах, восстанавливающих гомеостаз и обеспечивающих избирательное развитие ключевых структур, ответственных за устойчивую долговременную адаптацию. В результате увеличивается синтез белков и других

соединений, необходимых прежде всего для повышения производительности митохондрий и для возрастания эффективности системы антиоксидантной защиты.

В результате возникает три взаимосвязанных процесса: во-первых, активация предсуществующих механизмов срочной адаптации – свободнорадикального окисления и других (это имеет место после кратковременного ЭБС), во-вторых, развитие стандартного общего адаптационного синдрома-стресса в ответ на действие сильного раздражителя (в нашем случае эмоционально-болевого), в-третьих, мобилизация и повышение мощности системы, доминирующей в адаптации организма к конкретному действующему фактору.

Наиболее быстрое увеличение продукции АФК и развитие дефицита макроэргов достигается при гипоксии, которая, на наш взгляд, имеет место в результате действия кратковременного и пролонгированного ЭБС. Поэтому адаптационный и профилактический эффект дозированной гипоксии выражен в наибольшей степени.

В исследованиях В.В. Новицкого [102] изучались механизмы изменения функциональных свойств эритроцитов при остром воздействии монооксида углерода (СО). Авторами было показано нарушение деформируемости эритроцитов через сутки после ингаляционного воздействия СО. Вместе с тем обратимая агрегация эритроцитов существенно снижалась как в острый период гипоксии (через 1,5 часа после начала воздействия СО), так и в последующие 14 суток эксперимента. В проведенном ими исследовании было установлено, что изменения деформационных и агрегационных свойств эритроцитов сопровождалась структурной модификацией липидного состава клеточной мембраны. Так, в течение 14 суток наблюдения в мембранах эритроцитов (МЭ) авторами отмечалось перераспределение фракционного состава липидов, для ко-

того было характерно уменьшение доли фосфолипидов при одновременном увеличении фракции холестерина и его эфиров. Оценка микровязкостных свойств липидной фазы МЭ позволила выявить существенные нарушения ее структурной организации, затрагивающие межмолекулярные белок-липидные и липид-липидные взаимодействия.

Представленные авторами результаты определения уровня продуктов перекисного окисления липидов в эритроцитах и активности антиоксидантного фермента каталазы убедительно указывают на дисбаланс липопероксидации при токсическом действии СО. Авторы указывают, что механизмы снижения активности Na^+ - K^+ -АТФазы в МЭ в этих условиях могут быть сопряжены и с прямым влиянием продуктов свободнорадикального окисления на молекулу фермента.

Наряду с этим механизмы снижения функциональной активности циркулирующего пула эритроцитов могут быть связаны с поступлением в кровоток функционально неполноценных эритроцитов, образующихся в период напряженного эритропоэза в ответ на мощную гипоксическую стимуляцию костномозгового кроветворения [58; 59].

Таким образом, однократное воздействие монооксида углерода в концентрации 4000 мг/м^3 в течение 75 минут сопровождалось у крыс нарушением функциональной активности красных клеток крови в виде снижения деформируемости и повышения агрегационной способности эритроцитов (наиболее выраженных к исходу 1-х суток после воздействия). Как показано, эти изменения сопряжены со структурной модификацией и изменением метаболизма эритроцитарной мембраны. Признаки структурной модификации мембраны эритроцитов у крыс при остром воздействии монооксида углерода в среднететальной концентрации наиболее выражены в течение 1-х суток после интоксикации и носят

продолжительный характер, сохраняясь в период ликвидации карбоксигемоглобинемии (вплоть до 14–21-х суток)

Как установлено в исследованиях Т.Г. Сазонтовой [125] 6-часовой ЭБС сопровождался активацией ПОЛ в микросомах печени с последующим снижением как активности, так и количества цитохрома P-450. В гипоксических условиях большое значение для образования АФК приобретали несколько дополнительных механизмов. В первую очередь к ним относится активация ксантиноксидазной системы, приводящая к образованию супероксидного радикала, что имеет место при ишемических и гипоксических воздействиях, сопровождающихся накоплением субстратов этой реакции [125].

Помимо ферментативного образования АФК при гипоксических воздействиях идет процесс высвобождения индукторов образования АФК-металлов с переменной валентностью, в частности железа и меди от гемопротеинов – гемоглобина, цитохромов, церулоплазмينا, супероксиддисмутазы и др. [19]. Процессы, индуцируемые свободными, восстановленными формами металлов также не ограничены только прооксидантной направленностью, так как в ответ на такое высвобождение индукторов образования АФК, одновременно активируются механизмы, приводящие к синтезу железосвязывающих белков, как показано, например, для ферритина.

Активация свободнорадикального окисления связана с целым комплексом процессов внутриклеточного повреждения. Поэтому, по мнению Т.Г. Сазонтовой (2007) [125], целесообразно не выделять единственный процесс как определяющий весь каскад последующих повреждений, а искать возможность проследить связь и закономерность включения различных факторов в деградацию внутриклеточных структур *in vivo*. Важным является временной фактор, и эффективная защита может быть осуществлена

лишь с его учетом, так как активация последующей стадии не всегда может быть предупреждена ингибиторами предыдущей. Поэтому повреждающая роль АФК зачастую связана не столько с их прямым действием на клеточные структуры, а сколько с инициацией каскада процессов, ведущих к клеточному повреждению и развитию патологических состояний организма. В связи с этим защитное действие антиоксидантов не всегда может быть реализовано при лечении заболеваний, первоначально спровоцированных высоким уровнем АФК.

В исследованиях И.А. Волчегорского [24] показано, что динамика ПОЛ в костном мозге и селезёнке обожжённых крыс была противоположной таковой для плазмы крови. Наибольшее снижение интенсивности ПОЛ в костном мозге наблюдалось в течение суток после ожога, в дальнейшем содержание продуктов липопероксидации нарастало параллельно гиперплазии кроветворной ткани. Достоверное снижение содержания продуктов ПОЛ в костном мозге и селезёнке отмечалось в течение недели, т.е. в период максимально выраженных проявлений стресса, что идёт вразрез с общепринятым представлением об универсальном стресс-индикаторном значении усиленной липопероксидации [4; 91].

Окисление мембранных фосфолипидов, которые содержат ненасыщенные жирнокислотные остатки, происходит по цепному механизму. Эти процессы приводят к быстрому нарушению целостности клеточных мембран, не совместимому с жизнедеятельностью клетки. Молекулярными продуктами окисления фосфолипидов являются гидропероксиды жирных кислот, а также соединения альдегидной природы – гидроксиноненали и малоновый диальдегид. При нормальных условиях функционирования концентрация этих соединений в тканях мала, но в условиях нарушения кислородного метаболизма создается ситуация, характеризующаяся повышенной продукцией АФК и носящая название окислительного стресса. Гидропероксиды липидов нарушают регулярную

упаковку мембранного бислоя и вызывают образование в мембране дефектных зон. Гидроксиноненали обладают способностью образовывать аддукты с фосфолипидами, белками и нуклеиновыми кислотами, приводя к их повреждению. Малоновый диальдегид, взаимодействуя с белками и нуклеиновыми кислотами, кроме того вызывает образование внутри- и межмолекулярных сшивков, причем это его свойство активируется при ацидозе [13].

По мнению А.А. Болдырева (1995) [10; 13], процессы повреждения белков и нуклеиновых кислот под действием АФК могут происходить параллельно с окислительным повреждением мембранных липидов. В окислительную модификацию белков вовлекаются различные аминокислотные радикалы. В частности, аминокислотные и сульфгидрильные группы белков особенно легко окисляются АФК и гипохлоритом. Этот вид модификации является, как правило, обратимым, и зависит от энергетического потенциала клетки, а также наличия в ней восстановленных форм глутатиона, цистеина, тиоредоксина.

Окисление белков может приводить к нарушению или модификации их функций. Так, влияние АФК на Na^+/K^+ -АТФазу вызывает утрату чувствительности фермента к регулируемому действию АТФ; окислительная атака SH-групп NMDA-рецепторов приводит к подавлению их функции, что отражает контроль за эксайтотоксическими эффектами глутамата со стороны АФК. Фермент ксантиндегидрогеназа модифицируется в условиях окислительного стресса двумя различными способами, которые осуществляются с различной скоростью. Окисление SH-групп приводит к образованию дисульфидных связей в молекуле ксантиндегидрогеназы и изменяет характер катализируемой ею реакции окисления гипоксантина и ксантина: она превращается в ксантиноксидазу и начинает продуцировать супероксид-анион, что в итоге приводит к увеличению внутриклеточного уровня АФК. Иной путь модификации осуществляется с участием Ca^{2+} -активируемой протеиназы кальпаина, кото-

рый отщепляет от фермента хвостовую часть, это приводит к такой же модификации катализируемой им реакции. Первый путь занимает десятки секунд, а второй – минуты и осуществляется в случае, когда нарушение мембранной структуры клеток АФК приводит к повышению внутриклеточной концентрации кальция. Для некоторых тканей, в которых ксантиндегидрогеназы представлены слабо (например, в скелетных мышцах), это свойство не является существенным, а в мозге этот путь является серьезным источником АФК из-за высокого содержания ксантиндегидрогеназы.

Следует указать, что радикальная атака нуклеиновых оснований в ДНК и РНК приводит к гидроксильрованию и нарушению регулярной упаковки двойной спирали ДНК или стабильности РНК. Это вызывает фрагментацию молекул нуклеиновых кислот – дефекты, которые с трудом поддаются репарации. Более легкими для восстановления являются окислительные повреждения дезоксирибозы, вызываемые прямой атакой гидроксид-радикала. Как известно, окислительная модификация нуклеиновых кислот в клетках с активным кислородным метаболизмом происходит весьма часто – свыше десятков тысяч раз ежедневно. Тот факт, что подавляющее большинство из них не имеет последствий для нормальной жизнедеятельности организма, отражает наличие в клетках специальной многоступенчатой системы антиоксидантной защиты.

В последнее время стали активно накапливаться факты об информационной роли АФК, генерируемых клеткой в ответ на внешние сигналы [10; 12; 106; 141]. Оказалось, что стимуляция экспрессии генов носит избирательный, специфический характер, но в условиях дозированного повышения уровня АФК в клетке наблюдается активация транскрипции каппа В (NF- κ B), защищающего клетки от окислительного стресса. Этот процесс, вероятно, носит опосредованный характер, включающий несколько ещё не выявленных стадий [141]. Цитокины активируют NF- κ B через каскад киназ, приводя к диссоциации и последующей деградации I κ B

[106]. При этом АФК играют сигнальную функцию в процессе активации NF- κ B, причем источником АФК в этом случае являются цитоплазматические НАДРН-оксидазы нелейкоцитарных клеток.

Обнаружились прямые механизмы участия АФК в передаче сигнала клеточной мембраны на метаболические процессы. В частности, активация потенциал-зависимых калиевых каналов и изменение мембранного потенциала, ингибирование протеинфосфатаз и ограничение активности MAP-киназ [141]. В совокупности все эти реакции могут управлять клеточной стабильностью, и они же способны обеспечить оценку адекватности ее ответа на внешние сигналы. Именно в совокупности этих процессов заложена гарантия того, что клетка, которая не способна к адекватной реакции, должна быть устранена из жизни. Более того, эта же система решает – каков способ клеточной смерти (апоптоз или некроз) является более предпочтительным.

Еще один аспект в биологической активности АФК становится явным в последнее время. Низкомолекулярные антиоксиданты, как относительно мобильные компоненты цитозоля, участвуют в red/ox-регуляции метаболизма, выступая как регуляторы таких белков, как Na⁺/K⁺-АТРаза или NF- κ B. В ответ на метаболический дискомфорт в клетке повышается стационарный уровень АФК, что является сигналом для мобилизации метаболических возможностей клетки для адаптации к новым условиям. В случае невозможности нейтрализовать избыток АФК происходит активация целого каскада реакций, вызывающих или хаотическую (по типу некроза), или программируемую (апоптоз) смерть клетки. Таким образом, устойчивость сильно зависит от red/ox-состояния клетки, которое через изменение уровня восстановленности низкомолекулярных соединений (тиоредоксин, глутатион, аскорбат) будет определять ответ на внешние раздражители, вызывающие изменение стационарного уровня АФК.

Окислительная инактивация факторов транскрипции AP-1 и

NF- κ B происходит при более высоком уровне АФК, чем тот, при котором происходит активация этих факторов MAP-киназами. При интенсивном окислительном стрессе происходит снижение активности AP-1 и NF- κ B и транскрипции подчиненных им генов. Многие продукты этих генов участвуют в защитных системах клеток от стрессовых воздействий. Можно предположить, что начиная с определенного порогового уровня АФК, мобилизация защитных систем клетки ослабевает, тогда как стимуляция апоптоза продолжает возрастать. Под действием АФК также происходят окисление активных SH-групп и ингибирование конститутивных факторов транскрипции NF-1, Sp1, USF, MyoD. В результате происходит подавление экспрессии ряда генов. Так, например, окисление NF-1 вызывает снижение транскрипции некоторых изоформ цитохрома P-450 [10; 12]. АФК также ингибируют тирозиновые протеинфосфатазы, окисляя остатки цистеина в каталитических центрах этих ферментов [13].

1.2. Влияние эмоционально-болевого стресса на антиокислительную активность сыворотки крови, динамику показателей активности антиоксидантных ферментов в плазме крови и ткани костного мозга у экспериментальных животных

Рассмотрим влияние эмоционально-болевого стресса на антиокислительную активность (АОА) сыворотки крови крыс, которая изучалась по методу И.А. Волчегорского (1991) [24]. Влияние ЭБС на АОА сыворотки крови крыс представлено на рис. 4. Как следует из данных, представленных на рисунке, АОА сыворотки крови крыс под влиянием 1-часового ЭБС увеличилась на 30,0% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. Через 1, 2, 5 суток после 6-часового ЭБС антиокислительная активность сыворотки крови крыс превышала контроль соответственно на 7,9% ($p < 0,05$); 10,1% ($p < 0,001$); 15,0% ($p < 0,001$). По сравнению с 6-часовым ЭБС антиокислительная ак-

тивность сыворотки крови крыс была выше через 1, 2, 5 суток после 6-часового ЭБС соответственно на 13,5% ($p<0,001$); 15,8% ($p<0,001$); 20,9% ($p<0,001$).

Выполненные исследования продемонстрировали, что уровень АОА сыворотки крови крыс возрастал после 1-часового ЭБС по сравнению с контролем, что коррелирует с содержанием продуктов ПОЛ в обеих фазах липидного экстракта. После 6-часового ЭБС наблюдалось истощение антиокислительного потенциала сыворотки крови на фоне максимального увеличения молекулярных продуктов ПОЛ, растворимых в гептане₂ и изопропанол₂. Через 1, 2, 5 суток после 6-часового ЭБС наблюдалось постепенное увеличение антиокислительной активности сыворотки крови крыс. По-видимому, за счёт компенсаторного увеличения уровня АОА предотвращалась генерализация процессов ПОЛ на вторые и особенно пятые сутки после 6-часового ЭБС. Необходимо указать, что основными составляющими антиокислительной активности крови являются белковые антиоксиданты – церулоплазмин и трансферрин.

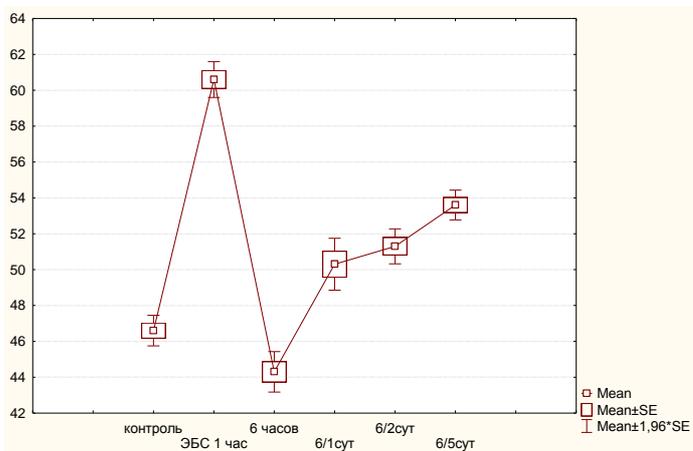


Рис. 4 Влияние эмоционально-болевого стресса на антиокислительную активность (АОА) (%) сыворотки крови у экспериментальных животных ($M\pm m$). Достоверность отличий от контроля рассчитана с помощью теста Манна–Уитни

Определение активности супероксиддисмутазы (СОД) (К.Ф.1.15.1.1.) в крови и костном мозге осуществляли по методу (С. Чевари, И. Чаба, И. Секей, 1985) [63]. Определение церулоплазмينا проводили по модифицированному методу (С.В. Бестужева, В.Г. Колб, 1976) [63].

Влияние ЭБС на динамику показателей активности антиоксидантных ферментов в плазме крови у экспериментальных животных представлено в таблицах 3, 4.

Таблица 3

Динамика показателей активности антиоксидантных ферментов в плазме крови у экспериментальных животных, подвергшихся действию эмоционально-болевого стресса (M±m)

Сроки стресса	СОД (у.е.а.)	Каталаза (нмоль/мл в мин)
Контроль	0,98±0,01	680,40±18,48
ЭБС 1 час	1,11±0,05*	758,65±14,39**
ЭБС 6 часов	0,86±0,03***	583,78±13,40***
ЭБС 6 часов + 1 сут.	0,88±0,02**	610,32±13,66**
ЭБС 6 часов + 2 сут.	0,92±0,02*	622,57±15,04*
ЭБС 6 часов + 5 сут.	0,93±0,02*	636,85±16,36

Примечание: достоверность отличий от контроля: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$, рассчитанных с помощью теста Манна–Уитни.

Из данных, представленных в таблице 3, следует: после 1-часового ЭБС активность СОД в плазме крови увеличилась на 13,3% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. После 6-часового ЭБС активность СОД в костном мозге снизилась на 12,3% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. Активность СОД в крови после 6-часового ЭБС снизилась на 22,5% ($p < 0,001$) по сравнению с 1-часовым ЭБС.

Через сутки после 6-часового ЭБС активность СОД в крови была ниже контроля на 10,2% ($p < 0,01$).

Через 5 суток после 6-часового ЭБС активность СОД в крови была недостоверно ниже контроля и на 8,1% ($p < 0,05$) выше активности этого фермента после 6-часового ЭБС.

Из данных, представленных в таблице 3, следует: после 1-часового ЭБС активность каталазы в крови увеличилась на 11,5% ($p < 0,01$) по сравнению с контролем.

После 6-часового ЭБС активность каталазы в крови снизилась на 14,2% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем и на 23,1% ($p < 0,001$) по сравнению с 1-часовым ЭБС. Через 1 и 2 суток после 6-часового ЭБС активность каталазы в крови была ниже контроля соответственно на 10,3% ($p < 0,01$) и 8,5% ($p < 0,05$). Через 5 суток после 6-часового ЭБС активность каталазы в крови была недостоверно ниже контроля и на 9,1% ($p < 0,05$) выше активности этого фермента после 6-часового ЭБС.

Таблица 4

Динамика показателей концентрации церулоплазмينا и активности глутатионредуктазы в плазме крови у экспериментальных животных, подвергшихся действию эмоционально-болевого стресса ($M \pm m$)

Сроки стресса	Церулоплазмин (мг %)	Глутатионредуктаза (нмоль/мг белка в мин)
Контроль	16,25±0,41	12,61±0,29
ЭБС 1 час	18,69±0,32***	13,87±0,28**
ЭБС 6 часов	14,56±0,25**	10,19±0,23***
ЭБС 6 часов + 1 сут.	14,71±0,28**	10,54±0,26***
ЭБС 6 часов + 2 сут.	15,44±0,30	10,93±0,24***
ЭБС 6 часов + 5 сут.	15,93±0,24	11,41±0,25**

Примечание: достоверность отличий от контроля: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$, рассчитанных с помощью теста Манна–Уитни.

Из данных, представленных в таблице 4, следует: после 1-часового ЭБС концентрация церулоплазмينا в крови увеличилась

на 15,0% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем; после 6-часового ЭБС – снизилась на 10,4% ($p < 0,01$) по сравнению с контролем и на 22,1% ($p < 0,001$) по сравнению с 1-часовым ЭБС. Через сутки после 6-часового ЭБС концентрация ЦП в крови была ниже контроля на 9,5% ($p < 0,05$).

Через 5 суток после 6-часового ЭБС концентрация ЦП в крови была на 9,4% ($p < 0,05$) выше концентрации этого фермента после 6-часового ЭБС.

После 1-часового ЭБС активность ГР в крови увеличилась на 9,9% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем; после 6-часового ЭБС – снизилась на 19,2% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. Через 1, 2, 5 суток после 6-часового ЭБС активность ГР в крови была ниже контроля соответственно на 16,4% ($p < 0,001$); 13,3% ($p < 0,001$); 9,5% ($p < 0,05$).

Свободнорадикальное окисление является неперенным условием жизни клетки, а весь набор эндогенных антиоксидантов предназначен для контроля АФК-индуцируемого окисления и дальнейшего возможного повреждения клеточных структур. В связи с этим в клетках существует многокомпонентная система антиоксидантной защиты, которая позволяет поддерживать интенсивность свободнорадикальных процессов на оптимальном уровне.

Выделяют среди компонентов антиоксидантной защиты следующие группы: ферменты антиоксидантной защиты; низкомолекулярные антиоксиданты, синтезируемые в организме (глутатион, мочевая кислота и т.д.); естественные антиоксиданты, поступающие в организм с пищей (аскорбиновая кислота – витамин С, α -токоферол – витамин Е, рутин – витамин Р, флавоноиды, β -каротин и другие каротиноиды, предшественники группы витаминов А), а также хелаторы индукторов АФК – металлов с переменной валентностью, в том числе белковой природы, которые

связывают ионы металлов (например, ферритин – в клетках, трансферрин и церулоплазмин – в плазме, карнозин – в мышцах и др.). Именно согласованная работа этих компонентов антирадикальной защиты поддерживает на постоянном уровне как образование, так и превращения свободных радикалов и других потенциально опасных соединений [125; 126].

Перечисленные выше эндогенные собственные антиоксидантные белки многократно превышают по удельной антирадикальной активности небелковые компоненты, в том числе витамины, и выполняют основную антиоксидантную функцию в клетке. К ним относятся супероксиддисмутаза (СОД), катализирующая реакцию дисмутации супероксидного анион-радикала в пероксид водорода; каталаза, разлагающая перекись водорода; глутатионзависимые пероксидазы и трансферазы, удаляющие органические перекиси. Следует отметить, что СОД и каталаза не нуждаются в кофакторах, т.е. работают автономно, независимо от функционирования других клеточных структур. Для работы глутатионзависимых ферментов необходим восстановленный глутатион, который синтезируется глутатионсинтетазой или восстанавливается в реакции с глутатионредуктазой [125]. В клетке антиоксидантные ферменты могут находиться в связанном состоянии с мембранами или же в свободном виде в цитозоле, а могут содержаться в клеточных оргanelлах, например в митохондриях, и даже иметь своеобразное депо в клетке, находясь в большем количестве в пероксисомах.

Свободнорадикальный гомеостаз клеток и тканей обеспечивается равновесием между ферментативными и неферментативными системами генерации активных форм кислорода, с одной стороны, и системами их элиминации, с другой стороны [103].

Свободные радикалы являются постоянными продуктами кислородного метаболизма в клетках живых организмов и в норме продуцируются в результате разнообразных процессов, принимающих участие практически во всех физиологических функциях.

В нормальных условиях осуществляется поддержание равновесия между прооксидантными и антиоксидантными системами организма. Развитие патологических состояний и действие ЭБС, сопровождались возникновением неустойчивости в этом равновесии. Наиболее часто отмечается дисбаланс между этими системами, сопровождающийся сдвигом в сторону избыточной генерации свободных радикалов и/или дефицита антиоксидантов, который принято называть состоянием окислительного стресса [56]. В настоящее время признано, что окислительный стресс опосредует разнообразные повреждения, наблюдающиеся в ЦНС при нейродегенеративных процессах, травме, ишемии и других типах патологии.

Как считают Т.Г. Сазонтова, Н.А. Анчишкина и Ю.В. Архипенко [125], многокомпонентная система антиоксидантной защиты клетки обладает высокой синхронизацией и взаимодействием всех компонентов, что обеспечивает ее высокую эффективность для поддержания физиологического уровня свободнорадикальных процессов. Необходимость комплексной работы многих антиоксидантов в клетке, их взаимозаменяемость и специфичность активации в ответ на различные воздействия, в том числе стрессорные, возможность подавления синтеза эндогенных ферментов антиоксидантной защиты введением экзогенных добавок антиоксидантов свидетельствуют о тонкой сбалансированности всех компонентов антиоксидантной системы клетки, что предполагает особую осторожность при использовании внешней антиоксидантной терапии.

По мнению Т.Г. Сазонтовой, Ю.В. Архипенко (2007) [125], в клетке существует как разветвленная система образования АФК, так и многокомпонентная система антиоксидантов (ее функционирование поддерживает определенный сбалансированный уровень АФК, обеспечивая гомеостаз между прооксидантными и антиоксидантными факторами). Таким образом, в организме существует определенное физиологическое, сбалансированное соотношение

прооксидантов и антиоксидантов, колебания которого не выходят за рамки свойственного данному организму физиологического коридора. Благодаря таким колебаниям в клетке может ограниченно повышаться интенсивность АФК – процессов при обновлении структурных ресурсов, разборке белков и липидов или синтезе биологически активных веществ и вторичных мессенджеров, а также при решении специфических задач, например индукции АФК в целях иммунной защиты или антистрессорной защиты.

Что же произойдет в том случае, если уровень свободнорадикальных реакций еще больше увеличится? Возможно, что активность антиоксидантной системы, достигнув своего максимума еще на предыдущей стадии, в частности после 1-часового ЭБС, не может быть повышена после 6-часового ЭБС, а также через 1–2 суток после стресса. В связи с этим нам представилось интересным изучить влияние эмоционально-болевого стресса на состояние стресс-лимитирующей системы у экспериментальных животных.

В целом ряде случаев острые воздействия, в том числе гипоксия, приводят не только к повреждению и развитию патологических состояний, но сопровождаются значительной активацией защитных систем клеток различных тканей, что может приводить к снижению интенсивности окислительного стресса, сопровождающего эти воздействия. Так, например, подавление свободнорадикальных реакций было обнаружено при стрессе в коре головного мозга или в почках в отличие от роста уровня АФК в других органах, например в печени и сердце [126]. Кроме того, зарегистрирована нелинейная, волнообразная динамика изменения уровня АФК при острых воздействиях, сопровождающихся индукцией окислительного стресса, т.е. наблюдалась периодическая смена подавления и активации свободнорадикальных процессов. Более того, при острых воздействиях может происходить не только снижение интенсивности свободнорадикального окисления, но и повышение устойчивости тканей к действию факторов, вызывающих

рост уровня АФК. Подобное явление было зарегистрировано в отношении Ca^{2+} -насоса саркоплазматического ретикулума сердца при острой физической нагрузке (одночасовом плавании) увеличивалась активность и устойчивость этого фермента к свободно-радикальному окислению [126].

Супероксиддисмутаза (СОД), каталаза, церулоплазмин (ЦП), глутатионредуктаза (ГР) относятся к антиоксидантам, находящимся в крови и тканях, являясь составной частью периферической стресс-лимитирующей системы. При гипоксии, стрессах различной этиологии, воспалении активируются свободнорадикальные реакции, которые находятся под контролем антиоксидантной системы [19].

Как указано на рис. 5, под влиянием ЭБС происходили изменения в антиоксидантном статусе организма, в частности, в ткани костного мозга.

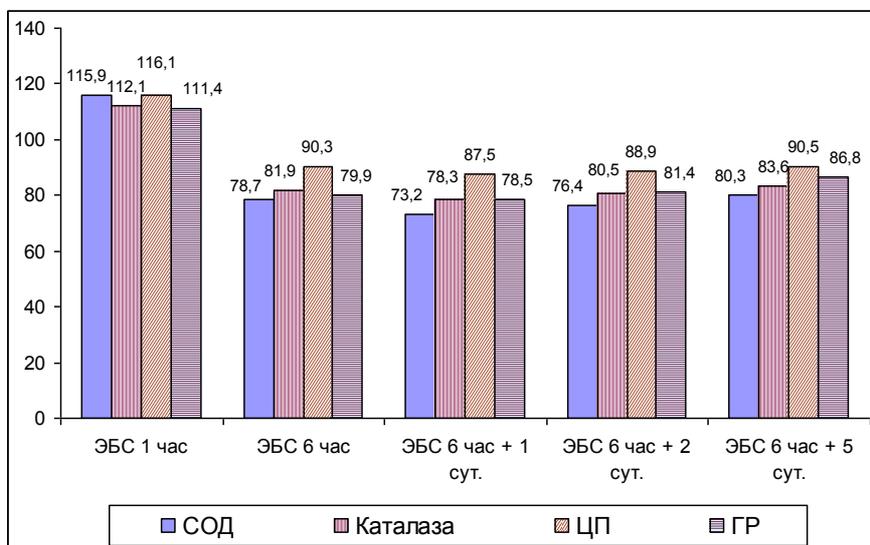


Рис. 5. Динамика показателей активности антиоксидантных ферментов (СОД, каталазы, глутатионредуктазы) и концентрации церулоплазмينا (в % от контроля) в ткани костного мозга у экспериментальных животных, подвергшихся действию эмоционально-болевого стресса

По мнению И. Фридович (1999) [206], супероксиддисмутаза связывает супероксид анион-радикал, представляя собой наиболее важный уровень клеточной защиты. В организме человека и животных выделяют 3 изоформы фермента: 1) цитозольную – Си, Zn-СОД; 2) митохондриальную – Mn-СОД; 3) внеклеточную (экстрацеллюлярную) высокомолекулярную форму – Э-СОД (Си, Zn-СОД). Следует отметить, что СОД в присутствии избыточного количества H_2O_2 , может образовывать высокореакционноспособный гидроксильный радикал, который атакует белковую молекулу СОД, приводя к ее фрагментации и потере активности. Следовательно, для эффективной работы этот фермент нуждается в присутствии низкомолекулярных антиоксидантов или в согласованной работе с пероксидазами. Этот пример указывает на наличие тесного взаимодействия между ферментативными и неферментативными компонентами клеточной антиоксидантной системы.

Из данных, представленных на рис. 5, следует: после 1-часового ЭБС активность супероксиддисмутазы (СОД) в костном мозге увеличилась на 14,9% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем; после 6-часового ЭБС – снизилась на 21,3% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. Через 1, 2, 5 суток после 6-часового ЭБС активность СОД в костном мозге была ниже контроля соответственно на 26,8% ($p < 0,001$); 23,6% ($p < 0,001$) и 19,7% ($p < 0,001$).

Одним из главных ферментов, связанных с метаболизмом перекиси водорода, является каталаза. Это железосодержащий протопорфирин с молекулярной массой около 250 kDa, обладающий двойной функцией – каталазной и пероксидазной [125]. Каталазная активность фермента преобладает в клетке при высоких концентрациях перекиси водорода, а при низких – пероксидазный путь расщепления перекиси водорода. Существенно, что каталаза может также неспецифически стимулировать распад гидроперекисей липидов. В клетках каталаза локализована преимущественно в

пероксисомах, и низкий ее уровень обнаруживают в цитозоле и митохондриях [125]. Каталаза – один из ферментов, который наиболее длительно сохраняет высокую активность, скорость ее реакции зависит лишь от скорости диффузии субстрата к активному центру фермента [125]. Следует отметить, что во внеклеточных жидкостях каталаза быстро теряет свою активность в результате действия протеолитических ферментов, что является наибольшим возражением при ее экзогенном использовании.

Из данных, представленных на рис. 5, следует: после 1-часового ЭБС активность каталазы в костном мозге увеличилась на 12,0% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем.

После 6-часового ЭБС активность каталазы в костном мозге снизилась на 18,0% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем и на 26,8% ($p < 0,001$) по сравнению с 1-часовым ЭБС. Через 1, 2, 5 суток после 6-часового ЭБС активность каталазы в костном мозге была ниже контроля соответственно на 21,7% ($p < 0,001$); 19,5% ($p < 0,001$) и 16,4% ($p < 0,001$).

После 1-часового ЭБС концентрация церулоплазмينا в костном мозге увеличилась на 16,0% ($p < 0,001$), а после 6-часового ЭБС – снизилась на 9,7% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Через 1, 2, 5 суток после 6-часового ЭБС концентрация церулоплазмينا в костном мозге была ниже контроля соответственно на 12,5% ($p < 0,01$); 11,1% ($p < 0,01$) и 9,5% ($p < 0,05$).

В клетках млекопитающих выявлено целое семейство многофункциональных белков – глутатионтрансфераз, основной функцией которых является защита клеток от ксенобиотиков и продуктов ПОЛ посредством их восстановления. Глутатионтрансферазы локализованы преимущественно в цитозоле клеток [126]. Восстановленный глутатион, глутатионпероксидаза, глутатионтрансферазы, глутатионредуктаза и NADPH образуют глутатионовую антиоксидантную систему, в которой глутатионредуктаза и

NADPH необходимы для восстановления окисленного глутатиона. Одним из ферментов, контролирующих уровень H_2O_2 в клетке, является глутатионпероксидаза, локализованная в цитозоле и матриксе митохондрий. Этот фермент катализирует реакции разложения перекисей более широкого спектра. Кроме H_2O_2 она способна восстанавливать гидроперекиси жирных кислот, а также перекиси белкового или нуклеинового происхождения. Глутатионпероксидаза способствует разложению H_2O_2 и других гидроперекисей в реакции окисления-восстановления глутатиона. Сродство глутатионпероксидазы к H_2O_2 выше, чем у каталазы, в связи с этим она более эффективно работает при низких концентрациях перекиси водорода, в то же время в защите клеток от окислительного стресса, вызванного высокими концентрациями H_2O_2 , ключевая роль принадлежит каталазе [126].

Из данных, представленных на рис. 5, следует: после 1-часового ЭБС активность глутатионредуктазы (ГР) в костном мозге увеличилась на 11,4% по сравнению с контролем. После 6-часового ЭБС активность ГР в костном мозге снизилась на 20,1% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Активность ГР в костном мозге после 6-часового ЭБС снизилась на 28,2% ($p < 0,01$) по сравнению с 1-часовым ЭБС. Через сутки после 6-часового ЭБС активность ГР в костном мозге была ниже контроля на 21,5% ($p < 0,01$). Через 2 и 5 суток после 6-часового ЭБС активность ГР в костном мозге была ниже контроля соответственно на 18,6% ($p < 0,01$) и 13,2% ($p < 0,05$).

При обсуждении результатов исследования нами было выявлено, что содержание молекулярных продуктов ПОЛ в крови и ткани костного мозга после ЭБС, а также спустя 1, 2, 5 суток после 6-часового ЭБС, существенно влияет на соотношение различных категорий липопероксидов, имеющих отношение к повреждению организма животных, перенесших ЭБС вообще и костного мозга, в

частности. Не следует забывать, что эмоционально-болевым стресс является очень сильным для организма и, несмотря на его кратковременный характер, может вызвать серьёзные необратимые повреждения органов и систем организма. В связи с этим компенсаторные процессы, протекающие в организме животных, перенесших ЭБС, играют важную роль в адаптации организма к действию стрессирующих факторов и направлены как на поддержание гомеостаза, так и на адаптацию организма в целом. Характер компенсаторных процессов во многом определяет успех этой адаптации в целом, а значит, сохранение жизнедеятельности организма.

Нами выявлено, что после 1-часового и особенно 6-часового ЭБС в организме животных под действием глюкокортикоидов и катехоламинов активируются липазы и фосфолипазы, что приводит к повышению процессов липопероксидации в крови и ткани костного мозга, которые сохраняются на протяжении двух суток после ЭБС. Как известно, стресс влияет на разные уровни структурной организации организма: молекулярный, клеточный, органический. При этом воздействие стресса нередко вызывает нарушение процессов окислительного фосфорилирования и как следствие – снижение энергетического обмена, вызывающего развитие тканевой гипоксии. Поэтому выявленное нами уменьшение уровня молекулярных продуктов ПОЛ, растворимых в гептане₁, в результате действия 1-часового и 6-часового ЭБС в крови и костном мозге животных по сравнению с контролем, а также уменьшение содержания первичных продуктов ПОЛ, растворимых в изопропанол₁, в течение 1–2 суток после 6-часового ЭБС по сравнению с 6-часовым ЭБС отражает снижение в крови и костном мозге окислительных процессов, что часто сопровождается угнетением энергопродукции.

Низкая антиокислительная активность сыворотки крови и пониженная активность ферментов антиоксидантной защиты у

животных, перенесших 6-часовой ЭБС, на фоне генерализованной активации процессов ПОЛ в крови и костном мозге не в состоянии в полной мере в течение 1–2 суток после действия стресса компенсировать процессы свободнорадикального окисления.

В результате действия ЭБС наблюдалось повышение уровня перекисленных фосфолипидов (изопропанольная фаза₂) в крови и костном мозге. Как известно, фосфолипиды составляют структурную основу мембран митохондрий и клеток, а нейтральные липиды содержатся в основном в цитоплазме клеток. Окисляемость ненасыщенных жирных кислот, находящихся в фосфолипидах, выше, чем у нейтральных липидов. В связи с этим перекисленные фосфолипиды вытесняются из наружной мембраны из-за возрастания их полярности. На фоне активации гипофизарно-надпочечниковой системы при стрессе и усилении ПОЛ на фоне увеличения содержания свободных радикалов в крови и костном мозге наблюдается возрастание активности фосфолипаз, накопление жирных кислот, способствующих в итоге повышению скорости ПОЛ. Изопропанол-растворимые молекулярные продукты ПОЛ способны вызывать повреждения внутренних органов, в том числе и ткани костного мозга. По нашему мнению, в условиях действия ЭБС в костном мозге существуют компенсаторные механизмы, препятствующие индукции ПОЛ от циркулирующих липопероксидов. Поэтому увеличение мощности антиоксидантных систем в крови и костном мозге является защитой органа от разрушающего действия продуктов ПОЛ. После действия 6-часового ЭБС, а также спустя 1–2 суток после него соотношение антиоксидантных и прооксидантных систем сместилось в сторону последних. Таким образом, требуется определённая коррекция баланса между этими системами с целью установления равновесия и снижения повреждающего действия стресса на ткань костного мозга.

По мнению Т.Г. Сазонтовой [125; 250], высокий уровень антиоксидантов может сопровождать как низкий уровень свободно-радикальных процессов, и в этом случае клетка будет иметь дополнительную антиоксидантную защиту, или высокий уровень антиоксидантов может сопровождать высокий уровень АФК – в этом случае может наблюдаться как компенсация, так и отсутствие таковой. После 1-часового ЭБС наблюдался высокий уровень всех исследованных ферментов антиоксидантной защиты как в крови, так и в ткани костного мозга, который сопровождался повышенным уровнем продуктов ПОЛ, что, по нашему мнению, является компенсацией в ответ на повреждающее действие АФК при стрессе.

С другой стороны, как утверждают Т.Г. Сазонтова, Н.А. Анчишкина и Ю.В. Архипенко [125], низкий уровень антиоксидантов может сопровождаться как высоким уровнем АФК так и низкой интенсивностью свободнорадикальных реакций, примером чему может служить непрерывная горная гипоксия. Срыв адаптации можно наблюдать не только при увеличении интенсивности действующего фактора (гипобарическая гипоксия при 6000 м), но и при увеличении его длительности (хронический стресс малой интенсивности) или введении дополнительного повреждающего фактора.

Более того, учитывая, что свободнорадикальные продукты являются субстратами антиоксидантов, можно ожидать, что чрезмерно высокий уровень АФК, помимо прямой атаки ферментов антиоксидантной защиты, способен снижать их активность, также как и любого другого фермента по принципу обратного ингибирования субстратом. В этом случае может наблюдаться низкий уровень антиоксидантов при высоком уровне АФК. Подобная тенденция имела место в наших исследованиях в крови и ткани костного мозга экспериментальных животных, подвергшихся действию

6-часового ЭБС. Такое соотношение косвенным образом относится к срыву адаптации. Следует указать, что активность ферментов антиоксидантной защиты в крови и ткани костного мозга у экспериментальных животных даже спустя 1, 2 суток после 6-часового ЭБС была достоверно ниже контрольных величин. Компенсаторные процессы, направленные на повышение активности ферментов антиоксидантной защиты в крови животных, наступили только спустя пять суток после действия 6-часового ЭБС. А активность ферментов антиоксидантной защиты в ткани костного мозга животных спустя пять суток после действия 6-часового ЭБС по-прежнему оставалась ниже контрольных величин, достоверно не отличаясь от соответствующих показателей после 6-часового ЭБС.

Главным в реализации антиоксидантного ответа является дозированность окислительного стресса, т.е. необходимость, с одной стороны, активировать защитные системы, а с другой – не вызвать истощение клеточных ресурсов, срыв адаптации к новым условиям среды и в дальнейшем повреждение.

Острые воздействия, в том числе гипоксия, приводят не только к повреждению и развитию патологических состояний, но сопровождаются значительной активацией защитных систем клеток различных тканей, что может привести к снижению интенсивности окислительного стресса, сопровождающего эти воздействия.

Появляются отдельные работы, в которых представлены данные о том, что введение какого-либо из антиоксидантов может компенсаторно уменьшать активность других. Показано [125; 126], что добавление витамина С в культуру гепатоцитов многократно уменьшало уровень в них витамина Е, что не снижало антиоксидантный эффект, т.к. выживаемость таких клеток при окислительном стрессе возрастает.

В заключении данного параграфа следует отметить, что в клетке существует как разветвленная система образования АФК,

так и многокомпонентная система антиоксидантов, функционирование которой поддерживает определенный сбалансированный уровень АФК, обеспечивая тем самым гомеостаз между прооксидантными и антиоксидантными факторами.

Во-первых, важно учитывать, что увеличение активности ферментов антиоксидантной защиты всегда связано с ростом концентрации субстратов для этих ферментов, а именно с повышением уровня АФК, которые являются сигналом к увеличению синтеза новых молекул антиоксидантов.

Во-вторых, клеточный баланс между уровнем прооксидантов и антиоксидантов может иметь совершенно разное абсолютное значение, т.е. низкий уровень про- и антиоксидантных факторов и высокий уровень тех и других в итоге могут дать одинаковое абсолютное значение соотношения между ними. Поэтому в каждом конкретном случае было бы недостаточно ограничиться изучением уровня антиоксидантов без изучения степени выраженности свободнорадикальных реакций и делать вывод о состоянии ткани, т.е. изучение свободнорадикальных реакций в клетке предполагает параллельное исследование и антиоксидантных факторов.

В-третьих, при оценке соотношения прооксидантов и антиоксидантов в клетке всегда целесообразно оценить какой-либо функциональный параметр, например работу мембраносвязанных систем, резистентность которых непосредственно зависит от интенсивности свободнорадикального окисления на уровне мембран и состояния защитных систем [125].

Высокий уровень антиоксидантов может сопровождать как низкий уровень свободнорадикальных процессов, и тогда клетка будет иметь дополнительную антиоксидантную защиту, или высокий уровень антиоксидантов может сопровождать аналогичный уровень АФК – тогда может наблюдаться как компенсация, так и её отсутствие.

Наличие запаса прочности – повышенной резистентности к повреждающим факторам – для клеточных компонентов, которые могут сыграть защитную роль при их действии, является той конечной целью, к которой идет любая адаптация – функционированию в новых условиях среды. Так как в клетках на начальных этапах срочного ответа не происходит одновременного увеличения резистентности и мощности, то предпочтение отдается качественным изменениям, а не синтетическим процессам. Поэтому при ограничении начального этапа адаптации индукцией генов срочного ответа и регуляторных, но не структурных белков значительно снижается «цена» адаптации.

В настоящее время стало очевидным существование особой, зависимой от АФК, регуляторной системы, действующей при физиологических и патологических состояниях вместе с гормональной, иммунной, нейромедиаторной и т.д. Например, АФК принимают непосредственное участие на начальных этапах внутриклеточной сигнализации, которая, в свою очередь, является многокомпонентной системой передачи внешнего сигнала к клеточному ядру и называется редокс-сигнализацией по начальному звену, чувствительному к окислительно-восстановительному состоянию.

В настоящее время известно множество медиаторов и соответствующих им клеточных рецепторов, благодаря взаимодействию которых осуществляются различные специфические реакции, например, катехоламины и адренорецепторы. Но следует указать, что для большого количества действующих агентов, как внешнего, так и внутреннего происхождения, специфических рецепторов не обнаружено. Это в первую очередь относится к действию гипоксии, различных окислителей, восстановителей и т.д. Тем не менее клеточный ответ на эти воздействия развивается и без таких специфических рецепторов благодаря сигнальной цепи, которая

называется редокс-сигнализацией. Кроме того, даже те медиаторы, которые имеют определенные рецепторы, имеют и параллельное действие через активацию редокс-сигнализации. В недавних исследованиях установлена ключевая роль АФК в перекрестной активации рецепторов и так называемом «перекрестном разговоре» (cross-talk) сигнальных путей, поскольку АФК образуются при активации самых разных рецепторов – гормональных, цитокиновых и т.д. Последовательность действия АФК на клетку выглядит следующим образом: прежде всего АФК действуют на чувствительный к окислению белок. На роль такого сенсора АФК претендуют несколько белков: тиоредоксин, цитозольная тиоредоксин-редуктаза, гемоксигеназа, NADPH-редуктаза и NADPH- и NADH-оксидазы [125]. Но основным инициатором этой сигнальной цепи является переход из восстановленного в окисленное состояние белковых сульфгидрильных групп, окисление которых происходит благодаря генерации АФК снаружи или внутри клетки.

После этого сигнал передается по уже известным регуляторным каскадам, работающим и при активации специфических рецепторов. Показано, что стадия активации протеинтирозинкиназы является общим звеном при специфическом (с известным рецептором) и неспецифическом приеме внешнего сигнала. В дальнейшем индуцируются киназные каскады, включая активацию митоген-активируемой протеинкиназы-МАРК, -SAPK и -ERK, изменяется работа нейтральных протеаз, которые модифицируют многие белки, в частности, сигнал передается к ионным каналам и т.д., что в свою очередь приводит к передаче сигналов следующим внутриклеточным медиаторам.

Одним из важнейших следствий инициации описанной выше редокс-сигнализации является активация ядерных факторов транскрипции, таких как NF-κB, AP-1, HIF-1α, HIF-3α, и др., Redox factor-1 (Ref-1), STAT (signal transducer and activator of transcription)

[125; 126; 250]. Список этих факторов постоянно расширяется, это вызывает неоднозначную интерпретацию получаемых данных. Причиной может быть то, что в ответ на повышение уровня АФК одновременно индуцируется не один, а несколько факторов транскрипции, зачастую с прямо противоположным действием на одни и те же компоненты клеточной сигнализации. В итоге активация факторов транскрипции приводит к дальнейшей индукции синтеза многочисленных белков с защитной функцией, активность которых способствует адаптации и выживаемости клеток в неблагоприятных условиях.

В настоящее время описано существование нескольких стадий развития клеточного ответа, из которых начальная не связана с индукцией генетического аппарата, а изменяет активность уже существующих систем, т.е. носит регуляторный характер. Следующая стадия клеточного ответа связана с активацией сигнальных каскадов, например редокс-сигнальным путем, с помощью которых внешний сигнал передается к ядру. В этом случае активируются определенные гены и начинается синтез мРНК и соответствующих белков с целью оптимизации работы в новых условиях. В этом случае ответ клетки будет физиологическим, компенсаторным.

Резюме по первой главе

Таким образом, в периферическом и центральном отделах эритрона у животных, подвергшихся эмоционально-болевого стрессу, выявлены две фазы: катаболическая и анаболическая. Это согласуется с ранее полученными В.И. Павловой [105] результатами, свидетельствующими об уменьшении биосинтеза ДНК и РНК в сердце, печени, головном мозге, семенниках животных, подвергнутых 6-часовому ЭБС. В течение 1–2 суток после стресса наблюдалась

активация биосинтеза нуклеиновых кислот в исследованных органах у животных. В первую фазу повреждающего действия ЭБС показана активация стресс-реализующей системы, изменилось соотношение различных категорий продуктов липопероксидации в крови и ткани костного мозга, что иллюстрирует имеющие место деструктивные процессы в этих органах. Аналогичные результаты получены в исследованиях Д.З. Шибковой, Ю.Г. Камсковой, Я.В. Латюшина, В.И. Павловой на модели гипокинезии, В.Э. Цейликмана при иммобилизационном стрессе, Е.И. Львовской при термической травме [84; 151; 164–166].

Г Л А В А 2

ВЛИЯНИЕ ЭМОЦИОНАЛЬНО-БОЛЕВОГО СТРЕССА НА УРОВНИ ЦИТОКИНОВ В КРОВИ И КОСТНОМ МОЗГЕ ЖИВОТНЫХ

Определение содержания цитокинов производили на анализаторе «Multiscane Biotech» (Финляндия) в плазме крови и в костном мозге животных с помощью тест-системы производства ООО «Цитокин» (г. Санкт-Петербург), основанное на «сендвич-методе» твердофазного ИФА с применением пероксидазы хрена в качестве индикаторного фермента.

Цитокины – это продуцируемые клетками белково-пептидные факторы, которые осуществляют короткодистантную регуляцию межклеточных и межсистемных взаимодействий. Кроме того, цитокины определяют выживаемость клеток, стимуляцию или ингибирование их роста, дифференцировку, функциональную активацию и апоптоз клеток. Способность регулировать перечисленные функции обусловлена тем, что после взаимодействия цитокинов с комплементарными рецепторами на поверхности клеток, сигнал через элементы внутриклеточной трансдукции передается в ядро, где активируются соответствующие гены. Белки, являясь продуктами активированных цитокинами генов, продуцируются клетками и регулируют перечисленные выше процессы. Цитокины, являясь низкомолекулярными белковыми регуляторными веществами, продуцируются клетками и способны модулировать их функциональную активность. В физиологических условиях их спектр в крови сравнительно узок, а регуляторное действие

ограничено специфическими ингибиторами. Например, при стрессе и патологических состояниях (антигенное воздействие, микробная инвазия, воспаление, повреждение тканей, развитие опухолей) расширяется количественный и качественный состав цитокинов, обладающих как местной (ауто- и паракринная), так и дистантной (гормональная в собственном смысле слова) регуляторной активностью. Необходимо отметить, что данный процесс имеет каскадный характер: выброс интерлейкина-1 инициирует продукцию интерлейкина-2 и интерлейкина-6, интерлейкин-2 в свою очередь вызывает продукцию фактора некроза опухоли и т.д. Широкий спектр биологической активности, проявляющейся при низких концентрациях, позволяет цитокинам не только влиять на клетки системы иммунитета, но и опосредовать взаимодействие последних с другими клеточными популяциями, в том числе с клетками злокачественных опухолей [135; 212; 227]. Причины частичного перекрытия эффектов цитокинов можно искать на трёх уровнях. Первый уровень – клеточный, разные цитокины действуют на одни и те же клетки и в силу стандартности ответа клеток на различные стимулы эффекты разных цитокинов могут совпадать. Второй уровень наложения эффектов связан с рецепторами для цитокинов, среди которых выделяют 5 основных типов. Внутри семейств сходство между рецепторами для разных цитокинов может быть очень значительным, что может обуславливать сходство эффектов этих цитокинов. Кроме того, рецепторы для разных цитокинов могут иметь общие полипептидные цепи. Наконец, ряд цитокинов имеют общие рецепторы, как это имеет место в случае ИЛ-1 α и β . В этих случаях различия в действии цитокинов незначительны и обусловлены неодинаковым сродством к рецептору и другими второстепенными обстоятельствами [133; 228; 248]. Третий уровень, на котором наблюдается перекрытие эффектов цитокинов, связан с наличием общих компонентов в путях

передачи сигналов от рецепторов в клетку. После связывания рецептора с цитокином ключевую роль в запуске сигнала играет установление связи между проксимальными цитоплазматическими доменами рецептора и тирозинкиназами семейства Jak, среди которых известны четыре представителя этого семейства (Jak1, Jak2, Jak3, Tyk2), которые принимают участие в передаче сигналов от цитокиновых рецепторов типов I и II. Сигнал от Jak-киназ передаётся по нескольким направлениям. Одно из них связано с активацией комплекса Grb2/SHC/SOS, последующим вовлечением p21ras и активацией каскада серин-треониновых киназ, участвующих во включении митогенеза (MAP-каскада). Кроме ИЛ-4 этот путь индуцируется при действии большинства ИЛ. Благодаря использованию комбинации небольшого числа тирозинкиназ и каскадных путей проявляются общие эффекты при действии различных цитокинов. На уровне генов в реализации действия цитокинов участвуют транскрипционные факторы семейства Stat. Они связываются с регуляторными последовательностями генов, причастных к осуществлению функций ИЛ, например, генов белков острой фазы, способствуя их экспрессии. Известны четыре представителя семейства Stat, в различных сочетаниях включаемых при действии различных цитокинов. В результате одни и те же гены могут быть активированы под влиянием различных цитокинов [230; 239]. Кроме того, цитокины – гормоноподобные молекулы, действие которых на клетку-мишень опосредуется высокоспецифичными высокоаффинными мембранными рецепторами. Все рецепторы цитокинов представляют собой трансмембранные гликопротеины, у которых внеклеточная часть отвечает за связывание цитокина. Как правило, эти рецепторы состоят более чем из одной субъединицы, причем высокоаффинное связывание является следствием взаимодействия с разными субъединицами, каждая из которых сама способна связывать соответствующий цитокин, но с более низ-

кой аффинностью. Нередко на клетках-мишенях цитокинов обнаруживаются несколько типов центров связывания, которые различаются аффинностью к цитокину. Все рецепторы цитокинов представляют собой трансмембранные гликопротеины, у которых внеклеточная часть отвечает за связывание цитокина. В составе клеточных мембран одни цепи реагируют только с определенным цитокином, а другие способны формировать общие рецепторы для разных цитокинов. Наличие общих структур в рецепторах может обуславливать функциональное сходство ряда цитокинов. Помимо этого, существуют общие групповые рецепторы, способствующие устранению избытка цитокинов в очаге поражения. Следует отметить, что синтез рецепторов протекает более интенсивно и длительно, чем синтез соответствующих цитокинов, что обуславливает их более полную и быструю элиминацию из сосудистого русла и реализацию биологического эффекта в очаге поражения. Растворимый рецептор, который связывается с цитокином, – это отщепленный ферментом внеклеточный домен мембранного рецептора. Растворимые рецепторы сохраняют высокую аффинность в отношении своих лигандов и благодаря этому способны нейтрализовать цитокины, препятствуя их доступу к интактным мембранным рецепторам, которые можно обнаружить в сыворотке и моче. Кроме того, растворимые рецепторы могут выполнять функции конкурирующих антагонистов, а также участвовать в транспорте, доставке цитокинов в очаг поражения и выведении их из организма.

Механизмы обеспечения устойчивости организма к неблагоприятным воздействиям включают как естественные (врожденные), так и иммунологические защитные реакции и вовлекаются в ответ организма на любое стрессорное воздействие уже на самых ранних этапах развития стрессорной реакции [72].

Одним из механизмов влияния стресса на организм является развитие дисфункций иммунной системы, изменение иммуноней-

роэндокринных взаимодействий, в реализации которых важнейшую роль играют эндогенные биорегуляторы, прежде всего – глюкокортикоидные гормоны и иммуномодулирующие цитокины. Особое место в системе мобилизации и эндогенной модуляции защитных реакций при дестабилизирующих воздействиях и в условиях патологии занимает цитокин ИЛ-1 – один из ключевых регуляторов резистентности организма, продуцируемых мононуклеарными фагоцитами, родственными им клетками и клетками центральной и периферической нервной системы [72].

Данные литературы об участии иммунорегулирующих цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-4, ИЛ-6) в реализации стресс-реакции до настоящего времени носят противоречивый характер – есть сведения как о стимуляции, так и о подавлении их продукции и уровня в крови при стрессе [72]. Одной из причин различий в изменении продукции цитокинов при стрессе является различная интенсивность и длительность экспериментальных стрессорных воздействий, а также стресс-индуцированных изменений уровня гормонов.

Следует учитывать, что в динамике развития стрессорной реакции происходят изменения не только продукции цитокинов, но и механизмов их лиганд-рецепторных взаимодействий с клетками-мишенями. Одним из важнейших функциональных звеньев этого взаимодействия является трансдукция цитокина в клетку после его связывания с рецептором.

В последние годы внимание исследователей наряду с хорошо известными путями трансдукции сигнала иммунорегулирующих цитокинов в клетку – аденилатцикдазным и фосфоинозитоловым – привлекает открытый американскими авторами в 1992–1993 гг. сфингомиелиновый путь [72]. Установлено, что такие цитокины, как ИЛ-1 β , фактор некроза опухолей α (ФНО- α) и γ -интерферон реализуют свои эффекты с участием пути передачи сигнала в клетку, индуцируемым гидролизом мембранного сфингомиелина

до вторичного клеточного мессенджера церамида и фосфорилхолина под действием мембранного фермента нейтральной сфингомиелиназы. Именно этот фермент играет иницирующую роль в пути сигнальной трансдукции, названном сфингомиелиновым путем. Этот путь сигнальной трансдукции изучается в основном на клеточных линиях лимфоцитов и фибробластов.

2.1. Динамика содержания провоспалительных цитокинов в сыворотке крови и ткани костного мозга у экспериментальных животных, подвергшихся действию эмоционально-болевого стресса

В развитии стресс-реакции ведущее место занимает активация иммунной системы с повышением концентрации провоспалительных цитокинов, вызывающих цитокининдуцированное нарушение ключевых звеньев эритропоэза. Целью нашего исследования явилось изучение взаимосвязи между показателями центрального и периферического отделов эритрона (содержанием ретикулоцитов, эритроцитов, качественного и количественного составов эритробластических островков) и уровнем провоспалительных (ИЛ-1 β , ИЛ-6) и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-10), а также ЭПО в сыворотке крови и ткани костного мозга у животных, перенесших ЭБС.

Результаты исследований, проводимых в последние годы, позволяют рассматривать ИЛ-1 как медиатор взаимодействия нервной и иммунной систем организма, активирующий глюкокортикоидную функцию гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной системы (ГГАКС) и играющий важную физиологическую роль в развитии стрессорной реакции. Вопрос о влиянии стресса на механизмы сигнальной трансдукции ИЛ-1 до настоящего времени остается практически неизученным.

Как указано выше, ИЛ-1 представляет собой систему из трех молекул: ИЛ-1 α , ИЛ-1 β , РАИЛ (антагонист рецептора ИЛ-1) и двух рецепторов ИЛ-1 R1 и ИЛ -1 RII . Несмотря на незначительную гомологию, ИЛ-1 α и ИЛ-1 β конкурируют за один и тот же рецептор. Преобладающей формой ИЛ-1 является ИЛ-1 β .

ИЛ-1 β – многофункциональный цитокин с широким спектром действия, играет ключевую роль в развитии и регуляции неспецифической защиты и специфического иммунитета, он одним из первых включается в ответную защитную реакцию организма при действии патогенных факторов. Основными продуцентами ИЛ-1 β являются макрофаги и моноциты, но в синтезе данного цитокина также могут принимать участие лимфоциты, фибробласты. Клетки-мишени ИЛ-1 β – иммунокомпетентные, эндотелиальные, эпителиальные клетки, фибробласты и др. ИЛ-1 β инициирует и регулирует воспалительные, иммунные процессы, активирует нейтрофилы, Т- и В-лимфоциты, стимулирует синтез белков острой фазы, цитокинов (ИЛ-2, -3, -6), молекул адгезии (Е-селектинов), прокоагулянтов, простагландинов.

Все провоспалительные цитокины являются взаимными индукторами их выработки моноцитами/макрофагами. Например, под влиянием ИЛ-1 усиливается продукция и самого ИЛ-1, и ИЛ-6, и ИЛ-8, и TNF α . TNF α , в свою очередь, индуцирует синтез ИЛ-1, ИЛ-6 и ИЛ-8, действуя в некоторых случаях в комбинации с ИЛ-1. Например, при развитии септического шока TNF α контролирует продукцию ИЛ-1, а ИЛ-6 способен даже супрессировать TNF-индуцированную продукцию ИЛ-1 [148].

Следует отметить, что в большинстве случаев провоспалительные цитокины выступают как синергисты, проявляя сходную биологическую активность и не конкурируя друг с другом. На уровне трансдукции сигналов активации предполагается возмож-

ность синергизма цитокинов. ИЛ-1, ИЛ-6 и TNF α выступают как синергисты не только в качестве факторов неспецифической защиты, но и при индукции ими системных повреждающих реакций в организме, при участии в патогенезе септического шока, бактериального менингита, некоторых аутоиммунных заболеваний [146].

ИЛ-6 – мономер с молекулярной массой 19–34 kDa, являющийся фактором дифференцировки В-клеток, способствующий созреванию В-лимфоцитов в антителопродуцирующие клетки. ИЛ-6 индуцирует синтез белков острой фазы, в связи с чем вместе с ИЛ-1 может быть отнесен к цитокинам воспаления. Показано, что ИЛ-6 вызывает значительное повышение уровня мРНК *c-sis* гена в культивируемых эндотелиальных клетках человека, что может опосредовать воспалительные сосудистые эффекты. Кроме того, повышение уровня ИЛ-6 наблюдается при многих патологических состояниях, в том числе при аутоиммунных заболеваниях, сердечной микседеме, ревматоидном артрите, псориазе, мезангио-пролиферативном гломерулонефрите, саркоме Капоши, алкогольном циррозе, лимфоме, миеломе и карциноме почек. У ВИЧ-инфицированных лиц В-лимфоциты продуцируют увеличенное количество ИЛ-6. Есть данные об обнаружении повышенного уровня ИЛ-6 в плазме крови при различных atopических реакциях, таких как аллергия и астма. Данный цитокин регулирует пролиферацию эпителиальных клеток желчных протоков, клеток печени, образование гранулем, формирование фиброза при циррозе печени. При обострениях язвенной болезни, панкреатите, глютенной энтеропатии, болезни Крона, неспецифическом язвенном колите, вирусном гепатите, первичном билиарном циррозе отмечено повышение концентрации ИЛ-6 [114].

Однако ИЛ-6 имеет ряд особенностей, которые заставляют рассматривать его не только как синергиста, но и как антагониста других провоспалительных цитокинов. ИЛ-6 является значительно более слабым эндогенным пирогеном по сравнению с ИЛ-1 и TNF α . В патогенезе воспаления его основной вклад заключается в индукции синтеза острофазных белков в печени. Вместе с тем ИЛ-6 способен ингибировать синтез ИЛ-1 и TNF α , супрессирует некоторые стимулирующие эффекты ИЛ-1 (например, индукцию синтеза простагландина E₂-PGE₂). Следует отметить, что ингибирующая активность ИЛ-6 достаточно широка: он может снижать стимуляцию макрофагов, вызванную IFN γ , TNF α , ИЛ-1 β , гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, ИЛ-3, супрессировать их антимикробную активность и активность респираторного взрыва [148].

ИЛ-6 продуцируется активированными моноцитами или макрофагами, эндотелиальными клетками, фибробластами, активированными Т-клетками. Рецепторы с низкой и высокой аффинностью к ИЛ-6 найдены в различных тканях и органах. На воздействие ИЛ-6 отвечают В-клетки, Т-клетки, гемопоэтические предшественники, гепатоциты ИЛ-6 обладает слабой противовирусной активностью, индуцирует В-клеточную дифференцировку и стимулирует секрецию иммуноглобулина G, усиливает ИЛ-3-зависимую пролиферацию стволовой кроветворной клетки, созревание мегакариоцитов, пролиферацию коммитированных предшественников гранулоцитарной или макрофагальной линий [114].

На рис. 6а, б представлена динамика показателей содержания провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6) в сыворотке крови экспериментальных животных, перенесших ЭБС.

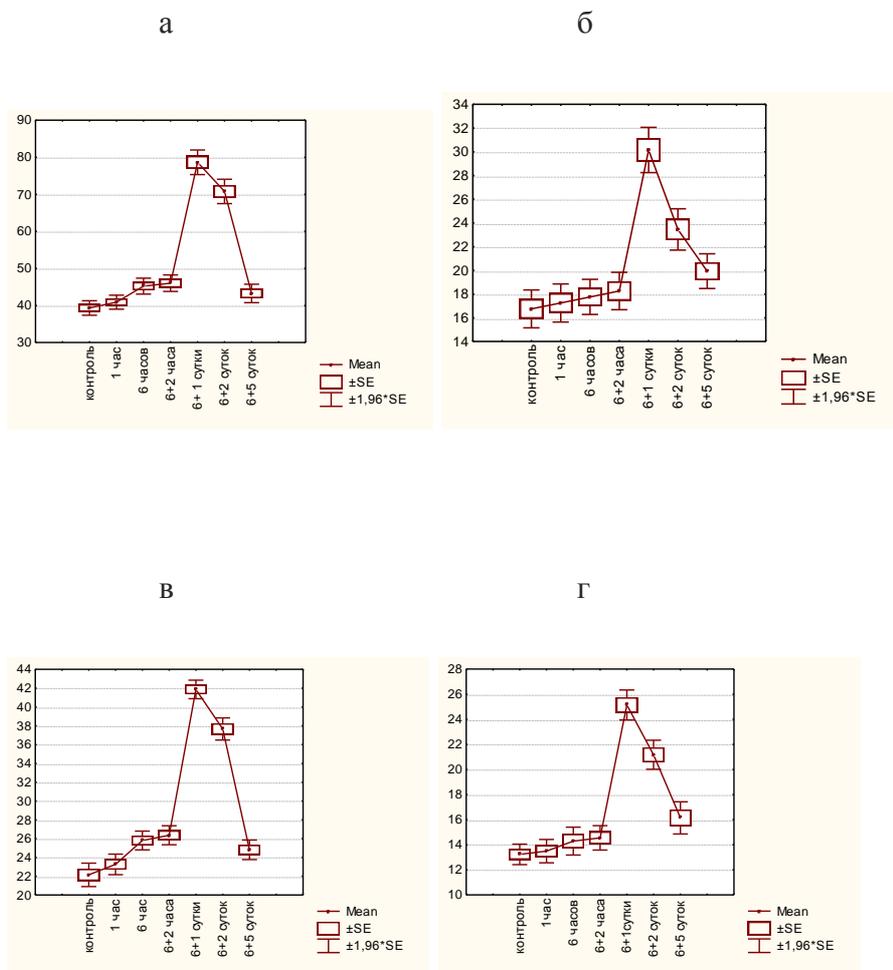


Рис. 6. Динамика показателей содержания провоспалительных цитокинов в сыворотке крови: а) ИЛ-1 β (пкг/мл), б) ИЛ-6 (пг/мл) – и ткани костного мозга: в) ИЛ-1 β (пкг/мл), г) ИЛ-6 (пг/мл) у экспериментальных животных в условиях действия эмоционально-болевого стресса

Из анализа рис. 6а следует, что уровень ИЛ-1 β в сыворотке крови увеличивался на всех сроках действия ЭБС. Так, через 6 часов действия ЭБС уровень ИЛ-1 β увеличивался на 15,01% ($p < 0,01$); через два часа после действия 6-часового ЭБС – на 17,01% ($p < 0,01$) по сравнению с контролем. Через 1, 2, 5 суток после действия 6-часового ЭБС уровень ИЛ-1 β увеличивался соответственно в два раза ($p < 0,001$); на 80,01% ($p < 0,001$) и 9,99% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем.

По сравнению с 6-часовым ЭБС через час действия ЭБС содержание ИЛ-1 β в сыворотке крови уменьшалось на 9,58% ($p < 0,05$). Через сутки после действия 6-часового ЭБС содержание ИЛ-1 β в сыворотке крови увеличивалось на 73,91% ($p < 0,001$); через 2 суток после действия 6-часового ЭБС содержание данного цитокина превышало на 56,52% ($p < 0,01$) показатели 6-часового ЭБС.

Уровень ИЛ-6 в сыворотке крови также увеличивался на всех сроках действия ЭБС (рис. 6б). Так, через 6 часов действия ЭБС содержание ИЛ-6 увеличивалось на 6,03%; через два часа после действия 6-часового ЭБС – на 9,01% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Через сутки после действия 6-часового ЭБС содержание ИЛ-6 увеличивалось на 80,00% ($p < 0,001$); через двое и пять суток после действия 6-часового ЭБС содержание данного цитокина превышало контроль соответственно на 40,00% ($p < 0,01$) и 18,99% ($p < 0,05$).

Через 1, 2, 5 суток после действия 6-часового ЭБС уровни ИЛ-6 в сыворотке крови увеличивались соответственно на 69,76% ($p < 0,01$); 32,04% ($p < 0,05$); 12,22% ($p < 0,05$) по сравнению с 6-часовым ЭБС.

Таким образом, содержание провоспалительного цитокина ИЛ-1 β в сыворотке крови экспериментальных животных оставалось повышенным после действия 1- и 6-часового ЭБС, в течение

1 и 2 суток после окончания стресса содержание данного цитокина значительно превышало контроль. Только через 5 суток после 6-часового ЭБС содержание ИЛ-1 β вернулось к показателям контрольных значений. Уровни ИЛ-1 β и ИЛ-6 в сыворотке крови по сравнению с 6-часовым ЭБС были достоверно повышенными через 1, 2 суток после действия стресса. Аналогичные результаты были получены Е.А. Корневой (2000), которая показала, что стресс-индуцированное увеличение продукции лимфоцит-активирующих факторов и уровня ИЛ-1 можно рассматривать в качестве одного из существенных механизмов, лежащих в основе постстрессорного усиления гуморального иммунного ответа при ротации мышей [72]. Повышенный уровень ИЛ-1, стресс-индуцированная продукция лимфоцит-активирующих факторов перитонеальными макрофагами, по мнению Е.А. Корневой, компенсируют эффекты действия глюкокортикоидных гормонов на иммунокомпетентные клетки при стрессе, мобилизуют специфические защитные механизмы.

Содержание провоспалительного цитокина ИЛ-6 в сыворотке крови экспериментальных животных оставалось недостоверно повышенным после действия 1- и 6-часового ЭБС, в течение одних и двух суток после окончания стресса содержание данного цитокина значительно превышало контроль. Через 5 суток после 6-часового ЭБС содержание ИЛ-6 в сыворотке крови по-прежнему превышало контрольные значения.

На наш взгляд, повышенные уровни ИЛ-1 β и ИЛ-6 в сыворотке крови в течение 1 и 2 суток после действия 6-часового ЭБС способствуют мобилизации защитных сил организма.

В ряде экспериментальных и клинических исследований показано влияние цитокинов на обмен ферритина. Например, ФНО- α вызывает увеличение концентрации ферритина в плазме, изолируя железо в пуле хранения в макрофагах, в связи с этим макрофаги,

транспортирующие железо, не в состоянии высвободить его в тканях, которые в нем нуждаются [114; 135]. ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-6 способствуют увеличению белка острой фазы – α -антитрипсина, который ингибирует эритропоэз путем связывания ферритина с рецепторами к трансферрину. ИЛ-1 β способен повышать запасы ферритина, который впоследствии выступает в роли ловушки для железа. Таким образом, цитокин-индуцированные влияния при стрессе на обмен ферритина, а значит, и эритропоэз в целом разнообразны, конечным результатом является нарушение высвобождения железа из ферритина и угнетение эритропоэза. ФНО- α вызывает ингибирование синтеза эритропоэтина в почках на уровне эритропоэтиновых мРНК, что должно повлечь снижение циркулирующего ЭПО. Однако при наличии нормального ЭПО-образующего аппарата в почках уровень сывороточного ЭПО повышается экспоненциально уменьшению концентрации гемоглобина, в этих случаях, почечная продукция ЭПО в ответ на гипоксию является адекватной. В условиях гипоксии количество циркулирующего ЭПО возрастает примерно в 1000 раз [208], в ответ на снижение напряжения кислорода фактор индукции гипоксии (HIF-1 α) активирует выработку ЭП. В условиях гипоксии фактор HIF-1 α вызывает значительное усиление синтеза ЭПО в печени, в результате соотношение почечного и печеночного его фракции составляет 2:1. Увеличение циркулирующего ЭПО в сыворотке крови при ЭБС можно рассматривать как компенсаторно-приспособительную реакцию в ответ на гипоксию, в которой участвуют как гемопоэтические свойства ЭПО, так и плеiotропные, не зависящие от влияния на эритропоэз: противовоспалительные, антиапоптотические, а также кардиопротекторные, нефропротекторные, нейропротекторные качества. С другой стороны, ИЛ-1 β оказывает супрессивное влияние на колониюобразование эритроидных предшественников в костном мозге человека, индуцирует апоптоз

в эритроидных клетках-предшественниках, блокируя, таким образом, продукцию эритроцитов костным мозгом и снижая жизнеспособность эритроцитов [114; 246]. Таким образом, при ЭБС высокий уровень ИЛ-1 β в сыворотке крови и, особенно, в костном мозге делает недоступными гемopoэтические факторы для клеток-предшественников, в результате развивается эритропоэтинрезистентность, характеризующаяся угнетением эритроидного ростка кровообращения при высоком уровне ЭПО в сыворотке крови.

Таким образом, цитокиновая активация, связанная с повышением уровня провоспалительных цитокинов в сыворотке крови и костном мозге, участвует в развитии стресс-реакции, мобилизуя механизмы эритропоэза в костном мозге, нивелируя последствия гипоксии тканей и головного мозга.

Существуют различные механизмы активации клеток системы мононуклеарных фагоцитов и подъема уровня ИЛ-1 при стрессе. Например, известно, что в ходе развития стресс-реакции гибнет большое число клеток (в частности, лимфоцитов), чувствительных к действию глюкокортикоидов. В результате необходимость их элиминации значительно увеличивает нагрузку на макрофаги, приводит к их активации и индуцирует продукцию иммуномодулирующих цитокинов. С другой стороны, при стрессе появляются биологически активные вещества, оказывающие влияние на макрофаги. Например, на модели иммобилизационного стресса была установлена спонтанная индукция образования интерферонов; γ -интерферон в свою очередь способен стимулировать продукцию ИЛ-1 в условиях *in vitro* [71; 247]. Известно, что эффективность реакций защиты зависит не только от скорости продукции и уровня в крови этого эндогенного биорегулятора, но также и от чувствительности клеток-мишеней к его действию. ИЛ-1 как ключевой медиатор иммунной системы действует на лимфоидные клетки и в норме вызывает каскад реакций, приводящих к пролиферации и

дифференцировке В-лимфоцитов, а также Т-хелперов, продуцирующих ИЛ-2, что в свою очередь приводит к пролиферации Т-лимфоцитов. В связи с этим положением представляло специальный интерес изучение функции ИЛ-1 как одного из ключевых факторов иммунной системы в условиях стресс-индуцированной иммуносупрессии.

Проведенные исследования дают основания заключить, что при воздействии стрессорного раздражителя чрезмерной силы (дистрессе) происходит, не только снижение реакции клеток системы мононуклеарных фагоцитов на дополнительную стимуляцию, но и выраженное угнетение реакции клеток лимфоидной системы на действие ИЛ-1. Таким образом, при интенсивном стрессе страдает не только продукция регуляторных цитокинов в составе лимфоцит-активирующих факторов в ответ на действие микробного агента, но и реакция клеток-мишеней на этот цитокин (т.е. ИЛ-1) в первые часы после окончания стрессирующего воздействия.

Полученные в результате работы Е.А. Корневой (2000) [72] данные о вызванных стрессом изменениях сигнальной трансдукции ИЛ-1 β в коре головного мозга мышей – подавлении и стимуляции активности нейтральной сфингомиелиназы в мембранной фракции соответственно при комбинированном и ротационном стрессорных воздействиях – раскрывают новые, ранее неизученные клеточно-молекулярные механизмы взаимодействия нервной и иммунной систем организма при стрессе.

На рис. бв, г представлены результаты исследований динамики содержания провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6) в ткани костного мозга экспериментальных животных при воздействии на них ЭБС.

Из анализа данных, приведенных на рис. бв, следует, что уровень ИЛ-1 β в ткани костного мозга увеличивался на всех сроках действия ЭБС. Так, при 6-часовом действии ЭБС содержание

ИЛ-1 β увеличивалось на 16,48% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. Через сутки после действия 6-часового ЭБС содержание ИЛ-1 β в ткани костного мозга увеличивалось на 88,98% ($p < 0,001$); через 5 суток после действия 6-часового ЭБС содержание данного цитокина превышало контроль на 12,01% ($p < 0,01$).

Через час действия ЭБС содержание ИЛ-1 β в ткани костного мозга уменьшалось на 9,84% ($p < 0,01$) по сравнению с 6-часовым ЭБС. Через сутки, двое суток после действия 6-часового ЭБС содержание ИЛ-1 β в костном мозге увеличивалось соответственно на 62,25% ($p < 0,01$) и 45,97% ($p < 0,01$) по сравнению с 6-часовым ЭБС. Таким образом, в течение 1, 2 суток после действия 6-часового ЭБС наблюдалось увеличение уровня ИЛ-1 β в костном мозге по сравнению с 6-часовым ЭБС, что совпадает с началом пролиферативных процессов в ткани костного мозга и может являться компенсаторным процессом, обеспечивающим эритропоэз.

Уровень ИЛ-6 в ткани костного мозга также увеличивался на всех сроках действия ЭБС (рис. 6г). Так, при 6-часовом действии ЭБС содержание ИЛ-6 увеличивалось на 8,01% ($p < 0,05$ по сравнению с контролем). Через сутки после действия 6-часового ЭБС содержание ИЛ-6 в ткани костного мозга увеличивалось на 90,02% ($p < 0,001$); через двое и пять суток после действия 6-часового ЭБС содержание данного цитокина превышало контроль соответственно на 60,02 % ($p < 0,001$) и 21,99% ($p < 0,01$).

Через сутки, двое и пять суток после действия 6-часового ЭБС содержание ИЛ-6 в костном мозге увеличивалось соответственно на 75,93% ($p < 0,01$); 48,15% ($p < 0,01$); 12,95% ($p < 0,05$) по сравнению с 6-часовым ЭБС. Таким образом, в течение 1, 2, 5 суток после действия 6-часового ЭБС наблюдалось увеличение уровня ИЛ-6 в костном мозге по сравнению с 6-часовым ЭБС. Как известно, ИЛ-6 действует синергично с ИЛ-3, поддерживая пролиферацию КОК-ГММЭ, что также совпадает с началом пролиферативных процессов в ткани костного мозга.

2.2. Содержание противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови и ткани костного мозга у экспериментальных животных, подвергшихся действию эмоционально-болевого стресса

Интерлейкин-4 (ИЛ-4) впервые описал Пауль (1982); он обнаружил, что супернатант стимулированных митогеном лаконоса EL-4 клеток способен поддерживать рост В-клеток после воздействия иммуноглобулина, заставляя их вступать в S-фазу. ИЛ-4 является продуктом субпопуляции активированных Т-клеток, он действует через специфический рецептор, выявленный на поющих Т-клетках, В-клетках, макрофагах, тучных клетках, на стромальных клетках костного мозга, печени, мышцах, фибробластах. Известно, что ИЛ-4 усиливает экспрессию антигенов гистосовместимости II класса в поющих В-клетках, а также синтез иммуноглобулинов G и E после стимуляции липополисахаридом, поддерживает жизнеспособность и рост интактных Т-клеток, повышает активность цитотоксических Т-лимфоцитов, усиливает пролиферацию предшественников гемопоэза при ответе на ростовые факторы [114]. Терапевтический потенциал цитокина связан с его возможностью восстанавливать клеточный и гуморальный иммунитет.

ИЛ-4 – молекулярная масса 15–20 kDa продуцируется Т-клетками (Th 2) и является фактором дифференцировки для Т- и В-лимфоцитов. ИЛ-4 наиболее сильный эффект оказывает на регуляцию образования других цитокинов посредством участия в многочисленных биологических процессах: иммунный ответ и воспалительные реакции. Увеличение синтеза IgE в ответ на стимуляцию ИЛ-4 приводит к усилению IgE-стимулированного синтеза цитокинов тучными клетками, способными вырабатывать ИЛ-4, -5, -6.

Установлено, что ИЛ-4 предотвращает вызванный глюкокортикоидами апоптоз тимоцитов, действуя на Th2-субпопуляцию клеток тимуса. При действии стероидных гормонов образование ИЛ-4 усиливается [114]. Возможно, что глюкокортикоиды действуют, активируя зависимые от лигандов транскрипционные регуляторные белки рецепторов к стероидным гормонам. ИЛ-4 не предотвращал апоптоз, индуцированный иономицином кальция, в В-клетках, стимулированных антииммуноглобулином. ИЛ-4 специфически снижал апоптоз в культуре клеток В-CLL, при этом изменялась также экспрессия bcl-гена.

Выступая в качестве антагониста γ -IFN ИЛ-4 воздействует на макрофаги, Т-хелперы, В-лимфоциты. Прежде всего ИЛ-4 ингибирует продукцию макрофагами провоспалительных цитокинов и хемокинов – TNF α , ИЛ-1 β , ИЛ-12 (p40), синтез которых индуцируется или стимулируется γ -IFN. В то же время ИЛ-4 ингибирует продукцию макрофагами супероксидных и нитроксидных радикалов и нарушает ответ макрофагов на действие отдельных субклассов иммуноглобулинов, изменяя экспрессию соответствующих FcR. Способность ИЛ-4 ингибировать все γ -IFN-индуцибельные свойства макрофагов может быть опосредована через супрессию транскрипции соответствующих генов. Противовоспалительные цитокины ИЛ-13, -10, -TGF β являются синергистами ИЛ-4 в подавлении γ -IFN-индуцибельных свойств макрофагов.

Среди позитивных эффектов ИЛ-4 можно отметить следующие. Он повышает экспрессию на моноцитах адгезивных молекул CD11b/CD11c/CD18, CD49e, CD29, причем экспрессия двух последних молекул ингибируется γ -IFN. ИЛ-4 также усиливает экспрессию молекул HLA II, маннозного рецептора, некоторых адгезивных молекул на мембране макрофагов. Но в индукции HLA II, интегринов у макрофагов и VCAM-I у эндотелиальных клеток ИЛ-4 выступает в качестве синергиста γ -IFN. Кроме того,

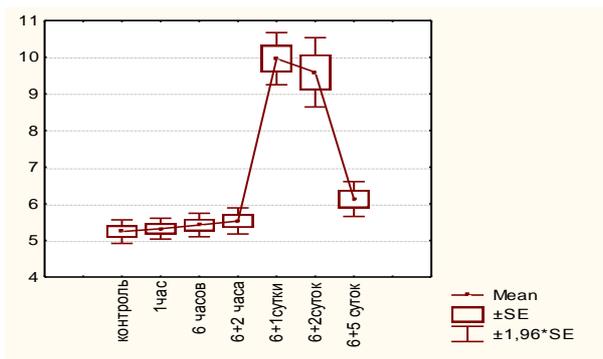
ИЛ-4 ингибирует вызванную γ -IFN индукцию экспрессии адгезивных молекул ICAM-I, E-селектина на эндотелиальных клетках [146; 147].

На рис. 7а, б представлена динамика показателей содержания противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-10) в сыворотке крови экспериментальных животных при воздействии на них ЭБС.

Из анализа рис. 7а следует, что уровень ИЛ-4 в сыворотке крови увеличивался на всех сроках действия ЭБС. Через 1, 2, 5 суток после действия 6-часового ЭБС содержание ИЛ-4 увеличивалось соответственно на 90,08% ($p < 0,001$); 83,02% ($p < 0,001$) и 16,98% ($p < 0,01$) по сравнению с контролем.

Через 1 и 2 суток после действия 6-часового ЭБС содержание ИЛ-4 в сыворотке крови увеличивалось соответственно на 83,76% ($p < 0,001$); 76,94% ($p < 0,01$) по сравнению с 6-часовым ЭБС. Через 5 суток после действия 6-часового ЭБС содержание ИЛ-4 в сыворотке крови увеличивалось на 13,09% ($p < 0,05$) по сравнению с 6-часовым ЭБС.

а



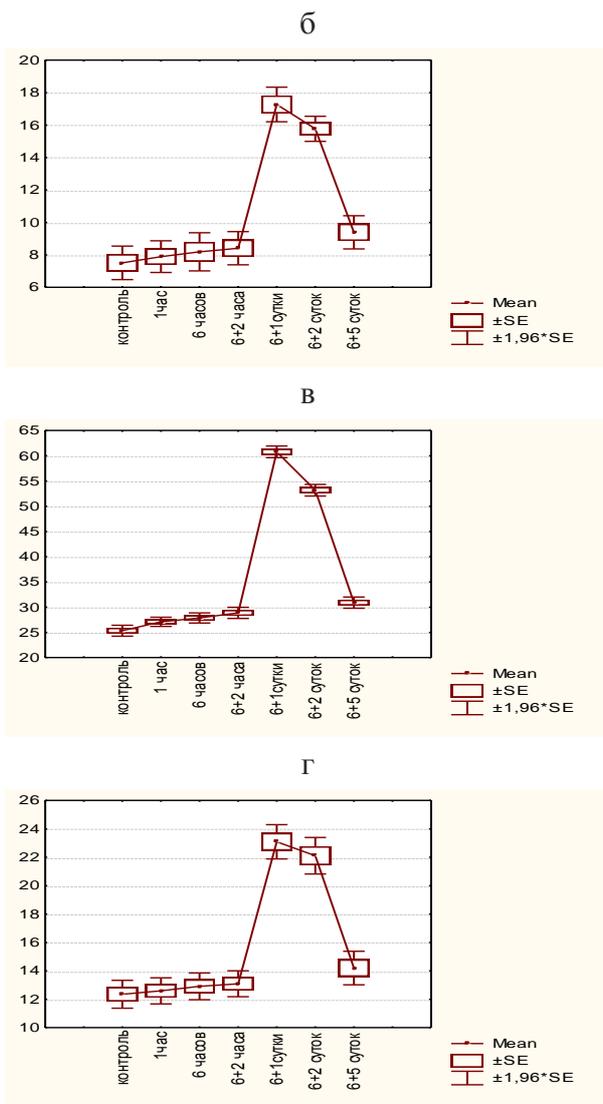


Рис. 7. Динамика показателей содержания противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови: а) ИЛ-4 (пг/мл), б) ИЛ-10 (пг/мл) – и ткани костного мозга: в) ИЛ-4 (пг/мл), г) ИЛ-10 (пг/мл) у экспериментальных животных при воздействии на них ЭБС

Интерлейкин-10 (ИЛ-10) – классический противовоспалительный цитокин, подавляющий синтез провоспалительных цитокинов TNF- α , ИЛ-1, и ИЛ-6 и в тоже время являющийся основным регулятором выработки противовоспалительных цитокинов. Кроме того, ИЛ-10 играет важную защитную роль при экспериментальном инфаркте миокарда. Этот лимфокин с молекулярной массой 17–21 kDa, продуцируемый Т-клетками (Th2), может рассматриваться как антагонист ряда цитокинов. Например, ИЛ-10 подавляет продукцию IFN γ Th1-клетками. Кроме того, он тормозит пролиферативный ответ Т-клеток на антигены и митогены, а также подавляет секрецию активированными моноцитами ИЛ-1 β , TNF и ИЛ-6. ИЛ-10 стимулирует секрецию Ig В-клетками и синтез IgE. В своем ингибирующем действии на клеточный иммунитет ИЛ-10 синергичен с ИЛ-4. Повышение уровня ИЛ-10 наблюдается при различных опухолях, при этом считается, что повышение уровня продукции ИЛ-10 является плохим прогностическим признаком и сочетается с выраженной прогрессией опухолевого роста.

ИЛ-4 и ИЛ-10 вошли в группу цитокинов, препятствующих активации макрофагов провоспалительными цитокинами. Механизмы антагонистического действия противовоспалительных цитокинов могут быть разными. ИЛ-10 может непосредственно ингибировать экспрессию генов провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 и TNF α). ИЛ-4 и ИЛ-10 могут оказывать непрямое супрессирующее действие путем избирательной индукции синтеза РАИЛ или путем down-регуляции экспрессии клеточных рецепторов ИЛ-1 и TNF α [148].

Уровень ИЛ-10 в сыворотке крови также увеличивался на всех сроках действия ЭБС (рис. 76). Через 1, 2, 5 суток после действия 6-часового ЭБС содержание ИЛ-10 увеличивалось соответственно в 2,3 раза ($p < 0,001$); 2,1 раза ($p < 0,001$) и на 25,03% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем.

Таким образом, содержание противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-10) в сыворотке крови экспериментальных животных оставалось недостоверно повышенным после действия 1- и 6-часового ЭБС, существенно возрастая в течение одних, двух суток после окончания стресса, превышая контроль даже в течение пяти суток после ЭБС.

На рис. 7в, г представлены результаты исследований динамики содержания противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-10) в ткани костного мозга экспериментальных животных при воздействии на них ЭБС.

Из анализа данных, приведенных на рис. 7в, следует, что уровень ИЛ-4 в ткани костного мозга увеличивался на всех сроках действия ЭБС. Через 1, 2, 5 суток после действия 6-часового ЭБС содержание ИЛ-4 в ткани костного мозга увеличивалось соответственно на 86,96% ($p < 0,001$); 79,03% ($p < 0,001$) и 14,98% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем.

Уровень ИЛ-10 в ткани костного мозга также увеличивался на всех сроках действия ЭБС (рис. 7г). Так, через час действия ЭБС содержание ИЛ-10 увеличивалось на 6,99% ($p < 0,05$); через 6 часов – на 9,99% ($p < 0,01$); через два часа после действия 6-часового ЭБС – на 13,98% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. Через 1, 2, 5 суток после действия 6-часового ЭБС содержание ИЛ-10 в ткани костного мозга увеличивалось соответственно в 2,4 раза ($p < 0,001$); 2,1 раза ($p < 0,001$) и на 21,99% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем.

Таким образом, уровни противовоспалительных цитокинов ИЛ-4 и особенно ИЛ-10 в ткани костного мозга были повышенными после действия 6-часового и 1-часового ЭБС и сохранялись таковыми через два часа после 6-часового ЭБС. Существенное повышение уровня противовоспалительных цитокинов наблюдалось через одни и двое суток после окончания 6-часового ЭБС, что в

определённой степени компенсирует повреждающее действие стресса на организм и сопровождает начавшиеся в костном мозге через сутки, двое после стресса пролиферативные процессы. Через 5 суток после действия 6-часового ЭБС уровни ИЛ-4 и ИЛ-10 в костном мозге были достоверно выше по сравнению с контролем, что является логичным итогом восстановительных процессов в костном мозге после стресса.

2.3. Содержание эритропоэтина в сыворотке крови и ткани костного мозга у экспериментальных животных, подвергшихся действию эмоционально-болевого стресса

В настоящее время имеются доказательства участия в регуляции эритропоэза обратных связей, реализуемых продуктами эритроидных клеток, способных выполнять функции как положительных, так и отрицательных обратных связей, раскрыт ряд эффектов их воздействия на молекулярно-клеточном уровне. Доказана роль положительных обратных связей в регуляции эритропоэза, связанной со способностью эритроидных клеток к синтезу эритропоэтина. Вместе с тем имеющиеся материалы не позволяют пока ответить на вопрос: вызывает ли активация эритроидных клеток экспрессию в них гена эритропоэтина или активность последнего индуцируется под воздействием экзогенного эритропоэтина. Кроме того, остается нераскрытой и природа формирующегося оптимального соотношения производимых эритроидными клетками продуктов, тормозящих эритропоэз, с секретируемым эритроцитарными клетками эндогенным эритропоэтином и эритропоэтином почек, которые обеспечивают организму производство массы циркулирующих эритроцитов, соответствующей их кислородной потребности тканей [272]. О состоянии центрального отдела эритрона в костном мозге животных, перенесших ЭБС, позволяет судить уровень

эритропоэтина в сыворотке крови и костном мозге в динамике стресса, результаты представлены на рис. 8а, б.

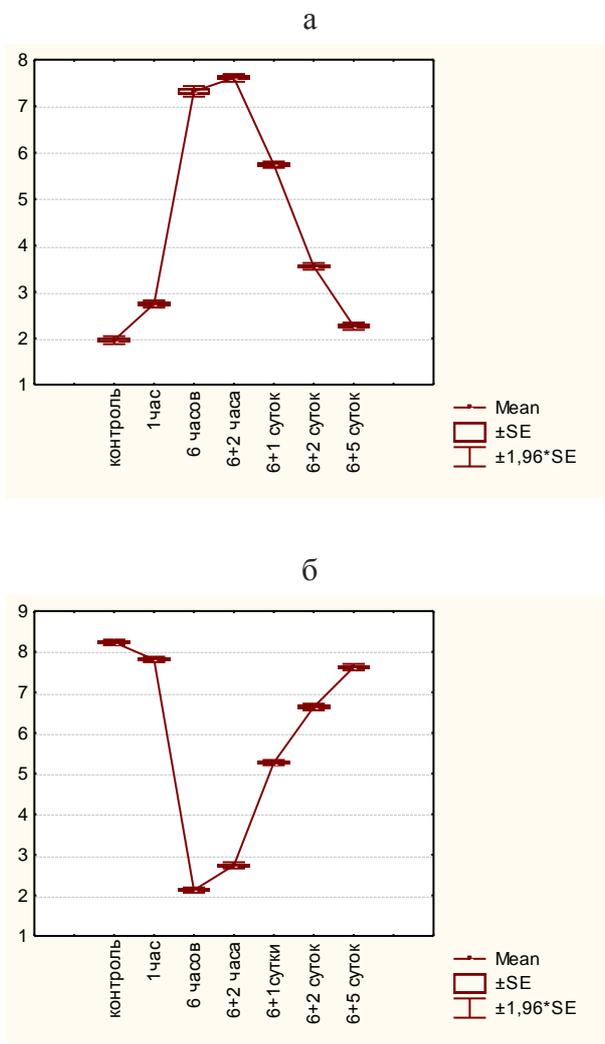


Рис. 8. Уровень эритропоэтина (нг/мл) в сыворотке крови (а) и костном мозге (б) животных в динамике стресса

Из анализа данных, представленных на рис. 8а, следует, что уровень ЭПО в сыворотке крови увеличивался на всех сроках действия ЭБС. Так, через час действия ЭБС содержание ЭПО увеличивалось на 39,79% ($p < 0,001$); через 6 часов – в 3,7 раза ($p < 0,001$); через два часа после действия 6-часового ЭБС – в 3,9 раза ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. Через 1, 2, 5 суток после действия 6-часового ЭБС содержание ЭПО в сыворотке крови увеличивалось соответственно в 2,9 раза ($p < 0,001$); на 81,12% ($p < 0,001$) и 15,31% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем.

Через час действия ЭБС содержание ЭПО в сыворотке крови уменьшалось на 62,57% ($p < 0,001$) по сравнению с 6-часовым ЭБС; через 1, 2, 5 суток после действия 6-часового ЭБС содержание ЭПО в сыворотке крови уменьшалось соответственно на 21,58% ($p < 0,05$); 51,50% ($p < 0,001$); 69,13% ($p < 0,001$) по сравнению с 6-часовым ЭБС.

На наш взгляд, повышенный уровень эритропоэтина в сыворотке крови в ответ на действие ЭБС является компенсаторной реакцией со стороны почек, продуцирующих эритропоэтин в ответ на гипоксию.

Уровень ЭПО в ткани костного мозга уменьшался на всех сроках действия ЭБС (рис. 8б). Так, через час действия ЭБС содержание ЭПО достоверно уменьшалось; через 6 часов – на 74,12% ($p < 0,001$); через два часа после действия 6-часового ЭБС – на 66,71% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. Через 1 и 2 суток после действия 6-часового ЭБС содержание ЭПО в ткани костного мозга уменьшалось соответственно на 35,97% ($p < 0,001$) и 19,32% ($p < 0,001$) по сравнению с контрольными данными.

Через час действия ЭБС содержание ЭПО в ткани костного мозга увеличивалось в 3,7 раза ($p < 0,001$); через два часа после действия 6-часового ЭБС – на 28,64% ($p < 0,001$); через 1, 2, 5 суток после ЭБС – соответственно в 2,5 раза ($p < 0,001$); 3,1 раза ($p < 0,001$); 3,6 раза ($p < 0,001$) по сравнению с 6-часовым ЭБС.

В результате действия 6-часового ЭБС наблюдается достоверное уменьшение содержания ЭПО в ткани костного мозга, что вполне согласуется с имеющим место угнетением эритропоэза в этот период и уменьшением пролиферативного потенциала эритроидных клеток костного мозга. В течение 1–5 суток после действия стресса содержание ЭПО в костном мозге увеличивается, что совпадает с началом пролиферативных процессов в ткани костного мозга.

Резюме по второй главе

Таким образом, при действии ЭБС и в восстановительном периоде содержание провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови и ткани костного мозга у экспериментальных животных оставалось повышенным по сравнению с контролем. Повышенный уровень цитокинов в крови и костном мозге способствовал адаптационным процессам в системе эритрон в ответ на действие ЭБС;

Достоверное увеличение уровня эритропоэтина в сыворотке крови животных, перенесших ЭБС, является компенсаторной реакцией со стороны почек, продуцирующих эритропоэтин в ответ на гипоксию;

В результате действия 6-часового ЭБС наблюдается достоверное уменьшение содержания ЭПО в ткани костного мозга, что вполне согласуется с имеющим место угнетением эритропоэза в этот период и уменьшением пролиферативного потенциала эритроидных клеток костного мозга. В течение 1–5 суток после действия стресса содержание ЭПО в костном мозге увеличивается, что совпадает с началом пролиферативных процессов в ткани костного мозга.

Г Л А В А 3

ВЛИЯНИЕ ЭМОЦИОНАЛЬНО-БОЛЕВОГО СТРЕССА НА ЦЕНТРАЛЬНЫЙ И ПЕРИФЕРИЧЕСКИЙ ОТДЕЛЫ ЭРИТРОНА У ЖИВОТНЫХ

В работе использовали рутинные методы определения числа эритроцитов периферической крови и показателя гематокрита [63]. Выделение из костного мозга крыс островков эритроидной ткани – эритробластических островков – осуществляли с помощью метода, разработанного в 1984 г. Ю.М. Захаровым, А.Г. Рассохиным и И.Ю. Мельниковым [48].

Ю.М. Захаровым, Л.В. Ворговой в 1989–1990 гг. [25] введены следующие показатели, характеризующие в единице объема (в одной бедренной кости у крыс) следующие параметры:

1) общее количество эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференциацию в ЭО, которое равно сумме всех классов ЭО (тыс./бедро) и ЭОрек: $A1 = \Sigma \text{ЭО} + \text{ЭО рек};$

2) показатель интенсивности вовлечения эритроидных прекурсоров в дифференциацию в ЭО (ПИЭПД), который равен сумме ЭО1 и ЭОрек: $\text{ПИЭПД} = \text{ЭО1} + \text{ЭО рек};$

3) показатель повторного вовлечения макрофагов в эритропоэз (ППВМЭ) по формуле: $\text{ППВМЭ} = \text{ЭОрек}/\text{ЭОинв}$

4) показатель созревания ЭО (ПСЭО) как отношение ЭО с созревающими эритроидными клетками к ЭО с пролиферирующими клетками, отражающий время созревания по формуле: $\text{ПСЭО} = (\text{ЭО3} + \text{ЭОинв}) / (\text{ЭО1} + \text{ЭО}_2 + \text{ЭОрек})$

Как было предложено в 1997 г. А.Г. Рассохиным [112], интенсивность эритропоэза в островках оценивали путем подсчета количества митозов эритроидных клеток, числа ядросодержащих

эритроидных клеток и количества ретикулоцитов в ЭО разных классов зрелости.

Рассмотрим некоторые молекулярные механизмы реакции эритрона на стресс. Колониеобразующая единица (клетка) (КОЕ) гранулоцитарно-мегакариоцитарно-моноцитарно-эритроидная, образующаяся из предшествующей ей клетки – преКОЕ гранулоцитарно-мегакариоцитарно-моноцитарно-эритроидной, формирует вначале малодифференцированные бурстобразующие единицы (БОЕ) эритроцитарные, БОЕ эритроцитарно-мегакариоцитарные и КОЕ эозинофильно-эритроцитарные, которые дифференцируются в более зрелые формы этих клеток, а затем в КОЕ эритроцитарные, КОЕ мегакариоцитарные и КОЕ эозинофильные [43; 159]. КОЕ эритроцитарная дифференцируется затем в препроэритробласт, а последний – в проэритробласт [187; 188]. В результате взаимодействия КОЕ эритроцитарной и, вероятно, препроэритробласта и проэритробласта со специфическими, чувствительными к их мембранам адгезивными молекулами (сиалоадгезины и рецепторы эритробластов) моноцитов/монобластов и макрофагов костного мозга [177; 197; 198] формируются эритробластические островки (ЭО) костного мозга. ЭО являются морфофункциональными единицами костного мозга, в которых протекает эритропоэз от проэритробласта до ретикулоцита включительно [180; 229; 258]. В ЭО развитие нормобластов заканчивается их денуклеацией и превращением в ретикулоциты с последующим высвобождением этих клеток из короны эритробластического островка и далее в просвет синусоидов костного мозга. Процесс дифференциации кроветворных клеток – клетки предшествующей КОЕ гранулоцитарно-мегакариоцитарно-моноцитарно-эритроидной – до ретикулоцитов в костном мозге протекает под контролем гемopoэтических цитокинов, компонентов экстрацеллюлярного матрикса, формируемого стромальными клетками костного мозга, и микроокружения в

эритробластическом островке, создаваемого центральным макрофагом островка. Пролиферация и дифференциация клетки, предшествующей КОЕ гранулоцитарно-мегакариоцитарно-моноцитарно-эритроидной, в КОЕ гранулоцитарно-мегакариоцитарно-моноцитарно-эритроидную и последней в БОЕ эритроцитарную, БОЕ эритроцитарно-мегакариоцитарную и КОЕ эозинофильно-эритроцитарную у человека требуют сочетанного воздействия на эти клетки эритропоэтина (ЭПО), а также интерлейкина-3 (ИЛ-3) фактора стволовой клетки, колониестимулирующего фактора гранулоцитарно-моноцитарного ИЛ-9 [192; 253; 256; 257]. То есть, вышеперечисленные цитокины в присутствии ЭПО обладают промоторной активностью в отношении клеток, предшествующих КОЕ гранулоцитарно-мегакариоцитарно-моноцитарно-эритроидной, ЭПО без этих цитокинов на эти клетки влияния не оказывает. Пролиферация и дифференциация мало дифференцированных БОЕ эритроцитарных в более дифференцированные БОЕ эритроцитарные поддерживаются ЭПО и бурспромоторной активностью, создаваемой колониестимулирующим фактором гранулоцитарно-моноцитарным ИЛ-3, ИЛ-9, ИЛ-6, ИЛ-11 и фактором стволовой клетки [17; 263; 271].

Следует отметить, что взаимодействие КОЕ-гранулоцитарно-мегакариоцитарно-моноцитарно-эритроцитарной и эритроидных клеток-предшественниц с компонентом экстрацеллюлярного матрикса – фибронектином – опосредовано через рецептор интегрин, «узнающий» аргинил-глицил-аспарил-сериновый локус фибронектинового домена. В результате этого контакта клеток-предшественниц с фибронектином «включается» их генетическая программа, ориентирующая развитие клеток в направлении эритроидной специализации функций [53; 55; 104; 121; 199], усиливающая их пролиферацию и дифференцирование под влиянием ЭПО. Активация эритропоэза сочетается с увеличением

в костном мозге содержания нейтральных гликозаминогликанов, которые повышают концентрацию цитокинов в окружении гемопоэтических клеток, усиливают их взаимодействие с рецепторами последних и обеспечивают быстрое формирование в них вторичных посредников, повышают также концентрацию в клетках ионов кальция, поддерживая быстрое распространение сигнала от рецепторов КОЕ к ее геному в ходе влияния колониестимулирующего фактора на КОЕ. Тормозящие эритропоэз молекулы участвуют в его регуляции. К цитокинам, оказывающим тормозящее влияние на гемопоэз, относят трансформирующий рост фактор β (ТРФ- β), ФНО, хемокины ИЛ-8 и *mir-1a*. Их эффекты также реализуются на всех этапах дифференциации эритроидных клеток предшественниц и морфологически распознаваемых эритроидных незрелых клеток. Например, ингибин, образуемый стромальными клетками костного мозга человека, представлен α - и β A-субъединицами (β A-общая субъединица в молекуле ингибина и активина). В микроокружении гемопоэтических клеток ингибин оказывает тормозящее действие на КОЕ гранулоцитарно-мегакариоцитарно-моноцитарно-эритроцитарную, БОЕ эритроцитарную и КОЕ эритроцитарную [43; 86]. N-субъединица ферритина угнетает формирование КОЕ гранулоцитарно-мегакариоцитарно-моноцитарно-эритроцитарной и БОЕ эритроцитарной, тормозя эти клетки в S-фазе клеточного цикла. Трансформирующий фактор роста β тормозит развитие ранних БОЕ эритроцитарных, взаимодействуя с серин-треонинкиназой рецепторов цитокинов на мембране БОЕ эритроцитарной и модулируя стимулирующий дифференциацию этой клетки эффект [43; 44; 45]. Интерфероны α и β , ФНО α подавляют процессы биосинтеза в эритроидных клетках-предшественницах, тормозя их пролиферацию и дифференцирование [199]. Вещества ядер, вытолкнутых из нормобластов (эритроидные кейлоны), тормозят эритропоэз, задерживают пребывание КОЕ эритроцитарной, эритробластов в фазе G₁-клеточного цикла.

Костный мозг вместе с другими органами и системами организма способен отвечать на воздействие внешней среды и обеспечивать устойчивость организма человека и животных к гипоксии, инфекции, травме и т.д. Ответ каждого типа клеток кроветворной ткани на специфические для него раздражители характеризуется скоординированным увеличением продукции и функциональной активности клеток разных линий. Однако ответ клеточных линий кроветворной ткани на стимул внешней среды реализуется через рецепцию не только гемопозитических факторов роста (цитокинов), но и нейромедиаторов, гормонов, повышение продукции которых также характеризует приспособительный ответ организма на это воздействие [107; 123].

Важную роль в регуляции гемопоэза играет строма костного мозга, воспроизводящая важные для этого процесса компоненты экстрацеллюлярного матрикса [54; 175; 176].

Выявлено шесть больших семей рецепторов цитокинов, участвующих в регуляции поведения кроветворных клеток. Многие из этих семей рецепторов цитокинов, активирующих гемопоэз, относятся к так называемому I типу рецепторов цитокинов и включает рецепторы ЛИФ, ИЛ-1, -2, -3, -4, -5, -6, -7, -9, -13 и -18, Г-КСФ, Г-КСФ, эритропоэтина, пролактина, гормона роста, цилиарного нейротрофного фактора и тромбопоэтина (с-mpl). Цитокиновые рецепторы этого типа имеют значительное структурное и функциональное сходство. Например, в надмембранном участке рецепторов обнаруживаются 4 цистеиновых остатка, WSXWS-последовательности, а также консервативные домены фибронектина III типа, сходные по функции с молекулами клеточной адгезии, они содержат связывающие лиганд участки.

Например, под влиянием эритропоэтина в гемопозитической клетке-предшественнике активируются STAT-5, под влиянием ИЛ-6 – STAT-3, γ -интерферона – STAT-1 [255; 269].

Ко второму типу цитокиновых рецепторов относят рецепторы интерферона, тканевого фактора и ИЛ-10, функция рецепторов последнего исследована недостаточно полно.

Как указано выше, нормальный эритропоэз осуществляется при участии эритропоэтина, рассмотрим его строение [43; 181]. Эритропоэтин является гликопротеином массой 34 кД, содержание углеводов в нём составляет до 37%. Эритропоэтин угнетает апоптоз, стимулирует созревание и деление эритроидных клеток-предшественниц. Пространственная конфигурация молекулы эритропоэтина представлена третичной структурой из четырёх α -спиралей («цилиндров» А, В, С и Д), располагающихся непараллельно друг другу, левосмещённых, и петель, соединяющих верх и низ «цилиндров». Имеются также β -слои, связывающие спирали А и В. После взаимодействия одной молекулы эритропоэтина с двумя его рецепторами происходит активация эритропоэтином рецептора на клетке. Рецептор эритропоэтина состоит из двух субъединиц массой 110 и 120 кД, из двух связывающих участков – высоко- и низкоэффективного к эритропоэтину на поверхности эритроидной клетки-предшественницы [270]. Для полного биологического эффекта гормона необходимо связывание эритропоэтина с высокочувствительным рецептором. Количество рецепторов на мембране эритроидных клеток колеблется от 100 до 1000, сродство рецептора к массе эритропоэтина варьирует от 10 пмоль до 10 нмоль последнего. Рецептор эритропоэтина относится к «новому суперсемейству» рецепторов цитокинов, включающему также рецепторы ИЛ-2, -3, -4, -6, -7, КСФ гранулоцитарно-моноцитарного, тромбоцитопоэтина, пролактина и гормона роста [48]. Цитоплазматическая часть рецептора эритропоэтина включает в его проксимальном районе консервативные последовательности – box-1 и box-2, найденные также во многих других цитокиновых рецепторах. Этот район необходим для связывания и актива-

ции тирозинкиназы Jak-2 [220], фосфорилирования молекулы сигнального трансдуктора и активатора трансдукции STAT-5 и экспрессии c-myc, активирующей пролиферацию клетки [269]. Эти эффекты осуществляются участком рецептора, лежащим между box-1 и box-2 и содержащим 20 аминокислотных последовательностей [195]. Но рецептор ЭПО утратил специфическую тирозин-протеиназную активность [270]. Такой активностью в цитоплазме эритропоэтинчувствительной клетки обладают член семьи тирозин-киназ (Janus-киназ) Jak-2 и член семьи Src-тиротинокиназ Lyn [195]. В физиологических условиях Jak-киназы формируют неактивные комплексы с рецептором цитокинов. Взаимодействие молекулы ЭПО с двумя его рецепторами на клетке (димеризация рецепторов) стимулирует тирозин-протеиназную активность Jak-2, сопровождающуюся фосфорилированием тирозин-остатков в цитоплазме и в самом рецепторе [270]. Подобными тирозин-остатками в цитоплазматической части эритропоэтинового рецептора, необходимыми для активации эритроидной специализации клетки, являются тирозин-343 (Y-1) и тирозин-479 (Y-8) [184; 226; 232].

За активацию экспрессии c-fos, за сигнализацию, предотвращающую апоптоз клетки, отвечает карбоксильное окончание рецептора. Возможность рецептора эритропоэтина активировать транскрипцию гена глобина, его α - и β -цепей, усиливать пролиферацию и дифференциацию эритропоэтинчувствительных клеток опосредуется через транскрипционные факторы, находящиеся в неактивном состоянии в цитозоле клетки и активируемые рецептором после его взаимодействия с гормоном. К этим факторам относят ядерные факторы NF-E1 (обозначающиеся так же как GF-1, Fryf-1, GATA-1), NF-E2, NF-KB/REL и STAT-5 [215; 222].

Активация в цитоплазме клетки STAT-5, представителя семьи латентных цитоплазматических транскрипционных факторов,

так называемых сигнальных трансдукторов и активаторов транскрипции (STAT) в гемопоэтических клетках, является следствием фосфорилирования тирозиновых остатков. В гемопоэтических клетках обнаружено 6 членов этой семьи (STAT-1 – STAT-6). Однако сигнальным трансдуктором активации эритроидной транскрипции является STAT-5. Цитоплазматическая область активированного рецептора ЭПО с ее специфическими участками тирозинового фосфорилирования избирательно взаимодействует с латентными нефосфорилированными молекулами STAT-5 и фосфорилирует их. Это взаимодействие осуществляется между специфическими тирозиновыми остатками рецептора ЭП (или цитоплазмы) – Y-1 и Y-8, фосфорилированными тирозинкиназой Jak-2, и SH-2 доменом STAT-5 на участке карбоксильного окончания последнего. Две молекулы STAT-5 отделяются от рецептора, будучи фосфорилированными, образуют гомодимер и транслоцируются в ядро, где связываются со специфическими последовательностями ДНК, регулирующими эритроидную специализацию клетки. Активация STAT-5 протекает быстро – она достигает максимума через минуту после начала стимуляции рецептора и снижается к пятой минуте, возвращаясь к базальному уровню. Возможно, причина этого явления основывается на существовании в клетке системы инактивации Jak-2. Такой функцией обладают цитоплазматические белки тирозиновой фосфатазы SHP-I, активно экспрессируемой в гемопоэтических клетках. SHP-I регулирует пролиферативную сигнализацию с эритропоэтинового рецептора дефосфорилированием ключевых субстратов, необходимых для пролиферации клетки, в том числе Jak-киназ. Фосфаты SHP-I распознают эти субстраты по содержанию в них белков p^{32}/p^{30} и дефосфорилируют их [269].

Рассмотрим роль экстрацеллюлярного матрикса в регуляции гемопоэза. Важную роль в регуляции гемопоэза играет строма костного мозга, которая осуществляет адгезивную функцию в отношении стволовых и колониобразующих кроветворных клеток и регулирует их пролиферацию и дифференциацию путем секреции ГМ-КСФ, Г-КСФ, М-КСФ, ИЛ-6, ЛИФ-6, ФСК и др. [54]. Благодаря созданию «ниш» микроокружения, обеспечивающих прямой межклеточный контакт и интенсивный молекулярный обмен стромы с гемопоэтическими клетками, достигается гемопоэтический эффект стромы [157]. К гемопоэтическим элементам стромы относят фибробласты, ретикулярные, эпителиальные клетки, адипоциты, макрофаги, эндотелий сосудов костного мозга. Эти клетки продуцируют экстрацеллюлярный матрикс, включающий: глюкозаминогликаны (ГАГ), фибронектин, ламинин, виментин, коллагены, гемонектин и протеогликианы, на их поверхности находятся антигены CD10, CD34, STro-1 [44; 45]. На клеточной поверхности колониобразующей клетки (КОК) обнаружены рецепторы – интегрины, опосредующие связывание клеток с компонентами экстрацеллюлярного матрикса («суперсемья» VLA-рецепторов). Каждый из этих рецепторов состоит из нековалентной ассоциации α - и β -цепей, при этом α -цепь определяет специфичность связываемого лиганда. Например, адгезия ГМ-КОК к строме осуществляется интегрином, содержащим цепь $\alpha 4$ [252]. Взаимодействие КОК с интегринными изменяет количество рецепторов цитокинов на плазматической мембране клеток, влияет на формирование в клетке вторичных мессенджеров после трансдукции сигналов в клетку [46; 47].

Существуют локальные механизмы, обеспечивающие количественную регуляцию гемопоэза на уровне коммитированных и частично детерминированных предшественников и ограничивающих реакцию полипотентных стволовых кроветворных клеток на

дальноранговые нервные и гуморальные стимулы. Такой локальной регуляторной системой служит гемопоэзинуцирующее микроокружение (ГИМ) [28; 29; 30]. В формировании ГИМ, согласно современным представлениям, принимают участие различные клеточные элементы и продукты их жизнедеятельности, входящие в состав как стромы, так и паренхимы кроветворных органов. К компонентам ГИМ относятся отдельные субпопуляции Т-лимфоцитов и макрофагов (мобильные элементы), фибробласты с продуцируемыми ими компонентами экстрацеллюлярного матрикса, резидентные макрофаги, адипоциты, эндотелиальные клетки, элементы микроциркуляторного русла и нервные волокна [252]. Составные элементы ГИМ осуществляют контроль над процессами кроветворения через продуцируемые цитокины и благодаря непосредственным контактам с гемопоэтическим и клетками [37; 38]. Межмембранное связывание служит при этом для сообщения регуляторной информации, передачи необходимых веществ, миграции и последующего хоминга клеток-предшественников в специфических участках кроветворной ткани, а также представления гемопоэтических ростовых факторов в биологически доступной форме [27; 29; 216].

Рассмотрим некоторые черты информационной сигнализации, регулирующей эритропоэз. Одной из важных функций гликозаминогликанов (ГАГ) и протеогликанов является представление цитокинов гемопоэтическим клеткам [111]. Например, при гранулоцитарной или эритроидной гиперплазии концентрация гепарансульфата, хондроинтинсульфата, дерматансульфата, гиалуроновой кислоты в костном мозге увеличивается в 2–4 раза и уменьшается при торможении гемопоэза [47; 48]. Взаимодействие ИЛ-3 или фактора стволовой клетки (ФСК) с гепарансульфатом протеогликаном резко увеличивает их адгезию к КОК гранулоцитарно-мегакариоцитарно-монокитарно-эритроцитарной и бурстобра-

зующей эритроцитарной клетке [189]. В результате активации формирования эритробластических островков костного мозга, а также усиления пролиферации и дифференциации в них эритроидных элементов макрофагами островков резко увеличивается продукция гепарансульфата, хондроитинсульфата и дерматансульфата, создающая благоприятное для развития эритроидных клеток эритропоэтическое микроокружение [50]. Комплексы ГАГ-цитокины, создающие высокие концентрации последних в микроокружении КОК, легко диссоциируют в присутствии рецепторов цитокинов на этих клетках.

Таким образом, регулирующая гемопоэз сигнализация представлена тесно взаимодействующими на уровне кроветворных клеток-предшественников молекулами цитокинов, нейромедиаторов и компонентов экстрацеллюлярного матрикса, в результате обеспечиваются ответы кроветворения, адекватные воздействиям внешней среды на организм.

В процессе регуляции продукции эритроцитов костным мозгом имеет место контроль, осуществляемый с участием обратных связей – функциональной обратной связи и обратной связи, реализуемой продуктами эритроидных клеток [52]. Функциональная обратная связь представляет контроль кислородным запросом тканей продукции эритроцитов костным мозгом: сниженное кислородное обеспечение тканей посредством активации производства эритропоэтина испытывающими гипоксию почками активирует образование эритроцитов костным мозгом, увеличивая массу эритроцитов и кислородную емкость крови. В результате повышенного обеспечения тканей кислородом, превышающее их потребность в нем, снижается масса эритроцитов и кислородная емкость крови. Обратная связь, реализуемая продуктами эритроидных клеток, может проявлять себя как положительная, если продукты, высвобождаемые эритроцитами (например, при их деструкции), стиму-

лируют процесс образования эритроцитов костным мозгом, и отрицательная, если продукты эритроидных клеток (цитокины, кейлоны, ядра, теряемые при созревании нормобластами, фрагменты цепей глобина и др.) тормозят эритропоэз [7; 96; 98; 142; 145].

Возможность информационного обмена между эритроидными клетками разных стадий развития, их клетками-предшественницами, а также различными клетками в костномозговой полости, формирующими гемопоэтическое микроокружение, лежит в основе регуляции эритропоэза с использованием обратной связи. В последние годы получены материалы, указывающие на способность CD34-положительных клеток костного мозга, а также миелобластов, эритробластов, мегакариобластов секретировать обширный спектр, регулирующий гемопоз цитокинов [132; 191; 203]. Цитокинами, являющимися физиологическими регуляторами гемопоза и экспрессируемыми нормальными кроветворными клетками костного мозга, могут реализоваться межклеточные регуляторные взаимодействия в костном мозге. На культурах костного мозга показано, что эритроидные клетки-предшественницы (бурстобразующие единицы эритроидные, колониеобразующие единицы эритроидные) при их развитии в культуре, стимулируемой внесением в неё эритропоэтина, демонстрируют экспрессию эритропоэтина, т.е. способны к включению положительной обратной связи, усиливающей экзогенный эритропоэтический стимул. Эритроидные ядродержащие клетки способны оказывать регулирующее воздействие на гемо- и иммунопоэз [132]. Подобное действие эритроидные клетки могут опосредовать через продукцию растворимых факторов. В эритроидных клетках, выделенных из селезенки мышей после эритропоэз-стимулирующих воздействий (обработка фенилгидразином, острая гипоксия) и из селезенки новорожденных мышей, было обнаружено наличие мРНК следующих цитокинов: ИЛ-1 α , ИЛ-1 β , ИЛ-4,

ИЛ-6, ИФН- γ , ТФР- β , ГМ-КСФ и отсутствие мРНК ИЛ-2, ИЛ-3 и ИЛ-5. Экспрессия генов цитокинов в эритроидных клетках качественно и количественно отличалась в зависимости от эритропоэзстимулирующего воздействия. Например, в эритроидных клетках новорожденных определялась мРНК ГМ-КСФ, но не определялась мРНК ИФН- γ , а в эритроидных клетках мышей после острой гипоксии или обработки фенилгидразином определялась мРНК ИФН- γ , но не мРНК ГМ-КСФ. После культивирования клеток с эритропоэтином наблюдались качественные и количественные изменения в экспрессии генов цитокинов, в том числе, появление мРНК для ИЛ-2, ИЛ-3, но не ИЛ-5. Экспрессия генов цитокинов была подтверждена на клетках из единичных эритроидных колоний. Уровень экспрессии мРНК цитокинов в эритроидных клетках был сопоставим (для ряда цитокинов был выше) с экспрессией в спленоцитах мышей иммунизированных Т-зависимым антигеном. Было показано, что эритроидные клетки способны к трансляции самих белков. Установлена продукция ГМ-КСФ и ИФН- γ эритроидными клетками, выделенными из селезенки новорожденных мышей, а также у мышей после эритропоэзстимулирующих воздействий (обработка фенилгидразином, острая гипоксия, острая кровопотеря). При этом уровень продукции ИФН- γ оказался сопоставимым с уровнем продукции этого цитокина митогенстимулированными спленоцитами [183; 240].

Таким образом, эритроидные клетки, как и клетки практически всех ростков кроветворения, способны экспрессировать и продуцировать ряд гемо- и иммунорегуляторных цитокинов, с помощью которых они могут участвовать в регуляции гемо- и иммунопоэзов, а также оказывать саморегулирующее влияние на пролиферацию и дифференцировку своего ростка.

К раннедействующим гемопоэтинам, участвующим самостоятельно или в сочетании с другими факторами в стимуляции

процессов пролиферации и дифференцировки ранних кроветворных предшественников, либо индуцирующим полипотентные стволовые кроветворные клетки, находящиеся в фазе G₀, к делению относятся интерлейкин-3 (ИЛ-3), вырабатываемый активированными Т-лимфоцитами, фактор Стила, ИЛ-1, -6, -11 и Flt-3-лиганд, которые продуцируются макрофагами, стромальными мезанхоцитами, эндотелиальными и жировыми клетками, а также гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, способность к синтезу которого обнаружена практически у всех клеточных элементов ГИМ [28; 220]. Резидентные костномозговые макрофаги и моноциты секретируют эритропоэтин и ИЛ-6, которые стимулируют пролиферацию эритроидных прекурсоров, эта способность возрастает при активации Т-лимфоцитами, продуктами деструкции эритроцитов и другими факторами [29; 37; 238]. К позднедействующим гемопоэтинам, продуцируемым макрофагами, фибробластами и эндотелиальными клетками, относят гранулоцитарный и макрофагальный колониестимулирующие факторы, участвующие в регуляции, соответственно, грануло- и моноцитопозза [29]. Клетки стромы и специализированные макрофаги вырабатывают коллаген I, III и IV типов, ретикулиновые волокна, фибронектин, ламинин, тенасцин и другие белковые компоненты нитчатой сети внеклеточного матрикса [216].

В организме существует единая, сложноорганизованная система регуляции гемопоэза, включающая взаимосвязанные дистантные и локальные контролируемые структуры [28; 29].

При действии на организм различных экстремальных факторов, которые обладают миелоингибирующим действием и не вызывают гипоплазии кроветворной ткани, происходит последовательная активация отдельных звеньев единого каскадного механизма регуляции кроветворения. Центральные нейроэндокринные механизмы, реализующие свое влияние посредством универсаль-

ных стрессреализующих (вегетативной, гипофизадреналовой, опиоидных пептидов) и стресслимитирующих систем (ГАМК-ергической, опиоидных пептидов и др.) при этом являются пусковым звеном, определяющим адаптивный ответ кроветворной ткани [30; 31; 37; 39]. Основным звеном, оказывающим вегетативное влияние на гемопоэз, является симпатико-адреналовая система.

Преимущественно за счет стимуляции процессов эритро- и грануломоноцитопоэза активация гипофизадреналовой [38] и симпатико-адреналовой систем [30] приводит к развитию феномена гиперплазии кроветворной ткани костного мозга и увеличению клеточности периферической крови. В основе активации гемопоэза при этом лежит усиление миграции Т-лимфоцитов-регуляторов в костный мозг под действием глюкокортикоидов и катехоламинов [28; 29; 30; 38]. Подробно изучен фенотип и ряд свойств Т-клеток, контролирующих процессы кроветворения [28–30]. Т-клетки повышают функциональную активность резидентных макрофагов и стромальных механоцитов, формирующих ГИМ, во многом ответственное за пролиферацию и созревание кроветворных клеток от родоначальных до зрелых форм. Кроме того, имеют место прямой (рецепторный) и опосредованный через Т-лимфоциты, макрофаги, стромальные механоциты эффекты гормонов мозгового и коркового слоев надпочечников на кроветворные клетки, приводящие к синхронизации и повышению их пролиферативных и дифференцировочных потенций [29; 149; 160; 162]. Существует определенная тропность β -адренергических стимулов к эритроидным, α -адренергических – к гранулоцитарно-макрофагальным механизмам кроветворения, подтвержденная методами корреляционного анализа. От соотношения активностей стресс-реализующих и стресс-лимитирующих систем, имеющих в крови аналогичные клетки-мишени, зависит адаптивный ответ кроветворной ткани.

Рассмотрим современные представления о структурной организации и функционировании мембраны эритроцита [122]. Мембрана эритроцита играет ключевую роль в детерминации гомеостаза и функциональной способности клетки. Процесс активного транспорта ионов, особенности функционирования мембранассоциированных ферментов, характер взаимодействия клетки со средой зависят от физико-химического состояния эритроцитарной мембраны. Сбалансированностью молекулярной организации мембраны эритроцита, стабильностью работы катионтранспортирующих систем и сохранением ионного гомеостаза достигается поддержание оптимальной формы эритроцита в виде двояковогнутого диска, обеспечивающей адекватное участие клетки в газообмене [100; 158; 166; 182].

Эритроцитарная мембрана представляет собой композитную структуру, основу которой составляет липидный бислой с асимметрично встроенными белками. Специфическая укладка полипептидных цепей всех интегральных и некоторых периферических белков определяется и стабилизируется окружающими липидными молекулами. Мембранные белки могут влиять на липиды, изменять молекулярную упорядоченность и ограничивать подвижность анулярных липидов, вызывать изменение низкочастотных колебаний всей липидной фазы, стимулируя разделение фаз и способствуя асимметричному распределению липидов [10; 101; 102; 186; 207; 254]. Липидные молекулы, являясь важными структурными и функциональными компонентами мембраны эритроцита, регулируют подвижность и активность внутримембранных белков, в результате в клетке обеспечивается селективная проницаемость и нормальное функционирование мембранассоциированных ферментов, а также рецепторного аппарата [26; 118; 137].

Стабильность липидного бислоя является одним из необходимых условий для обеспечения физиологического статуса биологических мембран. В мембране эритроцита фосфолипиды распре-

делены неравномерно [70; 138; 266]: фосфатидилхолин и сфингомиелин являются основными компонентами внешней поверхности мембраны, а фосфатидилэтаноламин и фосфатидилсерин локализуются преимущественно на ее внутренней стороне. Важную роль в процессах образования везикул, трансформации и разрушения эритроцитов играет переход молекул фосфолипидов с одной стороны мембраны на другую, избирательный гидролиз фосфолипидов в определенных областях мембраны или образование небислойных липидных фаз [139; 213; 235; 254].

Дезорганизация липидов, являющихся субстратом как перекисного окисления липидов (ПОЛ), так и ферментативного гидролиза, закономерно приводит к утрате способности клеток регулировать ионный и антиоксидантный гомеостаз, нарушению работы мембрансвязанных энзимов, что, в итоге, способствует изменению метаболизма в клетке, а также приводит к необратимым нарушениям ее структурно-функционального статуса [11; 69; 116; 193; 224]. Лизофосфолипиды являются обязательными компонентами мембранных образований и определяют динамические свойства мембраны, ее проницаемость, явления секреции, экзоцитоза участвуют в регуляции большинства связанных с мембранами ферментов, но чрезмерное накопление этого фосфолипида делает возможным переход липидного бислоя в монослой с нарушением проницаемости для ионов Na^+ и K^+ , образованием гидрофильных каналов и изменением активности мембраносвязанных ферментов [34; 88; 117].

Белковые компоненты мембраны эритроцита делятся на интегральные и периферические в зависимости от степени влияния на структуру бислоя и силе взаимодействия с ним. Последние удерживаются в мембране преимущественно электростатическими взаимодействиями и составляют около 40% массы мембраны. Протеины, образующие цитоскелет эритроцитов, не уникальны: они присутствуют и в других клетках организма [26; 97; 119]. Несмотря на выяв-

ляемые тонкие различия в структуре основных мембранных белков, принадлежащих к различным типам клеток, имеются данные о том, что, по крайней мере, спектрин, гликофорин детерминируются строго определенными семействами генов [68; 97].

Универсальной типовой реакцией целостного организма являются нарушения структуры и функции мембраны эритроцита. К патологическим процессам разного генеза относится дефицит энергопродукции и интенсификация процессов свободнорадикального окисления. Усиление процессов перекисного окисления липидов в клеточных мембранах приводит к уплотнению либо деструкции липидного бислоя, увеличению его вязкости, уменьшению площади белок-липидных контактов, нарушению функциональной активности белков, в том числе ферментов, изменению мембранной проницаемости и поверхностного заряда, нарушению функционального состояния мембранорецепторного комплекса. Свободнорадикальное окисление липидных и белковых молекул играет роль триггерного механизма, обеспечивающего доступность липидно-белковых компонентов мембраны эритроцита соответственно для фосфолипаз и протеаз. Свободнорадикальные процессы в клетке стимулируются нарушением энергетического обмена, а активация свободнорадикального окисления приводит к повреждению мембраны и усугубляет дефицит энергии. Уменьшение содержания макроэргов в эритроцитах сопровождается накоплением в клетках ионов Ca^{2+} , активацией фосфолипаз, гидролизом части фосфолипидов, увеличением проницаемости мембраны. Наряду с активацией ПОЛ накопление в эритроцитах ионов Ca^{2+} -вторичного мессенджера, который переносит сигнал от поверхности внутрь клетки, запускает совокупность процессов, в частности, активацию Ca^{2+} -зависимых фосфолипаз и протеаз, приводящих к нарушению структуры мембраны, метаболизма, ионного гомеостаза клетки и в дальнейшем ее формы и функции [21; 65; 75; 76; 120].

Различные стрессорные воздействия вызывают изменения в периферических участках системы крови, которые обусловлены предшествующими преобразованиями в центральном звене, т.е. костном мозге. Поэтому изучение функционирования кроветворной ткани как в норме, так и при остром стрессе, способствует выяснению компенсаторных возможностей организма в целом. Известно, что во время стресс-реакции формируется повышенная потребность в самообновлении клеток системы крови. В системе крови при воздействии различных раздражителей (иммобилизации, электрического тока, мышечной нагрузки, ионизирующего излучения) развивается комплекс изменений, характерных для стресса [33; 144; 219]. Исследований влияния ЭБС на эритроциты крайне мало, что и определило актуальность нашего исследования.

3.1. Показатели периферической крови, костномозгового кроветворения и парциальной эритрограммы у животных, перенесших эмоционально-болевой стресс

Показатели периферического отдела эритроцитоза представлены на рис. 9.

После 1-часового ЭБС количество эритроцитов в периферической крови было недостоверно выше контроля, а число ретикулоцитов – на 41,99% ($p < 0,05$) превышало контроль. После 6-часового ЭБС количество эритроцитов в периферической крови было недостоверно выше контроля, а число ретикулоцитов – на 52,99% ($p < 0,001$) превышало контроль, аналогичная динамика содержания эритроцитов и ретикулоцитов в крови была выявлена после 1-часового ЭБС. В результате острого ЭБС повышалась потребность организма в кислороде и, следовательно, в эритроцитах, которые рекрутировались в периферическую кровь. Изменения периферического отдела эритроцитоза после 1- и 6-часового ЭБС являлись реакцией на острый стресс, приводящий к мобилизации

костномозговых ретикулоцитов в периферическую кровь.

После 6-часового ЭБС и 2 часов после него количество эритроцитов в периферической крови было на 7,95% выше контроля, а число ретикулоцитов – на 56,01% ($p < 0,001$) превышало контроль. После 6-часового ЭБС и суток после него количество эритроцитов в периферической крови было на 16,38% ($p < 0,05$) выше контроля и на 9,75% ($p < 0,05$) – по сравнению с 6-часовым ЭБС, а число ретикулоцитов – на 36,99% ($p < 0,01$) превышало контроль и на 10,46% было ниже аналогичного показателя после 6-часового ЭБС. После 6-часового ЭБС и 2 суток восстановления количество эритроцитов в периферической крови достоверно не отличалось от аналогичного показателя у животных после 6-часового ЭБС и от контроля, а число ретикулоцитов – на 21,01% ($p < 0,01$) превышало контроль и на 20,90% ($p < 0,01$) было ниже, чем у крыс, перенесших 6-часовой ЭБС.

После 6-часового ЭБС и 5 суток восстановления количество эритроцитов в периферической крови недостоверно выше контроля; число ретикулоцитов – на 9,99% превышает контроль и на 28,10% ($p < 0,001$) ниже, чем у крыс после 6-часового ЭБС.

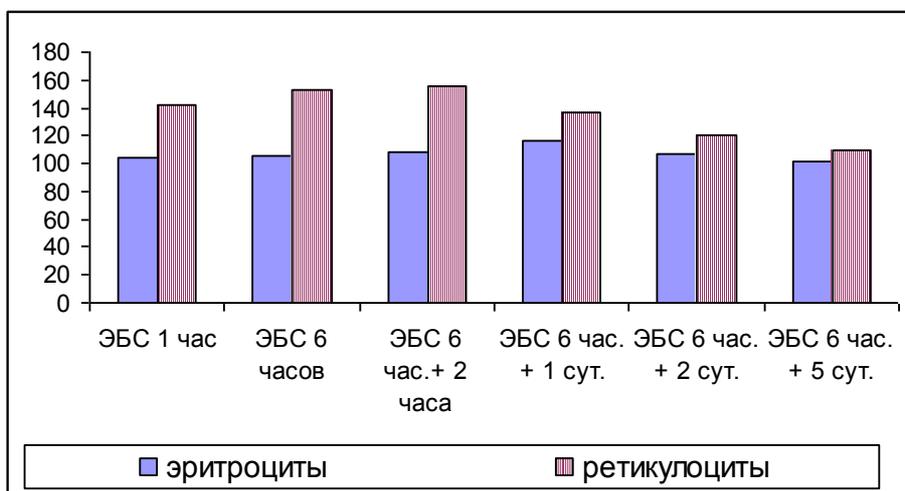


Рис. 9. Содержание эритроцитов и ретикулоцитов в периферической крови экспериментальных животных, перенесших эмоционально-болевой стресс (в процентах от контроля)

Рассмотрим влияние эмоционально-болевого стресса на некоторые показатели костномозгового кроветворения у животных. После 1-часового ЭБС количество миелокариоцитов на бедро на 19,57% ($p < 0,001$) ниже контрольных данных. Количество ядросодержащих клеток эритроидного ряда уменьшено на 8,94%, а неэритроидных клеток на 23,19% ($p < 0,001$), в результате наблюдается падение л/э коэффициента на 15,65% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем (табл. 10).

После 6-часового ЭБС количество миелокариоцитов на 27,29% ($p < 0,001$) ниже контрольных данных и на 9,59% ($p < 0,05$) ниже данного показателя после 1-часового ЭБС. Количество ядросодержащих клеток эритроидного ряда уменьшено на 16,46% ($p < 0,05$), а неэритроидных клеток уменьшено на 30,97% ($p < 0,001$), в результате наблюдается падение л/э на 17,35% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. По сравнению с 1-часовым ЭБС количество ядросодержащих клеток эритроидного ряда в результате действия 6-часового ЭБС уменьшено на 8,27%, а неэритроидных клеток уменьшено на 10,13% ($p < 0,05$).

Таким образом, острый ЭБС приводил к замедлению амплификации эритроидных клеток в «короне» ЭО, уменьшению количества их пролиферирующих классов, что коррелирует с пролиферативной активностью эритроидных клеток.

Через 2 часа после 6-часового ЭБС количество миелокариоцитов на 31,93% ($p < 0,001$) ниже контрольных данных и на 6,39% по сравнению с 6-часовым стрессом. Количество ядросодержащих клеток эритроидного ряда уменьшено на 21,15% ($p < 0,05$), а неэритроидных клеток на 35,61% ($p < 0,001$), в результате наблюдается понижение л/э на 18,37% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. По сравнению с 6-часовым стрессом количество клеток эритроидного ряда ниже на 5,60%, число неэритроидных клеток – на 6,71%, а л/э недостоверно отличается в этот период стресса.

Через сутки после 6-часового ЭБС количество миелокариоцитов на 14,99% ($p < 0,01$) выше контрольных данных и на 58,16% ($p < 0,001$) превышает этот показатель по сравнению с 6-часовым стрессом. Количество ядросодержащих клеток эритроидного ряда в этот период увеличено на 8,15%, а неэритроидных клеток на 17,32% ($p < 0,001$), в результате наблюдается повышение л/э на 8,50% ($p < 0,01$) по сравнению с контролем. По сравнению с 6-часовым стрессом количество клеток эритроидного ряда выше на 29,47% ($p < 0,01$), число неэритроидных клеток – на 69,97% ($p < 0,001$), а л/э на 31,28% ($p < 0,001$) превышает аналогичный показатель через сутки после 6-часового ЭБС.

Через 2 суток после 6-часового ЭБС количество миелокариоцитов на 10,39% ($p < 0,05$) выше контрольных данных и на 51,83% ($p < 0,001$) по сравнению с 6-часовым ЭБС. Количество ядросодержащих клеток эритроидного ряда увеличено на 6,61% по сравнению с контролем и на 27,63% ($p < 0,01$) увеличено по сравнению с 6-часовым стрессом; количество неэритроидных клеток увеличено на 11,68% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем и на 61,79% ($p < 0,001$) по сравнению с 6-часовым ЭБС; в результате наблюдается недостоверное повышение л/э по сравнению с контролем и на 26,75% ($p < 0,01$) по сравнению с 6-часовым ЭБС.

Через 5 суток после 6-часового ЭБС количество миелокариоцитов на 4,08% выше контрольных данных и на 43,14% ($p < 0,05$) по сравнению с 6-часовым ЭБС. Количество ядросодержащих клеток эритроидного ряда недостоверно отличается от контроля и на 19,16% ($p < 0,05$) увеличено по сравнению с 6-часовым стрессом; количество неэритроидных клеток увеличено на 53,02% ($p < 0,01$) по сравнению с 6-часовым ЭБС; в результате наблюдается повышение л/э на 6,12% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем и на 28,39% ($p < 0,001$) по сравнению с 6-часовым ЭБС.

Таблица 10

Показатели костномозгового кроветворения у экспериментальных животных, подвергшихся действию эмоционально-болевого стресса

Сроки стресса / показатели	Количество миелокариоцитов, $\times 10^6$ /бедренную кость	Лейкоэритроцитарный коэффициент, ед.	Количество незэритроидных клеток, $\times 10^6$ /бедренную кость	Количество эритроидных ядродержащих клеток, $\times 10^6$ /бедренную кость
Контроль	120,37 \pm 3,74	2,94 \pm 0,01	89,82 \pm 2,79	30,55 \pm 1,93
ЭБС 1 час	96,81 \pm 2,77* **	2,48 \pm 0,01* **	68,99 \pm 2,48***	27,82 \pm 1,07
ЭБС 6 часов	87,52 \pm 3,04* **	2,43 \pm 0,01* **	62,00 \pm 2,38***	25,52 \pm 1,72*
ЭБС 6 + 2 часа	81,93 \pm 2,87* **	2,40 \pm 0,01* **	57,84 \pm 2,69***	24,09 \pm 1,69*
ЭБС 6 + 1 сут.	138,42 \pm 3,49 **	3,19 \pm 0,01* *	105,38 \pm 2,10**	33,04 \pm 1,74
ЭБС 6 + 2 сут.	132,88 \pm 3,30 *	3,08 \pm 0,01* *	100,31 \pm 2,77*	32,57 \pm 1,48
ЭБС 6 + 5 сут.	125,28 \pm 2,67	3,12 \pm 0,01* *	94,87 \pm 2,94	30,41 \pm 1,41

Примечание: достоверность отличий от контроля: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$, рассчитанных с помощью теста Манна–Уитни.

После 1-часового ЭБС количество проэритробластов, эритробластов в костном мозге на 30,00% ($p < 0,05$) ниже контроля; число базофильных нормобластов на 14,92% ($p < 0,05$) ниже данных контроля; количество полихроматофильных нормобластов и оксифильных нормоцитов превышает контроль соответственно на 17,01% ($p < 0,05$) и 15,00% ($p < 0,05$) (рис. 10).

После 6-часового ЭБС количество проэритробластов, эритробластов в костном мозге на 20,00% ($p < 0,05$) ниже контроля; число ба-

зофильных нормобластов на 10,62% ($p < 0,05$) ниже данных контроля; количество полихроматофильных нормобластов и оксифильных нормоцитов превышает контроль соответственно на 40,90% ($p < 0,001$) и 19,47% ($p < 0,05$). По сравнению с 1-часовым ЭБС после 6-часового стресса количество проэритробластов, эритробластов в костном мозге на 14,29% ($p < 0,05$) выше; количество полихроматофильных нормобластов превышает показатели 1-часового ЭБС на 20,42% ($p < 0,05$).

Через 2 часа после 6-часового ЭБС количество проэритробластов, эритробластов в костном мозге на 16,67% ($p < 0,05$) ниже контроля; число базофильных нормобластов на 8,00% ($p < 0,05$) ниже данных контроля; количество полихроматофильных нормобластов и оксифильных нормоцитов превышает контроль соответственно на 45,00% ($p < 0,001$) и 20,00% ($p < 0,05$). Таким образом, в результате острого стресса ускоряются процессы созревания и дифференцировки клеток эритроидного ряда; увеличение количества полихроматофильных нормобластов и оксифильных нормоцитов указывает на их ускоренное созревание в ретикулоциты и выход последних в периферическую кровь.

В результате острого стресса количество проэритробластов и эритробластов в костном мозге значительно снизилось, что свидетельствует об угнетении эритропоэза, с одной стороны, и ускоренном созревании эритроидных клеток, с другой стороны.

Через сутки после 6-часового ЭБС количество проэритробластов, эритробластов в костном мозге на 16,67% ($p < 0,05$) выше контроля; число базофильных нормобластов на 42,92% ($p < 0,001$) выше данных контроля; количество полихроматофильных нормобластов и оксифильных нормоцитов превышает контроль соответственно на 54,03% ($p < 0,001$) и 28,82% ($p < 0,05$). По сравнению с 6-часовым ЭБС через сутки после 6-часового стресса количество проэритробластов,

эритробластов в костном мозге на 45,83% ($p < 0,001$) выше; число базофильных нормобластов выше на 59,89% ($p < 0,001$).

Через 2 суток после 6-часового ЭБС количество проэритробластов, эритробластов в костном мозге на 23,33% ($p < 0,05$) выше контроля; число базофильных нормобластов на 51,08% ($p < 0,001$) выше данных контроля; количество полихроматофильных нормобластов и оксифильных нормоцитов превышает контроль соответственно на 22,99% ($p < 0,05$) и 13,95% ($p < 0,05$). По сравнению с 6-часовым ЭБС через 2 суток после 6-часового стресса количество проэритробластов, эритробластов в костном мозге на 54,17% ($p < 0,001$) выше; число базофильных нормобластов выше на 69,02% ($p < 0,001$); количество полихроматофильных нормобластов ниже аналогичных показателей 6-часового ЭБС на 12,72% ($p < 0,05$).

Через 5 суток после 6-часового ЭБС количество проэритробластов, эритробластов в костном мозге на 13,33% ($p < 0,05$) выше контроля; число базофильных нормобластов на 10,00% ($p < 0,05$) выше данных контроля; количество полихроматофильных нормобластов и оксифильных нормоцитов превышает контроль соответственно на 9,65% ($p < 0,05$) и 6,58% ($p < 0,05$). По сравнению с 6-часовым ЭБС через 5 суток после 6-часового стресса количество проэритробластов, эритробластов в костном мозге на 41,67% ($p < 0,001$) выше; число базофильных нормобластов выше на 23,06% ($p < 0,05$); количество полихроматофильных нормобластов и оксифильных нормоцитов ниже аналогичных показателей 6-часового ЭБС соответственно на 22,18% ($p < 0,05$) и 10,79% ($p < 0,05$).

Объединение клеток в островки не является исключительным свойством эритрона. Само название «эритробластический островок» дано по аналогии с эмбриональными гемопоэтическими островками желточного мешка. В гематологии хорошо известна способность клеток-предшественников образовывать в системах in

vivo и *in vitro* колонии и кластеры округлой формы. Помимо ЭО, в костном мозге описано присутствие гранулоцитарных и смешанных островков, число которых возрастает при воспалении и стрессе [32]. Центральная клетка островка имеет все свойства гистиоцита-макрофага, что и закреплено в современной терминологии: «центральный макрофаг», «центральный гистиоцит зритробластического островка» [180]. ЭО обнаружены в костном мозге человека, в селезенке и костном мозге взрослой мыши, в костном мозге 4–6-недельных и взрослых крыс [44; 45; 47; 48; 53; 112; 113; 178; 179; 180].

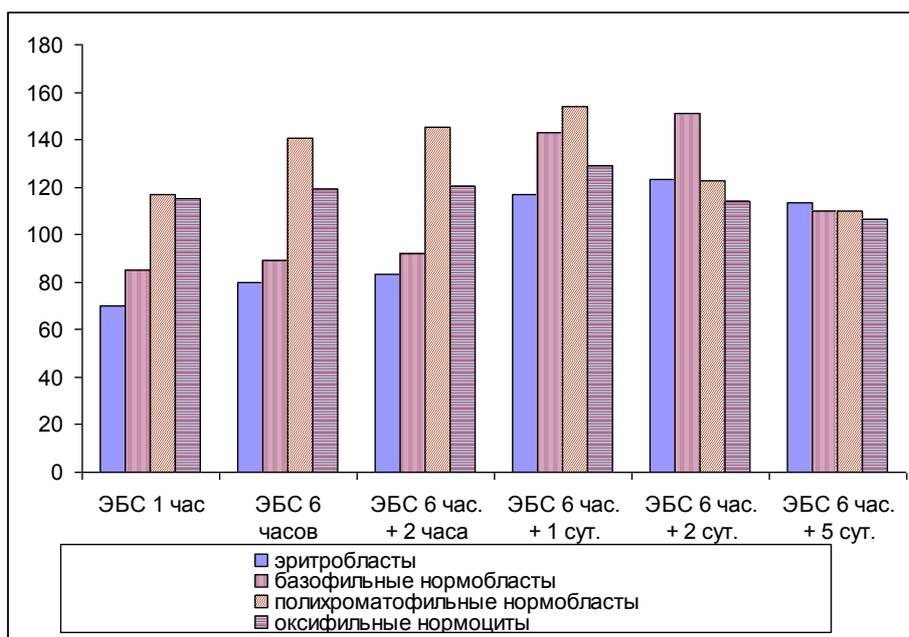


Рис. 10. Показатели парциальной эритрограммы костного мозга у животных, перенесших эмоционально-болевого стресс (в % на 100 клеток)

3.2. Влияние эмоционально-болевого стресса на изменения абсолютного и относительного содержания ЭО костного мозга и их распределение по классам зрелости у экспериментальных животных

После стимуляции эритропоэза гипоксией центральные макрофаги ЭО (ЦМЭО) обнаруживают тенденцию к увеличению размеров, нарастанию вакуолизации их цитоплазмы, снижению концентрации гемосидерина, при этом активность кислой фосфатазы в них резко увеличивается. Количество ЭО в костном мозге анемизированных кровопотерей или фенилгидразином крыс нарастает в несколько раз по сравнению с нормой [244]. Подавление эритропоэза при посттрансфузионной полицитемии угнетает реакцию кислой фосфатазы, усиливает накопление гемосидерина и ферритина в ЦМЭО, количество ЭО в костном мозге уменьшается в несколько раз, а эритроидные элементы ЭО почти полностью представлены ортохромными нормобластами и ретикулоцитами [271].

Установлено, что макрофаги гемопоэтических органов – костного мозга, селезенки, а также моноциты крови способны секретировать эритропоэтин [41]. Малая концентрация макрофагов-моноцитов стимулирует, а большая – угнетает пролиферацию эритроидных колоний *in vitro*. Угнетающий эритропоэз эффект макрофагов связан с продукцией этими клетками опухольнекротизирующего фактора α , интерлейкина- 1β , интерферонов α и β , которые тормозят пролиферацию и дифференциацию БОЕэ [41], а также способны подавлять воспроизводство ЭПО в организме. При возрастании кислородного запроса в организме фагоцитирующие мононуклеары увеличивают воспроизводство как ЭПО, так и субстанций, которые потенцируют его действие на клетки-предшественницы эритроидного ряда. Снижение потребности тканей в кислороде, которое сопровождается уменьшением образования

эритропоэтина в почках, уменьшает и активирующее эритропоэз свойство макрофагов. Полагают, что макрофаги, в том числе и центральные из эритробластических островков, создают в микроокружении красных клеток в костном мозге концентрации различных гуморальных факторов, которые стимулируют и ингибируют эритропоэз, в пропорциях, усиливающих или снижающих воспроизводство эритроцитов. Конкретные механизмы, включающие систему фагоцитирующих мононуклеаров в регуляцию эритропоэза, остаются до настоящего времени неизученными.

Физиологический эритропоэз в костном мозге человека и млекопитающих протекает в ЭО костного мозга. Образование эритробластических островков происходит после адгезии дифференцирующейся в проэритробласт КОЕэ к резидуальному макрофагу (моноциту, монобласту) костного мозга. Возникающие после этого удвоения 1:2:4:8 эритроидные клетки формируют эритробластические островки 1-го класса, дальнейшее удвоение ~ 8:16 образует островки 2-го класса, а удвоение 16:32 формирует островки 3-го класса зрелости, способные к однократному, конечному делению средними полихроматофильными эритробластами и неделящимися формами ядросодержащих эритроидных клеток – оксифильными нормобластами. Из 3-го класса зрелости формируются инволюцирующие островки, в «короне» которых содержатся лишь оксифильные нормобласты и образовавшиеся из них ретикулоциты. Макрофаги части инволюцирующих островков (18–20%) способны вновь активировать взаимодействующую с его мембраной колониобразующую единицу – эритроцитарную или препроэритробласт, начав формирование новой волны эритропоэза в «короне» инволюцирующего островка, это реконструирующиеся островки. Следовательно, к основным чертам эритропоэза в ЭО в физиологических условиях можно отнести: 1) амплификацию (удвоение) числа эритробластов в ходе их пяти последовательных

делений; 2) возможность дифференциации колониеобразующей единицы – эритроцитарной или препроэритробласта в «короне» эритробластических инволюцирующих островков; 3) отсутствие дифференциации эритроцитарной колониеобразующей единицы в эритроидной «короне» эритробластических островков 1–3-го классов зрелости.

Исследованиями Ю.М. Захарова, А.Г. Рассохина, И.Ю. Мельникова (1990) [42] установлено, что суждения об активности эритропоэза, выносимые с учетом оценки общего содержания ЭО и их распределения по классам, представляются более информативными, чем выносимые только на основе традиционных методов изучения парциальной эритрограммы и клеточного состава периферической крови. Высокая информативность ЭО обусловлена прежде всего тем, что согласно современным представлениям, эритробластические островки являются основной функционально-анатомической единицей эритропоэза. Отчасти это обусловлено ролью, которую играет центральный макрофаг ЭО в пролиферации и созревании эритроидных клеток. В настоящее время принято считать, что центральный макрофаг ЭО стимулирует эритропоэз за счет трех основных функций: а) осуществление фагоцитоза вытолкнутых из нормобластов ядер старых и поврежденных эритроцитов; б) трофического эффекта в отношении развивающихся эритроидных клеток; в) в создании специфического регулирующего эритропоэз микроокружения. Последнее связано со способностью центрального макрофага ЭО продуцировать эритропоэтинактивные вещества и усиливать эффекты эритропоэтина на эритропоэз.

Для анализа кинетики формирования ЭО в кроветворной ткани и протекающего в них эритропоэза Ю.М. Захаровым, А.Г. Рассохиним (1990) [42] разработана формула ЭО, основанная

на представлении о последовательных удвоениях эритроидных клеток, начиная с проэритробласта, после дифференциации в него КОЕэ.

Рассмотрим влияние ЭБС на изменение абсолютного содержания ЭО (рис. 11) и их распределение по классам зрелости у экспериментальных животных (табл. 11, рис. 12).

После 1-часового ЭБС абсолютное число ЭО на бедро уменьшено на 10,03% ($p < 0,01$) по сравнению с контролем. Количество ЭО₁, ЭО₂ классов зрелости и ЭОрек, выраженное в процентах, меньше на 31,38% ($p < 0,001$); 14,68%; 56,47% ($p < 0,001$); число ЭО₃ класса зрелости увеличено на 53,09% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. Достоверное снижение в костном мозге количества ЭО 1 класса зрелости после 1-часового ЭБС указывает на формирование из них ЭО 2 и 3 классов зрелости, а также ЭОинв. Количество инволюцирующих ЭО, выраженное в процентах, увеличилось на 16,73% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем.

После 1-часового ЭБС абсолютное количество ЭО₁, ЭО₂ классов зрелости и ЭОрек меньше на 38,27% ($p < 0,001$); 23,24% ($p < 0,001$); 60,84% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. Абсолютное количество ЭО₃ увеличилось на 37,72% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем.

После 6-часового ЭБС абсолютное число ЭО на бедро уменьшено на 17,99% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. Количество ЭО₁, ЭО₂ классов зрелости, выраженное в процентах, меньше на 21,39% ($p < 0,01$); 22,29% соответственно по сравнению с контролем. Количество инволюцирующих ЭО и ЭО 3 класса зрелости, выраженное в процентах, увеличилось на 18,48% ($p < 0,05$) и 70,09% ($p < 0,001$), а ЭОрек уменьшилось на 71,72% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем.

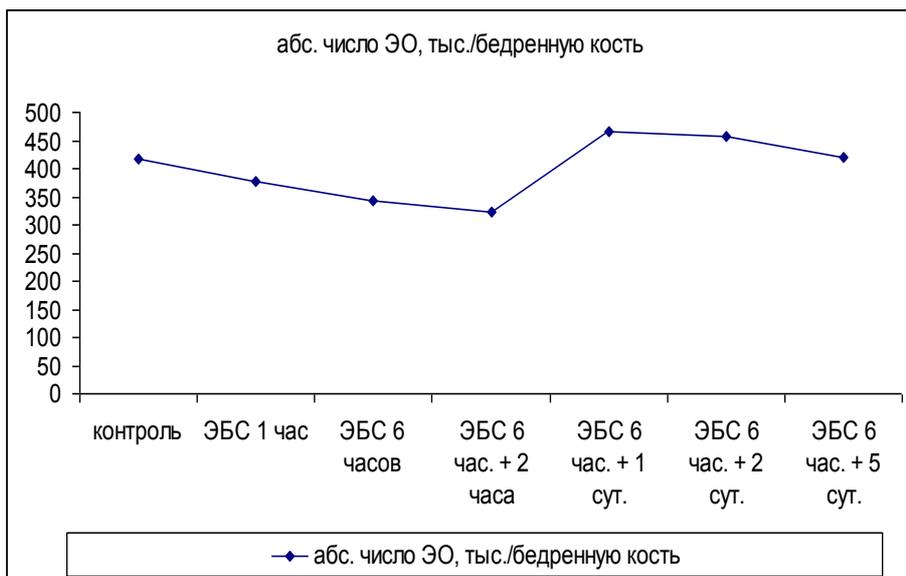


Рис. 11. Абсолютное число ЭО в динамике эмоционально-болевого стресса

После 6-часового ЭБС абсолютное число ЭО на бедро уменьшено на 8,84% ($p < 0,05$) по сравнению с 1-часовым ЭБС. Количество ЭО₁ и ЭО₃, выраженное в процентах, больше на 14,56% ($p < 0,05$) и на 11,11% соответственно по сравнению с 1-часовым ЭБС. Количество ЭО 2 класса зрелости, выраженное в процентах, уменьшилось на 8,92% по сравнению с 1-часовым ЭБС. То есть через 6 часов от начала ЭБС постепенно начинается процесс восстановления числа ЭО 1 класса на фоне снижения количества ЭО 2 класса зрелости, которые переходят в ЭО 3 класса зрелости и ЭО-инв. После 6-часового ЭБС продолжает оставаться низким количество ЭОрек, которые формируются на базе ЭО 3 класса зрелости и ЭОинв. Предпосылкой к дальнейшему увеличению числа ЭОрек является постепенное нарастание количества ЭО 1 класса зрелости в костном мозге животных.

После 6-часового ЭБС абсолютное количество ЭО₁, ЭО₂ классов зрелости и ЭОрек меньше на 35,52% ($p < 0,001$); 36,27%

($p < 0,001$); 76,82% ($p < 0,001$) соответственно по сравнению с контролем. Абсолютное количество ЭОинв достоверно не изменилось, а ЭО 3 класса зрелости увеличилось на 39,50% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем.

После 6-часового ЭБС абсолютное количество ЭО 2 класса зрелости, ЭОрек и ЭОинв уменьшилось на 16,98% ($p < 0,01$); 40,80% ($p < 0,001$) и 7,48% ($p < 0,01$) соответственно по сравнению с 1-часовым ЭБС.

Через 2 часа после 6-часового ЭБС абсолютное число ЭО уменьшено на 23,01% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. Количество ЭО₁, ЭО₂ классов зрелости, ЭОрек, выраженное в процентах, меньше на 17,26% ($p < 0,01$); 24,45%; 66,61% ($p < 0,001$) соответственно по сравнению с контролем. Количество ЭО 3 класса зрелости и ЭОинв, выраженное в процентах, увеличилось на 74,57% ($p < 0,001$) и на 15,89% ($p < 0,01$) по сравнению с контролем.

Через 2 часа после 6-часового ЭБС продолжается процесс восстановления числа ЭО 1 класса, которые переходят в ЭО 2 и 3 классов зрелости, а также в ЭОрек.

Через 2 часа после 6-часового ЭБС абсолютное количество ЭО₁, ЭО₂ классов зрелости, ЭОрек и ЭОинв меньше на 36,29% ($p < 0,001$); 41,83% ($p < 0,001$); 74,29% ($p < 0,001$) и 10,77% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. Абсолютное количество ЭО 3 класса зрелости увеличилось на 34,41% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем.

Таким образом, острый ЭБС приводил к замедлению амплификации эритроидных клеток в «короне» ЭО, уменьшению количества их пролиферирующих классов, что коррелирует с пролиферативной активностью эритроидных клеток, которая также уменьшается после стресса.

На фоне общего уменьшения количества ЭО в гемопоэтической ткани после 1-часового ЭБС снижалось число ЭО 1-го и 2-го

классов зрелости, содержащих в своем составе исключительно пролиферирующие эритроидные элементы, а также абсолютное количество ЭОрек, содержащих в своем составе полихроматофильные и оксифильные нормобласты и ретикулоциты.

В результате 1-часового ЭБС пул ЭОинв и ЭО 3 класса зрелости продолжал увеличиваться, но снижалось количество ЭО 1, 2 классов, которые, созревая, пополняли состав ЭОинв. Это наблюдение подтверждают данные, приведенные Ю.М. Захаровым (1984) [48], указывающие на способность центрального макрофага ЭО аккумулировать эритропоэтин (или усиливать его образование при стимуляции эритропоэза), повышая аффинитет макрофагов ЭО к эритроидным клеткам. С этих позиций становится понятным как продолжение формирования новых ЭО на основе макрофагов ЭОинв, так и отсутствие образования новых ЭО 1-го класса.

Механизм взаимодействия (адгезии) эритроидной клетки-предшественницы с макрофагом не вполне ясен. Допускается образование макрофагами развивающихся ЭО рестриктивов [48], препятствующих контакту с ЭО новых КОЕэ; возможно торможение дифференциации КОЕэ в проэритробласт в «короне» ЭО 1–3-го классов зрелости, которое снимается в ЭОинв [41]. Можно также допустить, что эритропоэтин усиливает аффинитет макрофагов ЭОинв, активируя взаимодействие их рецепторов с клетками-предшественницами эритропоэза, что делает возможным присоединение последних к таким ЭОинв. Этот вариант эритропоэза в ЭО (ЭОинв → ЭОрек → ЭО 3-го класса) значительно увеличивает период участия макрофага ЭО в поддержании формирования эритроидного «плацдарма» в гемопозитической ткани.

В результате действия острого ЭБС наблюдалось угнетение эритроидного ростка кроветворения на фоне снижения числа эритробластических островков, миелокариоцитов, эритробластов и базофильных нормобластов, являющихся плацдармом кроветворения,

увеличения числа полихроматофильных и оксифильных нормобластов. Синхронное снижение числа ЭО 1–2 классов и ЭОрек на фоне увеличения количества ЭО₃ класса и ЭОинв после 1-часового ЭБС свидетельствует об ускоренном созревании эритроидных клеток, активно поступающих в периферическую кровь, а также о нарушении реконструкции эритропоэза. Возможной причиной подобных изменений может являться недостаток энергетических и пластических ресурсов кроветворения в результате острого стресса, быстрое истощение резерва костномозговых эритроидных клеток, поступление которых на периферию частично компенсирует сопровождающую острый стресс гипоксию организма. Наблюдающееся увеличение ретикулоцитов и эритроцитов в периферической крови на фоне незначительного увеличения числа оксифильных нормоцитов по сравнению с полихроматофильными нормоцитами может объясняться ускоренным освобождением их из морфологически зрелых ЭО, это обеспечивает повышенную потребность организма в кислороде в период острого стресса [48, 172].

Механизм, лежащий в основе нарушений межклеточных взаимодействий в ЭО, требует специальных исследований. При этом следует учитывать, что одним из наиболее характерных явлений, соответствующих стрессовому воздействию, является десенситизация, которая проявляется в форме снижения количества β -адренорецепторов и уменьшения чувствительности аденилатциклазной системы мозга и периферических тканей к катехоламинам. Между тем, β -адренорецепторы широко представлены среди клеток эритроидного ряда. Показано также, что адренергические агонисты стимулируют пролиферацию КОЕэ и БОЕэ, опосредуя свой эффект через β -рецепторы. β -адренергические рецепторы присутствуют также на поверхности мембран моноцитов и макрофагов. Возможно, что отмечаемая при стрессе десенситизация

адренергических рецепторов, изменяя свойства мембран эритроидных клеток и центрального макрофага, существенно влияет на ассоциацию клеток в ЭО. Известно, что β -адренергические рецепторы, взаимодействуя с катехоламинами, стимулируют потребление кислорода тканями, а также увеличение окислительно-восстановительных процессов. При хроническом стрессе десенситизация β -адренергических рецепторов приводит к снижению потребления кислорода тканями. В этой ситуации угнетение эритропоэза может реализоваться различными способами: 1) в условиях снижения функциональной активности кислород-транспортных систем происходит изменение в балансе гуморальных факторов эритропоэза; 2) уменьшение потребностей тканей в кислороде снижает эритропоэтические способности центрального макрофага ЭО. Не исключено, что в данной ситуации задействованы также и Т-лимфоциты. Известно, что при иммобилизационном стрессе Т-лимфоциты взаимодействуют с гемопоэтическими островками и тем самым оказывают регулирующее влияние на гемопоэз [151; 152]. Угнетение эритропоэза при остром стрессе, на наш взгляд, является проявлением «цены» адаптации, так как это снижает диапазон приспособительных реакций организма животных. В течение 2–5 суток после ЭБС нивелируются проявления «цены» адаптации системы крови. Система крови более интенсивно реагирует на острое стрессирование, но быстрее восстанавливается. Возможно, более короткое и слабое воздействие приводит к уменьшению длительности взаимодействия гормонов с β -адренорецепторами, что способствует восстановлению β -адреночувствительности тканей. На уровне межклеточных взаимодействий в ЭО это может быть обусловлено повышенной эритропоэтической активностью макрофагов. Известно, что макрофаги ЭО костного мозга наряду с купферовскими клетками печени синтезируют эритропоэтин, продуцируют соединения, стимулирующие пролиферацию БОЕэ и

КОЕэ. Помимо этого макрофаги и моноциты способны синтезировать ИЛ-1, ПГЕ и другие антистрессорные вещества, стимулирующие эритропоэз. Возможно, что стрессорное воздействие нарушает баланс между стимуляторами и ингибиторами эритропоэза в сторону преобладания последних.

Через сутки после 6-часового ЭБС абсолютное число ЭО увеличено на 10,98% ($p < 0,01$) по сравнению с контролем. Количество ЭО₁, ЭО₃ классов зрелости, ЭОрек, выраженное в процентах, увеличено на 18,68% ($p < 0,05$); 21,77% ($p < 0,05$); 23,59% ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с контролем. Количество ЭО 2 класса зрелости и ЭОинв, выраженное в процентах, уменьшилось на 9,15% и на 12,81% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем.

Через сутки после 6-часового ЭБС абсолютное число ЭО увеличено на 35,31% ($p < 0,001$) по сравнению с 6-часовым ЭБС. Количество ЭО₁, ЭО 2 классов и ЭОрек, выраженное в процентах, больше на 50,97% ($p < 0,001$); 16,91%; в 4,4 раза ($p < 0,001$) соответственно по сравнению с 6-часовым ЭБС. Количество ЭО 3 класса зрелости и ЭОинв, выраженное в процентах, уменьшилось на 28,41% ($p < 0,001$); 26,41% ($p < 0,001$) соответственно по сравнению с 6-часовым ЭБС. Таким образом, через сутки после 6-часового ЭБС возрастает количество ЭО 1 класса зрелости и ЭОрек, восстанавливается число ЭО 2 класса, остаётся высоким содержание ЭО 3 класса зрелости и ЭОинв.

Через сутки после 6-часового ЭБС абсолютное количество ЭО₁, ЭО₃ классов зрелости и ЭОрек больше на 31,71% ($p < 0,001$); 35,14% ($p < 0,001$) и 37,17% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем.

Через сутки после 6-часового ЭБС абсолютное количество ЭО_{1,2} классов зрелости и ЭОрек больше в два раза ($p < 0,001$); 58,19% ($p < 0,001$) и в 5,9 раза соответственно по сравнению с 6-часовым ЭБС.

Таким образом, через сутки после 6-часового стресса возрастет количество ЭО_{1,2} и ЭОрек, что свидетельствует об активации эритропоэза в этот период после стресса.

Через 2 суток после 6-часового ЭБС абсолютное число ЭО увеличено на 9,02% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Количество ЭО₁, ЭО₃ классов зрелости, ЭОрек, выраженное в процентах, увеличено на 26,17% ($p < 0,01$); 18,79% ($p < 0,05$); 52,64% ($p < 0,001$) соответственно по сравнению с контролем. Количество ЭО 2 класса зрелости и ЭОинв, выраженное в процентах, уменьшилось на 9,44% и на 22,26% ($p < 0,01$) по сравнению с контролем.

Через 2 суток после 6-часового ЭБС абсолютное число ЭО увеличено на 32,92% ($p < 0,001$) по сравнению с 6-часовым ЭБС. Количество ЭО₁, ЭО₂ и ЭОрек, выраженное в процентах, больше на 60,49% ($p < 0,001$); 16,53%; в 5,4 раза ($p < 0,001$) соответственно по сравнению с 6-часовым ЭБС. Количество ЭО 3 класса зрелости и ЭОинв, выраженное в процентах, уменьшилось на 30,16% ($p < 0,001$); 34,38% ($p < 0,001$) соответственно по сравнению с 6-часовым ЭБС.

Через 2 суток после 6-часового ЭБС абсолютное количество ЭО₁, ЭО₃ классов зрелости и ЭОрек больше на 37,57% ($p < 0,001$); 29,51% ($p < 0,001$) и 66,42% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. Абсолютное количество ЭОинв уменьшилось на 15,26% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем на фоне недостоверного уменьшения ЭО 2 класса зрелости.

Через 2 суток после 6-часового ЭБС абсолютное количество ЭО 1, 2 классов зрелости и ЭОрек больше в 2,3 раза ($p < 0,001$); 54,89% ($p < 0,001$) и в 7,2 раза ($p < 0,001$) соответственно по сравнению с 6-часовым ЭБС. Проявление стимуляции эритропоэза с увеличением относительного и абсолютного количества ЭО 1-го класса и ЭОрек было выявлено на сутки от начала ЭБС. Увеличенное число ЭО пролиферирующих классов (1-го класса и рекон-

струирующихся) сохранялось и на 2 сутки. Нарастание массы островков со зрелыми эритроидными клетками: ЭО 3-го класса и ЭОинв, указывает на эффективность предшествующего повышения уровня ЭО, содержащих юные эритроидные клетки. Повышение уровня ЭО 1 класса свидетельствует о сохранении темпа вовлечения в формирование ЭО новых эритроидных прекурсоров.

Но частично прирост числа островков пролиферирующих классов через 1 и 2 суток после ЭБС всё же обеспечивается процессом реконструкции эритропоэза в ЭОинв. Из этой способности центральных макрофагов ЭОинв формировать новые ЭО следует, что макрофаги, ранее взаимодействовавшие с эритроидной тканью, более чувствительны к какому-либо стимулу (например, эритропоэтическому), чем резидуальные макрофаги костного мозга, фенотипически также способные к созданию эритропоэтического микроокружения. По мнению Ю.М. Захарова, А.Г. Рассохина (1990) [42], есть основания полагать, что поддерживающие эритропоэз свойства субпопуляции макрофагов костного мозга, обладающих избирательно высоким сродством к клеткам эритроидной линии, развиваются по мере их вовлечения в клеточно-клеточный контакт с эритроидными клетками-предшественницами. Возможно, это следствие продолжающейся дифференциации моноцитов-макрофагов после их взаимодействия с КОЕэ и эритроидными клетками, создающей эритропоэтическое микроокружение в костном мозге.

Через 5 суток после 6-часового ЭБС абсолютное число ЭО недостоверно отличалось от контроля. Количество ЭО₁ класса зрелости и ЭОрек, выраженное в процентах, увеличено на 12,05% ($p < 0,05$); 44,21% ($p < 0,001$) соответственно по сравнению с контролем.

Через 5 суток после 6-часового ЭБС абсолютное число ЭО увеличено на 22,37% ($p < 0,001$) по сравнению с 6-часовым ЭБС.

Количество ЭО₁, ЭО₂ классов и ЭОрек, выраженное в процентах, больше на 42,54% (p<0,001); 24,39% (p<0,05) и в 5 раз (p<0,001) соответственно по сравнению с 6-часовым ЭБС. Количество ЭО 3 класса зрелости и инволюцирующих ЭО, выраженное в процентах, уменьшилось на 50,28% (p<0,001); 22,91% (p<0,01) соответственно по сравнению с 6-часовым ЭБС.

Через 5 суток после 6-часового ЭБС абсолютное количество ЭО₁ класса зрелости и ЭОрек больше на 12,48%; 44,74% (p<0,001) по сравнению с контролем. Абсолютное количество ЭОинв и ЭО 3 класса зрелости уменьшилось на 8,34 % (p<0,05); 15,13% (p<0,05) по сравнению с контролем.

Через 5 суток после 6-часового ЭБС абсолютное количество ЭО_{1,2} классов зрелости и ЭОрек больше на 74,45% (p<0,001); 52,23% (p<0,001) и в 6,2 раза (p<0,001) соответственно по сравнению с 6-часовым ЭБС. Абсолютное количество ЭО 3 класса уменьшилось на 39,16% (p<0,001) по сравнению с 6-часовым ЭБС.

Полученные в наших экспериментах данные подчеркивают важность выделения классов зрелости эритробластических островков, т.к. позволяет анализировать вовлечение эритроидных прекурсоров в дифференциацию, состояние процессов амплификации эритробластов, соотношение процессов пролиферации и созревания эритроидной ткани животных, подвергнутых стрессу.

Характер количественных и качественных изменений ЭО костного мозга при ингибиции эритропоэза при полицитемии был изучен в лаборатории Ю.М. Захарова [48]. В первые трое суток полицитемии наблюдались торможение интенсивности вовлечения КОЕэ в дифференциацию, это происходило за счет образования ЭО de novo (уменьшения числа ЭО 1 класса зрелости), и за счёт замедления повторного вовлечения в реконструкцию эритропоэза макрофагов инволюцирующих островков. С 5 по 10-е сутки наблюдений угнетение эритропоэза сохранялось и характеризова-

лось уменьшением абсолютного количества ЭО в костном мозге крыс в 4,5–6 раз, авторы объяснили этот факт продолжающимся глубоким угнетением формирования ЭО как *de novo*, так и на основе реконструкции эритропоэза. Об этом свидетельствовали также крайне низкое количество ЭО 1-го класса зрелости и ЭОрек и снижение в 5 раз показателя общего числа КОЕэ, вступивших в дифференциацию, а также низкие значения показателя повторного вовлечения макрофагов в эритропоэз. Торможение созревания эритроидных клеток у полицитемичных животных можно объяснить появлением в их крови ингибиторов эритропоэза.

Анализ митотической активности эритроидных клеток в «короне» ЭО показал, что уже с первого дня эксперимента произошло резкое угнетение процесса их удвоения. При этом фигуры митозов продолжали встречаться лишь в реконструирующихся островках, но число их было ниже в несколько раз в сравнении с контролем. В результате произошло уменьшение числа ядродержащих эритроидных клеток в «короне» ЭО 1 и 2 классов зрелости уже на первые сутки наблюдений, а начиная с 3 дня и в ЭО всех классов зрелости, за исключением ЭОрек. Уменьшение амплификации эритроидных клеток в ЭО 3 класса зрелости, а также в ЭОинв и ЭОрек привело к снижению числа ретикулоцитов в «короне» этих островков. То есть ингибция эритропоэза при посттрансфузионной полицитемии сопровождается угнетением пролиферативной активности эритроидных клеток, продукции их дочерних клеток и как следствие уменьшением продукции в ЭО ретикулоцитов. Существенно, что регуляция эритропоэза осуществляется на основе «баланса» действующих на эритроидные клетки- предшественницы и эритроидные клетки активаторов и ингибиторов эритропоэза.

По мнению Ю.М. Захарова (2002) [48] схема эритропоэза в ЭО при его ингибции имеет ряд определенных отличий от физиологического и компенсационного эритропоэза:

1) снижение вовлечения КОЕэ в контакт с резидуальными макрофагами и с макрофагами ЭОинв, т.е. уменьшение темпа образования ЭО₁ и ЭОрек;

2) замедление прохождения волны амплификации от ЭО₁ к ЭО₃ со снижением митотической активности «короны» этих классов ЭО;

3) замедление созревания клеток в «короне» ЭО₃ и ЭОинв, которое подтверждено уменьшением числа ретикулоцитов в «короне» ЭО₃, ЭОинв и ЭОрек, а также снижением поступления ретикулоцитов из костного мозга в кровь;

4) фрагментация «короны» островков;

5) понижение эритропоэтической функции ЦМЭО, уменьшение эритропоэтических свойств супернатантов культур центральных макрофагов ЭО;

6) нарастание контактов «короны» ЭО с эозинофильными лейкоцитами.

Таблица 11

Содержание и классы зрелости эритробластических островков костного мозга у экспериментальных животных, подвергшихся действию эмоционально-болевого стресса

Сроки стресса / показатели	%				
	I	II	III	Рек.	Инв.
Контроль	9,21±0,44	27,32±3,01	13,41±0,74	11,74±0,88	38,32±1,36
ЭБС 1 час	6,32±0,27 [#]	23,31±1,55 ["]	20,53±0,94 [#]	5,11±0,48 [#]	44,73±1,76 [*]
ЭБС 6 часов	7,24±0,19 ["]	21,23±1,48 ["]	22,81±1,00 [#]	3,32±0,13 [#]	45,40±2,22 [*]

Окончание таблицы 11

ЭБС 6 + 2 часа	7,62±0,14"	20,64±1,38"	23,41±0,96 [#]	3,92±0,19 [#]	44,41±1,21"
ЭБС 6 + 1 сут.	10,93±0,36*	24,82±1,52*	16,33±0,80*	14,51±0,48*	33,41±1,77*
ЭБС 6 + 2 сут.	11,62±0,36*	24,74±1,49"	15,93±0,98*	17,92±0,46 [#]	29,79±1,49"
ЭБС 6 + 5 сут.	10,32±0,39*	26,41±1,71	11,34±0,80*	16,93±0,54 [#]	35,00 ±1,69

Примечание: достоверность отличий от контроля: * – $p < 0,05$; " – $p < 0,01$; [#] – $p < 0,001$, рассчитанных с помощью теста Манна–Уитни.

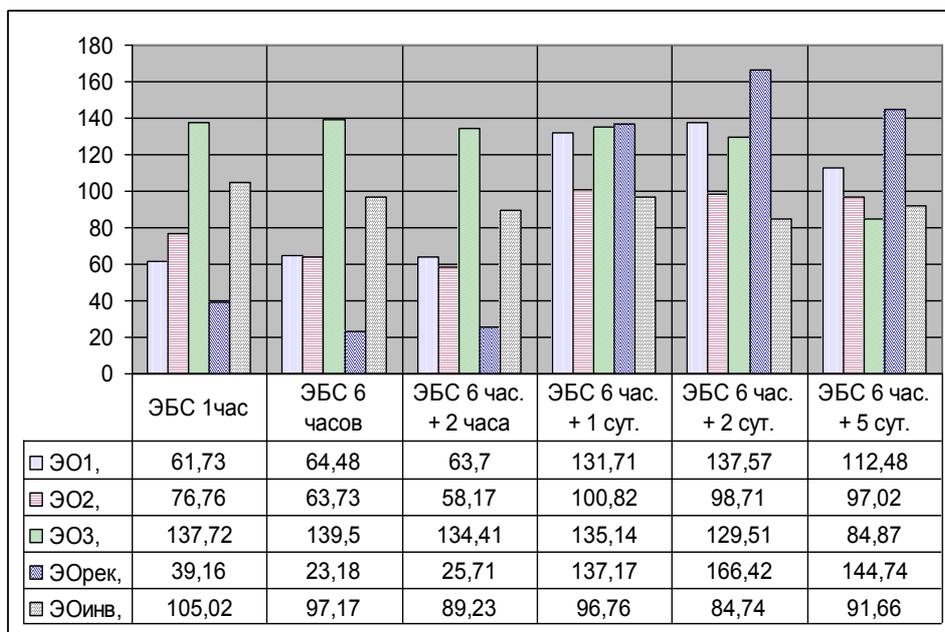


Рис. 12. Абсолютное количество эритробластических островков (в % от контроля) костного мозга по классам зрелости у экспериментальных животных в динамике эмоционально-болевого стресса

3.3. Расчётные функциональные показатели эритропоэза в эритробластических островках костного мозга у экспериментальных животных, подвергнутых действию эмоционально-болевого стресса

Для количественной оценки дифференциации эритроидных прекурсоров в эритроидный ряд, повторной эксплуатации макрофагов инволюцирующих островков, обуславливающей их вовлечение в организацию новой волны эритропоэза в таких островках, Ю.М. Захаровым, Л.В. Ворговой (1989, 1990) [25] введены показатели, характеризующие в единице объёма (в одной бедренной кости у крыс) следующие параметры: 1) общее количество эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференциацию в ЭО; 2) показатель интенсивности вовлечения эритроидных прекурсоров в дифференциацию в ЭО (ПИЭПД); 3) показатель повторного вовлечения макрофагов в эритропоэз (ППВМЭ); 4) Показатель созревания ЭО (ПСЭО). Применение данных расчётных показателей значительно расширило представление о направленности и выраженности изменений состояния эритропоэза в ЭО в организме и при различных экспериментальных воздействиях.

После 1-часового ЭБС уменьшение количества ЭО₁ класса зрелости и ЭОрек свидетельствует об ослаблении дополнительно вовлечения эритроидных прекурсоров в дифференцировку в ЭО, являющемся одной из причин повышения стабильности ЭО (ПИЭПД в ЭО уменьшен на 50,92% ($p < 0,01$) по сравнению с контролем). ПСЭО в ЭО после 1-часового ЭБС на 75,71% ($p < 0,001$) превышает контроль (табл. 12).

После 1-часового ЭБС произошло уменьшение дополнительного вовлечения макрофагов в эритропоэз, о чем свидетельствует уменьшение индекса ЭОрек /ЭОинв на 64,52% ($p < 0,001$)

по сравнению с контролем, т.е. появляются свободные резидентные макрофаги костного мозга. Если учесть, что реконструкция эритропоэза в ЭО реализуется на основе взаимодействия эритроидных прекурсоров с функционально активным макрофагом ЭО, то можно утверждать, что последние при одночасовом стрессе не активно участвовали в формировании «новой» волны эритропоэза в их «короне». Можно допустить изменение комплементарности клеток в ЭО, содержащих в своем составе зрелые эритроидные элементы, на фоне метаболической и структурной перестройки компонентов ЭО, вызванных острым стрессом.

После 1-часового ЭБС общее число эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку, уменьшилось на 15,37% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. Эти данные свидетельствуют о начале замедления амплификации эритробластов в «короне» ЭО в результате действия острого стресса и начинающемся смещении баланса процессов пролиферации и созревания в пользу последнего.

После 6-часового ЭБС ПИЭПД в ЭО уменьшен на 58,66% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем и на 15,78% ниже данного показателя после 1-часового ЭБС. ПСЭО в ЭО после 6-часового ЭБС в два раза ($p < 0,001$) превышает контроль и на 14,36% выше данного показателя после 1-часового ЭБС.

После 6-часового ЭБС наблюдалось уменьшение повторного вовлечения макрофагов в эритропоэз, о чем свидетельствует снижение ППВМЭ на 36,36% ($p < 0,05$) по сравнению с 1-часовым ЭБС и на 77,42% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. После 6-часового ЭБС общее число эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку, уменьшилось на 24,17% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем и на 10,39% ($p < 0,001$) по сравнению с 1-часовым ЭБС. Таким образом, через 6 часов от начала ЭБС

продолжается процесс угнетения эритропоэза на уровне эритроидных прекурсоров. Подобная тенденция сохраняется и через два часа после 6-часового ЭБС.

Через 2 часа после 6-часового ЭБС ПИЭПД в ЭО уменьшен на 57,59% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. ПСЭО в ЭО через два часа после 6-часового ЭБС на 97,19% ($p < 0,001$) превышает контроль и достоверно ниже данного показателя после 6-часового ЭБС.

Через 2 часа после 6-часового ЭБС наблюдалось увеличение ППВМЭ на 28,57% ($p < 0,05$) по сравнению с 6-часовым ЭБС и уменьшение данного показателя на 70,97% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. Через два часа после 6-часового ЭБС общее число эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку, на 28,39% ($p < 0,001$) ниже контроля и достоверно ниже по сравнению с 6-часовым ЭБС.

Через сутки после 6-часового ЭБС ПИЭПД в ЭО увеличен на 34,77% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем и в 3,3 раза ($p < 0,001$) превышает данный показатель после 6-часового ЭБС. ПСЭО в ЭО через сутки после 6-часового ЭБС на 7,48% ($p < 0,05$) ниже контроля и на 53,95% ($p < 0,01$) ниже данного показателя после 6-часового ЭБС.

Как известно, показатель повторного вовлечения макрофагов в эритропоэз указывает на интенсивное рекрутирование костномозговых макрофагов в эритропоэз. Через сутки после 6-часового ЭБС показатель повторного вовлечения макрофагов в эритропоэз повышается, о чем свидетельствует возрастание индекса ЭОрек /ЭОинв в шесть раз ($p < 0,001$) по сравнению с 6-часовым ЭБС и на 38,71% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. Через сутки после 6-часового ЭБС общее число эритроидных прекурсоров, вступивших

в дифференцировку, на 13,73% ($p < 0,01$) превышает контроль и на 49,97% ($p < 0,001$) данный показатель после 6-часового ЭБС.

Через 2 суток после 6-часового ЭБС ПИЭПД в ЭО увеличен на 53,74% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем и в 3,7 раза ($p < 0,001$) превышает данный показатель после 6-часового ЭБС. ПСЭО в ЭО через 2 суток после 6-часового ЭБС на 21,49% ($p < 0,01$) ниже контроля и на 60,93% ($p < 0,01$) ниже данного показателя после 6-часового ЭБС.

Через 2 суток после 6-часового ЭБС ППВМЭ продолжал оставаться повышенным, о чем свидетельствует возрастание индекса ЭОрек /ЭОинв в 8,6 раза ($p < 0,001$) по сравнению с 6-часовым ЭБС и на 93,55% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. Через 2 суток после 6-часового ЭБС общее число эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку, на 15,05% ($p < 0,001$) превышало контроль и на 51,71% ($p < 0,001$) данный показатель после 6-часового ЭБС.

Через 5 суток после 6-часового ЭБС ПИЭПД в ЭО увеличен на 30,56% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем и в 3,2 раза ($p < 0,001$) превышает данный показатель после 6-часового ЭБС. ПСЭО в ЭО через 5 суток после 6-часового ЭБС на 19,63% ($p < 0,01$) ниже контроля и на 60,00% ($p < 0,001$) ниже данного показателя после 6-часового ЭБС.

Через 5 суток после 6-часового ЭБС ППВМЭ продолжал оставаться повышенным, о чем свидетельствует возрастание индекса ЭОрек/ЭОинв в 6,9 раза ($p < 0,001$) по сравнению с 6-часовым ЭБС и на 54,84% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. Через 5 суток после 6-часового ЭБС общее число эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку, недостоверно превышало контроль и на 38,49% ($p < 0,001$) данный показатель после 6-часового ЭБС.

На фоне увеличения количества ЭОрек в течение 1–5 суток после стресса идет процесс реконструкции эритропоэза, а показатели вовлечения эритроидных прекурсоров в дифференциацию и повторного вовлечения макрофагов в эритропоэз достигают максимальных значений по сравнению с таковыми в период острого стресса. Возможно, увеличение ЭОинв во время острого ЭБС создаёт предпосылку для увеличения ЭОрек через 1–5 суток после него.

Количество эритроидных прекурсоров в ЭО₁ и ЭОрек в течение 2 часов после 6-часового ЭБС достоверно падает, очевидно, за счёт увеличения показателя созревания всех типов островков в костном мозге животных. Иными словами, эритроидные прекурсоры дифференцируются в более зрелые формы в виде эритробластов, нормобластов и ретикулоцитов. На первые-вторые сутки после стресса происходит активация эритропоэза, которая сопровождается ростом общего количества ЭО₁, ЭО₂ и ЭОрек и повышенными темпами пролиферативных процессов в костном мозге. Это может происходить за счёт хоуминга в островки менее дифференцированных гемопоэтических прекурсоров, которые присутствуют в костном мозге [208; 264]. Одновременно наблюдается повторное вовлечение макрофагов в эритропоэз за счёт реконструкции имеющихся островков и образования ЭО₁ и ЭО₃ типов. К 5 суткам опыта количество ЭО₁, ЭО₂, ЭОинв постепенно нормализуется, количество ЭО₃ и показатель созревания снижаются на фоне увеличенного содержания в костном мозге эритроидных прекурсоров и количества макрофагов, повторно вовлечённых в эритропоэз.

Показатель повторного вовлечения макрофагов в эритропоэз в течение 1, 2, 5 суток после ЭБС повышается, что свидетельствует об активации макрофагов в восстановительный период после острого стресса, которая может быть обусловлена миграцией в ко-

стный мозг лимфоцитов, сопровождающейся появлением макрофаг-активирующей и колониестимулирующей активностей. Вследствие этого усиливается функция макрофагов и резидентов – стромальных механоцитов костного мозга – и наблюдается интенсивное рекрутирование костномозговых макрофагов в эритропоэз.

Показатель длительности созревания эритробластов в эритробластических «островках» через 1, 2 суток после ЭБС снизился по сравнению с контролем, что, очевидно, связано с ускоренным высвобождением созревающих клеток из «короны» островков, на что указывает рост числа макрофагов эритробластических островков, способных повторно вступать в эритропоэз. Последнее, как указано выше, подтверждается увеличением «показателя повторного вовлечения макрофагов эритробластических островков в эритропоэз» через 1, 2, 5 суток после ЭБС.

Таким образом, в течение 5 суток после острого эмоционально-болевого стресса произошли количественные и качественные изменения в эритробластических островках костного мозга крыс, отражающие участие этих морфофункциональных единиц эритропоэза в восстановлении эритрона. Это участие проявляется увеличением абсолютного количества эритробластических островков в бедренной кости, количества эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференциацию в эритробластические островки, макрофагов, впервые и повторно поддерживающих эритропоэз в ЭО, синхронным увеличением ЭО 1, 2 классов, снижением содержания созревающих классов инволюцирующих ЭО и ЭО 3 класса зрелости, то есть смещением баланса между пролиферативными процессами и созреванием в эритробластических островках в сторону пролиферации эритроидных клеток.

В результате действия 1-часового и 6-часового ЭБС на фоне активации гипофиз-адреналовой системы, увеличении продукции

глюкокортикоидов надпочечниками, нейропептидов в головном мозге, а также эритропоэтина, гранулоцитарных, макрофагальных колониестимулирующих факторов, пирогенов наблюдалось угнетение эритроидного ростка кроветворения на фоне снижения числа эритробластических островков костного мозга. Синхронное снижение числа ЭО_{1,2} классов, ЭОрек на фоне увеличения количества ЭО₃ класса и ЭОинв свидетельствует об ускоренном созревании эритроидных клеток, активно поступающих в периферическую кровь, а также о нарушении реконструкции эритропоэза [161; 168; 169].

Изменение эритропоэза при остром ЭБС является проявлением «цены» адаптации, так как это снижает диапазон приспособительных реакций организма животных. В течение 2–5 суток после стресса в определённой степени устраняются проявления «цены» адаптации системы крови [69].

После 1- и 6-часового ЭБС происходит рост числа ЭОинв за счёт падения числа всех остальных типов островков и переход клеток, способных к делению, в более дифференцированные формы. В это время наблюдается ретикулоцитоз и эритроцитоз за счёт выброса эритроидных элементов из костного мозга в периферическую кровь. Затем, начиная с первых суток, происходит активация эритропоэза. Число эритроидных прекурсоров, ЭО₁, ЭО₂, ЭОрек, количество макрофагов, повторно вовлечённых в образование новых островков, постепенно растёт.

Таким образом, выявленные закономерности, очевидно, являются проявлением защитно-приспособительных реакций эритропоэза на действие экстремальных факторов, которые инициируют повышение устойчивости организма к предотвращению развития гипоксии и активации тканевого метаболизма. Недостаток энергетических и пластических ресурсов кроветворения в результате

острого стресса, быстрое истощение резерва костномозговых эритроидных клеток, поступающих на периферию, частично компенсирует сопровождающую острый стресс гипоксию организма.

Таблица 12

Расчётные функциональные показатели эритропоэза в эритробластических островках костного мозга у экспериментальных животных, подвергшихся действию эмоционально-болевого стресса

Показатели / сроки стресса	Общее число эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку, $\times 10^3$ /бедро	Показатель интенсивности вовлечения эритроидных прекурсоров в дифференцировку, ПИЭПД $\times 10^3$ /бедро	Показатель длительности созревания ЭО, ПСЭО, отн. ед.	Показатель повторного вовлечения макрофагов в эритропоэз, ППВМЭ, отн. ед.
Контроль	467,64±7,45	87,67±2,94	1,07±0,05	0,31±0,02
ЭБС 1 час	395,76±6,88 [#]	43,03±3,11 [#]	1,88±0,03 [#]	0,11±0,02 [#]
ЭБС 6 часов	354,63±5,90 [#]	36,24±1,29 [#]	2,15±0,15 [#]	0,07±0,01 [#]
ЭБС 6 + 2 часа	334,86±9,26 [#]	37,18±1,98 [#]	2,11±0,13 [#]	0,09±0,01 [#]
ЭБС 6 + 1 сут.	531,84±7,41 [#]	118,15±3,68 [#]	0,99±0,02*	0,43±0,02 [#]
ЭБС 6 + 2 сут.	538,00±16,18 [#]	134,78±2,44 [#]	0,84±0,02**	0,60±0,02 [#]
ЭБС 6 + 5 сут.	491,14±4,49*	114,46±3,95 [#]	0,86±0,02**	0,48±0,01 [#]

Примечание: достоверность отличий от контроля: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; [#] – $p < 0,001$, рассчитанных с помощью теста Манна–Уитни.

Весьма информативной оказалась математическая обработка показателей абсолютного количества ядродержащих эритроидных клеток и островков в костном мозге в динамике эксперимента. Проанализировав среднее число ядродержащих эритроидных клеток, приходящихся на один ЭО (частное от деления абсолютного количества ядродержащих клеток на число ЭО) и сопоставив эту величину с теоретически рассчитанной, исходя из представления о продукции в ЭО из 1 КОЕэ в конечном итоге 64 ретикулоцитов/эритроцитов, можно количественно оценить долю эритроидных клеток, находящихся вне ЭО. Опираясь на предположение Ю.М. Захарова и А.Г. Рассохина о том, что эритробласты и нормобласты вне ЭО, без связи с центральными макрофагами, развиваются малоэффективно и характеризуют тем самым объем «внеостровкового» и, возможно, неэффективного эритропоэза, мы оценили этот показатель (рис. 13).

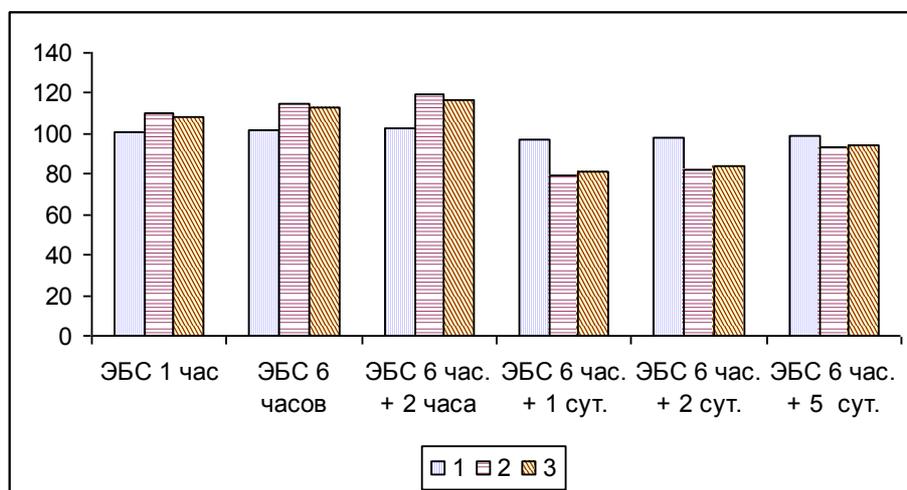


Рис. 13. Влияние эмоционально-болевого стресса на расчётные показатели: среднее количество эритроидных ядродержащих клеток на 1 ЭО (1), среднее количество ядродержащих эритроидных клеток вне островка (2), объём внеостровкового эритропоэза (3) (в % от контроля)

Влияние ЭБС на расчётные показатели эритропоэза представлено на рис. 13, из представленных данных следует, что после 6-часового ЭБС среднее количество ядродержащих клеток на 1 ЭО недостоверно увеличилось по сравнению с 1-часовым ЭБС.

После 1-часового ЭБС среднее количество ядродержащих эритроидных клеток вне островка увеличилось на 10,01% ($p < 0,05$); после 6-часового ЭБС – на 15,13% ($p < 0,05$); через два часа после 6-часового ЭБС увеличилось на 19,69% ($p < 0,01$); через сутки суток после 6-часового ЭБС этот показатель уменьшился на 20,58% ($p < 0,001$); через 2 суток после 6-часового ЭБС – на 17,8% ($p < 0,01$); через 5 суток после 6-часового ЭБС – на 6,67% по сравнению с контролем.

После 6-часового ЭБС среднее количество ядродержащих эритроидных клеток вне островка недостоверно увеличилось по сравнению с 1-часовым ЭБС.

Через сутки после 6-часового ЭБС среднее количество ядродержащих эритроидных клеток вне островка уменьшилось на 31,01% ($p < 0,001$); через 2 суток после 6-часового ЭБС этот показатель уменьшился на 28,59% ($p < 0,001$), а через 5 суток после 6-часового ЭБС – на 18,94% ($p < 0,05$) по сравнению с 6-часовым ЭБС.

После 1-часового ЭБС объём внеостровкового эритропоэза увеличился на 8,60%; после 6-часового ЭБС – на 12,99%; через два часа после 6-часового ЭБС – на 16,80% ($p < 0,05$); через сутки после 6-часового ЭБС этот показатель уменьшился на 18,51% ($p < 0,05$); через 2 суток после 6-часового ЭБС этот показатель уменьшился на 15,99% по сравнению с контролем.

После 6-часового ЭБС объём внеостровкового эритропоэза недостоверно увеличился по сравнению с 1-часовым ЭБС. Уменьшение числа ЭО в костном мозге в результате действия ЭБС сопровождалось нарастанием количество клеток вне островков,

достигавшим максимума к двум часам после действия 6-часового ЭБС. Расчётный объём внеостровкового эритропоэза в этот период составил 14,39%, свидетельствуя о массивном распаде ЭО и возможном нарушении дифференцировки эритроидных клеток.

Через сутки после 6-часового ЭБС объём внеостровкового эритропоэза уменьшился на 27,87% ($p < 0,01$); через 2 суток после 5-часового ЭБС этот показатель уменьшился на 25,65% ($p < 0,01$), а через 5 суток – на 16,74% ($p < 0,05$) по сравнению с 6-часовым ЭБС.

Таким образом, эмоционально-болевым стресс способствует увеличению объёма внеостровкового эритропоэза, среднего количества ядросодержащих эритроидных клеток вне островка и на один ЭО. По нашему мнению, причиной этого может быть нарушение комплементарности взаимодействия эритроидных клеток и макрофагов в ЭО, снижение специфической эритропоэтической функции макрофагов на фоне активации неспецифических функций, в частности продукции цитокинов, индуцированной действием острого стресса. Следствием подобного перераспределения характера эритропоэза может являться диссоциация эритробластических островков, вызванная действием эмоционально-болевого стресса, и нарушение эритропоэза в костном мозге (дозревание эритроидных клеток происходит вне ЭО; количество ЭО уменьшается, а среднее количество ядросодержащих клеток на 1 ЭО, наоборот, увеличивается). Стимуляция внеостровкового эритропоэза может быть компенсаторной в ответ на нарастающую гипоксию клеток и тканей, сопровождающую ЭБС, приводящую к мобилизации костномозговых ретикулоцитов и эритроцитов в периферическую кровь.

Расчет среднего содержания эритроидных клеток в ЭО с гипотетичным определением количества эритроидных ядросодержащих клеток, лежащих вне ЭО и свидетельствующих о нарушении

комплементарности клеток в островках, и в определенной мере, об объеме неэффективного эритропоэза в костном мозге, показал, что эмоционально-болевого стресс способствовал нарастанию массы эритроидных клеток, находящихся вне островков, и повышению объема внеостровкового эритропоэза.

Расчетные функциональные показатели эритропоэза в ЭО костного мозга подтверждают правильность ранее сформулированных выводов о состоянии эритропоэза в ЭО при влиянии ЭБС, сделанные на основании подсчета количества ЭО, определения их формулы и цитологического состава. Закономерным при явлениях ингибции эритропоэза было двукратное увеличение длительности созревания островков при 6 - часовом ЭБС и увеличение в 1,8 раза при одночасовом ЭБС.

3.4. Влияние эмоционально-болевого стресса на митотическую активность эритроидных клеток эритробластических островков костного мозга

Отличительной особенностью нашего подхода явилась попытка изучить роль и место эритробластических островков костного мозга в эритропоэзе при влиянии эмоционально-болевого стресса с позиций классических представлений о кинетике гемопоэтических клеточных линий. С этой целью в ЭО разных классов зрелости у животных, перенесших ЭБС, производили подсчет числа митозов эритроидных клеток, количества ядросодержащих клеток и числа ретикулоцитов.

Учитывая угнетающее действие ЭБС на эритропоэз в эритробластических островках костного мозга, нам представляется интересным изучение митотической активности эритроидных клеток ЭО костного мозга, результаты которого представлены в таблице

13. Из данных, представленных в таблице 13, следует, что после 1-часового ЭБС число митозов эритроидных клеток в ЭО 1 класса уменьшилось на 65,69% ($p < 0,001$); после 6-часового ЭБС – на 61,27% ($p < 0,001$); через 2 часа после 6-часового ЭБС – на 58,82% ($p < 0,001$); через сутки после 6-часового ЭБС данный показатель уменьшился на 53,43% ($p < 0,001$); через 2 суток – на 24,51% ($p < 0,01$) по сравнению с контролем. После 6-часового ЭБС число митозов эритроидных клеток в ЭО 1 класса увеличилось на 12,86% ($p < 0,05$) по сравнению с 1-часовым ЭБС. Через 2 часа после 6-часового ЭБС данный показатель увеличился на 6,33%; через сутки после 6-часового ЭБС число митозов эритроидных клеток в ЭО 1 класса увеличилось на 20,25% ($p < 0,05$); через 2 суток после 6-часового ЭБС – в 1,9 раза ($p < 0,001$); через 5 суток – в 2,4 раза ($p < 0,001$) по сравнению с 6-часовым ЭБС.

После 1-часового ЭБС число митозов эритроидных клеток в ЭО 2 класса уменьшилось на 40,74% ($p < 0,05$); после 6-часового ЭБС – на 55,56% ($p < 0,01$); через 2 часа после 6-часового ЭБС – на 61,11% ($p < 0,01$); через сутки после 6-часового ЭБС данный показатель уменьшился на 48,15% ($p < 0,01$); через 2 суток – на 33,33% ($p < 0,05$); через 5 суток – на 11,11% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. После 6-часового ЭБС число митозов эритроидных клеток в ЭО 2 класса уменьшилось на 25,00% ($p < 0,05$) по сравнению с 1-часовым ЭБС. Через 2 часа после 6-часового ЭБС данный показатель уменьшился на 12,50%; через сутки после 6-часового ЭБС число митозов эритроидных клеток в ЭО 2 класса увеличилось на 16,67% ($p < 0,05$); через 2 суток после 6-часового ЭБС – на 50,00% ($p < 0,05$); через 5 суток – в два раза ($p < 0,001$) по сравнению с 6-часовым ЭБС.

После 1-часового ЭБС число митозов эритроидных клеток в ЭО 3 класса зрелости увеличилось на 13,95% ($p < 0,05$); после

6-часового ЭБС – на 23,26% ($p < 0,05$); через 2 часа после 6-часового ЭБС – на 32,56% ($p < 0,05$); через 2 и 5 суток после 6 – часового ЭБС этот показатель уменьшился на 23,26% ($p < 0,05$) и 13,95% соответственно по сравнению с контролем. После 6-часового ЭБС число митозов эритроидных клеток в ЭО 3 класса увеличилось на 8,16% ($p < 0,05$) по сравнению с 1-часовым ЭБС. Через 2 часа после 6-часового ЭБС этот показатель увеличился на 7,55% по сравнению с 6-часовым стрессом. Через 1 и 2 суток после 6-часового ЭБС число митозов эритроидных клеток в ЭО 3 класса уменьшилось на 16,98% ($p < 0,05$) и 37,74% ($p < 0,01$) соответственно по сравнению с 6-часовым ЭБС. Через 5 суток после стресса данный показатель был меньше на 30,19% ($p < 0,05$) по сравнению с 6-часовым ЭБС.

После 1-часового ЭБС число митозов эритроидных клеток в ЭОрек уменьшилось на 21,65% ($p < 0,01$); после 6-часового ЭБС – на 31,44% ($p < 0,001$); через 2 часа после 6-часового стресса – на 26,80% ($p < 0,01$); через сутки после 6-часового ЭБС данный показатель увеличился на 26,29% ($p < 0,05$); через 2 суток – на 57,73% ($p < 0,001$); через 5 суток – на 22,16% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. После 6-часового ЭБС число митозов эритроидных клеток в ЭОрек уменьшилось на 12,50% ($p < 0,05$) по сравнению с 1-часовым ЭБС. Через 2 часа после 6-часового ЭБС данный показатель увеличился на 6,77%; через сутки после 6-часового ЭБС число митозов эритроидных клеток в ЭОрек увеличилось 84,21% ($p < 0,001$); через 2 суток после 6-часового ЭБС – в 2,3 раза ($p < 0,001$); через 5 суток – в 1,8 раза ($p < 0,001$) по сравнению с 6-часовым ЭБС.

Таким образом, представленные результаты свидетельствуют об уменьшении митотической активности эритроидных клеток в островках пролиферирующих классов, вызванной действием эмо-

ционально-болевого стресса, что также является доказательством угнетения эритропоэза при воздействии стресса.

Возрастание митотической активности в ЭО 1, 2 классов зрелости и ЭОрек по сравнению с 6-часовым стрессом через 1–2 суток после ЭБС закономерно предшествовало увеличению количества ядросодержащих эритроидных клеток в островках и числа ретикулоцитов в ЭО в этот период, что указывает на эффективную стимуляцию эритропоэза в ЭО.

Таблица 13

Митотическая активность эритроидных клеток эритробластических островков костного мозга животных, перенесших эмоционально-болевой стресс. Митотический индекс эритроидных клеток (%) или число митозов эритроидных клеток на 100

Классы зрелости ЭО / сроки стресса	ЭО ₁	ЭО ₂	ЭО ₃	ЭОрек
Контроль	2,04±0,05	0,54±0,071	0,43±0,04	1,94±0,10
ЭБС 1 час	0,70±0,05 [#]	0,32±0,04*	0,49±0,04*	1,52±0,09**
ЭБС 6 часов	0,79±0,05 [#]	0,24±0,04**	0,53±0,05*	1,33±0,07 [#]
ЭБС 6 + 2 часа вос.	0,84±0,08 [#]	0,21±0,04**	0,57±0,05*	1,42±0,05 [#]
ЭБС 6 + 1 сут.	0,95±0,08 [#]	0,28±0,05**	0,44±0,04	2,45±0,06 [#]
ЭБС 6 + 2 сут.	1,54±0,12**	0,36±0,04*	0,33±0,04*	3,06±0,13 [#]
ЭБС 6 + 5 сут.	1,93±0,11	0,48±0,04	0,37±0,04	2,37±0,05**

Примечание: достоверность отличий от контроля: * – p<0,05; ** – p<0,01; [#] – p<0,001, рассчитанных с помощью теста Манна–Уитни.

3.5. Число ядросодержащих эритроидных клеток и число ретикулоцитов в эритробластических островках костного мозга крыс при эмоционально-болевым стрессе и в восстановительных периодах как показатель состояния эритропоэза в островках

С целью оценки состояния эритропоэза в эритробластических островках костного мозга при эмоционально-болевым стрессе мы изучили число ядросодержащих эритроидных клеток в ЭО, результаты представлены в таблице 14. Из данных таблицы 14 следует, что после 6-часового ЭБС число ядросодержащих эритроидных клеток в ЭО 1 класса зрелости недостоверно увеличилось по сравнению с 1-часовым ЭБС. Через сутки после 6-часового ЭБС – на 10,99% ($p<0,05$); через 2 суток после 6-часового ЭБС – на 14,14% ($p<0,05$) по сравнению с 6-часовым ЭБС.

После 6-часового ЭБС число ядросодержащих эритроидных клеток в ЭО 2 класса зрелости недостоверно уменьшилось по сравнению с 1-часовым ЭБС. Через 2 суток после 6-часового ЭБС число ядросодержащих эритроидных клеток в ЭО 2 класса зрелости увеличилось на 18,65% ($p<0,05$); через 5 суток – на 22,53% ($p<0,05$) по сравнению с 6-часовым ЭБС.

Через сутки после 6-часового ЭБС число ядросодержащих эритроидных клеток в ЭО 3 класса зрелости уменьшилось на 12,57% ($p<0,05$); через 2 суток после 6-часового ЭБС – на 15,56% ($p<0,05$); через 5 суток – на 13,29% ($p<0,05$) по сравнению с 6-часовым ЭБС.

После 1-часового ЭБС число ядросодержащих эритроидных клеток в ЭОрек уменьшилось на 50,00% ($p<0,001$); после 6-часового ЭБС – на 54,06% ($p<0,001$); через два часа после 6-часового ЭБС – на 48,56% ($p<0,001$); через сутки после 6-часового ЭБС данный показатель увеличился на 13,48% ($p<0,05$); через 2 суток после 6-часового ЭБС – на 32,85% ($p<0,05$);

через 5 суток – на 10,34% по сравнению с контролем. После 6-часового ЭБС число ядродержащих эритроидных клеток в ЭОрек уменьшилось на 8,12% по сравнению с 1-часовым ЭБС. Через два часа после 6-часового ЭБС данный показатель превышал на 11,97% ($p<0,05$) аналогичный показатель, соответствующий шестичасовому ЭБС. Через сутки после 6-часового ЭБС число ядродержащих эритроидных клеток в ЭОрек увеличилось в 2,5 раза ($p<0,001$); через 2 суток после 6-часового ЭБС – в 2,9 раза ($p<0,001$); через 5 суток – в 2,4 раза ($p<0,001$) по сравнению с 6-часовым ЭБС.

Таким образом, под влиянием ЭБС число ядродержащих эритроидных клеток в островках пролиферирующих классов уменьшалось, что свидетельствует об угнетении эритропоэза под влиянием ЭБС. На эффективный характер стимуляции процессов деления указывало увеличение количества ядродержащих клеток в ЭО разных классов зрелости через 1–2 суток после ЭБС.

Таблица 14

Число ядродержащих эритроидных клеток в эритробластических островках костного мозга животных, перенесших эмоционально-болевой стресс, как показатель состояния эритропоэза в островках

Классы зрелости ЭО / сроки стресса	ЭО ₁	ЭО ₂	ЭО ₃	ЭОрек	ЭОинв
Контроль	5,82±0,03	11,63±0,44	20,32±1,41	7,64±0,54	6,13±0,39
ЭБС 1 час	5,54±0,05	11,08±0,49	21,84±2,11	3,82±0,42**	6,72±0,33
ЭБС 6 часов	5,73±0,05	10,83±0,52	22,43±1,93	3,51±0,35**	7,08±0,51
ЭБС 6 + 2 часа	5,95±0,08	10,24±0,58	23,26±2,51	3,93±0,35**	6,84±0,33

Окончание таблицы 14

ЭБС 6 + 1 сут.	6,36±0,08	10,94±0,70	19,61±2,17	8,67±0,96	6,44±0,32
ЭБС 6 + 2 сут.	6,54±0,08	12,85±0,79	18,94±2,17	10,15±0,82*	6,35±0,31
ЭБС 6 + 5 сут.	5,72±0,08	13,27±0,83	19,45±1,89	8,43±0,79	6,05±0,32

Примечание: достоверность отличий от контроля: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,001$, рассчитанных с помощью теста Манна–Уитни.

С целью оценки стрессирующего характера эмоционально-болевого стресса на состояние эритропоеза в костном мозге животных мы изучили число ретикулоцитов в эритробластических островках костного мозга, результаты представлены в таблице 15. Из данных, представленных в таблице 15, следует, что после 1-часового ЭБС среднее число ретикулоцитов на один эритробластический островок костного мозга крыс уменьшилось на 19,79% ($p < 0,01$); после 6-часового ЭБС – на 23,55% ($p < 0,01$); через 2 часа после 6-часового ЭБС – на 16,38% ($p < 0,05$); через сутки после 6-часового ЭБС данный показатель увеличился на 10,24%; через 2 суток после 6-часового ЭБС – на 13,31% ($p < 0,05$); через 5 суток – на 20,82% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. После 6-часового ЭБС среднее число ретикулоцитов на один эритробластический островок костного мозга крыс уменьшилось на 4,68% по сравнению с 1-часовым ЭБС. Через 2 часа после 6-часового ЭБС данный показатель увеличился на 9,38%; через сутки после 6-часового ЭБС среднее число ретикулоцитов на один эритробластический островок костного мозга крыс увеличилось на 44,19% ($p < 0,01$); через 2 суток после 6-часового ЭБС – на 48,21% ($p < 0,01$); через 5 суток – на 58,04% ($p < 0,001$) по сравнению с 6-часовым ЭБС.

После 1-часового ЭБС число ретикулоцитов в ЭО 3 класса зрелости костного мозга крыс увеличилось на 6,53%; после 6-часового ЭБС – на 19,78% ($p<0,01$); через 2 часа после 6-часового ЭБС – на 27,24% ($p<0,001$); через сутки после 6-часового ЭБС данный показатель увеличился на 10,63% ($p<0,05$) по сравнению с контролем. После 6-часового ЭБС число ретикулоцитов в ЭО 3 класса зрелости костного мозга крыс увеличилось на 12,43% ($p<0,05$) по сравнению с 1-часовым ЭБС. Через 2 суток после 6-часового ЭБС данный показатель увеличился на 12,15% ($p<0,05$); через 5 суток – на 15,42% ($p<0,05$) по сравнению с 6-часовым ЭБС.

После 1-часового ЭБС число ретикулоцитов в ЭОрек костного мозга крыс уменьшилось на 22,72% ($p<0,01$); после 6-часового ЭБС – на 36,96% ($p<0,001$); через 2 часа после 6-часового ЭБС – на 33,60% ($p<0,001$); через сутки после 6-часового ЭБС данный показатель увеличился на 12,96% ($p<0,05$); через 2 суток после 6-часового ЭБС – на 16,48% ($p<0,01$); через 5 суток – на 2,88% по сравнению с контролем. После 6-часового ЭБС число ретикулоцитов в ЭОрек костного мозга крыс уменьшилось на 18,43% ($p<0,01$) по сравнению с 1-часовым ЭБС. Через 2 часа после 6-часового ЭБС данный показатель увеличился на 5,33%; через сутки после 6-часового ЭБС число ретикулоцитов в ЭОрек костного мозга крыс увеличилось на 79,19% ($p<0,001$); через 2 суток после 6-часового ЭБС – на 84,77% ($p<0,001$); через 5 суток – на 63,19% ($p<0,001$) по сравнению с 6-часовым ЭБС.

После 1-часового ЭБС число ретикулоцитов в ЭОинв костного мозга крыс увеличилось на 6,47%; после 6-часового ЭБС – на 14,48% ($p<0,01$); через 2 часа после 6-часового ЭБС – на 10,17% ($p<0,01$) по сравнению с контролем. Через сутки после 6-часового ЭБС число ретикулоцитов в ЭОинв костного мозга крыс уменьшилось на 13,86% ($p<0,01$); через 2 суток после 6-часового ЭБС – на 14,40% ($p<0,01$); через 5 суток – на 13,59% ($p<0,01$) по сравнению с 6-часовым ЭБС.

Таблица 15

Число ретикулоцитов в эритробластических островках костного мозга животных, перенесших эмоционально-болевой стресс, как показатель состояния эритропоэза в островках

Классы зрелости ЭО / сроки стресса	Среднее число ретикулоцитов на 1 ЭО	ЭО ₃	ЭОрек	ЭОинв
Контроль	2,93±0,08	5,36±0,22	6,25±0,21	6,49±0,16
ЭБС 1 час	2,35±0,17**	5,71±0,18	4,83±0,26**	6,91±0,20
ЭБС 6 часов	2,24±0,15**	6,42±0,23**	3,94±0,16 [#]	7,43±0,20**
ЭБС 6 + 2 часа	2,45±0,15*	6,82±0,17 [#]	4,15±0,19 [#]	7,15±0,16**
ЭБС 6 + 1 сут.	3,23±0,23	5,93±0,18*	7,06±0,27*	6,40±0,17
ЭБС 6 + 2 сут.	3,32±0,23*	5,64±0,19	7,28±0,18**	6,36±0,18
ЭБС 6 + 5 сут.	3,54±0,19*	5,43±0,23	6,43±0,27	6,42±0,18

Примечание: достоверность отличий от контроля: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; [#] – $p < 0,001$, рассчитанных с помощью теста Манна–Уитни. В составе ЭО 1 класса зрелости ретикулоциты не выявлялись.

Таким образом, под влиянием ЭБС наблюдалось уменьшение среднего числа ретикулоцитов на один ЭО. Уменьшение числа ретикулоцитов в ЭОрек в костном мозге у крыс указывает на угнетение эритропоэза в ЭО пролиферирующих классов в результате острого стрессирования. Увеличение числа ретикулоцитов в «короне» ЭО 3 класса зрелости и ЭОинв после острого стресса свидетельствовало об ускорении процессов созревания эритроидных клеток с целью их последующего перехода в периферическую кровь, частично тем самым ком-

пенсирюя возникающую в результате стресса гипоксию. Вероятно, что потеря ретикулоцитов, способных обеспечить локальное достаточно высокое парциальное напряжение кислорода в эритроидной «короне» макрофагов ЭО, могла отразиться на протекании метаболических процессов в самих центральных макрофагах, а также эритропоэза в ЭО.

На эффективный характер стимуляции процессов деления указывало увеличение количества ретикулоцитов в ЭО 3 класса зрелости и ЭО рек через 1–2 суток после ЭБС.

3.6. Статмокинетический индекс эритроидных клеток костного мозга животных, перенесших эмоционально-болевой стресс

Подсчёт числа митозов эритроидных клеток, остановленных колхицином, в островках разных классов зрелости при ЭБС подтвердил общие закономерности активации клеточной пролиферации, обнаруженные нами при простом количественном анализе фигур митозов. При изучении пролиферативной активности эритроидных клеток «короны» ЭО крыс, подвергнутых действию острого ЭБС, были получены следующие результаты, представленные в табл. 16.

При действии 1-часового ЭБС величина статмокинетического индекса (СИ) эритроидных клеток в «короне» ЭО₁ уменьшилась на 28,99% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. При действии 6-часового ЭБС величина СИ эритроидных клеток в «короне» ЭО₁ уменьшилась на 17,63% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем и увеличилась на 16,00% ($p < 0,05$) по сравнению с 1-часовым ЭБС. Через два часа после действия 6-часового ЭБС величина СИ эритроидных клеток в «короне» ЭО₁ уменьшилась на 9,95% по сравнению с контролем и увеличилась на 9,33% по сравнению с 6-часовым ЭБС. Через сутки после действия 6-часового ЭБС величина СИ эритроидных клеток в «короне» ЭО₁ увеличилась на 8,39% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Через 2 и 5 суток после

действия 6-часового ЭБС величина СИ эритроидных клеток в «короне» ЭО₁ превышала контроль на 28,00% (p<0,001) и 10,37% соответственно.

Через сутки после действия 6-часового ЭБС величина СИ эритроидных клеток в «короне» ЭО₁ увеличилась на 31,59% (p<0,01); через двое и пять суток после действия 6-часового ЭБС величина СИ эритроидных клеток в «короне» ЭО₁ превышала на 55,39% (p<0,001) и 33,99% (p<0,05) соответственно данные показатели у крыс после 6-часового ЭБС.

При действии 1-часового ЭБС величина СИ эритроидных клеток в «короне» ЭО₂ уменьшилась на 8,51% по сравнению с контролем. При действии 6-часового ЭБС величина СИ эритроидных клеток в «короне» ЭО₂ уменьшилась на 21,79% (p<0,05) по сравнению с контролем и на 14,51% (p<0,05) по сравнению с 1-часовым ЭБС. Через два часа после 6-часового ЭБС данный показатель уменьшился на 6,46% по сравнению с 6-часовым стрессом и на 26,84% (p<0,01) по сравнению с контролем. Через сутки после действия 6-часового ЭБС величина СИ эритроидных клеток в «короне» ЭО₂ уменьшилась на 19,05% (p<0,05); через 2 суток - на 15,87% по сравнению с контролем.

Через сутки после действия 6-часового ЭБС величина СИ эритроидных клеток в «короне» ЭО₂ увеличилась на 3,51%; через двое и пять суток после действия 6-часового ЭБС величина СИ эритроидных клеток в «короне» ЭО₂ превышала на 7,56% и 24,35% (p<0,05) соответственно данные показатели у крыс после 6-часового ЭБС.

При действии 1-часового ЭБС величина СИ эритроидных клеток в «короне» ЭО₃ увеличилась на 26,17% (p<0,001) по сравнению с контролем. При действии 6-часового ЭБС величина СИ эритроидных клеток в «короне» ЭО₃ увеличилась на 49,29% (p<0,001) по сравнению с контролем и на 18,33% (p<0,01) по сравнению с 1-часовым ЭБС. Через два часа после 6-часового ЭБС

данный показатель был выше контроля на 55,17% ($p < 0,001$). Через сутки после действия 6-часового ЭБС величина СИ эритроидных клеток в «короне» ЭО₃ увеличилась на 32,66% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. Через 2 суток после действия 6-часового ЭБС величина СИ эритроидных клеток в «короне» ЭО₃ превышала контроль на 16,43% ($p < 0,05$), приближаясь к контрольным показателям через 5 суток после стресса.

Через сутки после действия 6-часового ЭБС величина СИ эритроидных клеток в «короне» ЭО₃ уменьшилась на 11,14% ($p < 0,01$); через двое и пять суток после действия 6-часового ЭБС величина СИ эритроидных клеток в «короне» ЭО₃ была ниже на 22,01% ($p < 0,01$) и 34,38% ($p < 0,01$) соответственно данные показатели у крыс после 6-часового ЭБС.

При действии 1-часового ЭБС величина СИ эритроидных клеток в «короне» ЭОрек уменьшилась на 51,19% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. При действии 6-часового ЭБС величина СИ эритроидных клеток в «короне» ЭОрек уменьшилась на 58,89% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем и на 15,79% ($p < 0,05$) по сравнению с 1-часовым ЭБС. Через два часа после действия 6-часового ЭБС величина СИ эритроидных клеток в «короне» ЭОрек уменьшилась на 57,58% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. Таким образом, наименьшей митотической активностью обладали эритроидные клетки ЭО 1,2 классов зрелости и ЭОрек у крыс, перенесших 6-часовой ЭБС, а также через два часа после него.

Через сутки после действия 6-часового ЭБС величина СИ эритроидных клеток в «короне» ЭОрек увеличилась на 31,95% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем. Через 2 и 5 суток после действия 6-часового ЭБС величина СИ эритроидных клеток в «короне» ЭОрек превышала контроль на 24,84% ($p < 0,001$) и 6,32% соответственно.

Через сутки после действия 6-часового ЭБС величина СИ эритроидных клеток в «короне» ЭОрек увеличилась на 65,54%

($p < 0,001$); через двое и пять суток после действия 6-часового ЭБС величина СИ эритроидных клеток в «короне» ЭОрек превышала в 3,0 раза ($p < 0,001$) и 2,6 раза ($p < 0,001$) соответственно данные показатели костного мозга животных после 6-часового ЭБС. В течение пятисуточного восстановительного периода после ЭБС наблюдалась стимуляция деления клеток в островках пролиферирующих классов по сравнению с 6-часовым стрессом. Остановка и накопление митозов за время действия препарата приводили к получению более высоких количественных параметров митотической активности по сравнению с простым подсчётом фигур митозов.

Таблица 16

Статмокинетический индекс эритроидных клеток или число К-митозов эритроидных клеток эритробластических островков костного мозга животных, перенесших эмоционально-болевой стресс (в % к общему числу клеток в островке)

Классы зрелости ЭО / Сроки стресса	ЭО ₁	ЭО ₂	ЭО ₃	ЭОрек
Контроль	28,25±0,76	6,93±0,47	4,93±0,15	15,18±0,54
ЭБС 1 час	20,06±1,79 [#]	6,34±0,33	6,22±0,24 [#]	7,41±0,23 [#]
ЭБС 6 часов	23,27±1,55*	5,42±0,34*	7,36±0,19 [#]	6,24±0,28 [#]
ЭБС 6 + 2 часа	25,44±1,44	5,07±0,19**	7,65±0,24 [#]	6,44±0,19 [#]
ЭБС 6 + 1 сут.	30,62±1,31*	5,61±0,21*	6,54±0,34 [#]	10,33±0,49 [#]
ЭБС 6 + 2 сут.	36,16±0,81 [#]	5,83±0,21	5,74±0,34*	18,95±0,47 [#]
ЭБС 6 + 5 сут.	31,18±3,17	6,74±0,23	4,83±0,43	16,14±0,57

Примечание: в исследовании было проанализировано по 100 ЭО каждого класса зрелости. Достоверность отличий от контроля: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; # – $p < 0,001$, рассчитанных с помощью теста Манна–Уитни.

Г Л А В А 4

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТОВ ЦЕРУЛОПЛАЗМИНА И ЭРИТРОПОЭТИНА НА СИСТЕМУ ЭРИТРОН У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ, ПОДВЕРГШИХСЯ ДЕЙСТВИЮ ЭМОЦИОНАЛЬНО-БОЛЕВОГО СТРЕССА

В предыдущих главах нашего исследования показано, что ЭБС оказывал существенное влияние на состояние прооксидантной, антиоксидантной систем в крови и костном мозге животных, на характер эритропоэза в костном мозге. Имеющие место деструктивные процессы в крови и ткани костного мозга животных, подвергнутых ЭБС, послужили поводом для осуществления коррекции препаратами: антиоксидантом церулоплазмином и гемопоэтическим цитокином – эритропоэтином. Результаты представлены в главе 6.

4.1. Влияние предварительного введения препарата церулоплазмина на содержание молекулярных продуктов ПОЛ и активность антиоксидантных ферментов в крови и ткани костного мозга у экспериментальных животных, подвергшихся действию эмоционально-болевого стресса

В данном параграфе нашего исследования мы считаем необходимым рассмотреть влияние ЦП на активность про- и антиоксидантных систем у животных, перенесших ЭБС. Церулоплазмин (НПО «Иммунопрепарат», г. Уфа) вводили внутривентриально из расчёта 30 мг/кг массы тела за три часа до опыта.

Церулоплазмин – полифункциональный протеин α_2 -глобулиновой фракции сыворотки крови. Одна из его функций

заключается в антиоксидантной активности, т.е. ЦП рассматривается как регулятор свободнорадикальных процессов, что может способствовать прямой или опосредованной защите клеточных мембран от повреждающего действия свободных радикалов. Отмечено, что в плазме крови ЦП осуществляет функцию перехватчика свободных радикалов и их предшественников. Показана пероксидазная активность ЦП в присутствии восстановленного глутатиона. ЦП разрушает H_2O_2 и гидроперекиси липидов в присутствии тиоловых групп [1; 5; 6; 124].

Наряду с аскорбатазой, цитохромоксидазой ЦП способен катализировать окисление субстратов, осуществляя при этом одновременный перенос 4 электронов на кислород. При осуществлении церулоплазмином оксидазных функций взаимодействуют ионы меди различных типов [8; 16; 64].

Оксидазная активность ЦП ассоциирована с 7-м ионом меди, который связан с остатком H426. Это единственный атом меди, который удаляется Хелексом-100, при этом полностью блокируется оксидазная активность ЦП. Восстановление меди сопровождается восстановлением оксидазной активности [201].

Предполагают, что посредством пула окислительно-активных и соответственно лабильных трёх центров меди I типа, ЦП может при необходимости служить донором меди, не теряя при этом оксидазной активности [35; 242].

Показано, что для эффективного восстановления оксидазной активности ЦП после диализа против KCN в активном центре фермента должны оставаться ионы меди III типа. Кроме того, предполагается наличие отдельного центра, ответственного за глутатион-пероксидазную активность, который находится в домене, содержащем Cys-699 [174; 194].

Окисляемые ЦП субстраты принято делить на три основных класса: двухвалентные ионы железа; ароматические амины и

фенолы (катехоламины, серотонин); свободнорадикальные продукты биохимических реакций [36].

Ионы Fe^{2+} сильно стимулируют оксидазную активность ЦП. В опытах *in vitro* ЦП ускоряет окисление двухвалентного железа и образование трансферрина в 10 раз [115].

Следует указать, что предметом дискуссий остается вопрос о каталитическом окислении биогенных аминов. В частности, в условиях *in vitro* установлено, что для норадреналина и пирокатехина оптимальным оказался pH 5,0–5,7. В результате этого факта ставится под сомнение катализ ЦП окисления биогенных аминов *in vivo*. Показана оксидазная активность ЦП в отношении природного субстрата нейротоксина 6-гидроксидамина [109].

Необходимо отметить, что ЦП проявляет прооксидантную активность, вызывая оксидативную модификацию липопротеинов низкой плотности (ЛПНП). Например, нативный человеческий ЦП усиливает медь-опосредованную оксидацию ЛПНП. При деградации ЦП на фрагменты 115 и 19 кДа (в этом виде ЦП существует в коммерческом препарате) его антиоксидантные свойства сравнимы с альбумином [136; 201].

Наряду с оксидазными свойствами ЦП, по данным других исследований, обладает антиокислительной активностью. Во многих работах описаны антиоксидантные свойства ЦП. В частности, показана дозо-зависимость действия препарата ЦП на ПОЛ плазмы крови здоровых доноров, выражающаяся как в ингибирующем, так и стимулирующем эффекте. При внесении в реакционную систему ЦП в низких концентрациях наблюдалось снижение сигнала хемилюминисценции, в более высокой дозе препарат вызывал увеличение интенсивности ПОЛ [36].

Выявлено, что у пациентов с ацерулоплазминемией базальный уровень ПОЛ в 3 раза выше контрольного, эти показатели значительно повышались в присутствии ионов меди и гидроперекиси, причем это повышение подавлялось добавлением экзогенного ЦП

[64]. При ацерулоплазминемии наблюдается повышение содержания в мембранах эритроцитов жирных кислот с очень длинными цепями, что приводит к мысли о том, что при данной патологии в отсутствие ЦП свободные радикалы прерывают бета-окисление жирных кислот в пероксисомах [64; 127].

Существенно, что относительно механизма антиокислительного эффекта церулоплазмينا не существует единого мнения. Некоторые авторы связывают антиокислительный эффект с ферроксидазной активностью ЦП, что приводит к снижению образования OH^- в реакции Фентона [225]. В частности показано, что железо-связывающие свойства трансферрина и железо-оксидазные свойства ЦП при разведении 1:50 обеспечивают значительную защиту против органических и неорганических свободных радикалов, генерируемых железом и аскорбатом [214]. Не исключено, что отмечаемая повышенная чувствительность ЦП к протеолизу связана со свободнорадикальным повреждением белка гипохлоритом и супероксиданионом. Ионы OSI^- инактивируют α -1-антитрипсин, основной ингибитор сериновых протеиназ, переводят в активную форму коллагеназу. Одной из форм защиты от негативного влияния миелопероксидазы на метаболизм является способность сывороточных белков перехватывать OSI^- . Церулоплазмин более чем на два порядка эффективнее перехватывает OSI^- , чем СОД. В свою очередь СОД по эффективности удаления O_2^- выше ЦП на порядок. ЦП в отличие от СОД осуществляет восстановление O_2^- непосредственно до воды, без образования перекиси водорода, предшественника OH^- -радикалов. Именно ЦП выполняет во внеклеточной среде роль основной ловушки реакционных интермедиатов (OSI^- , O_2^-), генерируемых стимулированными фагоцитами. Высокая реакционная способность ЦП по отношению к активным формам кислорода, скорее всего, является причиной увеличения его содержания при активации свободнорадикального

процесса при стрессе. Подобная активация синтеза ЦП может быть рассмотрена как адаптивная реакция, направленная на увеличение общего фонда антиоксидантов.

В некоторых случаях представляют ЦП антиоксидантом, эффективным в отношении обрыва цепи свободных радикалов, перехватчиком супероксидных радикалов, ингибитором аутоокисления липидов, подчеркивая независимость его эффекта от ферроксидазной активности.

В химических и ферментных системах генерации супероксида при изучении механизма взаимодействия ЦП с кислородными радикалами обнаружено, что ЦП не оказывает какого-либо кинетического влияния на декомпозицию супероксид-радикала и, в отличие от СОД, не катализирует реакцию диспропорционирования, а взаимодействует с предшественниками кислородных радикалов [251].

Следует отметить, что при клиническом применении ЦП проявил себя эффективным средством ингибирования ПОЛ, способствующим коррекции гемореологических нарушений и оказывающим благоприятное влияние на течение стенокардии. При экспериментальном исследовании ЦП выявили кардиозащитный эффект, обусловленный ограничением индуцированного свободными радикалами кислорода освобождения норадреналина, что способствовало защите симпатических нервных окончаний.

В связи с указанными выше антиоксидантными свойствами ЦП мы провели серию исследований, направленных на изучение защитного эффекта ЦП в отношении крови и костного мозга животных, перенесших ЭБС.

Влияние предварительного введения церулоплазмина на стресс-реализующую систему ПОЛ в плазме крови крыс, перенесших ЭБС, отражено в таблице 17.

Таблица 17

**Влияние предварительного введения препарата
церулоплазмина на содержание молекулярных продуктов ПОЛ
в плазме крови у экспериментальных животных,
перенесших эмоционально-болевой стресс ($M \pm m$)**

Показатели / сроки стресса	Изопропанольная фаза		Гептановая фаза	
	Первичные продукты E_{232}/E_{220}	Вторичные продукты E_{278}/E_{220}	Первичные продукты E_{232}/E_{220}	Вторичные продукты E_{278}/E_{220}
Контроль + ЦП	0,581±0,005	0,317±0,004	0,589±0,007	0,264±0,004
ЭБС 1 час	0,624±0,003	0,358±0,004	0,569±0,003	0,317±0,002
ЭБС 1 час + ЦП	0,598±0,004	0,340±0,004	0,585±0,008	0,300±0,004
P_1	<0,05	<0,001	–	<0,001
P_2	<0,001	<0,01	–	<0,001
ЭБС 6 часов	0,627±0,004	0,390±0,004	0,580±0,002	0,358±0,003
ЭБС 6 час. + ЦП	0,600±0,005	0,363±0,004	0,589±0,007	0,304±0,004
P_1	<0,05	<0,001	–	<0,001
P_2	<0,001	<0,01	–	<0,001
ЭБС 6 час. + 1 сут.	0,608±0,003	0,369±0,003	0,611±0,002	0,317±0,002
ЭБС 6 час. + 1 сут. + ЦП	0,603±0,005	0,349±0,004	0,588±0,006	0,288±0,004
P_1	<0,01	<0,001	–	<0,001
P_2	–	<0,01	–	<0,001
ЭБС 6 час. + 2 сут.	0,602±0,003	0,351±0,003	0,609±0,002	0,303±0,002
ЭБС 6 час. + 2 сут. + ЦП	0,595±0,004	0,326±0,004	0,604±0,004	0,282±0,005
P_1	<0,05	–	–	<0,01
P_2	–	<0,01	–	<0,01
ЭБС 6 час. + 5 сут.	0,583±0,005	0,334±0,002	0,577±0,002	0,286±0,002
ЭБС 6 час. + 5 сут. + ЦП	0,581±0,004	0,329±0,004	0,587±0,004	0,280±0,004
P_1	–	<0,05	–	<0,01
P_2	–	–	–	–

Примечание: 1) в таблице представлены уровни первичных (ацилгидроперексей и диеновых конъюгатов) и вторичных (кетодиенов и сопряжённых триенов) продуктов ПОЛ; 2) уровень продуктов ПОЛ рассчитывали в у.е. окислительного индекса, который вычисляли как отношение оптических плотностей E_{232}/E_{220} для первичных и E_{278}/E_{220} для вторичных продуктов ПОЛ; 3) достоверность отличий, рассчитанных с помощью тесте Манна–Уитни: p_1 – (ЭБС + ЦП – контроль + ЦП); p_2 – (ЭБС + ЦП – ЭБС).

Как следует из данных, представленных в таблице 17, после 6-часового ЭБС на фоне предварительного введения ЦП содержание молекулярных продуктов ПОЛ, растворимых в изопропанол₂, в плазме крови уменьшилось на 6,9% ($p<0,05$) по сравнению с 6-часовым ЭБС. Содержание молекулярных продуктов ПОЛ, растворимых в гептане₂, в плазме крови на 15,1% ($p<0,001$) ниже по сравнению с 6-часовым ЭБС.

Через сутки после 6-часового ЭБС на фоне предварительного введения ЦП содержание вторичных изопропанол-растворимых продуктов ПОЛ в плазме крови увеличилось на 10,1% ($p<0,001$) по сравнению с контролем + ЦП. В гептановой фазе содержание первичных продуктов ПОЛ находилось на уровне контрольных величин, а содержание вторичных продуктов ПОЛ на 9,1% ($p<0,05$) было выше контроля + ЦП.

Через сутки после 6-часового ЭБС на фоне предварительного введения ЦП содержание молекулярных продуктов ПОЛ, растворимых в изопропанол₁, в плазме крови достоверно не отличалось от аналогичного показателя через сутки после 6-часового ЭБС. Содержание молекулярных продуктов ПОЛ, растворимых в гептане₂, в плазме крови на 9,1% ($p<0,05$) ниже по сравнению аналогичным показателем через сутки после 6-часового ЭБС.

Через 5 суток после 6-часового ЭБС на фоне предварительного введения ЦП содержание молекулярных продуктов ПОЛ, растворимых в изопропанол₁, в плазме крови находилось на

уровне аналогичного показателя через 5 суток после 6-часового ЭБС.

Влияние предварительного введения ЦП на антиокислительную активность (АОА) сыворотки крови крыс, перенесших ЭБС, представлено в таблице 18. Как следует из данных таблицы 18, при введении ЦП антиокислительная активность сыворотки крови крыс под влиянием 1-часового ЭБС увеличилась на 37,5% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем + ЦП. Через сутки после 6-часового ЭБС на фоне введения ЦП антиокислительная активность сыворотки крови крыс превышала контроль + ЦП на 8,9% ($p < 0,05$), а через 2 суток после 6-часового ЭБС – на 19,4% ($p < 0,01$), продолжая оставаться повышенной на 12,8% ($p < 0,01$) через 5 суток после 6-часового ЭБС по сравнению с контролем + ЦП.

Под влиянием 6-часового ЭБС на фоне введения ЦП антиокислительная активность сыворотки крови крыс увеличилась на 15,6% ($p < 0,001$) по сравнению с 6-часовым ЭБС. Через 2 суток после 6-часового ЭБС на фоне введения ЦП антиокислительная активность сыворотки крови крыс превышала аналогичный показатель 6-часового ЭБС на 12,9% ($p < 0,001$).

Выполненные исследования продемонстрировали, что уровень АОА сыворотки крови крыс возрастал на фоне введения церулоплазмينا после ЭБС. Введение церулоплазмينا крысам, перенесшим 6-часовой ЭБС, способствовало повышению антиокислительного потенциала сыворотки крови крыс. Через 1, 2, 5 суток после 6-часового ЭБС на фоне введения ЦП наблюдалось постепенное увеличение антиокислительной активности сыворотки крови крыс.

Одним из вторичных продуктов ПОЛ является малоновый диальдегид (МДА), динамика которого в плазме крови в результате действия ЭБС на фоне предварительного введения церулоплазмينا представлена в таблице 19.

Таблица 18

Влияние предварительного введения препарата церулоплазмин на антиокислительную активность (АОА) сыворотки крови у экспериментальных животных, перенесших ЭБС ($M \pm m$)

Сроки стресса	АОА (%)
Контроль + ЦП	48,5±0,4
ЭБС 1 час	60,6±0,5
ЭБС 1 час + ЦП	66,7±0,4
P ₁	<0,001
P ₂	<0,001
ЭБС 6 часов	44,3±0,6
ЭБС 6 часов + ЦП	51,2±0,6
P ₁	<0,001
P ₂	<0,001
ЭБС 6 часов + 1 сут.	50,3±0,7
ЭБС 6 часов + 1 сут. + ЦП	52,8±1,0
P ₁	<0,001
P ₂	<0,05
ЭБС 6 часов + 2 сут.	51,3±0,5
ЭБС 6 часов + 2 сут. + ЦП	57,9±0,6
P ₁	<0,001
P ₂	<0,001
ЭБС 6 часов + 5 сут.	53,6±0,4
ЭБС 6 часов + 5 сут. + ЦП	54,7±0,6
P ₁	<0,001
P ₂	–

Примечание: достоверность отличий, рассчитанных с помощью теста Манна-Уитни: p₁ – (ЭБС + ЦП – контроль + ЦП); p₂ – (ЭБС + ЦП – ЭБС).

После 1-часового ЭБС на фоне предварительного введения ЦП содержание МДА в плазме крови увеличилось соответственно на 14,1% ($p < 0,001$) и 27,2% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем + ЦП. Через 2 суток после 6-часового ЭБС на фоне предварительного введения ЦП содержание МДА в плазме крови было выше контроля + ЦП на 17,6% ($p < 0,001$).

После 1- и 6-часового ЭБС на фоне предварительного введения ЦП содержание МДА в плазме крови уменьшилось соответственно на 20,0% ($p<0,001$) и 37,1% ($p<0,001$) по сравнению с аналогичными сроками стресса без препарата. Через 1 и 2 суток после 6-часового ЭБС на фоне предварительного введения ЦП содержание МДА в плазме крови у экспериментальных животных ниже этих сроков ЭБС без препарата на 35,0% ($p<0,01$) и 25,1% ($p<0,01$) соответственно.

Как следует из данных, представленных в таблице 20, после 1- и 6-часового ЭБС на фоне предварительного введения ЦП содержание МДА в костном мозге увеличилось соответственно на 18,5% ($p<0,001$) и 21,1% ($p<0,001$) по сравнению с контролем +ЦП. Через 1, 2, 5 суток после 6-часового ЭБС на фоне предварительного введения ЦП содержание МДА в костном мозге выше контроля + ЦП на 21,6% ($p<0,001$); 20,3% ($p<0,001$); 16,8% ($p<0,001$) соответственно.

Таблица 19

Влияние предварительного введения препарата церулоплазмينا на динамику малонового диальдегида в плазме крови у экспериментальных животных, перенесших эмоционально-болевой стресс ($M\pm m$)

Сроки стресса	МДА (мкмоль/мл)
Контроль + ЦП	0,518±0,004
ЭБС 1 час	0,739±0,003
ЭБС 1 час + ЦП	0,591±0,004
P ₁	<0,001
P ₂	<0,001
ЭБС 6 часов	1,047±0,018
ЭБС 6 часов + ЦП	0,659±0,005
P ₁	<0,001
P ₂	<0,001

Окончание таблицы 19

ЭБС 6 часов + 1 сут.	0,845±0,005
ЭБС 6 часов + 1 сут. + ЦП	0,549±0,005
P ₁	<0,001
P ₂	<0,01
ЭБС 6 часов + 2 сут.	0,813±0,006
ЭБС 6 часов + 2 сут. + ЦП	0,609±0,005
P ₁	<0,001
P ₂	<0,01
ЭБС 6 часов + 5 сут.	0,581±0,007
ЭБС 6 часов + 5 сут. + ЦП	0,535±0,005
P ₁	<0,01
P ₂	<0,001

Примечание: контроль без препарата (фон). Достоверность отличий, рассчитанных с помощью теста Манна–Уитни: p₁ – (ЭБС + ЦП – контроль + ЦП); p₂ – (ЭБС + ЦП – ЭБС).

После 1-часового ЭБС на фоне предварительного введения ЦП содержание МДА в костном мозге уменьшилось на 12,1% (p<0,001) по сравнению с 1-часовым ЭБС. Через 1 и 2 суток после 6-часового ЭБС на фоне предварительного введения ЦП содержание МДА в костном мозге ниже этих сроков ЭБС без препарата на 21,7% (p<0,001) и 17,7% (p<0,001) соответственно.

Нами было показано, что ЭБС вызвал генерализацию процесса липопероксидации в липидных экстрактах костного мозга крыс. В связи с этим представляется интересным изучить влияние предварительного введения антиоксиданта церулоплазмина на стресс-реализующую систему ПОЛ в липидных экстрактах костного мозга крыс, перенесших ЭБС, результаты представлены в таблице 21.

Как следует из данных таблицы 21, после 1-часового ЭБС на фоне предварительного введения ЦП содержание первичных изопропанол-растворимых продуктов ПОЛ в костном мозге недостоверно увеличилось; вторичных изопропанол-растворимых продук-

тов ПОЛ – на 14,0% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем + ЦП. В гептановой фазе первичные продукты ПОЛ были недостоверно выше контрольных величин, а вторичные выше на 10,9% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем + ЦП.

Таблица 20

Влияние предварительного введения препарата церулоплазмина на динамику малонового диальдегида в костном мозге у экспериментальных животных, перенесших эмоционально-болевого стресс ($M \pm m$)

Сроки стресса	МДА (мкмоль/мл)
Контроль + ЦП	0,232±0,005
ЭБС 1 час	0,313±0,003
ЭБС 1 час + ЦП	0,275±0,004
P ₁	<0,001
P ₂	<0,001
ЭБС 6 часов	0,365±0,003
ЭБС 6 часов + ЦП	0,281±0,005
P ₁	<0,001
P ₂	<0,001
ЭБС 6 часов + 1 сут.	0,360±0,002
ЭБС 6 часов + 1 сут. + ЦП	0,282±0,005
P ₁	<0,001
P ₂	<0,001
ЭБС 6 часов + 2 сут.	0,339±0,002
ЭБС 6 часов + 2 сут. + ЦП	0,279±0,005
P ₁	<0,001
P ₂	<0,001
ЭБС 6 часов + 5 сут.	0,300±0,002
ЭБС 6 часов + 5 сут. + ЦП	0,271±0,006
P ₁	<0,001
P ₂	<0,001

Примечание: контроль без препарата (фон). Достоверность отличий, рассчитанных с помощью теста Манна–Уитни: p₁ – (ЭБС + ЦП – контроль + ЦП); p₂ – (ЭБС + ЦП – ЭБС).

После 6-часового ЭБС на фоне предварительного введения ЦП содержание вторичных изопропанол-растворимых продуктов ПОЛ в костном мозге увеличилось на 22,0% ($p < 0,001$), а в гептановой фазе на 16,5% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем + ЦП.

После 6-часового ЭБС на фоне предварительного введения ЦП содержание молекулярных продуктов ПОЛ, растворимых в изопропанол₂, в костном мозге на 14,7% ($p < 0,001$) было ниже по сравнению с 6-часовым ЭБС; содержание молекулярных продуктов ПОЛ, растворимых в гептане₂, в костном мозге на 15,0% ($p < 0,001$) было ниже по сравнению с 6-часовым ЭБС.

Через сутки после 6-часового ЭБС на фоне предварительного введения ЦП содержание вторичных изопропанол-растворимых продуктов ПОЛ увеличилось на 22,0% ($p < 0,001$) по сравнению с контролем + ЦП; содержание молекулярных продуктов ПОЛ, растворимых в гептане₂, в костном мозге было на 14,0% ($p < 0,001$) ниже по сравнению с аналогичным показателем в этот период. Аналогичная динамика была выявлена через двое суток после 6-часового ЭБС.

Таблица 21

Влияние предварительного введения препарата церулоплазмина на содержание молекулярных продуктов ПОЛ в липидных экстрактах костного мозга у экспериментальных животных, перенесших эмоционально-болевого стресс ($M \pm m$)

Показатели / сроки стресса	Изопропанольная фаза		Гептановая фаза	
	Первичные продукты E ₂₃₂ /E ₂₂₀	Вторичные продукты E ₂₇₈ /E ₂₂₀	Первичные продукты E ₂₃₂ /E ₂₂₀	Вторичные продукты E ₂₇₈ /E ₂₂₀
Контроль + ЦП	0,941±0,004	0,100±0,003	0,578±0,009	0,411±0,004
ЭБС 1 час	0,981±0,016	0,115±0,003	0,583±0,004	0,485±0,003
ЭБС 1 час +	0,959±0,005	0,114±0,004	0,595±0,003	0,456±0,006

ЦП				
P ₁	<0,01	<0,05	–	<0,001
P ₂	–	–	<0,05	<0,001
ЭБС 6 часов	1,028±0,014	0,143±0,003	0,589±0,004	0,563±0,004
ЭБС 6 часов + ЦП	0,997±0,012	0,122±0,005	0,604±0,004	0,479±0,005
P ₁	<0,001	<0,001	<0,05	<0,001
P ₂	–	<0,001	<0,05	<0,001
ЭБС 6 часов + 1 сут.	1,008±0,008	0,131±0,004	0,612±0,012	0,515±0,003
ЭБС 6 часов + 1 сут. + ЦП	0,978±0,012	0,122±0,004	0,607±0,006	0,443±0,006
P ₁	<0,01	<0,001	<0,05	<0,001
P ₂	<0,05	<0,05	–	<0,001
ЭБС 6 часов + 2 сут.	0,959±0,005	0,125±0,003	0,611±0,011	0,485±0,004
ЭБС 6 часов + 2 сут. + ЦП	0,978±0,011	0,118±0,005	0,609±0,008	0,446±0,005
P ₁	<0,01	<0,01	<0,05	<0,001
P ₂	–	<0,05	–	<0,001
ЭБС 6 часов + 5 сут.	0,974±0,004	0,115±0,003	0,606±0,003	0,450±0,004
ЭБС 6 часов + 5 сут. + ЦП	0,979±0,010	0,114±0,003	0,619±0,006	0,455±0,005
P ₁	<0,01	<0,01	<0,01	<0,001
P ₂	–	–	<0,05	–

Примечание: 1) в таблице представлены уровни первичных (ацилгидроперексидов и диеновых конъюгатов) и вторичных (кетодиенов и сопряжённых триенов) продуктов ПОЛ; 2) уровень продуктов ПОЛ рассчитывали в у.е. окислительного индекса, который вычисляли как отношение оптических плотностей E_{232}/E_{220} для первичных и E_{278}/E_{220} для вторичных продуктов ПОЛ; 3) достоверность отличий, рассчитанных с помощью теста Манна–Уитни: p_1 – (ЭБС + ЦП – контроль + ЦП); p_2 – (ЭБС + ЦП – ЭБС).

Через 5 суток после 6-часового ЭБС на фоне предварительного введения ЦП содержание вторичных изопропанол-

растворимых продуктов ПОЛ было на 14,0% ($p < 0,01$) выше по сравнению с контролем + ЦП. В гептановой фазе содержание первичных продуктов ПОЛ в костном мозге было на 7,1% ($p < 0,05$) выше контрольных величин, а содержание вторичных продуктов ПОЛ на 10,7% ($p < 0,01$) было выше контроля + ЦП.

Как известно, свободнорадикальные окислительные процессы протекают во всех клетках живых организмов, главным образом в липидных структурах мембран. Действие внешних прооксидантов и активация эндогенных механизмов генерации активных метаболитов кислорода приводит к напряжению механизмов антиоксидантной защиты и развитию «окислительного стресса», который является важным патогенетическим фактором многих патологических процессов, в том числе и при ЭБС.

Регуляция интенсивности свободнорадикального окисления может осуществляться двумя механизмами: снижением процесса генерации радикалов, либо повышением активности антиоксидантной защиты клеток. Нами показано, что ЦП оказывает влияние на оба механизма регуляции интенсивности свободнорадикального окисления. Т.е., проявляя ферроксидазную активность, ЦП снижает образование OH^- в реакции Фентона и является наиболее сильным среди белков ингибитором образования гипогалоидов при лейкоцит-индуцированном окислительном стрессе [64]. Кроме того, ЦП взаимодействует с OH^- и O_2^- , обладая супероксиддисмутазной активностью, а также с предшественниками кислородных радикалов и может способствовать накоплению антиоксиданта глутатиона в клетках. Применённая нами малая доза введения ЦП способствовала проявлению его антиоксидантных свойств.

Предварительное введение церулоплазмينا уменьшало содержание первичных и вторичных гептан- и изопропанол-растворимых продуктов ПОЛ в плазме крови, которые повыша-

лись в результате действия 1- и 6-часового ЭБС, за счёт удаления из крови супероксидных радикалов O_2^- -токсических продуктов аэробного метаболизма. Содержание малонового диальдегида в плазме крови у экспериментальных животных было значительно повысилось в результате действия острого ЭБС, а также в течение 2 суток после него, предварительное введение препарата церулоплазмина животным перед стрессом уменьшило содержание МДА в плазме крови.

Предварительное введение препарата ЦП уменьшило содержание первичных и вторичных гептан- и изопропанол-растворимых продуктов ПОЛ, а также уровень МДА в костном мозге у экспериментальных животных, перенесших ЭБС. Вероятно, под влиянием препарата ЦП повышается активность ферментов антиоксидантной защиты в ткани костного мозга у животных, перенесших ЭБС. С целью проверки этого предположения мы провели коррекцию антиоксидантного статуса организма животных с помощью введения препарата ЦП.

Как известно, многие патологические состояния, например, стресс, гипоксия, воспаление, высокая и низкая температура, физическая нагрузка сопровождаются не только специфическим ответом, но и неспецифическим – повышением уровня активных форм кислорода, которые опосредованно, через редокс-сигнализацию, индуцируют синтез протекторных систем (ферментов антиоксидантной защиты, протоонкогенов, белков теплового шока, специфических шаперонов мембранно-связанных белков и т.д.).

Повреждающее действие стрессорных факторов на костный мозг проявляется, в частности, в нарушении функционирования его мембранных структур. Одним из проявлений такого рода повреждений является изменение состояния рецепторов, в том числе β -адренорецепторов [89–91]. Повреждение мембранных структур

при стрессе предопределяет актуальность поиска способов и средств защиты от действия стрессорных факторов. Установление ключевой роли ПОЛ в реализации стрессорных повреждений мембран дало возможность исследовать возможности защитного действия антиоксидантов при ЭБС.

Нами была изучена динамика активности ферментов антиоксидантной (АО) защиты в ткани костного мозга у экспериментальных животных после воздействия на их организм ЭБС. Ранее полученные нами результаты свидетельствовали о снижении активности ферментов АО защиты после 6-часового ЭБС, а также спустя 1, 2 суток после него. В связи с этим нам представилось интересным изучить динамику антиоксидантных ферментов в ткани костного мозга при действии эмоционально-болевого стресса на фоне коррекции препаратом церулоплазмином, которая представлена в таблице.

В параграфе 1.2. указано, что при действии 1-часового ЭБС на организм животных активность антиоксидантных ферментов в ткани костного мозга достоверно увеличивалась, а после воздействия 6-часового ЭБС на организм животных происходило снижение активности ферментов антиоксидантной защиты. В течение 5 суток после 6-часового ЭБС активность исследованных антиоксидантных ферментов постепенно приближалась к контрольному уровню.

Как следует из данных, представленных в таблице 22, после 1-часового ЭБС на фоне коррекции ЦП активность ферментов антиоксидантной защиты в ткани костного мозга по сравнению с 1-часовым ЭБС увеличилась: СОД – на 15,1% ($p < 0,01$); каталазы – на 16,3% ($p < 0,001$); глутатионредуктазы – на 16,9% ($p < 0,05$), концентрация церулоплазмина – на 20,0% ($p < 0,001$).

Таблица 22

Влияние препарата церулоплазмина на активность антиоксидантных ферментов (СОД, каталазы, глутатионредуктазы) и концентрацию церулоплазмина в ткани костного мозга у экспериментальных животных, перенесших эмоционально-болевого стресс ($M \pm m$)

Сроки ЭБС / активность антиоксидантных ферментов	СОД (у.е.)	Каталаза (нмоль/мг белка в мин)	Церулоплазмин (мг %)	Глутатионредуктаза (нмоль/мг белка в мин)
контроль + ЦП	1,39±0,04	418,07±6,46	27,20±0,40	7,34±0,46
ЭБС 1 час	1,46±0,03	437,61±7,52	29,94±0,70	7,79±0,48
ЭБС 1 час + ЦП	1,68±0,06	508,94±10,46	35,93±0,83	9,11±0,34
p ₁	<0,01	<0,001	<0,001	<0,05
p ₂	<0,001	<0,001	<0,001	<0,01
ЭБС 6 часов	1,00±0,02	320,39±9,32	23,31±0,92	5,59±0,44
ЭБС 6 час. + ЦП	1,12±0,03	362,04±7,73	27,27±0,37	6,43±0,35
p ₁	<0,01	<0,01	<0,001	<0,05
p ₂	<0,001	<0,001	–	–
ЭБС 6 час. + 1 сут.	0,93±0,01	305,93±12,02	22,58±0,72	5,49±0,34
ЭБС 6 час. + 1 сут. + ЦП	1,02±0,04	351,82±13,28	26,64±1,01	6,20±0,36
p ₁	<0,05	<0,01	<0,01	<0,05
p ₂	<0,001	<0,001	–	<0,05
ЭБС 6 час. + 2сут.	0,97±0,01	314,53±10,26	22,97±0,80	5,69±0,21
ЭБС 6 час. + 2 сут. + ЦП	1,07±0,04	342,84±10,06	25,96±0,76	6,15±0,11
p ₁	<0,05	<0,05	<0,01	<0,05
p ₂	<0,001	<0,001	–	<0,05
ЭБС 6 час. + 5 сут.	1,02±0,02	326,64±10,25	23,36±0,80	6,07±0,35
ЭБС 6 час. + 5 сут. + ЦП	1,07±0,03	336,44±8,36	24,76±0,41	6,14±0,29
p ₁	–	–	<0,01	–
p ₂	<0,001	<0,001	<0,001	<0,05

Примечание: p₁ – достоверность отличий от соответствующего срока ЭБС; p₂ – достоверность отличий от контроля + ЦП, рассчитанных с помощью теста Манна–Уитни.

После 1-часового ЭБС на фоне коррекции ЦП активность ферментов антиоксидантной защиты в ткани костного мозга по сравнению с контролем + ЦП увеличилась: СОД – на 20,9% ($p < 0,001$); каталазы – на 21,7% ($p < 0,001$); глутатионредуктазы – на 24,1% ($p < 0,01$); концентрация церулоплазмина – на 32,1% ($p < 0,001$);.

После 6-часового ЭБС на фоне коррекции ЦП активности ферментов антиоксидантной защиты в ткани костного мозга по сравнению с 6-часовым ЭБС увеличилась: СОД – на 12,0% ($p < 0,01$); каталазы – на 12,9% ($p < 0,01$); глутатионредуктазы – на 15,0% ($p < 0,05$); концентрация церулоплазмина – на 16,9% ($p < 0,001$);. После 6-часового ЭБС на фоне коррекции ЦП активность ферментов антиоксидантной защиты в ткани костного мозга по сравнению с контролем + ЦП уменьшилась: СОД – на 19,4% ($p < 0,001$); каталазы – на 13,4% ($p < 0,001$); глутатионредуктазы – на 12,4%; концентрация церулоплазмина – не изменилась;.

Через сутки после 6-часового ЭБС на фоне коррекции ЦП активности ферментов антиоксидантной защиты в ткани костного мозга по сравнению с 6-часовым ЭБС и суток после него увеличилась: СОД – на 9,7% ($p < 0,05$); каталазы – на 15,0% ($p < 0,01$); глутатионредуктазы – на 12,9% ($p < 0,05$); концентрация церулоплазмина – на 17,9% ($p < 0,01$);. Через сутки после 6-часового ЭБС на фоне коррекции ЦП активности ферментов антиоксидантной защиты в ткани костного мозга по сравнению с контролем + ЦП уменьшилась: СОД – на 26,6% ($p < 0,001$); каталазы – на 15,8% ($p < 0,001$); глутатионредуктазы – на 15,5% ($p < 0,05$), а концентрация церулоплазмина недостоверно снизилась.

Через 2 суток после 6-часового ЭБС на фоне коррекции ЦП активность ферментов антиоксидантной защиты в ткани костного мозга по сравнению с 6-часовым ЭБС и двух суток после него увеличилась: СОД – на 10,3% ($p < 0,05$); каталазы – на 9,0%

($p < 0,05$); глутатионредуктазы – на 8,1% ($p < 0,05$); концентрация церулоплазмина – на 13,0% ($p < 0,01$).

Через 2 суток после 6-часового ЭБС на фоне коррекции ЦП активности ферментов антиоксидантной защиты в ткани костного мозга по сравнению с контролем + ЦП уменьшилась: каталазы – на 17,9% ($p < 0,001$); глутатионредуктазы – на 16,2% ($p < 0,05$); СОД – на 23,0% ($p < 0,001$), а концентрация церулоплазмина достоверно уменьшилась.

Через 5 суток после 6-часового ЭБС на фоне коррекции ЦП активности ферментов антиоксидантной защиты в ткани костного мозга по сравнению с 6-часовым ЭБС и пяти суток после него достоверно увеличились.

Через 5 суток после 6-часового ЭБС на фоне коррекции ЦП активности ферментов антиоксидантной защиты в ткани костного мозга по сравнению с контролем + ЦП уменьшилась: каталазы – на 19,5% ($p < 0,001$); глутатионредуктазы – на 16,3% ($p < 0,05$); активность СОД уменьшилась на 23,0% ($p < 0,001$), а концентрация церулоплазмина – на 8,9% ($p < 0,001$);.

4.2. Показатели эритропоэза в костном мозге животных, перенесших эмоционально-болевой стресс, на фоне предварительного введения церулоплазмина

Механизмы регуляции эритропоэза, несмотря на наличие достаточно большого количества сообщений о роли местных и дистантных, специфических и неспецифических факторов, по-прежнему привлекают внимание многих исследователей [28; 43; 60; 73; 74; 95; 163; 164; 172; 218; 262]. Изучение регуляции эритропоэза в условиях нормы и патологии остается одной из актуальных проблем теоретической и практической гематологии. Большое количество публикаций посвящено механизмам цитокиновой либо специфической эритропоэтин-зависимой регуляции эритропоэза. Лишь

небольшое количество работ освещает влияние на эритропоэз биологически активных соединений, обладающих многоплановым действием. Одной из групп подобных веществ является семейство белков острой фазы, концентрация которых изменяется в крови при воздействии стресса или при повреждении. В частности, одним из последних увеличивается содержание и активность церулоплазмينا (ЦП). Установлено, что ЦП обладает оксидазной, антиокислительной и противовоспалительной активностями, принимает участие в обмене меди и железа, является иммуномодулятором [2; 36; 94; 129].

Полифункциональность ЦП и участие гликопротеина в различных видах обмена не позволяют однозначно оценить его истинную физиологическую и патофизиологическую роль в организме. В литературе имеются сведения о наличии у ЦП эритропоэтического эффекта и о клиническом применении ЦП у больных с апластической анемией [22; 268].

В 1993 году НПО «Иммунопрепарат» разработал технологию получения лекарственной формы ЦП из неиспользуемых фракций выделения альбумина и иммуноглобулина. В.В. Саломатиным, А.Г. Рассохиным (1998) был показан защитный эффект препарата относительно эритрона при ожоговой травме [128].

Однако отсутствуют работы, посвященные изучению механизма влияния ЦП на эритропоэз при действии ЭБС. Раскрытие патогенеза эритропоэтического эффекта препарата может способствовать определению роли эндогенного ЦП в регуляции эритропоэза в организме при нарушениях кроветворения, вызванных действием стрессирующих факторов, а кроме того, позволит патогенетически обосновать расширение показаний для применения лекарственной формы ЦП с целью стимуляции эритропоэза при различных патологических состояниях.

В исследованиях Е.В. Климовой (2001) [64] впервые показано, что белок острой фазы ЦП, наряду с многочисленными биоло-

гическими эффектами, обладает прямым эритропоэтическим действием, не зависящим или мало зависящим от уровня эритропоэтина. Эритропоэтический эффект ЦП, по мнению автора, является результатом стимуляции пролиферации и дифференцировки эритроидных элементов, что проявляется в повышении количества эритробластических островков за счет островков пролиферирующих классов, повышением относительного содержания эритробластов, пронормобластов и базофильных нормобластов, снижением лейкоэритробластического отношения в костном мозге. Е.В. Климова [64] показала, что введение ЦП при острой постгеморрагической и гемолитической анемиях способствует более эффективному восстановлению центрального и периферического отделов эритрона. Для стимуляции эритропоэза достаточно одного применения препарата, ЦП рекомендуется к применению при кровопотерях. Антианемический эффект связан с защитным действием ЦП по отношению к мембранам эритроцитов. Развитие острой постгеморрагической и гемолитической анемии сопровождается относительным дефицитом ЦП. Можно предполагать, что антианемическое действие ЦП может быть реализовано через стабилизацию эритроцитарных мембран, влияние на обмен железа, синтез гема, пролиферацию и дифференцировку эритроидных клеток, а также через изменение микроокружения.

4.2.1. Показатели периферической крови и костномозгового кроветворения у животных, перенесших эмоционально-болевого стресс, на фоне предварительного введения церулоплазмина

Влияние предварительного введения церулоплазмина на содержание эритроцитов и ретикулоцитов в периферической крови представлены на рис. 14. В результате применения ЦП после 1-часового ЭБС количество эритроцитов в периферической крови

увеличилось на 7,98% ($p < 0,01$), число ретикулоцитов – на 20,01% ($p < 0,01$) по сравнению с 1-часовым ЭБС. По сравнению с «контролем + ЦП» после 1-часового ЭБС количество эритроцитов в периферической крови достоверно не изменилось, а число ретикулоцитов увеличилось на 45,02% ($p < 0,001$).

В результате применения ЦП после 6-часового ЭБС количество эритроцитов в периферической крови увеличилось на 10,94% ($p < 0,01$), число ретикулоцитов – на 24,79% ($p < 0,001$) по сравнению с 6-часовым ЭБС. По сравнению с «контролем + ЦП» после 6-часового ЭБС количество эритроцитов в периферической крови недостоверно увеличилось, число ретикулоцитов – на 62,48% ($p < 0,001$).

Изменения периферического отдела эритрона после 6-часового ЭБС являются реакцией на острый стресс. Данная реакция является результатом ускоренного созревания эритроидных клеток в ЭО в ответ на стрессорное воздействие. Под влиянием церулоплазмينا после острого стресса наблюдается мобилизация костномозговых ретикулоцитов и эритроцитов в периферическую кровь.

В результате предварительного введения ЦП через 2 часа после 6-часового ЭБС количество эритроцитов в периферической крови увеличилось на 11,49% ($p < 0,01$), число ретикулоцитов – на 25,99% ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичными показателями через 2 часа после 6-часового ЭБС. По сравнению с «контролем + ЦП» через 2 часа после 6-часового ЭБС количество эритроцитов в периферической крови увеличилось на 6,47% ($p < 0,05$), число ретикулоцитов – на 67,28% ($p < 0,001$).

В результате предварительного введения ЦП через сутки после 6-часового ЭБС количество эритроцитов в периферической крови увеличилось на 15,03% ($p < 0,01$), число ретикулоцитов – на 29,99% ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичными показателями через сутки после 6-часового ЭБС. По сравнению с «контролем + ЦП» через сутки после 6-часового ЭБС количество эритроцитов в

периферической крови увеличилось на 18,42% ($p < 0,01$), число ретикулоцитов – на 51,55% ($p < 0,001$).

Под воздействием предварительного введения ЦП через 2 суток после 6-часового ЭБС количество эритроцитов в периферической крови увеличилось на 13,24% ($p < 0,001$), число ретикулоцитов – на 27,09% ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичными показателями через 2 суток после 6-часового ЭБС. По сравнению с «контролем + ЦП» через 2 суток после 6-часового ЭБС количество эритроцитов в периферической крови увеличилось на 7,03% ($p < 0,05$), число ретикулоцитов – на 30,89% ($p < 0,001$).

Под воздействием предварительного введения ЦП через 5 суток после 6-часового ЭБС количество эритроцитов в периферической крови увеличилось на 10,03% ($p < 0,01$), число ретикулоцитов – на 20,30% ($p < 0,01$) по сравнению с аналогичными показателями через 5 суток после 6-часового ЭБС. По сравнению с «контролем + ЦП» через 5 суток после 6-часового ЭБС количество ретикулоцитов в периферической крови увеличилось на 12,61% ($p < 0,05$).

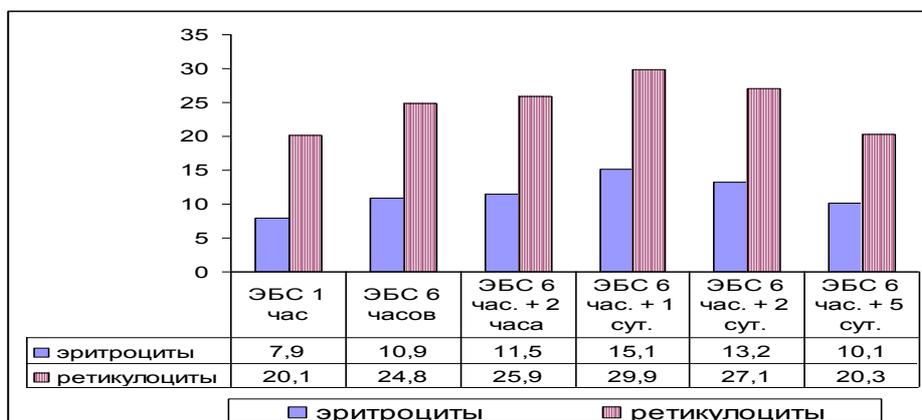


Рис. 14. Влияние введения церулоплазмينا на содержание эритроцитов и ретикулоцитов в периферической крови у животных, перенесших острый эмоционально-болевого стресс (% увеличения от соответствующего срока стресса без препарата)

Под влиянием ЦП после 1-часового ЭБС абсолютное количество миелокариоцитов ниже контроля + ЦП на 20,89% ($p < 0,001$). Под влиянием препарата абсолютное количество миелокариоцитов увеличилось на 8,20% после 1-часового ЭБС (рис. 15).

После 1-часового ЭБС под влиянием ЦП количество ядросодержащих клеток эритроидного ряда увеличено на 7,80%, а неэритроидных клеток на 8,36% на фоне недостоверного увеличения л/э по сравнению с 1-часовым ЭБС. По сравнению с показателями «контроль + ЦП» количество клеток эритроидного ряда уменьшено на 10,10%; неэритроидных клеток уменьшено на 24,52% ($p < 0,001$), а коэффициент л/э уменьшен на 16,16% ($p < 0,001$) (рис. 16).

Под влиянием ЦП после 6-часового ЭБС абсолютное количество миелокариоцитов ниже контроля с ЦП на 27,58% ($p < 0,001$) и выше на 9,56% ($p < 0,05$) по сравнению с аналогичным сроком ЭБС.

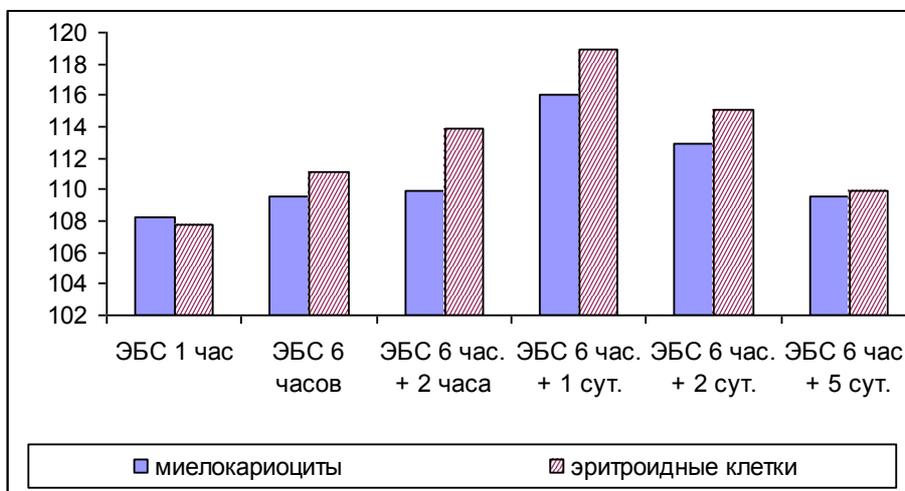


Рис. 15. Влияние предварительного введения церулоплазмينا на содержание миелокариоцитов и ядросодержащих эритроидных клеток (в % от соответствующего срока стресса без препарата, который принят за 100%) костного мозга животных, перенесших эмоционально-болевой стресс

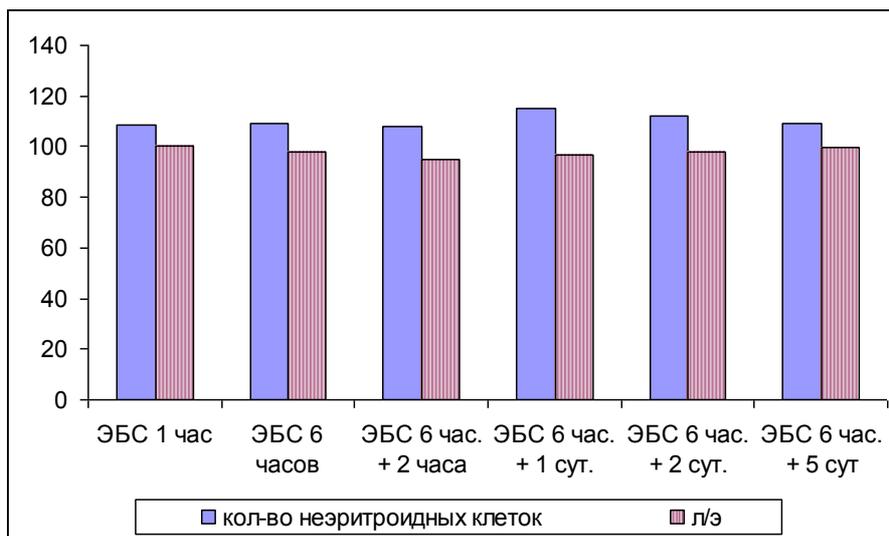


Рис. 16. Влияние предварительного введения церулоплазмينا на лейкоэритроцитарный коэффициент и содержание незритроидных клеток (в % от соответствующего срока стресса без препарата, который принят за 100%) костного мозга животных, перенесших эмоционально-болевого стресс

По сравнению с показателями «контроль + ЦП» в этот срок количество клеток эритроидного ряда уменьшено на 15,08% ($p < 0,05$); незритроидных клеток – на 31,79% ($p < 0,001$), а коэффициент л/э уменьшен на 19,87% ($p < 0,001$).

После 6-часового ЭБС под влиянием ЦП количество ядродержащих клеток эритроидного ряда увеличено на 11,01% ($p < 0,05$), а незритроидных клеток на 8,97% на фоне недостоверного уменьшения на 2,06% коэффициента л/э по сравнению с 6-часовым ЭБС.

Под влиянием ЦП через два часа после 6-часового ЭБС абсолютное количество миелокариоцитов ниже контроля с ЦП на 32,00% ($p < 0,001$) и выше на 9,89% по сравнению с аналогичным сроком ЭБС.

Через два часа после 6-часового ЭБС под влиянием ЦП количество ядродержащих клеток эритроидного ряда увеличено на

13,99% ($p < 0,001$), а незэритроидных клеток на 8,19% на фоне недостоверного уменьшения коэффициента л/э по сравнению с аналогичным сроком стресса. По сравнению с показателями «контроль + ЦП» количество клеток эритроидного ряда уменьшено на 17,69% ($p < 0,05$); незэритроидных клеток – на 36,82% ($p < 0,001$), а коэффициент л/э уменьшен на 23,23% ($p < 0,001$) в этот период.

Под влиянием ЦП через сутки после 6-часового ЭБС абсолютное количество миелокариоцитов выше контроля с ЦП на 21,27% ($p < 0,01$) и на 16,00% ($p < 0,05$) выше по сравнению с аналогичным сроком ЭБС.

Через сутки после 6-часового ЭБС под влиянием ЦП количество ядросодержащих клеток эритроидного ряда увеличено на 18,89% ($p < 0,05$), а незэритроидных клеток на 15,09% ($p < 0,01$) на фоне уменьшения на 3,13% коэффициента л/э по сравнению с аналогичным сроком стресса. По сравнению с показателями «контроль + ЦП» количество клеток эритроидного ряда увеличено на 17,75% ($p < 0,01$); незэритроидных клеток – на 22,45% ($p < 0,01$), а коэффициент л/э недостоверно увеличен в этот период.

Под влиянием ЦП через 2 суток после 6-часового ЭБС абсолютное количество миелокариоцитов выше контроля с ЦП на 13,39% ($p < 0,05$) и на 12,99% ($p < 0,05$) выше по сравнению с аналогичным сроком ЭБС.

Через 2 суток после 6-часового ЭБС под влиянием ЦП количество ядросодержащих клеток эритроидного ряда увеличено на 15,01% ($p < 0,05$), а незэритроидных клеток на 12,34% ($p < 0,05$) на фоне недостоверного уменьшения коэффициента л/э по сравнению с аналогичным сроком стресса. По сравнению с показателями «контроль + ЦП» количество клеток эритроидного ряда увеличено на 12,29% ($p < 0,05$); незэритроидных клеток – на 13,77% ($p < 0,05$).

Через 5 суток после 6-часового ЭБС под влиянием ЦП количество ядросодержащих клеток эритроидного ряда увеличено на

9,99% ($p < 0,05$), а незритроидных клеток на 9,34% ($p < 0,05$) на фоне недостоверного уменьшения коэффициента л/э по сравнению с аналогичным сроком стресса.

4.2.2. Содержание и классы зрелости эритробластических островков костного мозга животных, перенесших эмоционально-болевой стресс, на фоне предварительного введения церулоплазмينا

Под влиянием ЦП после 1-часового ЭБС абсолютное число ЭО на бедро увеличено на 14,59% ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичным сроком стресса. По сравнению с данными «контроль + ЦП» этот показатель уменьшился на 7,94% ($p < 0,05$) (рис. 17).

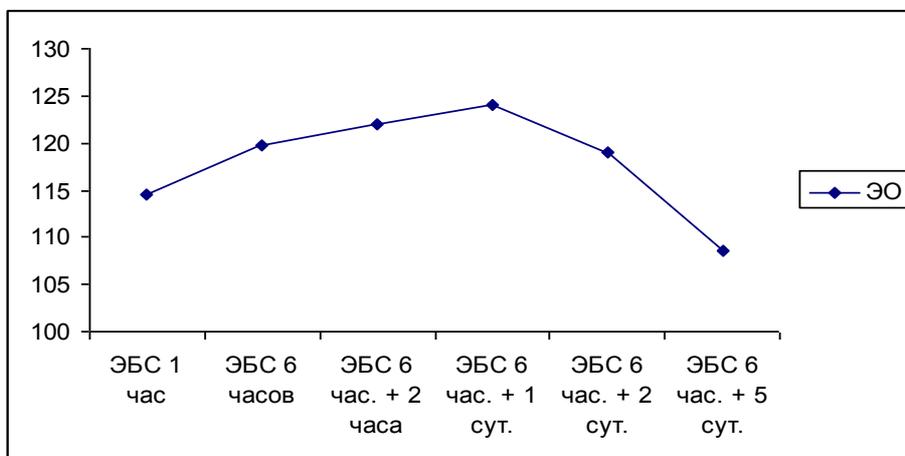


Рис. 17. Влияние предварительного введения церулоплазмينا на число эритробластических островков (ЭО) (в % от соответствующего срока стресса без препарата, который принят за 100%) костного мозга животных, перенесших эмоционально-болевой стресс

После 1-часового ЭБС количество ЭО₁, ЭО₂, ЭО₃ классов зрелости, ЭОрек (в процентах) под влиянием ЦП увеличилось

соответственно на 28,96% ($p < 0,001$); 39,98% ($p < 0,001$); 13,49% ($p < 0,01$); 19,96% ($p < 0,001$); а количество ЭОинв уменьшилось на 33,42% ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичным сроком ЭБС. По сравнению с «контролем + ЦП» количество ЭО 1, 2 классов зрелости и ЭОрек (в процентах) уменьшилось соответственно на 32,98% ($p < 0,001$); 16,48% ($p < 0,05$); 57,89% ($p < 0,001$); количество ЭО₃ класса зрелости и ЭОинв увеличилось соответственно на 49,74% ($p < 0,001$) и 59,73% ($p < 0,001$) (рис. 18).

После 1-часового ЭБС абсолютное количество ЭО₁, ЭО₂, ЭО₃ классов зрелости, ЭОрек под влиянием ЦП увеличилось соответственно на 47,84% ($p < 0,001$); 60,41% ($p < 0,001$); 30,08% ($p < 0,05$); 37,47% ($p < 0,01$), а абсолютное количество ЭОинв уменьшилось на 23,68% ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичным сроком ЭБС. По сравнению с «контролем + ЦП» абсолютное количество ЭО 1, 2 классов зрелости и ЭОрек уменьшилось соответственно на 38,29% ($p < 0,001$); 23,12% ($p < 0,001$); 61,25% ($p < 0,001$); абсолютное количество ЭО 3 класса зрелости и ЭОинв увеличилось соответственно на 37,86% ($p < 0,05$) и 47,02% ($p < 0,001$) (рис. 19).

Под влиянием ЦП после 6-часового ЭБС абсолютное число ЭО на бедро увеличено на 19,70% ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичным сроком стресса. По сравнению с данными «контроль + ЦП» этот показатель уменьшился на 12,35% ($p < 0,001$).

После 6-часового ЭБС количество ЭО₁, ЭО₂, ЭО₃ классов зрелости, ЭОрек (в процентах) под влиянием ЦП увеличилось соответственно на 32,04% ($p < 0,001$); 45,97% ($p < 0,001$); 17,01% ($p < 0,01$); 25,00% ($p < 0,05$); а количество ЭОинв уменьшилось на 36,98% ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичным сроком ЭБС. По сравнению с «контролем + ЦП» количество ЭО 1, 2 классов зрелости и ЭОрек (в процентах) уменьшилось соответственно на 21,38% ($p < 0,001$); 20,68% ($p < 0,05$); 71,49% ($p < 0,001$); количество ЭО₃ класса зрелости и ЭОинв увеличилось соответственно на 71,53% ($p < 0,001$) и 53,40% ($p < 0,001$).

После 6-часового ЭБС абсолютное количество ЭО₁, ЭО₂, ЭО₃ классов зрелости, ЭОрек под влиянием ЦП увеличилось соответственно на 58,07% (p<0,001); 74,74% (p<0,001); 40,07% (p<0,05); 49,69% (p<0,01), а абсолютное количество ЭОинв уменьшилось на 24,58% (p<0,001) по сравнению с аналогичным сроком ЭБС. По сравнению с «контролем + ЦП» абсолютное количество ЭО 1, 2 классов зрелости и ЭОрек уменьшилось соответственно на 31,08% (p<0,001); 30,47% (p<0,001); 75,02% (p<0,001); абсолютное количество ЭО 3 класса зрелости и ЭОинв увеличилось соответственно на 50,36% (p<0,05) и 34,44% (p<0,001).

Под влиянием ЦП через 2 часа после 6-часового ЭБС абсолютное число ЭО на бедро увеличено на 21,99% (p<0,001) по сравнению с аналогичным сроком стресса. По сравнению с данными «контроль + ЦП» этот показатель уменьшился на 16,13% (p<0,001).

Через 2 часа после 6-часового ЭБС количество ЭО₁, ЭО₂, ЭО₃ классов зрелости, ЭОрек (в процентах) под влиянием ЦП увеличилось соответственно на 33,99% (p<0,001); 48,01% (p<0,001); 19,01% (p<0,01); 28,06% (p<0,05); а количество ЭОинв уменьшилось на 40,64% (p<0,001) по сравнению с аналогичным сроком ЭБС. По сравнению с «контролем + ЦП» количество ЭО 1, 2 классов зрелости и ЭОрек (в процентах) уменьшилось соответственно на 16,04% (p<0,001); 21,81% (p<0,05); 65,52% (p<0,001); количество ЭО₃ класса зрелости и ЭОинв увеличилось соответственно на 79,05% (p<0,001) и 41,34% (p<0,001).

Через 2 часа после 6-часового ЭБС абсолютное количество ЭО₁, ЭО₂, ЭО₃ классов зрелости, ЭОрек под влиянием ЦП увеличилось соответственно на 63,50% (p<0,001); 80,56% (p<0,001); 45,19% (p<0,001); 56,22% (p<0,01), а абсолютное количество ЭОинв уменьшилось на 27,58% (p<0,001) по сравнению с аналогичным сроком ЭБС. По сравнению с «контролем + ЦП» абсолютное

количество ЭО 1, 2 классов зрелости и ЭОрек уменьшилось соответственно на 29,57% ($p<0,001$); 34,42% ($p<0,001$); 71,09% ($p<0,001$); абсолютное количество ЭО 3 класса зрелости и ЭОинв увеличилось соответственно на 50,17% ($p<0,001$) и 18,54% ($p<0,01$).

Под влиянием ЦП через сутки после 6-часового ЭБС абсолютное число ЭО на бедро увеличено на 24,00% ($p<0,001$) по сравнению с аналогичным сроком стресса. По сравнению с данными «контроль + ЦП» этот показатель увеличился на 22,87% ($p<0,001$).

Через сутки после 6-часового ЭБС количество ЭО₁, ЭО₂, ЭО₃ классов зрелости, ЭОрек (в процентах) под влиянием ЦП увеличилось соответственно на 36,96% ($p<0,001$); 51,01% ($p<0,001$); 21,37%; 31,98% ($p<0,001$); а количество ЭОинв уменьшилось на 74,32% ($p<0,001$) по сравнению с аналогичным сроком ЭБС. По сравнению с «контролем + ЦП» количество ЭО 1, 3 классов зрелости и ЭОрек (в процентах) увеличилось соответственно на 23,11% ($p<0,01$); 27,38% ($p<0,01$); 31,52% ($p<0,001$); количество ЭО₂ класса зрелости и ЭОинв уменьшилось соответственно на 4,07% и 53,99% ($p<0,001$).

Через сутки после 6-часового ЭБС абсолютное количество ЭО₁, ЭО₂, ЭО₃ классов зрелости, ЭОрек под влиянием ЦП увеличилось соответственно на 69,86% ($p<0,001$); 87,24% ($p<0,001$); 50,51% ($p<0,001$); 63,66% ($p<0,001$), а абсолютное количество ЭОинв уменьшилось на 68,16% ($p<0,001$) по сравнению с аналогичным сроком ЭБС. По сравнению с «контролем + ЦП» абсолютное количество ЭО 1, 2, 3 классов зрелости и ЭОрек увеличилось соответственно на 51,29% ($p<0,001$); 17,87% ($p<0,01$); 56,52% ($p<0,001$); 61,59% ($p<0,001$); абсолютное количество ЭОинв уменьшилось на 43,49% ($p<0,001$).

Под влиянием ЦП через 2 суток после 6-часового ЭБС абсолютное число ЭО на бедро увеличено на 19,00% ($p<0,001$) по сравнению с аналогичным сроком стресса. По сравнению с данными «контроль + ЦП» этот показатель увеличился на 15,83% ($p<0,001$).

Через 2 суток после 6-часового ЭБС количество ЭО₁, ЭО₂, ЭО₃ классов зрелости, ЭОрек (в процентах) под влиянием ЦП увеличилось соответственно на 27,37% ($p<0,01$); 44,99% ($p<0,001$); 16,01%; 25,00% ($p<0,001$); а количество ЭОинв уменьшилось на 71,63% ($p<0,001$) по сравнению с аналогичным сроком ЭБС. По сравнению с «контролем + ЦП» количество ЭО 1, 3 классов зрелости и ЭОрек (в процентах) увеличилось соответственно на 21,71% ($p<0,01$); 18,77% ($p<0,01$); 53,85% ($p<0,001$); количество ЭО₂ класса зрелости и ЭОинв уменьшилось соответственно на 8,19% и 54,69% ($p<0,001$).

Через 2 суток после 6-часового ЭБС абсолютное количество ЭО₁, ЭО₂, ЭО₃ классов зрелости, ЭОрек под влиянием ЦП увеличилось соответственно на 51,55% ($p<0,001$); 72,54% ($p<0,001$); 38,04% ($p<0,001$); 48,75% ($p<0,001$), а абсолютное количество ЭОинв уменьшилось на 66,24% ($p<0,001$) по сравнению с аналогичным сроком ЭБС. По сравнению с «контролем + ЦП» абсолютное количество ЭО 1, 2, 3 классов зрелости и ЭОрек увеличилось соответственно на 40,99% ($p<0,001$); 6,35%; 37,57% ($p<0,001$); 78,19% ($p<0,001$); абсолютное количество ЭОинв уменьшилось на 47,52% ($p<0,001$).

Через 5 суток после 6-часового ЭБС количество ЭО₁, ЭО₂, ЭО₃ классов зрелости, ЭОрек (в процентах) под влиянием ЦП увеличилось соответственно на 11,00% ($p<0,01$); 35,71% ($p<0,001$); 12,96% ($p<0,01$); 13,99% ($p<0,001$); а количество ЭОинв уменьшилось на 41,17% ($p<0,001$) по сравнению с аналогичным сроком ЭБС. По сравнению с «контролем + ЦП» количество ЭО 2, 3 клас-

сов зрелости (в процентах) уменьшилось соответственно на 8,27% ($p < 0,05$); 17,67% ($p < 0,001$); количество ЭО рек и ЭОинв увеличилось соответственно на 32,55% ($p < 0,001$) и 10,40% ($p < 0,01$).

Через 5 суток после 6-часового ЭБС абсолютное количество ЭО₁, ЭО₂, ЭО₃ классов зрелости, ЭОрек под влиянием ЦП увеличилось соответственно на 20,62% ($p < 0,05$); 47,42% ($p < 0,001$); 22,72% ($p < 0,05$); 23,84% ($p < 0,001$), а абсолютное количество ЭОинв уменьшилось на 36,09% ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичным сроком ЭБС. По сравнению с «контролем + ЦП» абсолютное количество ЭО 1,2,3 классов зрелости уменьшилось соответственно на 8,25% ($p < 0,05$); 10,70% ($p < 0,01$); 19,85% ($p < 0,01$); абсолютное количество ЭОрек и ЭОинв увеличилось соответственно на 29,03% ($p < 0,001$) и 7,45% ($p < 0,05$).

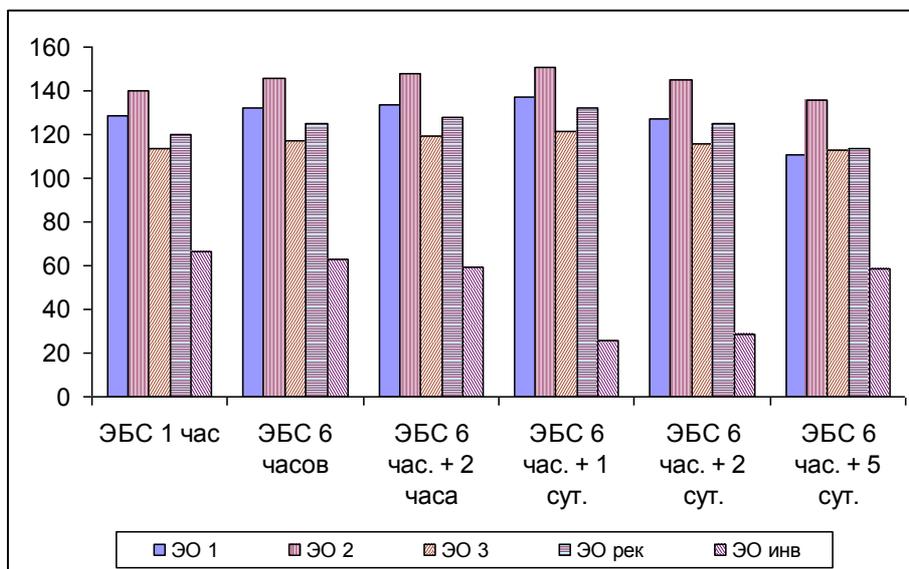


Рис. 18. Влияние предварительного введения церулоплазмينا на число эритробластических островков разных классов зрелости (в % от соответствующего срока стресса без препарата, который принят за 100%) костного мозга животных, перенесших эмоционально-болевой стресс

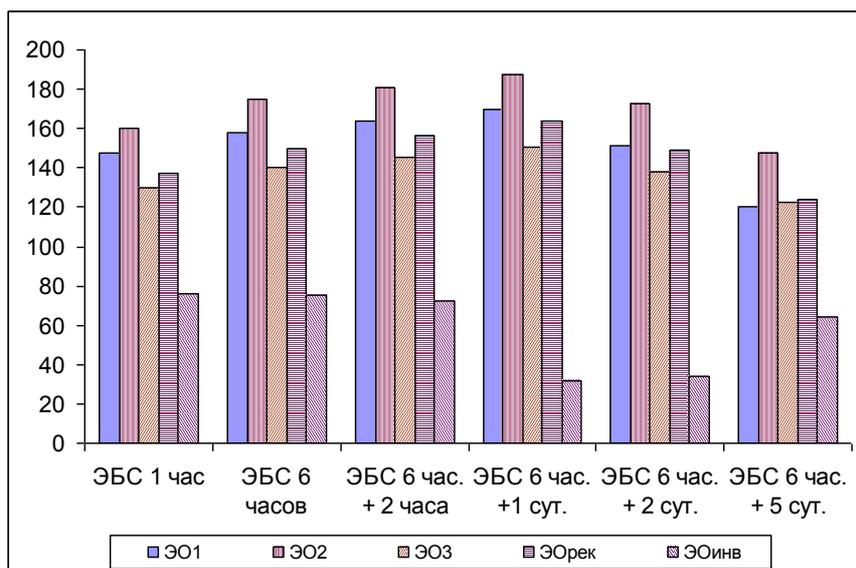


Рис. 19. Влияние предварительного введения церулоплазмينا на абсолютное количество эритробластических островков разных классов зрелости (в % от соответствующего срока стресса без препарата, который принят за 100%) костного мозга животных, перенесших эмоционально-болевого стресс

4.2.3. Расчётные функциональные показатели эритропоэза в эритробластических островках костного мозга животных, перенесших эмоционально-болевого стресс, на фоне введения церулоплазмينا

Под влиянием ЦП после 1-часового ЭБС общее количество эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку увеличилось на 15,71% ($p < 0,001$); ПИЭПД в ЭО увеличился на 43,20% ($p < 0,01$); показатель повторного вовлечения макрофагов в поддержку эритропоэза в ЭО (ППВМЭ) – на 90,91% ($p < 0,001$), показатель длительности созревания эритроидных клеток в ЭО (ПСЭО) уменьшился на 39,89% ($p < 0,001$), что свидетельствует об активации эритропоэза в костном мозге по сравнению с аналогичным сроком ЭБС под влиянием препарата. По сравнению с «контролем + ЦП» у

стрессированных крыс на фоне введения церулоплазмина общее число эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку, уменьшилось на 14,72% ($p < 0,001$); ПИЭПД в ЭО уменьшился на 50,79% ($p < 0,001$); ППВМЭ – на 73,08% ($p < 0,001$), а ПСЭО в ЭО увеличился в 2,2 раза ($p < 0,001$) (рис. 20).

Под влиянием ЦП после 6-часового ЭБС общее количество эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку увеличилось на 20,66% ($p < 0,001$); ПИЭПД в ЭО увеличился на 55,44% ($p < 0,001$); ППВМЭ – в 2,1 раза ($p < 0,001$), ПСЭО в ЭО уменьшился на 42,33% ($p < 0,01$), что свидетельствует об активации эритропоэза в костном мозге по сравнению с аналогичным сроком ЭБС под влиянием препарата. По сравнению с «контролем + ЦП» у стрессированных крыс на фоне введения церулоплазмина общее число эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку, уменьшилось на 20,31% ($p < 0,01$); ПИЭПД в ЭО уменьшился на 55,02% ($p < 0,001$); ППВМЭ – на 80,77% ($p < 0,001$), а ПСЭО в ЭО увеличился в 2,4 раза ($p < 0,001$).

Под влиянием ЦП через 2 часа после 6-часового ЭБС общее количество эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку увеличилось на 23,29% ($p < 0,01$); ПИЭПД в ЭО увеличился на 61,03% ($p < 0,01$); ППВМЭ – в 2,1 раза ($p < 0,001$), ПСЭО в ЭО уменьшился на 44,08% ($p < 0,01$), что свидетельствует об активации эритропоэза в костном мозге по сравнению с аналогичным сроком ЭБС под влиянием препарата. По сравнению с «контролем + ЦП» у стрессированных крыс на фоне введения церулоплазмина общее число эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку, уменьшилось на 23,12% ($p < 0,01$); ПИЭПД в ЭО уменьшился на 52,19% ($p < 0,001$); ППВМЭ – на 75,64% ($p < 0,001$), а ПСЭО в ЭО увеличился в 2,2 раза ($p < 0,001$).

Под влиянием ЦП через сутки после 6-часового ЭБС общее количество эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку увеличилось на 29,03% ($p < 0,01$); ПИЭПД в ЭО увеличился

на 66,32% ($p < 0,001$); ППВМЭ – в 5,2 раза ($p < 0,001$), ПСЭО в ЭО уменьшился на 60,61% ($p < 0,001$), что свидетельствует об активации эритропоэза в костном мозге по сравнению с аналогичным сроком ЭБС под влиянием препарата. По сравнению с «контролем + ЦП» у стрессированных крыс на фоне введения церулоплазмина общее число эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку, увеличилось на 27,79% ($p < 0,01$); ПИЭПД в ЭО увеличился на 56,91% ($p < 0,001$); ППВМЭ – в 2,9 раза ($p < 0,001$), а ПСЭО в ЭО уменьшился на 25,00% ($p < 0,01$).

Под влиянием ЦП через 2 суток после 6-часового ЭБС общее количество эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку увеличилось на 23,52% ($p < 0,01$); ПИЭПД в ЭО увеличился на 49,85% ($p < 0,01$); ППВМЭ – в 4,4 раза ($p < 0,001$), ПСЭО в ЭО уменьшился на 55,95% ($p < 0,001$), что свидетельствует об активации эритропоэза в костном мозге по сравнению с аналогичным сроком ЭБС под влиянием препарата. По сравнению с «контролем + ЦП» у стрессированных крыс на фоне введения церулоплазмина общее число эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку, увеличилось на 23,76% ($p < 0,01$); ПИЭПД в ЭО увеличился на 61,27% ($p < 0,001$); ППВМЭ – в 3,4 раза ($p < 0,001$), а ПСЭО в ЭО уменьшился на 28,85% ($p < 0,01$).

Под влиянием ЦП через 5 суток после 6-часового ЭБС общее количество эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку увеличилось на 10,83% ($p < 0,01$); ПИЭПД в ЭО увеличился на 22,62% ($p < 0,01$); ППВМЭ – на 95,83% ($p < 0,001$), ПСЭО в ЭО уменьшился на 41,86% ($p < 0,01$), что свидетельствует об активации эритропоэза в костном мозге по сравнению с аналогичным сроком ЭБС под влиянием препарата. По сравнению с «контролем + ЦП» у стрессированных крыс на фоне введения церулоплазмина общее число эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку, недостоверно увеличилось на 1,37%; ПИЭПД в ЭО увеличился на 12,06% ($p < 0,05$); ППВМЭ – на 20,51% ($p < 0,01$), а ПСЭО в ЭО уменьшился на 3,85%.

Таким образом, после 6-часового ЭБС усиливалась тенденция к угнетению костномозгового кроветворения по сравнению с 1-часовым ЭБС, но применение церулоплазмина способствовало активации эритропоэза.

Увеличение показателя длительности созревания нормобластов в ЭО в течение всего острого стресса и 2 часов после 6-часового ЭБС свидетельствовало о преобладании зрелых форм ЭО над пролиферирующими, что указывало на замедление процессов новообразования эритроцитов. Под влиянием церулоплазмина процесс новообразования эритроидных клеток активизировался.

Через 1–5 суток после 6-часового ЭБС произошла нормализация нарушенного в результате острого стресса дополнительного вовлечения макрофагов в эритропоэз, эритроидных прекурсоров в дифференцировку в ЭО, а применение церулоплазмина ускорило эти процессы.

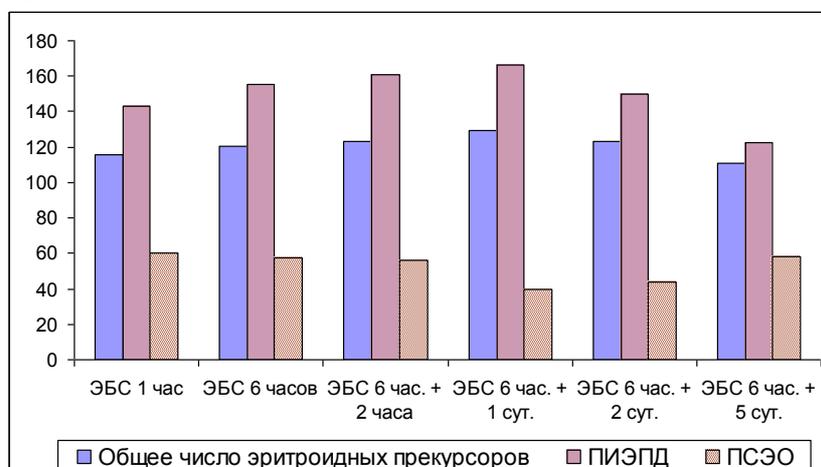


Рис. 20. Влияние предварительного введения церулоплазмина на расчётные функциональные показатели эритропоэза в эритробластических островках (в % от соответствующего срока стресса без препарата, который принят за 100%) костного мозга животных, перенесших эмоционально-болевой стресс: общее число эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку; ПИЭПД – показатель интенсивности вовлечения эритроидных прекурсоров в дифференцировку; ПСЭО – показатель длительности созревания ЭО

4.2.4. Влияние введения церулоплазмينا на показатели парциальной эритрограммы костного мозга животных, подвергнутых действию эмоционально-болевого стресса

После 1-часового ЭБС под влиянием ЦП количество проэритробластов и эритробластов в костном мозге по сравнению с «контролем + ЦП» уменьшилось на 30,30% ($p < 0,01$); число базофильных нормобластов – на 16,52% ($p < 0,05$); количество полихроматофильных нормобластов увеличилось на 15,92% ($p < 0,001$); число оксифильных нормоцитов увеличилось на 13,92% ($p < 0,05$) (рис. 21).

После 6-часового ЭБС под влиянием ЦП количество проэритробластов и эритробластов в костном мозге увеличилось на 12,50% ($p < 0,05$); число базофильных нормобластов – на 7,06%; количество полихроматофильных нормобластов – на 6,01%; число оксифильных нормоцитов – на 3,96% по сравнению с 6-часовым ЭБС.

После 6-часового ЭБС под влиянием ЦП количество проэритробластов и эритробластов в костном мозге по сравнению с «контролем + ЦП» уменьшилось на 18,18% ($p < 0,05$); число базофильных нормобластов – на 11,39% ($p < 0,01$); количество полихроматофильных нормобластов увеличилось на 40,96% ($p < 0,001$); число оксифильных нормоцитов увеличилось на 19,49% ($p < 0,05$).

Через 2 часа после 6-часового ЭБС под влиянием церулоплазмينا количество проэритробластов и эритробластов в костном мозге увеличилось на 16,00% ($p < 0,05$); число базофильных нормобластов на 9,03%; количество полихроматофильных нормобластов – на 6,75% по сравнению с аналогичным сроком стресса.

Через 2 часа после 6-часового ЭБС под влиянием ЦП количество проэритробластов и эритробластов в костном мозге по сравнению с «контролем + ЦП» уменьшилось на 12,12% ($p < 0,05$);

число базофильных нормобластов – на 7,12% ($p < 0,05$); количество полихроматофильных нормобластов увеличилось на 46,07% ($p < 0,001$); число оксифильных нормоцитов увеличилось на 20,63% ($p < 0,05$).

Через сутки после 6-часового ЭБС под влиянием ЦП количество проэритробластов и эритробластов в костном мозге увеличилось на 20,00% ($p < 0,05$); число базофильных нормобластов на 12,92% ($p < 0,05$); количество полихроматофильных нормобластов – на 11,00% ($p < 0,05$); число оксифильных нормоцитов – на 8,99% ($p < 0,05$) по сравнению с аналогичным сроком стресса.

Через сутки после 6-часового ЭБС под влиянием ЦП количество проэритробластов и эритробластов в костном мозге по сравнению с «контролем + ЦП» увеличилось на 27,27% ($p < 0,01$); число базофильных нормобластов – на 49,43% ($p < 0,001$); количество полихроматофильных нормобластов и оксифильных нормоцитов увеличилось соответственно на 61,34% ($p < 0,001$) и 35,06% ($p < 0,05$).

Через 2 суток после 6-часового ЭБС под влиянием ЦП количество проэритробластов и эритробластов в костном мозге увеличилось на 13,51% ($p < 0,05$); число базофильных нормобластов – на 10,99% ($p < 0,05$); количество полихроматофильных нормобластов – на 8,98% ($p < 0,05$); число оксифильных нормоцитов – на 7,04% ($p < 0,05$) по сравнению с аналогичным сроком стресса.

Через 2 суток после 6-часового ЭБС под влиянием ЦП количество проэритробластов и эритробластов в костном мозге по сравнению с «контролем + ЦП» увеличилось на 27,27% ($p < 0,01$); число базофильных нормобластов – на 55,27% ($p < 0,001$); количество полихроматофильных нормобластов и оксифильных нормоцитов увеличилось соответственно на 26,47% ($p < 0,01$) и 17,34% ($p < 0,05$).

Через 5 суток после 6-часового ЭБС под влиянием ЦП количество проэритробластов и эритробластов в костном мозге по

сравнению с «контролем + ЦП» увеличилось на 12,12% ($p < 0,05$); число базофильных нормобластов – на 8,97% ($p < 0,05$); количество полихроматофильных нормобластов увеличилось на 8,65% ($p < 0,01$).

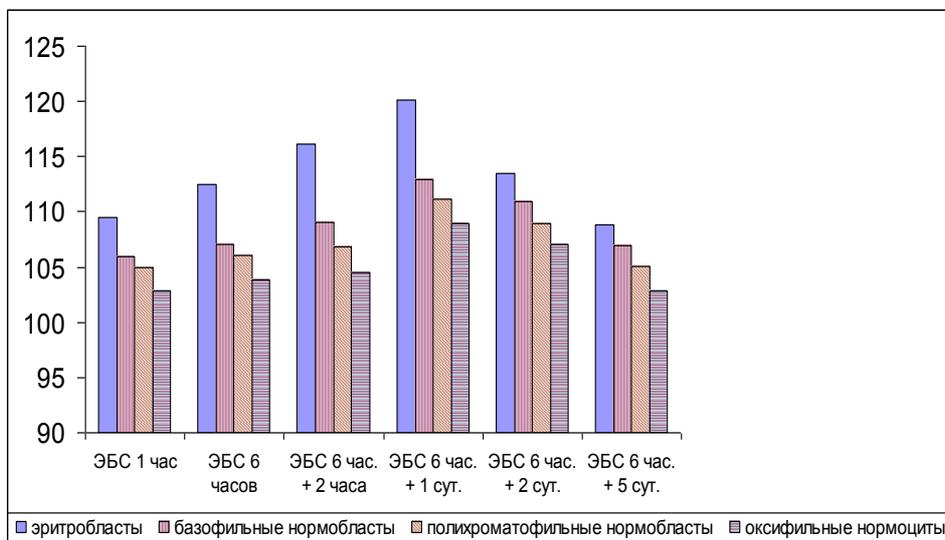


Рис. 21. Влияние предварительного введения церулоплазмينا на показатели парциальной эритрограммы (в % от соответствующего срока стресса без препарата, который принят за 100%) костного мозга животных, перенесших эмоционально-болевого стресс

4.3. Влияние предварительного введения эритропоэтина на показатели эритропоэза в костном мозге крыс после эмоционально-болевого стресса

В связи с синтезом эритропоэтического фактора роста – рекомбинантного эритропоэтина (РЭПО) *in vitro* появилась возможность эффективно и безопасно регулировать эритропоэз. Основным источником образования ЭПО у взрослых являются почки, у плода и

новорожденных – печень, а регуляция данного процесса осуществляется м-РНК [185; 190; 202; 267]. Клетки, которые синтезируют до 90% ЭПО (эпоциты), представляют собой интерстициальные фибробласты в корковом слое почек, они непосредственно примыкают к эпителию проксимальных канальцев почек. Остальная часть ЭПО вырабатывается гепатоцитами и печеночными фибробластоподобными клетками – так называемыми «Ito-клетками» [185; 209].

В ряде клинических и экспериментальных исследований было показано, что ЭПО является мультифункциональным трофическим фактором, который имеет различные сайты экспрессии, специфическую тканевую регуляцию и ряд различных механизмов воздействия. Следует указать, что функциональные рецепторы к ЭПО были найдены не только на мембранах клеток красного ростка костного мозга, но и на клетках миелоидного ряда, лимфоцитах, мегакариоцитах, а также на эндотелиальных, мезангиальных, миокардиальных, гладкомышечных клетках и нейронах [204]. Помимо этого, идентифицированы и другие участки (сайты) ЭПО-продукции: матка и головной мозг, в которых экспрессия ЭПО также имеет тканевую специфичность [205]. Эритропоэтин является кислым гликопротеидом, состоящим из цепи 165 аминокислот и карбоангидратной части, и активно гликозилирован [185; 210]. Последняя состоит из одного О- и трех N-связанных олигосахаридов, на концах которых находятся сиаловые группы, обеспечивающие биологическую активность всей молекулы. Молекула ЭПО имеет молекулярную массу 30400 дальтон; время биологического полураспада у человека – 6–8 часов. Запасов ЭПО в организме не обнаружено. Образование ЭПО не индуцируется посредством нервной или гуморальной регуляции [190; 226]. Главным фактором, который регулирует продукцию эритропоэтина в организме, является гипоксия. Так, в условиях гипоксии количество

циркулирующего в плазме ЭПО возрастает примерно в 1000 раз. В ответ на снижение кислорода фактор индукции гипоксии (HIF-1alpha) активирует выработку ЭПО [202; 233]. Механизм заключается в том, что гипоксия приводит к снижению уровня кислорода в специфических сенсорных клетках почек, что вызывает усиление продукции простагландинов в клубочковых клетках. Индукция активности фосфолипазы A_2 в условиях гипоксии приводит к возрастанию уровня арахидонатов, которые при участии циклооксигеназы превращаются в эндопероксиды. Существенно, что ЭПО, в свою очередь, имеет прямое влияние на метаболизм арахидоновой кислоты, осуществляемый липоксигеназной системой в нормальных эритроидных предшественниках из печени эмбриона мыши [270]. Возможно, ионы кальция стимулируют активность фосфолипазы A_2 и образование простагландина. Взаимодействие ЭПО с мембраной клетки – кальций-зависимый процесс. Стимулирует биосинтез эритропоэтина ряд гормонов гипоталамо-гипофизарной системы: тиреоидные и некоторые стероидные гормоны [185; 237; 259]. При связывании ЭПО с его рецептором, активизируется Jak2-тирозинкиназа, что приводит к запуску различных внутриклеточных путей, обеспечивающих функцию клеток эритроидного ряда. На эритролейкемических клетках из селезенки мышей обнаружено наличие специфических сайтов связывания эритропоэтина (до 660 сайтов связывания равной 5,2 нМ на одну клетку). Большинство клеток претерпевают эритроидную дифференцировку при концентрации эритропоэтина 0,06 нМ, при этом может связаться в среднем 8 молекул эритропоэтина на мембране одной клетки [204]. В последние годы выявлено, что влияние эритропоэтина не ограничивается только эритроидными клетками, но распространяется на структуры, формирующие архитектуру костного мозга. Этот гормон вызывает сокращение адвентициальных клеток, которые покрывают большую часть стенки венозных кост-

номозговых синусов, превращение трехслойной ее структуры в однослойную, увеличение в ней размера и числа пор, что в конечном счете уменьшает костномозговой гематопаренхиматозный барьер и облегчает миграцию клеток в общую систему циркуляции [131].

В настоящее время препарат эритропоэтина широко применяется для лечения больных, находящихся на гемодиализе, для лечения анемий разной этиологии, например при беременности, онкологических заболеваниях, в том числе и множественной миеломы [236; 264]. В хирургической практике ЭПО используется для предотвращения анемии, возникающей при аутологических переливаниях крови, препарат также эффективен для индукции эритропоэза после химио- и радиотерапии.

Эритропоэтин обладает кардиопротекторными свойствами, в частности, при сердечной недостаточности. В частности, ЭПО способствует антиапоптозу эндотелия, редуцированию гипертрофии левого желудочка, увеличению толерантности к физической нагрузке у больных с хронической сердечной недостаточностью [243]. В исследованиях показано, что у пациентов с хронической почечной недостаточностью лечение анемии ЭПО приводит к уменьшению гипертрофии левого желудочка, предотвращению дилатации левого желудочка [243]. Улучшение сердечной функции может быть объяснено непосредственным эффектом, который ЭПО оказывает на функцию миокарда, на рост его клеток и улучшение функции эндотелия. В опытах на сердцах крыс показано, что лечение ЭПО приводит к улучшению коронарной перфузии, что приводит к уменьшению конечного диастолического давления в левом желудочке и улучшению его систолической функции.

Показано, что ЭПО может обладать внутриклеточной сигнальной трансдукцией через путь, включающий ядерный фактор NF- κ B. Показано, что однократная инъекция 3000 МЕ/кг ЭПО

приводила к увеличению экспрессии Hsp70 и минимизации NF-κB в миокарде крыс, что обуславливало уменьшение размеров зоны инфаркта, а однократная инъекция 5000 МЕ/кг ЭПО значительно защищала инфарктную зону, снижала TNF-α и IL-6 экспрессию и повышало продукцию ИЛ-10. И наконец, ЭПО обладает защитными тканевыми эффектами и предотвращает развитие недостаточности печени и повреждение почечной ткани, которое развивается вследствие ишемии и воспаления [267]. Показано, что ЭПО играет как нейротрофическую и нейропротективную роль (например, при гипоксии, кровоизлиянии в мозг) на различных моделях нейродегенеративных заболеваний, включая экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит, церебральную ишемию, диабетическую нейропатию, так и выполняет функции нейротрансмиттера, обеспечивая синаптическую пластичность в головном мозге у взрослых людей, способствуя восстановлению нервной ткани после экспериментального повреждения [218].

Особый интерес представляют данные о способности макрофагов продуцировать ЭПО. Связь продукции ЭПО-макрофагами с процессом фагоцитоза чужеродных частиц может указывать на участие данного эритроидного цитокина в процессе иммуногенеза через прямые и через опосредованные механизмы. В частности, ЭПО может выступать в роли регулятора эритропоэз модулирующей функции макрофагов. Обнаружено, что введение ЭПО крысам, которым предварительно были сделаны инъекции циклофосфамида, способствовало более быстрому восстановлению эритропоэза на фоне формирования в костном мозге ЭО. При этом наблюдалось повышение активности макрофагов внутри островков. Высказано предположение о стимулирующем влиянии ЭПО на эритропоэз – повышающую активность макрофагов с учётом наличия рецепторов к ЭПО на макрофагах. Кроме того, с действием ЭПО на макрофаги связан феномен нецитотоксического (деструкции молодых форм эритроцитов), который зарегистрирован у

астронавтов, жителей высокогорных районов и почечных больных. При этом снижение уровня ЭПО в культуральной среде обусловило повышение проницаемости эндотелиальных клеток селезёнки человека с последующим увеличением нецитотозиса [66; 67].

Рассмотрим передачу эритропоэтического сигнала от рецептора к геному клетки. Способность рецептора эритропоэтина активировать транскрипцию гена глобина, его α и β - цепей, усиливать пролиферацию и дифференциацию эритропоэтин-чувствительных клеток опосредуется через транскрипционные факторы, которые находятся в неактивном состоянии в цитозоле клетки и активируются рецептором после его взаимодействия с гормоном. К таким факторам относят ядерные факторы NF-E1 (обозначаемые также как GF-1, Eryf-1, GATA-1), NF-E2, NF-KB/REL и STAT-5. Рецептор эритропоэтина утратил специфическую тирозинпротеиназную активность. Такой активностью в цитоплазме эритропоэтинчувствительной клетки обладают члены семьи тирозиновых киназ (Janus-киназ) – Jak-2 и член семьи Src-тирозинкиназ – Lyn [195]. В физиологических условиях Jak-киназы формируют неактивные комплексы с рецептором цитокинов. Взаимодействие молекулы эритропоэтина с двумя его рецепторами на клетке (димеризация рецепторов) стимулирует тирозиновую протеиназную активность Jak-2, которая сопровождается фосфорилированием тирозиновых остатков в цитоплазме и в самом рецепторе [270]. Следствием фосфорилирования тирозиновых остатков является активация в цитоплазме клетки STAT-5, представителя семьи латентных цитоплазматических транскрипционных факторов, которые называются сигнальными трансдукторами, и активаторов транскрипции (STAT) в гемопоэтических клетках. Всего выявлено шесть членов этой семьи (STAT-1 – STAT-6), но сигнальным трансдуктором активации эритроидной транскрипции является лишь STAT-5. При этом цитоплазматическая область активированного эритропоэтинового рецептора избирательно взаи-

модельствует с латентными, нефосфорилированными молекулами STAT-5 и фосфорилирует их. Существенно, что это взаимодействие осуществляется между специфическими тирозиновыми остатками рецептора эритропоэтина (или цитоплазмы) – Y-1 и Y-8, фосфорилированными тирозинкиназой Jak-2, и SH-2 доменом STAT-5 на участке карбоксильного окончания последнего. Фосфорилированные две молекулы STAT-5 отделяются от рецептора, образуют гомодимер и транслоцируются в ядро, где связываются со специфическими последовательностями ДНК, которые регулируют эритроидную специализацию клетки. Следовательно, эритроидная дифференциация представляет собой согласованную работу комбинаций транскрипционных факторов NF-E1, NF-E2, NF-kB/REL, STAT-5, участвующих в активации линейноспецифических генов глобина, гема, белков цитоскелета.

Таким образом, эритропоэтин является «универсальным» тканевым протекторным цитокином, рецептор к эритропоэтину представлен во многих тканях организма. Плейотропные эффекты ЭПО, среди которых противовоспалительный, ангиогенез, анти-апоптоз, обосновывают перспективность клинического применения ЭПО при различных заболеваниях.

4.3.1. Влияние предварительного введения эритропоэтина на показатели периферической крови животных после эмоционально-болевого стресса

Эпоэтин - альфа (Рэпоэтин – ЭПО) вводили внутривенно в дозе 25 МЕ на 100 г массы тела 1 раз в сутки в течение 3 дней до опыта.

Влияние предварительного введения эритропоэтина (ЭПО) на содержание эритроцитов и ретикулоцитов в периферической крови животных представлены на рис. 22. В результате применения ЭПО после 1-часового ЭБС количество эритроцитов в

периферической крови увеличилось на 25,00% ($p < 0,001$), число ретикулоцитов – на 29,99% ($p < 0,001$) по сравнению с 1-часовым ЭБС. По сравнению с «контролем + ЭПО» после 1-часового ЭБС количество эритроцитов в периферической крови уменьшилось на 13,67% ($p < 0,001$), а число ретикулоцитов увеличилось на 8,58% ($p < 0,05$).

В результате применения ЭПО после 6-часового ЭБС количество эритроцитов в периферической крови увеличилось на 34,93% ($p < 0,001$), число ретикулоцитов – на 45,01% ($p < 0,001$) по сравнению с 6-часовым ЭБС. По сравнению с «контролем + ЭПО» после 6-часового ЭБС число ретикулоцитов увеличилось на 30,50% ($p < 0,001$).

Таким образом, под влиянием эритропоэтина после острого стресса наблюдается мобилизация костномозговых ретикулоцитов и эритроцитов в периферическую кровь.

В результате предварительного введения ЭПО через два часа после 6-часового ЭБС количество эритроцитов в периферической крови увеличилось на 40,06% ($p < 0,001$), число ретикулоцитов – на 50,01% ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичными показателями через два часа после 6-часового ЭБС. По сравнению с «контролем + ЭПО» в этот срок ЭБС количество ретикулоцитов в периферической крови увеличилось на 37,67% ($p < 0,001$) на фоне неизменного количества эритроцитов.

В результате предварительного введения ЭПО через сутки после 6-часового ЭБС количество эритроцитов в периферической крови увеличилось на 69,95% ($p < 0,001$), число ретикулоцитов – на 80,01% ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичными показателями через сутки после 6-часового ЭБС. По сравнению с «контролем + ЭПО» в этот период количество эритроцитов в периферической крови увеличилось на 31,79% ($p < 0,001$), число ретикулоцитов – на 45,06% ($p < 0,001$).

Под воздействием предварительного введения ЭПО через 2 суток после 6-часового ЭБС количество эритроцитов в периферической крови увеличилось на 55,06% ($p < 0,001$), число ретикулоцитов – на 68,99% ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичными показателями в этот период после ЭБС. По сравнению с «контролем + ЭПО» через 2 суток после 6-часового ЭБС количество эритроцитов в периферической крови увеличилось на 10,38% ($p < 0,05$), число ретикулоцитов – на 20,30% ($p < 0,01$).

Под воздействием предварительного введения ЭПО через 5 суток после 6-часового ЭБС количество эритроцитов в периферической крови увеличилось на 26,02% ($p < 0,001$), число ретикулоцитов – на 30,00% ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичными показателями в этот период после ЭБС. По сравнению с «контролем + ЭПО» через 5 суток после 6-часового ЭБС количество эритроцитов и ретикулоцитов в периферической крови уменьшилось соответственно на 14,83% ($p < 0,01$) и 15,88% ($p < 0,01$).

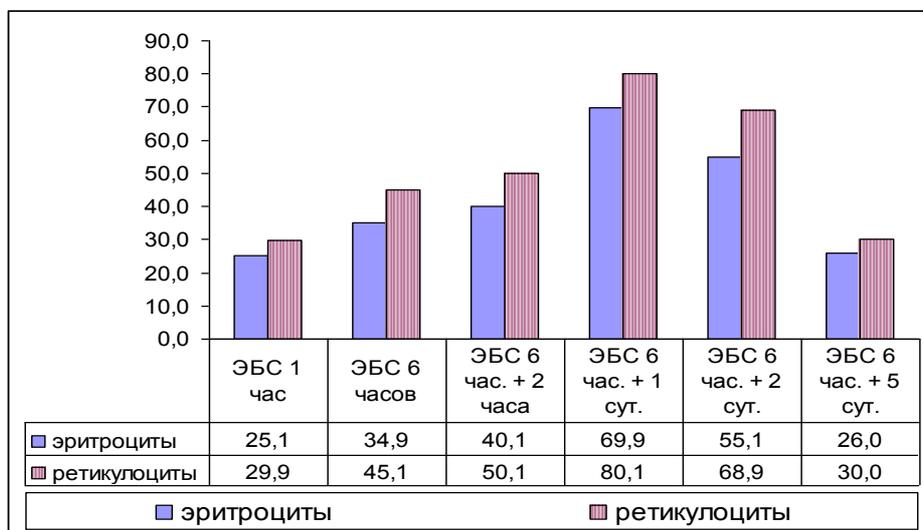


Рис. 22. Влияние введения эритропоэтина на содержание эритроцитов и ретикулоцитов (% увеличения по сравнению с соответствующим сроком ЭБС без ЭПО) в периферической крови у животных, перенесших острый эмоционально-болевой стресс

4.3.2. Показатели костномозгового кроветворения животных, перенесших эмоционально-болевой стресс, на фоне предварительного введения эритропэтина

Как следует из данных табл. 23, под влиянием ЭПО после 1-часового ЭБС абсолютное количество миелокарицитов ниже контроля с ЭПО на 26,99% ($p < 0,001$). Под влиянием препарата абсолютное количество миелокарицитов увеличилось на 18,00% ($p < 0,001$) после 1-часового ЭБС.

После 1-часового ЭБС под влиянием ЭПО количество ядросодержащих клеток эритроидного ряда увеличено на 18,01% ($p < 0,05$), а незритроидных клеток на 17,94% ($p < 0,001$) на фоне недостоверного уменьшения коэффициента л/э по сравнению с 1-часовым ЭБС. По сравнению с показателями «контроль + ЭПО» количество клеток эритроидного ряда уменьшено на 13,93% ($p < 0,05$); незритроидных клеток уменьшено на 31,21% ($p < 0,001$), а коэффициент л/э не изменился.

Таблица 23

Влияние предварительного введения эритропэтина на показатели костномозгового кроветворения животных, перенесших эмоционально-болевой стресс

Сроки / показатели	Количество миелокарицитов, 10^6 /бедро	Коэффициент лейкоэритроцитарный, ед.	Количество незритроидных клеток, $\times 10^6$ /бедро	Количество эритроидных ядросодержащих клеток, $\times 10^6$ /бедро
ЭБС 1 час	96,81±2,77	2,48±0,01	68,99±2,48	27,82±1,07
ЭБС 1 час + ЭПО	114,24±2,61	2,47±0,04	81,37±1,21	32,87±2,05
p_1	<0,001	–	<0,001	<0,05
p_2	<0,001	–	<0,001	<0,05

Окончание таблицы 23

ЭБС 6 часов	87,52±3,04	2,43±0,01	62,00±2,38	25,52±1,72
ЭБС 6 час. + ЭПО	108,52±1,74	2,35±0,04	76,11±2,66	32,41±2,17
p ₁	<0,001	–	<0,001	<0,05
p ₂	<0,001	–	<0,01	<0,05
ЭБС 6 час. + 2 часа	81,93±2,87	2,40±0,01	57,84±2,69	24,09±1,69
ЭБС 6 час. / 2 часа + ЭПО	106,51±2,08	2,35±0,04	74,72±2,62	31,79±2,41
p ₁	<0,001	–	<0,001	<0,05
p ₂	<0,001	–	<0,001	<0,05
ЭБС 6 часов + 1 сут.	138,42±3,49	3,19±0,01	105,38±2,10	33,04±1,74
ЭБС 6/1 сут. + ЭПО	200,71±3,19	3,05±0,09	151,15±2,16	49,56±2,41
p ₁	<0,001	<0,05	<0,001	<0,01
p ₂	<0,001	–	<0,001	<0,001
ЭБС 6 час. + 2 сут.	132,88±3,30	3,08±0,01	100,31±2,77	32,57±1,48
ЭБС 6 час. / 2 сут. + ЭПО	170,09±3,81	2,73±0,09	124,50±1,86	45,59±2,26
p ₁	<0,01	<0,05	<0,05	<0,05
p ₂	<0,001	<0,05	<0,001	<0,001
ЭБС 6 час. + 5 сут.	125,28±2,67	3,12±0,01	94,87±2,94	30,41±1,41
ЭБС 6 час. / 5 сут. + ЭПО	148,84±2,69	2,70±0,09	108,65±2,83	40,19±2,43
p ₁	<0,05	<0,05	<0,05	–
p ₂	<0,001	<0,05	<0,01	<0,01
Интактные	120,37±3,74	2,94±0,01	89,82±2,79	30,55±1,93
Контроль + ЭПО	156,48±1,96	3,09±0,13	118,29±3,24	38,19±2,47

Примечание: достоверность отличий, рассчитанных с помощью теста Манна–Уитни: p₁ – (ЭБС + ЭПО – контроль + ЭПО); p₂ – (ЭБС + ЭПО – ЭБС). ЭПО – эритропоэтин.

Под влиянием ЭПО после 6-часового ЭБС абсолютное количество миелокариоцитов ниже контроля с ЭПО на 30,65% ($p < 0,001$). Под влиянием препарата абсолютное количество миелокариоцитов увеличилось на 23,99% ($p < 0,001$) после 6-часового ЭБС.

После 6-часового ЭБС под влиянием ЭПО количество ядросодержащих клеток эритроидного ряда увеличено на 26,99% ($p < 0,05$), а незритроидных клеток на 22,76% ($p < 0,01$) на фоне достоверного уменьшения на 3,29% коэффициента л/э по сравнению с 6-часовым ЭБС. По сравнению с показателями «контроль + ЭПО» количество клеток эритроидного ряда уменьшено на 15,13% ($p < 0,05$); незритроидных клеток – на 35,66% ($p < 0,001$), а коэффициент л/э уменьшен на 23,95% ($p < 0,01$).

Под влиянием ЭПО через 2 часа после 6-часового ЭБС абсолютное количество миелокариоцитов ниже контроля с ЭПО на 31,93% ($p < 0,001$) и выше на 30,00% ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичным сроком после ЭБС.

Через 2 часа после 6-часового ЭБС под влиянием ЭПО количество ядросодержащих клеток эритроидного ряда увеличено на 31,96% ($p < 0,05$), а незритроидных клеток на 29,18% ($p < 0,001$) на фоне достоверного уменьшения на 2,08% коэффициента л/э по сравнению с аналогичным сроком стресса. В этот период по сравнению с показателями «контроль + ЭПО» количество клеток эритроидного ряда уменьшено на 16,76% ($p < 0,05$); незритроидных клеток – на 36,83% ($p < 0,001$), а коэффициент л/э уменьшен на 23,95% ($p < 0,01$).

Под влиянием ЭПО через сутки после 6-часового ЭБС абсолютное количество миелокариоцитов выше контроля с ЭПО на 28,27% ($p < 0,001$) и на 45,00% ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичным сроком после ЭБС.

Через сутки после 6-часового ЭБС под влиянием ЭПО количество ядросодержащих клеток эритроидного ряда увеличено на 50,00% ($p < 0,001$), а незэритроидных клеток на 43,43% ($p < 0,001$) на фоне недостоверного уменьшения коэффициента л/э по сравнению с аналогичным сроком стресса. В этот период по сравнению с показателями «контроль + ЭПО» количество клеток эритроидного ряда увеличено на 29,77% ($p < 0,01$); незэритроидных клеток – на 27,78% ($p < 0,001$), а коэффициент л/э недостоверно уменьшен.

Под влиянием ЭПО через 2 суток после 6-часового ЭБС абсолютное количество миелокарицитов выше контроля с ЭПО на 8,69% ($p < 0,05$) и на 28,00% ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичным сроком после ЭБС.

Через 2 суток после 6-часового ЭБС под влиянием ЭПО количество ядросодержащих клеток эритроидного ряда увеличено на 39,98% ($p < 0,001$), а незэритроидных клеток на 24,12% ($p < 0,001$) на фоне уменьшения на 11,36% ($p < 0,05$) коэффициента л/э по сравнению с аналогичным сроком стресса. В этот период по сравнению с показателями «контроль + ЭПО» количество клеток эритроидного ряда увеличено на 19,38% ($p < 0,05$); незэритроидных клеток – на 5,25% ($p < 0,05$), а коэффициент л/э уменьшен на 11,65% ($p < 0,05$).

Под влиянием ЭПО через 5 суток после 6-часового ЭБС абсолютное количество миелокарицитов ниже контроля с ЭПО на 4,88% ($p < 0,05$) и на 18,81% ($p < 0,01$) по сравнению с аналогичным сроком после ЭБС.

Через 5 суток после 6-часового ЭБС под влиянием ЭПО количество ядросодержащих клеток эритроидного ряда увеличено на 32,16% ($p < 0,01$), а незэритроидных клеток на 14,53% ($p < 0,01$) на фоне уменьшения коэффициента л/э на 13,46% ($p < 0,01$) по сравнению с аналогичным сроком стресса. В этот период по сравнению с показателями «контроль + ЭПО» количество клеток эритроидного ряда увеличилось на 5,24%; незэритроидных клеток уменьшено на 8,15% ($p < 0,05$), а коэффициент л/э уменьшен на 12,62% ($p < 0,05$).

4.3.3. Содержание и классы зрелости эритробластических островков костного мозга животных, перенесших эмоционально-болевого стресс, на фоне предварительного введения эритропоэтина

В исследованиях Ю.М. Захарова [48] увеличение числа ЭО в бедренной кости в ответ на стимуляцию эритропоэза эритропоэтином сопровождалось перераспределением ЭО по классам зрелости. Так, на 12–24 час эксперимента произошло закономерное увеличение числа ЭОрек, при этом одновременно увеличился «показатель вовлечения КОЕэ в дифференциацию в ЭО» и «показатель повторного вовлечения макрофагов ЭО в эритропоэз», к 24 часу исследования они превысили контрольные в 1,8 и 3,0 раза соответственно. Субстратом для образования ЭОрек являются ЭОинв, численность которых уменьшалась синхронно росту количества ЭОрек. К 24 часу после введения ЭПО произошло увеличение числа ЭО 3 класса, которому сопутствовало увеличение абсолютного содержания ЭОрек. К 48 часу после введения ЭПО увеличению ЭО 3 класса по сравнению с контролем предшествовал подъем абсолютного количества ЭО 1 и 2 классов на 36 час эксперимента. В этой связи авторы делают предположение, что увеличение ЭО 3 класса на 24 час после введения эритропоэтинсодержащей плазмы связано с их образованием из числа ЭОрек, что подтверждается способностью эритропоэтина ускорять процессы созревания эритробластов почти в 2 раза по сравнению с нормой.

Далее следует, что увеличение количества ЭОинв к 36 часу исследования с одновременным падением числа ЭО 3 класса завершило волну амплификации, которая началась с взаимодействия КОЕэ с ЭОинв: ЭОинв → ЭОрек → ЭО 3 класса. Таким образом, под влиянием ЭПО выявлено, что новые волны ускоренного деления и дифференциации эритробластов возникают как в ЭОрек, так

и в «короне» ЭО 1 класса, содержащих впервые вовлекаемые в эритропоэз макрофаги. Это подтверждается также достоверным увеличением абсолютного количества ЭО в бедренной кости к 36 часу эксперимента. К 72 часу с момента стимуляции эритропоэза пул ЭОинв продолжал увеличиваться на фоне снижения количества ЭО 1, 2 и 3 классов, которые, созревая, пополняли состав ЭОинв. В то же время численность ЭОрек к 72 часу не отличалась от уровня, отмеченного к исходу вторых суток после введения ЭПО. Это наблюдение указывает на способность центрального макрофага ЭО аккумулировать ЭПО (или усиливать его образование при стимуляции эритропоэза), повышая аффинитет макрофагов ЭО к эритроидным клеткам. Поэтому с этих позиций становится понятным как продолжение формирования новых ЭО на основе макрофагов ЭОинв, так и отсутствие образования новых ЭО 1 класса.

В присутствии высоких доз ЭПО реконструкция эритропоэза осуществляется в эритробластических островках, качественный состав «короны» которых ограничивает присоединение к ним ранних эритроидных клеток (проэритробластов и КОЕэ) при нормальном течении эритропоэза. Это позволило предположить существование следующих этапов развития «короны» ЭО на фоне высоких доз ЭПО: эритробластические островки 3 класса → ЭОрек с одновременным созреванием нормобластов до ретикулоцитов и их высвобождением в кровь, при этом формирования стадии инволюцирующих ЭО после ЭО 3 класса в этом случае не происходит. Подобное свойство «короны» островков значительно увеличивает участие ЦМЭО в формировании эритроидного плацдарма в гемопоэтической ткани при стрессе эритропоэза. Возможно, механизм ограничения эритропоэза в ЭО включает замедленное высвобождение из «короны» ретикулоцитов [41] и развертывание на мембране макрофага ЭО рецепторов, комплементарных к

КОЕэ, препроэритробласту или проэритробласту. Причём оба этих процесса могут быть ускорены при эритропозитическом стрессе.

Под влиянием ЭПО после 1-часового ЭБС абсолютное число ЭО на бедро увеличено на 25,00% ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичным сроком стресса. По сравнению с данными «контроль + ЭПО» этот показатель уменьшился на 13,49% ($p < 0,001$) (табл. 24).

После 1-часового ЭБС количество ЭО 1–3 классов зрелости, ЭОрек (в процентах) под влиянием ЭПО увеличилось соответственно на 34,97% ($p < 0,001$); 49,21% ($p < 0,001$); 16,99% ($p < 0,01$); 31,31% ($p < 0,05$); а количество ЭОинв уменьшилось на 41,96% ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичным сроком ЭБС. По сравнению с «контролем + ЭПО» количество ЭО 1, 2 классов зрелости и ЭОрек (в процентах) уменьшилось соответственно на 33,82% ($p < 0,001$); 19,43% ($p < 0,001$); 57,67% ($p < 0,001$); количество ЭО₃ класса зрелости и ЭОинв увеличилось соответственно на 45,66% ($p < 0,001$) и в 2,2 раза ($p < 0,001$) (табл. 24).

После 1-часового ЭБС абсолютное количество ЭО 1–3 классов зрелости, ЭОрек под влиянием ЭПО увеличилось соответственно на 68,77% ($p < 0,001$); 86,49% ($p < 0,001$); 46,27% ($p < 0,05$); 64,14% ($p < 0,001$), а абсолютное количество ЭОинв уменьшилось на 27,46% ($p < 0,05$) по сравнению с аналогичным сроком ЭБС. По сравнению с «контролем + ЭПО» абсолютное количество ЭО 1, 2 классов зрелости и ЭОрек уменьшилось соответственно на 42,75% ($p < 0,001$); 30,31% ($p < 0,001$); 63,38% ($p < 0,001$); абсолютное количество ЭО 3 класса зрелости и ЭОинв увеличилось соответственно на 26,00% ($p < 0,05$) и 93,59% ($p < 0,001$) (табл. 25).

Под влиянием ЭПО после 6-часового ЭБС абсолютное число ЭО на бедро увеличено на 29,99% ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичным сроком стресса. По сравнению с данными «контроль + ЭПО» этот показатель уменьшился на 17,99% ($p < 0,001$).

После 6-часового ЭБС количество ЭО 1–3 классов зрелости, ЭОрек (в процентах) под влиянием ЭПО увеличилось соответственно на 38,95% ($p<0,001$); 53,99% ($p<0,001$); 22,01% ($p<0,01$); 34,04% ($p<0,05$); а количество ЭОинв уменьшилось на 45,00% ($p<0,001$) по сравнению с аналогичным сроком ЭБС. По сравнению с «контролем + ЭПО» количество ЭО 1, 2 классов зрелости и ЭОрек (в процентах) уменьшилось соответственно на 21,96% ($p<0,001$); 24,28% ($p<0,001$); 71,92% ($p<0,001$); количество ЭО₃ класса зрелости и ЭОинв увеличилось соответственно на 68,77% ($p<0,001$) и в 2,2 раза ($p<0,001$).

После 6-часового ЭБС абсолютное количество ЭО 1–3 классов зрелости, ЭОрек под влиянием ЭПО увеличилось соответственно на 80,64% ($p<0,001$); в 2,0 раза ($p<0,001$); 58,62% ($p<0,001$); 74,36% ($p<0,001$), а абсолютное количество ЭОинв уменьшилось на 28,51% ($p<0,001$) по сравнению с аналогичным сроком ЭБС. По сравнению с «контролем + ЭПО» абсолютное количество ЭО 1, 2 классов зрелости и ЭОрек уменьшилось соответственно на 35,99% ($p<0,001$); 37,89% ($p<0,001$); 76,97% ($p<0,001$); абсолютное количество ЭО 3 класса зрелости и ЭОинв увеличилось соответственно на 38,41% ($p<0,001$) и 76,53% ($p<0,001$).

Под влиянием ЭПО через 2 часа после 6-часового ЭБС абсолютное число ЭО на бедро увеличено на 33,00% ($p<0,001$) по сравнению с аналогичным сроком стресса. По сравнению с данными «контроль + ЭПО» этот показатель уменьшился на 21,23% ($p<0,001$).

Через 2 часа после 6-часового ЭБС количество ЭО₁, ЭО₂, ЭО₃ классов зрелости, ЭОрек (в процентах) под влиянием ЭПО увеличилось соответственно на 40,03% ($p<0,001$); 54,99% ($p<0,001$); 22,98% ($p<0,05$); 38,01% ($p<0,01$); а количество ЭОинв уменьшилось на 47,89% ($p<0,001$) по сравнению с аналогичным сроком

ЭБС. По сравнению с «контролем + ЭПО» количество ЭО 1, 2 классов зрелости и ЭОрек (в процентах) уменьшилось соответственно на 17,22% ($p < 0,001$); 25,89% ($p < 0,001$); 65,87% ($p < 0,001$); количество ЭО₃ класса зрелости и ЭОинв увеличилось соответственно на 74,59% ($p < 0,001$) и 99,48% ($p < 0,001$).

Через 2 часа после 6-часового ЭБС абсолютное количество ЭО₁, ЭО₂, ЭО₃ классов зрелости, ЭОрек под влиянием ЭПО увеличилось соответственно на 86,27% ($p < 0,001$); в 2,1 раза ($p < 0,001$); 63,58% ($p < 0,001$); 83,61% ($p < 0,001$), а абсолютное количество ЭОинв уменьшилось на 30,70% ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичным сроком ЭБС. По сравнению с «контролем + ЭПО» абсолютное количество ЭО 1,2 классов зрелости и ЭОрек уменьшилось соответственно на 34,79% ($p < 0,001$); 41,63% ($p < 0,001$); 73,11% ($p < 0,001$); абсолютное количество ЭО 3 класса зрелости и ЭОинв увеличилось соответственно на 37,53% ($p < 0,001$) и 57,14% ($p < 0,001$).

Под влиянием ЭПО через сутки после 6-часового ЭБС абсолютное число ЭО на бедро увеличено на 50,00% ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичным сроком стресса. По сравнению с данными «контроль + ЭПО» этот показатель увеличился на 28,05% ($p < 0,001$).

Через сутки после 6-часового ЭБС количество ЭО₁, ЭО₂, ЭО₃ классов зрелости, ЭОрек (в процентах) под влиянием ЭПО увеличилось соответственно на 43,00% ($p < 0,001$); 59,99% ($p < 0,001$); 26,03% ($p < 0,05$); 39,97% ($p < 0,001$); а количество ЭОинв уменьшилось на 88,72% ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичным сроком ЭБС. По сравнению с «контролем + ЭПО» количество ЭО 1, 3 классов зрелости и ЭОрек (в процентах) увеличилось соответственно на 21,26% ($p < 0,001$); 24,80% ($p < 0,05$); 28,14% ($p < 0,05$);

количество ЭО₂ класса зрелости и ЭОинв уменьшилось соответственно на 8,01% и 67,50% ($p < 0,001$).

Через сутки после 6-часового ЭБС абсолютное количество ЭО₁, ЭО₂, ЭО₃ классов зрелости, ЭОрек под влиянием ЭПО увеличилось соответственно в 2,1 раза ($p < 0,001$); в 2,4 раза ($p < 0,001$); на 89,06% ($p < 0,001$); в 2,1 раза ($p < 0,001$), а абсолютное количество ЭОинв уменьшилось на 83,07% ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичным сроком ЭБС. По сравнению с «контролем + ЭПО» абсолютное количество ЭО 1,2,3 классов зрелости и ЭОрек увеличилось соответственно на 55,27% ($p < 0,001$); 17,79% ($p < 0,001$); 59,81% ($p < 0,001$); 64,08% ($p < 0,001$); абсолютное количество ЭОинв уменьшилось на 58,37% ($p < 0,001$).

Под влиянием ЭПО через 2 суток после 6-часового ЭБС абсолютное число ЭО на бедро увеличено на 40,00% ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичным сроком стресса. По сравнению с данными «контроль + ЭПО» этот показатель увеличился на 17,40% ($p < 0,001$).

Через 2 суток после 6-часового ЭБС количество ЭО₁, ЭО₂, ЭО₃ классов зрелости, ЭОрек (в процентах) под влиянием ЭПО увеличилось соответственно на 32,01% ($p < 0,001$); 50,00% ($p < 0,001$); 20,03% ($p < 0,05$); 29,97% ($p < 0,01$); а количество ЭОинв уменьшилось на 82,75% ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичным сроком ЭБС. По сравнению с «контролем + ЭПО» количество ЭО 1, 3 классов зрелости и ЭОрек (в процентах) увеличилось соответственно на 19,01% ($p < 0,001$); 15,95% ($p < 0,05$); 46,94% ($p < 0,001$); количество ЭО₂ класса зрелости и ЭОинв уменьшилось соответственно на 14,04% ($p < 0,05$) и 55,69% ($p < 0,001$).

Через 2 суток после 6-часового ЭБС абсолютное количество ЭО₁, ЭО₂, ЭО₃ классов зрелости, ЭОрек под влиянием ЭПО увеличилось соответственно на 84,79% ($p < 0,001$); в 2,1 раза ($p < 0,001$);

68,04% ($p < 0,001$); 81,95% ($p < 0,001$), а абсолютное количество ЭОинв уменьшилось на 75,84% ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичным сроком ЭБС. По сравнению с «контролем + ЭПО» абсолютное количество ЭО 1,3 классов зрелости и ЭОрек увеличилось соответственно на 39,71% ($p < 0,001$); 87,29% ($p < 0,001$); 72,52% ($p < 0,001$); абсолютное количество ЭОинв уменьшилось на 47,98% ($p < 0,001$) на фоне неизменного количества ЭО 2 класса зрелости.

Под влиянием ЭПО через 5 суток после 6-часового ЭБС абсолютное число ЭО на бедро увеличено на 30,00% ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичным сроком стресса. По сравнению с данными «контроль + ЭПО» этот показатель не изменился.

Через 5 суток после 6-часового ЭБС количество ЭО₁, ЭО₂, ЭО₃ классов зрелости, ЭОрек (в процентах) под влиянием ЭПО увеличилось соответственно на 29,65% ($p < 0,001$); 52,40% ($p < 0,001$); 15,96% ($p < 0,05$); 17,01% ($p < 0,05$); а количество ЭОинв уменьшилось на 61,69% ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичным сроком ЭБС. По сравнению с «контролем + ЭПО» количество ЭО 2, 3 классов зрелости (в процентах) уменьшилось соответственно на 6,76%; 20,25% ($p < 0,05$); количество ЭО₁, ЭОрек и ЭОинв увеличилось соответственно на 3,80%; 24,98% ($p < 0,05$) и 15,60% ($p < 0,05$). Через 5 суток после 6-часового ЭБС абсолютное количество ЭО₁, ЭО₂, ЭО₃ классов зрелости, ЭОрек под влиянием ЭПО увеличилось соответственно на 68,54% ($p < 0,001$); 98,12% ($p < 0,001$); 50,75% ($p < 0,001$); 52,12% ($p < 0,001$), а абсолютное количество ЭОинв уменьшилось на 50,19% ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичным сроком ЭБС. По сравнению с «контролем + ЭПО» абсолютное количество ЭО 3 класса зрелости уменьшилось на 19,97% ($p < 0,01$); абсолютное количество ЭОрек и ЭОинв увеличилось соответственно на 25,44% ($p < 0,01$) и 16,04% ($p < 0,01$).

Таблица 24

**Влияние предварительного введения эритропоэтина
на эритробластические островки костного мозга животных,
перенесших эмоционально-болевой стресс**

Сроки / показатели	Абсолютное число ЭО, тыс./бедро	Формула ЭО (в %)				
		I	II	III	Реконст- руирую- щиеся	Инволюци- рующие
ЭБС 1 час	376,52±6,72	6,32±0,27	23,31±1,55	20,53±0,94	5,11±0,48	44,73±1,76
ЭБС 1 час + ЭПО	470,65±4,14	8,53±0,18	34,78±1,39	24,02±1,33	6,71±0,51	25,96±1,45
p ₁	<0,001	<0,001	<0,001	<0,01	<0,001	<0,001
p ₂	<0,001	<0,001	<0,001	<0,05	<0,01	<0,001
ЭБС 6 часов	343,24±9,11	7,24±0,19	21,23±1,48	22,81±1,00	3,32±0,13	45,40±2,22
ЭБС 6 час. + ЭПО	446,21±3,16	10,06±0,11	32,69±1,76	27,83±1,47	4,45±0,32	24,97±1,32
p ₁	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
p ₂	<0,001	<0,001	<0,001	<0,05	<0,05	<0,001
ЭБС 6 час. + 2 часа	322,23±12,03	7,62±0,14	20,64±1,38	23,41±0,96	3,92±0,19	44,41±1,21
ЭБС 6 час. / 2 часа + ЭПО	428,572±4,65	10,67±0,15	31,99±1,89	28,79±1,85	5,41±0,32	23,14±1,59
p ₁	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
p ₂	<0,001	<0,001	<0,001	<0,01	<0,01	<0,001
ЭБС 6 час. + 1 сут.	464,45±9,29	10,93±0,36	24,82±1,52	16,33±0,80	14,51±0,48	33,41±1,77
ЭБС 6 час / 1 сут. + ЭПО	696,68±7,74	15,63±0,16	39,71 ±2,18	20,58±1,95	20,31±1,89	3,77±0,21
p ₁	<0,001	<0,001	<0,05	<0,05	<0,05	<0,001
p ₂	<0,001	<0,001	<0,001	<0,05	<0,01	<0,001
ЭБС 6 час. + 2 сут.	456,24±8,55	11,62±0,36	24,74±1,49	15,93±0,98	17,92±0,46	29,79±1,49
ЭБС 6 час. / 2 сут. + ЭПО	638,74±6,00	15,34±0,09	37,11±1,71	19,12±1,73	23,29±1,45	5,14±0,24
p ₁	<0,001	<0,001	<0,05	<0,05	<0,001	<0,001
p ₂	<0,001	<0,001	<0,001	<0,05	<0,01	<0,001

Окончание таблицы 24

ЭБС 6 час. + 5 сут.	420,03±9,93	10,32±0,39	26,41±1,71	11,34±0,80	16,93±0,54	35,00±1,69
ЭБС 6/5 сут. + ЭПО	546,04±5,99	13,38±0,11	40,25±2,45	13,15±1,15	19,81±1,05	13,41±0,33
p ₁	–	<0,01	–	<0,05	<0,05	<0,05
p ₂	<0,001	<0,001	<0,001	<0,05	<0,05	<0,001
Интактные	418,51±7,91	9,21±0,44	27,32±3,01	13,41±0,74	11,74±0,88	38,32±1,36
Контроль + ЭПО	544,06±6,59	12,89±0,11	43,17±0,70	16,49±1,28	15,85±1,02	11,60±0,74

Примечание: достоверность отличий, рассчитанных с помощью теста Манна–Уитни: p₁ – (ЭБС + ЭПО – контроль +ЭПО); p₂ – (ЭБС + ЭПО – ЭБС). ЭПО – эритропоэтин

Таблица 25

***Абсолютное количество эритробластических островков
разных классов зрелости у животных, перенесших
эмоционально-болевой стресс, на фоне предварительного
введения эритропоэтина***

Кассы зрелости ЭО / группы крыс	ЭО ₁ , x 10 ³ /бедро	ЭО ₂ , x 10 ³ /бедро	ЭО ₃ , x 10 ³ /бедро	ЭОрек, x 10 ³ /бедро	ЭОинв, x 10 ³ /бедро
ЭБС 1 час	23,79±1,46	87,77±2,45	77,29±2,88	19,24±1,38	168,43±2,28
ЭБС 1 час + ЭПО	40,15±1,55	163,69±3,13	113,05±2,40	31,58±2,13	122,18±2,12
p ₁	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
p ₂	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
ЭБС 6 часов	24,85±1,41	72,87±2,69	78,29±3,24	11,39±0,83	155,84±3,11
ЭБС 6 час. + ЭПО	44,89±1,70	145,87±2,89	124,18±2,81	19,86±1,85	111,41±1,97
p ₁	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
p ₂	<0,001	<0,001	<0,001	<0,01	<0,001
ЭБС 6 часов + 2 часа	24,55±1,58	66,51±1,28	75,43±3,17	12,63±1,08	143,11±2,87
ЭБС 6 час. / 2 часа +ЭПО	45,73±1,27	137,09±1,79	123,39±3,06	23,19±2,10	99,17±2,48
p ₁	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
p ₂	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Окончание таблицы 25

ЭБС 6 час. + 1 сут.	50,76±1,81	115,28±3,94	75,84±3,16	67,39±2,69	155,18±3,58
ЭБС 6 час. / 1 сут. + ЭПО	108,89±2,97	276,65±2,40	143,38±2,89	141,49±2,67	26,27±2,00
p ₁	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
p ₂	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
ЭБС 6 час. + 2 суток	53,02±2,61	112,87±4,71	72,68±1,84	81,76±2,61	135,91±4,25
ЭБС 6 час. / 2 суток + ЭПО	97,98±2,75	237,04±2,63	122,13±2,54	148,76±2,06	32,83±1,76
p ₁	<0,001	–	<0,001	<0,001	<0,001
p ₂	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
ЭБС 6 час. + 5 суток	43,35±1,77	110,93±4,28	47,63±2,94	71,11±2,79	147,01±4,21
ЭБС 6 час. / 5 суток + ЭПО	73,06±2,23	219,78±3,49	71,80±1,85	108,17±2,55	73,23±1,87
p ₁	–	<0,01	<0,05	<0,001	<0,01
p ₂	<0,001	<0,001	<0,01	<0,001	<0,001
Интактные	38,54±1,74	114,34±3,76	56,12±2,56	49,13±2,70	160,38±2,72
Контроль + ЭПО	70,13±2,31	234,87±2,95	89,72±2,27	86,23±1,95	63,11±1,75

Примечание: достоверность отличий, рассчитанных с помощью теста Манна–Уитни: p₁ – (ЭБС + ЭПО – контроль + ЭПО); p₂ – (ЭБС + ЭПО – ЭБС). ЭПО – эритропоэтин

4.3.4. Расчётные функциональные показатели эритропоэза в эритробластических островках костного мозга животных, перенесших эмоционально-болевой стресс, на фоне введения эритропоэтина

Как следует из данных, представленных в табл. 26, под влиянием ЭПО после 1-часового ЭБС общее количество эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку, увеличилось на 26,90% (p<0,001); ПИЭПД в ЭО увеличился на 66,69% (p<0,001); показа-

тель повторного вовлечения макрофагов в поддержку эритропоэза в ЭО (ППВМЭ) – в 2,4 раза ($p < 0,001$), показатель длительности созревания эритроидных клеток в ЭО (ПСЭО) уменьшился на 47,34% ($p < 0,001$), что свидетельствует об активации эритропоэза в костном мозге по сравнению с аналогичным сроком ЭБС под влиянием препарата. По сравнению с «контролем + ЭПО» у стрессированных крыс на фоне введения ЭПО общее число эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку, уменьшилось на 20,32% ($p < 0,001$); ПИЭПД в ЭО уменьшился на 54,13% ($p < 0,001$); ППВМЭ – на 81,02% ($p < 0,001$), а ПСЭО в ЭО увеличился в 2,5 раза ($p < 0,001$).

Под влиянием ЭПО после 6-часового ЭБС общее количество эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку увеличилось на 31,42% ($p < 0,001$); ПИЭПД в ЭО увеличился на 78,67% ($p < 0,001$); ППВМЭ – в 2,6 раза ($p < 0,001$), ПСЭО в ЭО уменьшился на 47,91% ($p < 0,001$), что свидетельствует об активации эритропоэза в костном мозге по сравнению с аналогичным сроком ЭБС под влиянием препарата. По сравнению с «контролем + ЭПО» у стрессированных крыс на фоне введения ЭПО общее число эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку, уменьшилось на 26,05% ($p < 0,001$); ПИЭПД в ЭО уменьшился на 58,59% ($p < 0,001$); ППВМЭ – на 86,86% ($p < 0,001$), а ПСЭО в ЭО увеличился в 2,9 раза ($p < 0,001$).

Под влиянием ЭПО через 2 часа после 6-часового ЭБС общее количество эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку увеличилось на 34,91% ($p < 0,001$); ПИЭПД в ЭО увеличился на 85,37% ($p < 0,001$); ППВМЭ – в 2,6 раза ($p < 0,001$), ПСЭО в ЭО уменьшился на 48,82% ($p < 0,001$), что свидетельствует об активации эритропоэза в костном мозге по сравнению с аналогичным сроком ЭБС под влиянием препарата. По сравнению с «контролем +

ЭПО» у стрессированных крыс на фоне введения ЭПО общее число эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку, уменьшилось на 28,33% ($p < 0,001$); ПИЭПД в ЭО уменьшился на 55,92% ($p < 0,001$); ППВМЭ – на 83,21% ($p < 0,001$), а ПСЭО в ЭО увеличился в 2,8 раза ($p < 0,001$).

Под влиянием ЭПО через сутки после 6-часового ЭБС общее количество эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку увеличилось на 57,59% ($p < 0,001$); ПИЭПД в ЭО увеличился в 2,1 раза ($p < 0,001$); ППВМЭ – в 12,5 раз ($p < 0,001$), ПСЭО в ЭО уменьшился на 67,47% ($p < 0,001$), что свидетельствует об активации эритропоэза в костном мозге по сравнению с аналогичным сроком ЭБС под влиянием препарата. По сравнению с «контролем + ЭПО» у стрессированных крыс на фоне введения ЭПО общее число эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку, увеличилось на 32,98% ($p < 0,001$); ПИЭПД в ЭО увеличился на 60,13% ($p < 0,001$); ППВМЭ – в 3,9 раза ($p < 0,001$), а ПСЭО в ЭО уменьшился на 17,44% ($p < 0,05$).

Под влиянием ЭПО через 2 суток после 6-часового ЭБС общее количество эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку увеличилось на 46,38% ($p < 0,001$); ПИЭПД в ЭО увеличился на 83,07% ($p < 0,001$); ППВМЭ – в 7,6 раза ($p < 0,001$), ПСЭО в ЭО уменьшился на 61,90% ($p < 0,001$), что свидетельствует об активации эритропоэза в костном мозге по сравнению с аналогичным сроком ЭБС под влиянием препарата. По сравнению с «контролем + ЭПО» у стрессированных крыс на фоне введения ЭПО общее число эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку, увеличилось на 24,94% ($p < 0,001$); ПИЭПД в ЭО увеличился на 57,80% ($p < 0,001$); ППВМЭ – в 3,3 раза ($p < 0,001$), а ПСЭО в ЭО уменьшился на 17,95% ($p < 0,05$).

Под влиянием ЭПО через 5 суток после 6-часового ЭБС общее количество эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку увеличилось на 33,20% ($p < 0,001$); ПИЭПД в ЭО увеличился на 58,33% ($p < 0,001$); ППВМЭ – в 3,1 раза ($p < 0,001$), ПСЭО в ЭО уменьшился на 58,14% ($p < 0,001$), что свидетельствует об активации эритропоэза в костном мозге по сравнению с аналогичным сроком ЭБС под влиянием препарата. По сравнению с «контролем + ЭПО» у стрессированных крыс на фоне введения ЭПО общее число эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференцировку, недостоверно увеличилось на 3,79%; ПИЭПД в ЭО увеличился на 15,91% ($p < 0,05$); ППВМЭ – на 8,03% ($p < 0,05$), а ПСЭО в ЭО уменьшился на 7,69%.

Таким образом, после 6-часового ЭБС усиливалась тенденция к угнетению костномозгового кроветворения по сравнению с 1-часовым ЭБС, но применение эритропоэтина способствовало значительной активации эритропоэза.

Увеличение показателя длительности созревания нормобластов в ЭО в течение всего острого стресса и 2 часов после 6-часового ЭБС свидетельствовало о преобладании зрелых форм ЭО над пролиферирующими, что указывало на замедление процессов новообразования эритроцитов. Под влиянием эритропоэтина процесс новообразования эритроидных клеток активизировался.

Через 1–5 суток после 6-часового ЭБС произошла нормализация нарушенного в результате острого стресса дополнительного вовлечения макрофагов в эритропоэз, эритроидных прекурсоров в дифференцировку в ЭО, а применение эритропоэтина существенно ускорило эти процессы.

Таблица 26

**Расчётные функциональные показатели эритропоэза
в эритробластических островках костного мозга животных,
перенесших эмоционально-болевой стресс, на фоне введения
эритропоэтина**

Показатели / сроки стресса	Общее число эритроидных прекурсоров, вступивших в дифференци- ровку, х 10 ³ /бедро	Показатель интенсивности вовлечения эритроидных прекурсоров в дифференци- ровку, ПИЭПД х 10 ³ /бедро	Показатель длительно- сти созревания ЭО, отн. ед., ПСЭО	Показатель повторного вовлечения макрофагов в эритропоэз, отн. ед., ППВМЭ
ЭБС 1 час	395,76±6,88	43,03±3,11	1,88±0,03	0,11±0,02
ЭБС 1 час + ЭПО	502,23±5,73	71,73±1,53	0,99±0,06	0,26±0,02
p ₁	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
p ₂	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
ЭБС 6 часов	354,63±5,90	36,24±1,29	2,15±0,15	0,07±0,01
ЭБС 6 час. + ЭПО	466,07±4,03	64,75±1,99	1,12±0,04	0,18±0,02
p ₁	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
p ₂	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
ЭБС 6 часов + 2 часа	334,86±9,26	37,18±1,98	2,11±0,13	0,09±0,01
ЭБС 6 час. / 2 часа + ЭПО	451,76±2,78	68,92±2,80	1,08±0,04	0,23±0,02
p ₁	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
p ₂	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
ЭБС 6 час. + 1 сут.	531,84±7,41	118,15±3,68	0,99±0,02	0,43±0,02
ЭБС 6 час. / 1 сут. + ЭПО	838,17±4,65	250,38±2,89	0,32±0,02	5,39±0,08
p ₁	<0,001	<0,001	<0,05	<0,001
p ₂	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Окончание таблицы 26

ЭБС 6 час. + 2 суток	538,00±16,18	134,78±2,44	0,84±0,02	0,60±0,02
ЭБС 6 час. / 2 сут. + ЭПО	787,50±4,34	246,74±2,93	0,32±0,02	4,53±0,16
p ₁	<0,001	<0,001	<0,05	<0,001
p ₂	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
ЭБС 6 час. + 5 суток	491,14±4,49	114,46±3,95	0,86±0,02	0,48±0,01
ЭБС 6 час. / 5 сут. + ЭПО	654,21±4,03	181,23±2,85	0,36±0,02	1,48±0,04
p ₁	<0,01	<0,01	–	<0,05
p ₂	<0,001	<0,01	<0,001	<0,001
Интактные	467,64±7,45	87,67±2,94	1,07±0,05	0,31±0,02
Контроль + ЭПО	630,29±4,48	156,36±2,72	0,39±0,02	1,37±0,03

Примечание: контроль без препарата (интактные). Достоверность отличий, рассчитанная с помощью теста Манна–Уитни: p₁ – (ЭБС + ЭПО – контроль + ЭПО); p₂ – (ЭБС + ЭПО – ЭБС). ЭПО – эритропоэтин.

4.3.5. Влияние введения эритропоэтина на показатели парциальной эритрограммы костного мозга животных, подвергнутых действию эмоционально-болевого стресса

Как следует из данных, представленных на рис. 23, после 1-часового ЭБС под влиянием ЭПО количество проэритробластов и эритробластов в костном мозге увеличилось на 14,29% (p<0,05); число базофильных нормобластов на 13,02% (p<0,05); количество полихроматофильных нормобластов – на 10,98% (p<0,01); число оксифильных нормоцитов – на 9,04% (p<0,05) по сравнению с 1-часовым ЭБС.

После 1-часового ЭБС под влиянием ЭПО количество проэритробластов и эритробластов в костном мозге по сравнению с «контролем + ЭПО» уменьшилось на 33,33% (p<0,01); число базо-

фильных нормобластов на 18,51% ($p < 0,001$); количество полихроматофильных нормобластов увеличилось на 11,98% ($p < 0,01$); число оксифильных нормоцитов увеличилось на 10,05% ($p < 0,01$).

После 6-часового ЭБС под влиянием ЭПО количество проэритробластов и эритробластов в костном мозге увеличилось на 25,00% ($p < 0,05$); число базофильных нормобластов на 18,93% ($p < 0,05$); количество полихроматофильных нормобластов – на 17,00% ($p < 0,001$); число оксифильных нормоцитов – на 13,99% ($p < 0,05$) по сравнению с 6-часовым ЭБС.

После 6-часового ЭБС под влиянием ЭПО количество проэритробластов и эритробластов в костном мозге по сравнению с «контролем + ЭПО» уменьшилось на 16,67% ($p < 0,05$); число базофильных нормобластов на 9,91% ($p < 0,05$); количество полихроматофильных нормобластов увеличилось на 42,16% ($p < 0,001$); число оксифильных нормоцитов увеличилось на 19,52% ($p < 0,001$).

Через 2 часа после 6-часового ЭБС под влиянием ЭПО количество проэритробластов и эритробластов в костном мозге увеличилось на 28,00% ($p < 0,05$); число базофильных нормобластов на 20,90% ($p < 0,05$); количество полихроматофильных нормобластов – на 17,48% ($p < 0,001$); число оксифильных нормоцитов – на 14,58% ($p < 0,01$) по сравнению с аналогичным сроком стресса.

Через 2 часа после 6-часового ЭБС под влиянием ЭПО количество проэритробластов и эритробластов в костном мозге по сравнению с «контролем + ЭПО» уменьшилось на 11,11% ($p < 0,05$); число базофильных нормобластов на 5,74%; количество полихроматофильных нормобластов увеличилось на 46,89% ($p < 0,001$); число оксифильных нормоцитов увеличилось на 20,67% ($p < 0,001$).

Через сутки после 6-часового ЭБС под влиянием ЭПО количество проэритробластов и эритробластов в костном мозге увеличилось на 42,86% ($p < 0,001$); число базофильных нормобластов на

30,03% ($p < 0,001$); количество полихроматофильных нормобластов – на 25,02% ($p < 0,001$); число оксифильных нормоцитов – на 20,02% ($p < 0,01$) по сравнению с аналогичным сроком стресса.

Через сутки после 6-часового ЭБС под влиянием ЭПО количество проэритробластов и эритробластов в костном мозге по сравнению с «контролем + ЭПО» увеличилось на 38,89% ($p < 0,001$); число базофильных нормобластов на 57,49% ($p < 0,001$); количество полихроматофильных нормобластов и оксифильных нормоцитов увеличилось соответственно на 66,05% ($p < 0,001$) и 35,68% ($p < 0,001$).

Через 2 суток после 6-часового ЭБС под влиянием ЭПО количество проэритробластов и эритробластов в костном мозге увеличилось на 27,02% ($p < 0,01$); число базофильных нормобластов на 25,97% ($p < 0,001$); количество полихроматофильных нормобластов – на 22,98% ($p < 0,001$); число оксифильных нормоцитов – на 19,05% ($p < 0,01$) по сравнению с аналогичным сроком стресса.

Через 2 суток после 6-часового ЭБС под влиянием ЭПО количество проэритробластов и эритробластов в костном мозге по сравнению с «контролем + ЭПО» увеличилось на 30,56% ($p < 0,01$); число базофильных нормобластов на 61,28% ($p < 0,001$); количество полихроматофильных нормобластов и оксифильных нормоцитов увеличилось соответственно на 30,42% ($p < 0,001$) и 19,05% ($p < 0,001$).

Через 5 суток после 6-часового ЭБС под влиянием ЭПО количество проэритробластов и эритробластов в костном мозге увеличилось на 17,65% ($p < 0,05$); число базофильных нормобластов на 15,94% ($p < 0,05$); количество полихроматофильных нормобластов – на 13,99% ($p < 0,01$); число оксифильных нормоцитов – на 10,99% ($p < 0,05$) по сравнению с аналогичным сроком стресса.

Через 5 суток после 6-часового ЭБС под влиянием ЭПО количество проэритробластов и эритробластов в костном мозге по

сравнению с «контролем + ЭПО» увеличилось на 11,11% ($p < 0,05$); число базофильных нормобластов на 8,08% ($p < 0,05$); количество полихроматофильных нормобластов увеличилось на 7,78% ($p < 0,05$).

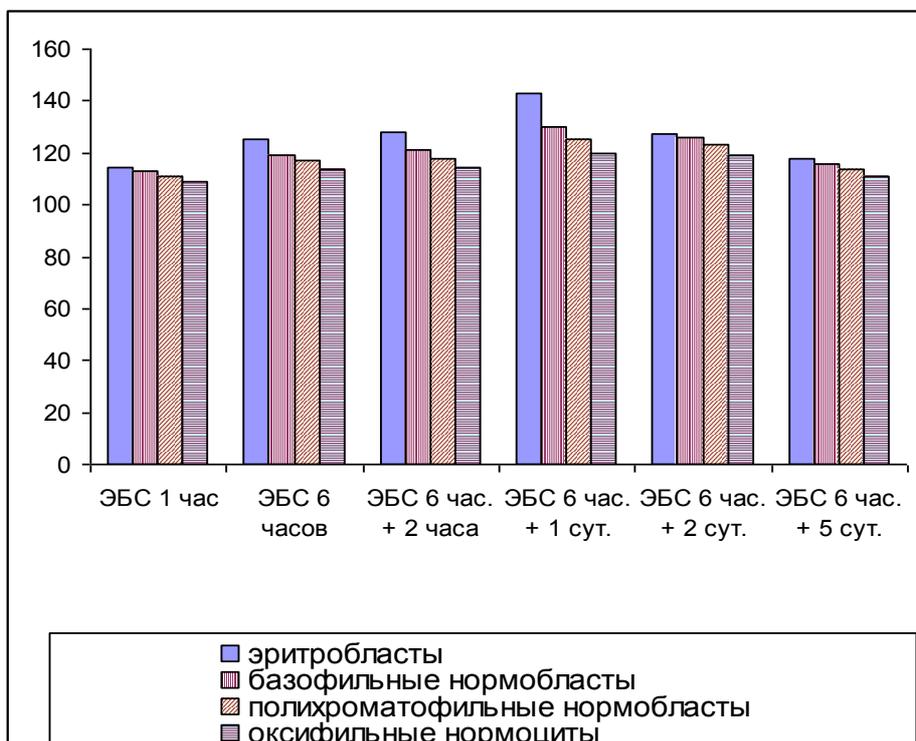


Рис. 23. Парциальная эритрограмма костного мозга у животных, перенесших эмоционально-болевой стресс, на фоне предварительного введения эритропоетина (в % от контроля)

Для успешного кроветворения необходимо наличие следующих компонентов: стволовых кроветворных клеток (СКК), гемопоэтических ростовых факторов и гемопоэзиндуцирующего микроокружения (ГИМ).

Гемопоэтические цитокины, продуцируемые Т-лимфоцитами, макрофагами, клетками стромы и эндокринной системы

вместе с эритропоэтином необходимы для нормального эритропоэза. Кроме того, цитокины, стимулирующие эритропоэз, действуют как единая система. Среди данных цитокинов выделяют регулирующие только ранние стадии эритропоэза, и цитокины, способствующие терминальной эритроидной дифференцировке при обязательном присутствии эритропоэтина.

Для выживания СКК и ее пролиферации необходимы ранние гемопоэзрегулирующие факторы: фактор стволовой клетки (ФСК) или фактор Стилла, интерлейкины (ИЛ) -1, -3, -11, -flt3 лиганд. Перечисленные факторы могут также действовать совместно с более поздними стимуляторами: колониестимулирующим фактором (КСФ), эритропоэтином, ИЛ-10, инсулином, инсулиноподобным фактором роста (ИФР I), отвечая таким образом за пролиферацию и эритроидную дифференцировку достаточно зрелых предшественников [262].

Цитокины, оказывающие прямой стимулирующий эффект на эритропоэз посредством преходящей активации STAT-5 (ФСК, flt3 лиганд) либо через предотвращение апоптоза в клетках-предшественниках, относятся к первой группе ростковых факторов.

Ко второй группе ростковых факторов относятся факторы: ИЛ-10, ИЛ-11, ИЛ-13, которые подавляют продукцию ингибиторов эритропоэза макрофагами, и, как следствие, стимулируют эритропоэз [43; 46; 50; 52].

Однонаправленность эритропоэтического эффекта нескольких цитокинов обусловлена наличием общих субъединиц их рецепторов. Например, рецептор ГМ-КСФ существует в форме комплекса, который может быть активирован ГМ-КСФ, ИЛ-3, ИЛ-5, ЭП [223; 265]. Кроме этого, имеется общность механизма внутриклеточной трансдукции сигналов от рецепторов при участии тирозинкиназ.

К цитокинам, которые осуществляют угнетающее действие на эритропоэз, относятся факторы, действующие на уровне СКК и селективные ингибиторы эритропоэза. Прямые ингибиторы пролиферативной активности и индукторы апоптоза СКК [трансформирующий ростковый фактор β (TGF β), макрофагальный воспалительный белок (MIP-1 α), тетрапептид (AcSDKP), TNF α , ИЛ-12, кислые изоферритины], а также непрямые ингибиторы, подавляющие освобождение стимуляторов гемопоэза (лактоферрин) относят к первой группе. Вторую группу образуют интерферон- γ и ингибин, которые действуют опосредованно через макрофаги и Т-лимфоциты.

По мнению Ю.М. Захарова (2006) [51; 52] имеющий место в эритробластических островках эритропоэтический эффект макрофагов, усиливающий действие экзогенного эритропоэтина – «внешнего» для костного мозга эритропоэтического стимула, возникает при повышенном поступлении эритропоэтина из почек в кровь и может рассматриваться как проявление положительной обратной связи, которая способствует адаптации эритрона к возросшему кислородному запросу в целом организме. В результате этого увеличиваются формирование в костном мозге эритробластических островков, интенсивность деления и созревания клеток их эритроидной «короны». Эффект эритропоэтина на формирование эритробластических островков в костном мозге, пролиферацию эритробластов в их «короне» усиливается также возрастающими после внесения эритропоэтина в культуру контактами с эритробластическими островками лимфоидных клеток, вероятнее всего Т-хелперов [52].

Установлено, что острая гипоксия, вызванная кровопотерей, нахождением при низком атмосферном давлении вызывала наибольший подъем эритропоэтической активности крови к 12 часу или к концу первых суток после этих воздействий. Например, по-

сле острой кровопотери у людей (доноры), экспериментальных животных (коров, собак, крыс, кроликов) максимальное увеличение эритропоэтина в крови наблюдалось через 20–24 часа со снижением эритропоэтической активности на 2–5-е сутки после неё ниже исходного уровня с последующим возвращением к нему [40; 42; 53; 54]. Полагают, что экзогенный (т.е. поступающий в костный мозг) эритропоэтин не только стимулирует клетки-предшественницы эритроидного ряда к пролиферации и дифференциации, но и является стимулом, запускающим «эндогенную» секрецию эритропоэтина эритроидными клетками, а также формирование эритропоэтического микроокружения макрофагами эритробластических островков. Данный эритропоэтический эффект клеток костного мозга, выполняя функцию положительной обратной связи, обеспечивает одновременно и достижение результата – наработку массы эритроидных клеток, адекватную потребности организма в кислородном обеспечении тканей, когда продукция эритропоэтина почками и печенью снижается до нормальных пределов, а потребность костного мозга в эритропоэтической стимуляции остается повышенной.

Резюме по третьей и четвёртой главам

Таким образом, в периферической крови животных при действии ЭБС наблюдается увеличение ретикулоцитов [максимум на 56,01% ($p < 0,001$) через два часа после 6-часового ЭБС] и эритроцитов [максимум на 16,38% ($p < 0,05$) через сутки после ЭБС], что может объясняться ускоренным освобождением их из морфологически зрелых ЭО, что обеспечивает организм кислородом в период острого стресса. Применение ЦП и ЭПО вызывало достоверное повышение числа эритроцитов и ретикулоцитов по сравнению с показателями животных, не получавших данные препараты;

В центральном отделе эритрона в катаболическую фазу ЭБС наблюдалось угнетение эритроидного роста кроветворения на фоне достоверного снижения числа эритробластических островков, миелокариоцитов, ядросодержащих клеток эритроидного ряда. В анаболическую фазу стресса (1–2 суток после ЭБС) данные показатели достоверно превышали контроль. Предварительное введение ЦП и ЭПО способствовало увеличению содержания миелокариоцитов и клеток эритроидного ряда; числа ЭО по сравнению с показателями животных, не получавших данные препараты;

- количество проэритробластов, эритробластов и базофильных нормобластов в костном мозге после ЭБС было достоверно снижено; количество полихроматофильных нормоцитов и оксифильных нормоцитов достоверно увеличено по сравнению с контролем. Введение церулоплазмينا способствовало повышению клеточности костного мозга;

- в анаболическую фазу стресса отмечалась стимуляция эритропоэза с увеличением относительного и абсолютного количества ЭО пролиферирующих классов (1 класса и ЭОрек) по сравнению с контролем. В этот же период было увеличено число ядросодержащих эритроидных клеток в ЭО₁, ЭО₂ и ЭОрек, а также митотическая активность эритроидных клеток в ЭОрек;

- на фоне увеличения количества ЭОрек в течение 1–5 суток после стресса идет процесс реконструкции эритропоэза, а показатели вовлечения эритроидных прекурсоров в дифференциацию и повторного вовлечения макрофагов в эритропоэз достигают максимальных значений по сравнению с таковыми в период острого стресса;

- применение ЦП и ЭПО способствовало активации эритропоэза и дополнительному вовлечению макрофагов в эритропоэз, а эритроидных прекурсоров – в дифференцировку в ЭО;

- предварительное введение церулоплазмينا достоверно

уменьшало содержание первичных и вторичных гептан- и изопропанол-растворимых продуктов ПОЛ, содержание МДА в плазме крови и в ткани костного мозга.

- введение церулоплазмина крысам, перенесшим 6-часовой ЭБС, способствовало повышению антиокислительного потенциала сыворотки крови крыс на всех исследованных сроках стресса и предотвращало угнетение активности антиоксидантных ферментов (СОД, каталаза, глутатионредуктаза).

Заключение

Как известно, кроветворная ткань относится к ткани с преимущественно клеточной регенерацией [33; 131]. Однократное применение ряда воздействий на организм (иммобилизация, раздражение электрическим током, мышечная нагрузка, кровопускание, гипоксическая гипоксия, введение эритропоэтина, облучение) и исследование изменений, развивающихся в течение 48–72 часов от начала воздействия, позволило выделить в реакциях системы крови два периода. Первый продолжается в течение 12 часов и характеризуется лимфопенией, эозинопенией и нейтрофилезом; в лимфоидных органах – снижение содержания клеток; в костном мозге имеет место уменьшение числа зрелых нейтрофильных гранулоцитов, увеличение содержания лимфоидных клеток, достоверное увеличение числа КОЕс [33]. Для этого периода характерно также разрушение зрелых клеток крови, в частности, гемолиз эритроцитов [142]. К концу первых суток наступает второй период, изменения в котором определяются спецификой примененного воздействия. В частности, в костном мозге наблюдается активация эритроидного или гранулоцитарного ростков гемопоэза с явлениями «гиперплазии», снижением содержания лимфоидных клеток. Таким образом, для физиологической регенерации кроветворной ткани характерны усиление миграции клеток и активация пролиферативных процессов в костном мозге, а в лимфоидной ткани пролиферативные процессы снижаются.

В целом физиологическая регенерация кроветворной ткани представляет собой сложный многоуровневый процесс, который регулируется целой системой дублирующих друг друга механиз-

мов, позволяющих в случае необходимости избирательно активировать или угнетать отдельные звенья гемопоеза.

Среди механизмов, изменяющих соотношение клеток в кроветворной ткани, центральное место занимает их выброс в циркулирующую кровь, что имеет место при ЭБС, данный процесс является самым быстрым при мобилизации клеток крови. В частности, хорошо известно повышенное поступление в циркуляцию ретикулоцитов из костного мозга при повышении потребности в эритроцитах, подобная ситуация имела место после действия 1- и 6-часового ЭБС, а также в течение 2 часов, 1–2 суток после стресса. Многие воздействия на организм, в том числе и ЭБС, сопровождаются выбросом лейкоцитов из костного мозга и развитием лейкоцитоза, который достигает пиковых величин на 3–6 час. Изменение соотношения клеток в кроветворной ткани в свою очередь может активировать пролиферативные процессы, которые имели место в течение 1–5 суток после 6-часового ЭБС.

Изменение баланса между клетками в кроветворных органах связано не только с клетками, их покидающими, но и с клетками, которые мигрируют в костный мозг (например, Т- и В-лимфоциты), обогащая его пластическими материалами и увеличивая иммунокомпетентность [33; 165]. В исследованиях В.П. Шахова (1986) установлено, что развитие гиперплазии костного мозга при иммобилизационном стрессе обусловлено стимуляцией Т-лимфоцитами процессов пролиферации и дифференцировки коммитированных клеток-предшественников эритро- и гранулоцитомопоэза [38; 161].

В.П. Шахов [161] отмечает, что кроветворная ткань представляет собой мозаичную структуру, в которой определяются специализированные территории в форме гемопоэтических островков (ГО), в которых происходят процессы пролиферации и дифференцировки клеток крови. В костном мозге всегда опреде-

ляются резидентные мононуклеарные фагоциты и лимфоидные клетки, количество которых увеличивается при стрессе или иных воздействиях. Установлено, что стрессовая реакция сопровождалась увеличением в костном мозге общего количества эритроидных, миелоидных и эритромиелоидных (смешанных) макрофагальных ГО на 1, 3 и 6-е сутки опыта, что вполне согласуется с полученными нами результатами, касающимися достоверного увеличения абсолютного количества ЭО на 1–2 сутки после ЭБС. Кроме того, описан тип прямого взаимодействия Т-лимфоцит-макрофаг-гемопоэтическая клетка (мишень) на уровне структурно-функциональных единиц костного мозга – ГО, входящий в систему быстрого и медленного каскадоподобного механизма адаптации кроветворной ткани при стрессе [160; 161].

В исследованиях А.М. Дыгая [38] установлено, что 10-часовой иммобилизационный стресс вызывал значительные изменения в содержании эритроидных и гранулоцитомacroфагальных колониеобразующих единиц (Э-КОЕк, ГМ-КОЕк) в процессе развития адаптационной перестройки костномозгового кроветворения. В частности, достоверное увеличение числа Э-КОЕк было отмечено на 3 сутки от начала воздействия, а ГМ-КОЕк – с 4-х по 6-е сутки опыта. При этом пролиферативная активность указанных категорий миелоидных прекурсоров возрастала раньше (с 2-х суток) и оставалась достоверно повышенной до 6-х суток (Э-КОЕк) и 7-х (ГМ-КОЕк) суток от начала иммобилизации. Это вполне согласуется с полученными нами данными, свидетельствующими о повышении пролиферативной активности эритроидных клеток костного мозга в течение 1–5 суток после действия ЭБС. Одной из первых реакций клеток на действие регуляторных факторов является изменение пула активно пролиферирующих прекурсоров с последующими количественными сдвигами в их содержании. Даже после нормализации численного состава

Э-КОЕк и ГМ-КОЕк их пролиферативная активность осталась на высоком уровне. Это согласуется с полученными нами данными об увеличении на 5 сутки после 6-часового ЭБС ПИЭПД на 30,56% ($p < 0,05$), ППВМЭ на 54,84% ($p < 0,01$) по сравнению с контролем на фоне уменьшения на 19,63% ($p < 0,05$) ПСЭО в этот период после стресса, что указывает на имеющие место пролиферативные процессы в ткани костного мозга. По мнению авторов, одним из проявлений регуляторных влияний на гемопоэз лимфоцитов тимического происхождения являлся запуск пролиферации Э-КОЕк и ГМ-КОЕк с последующим увеличением их числа, что являлось основой развития феномена гиперплазии костномозгового кроветворения при стрессе [38].

А.М. Дыгай и Е.Г. Скурихин [39] подчёркивают, что при длительной фиксации животных в положении лёжа на спине (6–10 часов) активация пролиферации и дифференцировки КОЕ-ГМ и КОЕ-Э предшественников во многом обеспечивается повышенным тонусом симпатической нервной системы, причём КОЕ-Э более чувствительны к β -адренергическим стимулам. Авторы также отмечают, что интенсивность костномозгового эритропоэза и регенерация эритрона сопряжена прежде всего с серотонинергической регуляцией, а изменение содержания гранулоцитов и регенерация белой крови в костном мозге и периферической крови в основном зависит от центральных катехоламинов [39]. Кроме того, существует специфика контроля системы цитокинов: реализация эффектов эритропоэтина во многом связана с серотонинергическими структурами, а Г-КСФ – с адренергическими и дофаминергическими механизмами. Ингибирующее действие дофаминергической системы на эритропоэз проявляется в угнетении функции клеточных элементов микроокружения и системы ЭПО. В то же время, серотонин ЦНС задерживает восстановление эритроидных

клеточных комплексов и активность эритроидных прекурсоров, т.е. механизмы, сопряжённые с ЭПО [37; 39].

В исследованиях Е.Д. Гольдберга [31] установлена избирательность α - и β -адренергических стимулов в отношении соответственно грануломоноцитарных и эритроидных прекурсоров, которая могла быть обусловлена, с одной стороны, определенной специфичностью распределения адренорецепторов на различных популяциях клеток-предшественников (в частности, β -адренорецепторы определены на эритроидных прекурсорах, но не обнаружены на коммитированных предшественниках гранулоцитопоза). С другой стороны, более вероятным являлось разнонаправленное влияние α - и β -адренергических стимулов на уровни внутриклеточных мессенджеров (цАМФ, цГМФ) и предполагаемое действие цАМФ и цГМФ на выбор прекурсорами эритроидной либо гранулоцитомacro-фагальной линии дифференцировки. При этом авторы отмечают, что β -адренергические агонисты через повышение внутриклеточного уровня цАМФ потенцировали обусловленное эритропоэтином образование эритроидных колоний, а для цГМФ таких доказательств, по их мнению, нет [31].

Установлено, что в результате гипоксического воздействия на организм лимфоидные клетки приобретают способность стимулировать эритропоэз. Например, в опытах на крысах установлено, что введение $400 \cdot 10^6$ спленоцитов, полученных от доноров, подвергавшихся 6-часовому пребыванию на «высоте» 7000 м, интактным реципиентам вызывали у последних заметную стимуляцию эритропоэза. Спленоциты же интактных доноров не оказывали какого-либо существенного влияния на реципиентов, а эритропоэз-стимулирующие свойства трансплантируемых «гипоксических» лимфоцитов в значительной степени зависели от продолжительности гипоксического воздействия, которому подвергались доноры. В экспериментах на крысах показано, что в условиях возмущения

эритропоэза в лимфоидной ткани происходило усиление процессов дифференцировки лимфоцитов за счет резкого торможения их пролиферации, а стимулирующее влияние лимфоидной системы на эритропоэз реализовалось путем миграции и накопления в костном мозге дифференцированных Т-лимфоцитов с низким содержанием РНК [131].

В своих исследованиях Г.А. Макарова [85] указывает на фазные изменения показателей эритропоэза в динамике длительной гиподинамии у крыс. В частности, к концу второй недели количество эритроцитов, гемоглобина и ретикулоцитов увеличивалось на 15–27%, возможно, как за счет гемоконцентрации, о чем свидетельствовало и увеличение показателя гематокрита, так и вследствие стимулирующего влияния на эритропоэз симпатoadреналовой системы, повышенная активность которой отмечалась в первые недели гиподинамии. К концу первого месяца опыта количество эритроцитов и гемоглобина снижалось на фоне постоянных величин гематокрита. Наиболее отчетливое уменьшение продукции эритроцитов и синтеза гемоглобина наблюдалось на 45–60 сутки гиподинамии, при этом число ретикулоцитов падало, показатель гематокрита значительно уменьшался. Изучение интенсивности включения глицина-1-С¹⁴ в органеллы клеток костного мозга при гиподинамии выявило угнетение биосинтетических процессов, особенно в митохондриях и микросомальной фракции, что приводило, очевидно, к ослаблению мощности структурной и ферментативной системы митохондрий и угнетению синтеза гемоглобина в полисомах. Определение титра эритропоэтина в плазме крови гиподинамичных животных выявило снижение его в период выраженных изменений эритропоэза, что свидетельствует об его недостаточной продукции почками.

По современным представлениям механизм действия эритропоэтина заключается в дерепрессии в стволовых клетках локу-

сов, ответственных за синтез всех классов РНК, специфичных для эритроидных клеток, стимуляции митотической активности и размножении эритробластов в костном мозге, а также их ускоренной гемоглобинизации. Авторы считают, что при гиподинамии угнетение продукции эритропоэтина (как и синтеза белка вообще)? обусловленное, по-видимому, ослаблением нервно-трофических воздействий на метаболизм тканей, подавлением функции эндокринных желез и снижением гормональной индукции биосинтетических процессов, приводило, вероятно, к уменьшению его базального уровня в плазме и торможению эритропоэза. Напротив, усиленная мышечная деятельность крыс вызывает увеличение продукции и титра эритропоэтина в плазме, а усиление эритропоэза при этом рассматривается как компенсаторный механизм, повышающий доставку и потребление кислорода тканями [85].

При моделировании острой кровопотери у интактных животных через сутки наблюдался выраженный ретикулоцитоз, увеличение включения глицина- C^{14} в цитоструктуры костного мозга и почек. На этом фоне титр эритропоэтина в плазме увеличивался почти в 3 раза. В итоге это способствовало ускорению дифференциации и пролиферации эритроидных элементов в костном мозге и интенсивному выбросу в кровь ретикулоцитов, где наблюдалось их ускоренное созревание. У крыс, подвергнутых гиподинамии, острая кровопотеря вызывала более резкое, по сравнению с нормальными животными, падение количества эритроцитов и гемоглобина и менее интенсивные репаративные процессы в костном мозге, почках и печени. Ретикулоцитоз в первые сутки кровопотери был также менее выражен и нарастал медленнее, что указывало на инертность восстановительного постгеморрагического эритропоэза при гиподинамии [85].

В исследованиях Л.Н. Катюхина, М.Н. Масловой [62] показано, что в результате 3-часовой иммобилизации повышенное ко-

личество эритроцитов в периферической крови отмечено с первых минут и до конца наблюдения, соответственно возрастали гематокрит и концентрация гемоглобина, однако уже через час после 3-часовой иммобилизации эти показатели не отличались от исходных. При стрессе изменялся профиль эритроцита: для острой иммобилизации и первых часов восстановления был характерен платоцитоз, о чем свидетельствовали сниженная толщина и увеличенный сферический коэффициент, эритроцит приобретал некоторый запас площади поверхности: достоверно повышалась удельная поверхность клетки. Через 3 часа отмечались достоверный сдвиг и подъем правого крыла эритрограммы. Устойчивость эритроцитов к механической травме снижалась сразу после обездвиживания животных и оставалась пониженной до конца наблюдения. Через сутки после воздействия 3-часовой иммобилизации по многим измеренным параметрам отмечалась практически полная нормализация. Тем не менее ряд таких показателей, как механическая и кислотная стойкости мембран, объем и диаметр эритроцитов, не возвращался к контрольным значениям еще в течение суток после воздействия.

Б.Г. Юшков [168] отмечает, что участие системы крови в адаптации организма к действию экстремальных факторов определяется в основном газотранспортной, гемостатической и морфогенетической функциями этой системы. Следует отметить, что в кроветворной ткани наряду с гемопоэтическими клетками содержатся и некроветворные элементы: сосуды, стромальные механоциты, тучные клетки, макрофаги, составляющие гемопоэзиндуцирующее микроокружение, функциональное состояние которых может существенно повлиять на реакции системы крови. Существенно, что практически все экстремальные воздействия на организм сопровождаются изменением газотранспортной функции крови. Принято считать, что обеспечение кислородного режима в

тканях при действии на организм экстремальных факторов зависит от интенсивности эритропоэза, изменяющегося под влиянием гуморальных регуляторов эритропоэза, главным образом эритропоэтина.

Б.Г. Юшков (2006) отмечает, что в последние годы накопились данные, свидетельствующие о существовании других механизмов (в частности, отсутствие у части животных реакции со стороны крови на экстремальные воздействия, а также на эритропоэтические стимулы – мыши со стальной анемией $S1/S1^d$). Среди таких механизмов уместно назвать изменение соотношения между отдельными фракциями гемоглобина [168].

Действие на организм экстремальных факторов усиливает деградацию гемоглобина, о чем свидетельствует увеличение доли и абсолютного количества 1 и 2 фракций гемоглобина. При гипоксии возрастает содержание кислотоустойчивых форм (5 и 6 фракции), обладающих большей кислородсвязывающей способностью. Возрастание содержания кислотоустойчивых фракций связано с активацией эритропоэза и происходит параллельно развитию ретикулоцитоза. Однако на поздних сроках отмечается отчетливая диссоциация между количеством ретикулоцитов в крови и содержанием кислотоустойчивых фракций гемоглобина.

В системе эритрона существует несколько направлений образования красных клеток: основной путь присущ зрелому организму в нормальных условиях. Резервный, или «аварийный», путь имеет место в фетальный период, а также включается при действии на организм экстремальных факторов. На газотранспортную функцию существенное влияние оказывает и активирующаяся при экстремальных воздействиях деградация гемоглобина. Изменение соотношения между этими двумя путями эритропоэза в условиях измененного кислородного режима позволяет заключить, что на реакцию эритрона существенное влияние оказывает кровоснабже-

ние костного мозга. По данным [168–172], при экстремальных воздействиях на организм развивается типичная реакция со стороны сосудов, а именно: увеличение их числа, диаметра и межэндотелиальных промежутков.

При исследовании изменения гемодинамики в костном мозге кроликов при дозированном сужении *a. iliaca interna* (наложение серебряного кольца) было выявлено, что костный мозг оперированной конечности терял зрелые клетки нейтрофильного ряда, и в нем отмечалась гиперплазия эритроидного роста [170].

Известно, что важную роль в поддержании эритропоэза играют макрофаги, участвующие в формировании эритробластических островков. На моделях гипоксической гипоксии и кровопотери было выявлено после уменьшения в первые часы абсолютного количества эритробластических островков их возрастание в 2 раза.

На фоне блокады фагоцитарной активности макрофагов полисахаридом каррагинаном количество эритробластических островков при гипоксии не менялось, а при кровопотере даже снижалось. При этом плотность макрофагов в костном мозге в ответ на гипоксию не изменялась, а при кровопотере даже резко увеличивалась.

В.А. Черешневым [154] показано, что в условиях измененного кислородного режима на реакцию эритрона может оказывать влияние кровоснабжение костного мозга. По данным этих авторов, при экстремальных воздействиях на организм развивается типичная реакция со стороны сосудов – увеличение их числа, диаметра и межэндотелиальных промежутков. Гипоксия, вероятно, подавляет активность тучных клеток и вызывает уменьшение их содержания в костном мозге и в результате наблюдается снижение количества тучных клеток и гиперплазия мегакариоцитарного ростка.

Авторы отмечают, что в представленных моделях образование дальноранговых специфических регуляторов эритропоэза не

нарушено, следует признать важную роль макрофагов в реализации срочных механизмов регуляции эритропоэза при действии на организм экстремальных факторов [153–156].

У животных с нестимулированной иммунной системой спленоциты и тимоциты через 17 часов после кровопотери приобретали способность активировать эритропоэз, но после введения тималина эта способность утрачивалась, а после введения полиоксидония и тамерита проявлялась раньше на 4 часа. Таким образом, полученные данные свидетельствуют об участии иммунной системы в регуляции кроветворения [171].

В исследованиях М.В. Улитко [143] показано, что иммобилизационный стресс активирует моноцитарный росток кроветворения в течение 6 часов после воздействия. Этот эффект, по мнению автора, может быть обусловлен действием гормонов надпочечников, которые индуцируют секреторную функцию макрофагов [87], блокируют синтез ФНО- α , угнетающего моноцитопоэз, вызывают вазоконстрикцию и снижают проницаемость сосудов, замедляя миграцию моноцитов из костного мозга в кровь. Автор отмечает, что при гипоксической гипоксии по мере увеличения числа сеансов и развития тканевой гипоксии активация моноцитопоэза развивается постепенно. Возможно, данный эффект объясняется чувствительностью макрофагов к эритропоэтину, продукция которого при тканевой гипоксии резко возрастает. Это вполне согласуется с полученными нами данными об увеличении уровня ЭПО в крови в результате действия 6-часового ЭБС. Эритропоэтин повышает фагоцитарную активность макрофагов, стимулирует лизосомальные процессы, а при взаимодействии с КГФ-ГМ и ИЛ-3 способствует пролиферации данных клеток [41; 67]. В наших исследованиях, пролиферативные процессы в ткани костного мозга начинались через сутки после действия стресса. Известно, что одно из проявлений адаптивной роли макрофагов – их участие в образовании

ЭО и в регуляции пролиферации и созревания эритроидных клеток. Макрофаги ЭО 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. Это согласуется с результатами наших исследований, касающихся увеличения ППВМЭ на 1, 2, 5 сутки после 6-часового ЭБС на 38,71% ($p < 0,05$); 93,55% ($p < 0,01$) и 54,84% ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с контролем и в 6,0–8,6 раз ($p < 0,001$) по сравнению с 6-часовым ЭБС. Важно отметить, что при введении церулоплазмينا в течение 1–2 суток после 6-часового ЭБС у животных ППВМЭ был увеличен в 4–5 раз ($< 0,001$), а при введение ЭПО – в 7,5–12,5 раз ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичным сроком стресса без препаратов. В организме функциональная активность макрофагов, а, следовательно, и их эритропоэтические свойства регулируются тесно взаимосвязанными нервными, эндокринными и локальными механизмами. Мы согласны с мнением Ю.М. Захарова (2002, 2009) [49; 54], отмечающего, что ранняя реакция кроветворной ткани на действие экстремальных факторов является достаточно типичной и проявляется в ускорении созревания эритроидных клеток в ЭО. Полученные нами данные согласуются с современными представлениями о запуске стресс-эритропоэза в ранние сроки после действия экстремального фактора, в частности, уже спустя один час после действия эмоционально-болевого стресса.

М.В. Улитко отмечает, что иммобилизационный стресс характеризуется образованием новых ЭО и повторным вовлечением макрофагов в этот процесс, что вполне согласуется с нашими исследованиями. Кроме того, активация эритропоэза, отмечаемая нами начиная с одних до пяти суток после действия ЭБС,

сопровождается интенсивным выходом «внеостровковых» эритроидных клеток из костного мозга. В частности, объём «внеостровкового» эритропоэза в этот период уменьшился на 16,74–27,87% ($p < 0,05$) по сравнению с 6-часовым ЭБС. В результате действия 1- и 6-часового ЭБС, а также спустя два часа после 6-часового ЭБС объём «внеостровкового» эритропоэза был выше контроля соответственно на 8,60% ($p < 0,05$); 12,99% ($p < 0,05$) и 16,80% ($p < 0,05$), являясь, на наш взгляд, компенсаторной реакцией системы эритроин в ответ на действие стресса.

По мнению М.В. Улитко активация эритропоэза в ЭО у животных после иммобилизационного стресса проявляется усилением формирования новых ЭО, увеличением реконструкции уже существующих ЭО, что согласуется с результатами нашего исследования [143].

И.А. Хлусов, А.М. Дыгай, Е.Д. Гольдберг [149] отмечают, что продукция ИЛ-1 и ИЛ-3 значительно возрастает при необходимости экстренной стимуляции гемопоэза, в том числе при стрессе, который сопровождается активацией симпатикоадреналовой системы. Установлено, что 10-часовая иммобилизация мышей-гибридов (СВАхС57В1/6) F₁ приводила к статистически значимому возрастанию уровня ИЛ-1-активности в супернатантах адгезирующих миелокариоцитов, стимулированных липополисахаридом (ЛПС), на 2 и 5 сутки до 254–270% от исходного значения. А увеличение продукции ИЛ-3-активности неадгезирующими, стимулированными КонА нуклеарами костного мозга отмечалось на 1–2, 4–5 и 7-е сутки от начала воздействия. При этом своей максимальной величины (395% от исходного) изучаемый показатель достигал к 4-м суткам наблюдения. Как известно, продукция и биологическое значение данных цитокинов значительно возрастают в экстремальных ситуациях, включая иммобилизационный стресс [149]. Аналогичные результаты были получены в наших исследованиях,

касающихся увеличения уровня провоспалительных цитокинов в крови и костном мозге при ЭБС.

При введении мышам, подвергнутым иммобилизации, фармакологического антагониста α -адренергических структур наблюдалось длительное снижение ИЛ-1 продуцирующей активности костномозговых нуклеаров, наиболее выраженное на 3–5-е сутки исследования. При этом выраженное модулирующее действие фармакологические адренергические антагонисты оказывали также на динамику ИЛ-3- активности неадгезирующих нуклеаров костного мозга, стимулированных КонА. По мнению авторов, не вызывает сомнений активное участие адренергических структур в регуляции продукции ИЛ-1 и ИЛ-3 клетками, образующими гемопозиндуцирующее микроокружение, в динамике ответа кроветворной ткани на стресс-воздействие. В свою очередь, десинхронизирующее влияние адреноблокаторов на выработку цитокинов позволяет заключить, что значение катехоламинов при стрессе состоит, по-видимому, в формировании конкретного ритма сопряженной продукции цитокинов, определяющей усиленный рост ранних гемопозитических прекурсоров. При этом активный метаболизм адренергических антагонистов свидетельствует в пользу того, что взаимодействие симпатической нервной системы с клетками ГИМ в механизмах повышенной выработки цитокинов имеет существенное значение именно в ранние сроки развития стресс-реакции в ответ на иммобилизацию.

Ю.И. Баженов [3] отмечает, что при стресс-реакции, в частности – кратковременном охлаждении, происходит увеличение числа эритроцитов и количества гемоглобина в периферической крови. В проведённых им исследованиях у животных, подвергнутых холодному воздействию, наблюдалось увеличение числа эритроцитов на 14,2 % ($p < 0,05$) и количества гемоглобина на 14,6% ($p < 0,05$). Но баланс между этими двумя величинами

нарушен не был, о чем свидетельствовал тот факт, что среднее содержание гемоглобина в эритроците не изменилось. Изменения в красном костном мозге носили неоднородный характер. В частности, наблюдалось увеличение общего числа ЭО на 10,3% ($p < 0,05$), что обусловлено повышением числа колониеобразующих единиц эритропоэза, вовлекаемых в процесс дифференцировки, и приводило соответственно к увеличению числа макрофагов, повторно вовлекаемых в эритропоэз. Время созревания нормобластов в эритробластических островках уменьшалось, о чем свидетельствовал показатель созревания, который у опытной группы крыс был на 26,0% ($p < 0,001$) ниже уровня контроля. После кратковременной адаптации к холоду наблюдалось изменение формулы ЭО: содержание ЭО 1 и 2 классов зрелости, а также ЭОрек увеличивалось на 6,0 и 34,5% ($p < 0,001$) и 8,5% ($p < 0,05$), а число ЭО 3 класса и ЭО-инв снижалось на 14,9% и 18,2% ($p < 0,001$) соответственно. Таким образом, кратковременная холодовая адаптация оказывала четко выраженное влияние как на периферическое, так и на центральное звено эритрона, что приводило к повышению запроса кислорода тканями и органами. В итоге экстренной ответной реакцией на это требование являлся перераспределительный эритроцитоз. О том, что число эритроцитов в циркуляторном русле пополнилось за счет ранее созревших клеток, свидетельствовало соответствие прироста гемоглобина приросту числа эритроцитов и, как следствие этого, сохранение уровня среднего содержания гемоглобина в одном эритроците. Красный костный мозг тоже становился донором эритроцитов, так как уменьшение числа эритробластических островков поздних стадий развития свидетельствовало об усилении темпов их инволюции и освобождения из них зрелых клеток [3]. Аналогичная ситуация имела место при воздействии на организм эмоционально-болевого стресса.

Второй ступенью в цепи физиологических перестроек эритроцитарной системы при кратковременной адаптации к холоду явилось расширение плацдарма кроветворения за счет новообразования эритробластических островков, в котором принимало участие возросшее число колониеобразующих единиц эритропоэза и макрофагов, повторно вовлекаемых в эритропоэз. Механизм избирательного контакта коло-ниеобразующих единиц эритропоэза и макрофага костного мозга при формировании эритробластических островков до конца не ясен [3]. Это вполне согласуется с результатами, полученными нами при исследовании 1-2 суточного восстановительного периода после 6-часового ЭБС.

В исследованиях И.А. Волчегорского и Н.В. Тишевой [23; 261] было рассмотрено влияние «средних молекул» (СМ), выделенных из плазмы крови интактных и обожжённых животных на клеточный состав культуры ЭО костного мозга. Уместно отметить, что СМ традиционно рассматриваются как совокупность неспецифических субстратов так называемого «синдрома эндогенной интоксикации». Вместе с тем показано, что различные фракции СМ оказывают регуляторное влияние на функциональную активность нейтрофильных гранулоцитов и мононуклеарных фагоцитов, процессы мобилизации полинуклеарных лейкоцитов из костного мозга, выраженность воспалительной реакции, а также на иммунный ответ. Кроме того, имеются данные, позволяющие предположить участие СМ в регуляторном подавлении эритропоэза при почечной недостаточности и термических ожогах. Ранее И.А. Волчегорский [24] показал, что термический ожог приводит к появлению в крови среднемолекулярных веществ с широким спектром стимуляторных эффектов в отношении системы иммунобиологического надзора, причем основная масса этих факторов была сосредоточена во фракциях 2 и 3, обладающих иммунодепрессивными свойствами. В экспериментах с внесением СМ в культуры ЭО было

установлено, что быстроэлюируемые среднемолекулярные вещества (фракция 2) из крови интактных и обожженных собак оказывало разнонаправленное действие на эритропоэз *in vitro*. Например, 24-часовое культивирование в присутствии фракции 2 из крови интактных животных сопровождалось увеличением количества пролиферирующих островков (2-го класса зрелости и ЭОрек), а также зрелых островков 3-го класса. Существенное уменьшение числа инволюцирующих островков, по мнению авторов, обусловило снижение общего количества ЭО к концу 1-х суток культивирования. Авторы предполагают, что СМ фракции 2 способствовали комплексации КОЕэ с резидуальными (свободными) макрофагами, относительное количество которых оказалось более чем в 2 раза уменьшенным. Почти в 2 раза возрос показатель повторного вовлечения макрофагов в эритропоэз и увеличился показатель вовлечения КОЕэ в дифференциацию, что указывало на преобладание пролиферативных процессов. Преимущественно пролиферативная направленность изменений иллюстрировалась также снижением показателя созревания эритроидных клеток в ЭО. Аналогичная ситуация имела место в наших исследованиях при введении церулоплазмينا и ЭПО животным, подвергнутым ЭБС. Полученные авторами данные в целом свидетельствовали о том, что СМ фракции 2 из крови интактных собак оптимизировали эритропоэз за счет новообразования островков и усиления процессов реконструкции эритропоэза в ЭОинв. Фракция 2 из крови обожженных животных, обладающая иммуностимулирующей активностью, подавляла эритропоэз в культурах ЭО. Подавление пролиферативных процессов подтверждалось также сдвигами и расчетных показателей: показатель повторного вовлечения макрофагов в эритропоэз и показатель вовлечения КОЕэ в дифференциацию достоверно снизились по сравнению с контролем. Авторы не исключают, что СМ фракции 2 из крови обожженных собак препят-

ствовавали комплексации КОЕэ со свободными макрофагами, относительное число которых возросло более чем в 1,5 раза [23; 140].

В исследованиях О.Ю. Захаровой [55] установлено, что у подвергнутых иммобилизации животных наблюдалась стимуляция костномозгового кроветворения на 6–7-е сутки исследования. При этом общее количество миелокариоцитов возрастало при этом соответственно до 141% и 112% от исходного и было обусловлено активацией как эритропоэза (до 229% от исходного), так и гранулоцитопоэза (до 136% от исходного). Авторы отмечают, что иммобилизация сопровождалась не только увеличением выхода из костного мозга колоний гранулоцитомacroфагального типа, но и появлением до 28% эритроидных колоний, которые не выявлялись при данных условиях культивирования у интактных животных (до иммобилизации). Этими авторами показано, что введение мет-энкефалина мышам, подвергнутым кратковременной иммобилизации, оказывало стимулирующее влияние на гемопоэз [55]. В условиях стресса в надпочечниках вырабатывается преимущественно мет-энкефалин, воздействие которого на кроветворную систему, по-видимому, могло проявляться в развитии адаптивной костномозговой гиперплазии.

В проведенных Г.Н. Зюзьковым [58; 59] экспериментах было показано, что гипоксия независимо от вызвавшей ее причины приводила к резкой стимуляции эритропоэза, проявлявшейся увеличением ядросодержащих клеток в костном мозге и числа ретикулоцитов в периферической крови. При этом в основе гематологических сдвигов лежало повышение количества прекурсоров эритропоэза в костномозговой ткани, их пролиферативной активности и скорости дифференцировки. Было выявлено, что развитие энцефалопатии при кислородной недостаточности высокой степени тяжести сопровождалось отсроченным повреждением коммитированных клеток-предшественников и снижением уровня

гиперплазии эритроидного ростка кроветворения несмотря на компенсаторную активацию процессов созревания прекурсоров эритропоэза.

При гемолитической анемии при введении 30 мг/кг солянокислого фенилгидразина на протяжении всего эксперимента авторами выявлено существенное повышение выхода эритроидных колоний в метилиеллюлозной среде с добавлением сывороток (ЭПА), со статистически значимым увеличением содержания в последних эритропоэтина лишь на 7 сутки. Авторы отмечают, что считается доказанным факт стимуляции эритроидного ростка кроветворения продуктами деградации эритроцитов и эритропоэзингибирующее действие провоспалительных цитокинов [58]. Известно, что гипоксические воздействия приводят к существенному увеличению уровней содержания флогогенных веществ в сыворотке крови, в том числе и провоспалительных цитокинов. В наших исследованиях также имело место увеличение уровня провоспалительных цитокинов в результате воздействия ЭБС, сопровождающегося гипоксией тканей и органов.

Авторы указывают, что практически любое заболевание в той или иной мере сопровождается нарушением процессов аэробного окисления. Гипоксический стимул при этом, как правило, оказывает мощное действие на всю систему транспорта кислорода, инициирующее функциональную перестройку структур, принимающих участие в окислительном обеспечении организма, направленную на поддержание энергетического обмена. При этом система крови участвует в формировании качественно «нового» паттерна деятельности органов при дефиците кислорода и адаптации организма к условиям гипоксии. Считается доказанной ключевая роль эритропоэтинпродуцирующих систем в регуляции кроветворения при окислительной недостаточности различного происхождения [59].

Комплексы неспецифических реакций в результате действия ЭБС со стороны центрального и периферического отделов эритрона отражают фазу дестабилизации гомеостатических констант, которая способствует выбору наиболее адекватной из возможных в данных условиях программы адаптации. Это согласуется с ранее полученными результатами экспериментальных исследований Д.З. Шибковой, Н.В. Ефимовой (2008) [164; 166] на модели хронического облучения. При действии ЭБС в организме животных запускается целый ряд последовательных реакций со стороны системы эритрона, включающих интегрирующие регуляторные системы, мобилизующие срочные механизмы адаптации в системе эритрон, целью которых является восстановление нарушенного в результате ЭБС гомеостаза. Одним из таких механизмов является миграция ретикулоцитов и эритроцитов из костного мозга в периферическую кровь. Снижение притока из костного мозга коммитированных предшественников эритроидного ряда имеет важное значение во включении молекулярных и клеточных механизмов, направленных на поддержание устойчивого регулируемого эритропоэза.

Перераспределение активности между различными показателями центрального и периферического отделов эритрона является необходимым условием компенсации морфофункциональных нарушений в организме животных, вызванных действием ЭБС. Нами выявлены отрицательные корреляционные связи после 1- и 6-часового ЭБС, а также спустя 2 часа после 6-часового ЭБС между содержанием эритроцитов и ретикулоцитов в периферической крови, с одной стороны, и количеством миелокариоцитов в костном мозге – с другой ($r_s = -0,69$ и $r_s = -0,65$ соответственно); между содержанием эритроцитов и ретикулоцитов в периферической крови, с одной стороны, и количеством эритроидных ядросодержащих клеток в костном мозге – с другой ($r_s = -0,71$ и $r_s = -0,78$ соответственно); между содержанием эритроцитов и ретикулоци-

тов в периферической крови, с одной стороны, и абсолютным количеством ЭО в костном мозге – с другой ($r_s = -0,81$ и $r_s = -0,84$ соответственно).

Наблюдаются существенные перестройки количественного и качественного составов разных классов ЭО в костном мозге, направленные на восстановление нарушенного в результате ЭБС эритропоэза. Полученные нами данные показывают, что в период угнетения эритропоэза после 6-часового ЭБС система эритрона работает в режиме поиска нового стационарного состояния. Анализ литературных данных и результаты собственных экспериментальных исследований позволили выявить ряд компенсаторных процессов в системе эритронов при ЭБС.

В лаборатории Ю.М. Захарова установлено [48], что компенсационный эритропоэз, возникающий в ответ на кровопотерю или моделируемый введением животным больших доз эритропоэтина, характеризуется увеличением (по сравнению с физиологическим эритропоэзом) в бедренной кости животных количества ЭО 1 класса (т.е. увеличивается количество колониеобразующих единиц – эритроцитарных и резидуальных макрофагов, вовлекаемых в формирование островков *de novo*), а также ЭОрек. Последние формируются как на основе ЭОинв, так и ЭО 3 класса, т.е. увеличивается возможность контакта эритроцитарной колониеобразующей единицы как с макрофагами инволюцирующих островков, так и с макрофагами ЭО 3 класса зрелости. При этом среди островков 3 класса зрелости начинали регистрироваться ЭО, содержащие в «короне» до 64 и более эритроидных ядросодержащих клеток («суперЭО», следствие удвоений 32:64 и, возможно, 64:128).

Таким образом, формирование компенсационного эритропоэза в ЭО костного мозга основано на их следующих резервных возможностях: 1) в «короне» ЭО осуществляется до шести (семи) удвоений эритроидной клетки; 2) эритроцитарная колониеобра-

зующая единица дифференцируется в «короне» эритробластического островка 3 класса, начиная при этом формировать новую волну эритропоэза в «короне» этого островка; 3) возрастает количество контактов колониеобразующей единицы эритроцитарной с резидуальными макрофагами и макрофагами инволюцирующих островков по сравнению с физиологическим эритропоэзом.

Авторы подчёркивают, что основой включения компенсационного эритропоэза в ЭО является усиление эритропоэтических функций их макрофагов, в частности, усиление синтеза сульфатированных и сверхсульфатированных гликозаминогликанов (хондроитинсульфата, дерматансульфата и др.) и увеличение концентрации эритропоэтина в костном мозге, секретируемого, в частности, центральными макрофагами ЭО [48].

Реакция системы эритрона на ЭБС характеризуется наличием синхронных и гетерохронных реакций. В частности, после действия 1-часового ЭБС наблюдалось увеличение количества ретикулоцитов в периферической крови; провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в крови и костном мозге, МДА в крови и костном мозге; активизация процессов липопероксидации [повышенное содержание кетодиенов и сопряжённых триенов на 12–15% ($p < 0,05$)] на фоне повышения активности антиоксидантных ферментов [на 10–16% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем]. Аналогичная тенденция наблюдалась и после 6-часового ЭБС, за исключением падения активности антиоксидантных ферментов в крови и ткани костного мозга на 10–20% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Нами показано, что предварительное введение ЦП предупреждало угнетение антиоксидантных ферментов в крови и костном мозге, способствовало снижению содержания молекулярных продуктов ПОЛ как во время ЭБС, так и в течение 5 суток после него. Кроме того, введение ЦП активизировало ориентировочно-исследовательскую активность животных, способствовало снижению тревожности при тестировании этологических показателей после стресса.

В течение 1–2 суток после действия 6-часового ЭБС наблюдалось повышенное по сравнению с контролем содержание ретикулоцитов в периферической крови [на 21–37% ($p < 0,05$)]; провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в крови и ткани костного мозга; уровня МДА в крови и костном мозге [на 30–60% ($p < 0,01$) по сравнению с контролем] на фоне уменьшения содержания кетодиенов и сопряжённых триенов в ткани костного мозга и крови по сравнению с 6-часовым ЭБС, а также снижения активности антиоксидантных ферментов особенно в костном мозге [на 11–27% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем].

После 1- и 6-часового ЭБС нами выявлены достоверные корреляционные связи между количеством миелокарицитов в костном мозге и содержанием продуктов ПОЛ, растворимых в гептане₂ ($r_s = -0,52$; $r_s = -0,80$); между количеством ретикулоцитов в периферической крови и содержанием продуктов ПОЛ в ткани костного мозга, растворимых в гептане₂ ($r_s = 0,82$; $r_s = 0,84$); между абсолютным количеством ЭО в костном мозге и содержанием продуктов ПОЛ в ткани костного мозга, растворимых в гептане₂ ($r_s = -0,76$; $r_s = -0,87$).

После 1-часового ЭБС зафиксированы отрицательные корреляционные связи между содержанием миелокарицитов в костном мозге, с одной стороны, и активностями СОД, каталазы, ГР в костном мозге – с другой ($r_s = -0,85$; $-0,82$; $-0,79$). Аналогичные связи были выявлены между содержанием ЭО в костном мозге и активностью антиоксидантных ферментов ($r_s = -0,81$; $-0,78$; $-0,69$).

Коррекцию нарушений со стороны системы крови мы осуществили посредством активации эритропоэза с помощью эритропоэтина и церулоплазмينا. В частности, в результате применения ЭПО после ЭБС количество эритроцитов в периферической крови увеличилось на 25–35% ($p < 0,05$); число ретикулоцитов – на 30–45% ($p < 0,01$) по сравнению с соответствующим сроком ЭБС;

абсолютное количество миелокариоцитов на бедро увеличилось 18–24% ($p < 0,05$); количество ядросодержащих клеток эритроидного ряда – увеличено на 18–27% ($p < 0,05$). После 6-часового ЭБС количество ЭО₁, ЭО₂, ЭО₃ классов зрелости, ЭОрек (в процентах) под влиянием ЭПО увеличилось соответственно на 38,95% ($p < 0,001$); 53,99% ($p < 0,001$); 22,01% ($p < 0,01$); 34,04% ($p < 0,05$); а количество ЭОинв уменьшилось на 45,00% ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичным сроком ЭБС.

Таким образом, результаты проведенного исследования углубляют и расширяют современные представления о молекулярных и клеточных процессах в системе эритрон при воздействии экстремальных факторов вообще и эмоционально-болевого стресса, в частности. Нами были получены новые данные о соотношении содержания продуктов ПОЛ и антиоксидантных систем при ЭБС, состоянии островкового и «внеостровкового» эритропоэза при ЭБС, количестве ядросодержащих клеток эритроидного ряда и ретикулоцитов в «короне» ЭО, митотической активности эритроидных клеток, показателях парциальной эритрограммы костного мозга. О количественных изменениях в системе эритрон при ЭБС позволили судить расчётные функциональные показатели эритропоэза, динамика которых значительно отличается в результате действия ЭБС и в восстановительном периоде после стресса. В работе экспериментально доказана эффективность применения препаратов ЭПО и ЦП в качестве средств, снижающих уровень деструктивных процессов в системе крови и повышающих активность эритропоэза в костном мозге. Применение цитокиновой стимуляции эритропоэза (препарата ЭПО) и антиоксиданта ЦП с целью предотвращения срыва гомеостатических механизмов регуляции обеспечило активацию молекулярно-клеточных адаптационных процессов в системе эритрон и общую резистентность организма животных к действию ЭБС.

Библиографический список

1. Алейникова, Т.Д. Синтез и секреция церулоплазмينا изолированными гепатоцитами крысы / Т.Д. Алейникова, В.Б. Васильев, Н.К. Монахов, М.М. Шавловский // Биохимия. – 1987. – Т. 52. – Вып. 10. – С. 1600–1607 (1).
2. Алексеева, Н.Н. Изменение активности церулоплазмينا в сыворотке крови под воздействием различных факторов (обзор) / Н.Н. Алексеева // Гигиена и санитария. – 1991. – № 8. – С. 70–71.
3. Баженов, Ю.И. Влияние кратковременного холодового воздействия на процесс дифференцировки КОЕэ у белых крыс / Ю.И. Баженов, Л.Н. Катаева, О.В. Пиксендеева // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 1997. – Т. 83. – № 9. – С. 107–111.
4. Барабой, В.А. ПОЛ и стресс / В.А. Барабой, И.И. Брехман. – СПб.: Наука, 1992. – 148 с.
5. Баранов, В.С. Особенности синтеза церулоплазмينا в эмбриогенезе млекопитающих. Желточный мешок как место первичной экспрессии гена церулоплазмينا у крыс / В.Н. Горбунова, Л.В. Пучкова // Онтогенез. – 1986. – Т. XXI. – № 1. – С. 37–46.
6. Белова, С.В. Церулоплазмин – структура, физико-химические и функциональные свойства / С.В. Белова, Е.В. Карякина // Успехи соврем. биол. – 2010. – Т. 130. – № 2. – С. 180–189.
7. Белошевский, В.А. Анемия при хронических заболеваниях / В.А. Белошевский, Э.В. Минаков. – Воронеж: Изд-во Воронежского ун-та, 1995. – 150 с.
8. Бердинских, Н.К. Влияние церулоплазмينا на рост экспериментальных опухолей и пролиферативную активность кле-

ток / Н.К. Бердинских, Ю.В. Волощенко, В.И. Лившиц // Экспериментальная онкология. – 1984. – Т. 6.– № 3. – С. 63–66.

9. Биленко, М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов / М.В. Биленко. – М.: Медицина, 1989. – 367 с.

10. Болдырев, А.Л. Биологические мембраны и транспорт ионов / А.Л. Болдырев. – М.: Изд-во МГУ, 1985. – 93 с.

11. Болдырев, А.Л. Введение в биомембранологию / А.Л. Болдырев. – М.: Изд-во МГУ, 1990. – 208 с.

12. Болдырев, А.А. Карнозин и защита тканей от окислительного стресса / А.А. Болдырев. – М., 1999. – 206 с.

13. Болдырев, А.А. Роль активных форм кислорода в жизнедеятельности нейрона / А.А. Болдырев // Успехи физиол. наук. – 2003. – Т. 34. – № 3. – С. 21–34.

14. Бурлакова, Е.Б. Репарация клеточной мембраны и её роль в лучевом повреждении / Е.Б. Бурлакова, Л.Н. Шишкина. – М.: Наука, 1983. – С. 29–43.

15. Бурлакова, Е.Б. Роль липидов в процессе передачи информации в клетке / Е.Б. Бурлакова // Биохимия липидов и их роль в обмене веществ. – М.: Наука, 1981. – С. 23–35.

16. Васильев, В.Б. Различие в каталитических свойствах фрагментов молекулы церулоплазмина / В.Б. Васильев, С.В. Кононова // Биохимия. – 1987. – Т. 52. – Вып. 3. – С. 387–395.

17. Васильева, Г.И. Кооперативное взаимодействие моно- и полинуклеарных фагоцитов, опосредованное моно- и нейтрофилокинами / Г.И. Васильева, И.А. Иванова, С.Ю. Тюкавкина // Иммунология. – 2000. – № 5. – С. 11–17.

18. Величковский, Б.Т. Свободнорадикальное окисление как звено срочной и долговременной адаптации организма к факторам окружающей среды / Б.Т. Величковский // Вест. Рос. акад. наук. – 2001. – № 6. – С. 45–52.

19. Владимиров, Ю.А. Активные формы кислорода и азота:

значение для диагностики профилактики и терапии / Ю.А. Владимиров // Биохимия. – 2004. – Т. 69. – № 1. – С. 1–3.

20. Владимиров, Ю.А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.А. Владимиров, А.И. Арчаков. – М., 1972. – 215 с.

21. Владимиров, Ю.А. Роль нарушений свойств липидного слоя мембран в развитии патологических процессов / Ю.А. Владимиров // Патол. физиол. и эксперим. терапия. – 1989. – № 4. – С. 7–19.

22. Волощенко, Ю.В. Влияние длительного введения церулоплазмина на картину периферической крови животных / Ю.В. Волощенко, Н.К. Бердинских, О.Л. Санина, И.Н. Гавриш // Гематология и переливание крови. – Вып. 23. – Киев, 1988. – С. 53–55.

23. Волчегорский, И.А. Влияние «средних молекул», выделенных из плазмы крови интактных и обожженных животных, на клеточный состав культур эритробластических островков костного мозга / И.А. Волчегорский, Н.В. Тишевская, Д.А. Кузнецов // Вестник РАМН. – 2002. – № 2. – С. 30–35.

24. Волчегорский, И.А. Неспецифическая регуляция адаптационных процессов при термических ожогах и некоторых других экстремальных состояниях: дис. ... док-ра мед. наук / И.А. Волчегорский. – Челябинск, – 1991. – 430 с.

25. Воргова, Л.В. Об изменении эритробластических островков костного мозга при сочетании тепловых и мышечных нагрузок / Л.В. Воргова, Ю.М. Захаров // Физиол. журн. СССР. – 1990. – Т. 76. – № 2. – С. 200–206.

26. Геннис, Р. Биомембраны: молекулярная структура и функция / Р. Геннис. – М: Мир, 1997. – 624 с.

27. Гольдберг, Е.Д. Принципы создания лекарственных препаратов-стимуляторов кроветворения природного происхожде-

ния / Е.Д. Гольдберг, А.М. Дыгай, В.И. Агафонов // Эксперим. и клин. фармакол. – 1995. – Т. 58. – № 1. – С. 3–7.

28. Гольдберг, Е.Д. Динамическая теория регуляции кроветворения / Е.Д. Гольдберг, А.М. Дыгай, В.В. Жданов, И.А. Хлусов // Бюл. экпер. биол. – 1999. – Т. 127. – № 5. – С. 484–493

29. Гольдберг, Е.Д. Закономерности структурной организации систем жизнеобеспечения в норме и при развитии патологического процесса / Е.Д. Гольдберг, А.М. Дыгай, В.В. Удут. – Томск, 1996. – 150 с.

30. Гольдберг, Е.Д. Роль гуморальных факторов в регуляции гемопоэза при стрессе / Е.Д. Гольдберг, А.М. Дыгай, И.В. Богдашин, Е.Ю. Шерстобоев [и др.] // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1991. – № 7. – С. 15–17.

31. Гольдберг, Е.Д. Адренергические механизмы контроля пролиферации и дифференцировки кроветворных клеток-предшественников в условиях иммобилизационного стресса / Е.Д. Гольдберг, А.М. Дыгай. – Новосибирск, 1992. – С. 126–150.

32. Гольдберг, Е.Д. Об участии глюкокортикоидов в механизмах регуляции процессов пролиферации и дифференцировки различных типов гемопоэтических клеток – предшественников при стрессе / Е.Д. Гольдберг, А.М. Дыгай, В.П. Шахов, Е.В. Кириенкова // Гематология и трансфузиология. – 1987. – № 6. – С. 47–50.

33. Горизонтов, П.Д. Стресс и система крови / П.Д. Горизонтов, О.И. Белоусова, М.И. Федотова. – М.: Медицина, 1983. – 238 с.

34. Грибанов, Г.А. Особенности структуры и биологическая роль лизофосфолипидов / Г.А. Грибанов // Вопр. мед. химии. – 1991. – № 4. – С. 2–9.

35. Добротина, Н.А. Иммуномодулирующая активность и полифункциональность церулоплазмينا / Н.А. Добротина,

А.Ю. Рутницкий, Е.И. Кузьмина // Иммунология. – 1998. – № 5. – С. 49–50.

36. Добротина, Н.А. Полифункциональность церулоплазмина, обоснование применения / Н.А. Добротина, А.Ю. Рутницкий, М.В. Гладышева, Г.П. Ежова // Успехи соврем. биол. – 1999. – Т. 119. – № 4. – С. 375–379.

37. Дыгай, А.М. Роль межклеточных взаимодействий в регуляции гемопоэза / А.М. Дыгай, В.П. Шахов. – Томск, 1989. – 180 с.

38. Дыгай, А.М. Т-лимфоцитарный контроль пролиферативной активности коммитированных клеток-предшественников эритро- и грануломоноцитопоэза при стрессе / А.М. Дыгай, В.П. Шахов, Е.Д. Гольдберг // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1990. – Т. 100. – № 11. – С. 531–533.

39. Дыгай, А.М. Моноаминергическая регуляция кроветворения при экстремальных воздействиях / А.М. Дыгай, Е.Г. Скурихин // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2011. – Т. 151. – № 2. – С. 132–139.

40. Захаров, Ю.М. Динамика клеточного состава эритробластических островков при культивировании *in vitro* / Ю.М. Захаров, Н.В. Тишевская // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2001. – Т. 87. – № 1. – С.84–89.

41. Захаров, Ю.М. Достижения в экспериментальных исследованиях эритропоэза / Ю.М. Захаров. – Челябинск, 1998. – С. 7–18.

42. Захаров, Ю.М. Классификация эритробластических островков костного мозга с учетом изменения их клеточного состава / Ю.М. Захаров, И.Ю. Мельников, А.Г. Рассохин // Арх. анат., гистол. и эмбриол. – 1990. – № 5. – С. 38–42.

43. Захаров, Ю.М. Молекулярные и клеточно-клеточные механизмы регуляции эритропоэза / Ю.М. Захаров // Вестник РАМН. – 2000. – № 2. – С. 4–9.

44. Захаров, Ю.М. О влиянии ядер клеток различных органов на эритропоэз / Ю.М. Захаров, А.Д. Табарчук, Г.П. Ефименко, Б.И. Ершов // Патол. физиол. и эксперим. терапия. – 1973. – № 3. – С. 58–60.

45. Захаров, Ю.М. О роли ядер костного мозга в образовании гуморального ингибитора эритропоэза / Ю.М. Захаров, А.Д. Табарчук, В.Н. Ершов // Патол. физиол. и эксперим. терапия. – 1973. – № 3. – С. 61–62.

46. Захаров, Ю.М. Чувствительность клеток к кислороду и продукция эритропоэтина / Ю.М. Захаров // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2005. – Т. 91. – № 9. – С. 993–1004.

47. Захаров, Ю. М. Экспериментальные исследования авторегуляции эритрона: автореф. дис. ... док-ра мед. наук / Ю.М. Захаров. – Челябинск, 1973. – 31 с.

48. Захаров, Ю.М. Эритробластический островок / Ю.М. Захаров, А.Г. Рассохин. – М.: Медицина, 2002. – 281 с.

49. Захаров, Ю.М. О влиянии эритропоэтина и Т-лимфоцитов на эритропоэз в культуре эритробластических островков костного мозга полицитемичных крыс / Ю.М. Захаров, И.В. Фекличева // Вестник Урал. мед. академ. науки. – 2009. – № 1. – С. 81–84.

50. Захаров, Ю.М. О роли нервной системы и ингибиторов кроветворения в его регуляции / Ю.М. Захаров // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2004. – Т. 90. – № 8. – С. 987–1000.

51. Захаров, Ю.М. О чувствительности к эритропоэтину культуры эритробластических островков костного мозга крыс полицитемичных крыс / Ю.М. Захаров, И.В. Фекличева // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2009. – Т. 95. – № 11. – С. 1198–1206.

52. Захаров, Ю.М. Роль обратных связей в регуляции эритропоэза / Ю.М. Захаров // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2006. – Т. 92. – № 9. – С. 1033–1043.

53. Захаров, Ю.М. Фагоцитарная активность центрального макрофага эритробластических островков при экспериментальном торможении и стимуляции эритропоэза / Ю.М. Захаров, Л.П. Варыпаева // Гематология и трансфузиология. – 1992. – Т. 37. – № 9–10. – С. 21–23.

54. Захаров, Ю.М. Черты информационной сигнализации, регулирующей гемопоэз / Ю.М.Захаров // Вестник РАМН. – 2002. – № 6. – С. 58–61.

55. Захарова, О.Ю. Участие опиатергических механизмов в регуляции костномозгового кроветворения при стрессе / О.Ю. Захарова, А.М. Дыгай, В.П. Шахов, Е.Д. Гольдберг // Патол. физиол. – 1989. – № 6. – С.11–14.

56. Зенков, Н.К. Активированные кислородные метаболиты в биологических системах / Н.К. Зенков, Е.Б. Меньщикова // Успехи соврем. биол. – 1993. – Т. 113. – Вып. 3. – С. 286–296.

57. Зенков, Н.К. Окислительный стресс / Н.К. Зенков, Е.Б. Меньщикова, С.М. Шергин // Диагностика, терапия, профилактика. – Новосибирск: Изд-во СО РАМН, 1993. – 181 с.

58. Зюзьков, Г.Н. Гуморальные механизмы регуляции эритропоэза при гипоксии / Г.Н. Зюзьков, А.М. Дыгай, Е.Д. Гольдберг // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2005. – Т. 139. – № 2. – С. 133–137.

59. Зюзьков, Г.Н. Роль адренергических механизмов регуляции эритропоэза при гипоксии высокой степени тяжести / Г.Н. Зюзьков, Е.В. Абрамова, А.М. Дыгай, Е.Д. Гольдберг // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2005. – Т. 140. – № 7. – С. 18–23.

60. Зюзьков, Г.Н. Роль гиалуронидазы в регуляции гемопоэза / Г.Н. Зюзьков, В.В. Жданов, А.М. Дыгай, Е.Д. Гольдберг // Бюл. экспер. биол. и мед. – 2007. – Т. 144. – № 12. – С. 690–695.

61. Каган, В.Е. Механизмы структурно-функциональной модификации биомембран при ПОЛ: автореф. дис. ... д-ра биол. наук / В.Е. Каган. – М., 1981. – 44 с.

62. Катюхин, Л.Н. Динамика изменения красной крови у крыс при острой иммобилизации / Л.Н. Катюхин, М.Н. Маслова // Косм. биол. и авиакосм. мед. – 1984. – Т. 18. – № 3. – С. 43–47.
63. Кишкун, А.А. Клиническая лабораторная диагностика / А.А. Кишкун. – М.: ГЭОТАР–Медиа, 2010. – 976 с.
64. Климова, Е.В. Механизм эритропоэтического эффекта церрулоплазмينا: дис. ... канд. мед. наук / Е.В. Климова. – Челябинск, 2001. – 139 с.
65. Кожевников, Ю.Н. О перекисном окислении липидов в норме и при патологии / Ю.Н. Кожевников // Вопросы мед. химии. – 1985. – № 5. – С. 2–7.
66. Козлов, В.А. Иммуномодулирующая и другие неэритроидные функции эритропоэтина / В.А. Козлов // Иммунология. – 2003. – № 1. – С. 54–58.
67. Козлов, В.А. Стволовая кроветворная клетка и иммунный ответ / В.А. Козлов, И.Н. Журавкин, И.Г. Цырлова. – Новосибирск, 1982. – 150 с.
68. Колосова, М.В. Белковый спектр и состояние липидного бислоя мембран эритроцитов у детей с инсулинзависимым сахарным диабетом / М.В. Колосова, В.В. Новицкий, Е.А. Степовая // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2000. – № 3. – С. 306–309.
69. Колосова, М.В. Состав липидов мембран эритроцитов и их биофизические характеристики у детей с инсулинзависимым сахарным диабетом в процессе терапии / М.В. Колосова, В.В. Новицкий, Е.А. Степовая // Клин. лаборат. диагн. – 2001. – № 1. – С. 10–12.
70. Конев, С.В. Структурная лабильность биологических мембран и регуляторные процессы / С.В. Конев. – Минск: Наука и техника, 1987. – 240 с.

71. Корнева, Е.А. О взаимодействии нервной и иммунной систем / Е.А. Корнева // Иммунофизиология / под ред. Е.А. Корневой. – Л.: Наука, 1993. – С. 7–20.

72. Корнева, Е.А. Интерлейкин-1 в реализации стресс-индуцированных изменений функции иммунной системы / Е.А. Корнева, С.Н. Шанин, Е.Г. Рыбакина // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2000. – Т. 86. – № 3. – С. 292–302.

73. Кривохижина, Л.В. Патолофизиологический анализ динамики и механизмов регуляции антенатального гемопоэза: автореф. дис. ... док-ра мед. наук / Л.В. Кривохижина. – Челябинск, 1993. – 38 с.

74. Круглов, Д.Г. Изменения эритропоэза в эритробластических островках при посттрансфузионной полицитемии и некоторые механизмы их развития: дис. ... канд. мед. наук / Д.Г. Круглов. – Челябинск, 1999. – 173 с.

75. Крыжановский, Г.Н. Дизрегуляторная патология / Г.Н. Крыжановский. – М.: Медицина, 2002. – 632 с.

76. Крыжановский, Г.Н. Некоторые общебиологические закономерности и базовые механизмы развития патологических процессов / Г.Н. Крыжановский // Архив патологии. – 2001. – № 6. – С. 44–49.

77. Куренков, Е.Л. Активность ядрышковых организаторов в клетках эритробластических островков костного мозга при различных функциональных состояниях эритропоэза / Е.Л. Куренков, М.Е. Кузнецов, С.А. Шевяков, А.Г. Рассохин // Вестник РАМН. – 2002. – № 3. – С. 13–16.

78. Куренков, Е.Л. Активность ядрышковых организаторов в клетках культур эритробластических островков костного мозга / Е.Л. Куренков, С.А. Шевяков, А.Г. Рассохин, Ю.М. Захаров // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2002. – Т. 88. – № 9. – С. 1182–1190.

79. Куренков, Е.Л. Активность ядрышковых организаторов центральных макрофагов культур эритробластических островков костного мозга / Е.Л. Куренков, А.Г. Рассохин, Ю.М. Захаров // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2003. – Т. 89. – № 9. – С. 1085–1094.

80. Куренков, Е.Л. Влияние колониестимулирующего макрофагального фактора на активность ядрышковых организаторов центральных макрофагов культур эритробластических островков костного мозга / Е.Л. Куренков, А.Г. Рассохин, Ю.М. Захаров // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2004. – Т. 90. – № 7. – С. 882–888.

81. Куренков, Е.Л. Содержание рибонуклеопротеидов в эритробластических островках костного мозга при различных функциональных состояниях эритропоэза / Е.Л. Куренков, М.Е. Кузнецов // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2006. – Т. 92. – № 11. – С. 1339–1343.

82. Кухта, В.К. Ферментативная система инициации и защиты от перекисного окисления липидов в печени и крови крыс при гипокинезии / В.К. Кухта, Т.С. Морозкина, Л.П. Лисицына // Вопросы мед. химии. – 1988. – № 1. – С. 19–21.

83. Либе, М.Л. Защита β -адренорецепторов мозга крыс при эмоционально-болевым стрессе антиоксидантом класса пространственно-затруднённых фенолов / М.Л. Либе, В.И. Брусованик, Л.Ю. Ухин, И.П. Левшина [и др.] // Бюл. экспер. биол. и мед. – 1991. – № 7. – С. 11–12.

84. Львовская, Е.И. Нарушение процессов липидной пероксидации при термической травме и патогенетическое обоснование лечения антиоксидантами из плазмы крови: дис. ... д-ра мед. наук / Е.И. Львовская. – М., 1999. – 261 с.

85. Макаров, Г.А. О молекулярных механизмах угнетения эритропоэза при длительной гиподинамии организма / Г.А. Макаров; под ред. А.Д. Павлова. – Рязань, 1974. – 120 с.

86. Маслова, М.Н. Изменения функционально-биохимических показателей крови крыс линии Вистар и спонтанно гипертензивных крыс линии SHR при кратковременном и длительном беге на тредмиле / М.Н. Маслова, А.Л. Хама-Мурад, А.М. Казеннов // Журн. эвол. биох. и физиол. – 2005. – Т. 41. – № 2. – С. 129–133.

87. Маянский, А.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге / А.Н. Маянский, Д.Н. Маянский. – Новосибирск: Наука, 1983. – 356 с.

88. Медведева, И.А. Влияние гипотермического стресса на активность $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-АТФазы}$ в эритроцитах крыс / И.А. Медведева, М.Н. Маслова, А.А. Панов // Физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 1992. – Т. 78. – № 11. – С. 119–123.

89. Меерсон, Ф.З. Адаптационная медицина. Концепция долговременной адаптации / Ф.З. Меерсон. – М., 1993. – 200 с.

90. Меерсон, Ф.З. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам / Ф.З. Меерсон, М.Г. Пшенникова. – М.: Медицина, 1988. – 256 с.

91. Меерсон, Ф.З. Адаптация, стресс и профилактика / Ф.З. Меерсон. – М., 1981. – 200 с.

92. Меерсон, Ф.З. Феномен адаптационной стабилизации структур и защита сердца / Ф.З. Меерсон, И.Ю. Малышев. – М.: Наука, 1993. – 159 с.

93. Метелица, Д.И. Активация кислорода ферментными системами / Д.И. Метелица. – М., 1982. – 100 с.

94. Мжельская, Т.И. Биологические функции церулоплазмينا и их дефицит при мутациях генов, регулирующих обмен меди и железа / Т.И. Мжельская // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2000. – Т. 130. – № 8. – С. 124–133.

95. Миндюк, М.В. Изучение противовоспалительного действия препарата церулоплазмин в эксперименте / М.В. Миндюк, Б.В. Кочаровский // Гематология и переливание крови. – Киев, 1988. – Вып. 23. – С. 57.

96. Моисеева, О.И. Почки и эритропоэз / О.И. Моисеева // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 1990. – Т. 122. – № 1. – С. 25–28.

97. Молчанова, Т.Т. Основы молекулярной организации белков мембраны эритроцитов и их дефекты, приводящие к гемолитическим анемиям / Т.Т. Молчанова // Гематология и трансфузиология. – 1989. – № 7. – С. 32–41.

98. Неустроев, Г.В. Об участии кейлонов в регуляции эритропоэза / Г.В. Неустроев // Успехи физиол. наук. – 1984. – Т. 15. – № 2. – С. 27–40.

99. Никольский, Н.Н. СТАТ-путь внутриклеточной сигнализации / Н.Н. Никольский, К.П. Василенко // Журн. эвол. биох. и физиол. – 2000. – Т. 36. – № 6. – С. 504–508.

100. Новицкий, В.В. Поверхностная архитектура и внутриклеточная ультраструктура эритроцитов при ожоговой болезни / В.В. Новицкий, Н.В. Рязанцева, А.Н. Михаленко // Бюл. сиб. отд. РАМН. – 2000. – № 1. – С. 79–83.

101. Новицкий, В.В. Структурно-метаболические особенности мембраны эритроцитов у больных параноидной шизофренией в условиях психофармакотерапии / В.В. Новицкий, Н.В. Рязанцева // Эксперим. и клин. фармакология. – 2002. – № 6. – С. 19–22.

102. Новицкий, В.В. Физиология и патофизиология эритроцита / В.В. Новицкий, Н.В. Рязанцева, Е.А. Степовая. – Томск, 2004. – 200 с.

103. Онуфриев, М.В. Влияние окислительного стресса на активность синтазы оксида азота мозга *in vivo* и *in vitro* / М.В. Онуфриев, М.Ю. Степаничев, О.С. Митрохина, Ю.В. Моисеева [и др.] // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 1999. – Т. 85. – № 4. – С. 531–538.

104. Павлова, В.И. Динамика изменений со стороны эритропоэтических островков костного мозга при эмоционально-болевым стрессе / В.И. Павлова, Н.В. Мамылина, В.П. Шахов // Вестник Уральской медицинской академической науки. – Екатеринбург. – 2011. – № 4 (37). – С. 85–89.

105. Павлова, В.И. Стрессорное повреждение организма и его предупреждение метаболитами стресс-лимитирующих систем: дис. ... д-ра биол. наук / В.И. Павлова. – Томск, 1990. – 300 с.

106. Пескин, А.В. Взаимодействие активного кислорода с ДНК / А.В. Пескин // Биохимия. – 1997. – Т. 62. – С. 1571–1578.

107. Пинегин, Б.В. Макрофаги: свойства и функции / Б.В. Пинегин, М.И. Карсонова // Иммунология. – 2009. – № 4. – С. 241–249.

108. Пинчук, В.Г. Экспериментальное обоснование применения в клинике ферментного препарата крови – церулоплазмину / В.Г. Пинчук, Н.К. Бердинских, Ю.В. Волощенко // Вест. Акад. мед. наук СССР. – 1985. – № 1. – С. 22–27

109. Пучкова, Л.В. Взаимодействие церулоплазмину с рецептором плазматической мембраны клеток С-1 и его регуляция по типу обратной связи / Л.В. Пучкова, Л.К. Сасина, Т.Д. Алейникова, В.С. Гайцхоки // Бюл. эксперим. биол. и медицины. – 1995. – № 4. – С. 417–420.

110. Пучкова, Л.В. Биосинтез двух молекулярных форм церулоплазмину в печени крысы и их полярная секреция в кровотоки и в желчь / Л.В. Пучкова, Т.Д. Алейникова, И.А. Вербина // Биохимия. – 1993. – Т. 58. – Вып. 12. – С. 1893–1901.

111. Пучкова, Л.В. Экспрессия гена рецептора церулоплазмину и его роль в метаболизме меди / Л.В. Пучкова, Л.К. Сасина, Н.В. Цымбаленко // Молек. биология. – 1999. – Т. 33. – № 2. – С. 287–290.

112. Рассохин, А.Г. Эритробластические островки костного мозга и их место в эритроците в норме и при изменении состояния

эритропоэза в организме: дис. ... д-ра мед. наук / А.Г. Рассохин. – Челябинск, 1997. – 420 с.

113. Рассохин, А.Г. Микрофлюориметрическое исследование эритробластических островков и макрофагов костного мозга / А.Г. Рассохин, А.Г. Починский, К.В. Лянной, Г.А. Овчинников // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1992. – Т. 114. – № 10. – С. 347–351.

114. Робинсон, М.В. Апоптоз и цитокины / М.В. Робинсон, В.А. Труфакин // Успехи соврем. биол. – 1999. – Т. 119. – № 4. – С. 359–367.

115. Рыльков, В.В. Новая форма медьсодержащих центров в церулоплазмине человека / В.В. Рыльков, М.Ю. Тарасьев, К.А. Мошков // Биохимия. – 1990. – Т. 55. – № 8. – С. 1367–1374.

116. Рязанцева, Н.В. Влияние ожоговой травмы на эритроциты / Н.В. Рязанцева, В.В. Новицкий, В.П. Рязанцев // Гематол. и трансфуз. – 2002. – № 1. – С. 25–29.

117. Рязанцева, Н.В. Молекулярные основы старения эритроцитов / Н.В. Рязанцева, В.В. Новицкий // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2002. – С. 96–98.

118. Рязанцева, Н.В. Патопфизиология эритроцитов при психических расстройствах: дис. ... д-ра мед. наук / Н.В. Рязанцева. – Томск, 2001. – 380 с.

119. Рязанцева, Н.В. Структурные нарушения в мембранах эритроцитов при психических расстройствах / Н.В. Рязанцева // Нейрофизиология. – 2000. – № 3. – С. 259–261.

120. Рязанцева, Н.В. Структурные нарушения и изменения активности Na^+ -, K^+ -АТФзы в мембране эритроцитов у пациентов с невротическими расстройствами / Н.В. Рязанцева, В.В. Новицкий // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2002. – № 7. – С. 85–88.

121. Рязанцева, Н.В. Типовая реакция периферического звена эритрона при патологических процессах / Н.В. Рязанцева, В.В. Новицкий, Е.А. Степовая, М.В. Колосова // Бюл. сибирской медицины. – 2001. – № 1. – С. 29–35.

122. Рязанцева, Н.В. Типовые нарушения молекулярной организации мембраны эритроцита при соматической и психической патологии / Н.В. Рязанцева, В.В. Новицкий // Успехи физиол. наук. – 2004. – Т. 35. – № 1. – С. 53–65.

123. Сааков, Б.А. Актуальные проблемы патогенеза ожогового шока / Б.А. Сааков, Э.А. Бардахчян. – М.: Медицина, 1979. – 222 с.

124. Саенко, Е.Л. Защитное действие церулоплазмينا при лизисе эритроцитов, индуцированном ионами железа / Е.Л. Саенко, О.В. Скоробогатько, А.И. Ярополов // Биохимия. – 1990. – Т. 55. – Вып. 9. – С. 1563–1569.

125. Сазонтова, Т.Г. Значение баланса прооксидантов и антиоксидантов – равнозначных участников метаболизма / Т.Г. Сазонтова, Ю.В. Архипенко // Патол. физиол. – 2007. – № 3. – С. 2–18.

126. Сазонтова, Т.Г. Индукция HSPs и ферментов антиоксидантной защиты при активации свободнорадикального окисления на ранних этапах гипокинезии / Т.Г. Сазонтова, Н.А. Анчишкина, Ю.В. Архипенко // Бюл. экспер. биол. и мед. – 2007. – Т. 143. – № 4. – С. 378–382.

127. Сакаева, Д.Д. Коррекция анемического синдрома у онкологических больных препаратом церулоплазмин / Д.Д. Сакаева, Т.И. Жбанкова // Гематология и трансфузиология. – 2002. – Т. 47. – № 5. – С. 22–25.

128. Саломатин, В.В. Антианемическое действие церулоплазмينا при ожоговой травме / В.В. Саломатин, А.Г. Рассохин, М.Ю. Коростелев, И.Л. Подкорытов // Матер. V Междунар. конференции «Биоантиоксиданты». – М., 1998. – С. 248.

129. Санина, О.Л. Биологическая роль церулоплазмينا и возможности его клинического применения (обзор литературы) / О.Л. Санина, Н.К. Бердинских // Вопр. мед. химии. – 1986. – № 5. – С. 7–14.

130. Саркисов, Д.С. Очерки истории общей патологии / Д.С. Саркисов. – М.: Медицина, 1993. – 512 с.

131. Северин, М.В. Регенерация тканей при экстремальных воздействиях на организм / М.В. Северин, Б.Г. Юшков, А.П. Ястребов. – Екатеринбург, 1993. – 185 с.

132. Сенников, С.В. Система цитокинов. Теоретические и клинические аспекты: Сборник трудов / С.В. Сенников, В.А. Козлов. – Новосибирск, 2004. – С. 63–79.

133. Сенников, С.В. Цитокин-синтезирующая активность эритроидных клеток / С.В. Сенников, Л.В. Еремина, Т.В. Инжелевская, С.В. Крысов // Russian Journal of Immunology. – 2001. – Vol. 6. – № 2. – P. 193.

134. Симбирцев, А.С. Интерлейкин-1. Физиология. Патология. Клиника / А.С. Симбирцев. – СПб.: Фолиант, 2011. – 480 с.

135. Симбирцев, А.С. Клиническое применение препаратов цитокинов / А.С. Симбирцев // Иммунология. – 2004. – Т. 25. – № 4. – С. 247–251.

136. Соколов, А.Б. Идентификация катионных белков лейкоцитов, взаимодействующих с церулоплазмином / А.Б. Соколов, М.О. Пулина // Биохимия. – 2007. – Т. 72. – Вып. 8. – С. 1072–1077.

137. Стародуб, Н.Ф. Гетерогенная система гемоглобина: структура, свойства, синтез, биологическая роль / Н.Ф. Стародуб, В.И. Назаренко. – Киев: Наукова Думка, 1987. – 130 с.

138. Сторожок, С.А. Структурные и функциональные особенности цитоскелета мембраны эритроцита / С.А. Сторожок, С.В. Соловьёв // Вопр. мед. химии. – 1992. – № 2. – С. 14–17.

139. Сумин, М.Н. Гетерогенная система гемоглобина в условиях нормального и измененного эритропоэза: автореф. дис. ... канд. мед. наук / М.Н. Сумин. – Челябинск, 2002. – 25 с.

140. Тишевская, Н.В. Влияние гуморальных факторов на

фагоцитарную активность центральных макрофагов эритробластических островков в культуре / Н.В. Тишевская, С.А. Шевяков, Ю.М. Захаров // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2002. – Т. 88. – № 9. – С. 1191–1198.

141. Турпаев, К.Т. Активные формы кислорода и регуляция экспрессии генов / К.Т. Турпаев // Биохимия. – 2002. – Т. 67. – Вып. 3. – С. 339–352.

142. Ужанский, Я. Г. Физиологические механизмы регенерации крови / Я.Г. Ужанский. – М.: Медицина, 1968. – 200 с.

143. Улитко, М.В. Роль моноцитов-макрофагов в адаптивных реакциях кроветворной ткани при действии на организм экстремальных факторов: автореф. дис. ... канд. биол. наук / М.В. Улитко. – Екатеринбург, 2008. – 25 с.

144. Фархутдинов, Р.Р. Клиническое применение метода регистрации хемилюминесценции крови / Р.Р. Фархутдинов // Клин. мед. – 1984. – № 12. – С. 18–23.

145. Федоров, Н.А. Эритропоэтин / Н.А. Федоров, М.Г. Кахетелидзе. – М.: Медицина, 1973. – 489 с.

146. Фрейдлин, И.С. Паракринные и аутокринные механизмы цитокиновой иммунорегуляции / И.С. Фрейдлин // Иммунология. – 2001. – № 5. – С. 4–7.

147. Фрейдлин, И.С. Интерлейкин-12 – ключевой цитокин иммунорегуляции / И.С. Фрейдлин // Иммунология. – 1999. – № 4. – С. 5–9.

148. Фрейдлин, И.С. Ключевая позиция макрофагов в цитокиновой регуляторной сети / И.С. Фрейдлин // Иммунология. – 1995. – № 3. – С. 44–48.

149. Хлусов, И.А. Адренергическая зависимость пролиферации гемопоэтических прекурсоров при цитостатическом воздействии / И.А. Хлусов, А.М. Дыгай, Е.Д. Гольдберг // Бюл. экспер. биол. – 1993. – Т. 116. – № 12. – С. 570–572.

150. Хочачка, П. Биохимическая адаптация / П. Хочачка, Дж. Сомеро. – М., 1988. – 400 с.

151. Цейликман, В.Э. Влияние повторных редко чередующихся иммобилизаций на устойчивость к гипоксии и на выраженность анксиогенного стресса у крыс / В.Э. Цейликман, И.А. Волчегорский, О.Б. Цейликман, Н.В. Бубнов [и др.] // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2005. – Т. 91. – № 4. – С. 394–399.

152. Цейликман, В.Э. Влияние серии коротких иммобилизаций на показатели периферического отдела эритрона и эритробластические островки костного мозга крыс / В.Э. Цейликман, В.П. Пушкарёв, Ю.М. Захаров, В.И. Павлова [и др.] // Физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 1991. – Т. 77. – № 3. – С. 41–46.

153. Черешнев, В.А. Иммунная система и кроветворение / В.А. Черешнев, Б.Г. Юшков // Наука в России. – 2005. – № 1. – С. 20–26.

154. Черешнев, В.А. Система крови и адаптация организма к экстремальным факторам / В.А. Черешнев, Б.Г. Юшков, М.Н. Сумин, Н.В. Тюменцева [и др.] // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2004. – Т. 90. – № 10. – С. 1193–1202.

155. Черешнев, В.А. Функциональное состояние иммунной системы и гемопоззмодулирующие свойства лимфоцитов / В.А. Черешнев, Б.Г. Юшков, И.Г. Данилова, Ю.С. Храмцова // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2004. – Т. 90. – № 8. – С. 1026–1032.

156. Черешнев, В.А. Иммунофизиология / В.А. Черешнев, Б.Г. Юшков, В.Г. Климин, Е.В. Лебедева. – Екатеринбург: УрО-РАН, 2002. – 180 с.

157. Черниговский, В.Н. Вопросы нервной регуляции системы крови / В.Н. Черниговский, А.Я. Ярошевский. – М., 1983. – 150 с.

158. Черницкий, Е.А. Структура и функции эритроцитарных мембран / Е.А. Черницкий, А.В. Воробей. – Минск, 1981. – 260 с.

159. Чертков, И.Л. Принципы организации стволового отдела кроветворной системы / И.Л. Чертков, Н.И. Дризе // Гематология и трансфузиология. – 2000. – Т. 45. – № 4. – С. 38–42.

160. Шахов, В.П. Феномен образования мезенхимальных островков костного мозга *in vitro* / В.П. Шахов, С.В. Попов, О.В. Кокарев, С.А. Афанасьев // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2004. – Т. 137. – № 6. – С. 706–709.

161. Шахов, В.П. К вопросу о роли гемопоэтических островков в развитии феномена стимуляции костномозгового кроветворения при стрессе / В.П. Шахов // Гематология и трансфузиология. – 1988. – Т. 33. – № 5. – С. 19–21.

162. Шахов, В.П. Феномен трехклеточной кооперации макрофаг-Т-лимфоцит-кроветворная клетка в гемопоэтическом островке при стрессе / В.П. Шахов, Б.Ю. Гумилевский, С.С. Шахова, И.Н. Курилов [и др.] // Иммунология. – 1999. – № 3. – С. 25–27.

163. Шевяков, С.А. Динамика эритропоэтина и опухоленекротизирующего фактора- α в крови и её взаимосвязь с состоянием эритропоэза у полицитемичных животных / С.А. Шевяков, Ю.М. Захаров // Рос. физиол. журн. им. И.М.Сеченова. – 2010. – Т. 96. – № 11. – С. 1122–1128.

164. Шибкова, Д.З. Состояние системы гемоиммунопоэза экспериментальных животных при хроническом радиационном воздействии в диапазоне малых и промежуточных мощностей доз: дис. ... д-ра биол. наук / Д.З. Шибкова. – М., 2001. – 265 с.

165. Шибкова, Д.З. Адаптационно-компенсаторные реакции системы кроветворения при хроническом радиационном воздействии: монография / Д.З. Шибкова, А.В. Аклеев. – Москва: Изд-во РАДЭЖОН; Челябинск: Изд-во ЧГПУ. – 2006. – 346 с.

166. Шибкова, Д.З. Численность, пролиферативный и дифференцировочный потенциалы стволовых клеток при хроническом радиационном воздействии / Д.З. Шибкова, Н.В. Ефимова,

А.В. Аклеев // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2001. – Т. 41. – Вып. 3. – С. 295–300.

167. Шустанова, Т.А. Регуляция дельта-сон индуцирующим пептидом свободнорадикальных процессов в тканях крыс при холодовом стрессе / Т.А. Шустанова, Т.И. Бондаренко // Биохимия. – 2001. – Т. 66. – Вып. 6. – С. 786.

168. Юшков, Б.Г. Система крови и адаптация организма к экстремальным воздействиям / Б.Г. Юшков // Вестник РАМН. – 2006. – № 3. – С. 3–5.

169. Юшков, Б.Г. Система крови и экстремальные воздействия на организм / Б.Г. Юшков, В.Г. Климин, М.В. Северин. – Екатеринбург, 2000. – 250 с.

170. Юшков, Б.Г. Сосуды костного мозга и регуляция кроветворения / Б.Г. Юшков, В.Г. Климин, А.И. Кузьмин. – Екатеринбург: УрОРАН, 2004.

171. Юшков, Б.Г. Гликопротеины и гемопоэз / Б.Г. Юшков, Г.К. Попов, М.В. Северин, А.П. Ястребов. – Екатеринбург: Изд-во УрГМИ, 1994. – 250 с.

172. Юшков, Б.Г. Тучные клетки и реакции кроветворной ткани на экстремальные воздействия / Б.Г. Юшков, В.Г. Климин, Е.И. Зерчанинова // Сб. статей «Вопросы экспериментальной физиологии». – Москва – Екатеринбург, 1997. – С. 219–225.

173. Ярилин, А.А. Система цитокинов и принципы её функционирования в норме и при патологии / А.А. Ярилин // Иммунология. – 1997. – № 5. – С. 7–9.

174. Ярополов, А.И. Механизм антиоксидантного действия церулоплазмينا / А.И. Ярополов, А.Г. Сергеев, В.В. Басевич // Докл. АН СССР. – 1986. – Т. 291. – № 1. – С. 237–241.

175. Ястребов, А.П. О роли гипоксии в механизме регенерации крови: автореф. дис. ... д-ра мед. наук / А.П. Ястребов. – Свердловск, 1972. – 36 с.

176. Ястребов, А.П. Регуляция гемопоэза при воздействии на организм экстремальных факторов / А.П. Ястребов, Б.Г. Юшков, В.И. Большаков. – Свердловск: УрОРАН, 1988.

177. Bernard, J. The erythriblastic island: past and future / J. Bernard // *Blood Cells*. – 1991. – Vol. 17. – P. 5–10.

178. Bessis, M.C. Cytological aspects of hemoglobin production / M.C. Bessis // *The Harvey Lectures*, ser 58. – New York – London: Academic Press, 1963. – 120 p.

179. Bessis, M.C. Hematology / M.C. Bessis. – New York, 1986. – 140 p.

180. Bessis, M.C. Erythropoiesis: Comparitision of in vivo and in vitro amplification / M.C. Bessis, C. Mize, M. Prenant // *Blood Cells*. – 1978. – Vol. 4. – № 1–2. – P. 155–174.

181. Bessis, M.C. Iron metabolism in the bone marrow as seen by electron microscopy: a critical review / M.C. Bessis, J. Breton-Gourius // *Blood*. – 1962. – Vol. 19. – P. 635–663.

182. Betke, K. Fetalер und bleibender blutfarstoff in erythrozyten und erythroblasten von menschlichen feten und neugeborene / K. Betke, E. Kleihauer // *Blut*. – 1958. – Vol. 4. – № 5. – P. 241–250.

183. Bogdan, C. Macrophage deactivation by interleukin 10 / C. Bogdan, Y. Vodovotz, C. Nathan // *The Journal Of Experimental Medicine*. – 1991. – Vol. 174(6). – P. 1549–1555.

184. Bogoyevitch, M.A. An update on the cardiac effects of erythropoietin cardioprotection by erythropoietin and the lessons learnt from studies in neuroprotection / M.A. Bogoyevitch // *Cardiovasc res*. – 2004. – № 63. – P. 208–216.

185. Bouscary, D. Critical role for PI 3-kinase in the control of erythropoietin-induced erythroid progenitor proliferation / D. Bouscary, F. Pene, Y.E. Claessens, O. Muller [et al.] // *Blood*. – 2003. – Vol. 101(9). – P. 3436–3443.

186. Bratosin, D. Cellular and molecular mechanisms of senescent erythrocyte phagocytosis by macrophages / D. Bratosin, J. Mazurier, J.P. Tissier // *Biochim.* – 1998. – Vol. 80. – № 2. – P. 173–195.

187. Breton-Gorius, J. Absence of erythroblastic islands in plasma clot culture. Their possible reconstitution after clot lyses / J. Breton-Gorius, J. Guichard, W. Vainchenker // *Blood Cells.* – 1979. – Vol. 5. – № 3. – P. 461–465.

188. Breton-Gorius, J. Association between leukemic erythroid progenitors and bone marrow macrophages / J. Breton-Gorius, M.N. Vuillet-Gaugler // *Blood Cells.* – 1991. – Vol. 17. – P. 127–146.

189. Bruno, E. Marrow – derived heparin sulfate proteoglycan mediates the adhesion of hematopoietic progenitor cells to cytokines / E. Bruno, S.D. Luikart, M.W. Long, R. Hoffman // *Exp. hematol.* – 1995. – Vol. 23. – № 11. – P. 1212–1217.

190. Buemi, M. From the oxygen to the organ protection: erythropoietin as protagonist in internal medicine / M. Buemi, L. Nostro, A. Romeo // *Cardiovasc. hematol. agents. med. chem.* – 2006. – № 4. – P. 299–311.

191. Caiola, K. Use of erythropoietin in heart failure management / K. Caiola // *The annals of pharmacotherapy.* – 2004. – № 38(12). – P. 2145–2149.

192. Campbell, J.H. Blood vessels from bone marrow / J.H. Campbell, J.L. Efendy, C.L. Han, G.R. Campbell // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* – 2000. – Vol. 902. – P. 224–229.

193. Catania, A. The erythrocyte membrane: the interrelations between lipids, proteins and the dynamic properties / A. Catania, G. Caimi // *Minerva med.* – 1992. – Vol. 83. – P. 187–192.

194. Cha, M.K. Ceruloplasmin has a distinct active site for the catalyzing glutathione dependent reduction of alkyl hydroperoxide / M.K. Cha, I.H. Kim // *Biochemistry.* – 1999. – Vol. 38. – № 37. –

P. 12104–12110.

195. Chin, H. Physical and functional interactions between Stat5 and the tyrosine-phosphorylated receptors for erythropoietin and interleukin-3 / H. Chin, R. Kamiyama // *Blood*. – 1996. – Vol. 88. – № 12. – P. 4415–4425.

196. Clopton, D.A. Copper specific damage in erythrocytes exposed to oxidative stress / D.A. Clopton, P. Saltman // *Biol. trace elem. res.* – 1997. – Vol. 56. – № 2. – P. 231–240.

197. Crocker, P.R. Adhesion receptors involved in the erythroblastic islands / P.R. Crocker, L. Morris, S. Gordon // *Blood cells*. – 1991. – Vol. 17. – P. 83–96.

198. Crocker, P.R. Isolation and characterization of resident stromal macrophages and hematopoietic cell clusters from mouse bone marrow / P.R. Crocker, S. Gordon // *J. exp. med.* – 1985. – Vol. 162. – № 9. – P. 993–1014.

199. Daimark, N. Workshop summary: inhibitors of erythropoiesis / N. Daimark, A. Najman // *Annals N.Y. Acad. Sci.* – 1991. – Vol. 628. – P. 258–261.

200. Desiderato, O. Development of gastric ulcers in rats following stress termination / O. Desiderato, J.R. Mac Kinnon, H.J. Hisson // *Comp. physiol.* – 1974. – Vol. 87. – P. 208–214.

201. Ehrenwald, E. Intact ceruloplasmin oxidatively modifies low density lipoprotein / E. Ehrenwald, G.M. Chisolm, P.L. Fox // *J. clin. invest.* – 1994. – Vol. 93. – № 4. – P. 1493–1501.

202. Fantacci, M. Carbamylated erythropoietin ameliorates the metabolic stress induced in vivo by severe chronic hypoxia / M. Fantacci, P. Bianciardi, A. Caretti // *Proc. natl. acad. sci. USA*. – 2006. – № 103(46). – P. 17531–17536.

203. Faure, S. Synergistic protective effects of erythropoietin and olmesartan on ischemic stroke survival and post-stroke memory dysfunctions in the gerbil / S. Faure, N. Oudart, J. Javellaud // *J.*

hypertens. – 2006. – № 24(11). – P. 2255–2261.

204. Fiordaliso, F. A nonerythropoietic derivative of erythropoietin protects the myocardium from ischemia-reperfusion injury / F. Fiordaliso, S. Chimenti, L. Staszewsky // Proc. natl. acad. sci. USA. – 2005. – № 102(6). – P. 2046–2051.

205. Fliser, D. Mechanisms of disease: erythropoietin—an old hormone with a new mission? / D. Fliser, F.H. Bahlmann, K. de Groot, H. Haller // Nat. clin. pract. cardiovasc. med. – 2006. – № 3(10). – P. 563–572.

206. Fridovich, I. Fundamental aspects of reactive oxygen species, or what the metter with oxygen? / I. Fridovich // Ann NY acad. sci. – 1999. – Vol. 893. – P. 13–18.

207. Fujii, J. Role of membrane lipids and proteins in discocyte – echinocyte and stomatocyte transformation of erythrocytes / J. Fujii // Acta Biol. Med. Gam. – 1981. – Vol. 40. – P. 361–367.

208. Ganong, F. Review of medical physiology / Ganong, F. William. – New York: Lange Medical Books / McGraw–Hill, 2001. – 518 p.

209. George, J. Circulating erythropoietin levels and prognosis in patients with congestive heart failure / Comparison with neurohormonal and inflammatory markers / J. George, S. Patal, D. Wexler // Arch intern med. – 2005. – № 165. – P. 1304–1309.

210. Grimm, C. Hypoxic preconditioning and erythropoietin protect retinal neurons from degeneration / C. Grimm, A. Wenzel, N. Acar // Adv. exp. med. biol. – 2006. – № 588. – P. 119–131.

211. Griffin, S.V. The inhibition of myeloperoxidase by ceruloplasmin can be reversed by antimyeloperoxidase antibodies / S.V. Griffin, P.T. Chapman, E.A. Lianos, C.M. Lockwood // Kidney Int. – 1999. – Vol. 55. – № 3. – P. 917–925.

212. Guba, S.C. Regulation of interleukin 3 gene induction in normal human T cells / S.C. Guba, G. Stella, L.A. Turka, C.H. June, et

al. // The Journal Of Clinical Investigation. – 1989. –Vol. 84(6). – P. 1701–1706.

213. Gudi, S.R.P. Membrane skeleton – bilayer interaction is not the major determinant of membrane phospholipid asymmetry in human erythrocytes / S.R.P. Gudi, A. Kumar, V. Bhakuni // Biochim. biophys. acta: Biomembranes. – 1990. – Vol. 1023. – № 1. – P. 63–72.

214. Gutteridge, J.M. Antioxidant protection against organic and inorganic oxygen radicals by normal human plasma the important primary role iron-binding and iron-oxidizing proteins / J.M. Gutteridge, G.J. Quinlan // Biochim. biophys. acta. – 1993. – Vol. 1156. – № 2. – P. 144–150.

215. Hannun, Y.A. Sphingomyelin cycle and the second messenger function of ceramide / Y.A. Hannun // J. biol. chem. – 1994. – Vol. 269. – № 5. – P. 3125–3128.

216. Hardi, C.L. Modulation of the adhesion of hemopoietic progenitor cells to the RGD site of fibronectin by interleukin 3 / C.L. Hardi, J.J. Minguell // J. cell. physiol. – 1995. – Vol. 164. – № 2. – P. 315–323.

217. Hart, E.B. Iron in nutrition. VII Copper as a supplement to iron for hemoglobin building in the rat / E.B. Hart, H. Steenbock, J. Waddel, C.A. Elvejem // J. Biol. Chem. – 1998. – Vol. 77. – P. 797–812.

218. Hassan, H.T. Maintenance and expansion of erythropoietin in human long-term bone marrow cultures in presence of erythropoietin plus stem cell factor and interleukin 13 or interleukin-11 / H.T. Hassan, B. Biermann, A.R. Zander // Eur. cytokine. netw. – 1996. – Vol. 7. – № 2. – P. 129–136.

219. Hodge, J. Negative regulators of Haematopoiesis / J. Hodge, C. Wust, A. Ichiki. – N.Y., 1991. – P. 165.

220. Ihle, J.N. Signal transducers and activators of transcription / J.N. Ihle // Cell. – 1996. – Vol. 84. – P. 331–337.

221. Inoue, K. Nitrosothiol formation catalyzed by ceruloplasmin / K. Inoue, T. Akaike, Y. Miyamoto // J. biol. chem. – 1999. –

Vol. 274. – № 38. – P. 27069–27075.

222. Jonson, E.O. Mechanisms of stress: a dynamic overview of hormonal and behavioral homeostasis / E.O. Jonson, T.C. Kamilaris, G.W. Gold // *Neurosci. biobehav. rev.* – 1992. – № 16. – P. 115–130.

223. Jubinsky, P.T. The β -chain of the interleukin-3 receptor functionally associates with the erythropoietin receptor / P.T. Jubinsky, O.I. Krijanovski, D.G. Nathan // *Blood.* – 1997. – Vol. 90. – № 5. – P. 1867–1873.

224. Kilfer, C.R. Oxidation and erythrocyte senescence / C.R. Kilfer, L.M. Snyder // *Curr Opin Hematol.* – 2000. – Vol. 7. – P. 113–116.

225. Kim, I.G. Requirement of intact human ceruloplasmin for the glutathione-linked peroxidase activity / I.G. Kim, S.Y. Park // *FEBS Letters.* – 1998. – № 437. – P. 293–296.

226. Kirito, K. Identification of the human erythropoietin receptor region required for Stat1 and Stat3 activation / K. Kirito, K. Nakajima, T. Watanabe, M. Uchida [et al.] // *Blood.* – 2002. – Vol. 99(1). – P. 102–110.

227. Korneva, E. A. Interleukin-1 and defensins in thermoregulation stress and immunity / E.A. Korneva, E.G. Rybakina, D.S. Orlov, O.V. Shamova [et al.] // *Ann. NY. acad. sci.* – 1997. – Vol. 813. –

P. 465–473.

228. Korneva, E.A. Altered interleukin-1 production in mice exposed to rotation stress. *int.* / E.A. Korneva, E.G. Rybakina, E.E. Fomicheva // *J. tiss. reac.* – 1992. – Vol. 14. – № 5. – P. 219–224.

229. Lee, W.M.F. Control of cell growth and differentiation / WMF Lee, C.V. Dang // *Hematology. Basic principles and practice.* –

NY, 2000. – 120 p.

230. Levine, J. Cerebrospinal cytokine levels in patients with acute depression / J. Levine, Y. Barak, K.N. Chengappa, A. Rappoport [et al.] // *Neuropsychobiology*. – 1999. – Vol. 40. – № 4. – P. 171–176.

231. Liu, M.L. A marathon ran increases the susceptibility of LDL to oxidation in vitro and modifies plasma antioxidants / M.L. Liu, R. Bergholm, S. Makimattila // *Am. j. physiol.* – 1999. – Vol. 276. – № 6. – Pt. 1. – P. 1083–1091

232. Longmore, G.D. Redundant and selective role for erythropoietin receptor tyrosines in erythropoiesis in vivo / G.D. Longmore, Y. You, J. Molden // *Blood*. – 1998. – Vol. 91. – № 3. – P. 870–878.

233. Manolis, A.S. Erythropoietin in heart failure and other cardiovascular diseases: hematopoietic and pleiotropic effects / A.S. Manolis, S. Tzeis, K. Triantafyllou // *Curr. drug. targets. cardiovasc. haematol. disord.* – 2005. – № 5(5). – P. 355–375.

234. Mazumder, B. Delayed translational silencing of ceruloplasmin transcript in gamma interferon-activated U937 monocytic cells role of the 3 untranslated region / B. Mazumder, P.L. Fox // *Mol. cell. biol.* – 1999. – Vol. 19. – № 10. – P. 6898–6905.

235. McGough, A.M. On the structure of erythrocyte spectrin in partially expanded membrane skeletons / A.M. McGough, R. Josephs // *Proc. nat. acad. sci. USA*. – 1990. – Vol. 87. – № 13. – P. 5208–5212.

236. Melli, G. Erythropoietin protects sensory axons against paclitaxel-induced distal degeneration / G. Melli, C. Jack, G.L. Lambrinos, M. Ringkamp [et al.] // *Neurobiol. dis.* – 2006. – № 24(3).

–

P. 525–530.

237. Mennini, T. Nonhematopoietic erythropoietin derivatives prevent motoneuron degeneration in vitro and in vivo / T. Mennini, M. De Paola, P. Bigini // *Mol. med.* – 2006. – № 12 (7–8). – P. 153–160.

238. Metcalf, D. Effects of purified bacterially synthesized murine multi CSF (IL-3) on hematopoiesis in normal adult mic / D. Metcalf, C. Begley, G. Johnson // *Blood*. – 1986. – Vol. 68. – P. 46–57.
239. Miyajima, A. Cytokine receptors and signal transduction / A. Miyajima, T. Kitamura, N. Harada, T. Yokota [et al.] // *Annual review of immunology*. – 1992. – Vol. 10. – P. 295–331.
240. Moon, C. Therapeutic effectiveness of a single vs multiple doses of erythropoietin after experimental myocardial infarction in rats / C. Moon, M. Krawczyk, E.G. Lakatta, M.I. Talan // *Cardiovasc. drugs. ther.* – 2006. – № 20(4). – P. 245–251.
241. Mukhopadhyay, C.K. Role of ceruloplasmin in cellular iron uptake / C.K. Mukhopadhyay, Z.K. Attieh, P.L. Fox // *Science*. – 1998. – Vol. 279. – № 5351. – P. 714–717.
242. Musci, G. On the lability and functional significance of the type 1 copper pool in ceruloplasmin / G. Musci, Z. Fraterrigo, L. Calabresse, D.R. McMillin // *J. Biol. inorg. chem.* – 1999. – Vol. 4. – № 4. – P. 441–446.
243. Oster, H.S. Erythropoietin in clinical practice: current use, effect on survival, and future directions / H.S. Oster, M. Hoffman, S. Prutchi–Sagiv // *Isr. med. assoc. j.* – 2006. – № 8(10). – P. 703–706.
244. Prenant, M. Maturation of erythroblastic bone marrow cells mammals / M. Prenant // *Biol. cel.* – 1980. – Vol. 38. – P. 9–12.
245. Puchkova, L.V. The proposed role of the ceruloplasmin receptor and Cu^{2+} transferring Menkes ATPase in copper metabolism in mammals / L.V. Puchkova, L.K. Sasina, N.V. Tsybaleiko // *Mol. biol. mosk.* – 1999. – Vol. 33. – № 2. – P. 287–290.
246. Rybakina, E.G. Cellular mechanisms of cold stress–related immunosbpression and the action of Interleukin 1. *Int.* / E.G. Rybakina, S.N. Shanin // *Tiss. reac.* – 1997. – Vol. 19. – № 3–4. – P.135–140.
247. Rybakina, E. G. Interleukin 1 and its signal transduction

mechanisms in realization of stress reaction / E.G. Rybakina // *Pamophysiology*. – 1998. – № 5. – P. 146.

248. Rybakina, E.G. Involve–menof the sphingomyelin pathway in interleukin 1 signalling in murine immunocompetent and nerve cells // E.G. Rybakina, N.N. Nativaeva, I.A. Kozinets // *Immunology letters*. – 1997. – № 7. – P. 56–67.

249. Savino, C. Delayed administration of erythropoietin and its non-erythropoietic derivatives ameliorates chronic murine autoimmune encephalomyelitis / C. Savino, R. Pedotti, F. Baggi // *J. neuroimmunol.* – 2006. – № 172. – P. 27–37.

250. Sazontova, T.G. *Adaptation Biology and Medicine* / T.G. Sazontova, Yu.V. Arkhipenko // *Current concept*. – New Delhi, 2005. – P. 112–123.

251. Sergeev, A.G. The mechanisme of interaction of cerulo plasmin with superoxide radicals / A.G. Sergeev, A.R. Pavlov, A.A. Revina, A.I. Yaropolov // *Int. j. biochem.* – 1993. – Vol. 25. – № 11. – P. 1549–1554.

252. Simmons, P. *Cellular interactions in vitro haemopoiesis. Thesis Doctor Phylosophy. Manchester* / P. Simmons. – NY, 1984. – 230 p.

253. Simoncsits, A. Deletion mutants of human interleukin 1 beta with significantly reduced agonist properties: search for the agonist/antagonist switch in ligands to the interleukin 1 receptors / A. Simoncsits, J. Bristulf, M.L. Tjörnhammar, M. Cserző [et al.] // *Cytokine*. – 1994. – Vol. 6(2). – P. 206–214.

254. Smith, J.E. Erythrocyte membrane structure function and pathophysiology / J.E. Smith // *Vet. pathol.* – 1987. – Vol. 24. – № 6. – P. 471–476.

255. Smith, K.J. The cardiovascular effects of erythropoietin / K.J. Smith, A.J. Bleyer, W.C. Little, D.C. Sane // *Cardiovasc. res.* – 2003. – № 59(3). – P. 538–548.

256. Snapper, C.M. Differential regulation of Ig G₁ and Ig E synthesis by interleukin-4 / C.M. Snapper, F.D. Finkelman, W.E. Paul // *J. exp. med.* – 1988. – Vol. 167. – № 1. – P. 183–196.

257. Sonoda, Y. Surface morphology of the central macrophages of erythroblastic islets in the spleen of aged and pregnant mice: an immunohistochemical light microscopic study / Y. Sonoda, K. Sasaki // *Archives of Histology and Cytology.* – 2008. – Vol. 71. – № 3. – P. 155–161.

258. Testa, U. Apoptotic mechanisms in the control of erythropoiesis / U. Testa // *Leukemia: Official Journal Of The Leukemia Society Of America, Leukemia Research Fund.* – 2004. – Vol. 18(7). – P. 1176–1199.

259. Vesey, D.A. Erythropoietin protects against ischemic acute renal injury / D.A. Vesey, C. Cheung, B. Pat // *Nephrol. dial. transplant.* – 2004. – № 19(2). – P. 348–355.

260. Viviani, B. Erythropoietin protects primary hippocampal neurons increasing the expression of brain-derived neurotrophic factor / B. Viviani, S. Bartesaghi, E. Corsini // *J. Neurochem.* – 2005. – № 93(2). – P. 412–421.

261. Volchegorsky, I.A. Association of hypoxia tolerance with oxidative stress, leucocyte infiltration in hepatic tissue in rats sustained different of repeated restrain episodes // *Ural state academy of physical training, Chelayabinsk, Russia* / I.A. Volchegorsky, V.E. Tseilikman, E.I. Lvoskaya // *Acta Physiologica Hungarica volume.* – 2002. – № 1. – P. 304.

262. Wang, G.Q. Evidence suggesting a stimulatory role for interleukin-10 in erythropoiesis in vitro / G.Q. Wang, K.B. Udupa, D.A. Lipschitz // *J. Cell. physiol.* – 1996. – Vol. 166. – № 2. – P. 305–310.

263. Wilson, J.G. Mickoenvironmental factors involved in the establishment of erythropoiesis in bone marrow / J.G. Wilson, M. Tavassoli // *Annals NY acad. sci.* – 1994. – Vol. 718. – P. 271–284.

264. Wojchowski, D.M. Erythropoietin-dependent erythropoiesis: New insights and questions / D.M. Wojchowski, M.P. Menon, P. Sathyanaryana // *Blood cells mol dis.* – 2005. – Vol. 36. – P. 232–238.

265. Woodcock, J.M. The human Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor (GM-CSF) Receptor Exists as a Preformed Receptor Complex That Can Be Activated by GM-CSF, interleukin 3, or interleukin 5 / J.M. Woodcock, B.J. McClure, F.C. Stomski // *Blood.* – 1997. – Vol. 90. – № 8. – P. 3005–3017.

266. Wustner, D. Release of phospholipids from erythrocyte membranes by taurocholate is determined by their transbilayer orientation and hydrophobic backbone / D. Wustner // *Biochemistry.* – 1998. – Vol. 37. – № 48. – P. 17093–17104.

267. Xu, B. Recombinant human erythropoietin pretreatment attenuates myocardial infarct size: a possible mechanism involves heat shock protein 70 and attenuation of nuclear factor-kappa B / B. Xu, G.H. Dong, H. Liu // *Ann. clin. lab. sci.* – 2005. – № 35(2). – P. 161–168.

268. Yamamoto, M. Erythropoietic mechanism by combined use of ceruloplasmin and folic acid / M. Yamamoto // *Acta. haemat. jap.* – 1969. – Vol. 32. – P. 366–376.

269. Yang, W. SHP-1 phosphatase C-terminus interacts with novel substrates p32/p30 during erythropoietin and interleukin-3 mitogenic responses / W. Yang, M. Tabrizi, K. Berrada // *Blood.* – 1998. – Vol. 91. – № 10. – P. 3746–3755.

270. Yi, T. Hematopoietic cell phosphate associates with erythropoietin (Epo) receptor after Epo-induced receptor tyrosine phosphorylation: Identification of potential binding sites / T. Yi, J. Zhang, O. Miura // *Blood.* – 1995. – Vol. 85. – № 1. – P. 87–95.

271. Zakharow, Y.M. Technique d'isolement et de culture des îlots érythroblastiques separation du macrophage central / Y.M.

Zakharow, M. Prenant // *Nouv. rev. hematol.* – 1982. – Vol. 24. – P. 363–367.

272. Zhu, X. Nonhematologic complications of erythropoietin therapy / X. Zhu, M.A. Perazella // *Semin. dial.* – 2006. – № 19(4). – P. 279–284.

Научное издание

МАМЫЛИНА Наталья Владимировна
ПАВЛОВА Вера Ивановна

**СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ «ЭРИТРОН» У ЖИВОТНЫХ
ПРИ ЭМОЦИОНАЛЬНО-БОЛЕВОМ СТРЕССЕ И НА
ФОНЕ КОРРЕКЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ**

МОНОГРАФИЯ

Работа рекомендована РИСом ЧГПУ.

Протокол № от
ISBN 978-5-85716-
Издательство ЧГПУ
454080, г. Челябинск, пр. Ленина, 69

Редактор О.В. Максимова

Подписано в печать 09.02.2012 г.

Объем 11,5 уч.-изд. л.

Бумага офсетная

Формат 60 x 84/16

Тираж 100 экз.

Заказ №

Отпечатанор с готового оригинал-макета
в типографии ГПУ
454080, г. Челябинск, пр. Ленина, 69