

Т.Н. Панкратова, Ю.А. Ватников

(Российский университет дружбы народов)

КОСТНОМОЗГОВОЕ КРОВЕТВОРЕНИЕ В ПАТОГЕНЕЗЕ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОГО ПЕРИОДА У СОБАК

Ключевые слова: костномозговое кроветворение, патогенез, собака

Разнообразие спонтанных травм, локализация, степень тяжести, их осложнения и исходы вызывают необходимость детального и углубленного изучения патогенетических аспектов данной проблемы у травмированных собак. При этом, системный подход в вопросах патогенеза травмы основанный на изучении костномозгового кроветворения и периферической крови заслуживают особого внимания, так как функциональная активность клеток костного мозга и реализация их компетенций, является основным инструментом в восстановительном процессе тканей и органов, а динамика клеточного состава отдельных ростков костного мозга, отражает глубину и прогноз патологического состояния (Раскин А.В., 2002; Ротанов Д.А., 2007; Kilic N., 2006; Wada E., Shimada A, et al., 2006). В этой связи, целью настоящего исследования послужило изучение патогенетических аспектов миелобластического и монобластического ростков костного мозга в посттравматический период у собак.

Материалы и методы

Состояние костного мозга и периферической крови изучали на 18-ти спонтанно травмированных собаках живой массой 19-22 кг в возрасте от 12-ти мес. до 2-х лет, с переломами длинных трубчатых костей после дорожно-транспортных происшествий. Под наблюдением находились животные свободные от инфекционных заболеваний и без признаков хирургической инфекции. Контроль над состоянием клинически больных животных осуществляли по клиническим признакам, принятым в ветеринарной травматологии. Исследование периферической крови и пунктатов костного мозга проводили у всех животных, поступающих на прием до проведения лечебных мероприятий. Исследование проводили на 1-е (n=3), 2-е (n=3), 3-и (n=3), 4-е (n=3) и 5-е (n=3) 7-е (n=3) сутки. От каждого животного получали по 3 препарата (мазка). Пункции костного мозга проводили под местной анестезией или тот час, после применения внутривенного наркоза. Статистиче-

ский анализ полученных результатов от спонтанно травмированных собак проводили методом вариационной статистики по Стьюденту при помощи программного обеспечения MS Excel 2003.

Результаты исследований

Динамика показателей миелобластического и монобластического роста костного мозга собак травмированных в результате ДТП выявила яркие изменения клеточности костного мозга (КМ). Количественная оценка миелокариоцитов полученных в результате аспирационной биопсии показала, что на 1-е сутки после травмы их значение увеличилось до $260,3 \pm 1,3 \times 10^3/\text{мкл}$, что в 1,4 раза превосходило физиологический показатель (ФП) – $190,0 \pm 2,2 \times 10^3/\text{мкл}$ (Табл.1). Начиная со 2-го дня, клеточность КМ начала снижаться и в этот период составила $156,5 \pm 2,2 \times 10^3/\text{мкл}$, а к 4-м суткам после травмы количество миелокариоцитов в 1,5 раза было ниже, чем значения ФП. В этот день нами отмечено наименьшее количество клеток КМ, но уже к 5-м суткам, количественный показатель миелокариоцитов стал увеличиваться, и достиг $166,6 \pm 1,3 \times 10^3/\text{мкл}$, а к окончанию исследований клеточность КМ достигла уровня $173,3 \pm 2,1 \times 10^3/\text{мкл}$.

Исследования показывают, что увеличение клеточности КМ в ранний посттравматический период следует отнести за счет задержанного выхода зрелых клеток в периферическую кровь. Это связано с изменением сосудистого русла и невозможностью клеток покидать гемопоэтический регион, что может быть обусловлено стазом в отдельных венозных синусах и, как следствие, невозможностью вымывания их за счет потери пластического эффекта стенки и адвентициальных клеток сосудов. В более поздние сроки происходило вымывание их из КМ.

Рассматривая количественный показатель миелобластического роста, следует отметить, что сужение роста в 1-е сутки было установлено на уровне миелобластов – $0,10 \pm 0,02\%$, палочкоядерных нейтрофилов (ПЯН), количество которых составило $5,7 \pm 0,1\%$. Сужение ми-

Таблица 1

Динамика показателей лейкобластических и монобластических
клеток костного мозга спонтанно травмированных собак

Показатели, %	ФП		Сутки после травмы											
			1		2		3		4		5		7	
	М	m	М	m	М	m	М	m	М	m	М	m	М	m
Миелокар-ит $\times 10^3$	190,0	2,2	230,3	1,3	156,5	2,2	138,6	1,3	125,7	2,2	166,6	1,3	173,3	2,1
Миелобласты	0,21	0,01	0,10	0,02	0,10	0,01	0,31	0,06	0,30	0,01	0,21	0,05	0,36	0,01
Промиелоциты	1,01	0,05	4,30	0,01	2,20	0,01	0,80	0,01	1,31	0,02	0,81	0,03	1,30	0,07
Миелоциты	2,20	0,03	3,66	0,02	1,61	0,01	1,20	0,03	2,31	0,01	2,60	0,03	2,81	0,02
Метамиелоциты	5,60	0,01	9,33	0,03	1,90	0,01	3,31	0,08	9,40	0,03	6,30	0,60	3,40	0,20
Палочкоядер.	9,1	0,3	5,7	0,1	6,6	0,2	5,6	0,2	8,7	0,3	12,4	1,1	11,3	0,2
Сегментоядер.	12,7	0,2	8,8	0,2	15,3	0,3	18,6	0,2	17,1	0,3	6,7	0,1	7,3	1,1
Эоз. всех генер.	11,3	0,2	9,3	0,2	12,3	0,3	14,6	0,3	12,4	0,6	12,3	0,3	11,1	0,6
Базофилы	0,70	0,01	0,6	0,1	2,4	0,3	2,8	0,1	2,0	0,2	2,2	0,2	0,60	0,03
Всего миелобл. клет.	42,80	0,10	41,80	0,30	42,41	1,14	47,22	1,00	53,52	1,50	43,52	1,80	38,12	2,23
Лимфоциты	3,3	0,2	1,6	0,3	2,2	0,6	3,3	0,1	3,9	0,2	4,8	0,3	4,3	0,3
Плазмоциты	0,80	0,01	0,30	0,01	0,90	0,03	1,50	0,02	1,80	0,20	2,60	0,30	2,40	0,03
Моноциты	1,50	0,04	2,40	0,03	3,70	0,10	1,30	0,01	0,40	0,02	0,77	0,03	1,30	0,02
Макрофаги	1,30	0,03	0,70	0,02	0,50	0,01	0,40	0,01	1,50	0,01	1,03	0,02	1,60	0,03
Всего монобласт. кл	6,9	0,3	5,00	0,36	7,3	0,74	6,50	0,14	7,6	0,6	9,2	0,65	9,60	0,40
прочие	50,28	1,11	53,21	1,06	50,30	1,90	46,28	1,14	38,90	1,56	47,28	2,45	52,30	2,43

елобластического роста, происходило и на уровне сегментоядерных нейтрофилов (СЯН) ($8,8 \pm 0,2\%$). На 2-е сутки, сужение роста отмечено на уровне миелоцитов, метамиелоцитов, ПЯН. При этом нами установлено, что количество СЯН в этот период увеличивалось до $15,3 \pm 0,3\%$, что, по всей видимости, связано с невозможностью покинуть гемопоэтический регион по причине стаза крови в сосудистом русле. Реакция КМ на 3-и сутки выявила аналогичные изменения, нами установлено расширение миелобластического роста на уровне миелобластов до $0,31 \pm 0,06\%$. Сужение миелоидного роста на уровне юных форм мы характеризуем как реакцию на повреждение, проявляющуюся снижением пролиферации и дифференцировки в посттравматический период. Такое предположение связано с тем, что сужение роста не сопровождалось выбросом ювенильных клеточных форм в периферическую кровь. Рас-

ширение миелоидного роста (табл. 1) на уровне более зрелых форм проявляется задержанным выходом их в периферическую кровь. Возможно, причиной этого являются нарушения, связанные с судистой реакцией и неспособностью обеспечения гемопоэтического региона КМ кислородом и гуморальными факторами клеточной дифференцировки.

В дальнейшем, как показано в табл.1, созревание ростка происходило в соответствии с функциональными особенностями, но созревание его было задержанным на уровне всех предшественников, сужением на уровне ПЯН ($5,6 \pm 0,2\%$) и расширением количественного показателя СЯН до $18,6 \pm 0,2\%$. К 4-м суткам миелобластический росток восстановил свою структурно-функциональную активность. Хотя количество СЯН все же находилось на достаточно высоком количественном уровне ($17,1 \pm 0,3\%$). 5-е сутки охарактеризованы стройным динамическим раз-

витием миелоидного ростка с постепенным расширением на уровне всех ростковых форм клеток. Исключение составили клетки СЯН, количество которых сократилось по сравнению с предыдущим днем в 3 раза и составило $6,7 \pm 0,1\%$ по сравнению с предыдущим днем и в 2 раза в сравнении с ФП ($12,7 \pm 0,2\%$). На 7-й день также отмечено ровное развитие ростка и сужение на уровне СЯН ($7,3 \pm 1,1\%$). Сужение ростка на уровне СЯН, происходит по причине выхода клеток в кровь, что является необходимым компонентом воспалительной реакции. Динамика эозинофилов и базофилов на протяжении всего периода исследований имела накопительную тенденцию, но в количественном отношении проявилась незначительно. Исследование общего количества миелобластических клеток показало, что, начиная с 3-их суток, происходило увеличение количественного показателя всех миелобластических клеток до $47,22 \pm 1,00\%$, хотя наибольшее их количество установлено на 4-е сутки ($53,52 \pm 1,50\%$). Начиная с 5-го дня, их показатель постепенно снижался и к окончанию наблюдений достиг $38,12 \pm 2,23\%$. Количество лимфоцитов увеличивалось постепенно на протяжении всего периода наблюдений, хотя в 1-е сутки, нами было отмечено снижение их количества до $1,6 \pm 0,3\%$. Накопление лимфоцитов в КМ, отмечено со 2-х суток и наибольшее их количество установлено на 5-й день, что превосходило ФП в 1,6 раза. Аналогичной выглядела картина динамики плазмочитов, которая развивалась в виде снижения их количества, хотя начиная со 2-х суток, отмечено устойчивое увеличение их количе-

ственного состава. При изучении моноцитарного звена нами установлено (Табл. 1) усиление влияния данных клеток. Значение моноцитов увеличилось на 2-е сутки и в 2,4 раза превысило ФП, в дальнейшем их количество начало снижаться. Макрофагальная активность была снижена до 3-их суток, после чего, их количественный показатель изменился и начиная с 4-го дня их динамика устремилась вверх. Следует отметить, что общее количество монобластических клеток было занижено в 1-е сутки ($5,00 \pm 0,36\%$), при ФП $6,9 \pm 0,3\%$. Начиная со 2-х суток, их количество увеличилось и продолжало расти на 5-е и 7-е сутки.

Изменения костномозгового кроветворения отразились и на показателях лейкограммы. Динамика показателей периферической крови спонтанно травмированных собак проявилась в снижении количества лейкоцитов с $12,5 \pm 0,1 \times 10^9/\text{л}$ (ФП) до $6,6 \pm 1,2 \times 10^9/\text{л}$ на 1-е сутки после травмы. На 2-е сутки снижение лейкоцитов продолжалось и составило $5,3 \pm 1,3 \times 10^9/\text{л}$, что в 2,3 раза уступало значениям ФП (табл. 2).

Начиная с 3-х суток, наметилась тенденция к увеличению количества лейкоцитов, и в этот период, их значение находилось на уровне $5,8 \pm 0,4 \times 10^9/\text{л}$. К 4-м суткам их количество продолжало увеличиваться ($6,12 \pm 0,1 \times 10^9/\text{л}$), а равно как и в последующие дни наших наблюдений. К окончанию исследований количественный показатель лейкоцитов остановился на $11,6 \pm 1,2 \times 10^9/\text{л}$, что не отличалось достоверно от ФП. Отклонения от ФП соответствуют изменениям периферической крови, характеризующим ответ на стресс-фактор от травмы и

Таблица 2
Динамика показателей клеток периферической крови спонтанно травмированных собак

Показатели %	ФП		Сутки после травмы											
			1		2		3		4		5		7	
	М	м	М	м	М	м	М	м	М	м	М	м	М	м
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	12,5	0,1	6,6	1,2	5,3	1,3	5,8	0,4	6,1	0,1	8,9	1,3	11,6	1,2
Лимфоциты	20,0	0,3	18,3	3,6	15,3	3,3	12,6	1,6	18,6	1,3	19,1	1,1	23,7	1,1
ПЯН	1,60	0,01	20,6	0,2	28,8	1,2	36,8	1,6	29,7	2,5	13,7	1,3	6,6	0,1
СЯН	62,0	1,3	55,0	1,1	47,4	3,6	42,7	1,6	52,6	3,3	71,3	3,3	75,8	3,3
Эозинофилы	1,10	0,01	1,5	0,07	1,2	0,02	1,8	0,01	1,5	0,05	2,4	0,06	2,6	0,06
Базофилы	0,10	0,03	0,20	0,06	0,10	0,01	0,20	0,03	0,20	0,01	0,10	0,03	0,10	0,01
Моноциты	3,10	0,1	4,4	0,1	3,3	0,1	2,1	0,3	2,6	0,4	1,5	0,3	2,2	0,1

наличие болевого синдрома. Количество лимфоцитов периферической крови также снижалось на 1 и 2-е сутки ($18,3 \pm 3,6\%$; $15,3 \pm 3,3\%$ - соответственно), но пик постепенного снижения приходился на 3-й день наблюдений и составил $12,6 \pm 1,6\%$, после чего к 5-м суткам лимфоцитарный показатель начал подниматься вверх. Лейкопения на 1-3 сутки после травмы, по нашему мнению, говорит о дефиците вызванном изменениями в гемопозитическом регионе костного мозга и задержанным выходом их в кровоток в результате кровопотери, болевого и шокового компонентов травматического воздействия Wada E, Shimada A, et al., 2006. В данном случае этот факт мы считаем прогностически не благоприятным, так как лимфоциты участвуют в процессах дезинтоксикации организма, в репаративных процессах (Базарный В.В., 1995; Камышко В.Е., 1999), способствуя заживлению и рубцеванию поврежденных тканей. Вместе с этим лимфоциты и клетки системы мононуклеарных фагоцитов (СМФ) могут модифицировать функцию нейтрофилов (Cempbell P.A., Mucke L., 1993; Szabo G., Mandrecar P. et al., 1994).

Как видно из табл.2, показатель ПЯН к 1-м суткам после травмы взлетел на уровень $20,6 \pm 0,2\%$, в дальнейшем, их количество возрастало и к 3-м суткам составило $36,8 \pm 1,6\%$, а начиная с 4-х - количество ПЯН стало снижаться. Значения СЯН к 1-м суткам снизилось до $55,0 \pm 1,1\%$ и продолжалось до 3-го дня, но уже с 4-го наметилась тенденция к росту и, количественный показатель был установлен на уровне $52,6 \pm 3,3\%$. Как следует из табл.2, с 5-го дня накопление СЯН в крови спонтанно травмированных животных стабилизировалось. Активированные нейтрофилы в очаге тканевой альтерации после контакта с чужеродными агентами могут выполнять роль иницирующих кле-

ток привлекая макрофаги, стимулируя лимфоциты и запуская весь каскад клеточных реакций, участвующих в реакции воспаления и репаративной регенерации тканей. (Маянский Д.Н., Цирендоржиев Д.Д., 1990). Эозинофильный и базофильный показатели на протяжении всего периода наблюдений изменялись незначительно, увеличение количества эозинофилов произошло только к 5-7-м суткам. Наличие указанных изменений в лейкограмме мы расцениваем как показатель адаптационно-приспособительной реакции со стороны организма, указывающий на развитие общих процессов, характеризующих посттравматический период, дающий возможность прогнозирования и контроля над течением репаративных преобразований у животных.

Таким образом, сужение миелоидного роста на уровне юных клеточных форм вызвано снижением пролиферации и дифференцировки в результате травмы. Расширение миелоидного роста на уровне зрелых клеточных форм является следствием задержанного их выхода в кровоток. Острый период травматической болезни сопровождается задержанным выходом миелокариоцитов в периферическую кровь и, как следствие, резким снижением количества лейкоцитов и лимфоцитов на протяжении двух суток. Начиная с 3-их суток, отмечены восстановительные тенденции количественных показателей клеток периферической крови. Периодом стабилизации показателей лимфоидных органов и периферической крови, судя по полученным данным, следует считать 4-5 сутки после острой костной травмы, в этот период, изменения ростков костного мозга, клинические данные, а также показатели естественной резистентности травмированных собак говорят о стабильном, без угрозы осложнений - состоянии.

Литература

1. Базарный В.В. Сравнительная оценка действия миелопоиди и Т-активина на костный мозг // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 1995. - №3. - С.272-274.
2. Камышко В.Е. Морфофункциональная характеристика репаративной регенерации костной ткани у мелких домашних животных Автореф. дис. ... канд. вет. наук. - М., 2000. - 22с.
3. Маянский Д.Н., Цирендоржиев Д.Д. Активация макрофагов // Успехи современной биологии. -1990. - Т.109. - № 3. - С.352-368.
4. Раскин А.В. Морфо-функциональная характеристика костномозгового кроветворения в процессе репаративной регенерации костной ткани у собак: Автореф. дисс ... канд. вет. наук. - М., 2002. - 17с.
5. Ротанов Д.А. Морфофункциональная характеристика эритропоэза у собак в острый посттравматический период / Автореф. дис... канд. вет. наук. - М., 2007. - 19 с.
6. Kilic N. Effect of femoral head and neck excision in dogs. Indian-Veterinary-Journal. - 2006. - vol. 83. - N10. - p. 1100-1102/
7. Wada E, Shimada A, Morita T, Yao M Traumatic shock in a wild raccoon dog. / Japanese-Journal-of-Zoo-and-Wildlife-Medicine. - 2006 -vol. 11. - N2. - p. 99-101
8. Cempbelle P.A., Mucre L. Cell-all in the immune system// Discuss. Neurosci. - 1993. - V.9. - N3-4. - P.19-29.
9. Szabo G., Mandrecar P., Verma B., et al Acute ethanol consumption synergizes with trauma to increase monocyte tumor necrosis factor alphe production late postinjury//J. Clin. Immunol. - 1994. - V.14. - N6. - P.340-352.