

ИЗМЕНЕНИЕ ВОЗРАСТНЫХ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК КОСТНОГО МОЗГА ПОД ДЕЙСТВИЕМ КСЕНОГЕННОЙ ЦЕРЕБРОСПИНАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ

Шаймарданова Л.Р.

*ГУ «Крымский государственный медицинский университет
им. С.И. Георгиевского», Украина*

Цереброспинальная жидкость (ЦСЖ), благодаря которой осуществляется гуморальная регуляция функции всех органов, содержит весь спектр необходимых гормонов, факторов роста и других биологически активных веществ [1]. В связи с этим, целесообразно рассматривать донорскую ЦСЖ как мощный биопептидный регулятор, а также в качестве источника для выделения определенных веществ, применимых впоследствии для терапии разных патологий в организме реципиента. Наиболее близкой по составу к ликвору человека оказалась ЦСЖ крупного рогатого скота, получаемая на племенных станциях без ущерба для животных [1]. Введенная донорская ксеногенная ЦСЖ оказывает влияние не только на периферические органы, но и на центральную часть – гипоталамо-гипофизарный комплекс. Однако, учитывая доказанное отсутствие антигенности, иммунологической и видовой несовместимости, отсутствие тератогенных и эмбриотоксических свойств и сродство ЦСЖ млекопитающих [3-5], можно утверждать, что такое вмешательство оправдано при катастрофах в организме реципиента. Доклинические исследования по данной проблеме проводятся на базе кафедры нормальной анатомии человека под руководством д.м.н., профессора В.С. Пикалюка (№ гос. регистрации 0108U002090, шифр темы 06/08).

Целью данной части исследования являлось изучение возрастных морфофункциональных показателей костного мозга в ответ на введение ЦСЖ.

Задачи и методы исследований. ЦСЖ получали от здоровых коров путем субокципитальной пункции большой цистерны мозга и подготавливали к введению запатентованным методом [2]. В качестве лабораторных животных использовали 96 белых крыс линии Wistar обоих полов 4 возрастных категорий: новорожденные, неполовозрелые (инфантильные), половозрелые (молодой репродуктивный возраст) и животные предстарческого возраста, обозначенных I, II, III, IV, соответственно. В каждой группе выделяли 2 подгруппы, которым ЦСЖ вводили трехкратно, либо десятикратно из расчета 2 мл/кг массы животного с последующим забором материала на 7 и 30 сутки эксперимента. Изменения показателей экспериментальных животных сравнивали с данными контрольных животных того же пола, возраста, массы. Материалом для исследования морфофункциональ-

ных изменений костного мозга в возрастном аспекте контрольной и опытной серий служили бедренные кости крыс. Структурные изменения костного мозга в зависимости от кратности введения ксеногенной ЦСЖ и возраста реципиентов были отражены на органном, тканевом, клеточном и субклеточном уровнях.

Массу бедренных костей измеряли с помощью торсионных весов ВТ-500, определение линейных размеров: длины кости, ширины проксимального и дистального эпифизов, ширины кости на уровне третьего вертела и середины диафиза осуществляли с помощью штангенциркуля ШЦ-1. На парафиновых срезах декальцинированных бедренных костей, окрашенных гематоксилин-эозином, изучали соотношения относительных площадей остеобластического, красного и желтого костного мозга. Для этих целей применяли морфометрический комплекс, включающий микроскоп Olympus BX-41, с использованием программного обеспечения «Image-ProPlus».

Анализ изменений картины крови проводили в мазках крови, окрашенных по Романовскому-Гимза подсчетом количества эритроцитов и лейкоцитарной формулы. Изменения клеток костного мозга отмечали по отпечаткам и мазкам костного мозга, окрашенным по Романовскому-Гимза, и с использованием цитохимических реакций ШИК по McManus и Hotchkiss, и МПО (реакция на миелопероксидазу) по Loele. Интенсивность изменений в клетках при цитохимических исследованиях оценивали полуколичественным методом с вычислением среднего цитохимического коэффициента (СЦК) по Astaldi, Verga. Субклеточные изменения костного мозга анализировали на ультратонких срезах с помощью электронной микроскопии. Просмотр и фотографирование срезов производили на электронном микроскопе ПЕМ-106.

Данные гисто- и цитоморфометрических исследований обрабатывали статистически с помощью пакета лицензированных программ Microsoft Office Excel. Соблюдение биоэтических норм при проведении исследования подтверждены заключением комитета по биоэтике ГУ «Крымский государственный медицинский университет имени С.И. Георгиевского» (П. № 11 от 02.03.2011).

Результаты и выводы. Анализ результатов исследования показал различную степень влияния ксеногенной ЦСЖ на костный мозг и его строение в зависимости от возраста экспериментальных животных и кратности инфузий. Введение ксеногенного ликвора разновекторно влияло на рост и формирование бедренных костей крыс. В результате однократного его введения новорожденным животным к 30-м суткам наблюдения масса и длина бедренной кости достоверно отставали от контрольных значений на 45,45% и 14,96%, соответственно. В группе половозрелых животных лишь десятикратное введение ЦСЖ приводило к достоверному превышению массы кости на 33,25%. У животных предстарческого возраста в результате десятикратного введения ЦСЖ достоверно отставали от контрольных показателей длина кости (на 30,93%) и ширина проксимального эпифиза

(на 23,86%). При этом, толщина компактного слоя кости в зоне диафиза превышала контрольные показатели во всех возрастных группах.

Кроме того, было выявлено перераспределение процентного соотношения красного и желтого костного мозга. После введения ксеногенной ЦСЖ в первые сутки жизни, в проксимальном эпифизе бедренных костей на 30 сутки эксперимента красный костный мозг занимал площадь в 2,24 раза больше контрольного значения. У половозрелых животных красный костный мозг увеличивался по площади в дистальном эпифизе: после трехкратного введения - в 2,33 раза, а после десятикратной инфузии - в 2,14 раза выше контрольных значений. У животных предстарческого возраста после десятикратного введения ЦСЖ в зонах проксимального эпифиза, диафиза и дистального эпифиза красный костный мозг увеличивал площадь в 1,36; 4,68 и 4,26 раза, соответственно. В результате введения ЦСЖ относительная площадь желтого костного мозга в дистальном эпифизе бедренных костей уменьшалась максимально в 2,31 раза ниже контрольного значения у половозрелых животных после трехкратного введения. Площадь остеобластического костного мозга после однократного введения ксеногенного ликвора новорожденным животным уменьшалась в проксимальном эпифизе и диафизе; у неполовозрелых животных остеобластический костный мозг в проксимальном эпифизе превышал по площади контрольное значение в 2,21 раза. В остальных возрастных группах он практически отсутствовал.

Морфологические изменения клеток костного мозга свидетельствовали об активации синтетических процессов в клетках красного костного мозга животных первых трех исследуемых групп, что выявлялось расширением эндоплазматической сети, просветлением митохондрий, и истощении механизмов активации у животных предстарческого возраста в результате десятикратного введения ЦСЖ.

Введение ЦСЖ влияло на гемопоетические диффероны. Во всех возрастных группах независимо от кратности введения происходило расширение гранулоцитарного ростка и преимущественная стимуляция дифференцирования клеток дифферонов костного мозга с параллельным максимальным накоплением ШИК-позитивного материала после однократного введения новорожденным животным к 30 суткам эксперимента и снижением на 25,54% продуктов перекисного окисления до минимального показателя у половозрелых животных после десятикратных инфузий. Данные процессы свидетельствовали о доминировании процессов дифференцирования клеток над пролиферацией. В результате введения ксеногенной ЦСЖ крысам в первые сутки жизни, а также половозрелым животным, отмечали значительное расширение эритроидного ростка, а неполовозрелым и предстарческим – его сужение. Независимо от кратности введения, картина крови не показала признаков воспалительной реакции, антигенной нагрузки, интоксикации, бласттрансформации, несостоятельности кроветворения (дизэритропоэза).

Основными векторами влияния ксеногенной ЦСЖ на морфофункциональные характеристики костного мозга и его грубую строму в возрастном аспекте, независимо от кратности введения, являются утолщение компактного вещества кости, уменьшение объема желтого костного мозга, увеличение объема красного костного мозга, стимуляция дифференцирования клеток различных дифферонов.

Полученные экспериментальные данные могут служить обоснованием возможности создания на основе ЦСЖ нового класса препаратов для индукции гемоцитопоза, иммуно- и остеогенеза при апластических состояниях, дисгемопозах, гемобластозах (учитывая доминирование созревания клеток над пролиферацией при введении ксеногенного ликвора), остеопениях и остеопорозах.

Литература:

1. Ликвор как гуморальная среда организма./ В.С. Пикалюк, Е.Ю. Бессалова, В.В. Ткач, и др.// ИТ «Ариал».- Симферополь, 2010.- 192 с.
2. Патент на корисну модель № 65154, Україна. Спосіб отримання біологічного препарату ліквору /Пикалюк В.С., Ткач В.В., Бессалова Є.Ю., и др. // Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на корисні моделі 25.11.2011.
3. Ткач В.В. Определение тератогенных и эмбриотоксических свойств биопрепарата “Ликворин” / В.В. Ткач, А.В. Кубышкин, В.В. Ткач (мл.) //Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения: сб. тр. Крым. мед. ун-та. — Симферополь, 1998. — Т. 134. — С. 89–95.
4. Ткач В.В.(мл.). Влияние ксеногенной цереброспинальной жидкости на клеточный иммунитет в эксперименте/ В.В.(Ткач мл.), В.В. Ткач, М.А. Кривенцов // Клінічна анатомія та оперативна хірургія.- 2006.- Т. 5, №2.- С.61-62
5. Ткач В.В.(мл.). Влияние ксеногенной цереброспинальной жидкости на реакции гуморального иммунитета/ В.В. Ткач(мл.), В.В. Ткач, М.А. Кривенцов //Клінічна анатомія та оперативна хірургія.- 2006.-Т. 5, №2.- С.62.