

ОСОБЕННОСТИ МИЕЛОГРАММЫ КОСТНОГО МОЗГА ТРУБЧАТЫХ КОСТЕЙ

Николаева Л.П.¹, Черданцев Д.В.¹, Хват Н.С.¹

¹ ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. Войно-Ясенецкого, Министерства здравоохранения РФ», Красноярск, Россия (660022, Красноярск ул. Партизана Железняка,1), e-mail: lpnikolaeva@yandex.ru

Исследование костного мозга – важнейшая задача для дальнейшего изучения микроокружения стволовых клеток. Возможности костного мозга еще недостаточно изучены. Костный мозг трубчатых костей выполняет важную функцию в иммуногенезе. Желтый костный мозг дает нам все больше информации о своей значимости. Проведенные исследования показывают, что миелограмма костного мозга трубчатых костей имеет свои особенности, и это следует считать нормой для желтого костного мозга. Можно предположить, что желтый и красный костный мозг имеют некоторое разделение функций. Функции желтого костного мозга незаслуженно отодвигались на задний план. Получая новые факты о функциях костного мозга, мы все больше продвигаемся по пути возможного управления стволовой клеткой. В настоящее время мы стоим на пороге активного применения клеточных технологий в клинической практике.

Ключевые слова: костный мозг трубчатых костей, клеточная терапия, стволовые клетки, миелограмма

THE MYELOGRAM FEATURES OF LONG BONE MARROW

Nikolaeva L.P., Cherdancev D.V., Hvat N.S.

Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V. F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russia (660022, Krasnoyarsk. PartizanaZheleznyakastreet, 1), e-mail: lpnikolaeva@yandex.ru

Bone marrow examination is the most important task for further study of the microenvironment of stem cells. Possible bone marrow remains poorly understood. Marrow bones performs an important function in immunogenesis. The conducted researches show that the miyelogramma of marrow of tubular bones has the features and it should be considered norm for yellow marrow. It is possible to assume that yellow and red marrow have some division of functions. Yellow marrow gives us more information about their significance. Function yellow bone marrow was unfairly pushed into the background. Getting new facts about the functions of the bone marrow we are increasingly moving towards a possible control stem cell. Now we are on the threshold of active application of cellular technologies in clinical practice.

Keywords: marrow bones, cell therapy, stem cells, myelogram

Одной из основных ценностей нашего организма является костный мозг. Эта фабрика жизненно необходимых клеток крови работает постоянно. Являясь «третьим мозгом» в организме, он призван контролировать и сохранять нормальное функционирование человека. Любое нарушение в работе этого уникального органа ведет к сложнейшим заболеваниям и осложнениям. Основным его компонентом являются ценные стволовые клетки, способные выполнять функции любой клетки организма. Именно поэтому они являются бесценными для лечения онкозаболеваний. Костный мозг выполняет множество жизненно важных функций в организме человека. Это в первую очередь центральный орган гемопоза и иммуногенеза [3]. К центральным органам кроветворения и иммунной защиты у человека относятся красный костный мозг и тимус. Костный мозг — один из органов кроветворения, продуцирующий клетки крови миелоидного ряда (эритроциты, зернистые лейкоциты). Его основой является ретикулярная ткань, пронизанная большим количеством кровеносных сосудов, преимущественно капилляров, расширенных в виде синусоидов. В организме

взрослого человека различают красный и желтый костный мозг. Красный костный мозг является собственно кроветворной частью костного мозга, он заполняет ячейки губчатого вещества плоских костей, позвонков и эпифизов трубчатых костей. Желтый костный мозг находится в костномозговых полостях диафизов трубчатых костей. Он представляет собой перерожденную ретикулярную ткань, клетки которой содержат жировые включения. Желтый костный мозг – важный резерв для красного костного мозга. При кровопотерях в него заселяются гемопоэтические элементы, и он превращается в красный костный мозг. Таким образом, желтый и красный костный мозг можно рассматривать как 2 функциональных состояния одного кроветворного органа. Уникальной особенностью микроокружения костного мозга является присутствие там полипотентных стволовых клеток [6]. Костный мозг у человека появляется впервые на 2-м месяце внутриутробного периода в ключице эмбриона, затем на 3–4-м месяце он образуется в развивающихся плоских костях, а также в трубчатых костях конечностей — лопатках, тазовых костях, затылочной кости, ребрах, грудины, костях основания черепа и позвонках, а в начале 4-го месяца развивается также в трубчатых костях конечностей. До 11-й недели это остеобластический костный мозг, который выполняет остеогенную функцию. В данный период костный мозг накапливает стволовые клетки, а клетки стромы с остеогенными потенциями создают среду, необходимую для дифференцировки стволовых кроветворных клеток. У 12–14-недельного эмбриона человека происходят развитие и дифференцировка вокруг кровеносных сосудов гемопоэтических клеток. У 20–28-недельного плода человека в связи с интенсивным разрастанием костного мозга отмечается усиленная резорбция костных перекладин остеокластами, в результате чего образуется костномозговой канал, а красный костный мозг получает возможность расти в направлении эпифизов. К этому времени костный мозг начинает функционировать как основной кроветворный орган, причем большая часть образующихся в нем клеток относится к эритроидному ряду гемопоэза. У зародыша 36 недель развития в костном мозге диафиза трубчатых костей обнаруживаются жировые клетки. Одновременно появляются очаги кроветворения в эпифизах. Изучение биологии стволовых клеток открывает огромные перспективы для развития медицины [1]. Количество костного мозга равно в среднем 4,6% веса тела, причем в норме у человека имеется приблизительно равное количество красного и желтого мозга. Так, у взрослого здорового человека весом 60 кг на костный мозг приходится около 2600 г. Таким образом, активного — красного — костного мозга у него имеется около 1300 г, по данным некоторых авторов 1500 г [5]. Доминантное положение красного костного мозга над желтым является преувеличением. Желтый костный мозг имеет не меньшее значение для организма, чем

красный костный мозг, а в свете новых тенденций в изучении стволовых клеток, возможно, и большее.

Цель исследования

Оценка особенностей миелограммы костного мозга трубчатых костей.

Материалы и методы

Препараты для подсчета миелограммы делались из разных участков костного мозга трубчатых костей, чаще всего использовались ткани, прилежащие к эндосту. В ходе микроскопического исследования производили дифференцированный подсчет клеток желтого костного мозга в предварительно окрашенных и зафиксированных мазках. Красный костный мозг у взрослого человека располагается в ячейках губчатого вещества плоских и коротких костей, эпифизов длинных костей, желтый костный мозг заполняет костномозговые полости диафизов длинных (трубчатых) костей. У взрослого человека красный костный мозг содержится только в ячейках губчатого вещества плоских костей (грудине, крыльях подвздошных костей), в губчатых костях и эпифизах трубчатых костей. В диафизах, т. е. в костномозговых полостях, находится желтый костный мозг. В обычной медицинской практике необходимость в миелограмме появляется, как правило, в случае диагностики заболеваний крови и при лучевой терапии по разным показаниям. Клеточный состав костного мозга оценивается по результатам исследования пунктата грудины или подвздошной кости [2], полученного с помощью иглы И.А. Кассирского. Для диагностики гипопластических состояний, выявления лейкозных инфильтратов и раковых метастазов, а также миелодиспластического синдрома и некоторых видов костной патологии используют трепанобиопсию подвздошной кости, которую проводят с помощью специального троакара [4]. Потребности в получении костного мозга из трубчатых костей нет, тем более что пункция трубчатых костей невозможна из-за высокой прочности кортикального слоя. В процессе хирургической практики создаются ситуации, когда костный мозг трубчатых костей доступен без каких-либо специальных манипуляций (например, при ампутации нижних конечностей при критических ишемиях, травматических повреждениях, сопровождающихся необходимостью ампутации конечности). При оперативном вмешательстве на трубчатой кости во время ампутации забор костного мозга из конечности, которая подлежит удалению, становится процедурой доступной и легкой. Костный мозг, полученный из трубчатой кости, во время операции может быть использован для подсчета миелограмм.

Результаты исследования

Было исследовано 10 образцов костного мозга трубчатых костей, полученного при ампутации конечности. Высохшие на воздухе мазки фиксировались с использованием

фиксатора Майн—Грюнвальда, далее фиксированные мазки окрашивались азур-эозином по Романовскому. Окрашенные препараты микроскопировали с иммерсией при увеличении $\times 1000$, используя микроскоп OlympusCX 41 (окуляр на 10, объектив на 100). Следует отметить, что состояние костного мозга во всех случаях разное. Консистенция костного мозга варьирует от жидкого, как вода, до густого типа желе, но это состояние не связано с клеточным составом и не влияет на результаты миелограмм. Также характерен цвет костного мозга трубчатых костей: чаще он желтоватый из-за жирового компонента, который является необходимым составляющим компонентом для жизнеобеспечения костного мозга. Утверждение, что костный мозг трубчатых костей перерождается в жировую ткань, является сомнительным, так как в процессе исследования костного мозга пациентов различного возраста выявлено, что даже у 25-летнего больного, которому произведена ампутация конечности в связи с отморожением стопы, костный мозг имеет такой же процент жировой ткани, как и у пожилых пациентов (старше 70 лет). При исследовании костного мозга определяется неоднородность по наличию «островков кроветворения». В одних случаях их нет вообще, у других присутствуют единичные. Костный мозг трубчатых костей крайне редко бывает красноватого цвета, что позволяет предположить низкий уровень кроветворной функции. При подсчете миелограммы желтого костного мозга следует отметить следующее: недифференцированные бласты, миелобласты и промиелоциты в пределах от 0,1% до 1,4%. Содержание миелоцитов возрастает от 8,0% до 31,4%. Количество метамиелоцитов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов в пределах нормы. В целом клетки нейтрофильного ряда количественно составляют от 64,0% до 78,6%. Крайне низкое число клеток эозинофильного ряда — от 0,1% до 3,0%. Содержание клеток эритроидного ряда незначительно снижено — от 7,0% до 18,0%. Лейко-эритробластное соотношение имеет свои особенности и равно от 5:1 до 10:1. Индекс созревания эритробластов равен 1,0. Отмечается полное отсутствие тромбоцитов и мегакариоцитов. Во всех исследованных образцах (10) отмечалась нормальная клеточность костномозгового материала, в 2 случаях клеточность была снижена. Состав костного мозга полиморфный. Тип эритропоэзанормобластический. Гранулоцитарный росток в норме или расширен. Созревание нейтрофилов не нарушено. Эритроидный росток во всех случаях угнетен. Белый росток гиперплазирован.

Заключение

Полученные данные следует считать нормой для желтого костного мозга. Исследование особенностей желтого костного мозга, взятого из бедренной кости (в случае ампутации конечности), может быть использовано для более полного понимания процессов иммуногенеза, происходящих в организме. В последнее десятилетие резко повысился интерес к изучению стволовых клеток, что невозможно без тонкого изучения костного мозга,

как красного, так и желтого в целом. Понимание процессов, происходящих в микроокружении стволовых клеток, находящихся в костном мозге, даст нам возможность влиять на функциональное состояние этих клеток и управлять ими. Стромой костного мозга является ретикулярная соединительная ткань, образующая микроокружение для кроветворных клеток. В настоящее время к элементам микроокружения относят также остеогенные, жировые, адвентициальные, эндотелиальные клетки и макрофаги. В отношении желтого костного мозга количество жировых клеток больше, чем в красном костном мозге. Увеличение жировой ткани в костном мозге трубчатых костей связано с необходимостью ее присутствия для нормального функционирования костного мозга и формирования особенного микроокружения стволовых клеток, находящихся в костномозговой полости. Ретикулярные клетки благодаря своей отростчатой форме выполняют механическую функцию, секретируют компоненты основного вещества (преколлаген, гликозаминогликаны, проэластин и микрофибриллярный белок) и участвуют в создании кроветворного микроокружения, специфического для определенных направлений развивающихся гемопоэтических клеток, выделяя ростовые факторы. Остеогенными клетками называют стволовые клетки опорных тканей, остеобласты и их предшественники. Остеогенные клетки входят в состав эндоста и могут быть в костномозговых полостях. Остеогенные клетки также способны вырабатывать ростовые факторы, индуцировать родоначальные гемопоэтические клетки в местах своего расположения к пролиферации и дифференцировке. Наиболее интенсивно кроветворение происходит вблизи эндоста, где концентрация стволовых клеток примерно в 2–3 раза больше, чем в центре костномозговой полости. Данная работа показывает ценность костного мозга трубчатых костей. Как известно, работа всего организма организована таким образом, что необходим постоянный обмен веществами между всеми частями тела, органами и тканями. Эту функцию выполняет кровь. Именно в костном мозге происходит постоянное обновление компонентов крови — процесс образования новых кровяных телец трех видов: эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов. Вторая уникальная характеристика костного мозга — это наличие в его составе стволовых клеток, способных превращаться в клетки любого органа или любой ткани, присущей данному организму. Эта особенность в настоящее время активно изучается и используется в самых инновационных методиках лечения заболеваний, до недавнего времени считавшихся неизлечимыми (в первую очередь онкологических). Все заболевания костного мозга относятся к тяжелым, поскольку несут серьезную угрозу жизни. Нарушения в составе крови снижают способность организма адекватно реагировать на угрозы, приходящие извне; усложняется поддержание внутренней стабильности организма; нарушается продуктивность происходящих процессов; возникают дефицит или чрезмерное накопление определенных веществ в органах и тканях;

угнетаются иммунные и нервно-психические реакции. Самые тяжелые заболевания для лечения — это рак, в том числе и крови. Трансплантация костного мозга и стволовых клеток представляет собой процедуру, позволяющую проводить лечение рака очень высокими дозами прежде всего химиотерапевтических средств, но иногда и радиоактивного излучения. Поскольку такое лечение постоянно разрушает костный мозг, оно в принципе представляется неосуществимым, ведь организм утрачивает жизненно важную способность продуцировать клетки крови. Однако, если после лечения в организм вновь ввести здоровый костный мозг (вещество, продуцирующее кровь) или стволовые клетки (клетки-предшественники в костном мозге, которые, развиваясь, превращаются в клетки крови), возможны замена костного мозга и восстановление его способности к кроветворению. Поэтому пересадки костного мозга и стволовых клеток позволяют проводить терапию высокими дозами для излечения конкретного рака, когда более низкие дозы бессильны. Существуют три вида трансплантации: аутологическая, предусматривающая использование костного мозга или стволовых клеток самого пациента, аллогенная — от родственных доноров и от неродственных доноров. Трансплантацию костного мозга можно назвать классической. Цель удаления костного мозга заключается в получении содержащихся в нем клеток-предшественников (стволовых клеток), которые в процессе развития превращаются затем в различные компоненты крови. До начала любого интенсивного лечения костный мозг удаляют из костей пациента или донора, после чего замораживают и хранят до использования. Необходимость наличия донора является трудной задачей, но, если имеется альтернативный вариант получения костного мозга, нужно его использовать и развивать. В клинической практике иногда создаются ситуации, когда приходится ампутировать нижнюю конечность. Целесообразно в данной ситуации заканчивать ампутацию извлечением костного мозга из ампутированной конечности с последующей аутологичной клеточной терапией. Полученный костный мозг можно использовать для создания банка стволовых клеток. Трансплантации криоконсервированных стволовых клеток остаются одним из эффективных методов коррекции костномозговой недостаточности различной этиологии и различных заболеваний, список которых увеличивается с каждым годом. Проведенное исследование показывает один из путей реализации этой возможности. Данная работа выполнена при поддержке Красноярского краевого фонда поддержки научной и научно-технической деятельности.

Список литературы

1. Егоров Е.Е., Чернов Д.Н., Акимов С.С. и др. Подавление функции теломеразы аналогами нуклеозидов // Биохимия. — 1997. — Т. 62. — С. 1516–1527.
2. Руководство по лабораторной гематологии /Б. Сисла; пер. с англ. / Под ред. А.И. Воробьева. – М.: Практическая медицина, 2011. – 352 с.
3. Хэм А., Кормак Д. Гистология: пер. с англ. – М.: Мир, 1983. – Т. 2. – 254 с.
4. Jamshidi K., Swaim W.R. Bone marrow biopsy with unaltered architecture: A new biopsy device. J LabClinMed. 77:335, 1971
5. Singer S.J., Nicholson L. The fluid mosaic of the structure of cell membranes. AnnuRevBiochem 43:805, 1974
6. Wallace M.S. Hematopoietic theory. In:Rodak B., ed. Hematology: Clinical Procedure and Applications, 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders, 2002; 73

Рецензенты:

Селедцов В.И., д.м.н., профессор, директор центра медицинских биотехнологий Балтийского федерального университета им. И. Канта, г. Калининград;

Бульчева Т.И., д.м.н., профессор, ФГБУ ГНЦ МЗ РФ, г. Москва.