

УДК 616.155.1-008.1-076.3

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ОБРАЗОВАНИЯ КОСТНОМОЗГОВЫХ ЭРИТРОКЛАЗИЧЕСКИХ КЛАСТЕРОВ ПРИ НАРУШЕНИЯХ КРОВЕТВОРЕНИЯ

Бельченко Д.И., Кривошеина Е.Л., Ханина Н.Я., Волкова О.В.,
Смирнова Е.А., Рехтина И.Г.

Тверская государственная медицинская академия, Тверь

Проведено сравнительное исследование характера образования эритроклазических кластеров (ЭК) в костном мозге двух групп гематологических больных. Установлено, что при заболеваниях, сопровождавшихся тяжелыми нарушениями гранулоцитопоза (I группа), имело место подавление процесса образования ЭК. При этом по мере созревания гранулоцитарных миелокариоцитов их способность образовывать ЭК уменьшалась в несколько раз, тогда как при заболеваниях, не сопровождавшихся угнетением гранулоцитопоза (II группа), эта способность увеличивалась. В результате нарушения гранулоцитопоза при апластической анемии (АА) и в активной фазе острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) наблюдалось одинаковое «остаточное» содержание гранулоцитарных миелокариоцитов в костном мозге больных. В фазе ремиссии ОЛЛ при нарастании числа миелокариоцитов наблюдалось сохранение пропорциональности между количествами гранулоцитарных миелокариоцитов образующих и не образующих ЭК, характерное для активной фазы. Эти наблюдения могут быть объяснены существованием в костном мозге субклона гранулоцитарных миелокариоцитов, обладающего повышенной устойчивостью к миелотоксическим факторам.

Кроме известных гемопоэтических островков [9] в костном мозге существует другая разновидность кластеров, в которых происходит не созревание, а разрушение - (эритроклазия) - эритроцитов, это эритроклазические костномозговые кластеры [1,2]. Интенсивность и характер их образования претерпевают характерные изменения при гематологических заболеваниях, что используется для прогнозирования характера их течения и дифференциальной диагностики [3,4,7,8]. Эти исследования производились без учета видов кластеробразующих миелокариоцитов с оценкой лишь суммарного их количества кластеров. Поэтому было целесообразно исследовать способность различных видов образовывать эритроклазические кластеры.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ:

Исследованы аспираты костного мозга 9 детей, больных апластической анемией; 20 детей, больных острым лимфобластным лейкозом в активной фазе и в фазе ремиссии; 10 детей, больных хроническим миелолейкозом; 9 больных железодефицитной анемией и 10 детей с нейтрофильными лейкомоидными реакциями. Все дети находились на лечении в детской областной клинической больнице г.Твери. Был исследован также костный мозг 50 больных множественной миеломой. Костный мозг получали стерильной

пункцией, мазки аспиратов окрашивали по Романовскому-Гимзе. При световой микроскопии мазков костного мозга производили определение и подсчет количества эритроклазических кластеров, образованных различными видами миелокариоцитов, для проведения дифференциального анализа процесса кластерообразования.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.

Установлено, что подавляющее большинство эритроклазических кластеров в костном мозге исследованных больных, за исключением больных в активной фазе острого лимфобластного лейкоза, было образовано клетками гранулоцитарного ряда. В активной фазе острого лимфобластного лейкоза в связи с лимфобластной инфильтрацией костного мозга большинство эритроклазических кластеров было образовано бластными клетками. Значительно меньшее количество эритроклазических кластеров при этом состоянии было образовано гранулоцитами.

При лейкомоидных реакциях содержание гранулоцитарных миелокариоцитов находилось в пределах нормы. Из них образовывали эритроклазических кластеров 36,2%. В костном мозге больных апластической анемией на фоне значительного уменьшения его клеточности (таблица) содержание клеток гранулоцитарного ряда было резко уменьшено, образовывали эритроклазиче

ские кластеры лишь 4,4% их количества. У больных острым лимфобластным лейкозом в стадии ремиссии клеточность костного мозга и количество содержащихся в нем гранулоцитарных клеток были меньше нормальных величин

(таблица). Тем не менее количество гранулоцитарных миелокариоцитов, образующих эритроклазические кластеры, было в 4 раза больше, чем при апластической анемии и составляло 8,6% от их общего количества (таблица).

Таблица. Количество гранулоцитарных миелокариоцитов и образованных ими эритроклазических кластеров в мкл костного мозга исследованных больных

Группы миелокариоцитов, образующих эритроклазические кластеры		Общее количество гранулоцитарных миелокариоцитов	Промиелоциты и миелоциты	Метамиелоциты, палочкоядерные и сегментоядерные	P
Вид гематологической патологии					
Апластическая анемия (n = 9)		6500±660	$\frac{222 \pm 23}{1548 \pm 130}$	$\frac{65 \pm 6,9}{4951 \pm 315}$	<0,001
Острый лимфобластный лейкоз	Активная фаза (n = 20)	6797±1450	$\frac{342 \pm 52}{2925 \pm 363}$	$\frac{179 \pm 30}{3873 \pm 403}$	<0,05
	Фаза ремиссии (n=20)	15906±1760	$\frac{979 \pm 55}{3430 \pm 301}$	$\frac{394 \pm 37}{12476 \pm 640}$	<0,01
Хронический миелолейкоз (n = 10)		238795±18460	$\frac{11001 \pm 1375}{50680 \pm 10660}$	$\frac{3694 \pm 284}{188115 \pm 10670}$	<0,001
Множественная миелома (n = 50)		7731±2630	$\frac{768 \pm 135}{4213 \pm 970}$	$\frac{1759 \pm 109}{3518 \pm 883}$	<0,001
Железодефицитная анемия (n = 9)		46411±7540	$\frac{502 \pm 84}{13404 \pm 3093}$	$\frac{690 \pm 95}{33007 \pm 658}$	>0,05
Лейкемоидные реакции (n = 10)		63507±8200	$\frac{7803 \pm 306}{24563 \pm 3945}$	$\frac{12852 \pm 1600}{38944 \pm 5078}$	<0,01

Примечание: в числителе – количества кластерообразующих миелокариоцитов. К ним относится показатель «P». В знаменателе – общее количество миелокариоцитов данных видов.

В активной стадии острого лимфобластного лейкоза при лимфоидной метаплазии костного мозга и резком увеличении его клеточности абсолютное содержание в нем гранулоцитарных клеток было таким же низким, что и в костном мозге больных апластической анемией (таблица). В соответствии с лимфоидной инфильтрацией костного мозга в активной фазе острого лимфобластного лейкоза основное количество кластеров было образовано бластными клетками. Из их общего количества гранулоцитарными миелокариоцитами было образовано лишь 2%. Следует отметить, что в соответствии с большим – в 2,4 раза содержанием гранулоцитарных миелокариоцитов в костном мозге больных острым лимфобластным лейкозом в стадии ремиссии, они образовывали в 2,36 раза большее, чем в активной стадии, количество эритроклазических кластеров. Из этого следует, что относительное (процентное) содержание кластерообразующих гранулоцитарных миелокариоцитов в обе фазы течения острого лимфобластного лейкоза было

практически одинаковым. Действительно, и в активной фазе, и в фазе ремиссии эритроклазические кластеры были образованы соответственно 7,7% и 8,6% гранулоцитарных миелокариоцитов.

При хроническом миелолейкозе в кластерообразовании также участвовало относительно небольшое количество гранулоцитарных миелокариоцитов – 5,3%, несмотря на резкое увеличение их абсолютного количества (таблица). В костном мозге больных множественной миеломой образовывали кластеры 18,4% гранулоцитарных миелокариоцитов.

При заболеваниях, сопровождающимися тяжелыми расстройствами кроветворения (апластическая анемия, острый лимфобластный лейкоз, хронический миелолейкоз) процесс образования эритроклазических кластеров в костном мозге больных имел одинаковый характер. Наибольшие количества гранулоцитарных эритроклазических кластеров были образованы про- и миелоцитами. Этими клетками в костном мозге

больных апластической анемией было образовано 69,3% от всех гранулоцитарных эритроклазических кластеров, в костном мозге больных острым лимфобластным лейкозом в активной фазе – 92%, в фазе ремиссии – 57,6% и при хроническом миелолейкозе – 75%. По мере созревания гранулоцитарных миелокариоцитов их кластеробразующая способность существенно уменьшалась по сравнению с кластеробразующей способностью про- и миелоцитов; хотя количество зрелых и созревающих гранулоцитов превосходило суммарное количество про- и миелоцитов (таблица). В костном мозге больных железодефицитной анемией и при лейкомоидных реакциях, то есть при состояниях, не сопровождающихся тяжелыми нарушениями гранулоцитопоэза, процесс образования эритроклазических кластеров имел совершенно иной характер. При множественной миеломе 69% эритроклазических кластеров были образованы созревающими и зрелыми клетками – метамиелоцитами, палочко- и сегментоядерными. Соответственно промиелоциты и миелоциты образовывали в 2 раза меньшее количество эритроклазических кластеров (таблица). При лейкомоидных реакциях так же, как и при множественной миеломе, созревающие и зрелые гранулоциты образовывали большие, чем про- и миелоциты, количества эритроклазических кластеров, составляющие 63% от числа всех эритроклазических кластеров. В костном мозге больных железодефицитной анемией количество эритроклазических кластеров, образованных созревающими и зрелыми гранулоцитарными миелокариоцитами, также было больше количества эритроклазических кластеров, образованных про- и миелоцитами, однако, различие было статистически недостоверным. Тем не менее уменьшения образования эритроклазических кластеров гранулоцитарными миелокариоцитами по мере их созревания, как это имело место при апластической анемии и остром лимфобластном лейкозе, при железодефицитной анемии не наблюдалось (таблица).

При анализе результатов исследования обратили на себя внимание следующие обстоятельства. При заболеваниях, сопровождающихся выраженным подавлением гранулоцитопоэза – (апластическая анемия и активная фаза острого лимфобластного лейкоза абсолютные количества гранулоцитарных миелокариоцитов в мкл костного мозга были практически одинаковыми и составляли соответственно 6500 ± 660 и 6797 ± 1450 . Маловероятно, чтобы такое совпадение имело случайный характер. В костном мозге больных в активной фазе острого лимфобластного лейкоза и в фазе его ремиссии процентное содержание гранулоцитарных миелокариоцитов,

образующих эритроклазические кластеры, как указывалось выше, практически совпадает. Это может быть обусловлено тем, что при восстановлении гранулоцитопоэза в стадии ремиссии острого лимфобластного лейкоза и соответственно при увеличении числа гранулоцитарных миелокариоцитов сохраняется пропорциональность между возросшим общим количеством гранулоцитов и количеством гранулоцитов, образующих эритроклазические кластеры. Оба эти наблюдения можно объяснить существованием субклона гранулоцитарных миелокариоцитов, устойчивых к миелотоксическим факторам.

Таким образом, между процессами кластерообразования при заболеваниях, протекающих с тяжелыми нарушениями гранулоцитопоэза и без них, существуют не только количественные, но и качественные различия. Эти наблюдения свидетельствуют о функциональной неоднородности гранулоцитарных миелокариоцитов, возможно, о существовании нескольких линий. Это подтверждается выявлением неоднородности популяции нейтрофилов крови, установленной методом розеткообразования *in vitro* [5].

Пропорциональность величин общего количества гранулоцитарных миелокариоцитов, и количества образующих эритроклазических кластеров, характерная для активной фазы острого лимфобластного лейкоза и фазы его ремиссии, одинаковое («остаточное») содержание гранулоцитарных миелокариоцитов в костном мозге больных апластической анемией и активной стадии острого лимфобластного лейкоза, различный характер процесса образования эритроклазических кластеров при заболеваниях, протекающих с нарушениями гранулоцитопоэза и без них могут быть объяснены существованием в костном мозге субклона гранулоцитарных миелокариоцитов, обладающего повышенной устойчивостью при тяжелых нарушениях кроветворения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бельченко Д.И. // Клиническая лабораторная диагностика. - 1993. - № 4. - С.9-13.
2. Бельченко Д.И., Кривошеина Е.Л. // Гематология и трансфузиология. - 1999. - Т. 44. - № 5. - С. 18-21.
3. Бельченко Д.И. Диплом на открытие «Явление образования в костном мозге млекопитающих эритроклазических костномозговых кластеров» выдан международной ассоциацией авторов научных открытий. - 2001.
4. Бельченко Д.И., Кривошеина Е.Л. // Педиатрия. - 2001. - № 2. - С.22-25.
5. Держинская И.И. // Иммунология. - 1983. - № 6. - С.44-47.

6. Руководство по гематологии. / Под ред. А.И. Воробьева. –М., 2002. – Т. 1. – С.43-45.
7. Смирнова Е.А., Бельченко Д.И., Кривошеина Е.Л. //Педиатрия. – 1997. - № 4. – С. 63-65.
8. Смирнова Е.А., Бельченко Д.И., Кривошеина Е.Л. //Педиатрия. – 2002. - № 6. – С. 11-14.
9. Bessis M. // Rev. Hematol. – 1958. – Vol. 13. – P.8-11.

The differential analysis of formation erythroclastic clusters in bone marrow with infringements creations of blood

Bel'chenko D.I., Krivosheina E.L., Hanina N.Ya., Volkova O.V., Smirnova E.A., Rehtina I.G.

A comparative investigation of the character of erythroclastic clusters (EC) formation in bone marrow of 2 groups of hematologic patients has been performed. It was established that in the diseases accompanied by severe disorders of granulocytopoiesis (the 1-st group patients), suppression of EC formation process took place. At the same time as granulocytic myelokaryocytes became mature, their power to form EC decreased several times whereas in the diseases not accompanied by granulocytopoiesis suppression (the 2-nd group) this power enhanced. As a result of granulocytopoiesis disorder in aplastic anemia (AA) and in acute lymphoblastic leucosis (ALL) active phase, the same «residual» content of granulocytic myelokaryocytes in the patients' bone marrow was found. In the phase of ALL remission when the number of myelokaryocytes was increasing the proportion of the number of granulocytic myelokaryocytes which formed and didn't form EC remained unchanged – the feature characteristic of the active phase. These findings could be explained by the presence of subclone of granulocytic myelokaryocytes in bone marrow which had increased resistance to myelotoxic factors.