

УДК 577.391:612.419

ФИЗИОЛОГИЯ

Н. Ф. ГРОНСКАЯ, Г. С. СТРЕЛИН

О РЕИММИГРАЦИИ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА У МЫШЕЙ В РЕНТГЕНОЛОГИЧЕСКИХ ОПЫТАХ

(Представлено академиком В. Н. Черниговским 8 IV 1975)

В связи с опытами по экранированию части кроветворных тканей при облучении и опытами с трансплантацией необлученного костного мозга облученным животным установлен феномен спонтанного расселения защищенных стволовых клеток (¹⁻⁴). Выявлено также, что экранирование части костного мозга во время облучения животного может дополнить или заменить эффект трансплантации, если объем экранированной гемопоэтической ткани достаточно велик (⁵⁻⁸). Изучение активности расселения стволовых клеток приобрело таким образом практический интерес. Оказалось, что она различна у разных видов животных (⁹) и может быть усилена влиянием различных стимулирующих воздействий (¹⁰⁻¹⁴).

Для выяснения механизмов стимуляции сложного процесса расселения стволовых клеток необходимо дальнейшее изучение условий и факторов, влияющих на миграцию стволовых клеток. В этом плане, в частности, представляет интерес, происходит ли реиммиграция стволовых клеток, уже заселивших поврежденные радиацией ткани, или репопулирующиеся ткани утрачивают эту способность. Представленные экспериментальные данные отвечают на этот вопрос.

При всех исследованиях сохранялась одна и та же схема постановки опытов. Первоначально у мышей (весом 18–20 г) облучали рентгеновскими лучами одну конечность (голень) или четыре конечности (примерно 20×10^6 или соответственно 50×10^6 ядерных клеток костного мозга) в дозе 2000 р, инактивирующей костный мозг. Сразу же, через 1 час или 3 часа после этого облучали в дозе 720 р остальное тело животных, защищая свинцовым экраном ранее облученные его части. В контроле мышей подвергали тотальному облучению в дозе 720 р. Предполагалось, что в промежутке времени между первым местным и вторым субтотальным облучениями может произойти репопуляция облученного костного мозга за счет иммигрировавших стволовых клеток из костного мозга необлученной части тела. Мы судили о ее значении по выживаемости животных, колониеобразованию в селезенке на 9-е сутки после облучения и изменению веса селезенки в течение 1 мес. В эти же сроки определяли восстановление клеточности костного мозга. Повышение указанных показателей должно было свидетельствовать о реиммиграции стволовых клеток, появившихся и размножившихся в костном мозге облученной конечности (или конечностей), и их приживлении в облученных кроветворных органах.

Облучение проводили на аппарате РУМ-17, напряжение 200 кВ, сила тока 15 мА, фильтры 0,5Cu+1,0Al, кожнофокусное расстояние 60 см, мощность дозы 96 р в 1 мин.

В пользу заселения необлученными клетками облученного костного мозга конечностей и их вторичного расселения в облученный костный мозг остального тела наиболее ярко свидетельствуют результаты анализа выживаемости мышей, облученных указанными выше способами. На рис. 1 представлены полученные данные. Тотально облученные в дозе 720 р животные (92 мыши) все погибли к 12–14-м суткам (кривая 1). Мыши

с облученными четырьмя конечностями в дозе 2000 р и последующим облучением всего тела через 3 часа в дозе 720 р при экранировании ранее облученных конечностей почти все выжили (94%, 16 и 17 мышей, кривая 2), несмотря на полученную ими большую интегральную дозу, чем при тотальном облучении. При первоначальном облучении одной конечности (т. е. в $\sim 2,5$ раза меньшем количестве костномозговых клеток) и экранировании ее во время второго облучения в опытах с тем же 3-часовым промежутком времени между облучениями выжила значительно меньшая часть мышей (30%, 14 из 20 мышей, кривая 3).

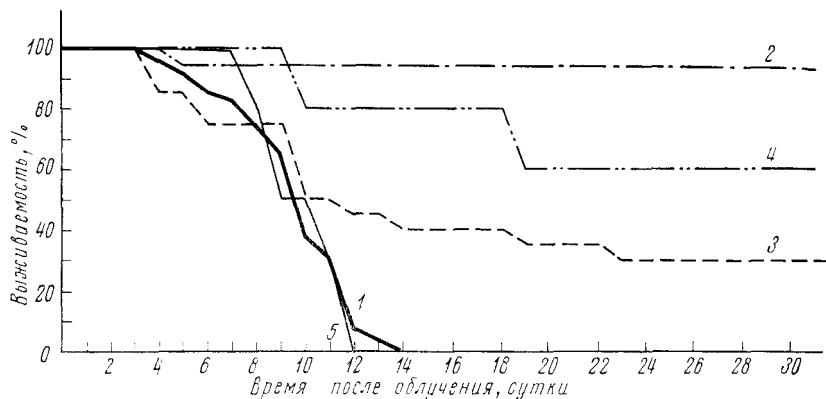


Рис. 1. Выживаемость мышей, облученных в дозе 720 р при экранировании одной или 4 конечностей, подвергнутых за 3 часа до этого местному облучению в дозе 2000 р. Тотальное облучение (1); экранирование 4 (2) и 1 (3) предварительно облученных конечностей, интервал между облучениями 3 часа; экранирование 4 (4) и 1 (5) предварительно облученных конечностей, интервал между облучениями 1 час

Уменьшение интервала времени до 1 часа в случае облучения 4 конечностей привело к уменьшению выживаемости до 60% (кривая 4), выжило животных меньше, чем при экранировании 4 конечностей с 3-часовым интервалом, но больше, чем при экранировании 1 конечности, облученной с тем же интервалом времени. При интервале в 1 час и экранировании 1 конечности ни одна из 6 мышей не выжила (кривая 5).

Полученным данным с выживанием облученных мышей соответствуют результаты наблюдений за изменением веса селезенки и колониеобразованием в ней, показанные в табл. 1.

Как видно из таблицы, максимальное восстановление веса селезенки происходило в тех опытах, где у мышей облучали и экранировали при втором облучении 4 конечности. При экранировании 1 облученной конечности восстановление веса селезенки происходило медленнее, чем при облучении и экранировании 4 конечностей, и к месячному сроку не достигало нормы.

В той же таблице представлено количество селезеночных колоний, образовавшихся к 9-м суткам после облучения у мышей в разных опытах. Приведенные данные позволяют утверждать, что величина участка экранированного репопулировавшегося костного мозга играет существенную роль в образовании колоний. Чем больше область экранирования при втором облучении, тем больше регистрируется эндогенных колоний в селезенке мышей.

Наблюдения за восстановлением клеточности костного мозга в области тела, подвергшейся воздействию радиации при втором облучении, были проведены только в опытах с облучением и экранированием одной тазовой конечности. Репопуляция, наблюдающаяся в этом случае (табл. 1), в общем соответствует изменению веса селезенки и результатам опытов с колониеобразованием в ней.

Таблица 1

Репопуляция кроветворных органов у мышей, облученных в дозе 720 р при экранировании 1 или 4 конечностей, подвергнутых за 3 часа до этого облучению в дозе 2000 р

Условия облучения	Время после облучения, сутки	Показатели восстановления		
		вес селезенки, мг	число эндокolonий	число миелокарионитов в голени, $\times 10^6$
Контроль	—	220,6 $\pm$ 13,2 $n^*=12$	—	17,5 $\pm$ 0,72 $n=20$
Общее облучение	3	44,0 $\pm$ 3,15 $n=5$	—	3,6 $\pm$ 0,41 $n=5$
Общее облучение	8—9	44,1 $\pm$ 2,5 $n=19$	1,8 $\pm$ 0,78 $n=19$	5,0 $\pm$ 0,5 $n=11$
Экранирование 1 предварительно облученной конечности		47,0 $\pm$ 3,97 $n=5$	7,0 $\pm$ 1,5 $n=11$	5,3 $\pm$ 0,47 ** $n=5$
Экранирование 4 предварительно облученных конечностей		45,2 $\pm$ 9,0 $n=5$	17,4 $\pm$ 3,2 $n=10$	—
Экранирование 1 предварительно облученной конечности	10	47,5 $\pm$ 4,16 $n=6$	—	5,4 $\pm$ 0,37 ** $n=6$
Экранирование 4 предварительно облученных конечностей		72,2 $\pm$ 14,2 $n=5$	—	—
Экранирование 1 предварительно облученной конечности	14	122,1 $\pm$ 40,39 $n=7$	—	5,6 $\pm$ 0,65 ** $n=7$
Экранирование 4 предварительно облученных конечностей		235,4 $\pm$ 24,21 $n=7$	—	—
Экранирование 1 предварительно облученной конечности	30	167,4 $\pm$ 23,8 $n=5$	—	11,0 $\pm$ 1,05 ** $n=5$
Экранирование 4 предварительно облученных конечностей		205,8 $\pm$ 33,0 $n=7$	—	—

* n — число животных.

** Подсчет в контралатеральной предварительно не облучавшейся голени.

Полученные данные по образованию колоний в селезенке, восстановлению ее веса и клеточности облученного костного мозга свидетельствуют о репопуляции гемопоэтической ткани в случае экранирования первоначально облученных 1 или 4 конечностей с интервалом времени между облучениями в 3 часа. Они соответствуют и выживаемости животных. По-видимому, репопуляция происходит и при промежутке между облучениями, равном 1 часу, в опытах с облучением и последующим экранированием 4 конечностей, о чем свидетельствует выживаемость животных.

Приведенный материал позволяет признать, что репопуляция в условиях наших опытов произошла за счет вторичной миграции стволовых клеток, ранее мигрировавших из необлученного костного мозга и развившихся в облученном в дозе 2000 р костном мозге конечностей. Результаты опытов позволяют дать некоторую количественную характеристику процессов реиммиграции стволовых клеток и их приживления. Полученные данные свидетельствуют о значении объема экранированного восстанавливающегося костного мозга и, таким образом, числа мигрирующих клеток в репопуляции. Выяснение значения промежутка времени между первым и вторым облучениями — 1-часового и 3-часового — показало, что в течение этих сроков у мышей может происходить весьма существенное, в отношении дальнейшей судьбы облученных животных, перераспределение стволовых клеток, более значительные при 3-часовом интервале времени.

Мы нашли в литературе лишь одно указание на расселение стволовых клеток из репопулирующегося облученного костного мозга ⁽¹⁵⁾. Однако в этом случае миграцию можно было констатировать только тогда, когда расселение по условиям опыта могло происходить в течение 2 и более су-

ток. Кроме того, не было сведений о значении величины репопулирующего костного мозга.

В наших опытах мы констатировали репопуляцию кроветворных органов при интервале времени между облучениями 1—3 часа. Большое значение имел также и объем репопулирующегося костного мозга — источника реиммиграции.

Сопоставление с литературными данными (⁴, ⁶) показывает, что эффективность экранирования нормального костного мозга более выражена, чем эффективность репарирующегося экранирования. Возможно, что это объясняется неполным восстановлением клеточности костного мозга в наших опытах.

Полученные данные еще раз свидетельствуют о большой подвижности стволовых клеток костного мозга, обеспечивающей сохранение определенного потенциала кроветворения во всей массе костного мозга и, возможно, нивелировку его в качественном отношении. Практически существенна, по-видимому, возможность восстановления процессов кроветворения, нарушенных местным воздействием. Это должно учитываться, в частности, при разных формах многопольного облучения, затрагивающего кроветворные органы.

Центральный научно-исследовательский
рентгено-радиологический институт
Ленинград

Поступило
28 III 1975

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Л. Джекобсон, Э. Маркс, Э. Гастон, В кн.: Вопросы радиобиологии, М., 1956, стр. 198. ² W. H. Barnes, C. E. Ford et al., Proc. Second. Intern. Conf., Geneva, v. 23, 10 (1958). ³ J. E. Till, E. A. McCulloch, Radiation Res., v. 18, 56 (1963). ⁴ Р. В. Петров, Р. М. Хаитов, Радиобиология, т. 12, № 1, 69 (1972). ⁵ Г. С. Стрелин, Н. К. Шмидт, А. К. Рябуха, Радиобиология, т. 2, № 4, 561 (1962). ⁶ Н. Н. Сильченко, В кн.: Вопросы радиобиологии и клинической радиологии, Л., 1965, стр. 173. ⁷ Г. С. Стрелин, Радиобиология, т. 7, № 5, 751 (1967). ⁸ Н. Ф. Гронская, Бюлл. эксп. биол. и мед., т. 1, 27 (1967). ⁹ Г. С. Стрелин, В кн.: Биологические эффекты неравномерных лучевых воздействий, М., 1974, стр. 89. ¹⁰ В. Ф. Шуст, В кн.: Вопросы экспериментальной и клинической рентгенологии, Л., 1966, стр. 35. ¹¹ Г. С. Стрелин, Н. К. Шмидт и др., В кн.: Вопросы радиобиологии и рентгенологии, Л., т. 6, 1968, стр. 194. ¹² А. М. Русанов, Г. С. Новоселова и др. В кн.: Пентозный цикл и ионизирующая радиация, Л., 1968, стр. 152. ¹³ О. В. Клестова, ДАН, т. 184, № 2, 18 (1969). ¹⁴ Р. М. Хаитов, Н. К. Евсеева и др., Радиобиология, т. 12, 2, 210 (1972). ¹⁵ N. B. Kurrick, N. Nokay, Radiation Res., v. 25, 53 (1965).