Клиническая онкогематология. 2015;8(2):109–19
ОНКО клиническая ГЕМАТОЛОГИЯ

Clinical oncohematology. 2015;8(2):109–19
ONCO clinical HEMATOLOGY

ЛЕКЦИИ

LECTURES

Нормальное кроветворение и его регуляция

Е.Б. Владимирская

РЕФЕРАТ

Клеточная продукция нормального кроветворения очень высока. В основе поддержания постоянства количественного и качественного состава в каждом клеточном звене системы крови лежит соблюдение основного закона кинетики кроветворения: в единицу времени рождается и умирает одно и то же количество клеток. Клеточное равновесие в системе крови обеспечивается тремя уровнями системной организации кроветворения: стволовые клетки, ростовые факторы и стромальное микроокружение. Стволовые кроветворные клетки обладают способностью одновременно дифференцироваться во все виды клеток крови и пролиферировать для сохранения постоянства своего количественного состава, поскольку в постнатальный период отсутствует пополнение этого пула извне. При сокращении общего числа стволовых клеток ниже критической величины в результате токсического воздействия, например ионизирующего излучения или химиотерапии, стволовые клетки прекращают дифференцировку, сохраняя только способность к самообновлению до достижения их начальной клеточной массы. Именно этим объясняется цитопения после облучения и химиотерапии, а также высокая эффективность пересадки стволовых клеток в такой ситуации. Гемопоэтические ростовые факторы — гликопротеиды, их продуцируют различные клетки крови и стромального микроокружения. Ростовые факторы необходимы для реализации любой клеточной программы, однако тип ее зависит только от самой клетки — экспрессии цитокиновых рецепторов, особенностей формирования и проведения цитокиновых сигналов и генетической детерминации клетки. Кроветворный костный мозг располагается на трабекулах губчатых костей, покрытых стромальной тканью, состоящей из клеток и продуцируемого ими межуточного вещества. Гемопоэтическая функция стромального микроокружения реализуется через специфическое «прилипание» стволовых клеток, продукцию ростовых факторов и молекул межклеточного взаимодействия. Стромальное микроокружение играет также ведущую роль в избирательном выходе клеток из костного мозга в периферическую кровь. Важным методом диагностической оценки кроветворения является морфологическое исследование мазков пунктата костного мозга. Для этой цели разработаны так называемые костномозговые индексы — соотношение различных типов гемопоэтических клеток: индекс лейко/эритро, индекс созревания нейтрофилов, индекс созревания красных клеток. Оценка этих индексов с учетом клеточности костного мозга, состава периферической крови и клинических данных необходима для экспертного анализа кроветворения и адекватного диагностического заключения.

Normal Hematopoiesis and Its Regulation

Elena B. Vladimirsky

ABSTRACT

Normal hematopoiesis results in production of a great number of cells. The constancy of the qualitative and quantitative composition of the cell component of the hematopoietic system is maintained by the basic hematopoietic law: equal numbers of cell births and deaths occur within each time unit. This balance is provided by three levels of the hematopoietic system: stem cells, growth factors and stromal microenvironment. Hematopoietic stem cells (HSCs) can differentiate into all types of blood cells and at the same time proliferate to preserve the constant number of their pool since no replenishment from external sources occurs during the post-natal period. When the total HSCs count is reduced below the critical level (e.g., by chemotherapy or radiation), they stop differentiating, however they retain the ability for self-renewing until the standard level is reached again. This is the main cause of cytopenia after chemotherapy and radiation; it also explains high efficacy of stem cells transplanting in such cases. Hematopoietic growth factors — glycoproteins — are produced by several blood and stromal cells. The growth factors are essential for realization of any cell program, but the type of the program depends solely on the cell itself: expression of cytokine receptors, features of formation and conduction of cytokine signals, and genetic determination of the cell. The hematopoietic bone marrow cells are situated on spongy bone trabeculae covered with stromal tissue, which consists of cells and the intermediate substance produced by the cells. The hematopoietic function of the stroma is realized through specific adhesion of HSCs and production of growth factors and molecules of cell interaction. Stromal microenvironment also plays a leading role in selective migration of cells from the bone marrow to the circulation system. Evaluation of bone marrow aspirate smear is a very important diagnostic technique for assessment of hematopoiesis. So-called bone marrow indices, i.e. ratios between several types of hematopoietic cells (the myeloid/erythroid index; the index of neutrophil maturation; the index of red cell maturation) have been developed for this purpose. Assessment of these indices together with the bone marrow cellularity, peripheral blood count, and clinical data is very important for expert evaluation of the hematopoiesis and for drawing a proper diagnostic conclusion.

© 2015 практическая медицина

Ключевые слова: кроветворные стволовые клетки, регуляция кроветворения, гемопоэтические ростовые факторы, стромальное микроокружение, костномозговые индексы.

Keywords: hematopoietic stem cells, regulation of hematopoiesis, hematopoietic growth factors, stromal microenvironment, bone marrow indices.

Получено: 13 октября 2014 г.
Принято в печать: 27 января 2015 г.

Received: October 13, 2014
Accepted: January 27, 2015

Для переписки: Елена Борисовна Владимирская, д-р мед. наук, профессор, заслуженный деятель науки Российской Федерации, Itamar Ben Avi str., 22/1, Jerusalem, Israel, 92348;
тел.: +972(0)2 650-96-82; e-mail: regblood3@yandex.ru

Для цитирования: Владимирская Е.Б. Нормальное кроветворение и его регуляция. Клиническая онкогематология. 2015;8(2):109–19.
DOI: 10.21320/2500-2139-2015-8-2-109-119

For correspondence: Elena B. Vladimirsky, DSci, Professor, Honored Scientist of Russian Federation; Itamar Ben Avi str., 22/1, Jerusalem, Israel, 92348; Tel.: +972(0)2 650-96-82; e-mail: regblood3@yandex.ru

For citation: Vladimirsky EB. Normal Hematopoiesis and Its Regulation. Clinical oncohematology. 2015;8(2):109–19 (In Russ).

DOI: 10.21320/2500-2139-2015-8-2-109-119

Клетки крови представляют собой сложную систему, состоящую из нескольких звеньев:

- рождение и созревание клеток крови в костном мозге;
- пребывание и функционирование в кровеносном русле;
- пребывание и функционирование в тканях.

Основной задачей кроветворения является поддержание постоянства количественного и качественного состава отдельных звеньев системы крови.

В рамках данной публикации не ставилась задача освещения всех деталей кроветворения, фокус нашего внимания будет направлен на механизмы его регуляции.

Клеточная продукция нормального кроветворения велика. Многочисленные расчеты показывают: у мужчины с массой тела 70 кг в сутки образуется 1×10^{11} лейкоцитов и 2×10^{11} эритроцитов, что составляет клеточную массу соответственно 100 и 200 г (в сумме 300 г). Таким образом, в организме взрослого мужчины в месяц образуется 9 кг клеток крови, в год — около 100 кг, а за 70 лет жизни — порядка 7 т клеток. Ни одна клеточная система и ни одна злокачественная опухоль в организме человека не работают с такой продуктивностью. В основе поддержания постоянства количественного и качественного состава каждого клеточного звена системы крови в условиях постоянно меняющихся потребностей организма в клетках крови лежит соблюдение **основного закона кинетики кроветворения: «В единицу времени рождается и умирает одно и то же количество клеток».** Соблюдение этого закона обеспечивается сложными механизмами регуляции кроветворения. Болезни крови можно рассматривать как нарушение закона клеточного равновесия.

Строгую поэтапную организацию кроветворения хорошо отражает схема, представленная на рис. 1 (см. на стр. 112). Принципы ее построения следующие: в каждом вертикальном ряду находятся клетки одного вида, последовательных стадий созревания; в каждом горизонтальном ряду — клетки разных видов, одной стадии зрелости; в верхних отделах — молодые клетки, в нижних — зрелые. В двух нижних горизонтальных рядах представлены зрелые клетки, совместно пребывающие в циркуляции. Особенностью современной схемы кроветворения является признание существования двух видов дендритных клеток (отростчатые клетки, обеспечивающие презентацию антигена для формирования иммунного ответа) лимфоидного и миелоидного (моноцитарного) происхождения. Источником свободных и фиксированных макрофагов тканей (например, клеток Лангерганса кожи, купферовских клеток печени, клеток микроглии головного мозга) являются производные моноцитов, мигрировавших в ткани, а следовательно, происходят они из костного мозга [1, 2].

Системную организацию кроветворения, обеспечивающую постоянство количественного и качественного состава каждого из ее звеньев, можно разделить на три уровня:

1) стволовые клетки;
2) ростовые факторы;
3) стромальное микроокружение.

СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ

Предположение о существовании в кроветворении общей клетки-предшественницы было впервые высказано замечательным русским ученым профессором Александром Максимовым еще в начале 20-го столетия. Однако экспериментальное подтверждение существования такой клетки было получено только в 1961 г. в опытах известных канадских исследователей J. Till и E. McCulloch. Схема эксперимента представлена на рис. 2.

Суть его заключалась в следующем. Исследователи, перелив в хвостовую вену облученной мыши смесь костномозговых клеток от мышей одного помета (сингенный костный мозг), обнаружили через 7 дней образование бугорков в селезенке, каждый из которых представлял собою колонию, состоящую из всех клеток кроветворного дерева. При этом все клетки каждой колонии имели идентичный генетический маркер, что служило бесспорным свидетельством происхождения их из одной клоногенной клетки. Это и стало первым объективным доказательством существования общей гемопоэтической клетки-предшественницы. Далее было показано, что клетки одной колонии, будучи перелитыми следующему облученному реципиенту, могут воспроизвести тот же феномен селезеночных колоний. Иными словами, была подтверждена способность родоначальной кроветворной клетки к одновременному самообновлению и дифференцировке. Эти клетки получили название стволовых. Термин «стволовые клетки» также принадлежит этим авторам. Они представляли кроветворение как дерево, где листья — дифференцированные клетки, ветки — ветви

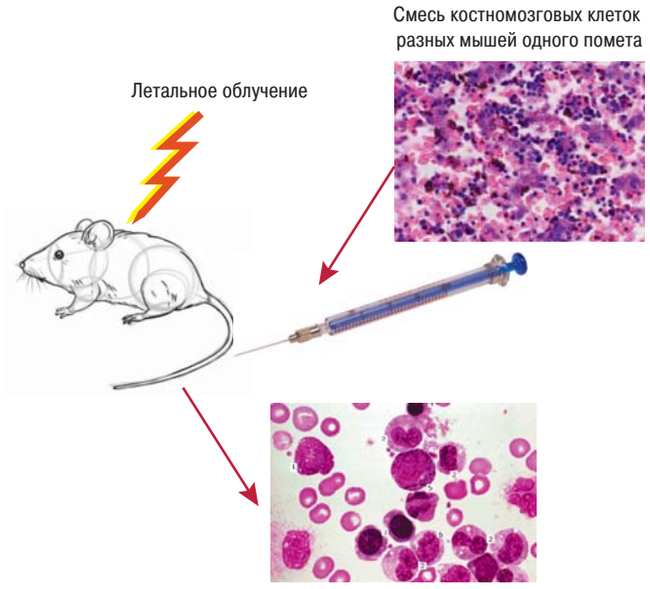

Рис. 2. Схема эксперимента J.E. Till и E.A. McCulloch (1961)

Fig. 2. Design of J.E. Till's and E.A. McCulloch's experiment (1961)

кроветворения, а ствол — источник образования всех элементов кроны дерева (рис. 3).

Открытие канадских ученых было важнейшим событием для современной науки, став основой большинства фундаментальных и прикладных исследований в различных областях биологии и медицины. Однако признание пришло к этим замечательным исследователям только более 40 лет спустя, в 2005 г., когда они получили престижную премию Альберта Ласкера, присуждаемую за фундаментальные медицинские исследования. Их фотопортреты в момент вручения этой награды представлены на рис. 4.

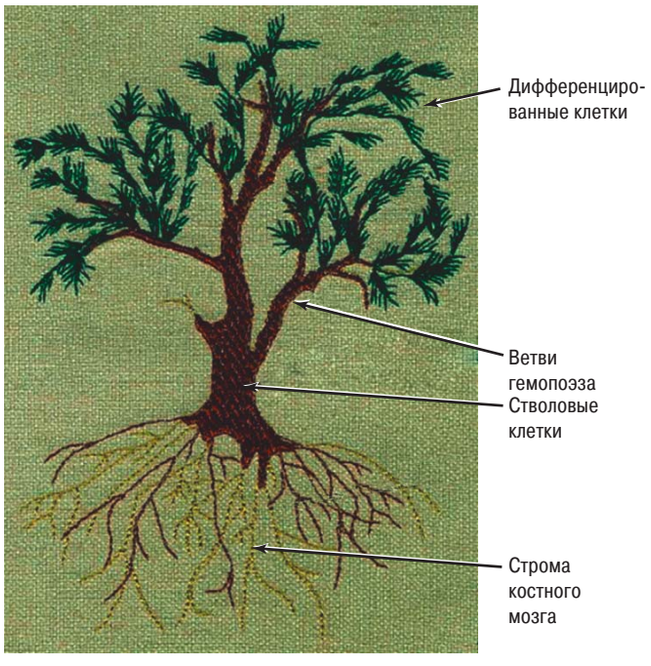

Рис. 3. Древо гемопоэза

Fig. 3. Hematopoietic tree

James Till
University of Toronto
Ontario Cancer Institute

Ernest McCulloch
University of Toronto
Ontario Cancer Institute

Рис. 4. J. Till и E. McCulloch во время вручения премии Ласкера

Fig. 4. J. Till and E. McCulloch at the Lasker Award ceremony

В обеспечении стабильности кроветворения основную роль играют стволовые клетки [2]. Особенность этого клеточного пула заключается в том, что он единственный в кроветворении не имеет в постнатальный период поступления извне. Постоянство его количественного состава (у человека около 0,01 % ядросодержащих клеток костного мозга) обеспечивается функцией самих стволовых клеток — одновременной способностью как к самообновлению, так и к дифференцировке (изображено схематически на рис. 5). Обычно более 90 % стволовых клеток находятся в покоящемся состоянии (G_0-фаза). Количественная стабильность пула поддерживается тем, что в каждый момент выход клеток в дифференцировку (покидают пул) вызывает вхождение в митотический цикл равного количества клеток (каждое деление увеличивает пул на 1 клетку). При сокращении пула ниже критической величины в результате токсического воздействия, например ионизирующего излучения или химиотерапии, стволовые клетки перестают дифференцироваться, сохраняя только способность к самообновлению до достижения начальной величины их клеточной массы. Именно этим объясняется цитопения после лучевой и химиотерапии, а также высокая эффективность пересадки гемопоэтических стволовых клеток в такой ситуации.

РОСТОВЫЕ ФАКТОРЫ

Все этапы кроветворения и функциональной активности клеток крови находятся под контролем гемопоэтических ростовых факторов [1]. Эти факторы объединены следующими общими свойствами:

Рис. 5. Функциональная активность гемопоэтических стволовых клеток (ГСК)

Fig. 5. Functional activity of hematopietic stem cells (ГСК)

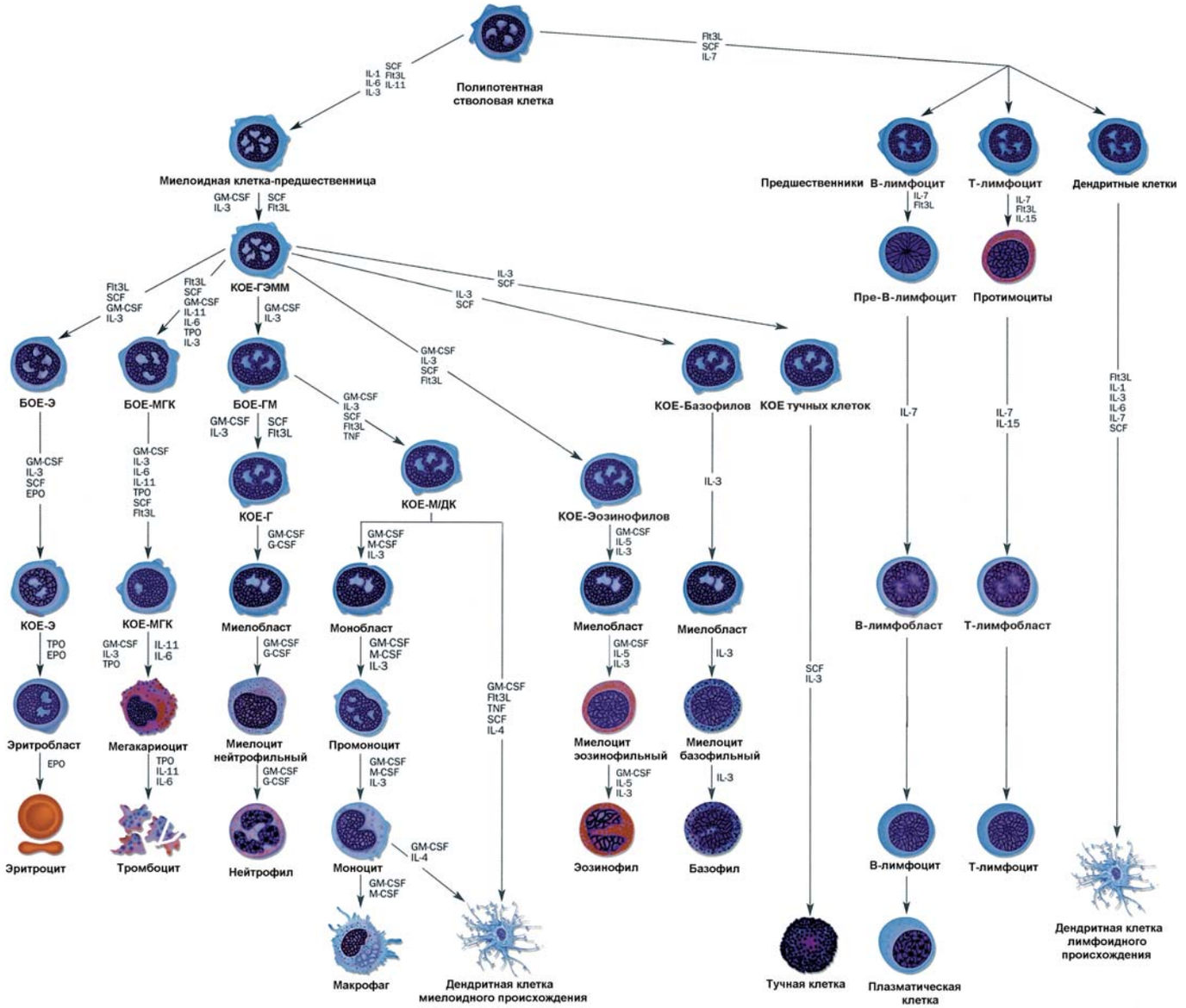

Рис. 1. Схема кроветворения

EPO — эритропоэтин; Flt3L — лиганд FMS-подобной тирозинкиназы 3; GM-CSF — гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор; IL — интерлейкин; SCF — фактор стволовых клеток; TNF — фактор некроза опухолей; TPO — тромбопоэтин; БОЕ — бурстобразующая единица; ГМ — грануломоноцитопоэз; ГЭММ — грануло-эритро-миело-монопоэз; КОЕ — колониеобразующая единица; МГК — мегакариоцитопоэз; М/ДК — миелоидная дендритная клетка; Э — эритропоэз.

Fig. 1. Scheme of hematopoiesis

EPO — erythropoietin; Flt3L — FMS-like tyrosine kinase 3 ligand; GM-CSF — granulocyte-macrophage colony stimulating factor; IL — interleukin; SCF — stem cell factor; TNF — tumor necrosis factor; TPO — thrombopoietin; БОЕ — burst forming unit; ГМ — granulomonocytopoiesis; ГЭММ — granulo-erythro-myelo-monopoiesis; КОЕ — colony forming unit; МГК — megakaryocytopoiesis; М/ДК — myeloid dendritic cell; Э — erythropoiesis.

- они являются гликопротеидами;
- активны *in vivo* и *ex vivo*;
- продуцируются различными клетками;
- имеют специфические функции и в то же время действуют на общие мишени;
- обнаруживают синергизм и аддитивный эффект по отношению к другим ростовым факторам;
- реализуют биологическое действие через связывание со специфическими рецепторами.

Все активно действующие факторы, производимые клетками, включая и ростовые, получили название цитокинов. Термин «лимфокины» сохранился за цитокинами лимфоидного происхождения, «монокины» — за производными моноцитов.

Для унификации обозначения факторов, имеющих часто много названий в соответствии с разнообразными функциями в разных биологических системах, с 1979 г. используется термин «интерлейкин» (IL), отражающий взаимодействие между лейкоцитами. Так, IL-1 описывался ранее как лимфоцит-активирующий фактор (LAF), митогенный протеин (MP), Т-замещающий фактор III (TRF-III), фактор В-клеточной активации (BAF) и фактор, дифференцирующий В-лимфоциты (BDF). IL-2 известен также как ростовой фактор Т-лимфоцитов (TCGF) и одновременно как тимоцитарный митогенный фактор (TMF).

Первая классификация интерлейкинов была предложена Международным союзом иммунологических обществ (МСИО) в 1992 г., в нее вошло 10 интерлейкинов и некоторое число цитокинов, сохранивших прежние названия, связанные с их основной активностью. В последующие годы произошло значительное расширение этого списка, и в настоящее время их насчитывается более 100.

В табл. 1 представлены основные цитокины, регулирующие кроветворение и иммуногенез, указаны клеточные мишени их действия. Следует, однако, помнить, что свойства их вариабельны, т. к. стимуляция клетки одним цитокином вызывает в ней каскадную активацию рецепторов к другим, в обычном состоянии не экспрессированным на клетке.

Происхождение и функция цитокинов

Достижения молекулярной биологии и генетики последнего десятилетия позволили получить практически все цитокины рекомбинантным путем, выявить их структуру и генетическое происхождение.

Однако в отношении функциональной активности цитокинов многое остается неясным. Как видно на рис. 6 и в табл. 1, одни и те же цитокины необходимы для пролиферации, дифференцировки и функциональной активности клеток крови и иммунной системы разных уровней созревания и направлений дифференцировки. В то же время для полноценной жизнедеятельности каждой клеточной генерации необходимо сочетанное воздействие различных цитокинов.

Цитокины, регулирующие кроветворение, принято делить на следующие группы.

Ранние: лиганд SCF/kit, лиганд flt-3, основной фактор роста фибробластов (bFGF), IL-6, IL-11, LIF. Действуют на стволовые клетки и ранние предшественники независимо от их линейной принадлежности, потенцируют действие других факторов роста. Исключение составляет IL-6, который оказывает воздействие и на различные зрелые гемопоэтические клетки.

Таблица 1. Гемопоэтические ростовые факторы и их мишени

Цитокины	Мишени действия
SCF	Стволовые клетки, ранние предшественники
EPO	Поздние эритроидные и мегакариоцитарные предшественники
TPO	Стволовые клетки, мегакариоцитарные предшественники, тромбоциты
M-CSF	Поздние предшественники и зрелые моноциты/макрофаги
G-CSF	Делящиеся миелоидные клетки и зрелые нейтрофилы
GM-CSF	Ранние предшественники, гранулоцитарно-макрофагальные предшественники, зрелые нейтрофилы, моноциты, эозинофилы
IL-1 (α, β)	Ранние клетки-предшественницы, Т-лимфоциты
IL-2	В- и Т-предшественники, зрелые Т-лимфоциты
IL-3	Все миелоидные предшественники и ранние лимфоидные, зрелые моноциты, макрофаги, мегакариоциты и базофилы
IL-4	Ранние миелоидные и лимфоидные предшественники, предшественники Т-лимфоцитов, базофилы
IL-5	Лимфоидные предшественники, зрелые Т-лимфоциты, эозинофилы
IL-6	Стволовые клетки, предшественники лимфоцитов, Т- и В-лимфоциты
IL-7	Пре-В-лимфоциты, предшественники и зрелые Т-лимфоциты, предшественники мегакариоцитов
IL-8	Зрелые Т-лимфоциты, хемотаксический фактор зрелых нейтрофилов
IL-9	Эритроидные, мегакариоцитарные и Т-клеточные предшественники
IL-10	Макрофаги, тучные клетки, NK-клетки
IL-11	Ранние предшественники, мегакариоциты, тучные клетки
IL-12	Цитотоксические лимфоциты, NK-клетки
IL-13	В-лимфоциты, моноциты, NK-клетки
IL-14	Гемопоэтические стволовые клетки
IL-15	Т- и В-лимфоциты, NK-клетки
IL-16	Т-лимфоциты, активация и хемотаксис
IFN-α, -β	Противовирусная активность, тормозит клеточную пролиферацию
IFN-γ	Противовирусная активность, стимулирует макрофаги, усиливает созревание и активность В-лимфоцитов
TNF	Стимулирует воспалительный процесс, выброс других цитокинов
TGF	Тормозит пролиферацию стволовых клеток и клеток-предшественниц

EPO — эритропоэтин; G-CSF — гранулоцитарный колониестимулирующий фактор; GM-CSF — гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор; IFN — интерферон; IL — интерлейкин; M-CSF — макрофагальный колониестимулирующий фактор; NK — естественные киллеры; SCF — фактор стволовых клеток; TGF — трансформирующий фактор роста; TNF — фактор некроза опухоли; TPO — тромбопоэтин.

Многолинейные: IL-3, GM-CSF. Преимущественно стимулируют пролиферацию и дифференцировку ранних предшественников с образованием смешанных колоний (КОЕ-ГЭММ), гранулоцитарно-макрофагальных колоний (КОЕ-ГМ), эритроидных (БОЕ-Э) и мегакариоцитарных бурстобразующих единиц (БОЕ-МГК). Поддерживают также пролиферацию и дифференцировку КОЕ-ГМ, КОЕ-Г, КОЕ-М и их потомков до окончательного созревания.

Поздние однолинейные: EPO, G-CSF, M-CSF, IL-5, TPO. Стимулируют дифференцировку однолинейных предшественников. Действуют синергически с многолинейными цитокинами на ранние предшественники, стимулируют функцию зрелых клеток. В последние годы,

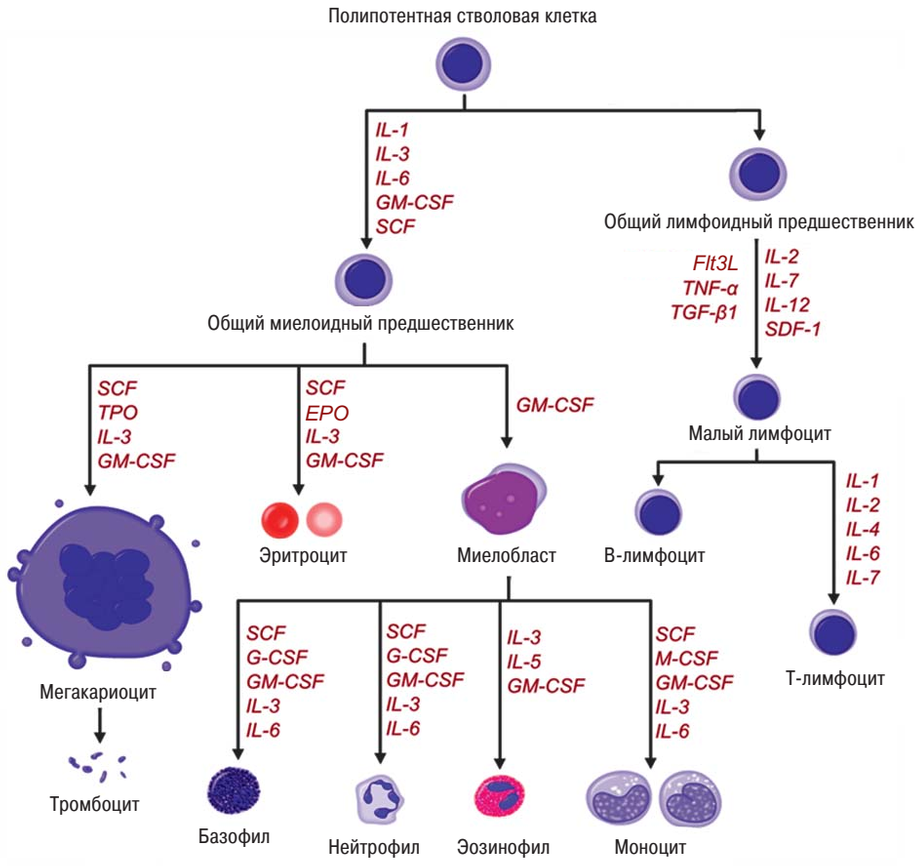

Рис. 6. Гемопоэтические ростовые факторы в регуляции кроветворения
EPO — эритропоэтин; Flt3L — лиганд FMS-подобной тирозинкиназы 3; GM-CSF — гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор; IL — интерлейкин; SCF — фактор стволовых клеток; SDF-1 — фактор 1, выделенный из стромальных клеток; TGF — трансформирующий фактор роста; TNF — фактор некроза опухолей; TPO — тромбопоэтин.

Fig. 6. Hematopoietic growth factors in regulation of hematopoiesis
EPO — erythropoietin; Flt3L — FMS-like tyrosine kinase 3 ligand; GM-CSF — granulocyte-macrophage colony stimulating factor; IL — interleukin; SCF — stem cell factor; SDF-1 — stromal cell-derived factor-1; TGF — transforming growth factor; TNF — tumor necrosis factor; TPO — thrombopoietin.

однако, получены данные о присутствии рецепторов TPO (тромбопоэтина) и на полипотентных стволовых кроветворных клетках.

Ингибиторы пролиферации предшественников: TGF-β (трансформирующий фактор роста) обратимо блокирует ранние предшественники вне митотического цикла; интерфероны (IFN-α, -β, -γ) — потенциальные ингибиторы пролиферации гемопоэтических предшественников; MIP-1a тормозит пролиферацию ранних предшественников.

Однако такая стратификация цитокинов сама по себе не объясняет особенности их синергического, аддитивного и плейотропного действия.

Чем глубже изучается тот или иной цитокин, тем труднее уложить его в прокрустово ложе (четко отграниченные рамки) какой-либо одной классификации. В качестве примера можно привести IL-1. Будучи в основном провоспалительным цитокином и медиатором лихорадки, IL-1 проявляет и другие виды биологической активности: является кофактором активации Т- и В-лимфоцитов; служит промотором гемопоэза и в то же время дегенерации хрящевой и деструкции костной тканей; активирует функцию нейтрофилов и эндотелиальных клеток сосудов, пролиферацию фибробластов; индуцирует высвобождение белков острой фазы, протеолиз мышечных клеток. И это еще далеко не полный перечень функций только этого цитокина.

Клетки воспринимают цитокиновые сигналы через специфические рецепторы. В структуре и функции этих рецепторов, а также в особенностях внутриклеточной передачи цитокиновых сигналов и следует искать объяснения особенностей и механизма действия цитокинов.

Многочисленные исследования последних лет показывают, что ростовые факторы необходимы для жизнедеятельности всех клеток крови. Эти внешние воздействия связывают клетки с микроокружением и поддерживают в активном состоянии внутриклеточные механизмы, обеспечивающие различные виды их активности [3]. При этом характер ответа на ростовый фактор зависит от самих клеток: экспрессии цитокиновых рецепторов, особенностей формирования и проведения цитокиновых сигналов и генетических возможностей клетки. Чем больше рецепторов разных видов имеет кроветворная клетка, тем шире у нее спектр жизненно важных программ, возможных для осуществления. Можно предположить, что именно поэтому у стволовых кроветворных клеток и ранних клеток-предшественниц обнаруживается высокая плотность рецепторов всех классов цитокинов.

Действие цитокинов служит лишь необходимым стимулом для реализации тех программ в клетках, которые генетически предопределены программой дифференцировки и стадией созревания [4–6]. Это было изящно продемонстрировано в опытах по имплантации

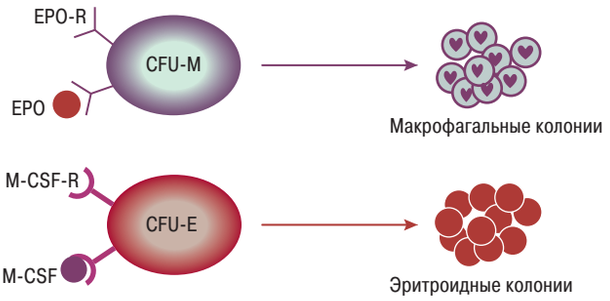

Рис. 7. Роль цитокинов в реализации клеточных программ (G.A. McArthur et al., 1994, 1995)
CFU-E — колониеобразующие единицы эритроидных клеток; CFU-M — колониеобразующие единицы макрофагов; EPO — эритропоэтин; EPO-R — рецептор эритропоэтина; M-CSF — макрофагальный колониестимулирующий фактор; M-CSF-R — рецептор M-CSF.

Fig. 7. Role of cytokines in realization of cell programs (G.A. McArthur et al., 1994, 1995)
CFU-E — colony forming unit-erythroid cells; CFU-M — colony forming unit-macrophage; EPO — erythropoietin; EPO-R — erythropoietin receptor; M-CSF — macrophage colony stimulating factor; M-CSF-R — receptor of M-CSF.

«чужеродных» рецепторов в клетки-предшественницы гемопоэза (G.A. McArthur et al., 1994, 1995). Как показано на рис. 7, при имплантации рецептора эритропоэтина в макрофагальные предшественники, а рецептора M-CSF — в эритроидные предшественники эритропоэтин стимулирует развитие макрофагальных колоний, а M-CSF — эритроидных.

В настоящее время хорошо известно о ведущей роли цитокинов в опухолевой трансформации. Как показано на рис. 8, многие опухолевые клетки продуцируют ростовые факторы и одновременно экспрессируют на своей поверхности рецепторы к этим факторам, что приводит к аутокринной стимуляции их роста. В то же время опухолевые клетки могут стимулировать секрецию необходимых им ростовых факторов другими клетками (например, клетками стромы) — паракринная стимуляция [1, 3].

Достижения последних двух десятилетий — расшифровка структуры и функции цитокиновых рецепторов, процессов проведения и реализации цитокиновых сигналов — раскрыли механизмы участия цитокинов в программах, жизненно важных для клетки, в т. ч. и в процессах опухолевой трансформации. Ростовые факторы, их рецепторы, молекулы, передающие цитокиновые сигналы, и воспринимающие их гены могут быть перспективными мишенями для противоопухолевой терапии, вызывая апоптоз избирательно в опухолевых клетках, используя специфические особенности проведения в них цитокиновых сигналов — так называемая «точечная» терапия. Первым успешным препаратом этого направления противоопухолевой терапии в онкогематологии стал иманитиб (Гливек), широко применяемый при хроническом миелолейкозе. Основа его действия — блокирование распространения пролиферативного сигнала, исходящего от химерного гена *BCR-ABL*, продукт которого — белок p210, обладает «извращенной» тирозинкиназной активностью и приводит к наработке опухолевого клона с нерегулируемой клеточной пролиферацией. Разработка новых препаратов этого направления интенсивно ведется многими научными коллективами.

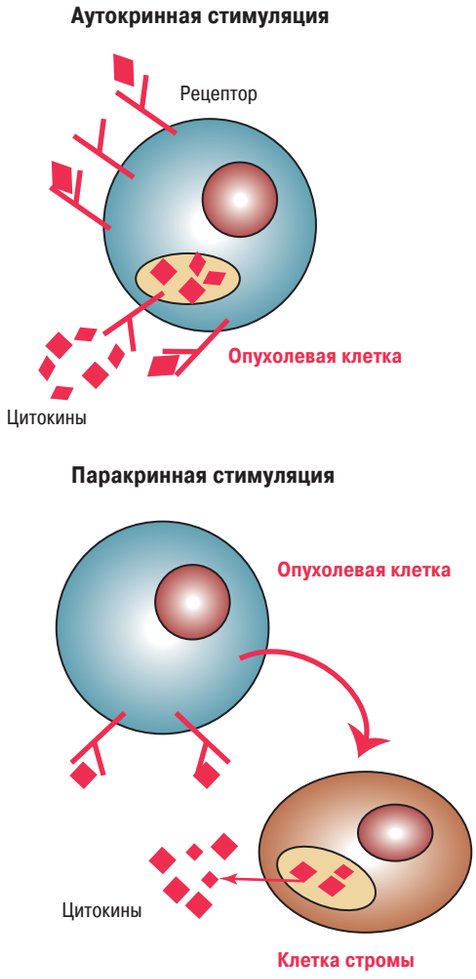

Рис. 8. Аутокринная и паракринная стимуляция опухолевого роста

Fig. 8. Autocrine and paracrine tumor growth stimulation

СТРОМАЛЬНОЕ МИКРООКРУЖЕНИЕ

Начиная с 20-й недели гестации и до конца жизни единственным органом кроветворения у человека является костный мозг. Кроветворный костный мозг располагается в губчатых (плоских) костях скелета и в эпифизах трубчатых костей. Кроветворный, или красный, костный мозг отличается обильной васкуляризацией; его сосудистая сеть образуется из двух источников: центральной питающей артерии кости и множественных периостальных и мышечных артерий, пронизывающих наружную пластинку кости. Концевые капилляры этих двух сосудистых систем, соединяясь, образуют костномозговые синусы (рис. 9). Кроветворение происходит на костномозговых балках вне сосудистых синусов. Для проникновения в кровоток созревшие клетки крови должны преодолеть естественную преграду — стенку костномозгового синуса, служащую барьером между кроветворным костным мозгом и циркуляцией. Механизм выхода клеток из костного мозга будет рассмотрен ниже.

Итак, единственным «домом» кроветворных клеток в организме человека является костный мозг. В том, что это так, убеждает весь опыт по пересадке костного мозга: основная масса введенных в вену ауто- или аллогенных стволовых клеток в условиях приживления осаждается и дает клоны кроветворных клеток в костном мозге.

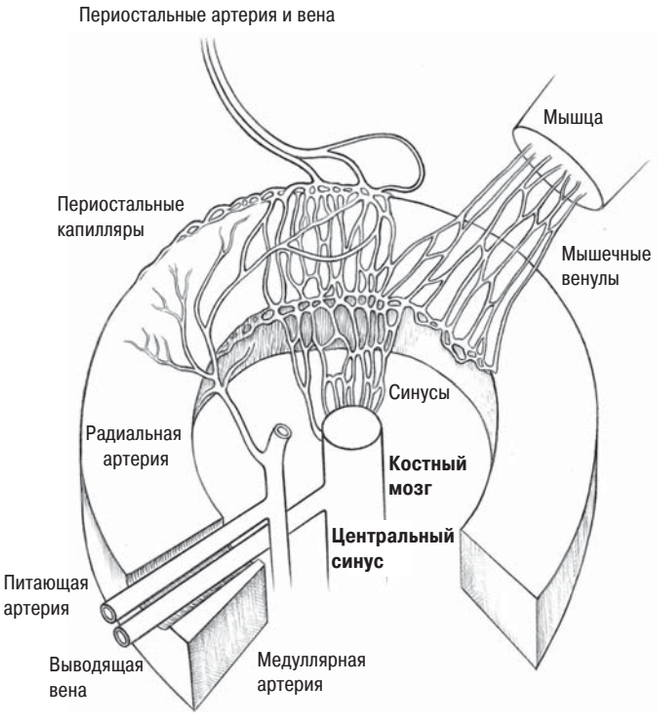

Рис. 9. Кровоснабжение кроветворного костного мозга

Fig. 9. Blood supply of red bone marrow

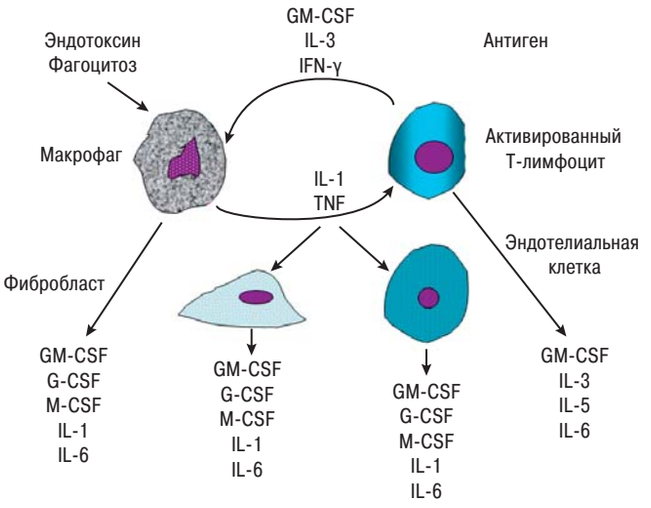

Рис. 11. Продукция ростовых факторов клетками стромы костного мозга
G-CSF — гранулоцитарный колониестимулирующий фактор; IL — интерлейкин; IFN-γ — интерферон-γ; M-CSF — макрофагальный колониестимулирующий фактор; TNF — фактор некроза опухолей.

Fig. 11. Growth factor production by bone marrow stroma cells
G-CSF — granulocyte colony stimulating factor; IL — interleukin; IFN-γ — interferon gamma; M-CSF — macrophage colony stimulating factor; TNF — tumor necrosis factor.

Этот «эффект дома» обеспечивается так называемым **стромальным микроокружением** кроветворного костного мозга. В морфологическом плане стромой костного мозга является выстилка костномозговых балок, на которой и располагаются островки кроветворных клеток. Строма состоит из клеток (фибробласты, жировые клетки, макрофаги и эндотелиальные клетки) и экстрацеллюлярного матрикса — продуктов экскреции клеток стромы (фибронектин, коллаген, тромбоспондин, витронектин, ламинин и гликозамингликаны). Схематично состав стромального микроокружения представлен на рис. 10.

Экстрацеллюлярный матрикс обеспечивает специфическое «прилипание» стволовых кроветворных клеток, являясь средой их обитания [3]. Стромальные клетки выделяют большое количество специфических регулирующих факторов, включая ростовые факторы, без которых невозможны пролиферация стволовых клеток, дальнейшая пролиферация, дифференцировка и функционирование их потомков. Продукция ростовых факторов клетками стромы и их взаимодействие в этом процессе схематично представлены на рис. 11.

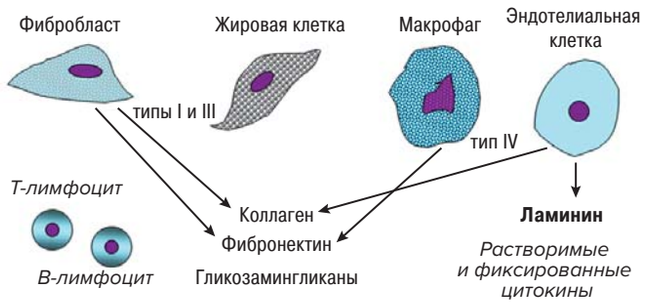

Рис. 10. Состав стромального микроокружения

Fig. 10. Composition of stromal microenvironment

Индуктивная функция стромального микроокружения обеспечивается, по мнению одних авторов, клеточной кооперацией составляющих его элементов; по мнению других исследователей, ведущая роль в этом принадлежит фибробластам. Несмотря на различие в существующих точках зрения, очевидно, что для поддержания кроветворения как в эксперименте, так и у человека необходимо полноценное стромальное микроокружение. Длительное кроветворение в культуре возможно только на предварительно сформированной подложке, состоящей из перечисленных выше элементов стромального микроокружения. Нужно отметить, что опухолевые клетки лишены этого «чувства дома», для их приживления не требуется специфического стромального микроокружения, что и лежит в основе способности опухолевых клеток к метастазированию.

Выход клеток из костного мозга в циркуляцию

В нормальных условиях из костного мозга в циркуляцию выходят только абсолютно зрелые клетки, готовые к выполнению присущих им функций. Механизм избирательного выхода клеток из костного мозга сложен и до конца не расшифрован.

Как отмечалось выше, кроветворение происходит вне костномозговых синусов, и, чтобы проникнуть внутрь них, т. е. выйти в циркуляцию, клетки крови должны преодолеть барьер в виде стенки костномозговых синусов. Морфологическая структура этой преграды схематично представлена на рис. 12. Стенка костномозгового синуса состоит их трех слоев: с внутренней стороны синуса — эндотелиальные клетки, прочно соединенные друг с другом; затем идет базальная мембрана, состоящая из экстрацеллюлярного стромального матрикса (ламинин, коллаген и др.) и покрывающая эндотелиальные клетки несплошным слоем; поверх мембраны — большие адвентициальные клетки

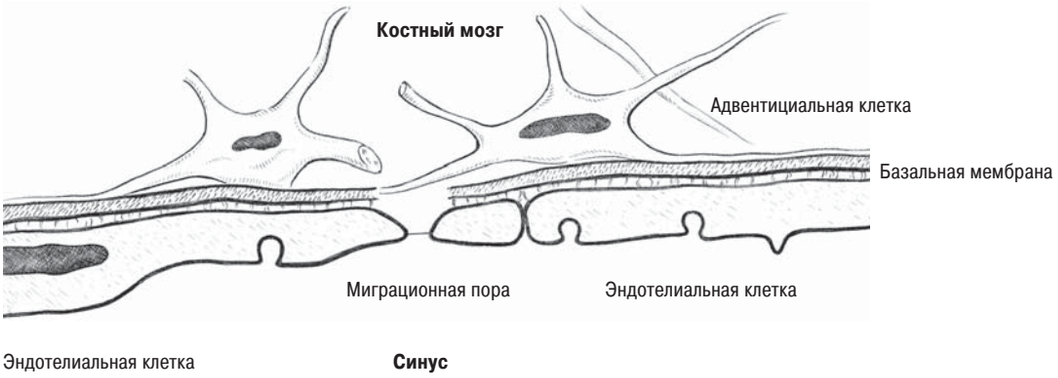

Рис. 12. Структура стенки костномозгового синуса

Fig. 12. Structure of bone marrow sinus wall

(фибробласты), в своих отростках содержащие подобие гладкомышечных волокон, способных к сокращению.

Созревшие клетки крови двигаются к стенке синуса, обходя адвентициальные клетки. Под действием некоторых цитокинов (например, IL-8) и эндотоксина отростки адвентициальных клеток могут сокращаться, увеличивая тем самым площадь соприкосновения клеток крови с эндотелиальными клетками. Затем клетки крови плотно «прилипают» к эндотелиальным клеткам. Этот процесс сложный, в нем участвуют специфические молекулы межклеточного взаимодействия, которые принято делить на три вида:

- **интегрины** — рецепторы, взаимодействующие с лигандами экстрацеллюлярного матрикса и молекулами адгезии;
- **селектины** — молекулы адгезии на поверхности клеток крови (L-селектин), в α-гранулах тромбоцитов (P-селектин), на эндотелиальных клетках (E-селектин);
- **эндотелиальные молекулы адгезии** — внутриклеточные молекулы адгезии, обеспечивающие прилипание к эндотелиальным клеткам лимфоцитов, моноцитов и нейтрофилов (ICAM-1, ICAM-2) и прохождение их через мегаканалы (PECAM-1).

Готовность клетки крови к преодолению эндотелиального барьера выражается в активации на ее поверхности молекул интегринов и селектинов, что приводит к движению вдоль эндотелиальных клеток. Клетка «катится», вызывая выход эндотелиальных молекул адгезии ICAM-1 и ICAM-2 на поверхность и плотное прилипание к эндотелиальной клетке. В ответ на эту реакцию (лиганд-рецептор) в эндотелиальной клетке активируются молекулы PECAM, что приводит к образованию временно (на прохождение одного клеточного элемента) миграционной поры — узкого канала диаметром 1,0–1,2 мкм, через который зрелая клетка проникает внутрь синуса. Для осуществления такого выхода из костного мозга клетка должна обладать специфическими свойствами: наличием активных молекул интегринов и селектинов; быть способной к движению; обладать эластичной мембраной, способной к деформации и быстрому восстановлению своей формы при прохождении через узкую миграционную пору. Прохождение нейтрофила через миграционную пору схематически изображено на рис. 13. Таким образом, избирательность выхода клеток из костного мозга определяется их собственными функциональными свойствами. Известно, что лейкозные бластные клетки отличаются

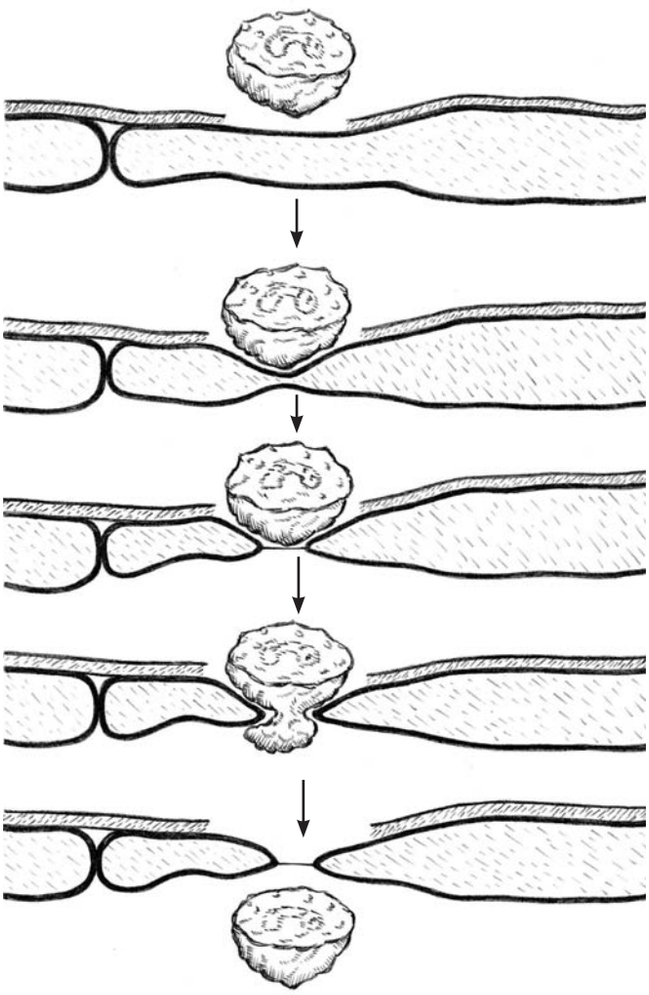

Рис. 13. Выход клетки из костного мозга

Fig. 13. Cell migration from the bone marrow

от своих нормальных аналогов высокой подвижностью, способностью к деформации и наличием на поверхности специфических для прохождения эндотелиального барьера молекул межклеточного взаимодействия. Этим и объясняется их выход в циркуляцию.

На пути к эндотелиальной стенке клеткам крови приходится проходить иногда и через другие клеточные элементы, например адвентициальные клетки и мегакариоциты. Такое прохождение одних клеточных элементов сквозь другие получило название эмпериполизиса.

Особое значение этот процесс имеет для эритропоэза. Зафиксировано, что в ряде случаев именно в процессе эмпериполизиса оксифильных нормобластов через адвентициальные клетки и мегакариоциты происходит потеря их ядра («обезъядривание»).

По классическим представлениям, образование тромбоцитов происходит внутри синусов при проникновении «псевдоподии» цитоплазмы мегакариоцита через миграционную пору эндотелиальной стенки.

Из костномозговых синусов клетки крови как бы «выдаиваются» сокращением гладкомышечных стенок синусоидальных венул в кровоток.

Несмотря на большое количество современных биохимических, иммунологических, культуральных и молекулярно-генетических методов исследования гемопоэза, морфологическая оценка миелограммы не утратила своего ведущего значения для клинико-диагностической оценки кроветворения человека.

ОЦЕНКА МИЕЛОГРАММЫ

При аспирации костного мозга всегда происходит «насасывание» периферической крови, тем большее, чем больше получено аспирата. В связи с этим при пункции костного мозга с диагностической целью не рекомендуется стремиться к получению большого количества аспирата. Наши исследования показали, что 0,3–0,5 мл пунктата совершенно достаточно для диагностических целей. Для оценки миелограммы важно не столько процентное содержание каждого элемента гемопоэза, сколько их взаимное соотношение. Судить о составе миелограммы следует по специально рассчитанным костномозговым индексам, характеризующим эти соотношения [1].

Для правильной интерпретации полученных данных необходим подсчет миелокариоцитов и мегакариоцитов пунктата в счетной камере. Нормальным можно считать число миелокариоцитов 80 000–150 000 в 1 мкл, мегакариоцитов — более 20 в 1 мкл.

Индекс соотношения лейко/эритро вычисляется как соотношение процентного содержания клеток белого и красного ростков и равен в норме 2:1–4:1. Это означает, что в нормальном костном мозге число белых клеток в 2–4 раза превышает число красных клеток. Связано это с двумя обстоятельствами: большей напряженностью гранулоцитопоэза (длительность жизни гранулоцитов много меньше, чем эритроцитов, и составляет 9–13 *vs* 120 дней соответственно) и наличием костномозгового гранулоцитарного резерва.

Увеличение индекса при богатом костном мозге (> 150 000 миелокариоцитов в 1 мкл), скорее всего, свидетельствует о гиперплазии белого ростка. Типичный пример — развернутая стадия хронического миелолейкоза. Увеличение индекса при бедном костном мозге (< 80 000 миелокариоцитов в 1 мкл) может отражать редукцию красного ростка (апластическая анемия) или большую примесь периферической крови.

Уменьшение индекса лейко/эритро при богатом костном мозге свидетельствует о гиперплазии красного ростка (типичный пример — гемолитическая анемия), при бедном костном мозге — о преимущественной редукции гранулоцитарного ростка (например, агранулоцитоз) [1].

Индекс созревания нейтрофилов вычисляется следующим образом:

Индекс созревания нейтрофилов = (Промиелоциты + миелоциты + метамиелоциты) / (Палочкоядерные + сегментоядерные нейтрофилы).

В норме он составляет 0,6–0,8. Увеличение этого индекса при богатом костном мозге свидетельствует о задержке созревания нейтрофилов (например, хроническом миелолейкозе), при бедном костном мозге — о повышенном выходе зрелых клеток и истощении гранулоцитарного резерва (например, тяжелом сепсисе).

Уменьшение индекса созревания нейтрофилов при богатом костном мозге может отражать задержку элиминации гранулоцитов из костного мозга и/или ускоренное их созревание (например, гиперспленизм). Пунктат, бедный клеточными элементами, свидетельствует о значительной примеси периферической крови.

Признаки высокой степени разведения периферической кровью следующие:

- обедненность пунктата клеточными элементами;
- резкое увеличение соотношения лейко/эритро;
- снижение индекса созревания нейтрофилов;
- высокий процент сегментоядерных нейтрофилов и/или лимфоцитов, близкий к их содержанию в периферической крови.

Высокая степень разведения пунктата костного мозга периферической кровью делает невозможными диагностические заключения.

Индекс созревания нормобластов (нбл) вычисляется следующим образом:

Индекс созревания нормобластов = (Полихроматофильные + оксифильные нормобласты) / (Все ядросодержащие клетки красного ростка данного пунктата).

В норме он составляет 0,8–0,9. Очевидно, что уменьшение этого индекса свидетельствует о задержке гемоглобинизации и/или превалировании молодых базофильных форм. Пример: железодефицитная анемия или некоторые формы гипоплазии кроветворения.

Для анализа состояния эритропоэза полезно оценивать так называемые **парциальные эритронормобластограммы.** На рис. 14 представлены типичные кривые соотношения отдельных форм нормобластов в норме и при основных видах анемии.

Характерным параметром эритропоэза является соотношение отдельных видов эритрокариоцитов: базофильных (эритробласты + базофильные нормобласты),

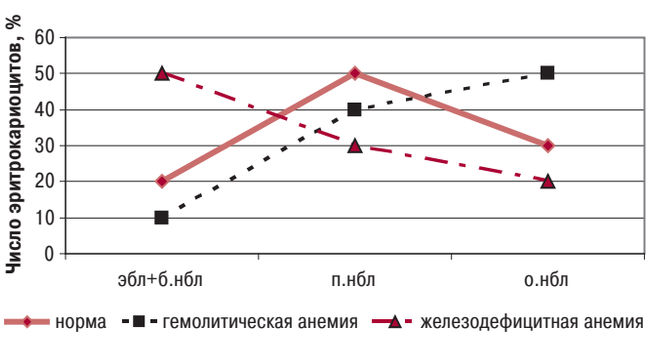

Рис. 14. Парциальные эритронормобластограммы
б.нбл — базофильный нормобласт; о.нбл — оксифильный нормобласт; п.нбл — полихроматофильный нормобласт; эбл — эритробласт.

Fig. 14. Partial erythroblastograms
б.нбл — basophilic normoblast; о.нбл — oxyphilic normoblast; п.нбл — polychromatophil normoblast; эбл — erythroblast.

полихроматофильных и оксифильных форм эритрокариоцитов. Для расчета удобно принять долю эритрокариоцитов за 100 %.

Для нормального эритропоэза характерно преобладание полихроматофильных нормобластов. Относительное содержание базофильных форм составляет примерно менее половины полихроматофильных, а доля оксифильных должна быть меньше полихроматофильных, но больше базофильных форм.

При гемолитической или острой постгеморрагической анемии пик кривой приходится на оксифильные нормобласты, а при железодефицитной и начальной стадии апластической анемии — на базофильные формы. При этом степень преобладания базофильных форм при железодефицитной анемии может отражать уровень дефицита железа.

Для суждения о состоянии кроветворения недостаточны один лишь подсчет миелограммы и определение индексов. Для оценки полученных данных необходимо знание состава периферической крови, клинических проявлений болезни и анамнеза. Диагностика болезней крови строится на сочетанной оценке клинических и лабораторных данных.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликтов интересов. Е.Б. Владимирская является членом редакционной коллегии журнала «Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика». В процессе рецензирования автор статьи не участвовала.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа не имела спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Владимирская Е.Б. Механизмы кроветворения и лейкемогенеза. М.: Династия, 2007.

[Vladimirskaya EB. Mekhanizmy krovetvoreniya i leikemogeneza. (Mechanisms of hematopoiesis and leukemogenesis). Moscow: Dinastia Publ.; 2007. (In Russ)]

2. Дризе Н.И., Чертков И.Л. Стволовая кроветворная клетка. В кн.: Гериатрическая гематология. Заболевания системы крови в старших возрастных группах. Под ред. Л.Д. Гриншпун, А.В. Пивника. Т. 1. М.: Медиум, 2011. С. 11–20.

[Drize NI, Chertkov IL. Hematopoietic stem cell. In: Grinshpun LD, Pivnik AV, eds. Geriatricheskaya gematologiya. Zabolevaniya sistemy krovi v starshikh vozrastnykh gruppakh (Geriatric hematology. Hematological diseases in elderly population). Vol. 1. Moscow: Medium Publ.; 2011. pp. 11–20. (In Russ)]

3. Ningning He, Lu Zhang, Jian Cui, Zongjin Li. Bone marrow vascular niche: home for hematopoietic stem cells. Bone Marrow Res. 2014:128436. doi: 10.1155/2014/128436.

4. Orkin SH, Zon LI. Hematopoiesis: an evolving paradigm for stem cell biology. Cell. 2008;132(4):631–44. doi: 10.1016/j.cell.2008.01.025.

5. Pietras EM, Warr MR, Passegue E. Cell cycle regulation in hematopoietic stem cells. J Cell Biol. 2011;195(5):709–20. doi: 10.1083/jcb.201102131.

6. Ceredig R, Rolink AG, Brown G. Models of haematopoiesis: seeing the wood for the trees. Nat Rev Immunol. 2009;9(4):293–300. doi: 10.1038/nri2525.