

© О.В. Воробьева, 2015
УДК 616.419-089.843

РЕАКЦИИ АМИНОСОДЕРЖАЩИХ СТРУКТУР ПРИ АЛЛОПЕРЕСАДКЕ КОСТНОГО МОЗГА

ВОРОБЬЁВА ОЛЬГА ВАСИЛЬЕВНА, канд. мед. наук, доцент кафедры общей и клинической морфологии и судебной медицины ФГБОУ ВПО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова», Чебоксары, Россия, e-mail: olavorobeva@mail.ru

Реферат. Цель исследования — определить содержание нейроаминов: гистамина, серотонина, катехоламинов в биоаминсодержащих структурах костного мозга после аллогенной трансплантации костного мозга во временном аспекте. **Материал и методы.** Животным внутривенно (в/в) вводили суспензию костного мозга, полученную из бедренной кости от мыши другой линии, 2 мл костного мозга помещали в 4 мл физиологического раствора и тщательно размешивали. 1 мл суспензии костного мозга вводили в хвостовую вену (аллотрансплантация). Свежеприготовленные криостатные срезы обрабатывались люминесцентно-гистохимическими методами. **Результаты и их обсуждение.** В костном мозге через 40 мин после аллогенной пересадки костного мозга снижается число тучных и гранулярных клеток с уменьшением гранул в них в результате тотального распада. В этих клетках снижено содержание нейроаминов. Выявляются группы ярко люминесцирующих митотически делящихся клеток. В миелограмме резко уменьшается число зрелых форм лейкоцитов. **Заключение.** Аллогенная пересадка, очевидно, вызывает супрессию синтеза биогенных аминов и распад клеток-регуляторов.

Ключевые слова: аллотрансплантация костного мозга, катехоламины (КА), серотонин (СТ), гистамин, гранулярные люминесцирующие клетки (ГЛК), тучные клетки (ТК).

Для ссылки: Воробьева, О.В. Реакции аминсодержащих структур при аллопересадке костного мозга / О.В. Воробьева // Вестник современной клинической медицины. — 2015. — Т. 8, вып. 5. — С.77—80.

AMINE STRUCTURES REACTIONS IN THE BONE MARROW ALLOTRANSPLANTATION

VOROBIEVA OLGA. V., C. Med. Sci., associate professor of the Department of general and clinical morphology and forensic medicine of Chuvash State University n.a. I.N. Ulyanova, Cheboksary, Russia, e-mail: olavorobeva@mail.ru

Abstract. Aim. To determine the content of neuroamines: histamine, serotonin, catecholamines in biogenic amines containing structures of bone marrow after allogeneic transplantation in period of time. **Material and methods.** Animals had i/v injections of bone marrow suspension derived from the femoral bone of the other mouse lines. 2 ml of bone marrow were placed in 4 mL of saline and thoroughly stirred. 1 ml of bone marrow suspension was injected into the tail vein (allogeneic transplantation). Freshly cryostat sections were processed with luminescent-histochemical methods. **Results and discussion.** In the bone marrow after 40 min after allogeneic bone marrow transplantation, founded a decrease of mast cells and granular cells. Granular cells had decreasing granules, as result of total decomposition. These cells had reduced neuroamines content. Groups of bright luminescent cells with mitotic activity were clearly identified. White blood cells mature forms sharply reduced in the myelogram. **Conclusion.** Allogeneic transplantation apparently suppresses the synthesis of biogenic amines and causes disintegration of cells controllers.

Key words: allograft bone marrow, catecholamines (CA), serotonin (ST), histamine, granular luminescent cells (HCA), mast cells (MC).

For reference: Vorobeyva OV. Amine structures reactions in the bone marrow allotransplantation. Bulletin of Contemporary Clinical Medicine. 2015; 8 (5): 77—80.

Введение. Трансплантация красного костного мозга в настоящее время является актуальным методом оказания специализированной помощи людям [1, 6, 11]. Онкологические, гематологические заболевания, первичные иммунодефициты протекают с поражением кроветворной и иммунной систем. Развитие иммунной реакции в организме сопровождается значительными изменениями содержания катехоламинов, серотонина, гистамина как в крови, так и в тканях [5, 7, 9]. Изменение их количества приводит к изменению скорости пролиферации и дифференцировки клеток при их созревании. Поскольку

процессы клеточного созревания и дифференцировки, обеспечивающие иммунитет, начинаются в костном мозге, значительный интерес представляет исследование реакции аминсодержащих структур при аллопересадке костного мозга.

По данным многих авторов [2, 3, 4], основными клетками, содержащими биогенные амины, такие как гистамин, катехоламины и серотонин, считаются тучные клетки и гранулярные люминесцирующие клетки, тесно связанные с вегетативной нервной системой, ее адренергическим и парасимпатическим звеном. Эти структуры играют

в организме роль трансммиттеров (передатчиков) и влияют на многие жизненные процессы [8], в том числе участвуют в местной, автономной регуляции многих органов.

Целью нашего исследования является изучение содержания нейроаминов: гистамина, серотонина, катехоламинов в биоаминсодержащих структурах костного мозга после аллогенной трансплантации костного мозга во временном аспекте.

Материал и методы. Экспериментальными животными были 45 мышей, которые были разделены на 3 группы по 15 мышей в каждой. Уход и все процедуры по уходу осуществлялись по нормам и правилам обращения с лабораторными животными.

1-я группа — интактные мыши.

2-я группа — контрольная группа мышей, у которых изменение нейроаминов происходит до 35 мин после введения физиологического раствора в дозе 1 мл. Вследствие этого материал для изучения брали через 40 мин после введения костного мозга.

3-я группа — животным в/в вводили суспензию костного мозга, полученную из бедренной кости от мыши другой линии, 4 мл костного мозга помещали в 10 мл физиологического раствора и тщательно размешивали. 1 мл суспензии костного мозга вводили в хвостовую вену (аллотрансплантация).

Свежеприготовленные криостатные срезы обрабатывались люминесцентно-гистохимическим методом (10) для выявления катехоламинов и серотонина, а также методом Фалька—Хилларпа на гистамин. Их количественное измерение проводили на люминесцентном микроскопе ЛЮМAM-4 с применением микрофлюориметрической насадки ФМЭЛ-1А. Полученные цифровые данные обрабатывали статистически с помощью критерия Стьюдента (*t*). Миелограмму исследовали в расчете на 500 клеток после окраски препаратов по

Паппенгейму. Окраска по А. Унна применялась для определения состояния сульфатированности гепарина в тучных клетках.

Результаты и их обсуждение. При исследовании костного мозга на катехоламины и серотонин после аллогенной трансплантации костного мозга свечение было резко сниженным, наблюдалась диффузия межклеточного вещества. Число тучных клеток и гранулярных клеток было снижено до 1—2 на несколько полей зрения по сравнению с интактными животными.

Выявлялись округлые клетки со светящимися мелкими зернами и несветящимся бобовидным ядром, что говорит о макрофагальной природе этих клеток. У мегакариоцитов не люминесцировали ядра, однако светилась цитоплазма. Нервные волокна не выявлялись.

В мазках костного мозга при исследовании на гистамин наблюдали в некоторых местах резкое снижение диффузного свечения межклеточных пространств и основных гемопоэтических клеток, в других областях происходило усиление люминесценции межклеточных пространств (рис. 1, 2).

Люминесцировали клетки эритроидного ряда, лимфоциты и ядра плазмочитов.

Гранулярные клетки люминесцировали темно-оранжевым цветом и выявлялись в небольшом числе; полноценных клеток с хорошо заметными разнокалиберными гранулами было 1—2 на весь препарат, однако обнаруживались клетки, у которых люминесцировали 2—3 гранулы. Таких клеток было до 2—3 на одно поле зрения.

Такая же картина наблюдалась и с тучными клетками, иногда вместо клеток выявляются темно-оранжевые тени с расположенными рядом гранулами. Такие клетки не содержали свободного гистамина.

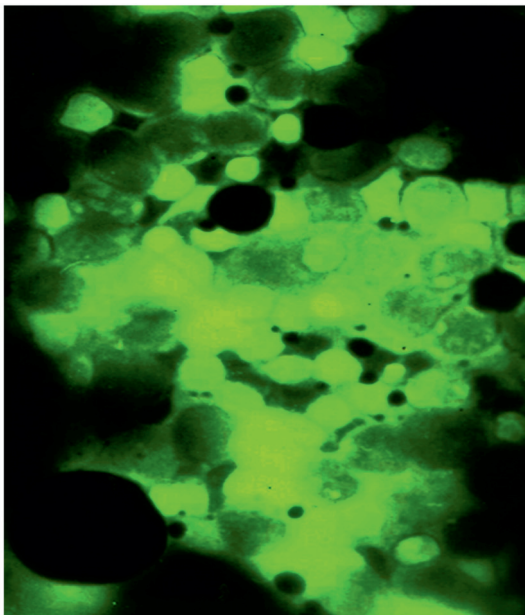


Рис. 1. Костно-мозговые клетки, содержащие гистамин у интактных крыс. Метод Кросса. Микроскоп МЛ-6 (ув. имм.)

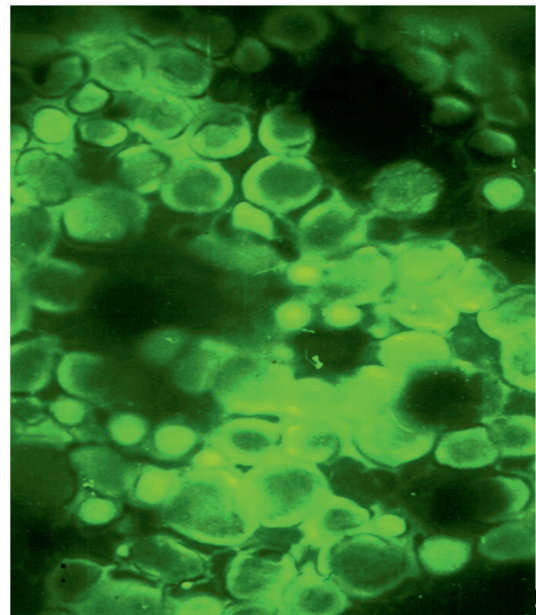


Рис. 2. Костно-мозговые клетки, содержащие гистамин после аллотрансплантации. Метод Кросса. Микроскоп МЛ-6 (ув. имм.)

Таким образом, в костном мозге через 40 мин после аллогенной пересадки костного мозга число тучных и гранулярных клеток остается сниженным, отмечается их тотальный распад с уменьшенным содержанием нейроаминов в них. Аллогенная пересадка, очевидно, вызывает супрессию синтеза биогенных аминов и распад клеток-регуляторов.

При окраске препаратов по Унна гемопозитические клетки были окрашены одинаково ортохромно. Тучные клетки окрашены В-метахроматично. Их число невелико: 1—2 клетки на несколько полей зрения. Определяются клетки неправильной формы, с синим ядром и неокрашенными гранулами разного размера.

При параллельных люминесцентно-гистохимических окрасках эти клетки относятся к гранулярным клеткам. Иногда встречаются поля из равномерных, мелких гранул, принадлежащих тучным клеткам.

При исследовании препаратов по Паппенгейму определяются одинаковые клетки, расположенные группами, среди которых имеются митотически делящиеся. В миелограмме уменьшается число зрелых форм лейкоцитов.

Выводы:

1. При аллогенной пересадке костного мозга в препаратах костного мозга снижается число биоаминсодержащих клеток (тучных и гранулярных клеток), а в них — содержание биогенных аминов.

2. Выявляются группы ярко люминесцирующих митотически делящихся клеток.

3. Резко уменьшается число зрелых форм лейкоцитов.

Прозрачность исследования. Исследование не имело спонсорской поддержки. Автор несет полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Декларация о финансовых и других взаимоотношениях. Автор принимал участие в разработке исследования и в написании рукописи. Окончательная версия рукописи одобрена автором. Автор не получал гонорар за исследование.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абдусаламов, С.Н. Градация интенсивности и подходы к оптимизации сопроводительной терапии при трансплантации костного мозга / С.Н. Абдусаламов, К.Н. Мелкова, Т.З. Чернявская, А.А. Афанасенков // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. — 2009. — Т. 2, № 4. — С.334—342.
2. Арташян, О.С. Морфологические аспекты участия тучных клеток в формировании общего адаптационного синдрома / О.С. Арташян, Б.Г. Юшков, Ю.С. Храмцова // Таврический медико-биологический вестник. — 2012. — Т. 15, № 3. — С.22—25.
3. Бережная, Н.М. Тучные клетки и гистамин: физиологическая роль аутоадренорецепторов / А.С. Бережная, Р.И. Сепиашвили // Аллергология и иммунология. — 2003. — Т. 4, № 3. — С.29—38.
4. Гусельникова, В.В. Происхождение тучных клеток: современное состояние проблемы / В.В. Гусельникова, А.П. Пронина, П.Г. Назаров, А.В. Полевщиков // Вопросы морфологии XXI века. — 2010. — Вып. 2. — С.108—115.

5. Любовева, Л.А. Биоаминсодержащие структуры костного мозга при системных заболеваниях крови / Л.А. Любовева, Е.В. Любовева // Морфология. — 2012. — № 3. — С.95—96.
6. Савченко, В.Г. Трансплантация костного мозга в онкогематологии / В.Г. Савченко // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. — 2010. — Т. 3, № 4. — С.478—479.
7. Ставинская, О.А. Роль гистамина и серотонина в поддержании иммунного гомеостаза / О.А. Ставинская // Аллергология и клиническая иммунология — междисциплинарные проблемы: национальная конф. // Российский аллергологический журнал. — 2008. — № 1. — С.238—243.
8. Abedi, M. Haematopoietic stem cells participate in muscle regeneration / M. Abedi, B.M Foster, K.D. Wood // Br. J. Haematol. — 2007. — Vol. 138(6). — P.792—801.
9. Azuma, Y. Histamine inhibits chemotaxis, phagocytosis, superoxide anion production, and the production of TNF α , and IL 12 by macrophage via H2 receptors / Y. Azuma, M. Shinohara, P. Wang // Int. Immunopharmacol. — 2001. — № 9. — P.1867—1875.
10. Cross, S.A.M. Stind of the methods available for the cytochem: cal localization of histamine by fluorescence induced with o-phthalaldehyde or acetadehude / S.A.M. Cross, S.W.B. Ewen, E.W.D.A. Rost// J. Histochem. — 1971. — № 6. — P.471—476.
11. Ringden, O. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: State of the art and new perspectives / O. Ringden, K. Le Blanc // APMIS. — 2005. — Vol. 113. — P.813—830.

REFERENCES

1. Abdusalamov SN, Melkova KN, Chernjavskaja TZ. Gradaciya intensivnosti i podhody k optimizacii soprovoditel'noj terapii pri transplantacii kostnogo mozga [Grading of intensity and approaches to optimizing accompanying therapy with bone marrow transplantation]. Klinicheskaja onkogematologija. Fundamental'nye issledovanija i klinicheskaja praktika [Clinical oncohematology, Basic research and clinical practice]. 2009; 4 (2): 334–342. Artashyan OS, Yushkov BG, Hramtsova YS. Morfologicheskie aspekti uhastija tuchnih kletok v formirovanii obsego adaptacionnogo sindroma [Morphological aspects of mast cells participated in the formation of the general adaptation syndrome]. Tavrisheskii medico-biologicheskii vestnik [Tauride Medical and Biological Bulletin]. 2012; 15 (3): 22–25.
2. Gentle NM, Sepiashvili. Tuchnye kletki i gistamin: fiziologicheskaja rol' autoadrenoreceptorov [Mast cells and histamine: physiological role autoadrenoretseptorov]. Allergologija i immunologija [Allergology and immunology]. 2003; 4(3): 29–38.
3. Guselnikova V, Pronina AP, Nazarov PG et al. Proishozhdenie tuchnyh kletok: sovremennoe sostojanie problemy [Origin of mast cells: state of the art]. Voprosy morfologii XXI veka [Questions of the morphology of the XXI century]. 2010; 2: 108–115.
4. Lyubovtseva LA, Lyubovtseva EV. Bioaminsoderzhashhie struktury kostnogo mozga pri sistemnyh zabelevanijah krovi [Bioamin structure of the bone marrow in systemic blood diseases]. Morfologija [Morphology]. 2012; 3: 95–96.
5. Savchenko VG. Transplantacija kostnogo mozga v onkogematologii [Bone marrow transplantation in hematology]. Klinicheskaja onkogematologija. Fundamental'nye issledovanija i klinicheskaja praktika [Clinical oncohematology. Basic research and clinical practice]. 2010; 4 (3): 478–479.

6. Stavinskaya OA. Rol' gistamina i serotoninina v podderzhanii immunnogo gomeostaza [The role of histamine and serotonin in maintaining immune]. Rossijskij Allergologicheskij Zhurnal [Russian Allergic Journal]. 2008; 1: 238–243.
7. Abedi M, Foster BM, Wood KD. Haematopoietic stem cells participate in muscle regeneration. Br. J. Haematol. 2007; 138 (6): 792–801.
8. Azuma Y, Shinohara M, Wang P. Histamine inhibits chemotaxis, phagocytosis, superoxide anion production, and the production of TNF α , and IL 12 by macrophage via H2 receptors. Int. Immunopharmacol. 2001; 9: 1867–1875.
9. Cross SAM, Ewen SWB, Rost EWDA. Stindi of the methods available for the cytochem: cal localization of histamine by fluorescence induced with o-phthalaldehyde or acetadehude. J Histochem. 1971; 6: 471–476.
10. Ringden O, Blanc KLe. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: State of the art and new perspectives [APMIS]. 2005; 113: 813–830.

© О.В. Воробьева, 2015

УДК 616.419-089.843

ИССЛЕДОВАНИЕ НЕЙРОАМИНОВ ПРИ ГЕТЕРОТРАНСПЛАНТАЦИИ КОСТНОГО МОЗГА

ВОРОБЬЁВА ОЛЬГА ВАСИЛЬЕВНА, канд. мед. наук, доцент кафедры общей и клинической морфологии и судебной медицины ФГБОУ ВПО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова», Чебоксары, Россия, e-mail: olavorobeva@mail.ru

Реферат. Цель исследования — изучение влияния трансплантации костного мозга на содержание нейроаминов в костном мозге мышей. **Материал и методы.** Опытным мышам внутривенно (в/в) вводили суспензию костного мозга, полученную из бедренной кости кошки, 2 мл костного мозга помещали в 4 мл физиологического раствора и тщательно размешивали. 1 мл суспензии костного мозга вводили в хвостовую вену (гетеротрансплантация). Свежеприготовленные криостатные срезы обрабатывались люминесцентно-гистохимическими методами. **Результаты и их обсуждение.** В эксперименте в костном мозге гранулярные люминесцирующие и тучные клетки постепенно перестают синтезировать нейроамины, разрушаются, а новые популяции не образуются. Выявлено, что чужой костный мозг вызывает супрессию синтеза биогенных аминов и распад клеток-регуляторов. В конечном итоге происходит постепенное опустошение собственных клеток от нейроаминов, быстрое старение и гибель. Возникает жировое перерождение костного мозга. **Заключение.** Происходит опустошение клеток от нейроаминов, приводящее к изменению дифференцировки клеток в костном мозге с последующим жировым перерождением костного мозга.

Ключевые слова: гетеротрансплантация костного мозга, катехоламины (КА), серотонин (СТ), гранулярные люминесцирующие клетки (ГЛК), тучные клетки (ТК).

Для ссылки: Воробьева, О.В. Исследование нейроаминов при гетеротрансплантации костного мозга / О.В. Воробьева // Вестник современной клинической медицины. — 2015. — Т. 8, вып. 5. — С.80—82.

THE INFLUENCE OF BONE MARROW HETEROTRANSPLANTATION ON NEUROAMINES

VOROBIEVA OLGA. V., C. Med. Sci., associate professor of the Department of general and clinical morphology and forensic medicine of Chuvash State University n.a. I.N. Ulyanova, Cheboksary, Russia, e-mail: olavorobeva@mail.ru

Abstract. Aim. The study of the influence of BMT on neuroamines in mice bone marrow after heterotransplantation. **Material and methods.** Mice were injected bone marrow suspension obtained from cat's femoral bone. 2 ml of bone marrow was placed in 4 mL of saline and thoroughly stirred. 1 ml of bone marrow suspension was injected into the tail vein (heterotransplantation). Fresh cryostat sections were processed with luminescent-histochemical methods. **Results and discussion.** In the experiment, the bone marrow luminescent granular and mast cells gradually stopped synthesizing neuroamines, destroyed and new populations did not form. It was revealed that a foreign bone marrow suppresses synthesis of biogenic amines and cause cell regulators disintegration. It results to a gradual neuroamines release from the own cells, rapid aging and death. There was a fatty degeneration of the bone marrow. **Conclusion.** There was cells devastation, leded to bone marrow cells differentiation, followed by fatty degeneration.

Key words: bone marrow heterotransplantation, catecholamines (CA), serotonin (ST), granular luminescent cells (HCA), mast cells (MC).

For reference: Vorobeyva OV. The influence of bone marrow heterotransplantation on neuroamines. The Bulletin of Contemporary Clinical Medicine. 2015; 8 (5): 80—82.

Введение. На сегодняшний день трансплантацию костного мозга (ТКМ) применяют для лечения заболеваний, патогенез которых весьма разнообразен: различные формы иммунодефицитов, нарушения метаболизма некоторых форм рака и др. [1, 2, 4]. Применение люминесцентно-гистохимических методов позволило ряду исследователей выявить и изучить биоаминосодержащие

структуры костного мозга, которые участвуют в регуляции процессов иммуногенеза. Основными биоаминосодержащими клетками костного мозга являются гранулярные люминесцирующие клетки (ГЛК) и тучные клетки (ТК) [3, 5]. ГЛК крупнее тучных клеток, имеют гранулы разного цвета и размера, с разной интенсивностью люминесценции. Выявлено, что в гранулах этих клеток содержатся катехоламины