

ХАРАКТЕРИСТИКА БИОАМИНОСОДЕРЖАЩИХ КЛЕТОК ПРИ ВВЕДЕНИИ СОБСТВЕННОГО КОСТНОГО МОЗГА

[Л. А. Любовцева, О. В. Воробьева](#)

*ФГБОУ ВПО «Чувашский государственный университет им. И. Н. Ульянова»
(г. Чебоксары, Чувашская Республика)*

Цель исследования: изучение влияния аутопересадки костного мозга на распределение нейроаминов между биоаминосодержащими структурами костного мозга. *Методы исследования.* Под глубоким эфирным наркозом брали из бедренной кости 1 мл костного мозга мыши, помещали в 2 мл физиологического раствора и тщательно размешивали, 1 мл суспензии костного мозга вводили в хвостовую вену этой же мыши. Число клеток в 1 мл суспензии было равно $2,1 \times 10^8$. В дальнейшем производили люминесцентно-гистохимическое исследование. *Результаты исследования.* В эксперименте отмечают выраженные изменения в нейромедиаторах костного мозга — увеличивается число гранулярных люминесцирующих клеток с уменьшением количества гранул в них и уменьшением числа тучных клеток вследствие их разрушения. Аутотрансплантация костного мозга приводит к перераспределению в структурах костного мозга катехоламинов и серотонина, что изменяет направление цитодифференцировки клеток, изменяет содержание нейроаминов в гранулярных люминесцирующих клетках и тучных клетках.

Ключевые слова: аутотрансплантация, катехоламины (КА), серотонин (СТ), гистамин.

Любовцева Любовь Алексеевна — доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой общей и клинической морфологии и судебной медицины ФГБОУ ВПО «Чувашский государственный университет имени И. Н. Ульянова», г. Чебоксары, e-mail: olavorobeva@mail.ru

Воробьева Ольга Васильевна — кандидат медицинских наук, доцент кафедры общей и клинической морфологии и судебной медицины ФГБОУ ВПО «Чувашский государственный университет имени И. Н. Ульянова», г. Чебоксары, e-mail: olavorobeva@mail.ru

Актуальность проблемы. Регуляция многих органов происходит при помощи

нейромедиаторов, расположенных в особых биоаминсодержащих структурах совместно с адренергическим звеном вегетативной нервной системы (ВНС) [1, 3]. Трансплантация костного мозга, при которой происходит воздействие на иммунную и связанную с ней кроветворную систему организма, используется для лечения большинства онкологических заболеваний [5]. Вследствие чего возникла необходимость выявить влияние аутопересадки на автономную регуляцию кроветворной и иммунной систем через нейромедиаторы и их содержащие структуры. Центральным органом кроветворения и иммунитета является костный мозг [5]. В нем происходит антигеннезависимая дифференцировка В-лимфоцитов, и он является единственным органом у взрослого человека, в котором происходит миелоидное кроветворение. Именно здесь нейромедиаторы участвуют в размножении, дифференцировке клеток и их созревании.

Известно, что в костном мозге имеются гранулярные люминесцирующие клетки (ГЛК), которые совместно с тучными клетками (ТК) участвуют в автономной регуляции органов, выполняют функцию нейроэндокринных и паракринных менеджеров [2, 4, 6].

Целью исследования явилось определение содержания нейроаминов в биоаминсодержащих структурах костного мозга после аутогенной трансплантации костного мозга.

Материал и методы исследования. Работа была выполнена на 45-ти мышах, которые были разделены на 3 группы:

- 1-я группа — интактные крысы без введения ($n = 15$);
- 2-я группа — контрольная группа мышей ($n = 15$), 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-й группе производили аутотрансплантацию костного мозга. Животным ($n = 15$) в хвостовую вену вводили суспензию костного мозга, полученную из бедренной кости этой же мыши. Взятый из бедренной кости 1 мл костного мозга помещали в 2 мл физиологического раствора и тщательно размешивали, 1 мл суспензии костного мозга вводили в хвостовую вену. Другая часть объема полученной суспензии шла на подсчет числа клеток в полученной гетерогенной популяции клеток костного мозга с помощью проточного спектрофотометра «Ф-2000» с применением флуоресцеина изотиоцианата (FITC). Число клеток в 1 мл суспензии было равно $2,1 \times 10^8$.

Все процедуры по уходу осуществлялись по нормам и правилам обращения с лабораторными животными, в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985).

В процессе решения поставленных задач использовались следующие методы: люминесцентно-гистохимический метод Кросса, Евена, Роста (1971) для выявления гистамина. Для избирательного выявления катехоламинов (КА) и серотонина (СТ) применялся люминесцентно-гистохимический метод Фалька-Хилларпа. Количественно уровни КА, СТ и гистамина в структурах оценивались с помощью цитоспектрофлуориметрии. Для качественной и количественной характеристики ТК после их изучения по Кроссу, Евена, Роста (1971) и цитоспектрофлуориметрии обрабатывали полихромным толуидиновым синим по А. Унна. Окраска по А. Унна применялась для определения сульфатированности гепарина и состояния ТК. Статистическую достоверность определяли критерием Стьюдента (t). Полученные

цифровые данные обрабатывались статистически по специально разработанной программе «Statistica», версия 6 (Copyright@Stat Soft, 19842001, ИПЧИ 31415926535897).

Результаты исследования и обсуждения. У опытных мышей отмечается увеличение числа ГЛК до 5-ти — 7-ми вместо 3-4-х на одно поле зрения (рис. 1), также люминесцирует цитоплазма мегакариоцитов. Зеленые ТК имеют округлую форму с центрально расположенным ядром. Число ТК снижено до 16-ти на весь препарат. Содержание КА и СТ в них повысилось в 2 раза (рис. 2). Нервные волокна располагаются в виде петель, около которых находятся ГЛК и ТК. Кроме того, нервные волокна оканчиваются на мегакариоцитах (МКЦ) и около жировых клеток.

Выявляются 2 группы лимфоцитов: с ярко люминесцирующими и тусклыми ядрами. У юных и палочкоядерных нейтрофилов начинают слабо люминесцировать ядра. Возможно, все это говорит об активации иммунной реакции. Остальные гемопоэтические клетки практически не люминесцируют, т. е. не содержат свободных моноаминов.

Таким образом, в костном мозге после аутогенной пересадки костного мозга изменяется число моноаминсодержащих клеток с повышением в некоторых из них моноаминов: КА и СТ.

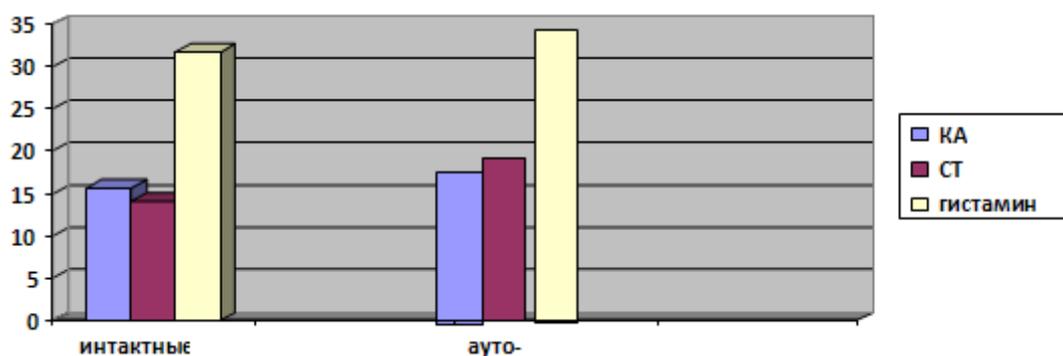


Рис. 1. Содержание нейроаминов в ГЛК через 40 мин после трансплантации

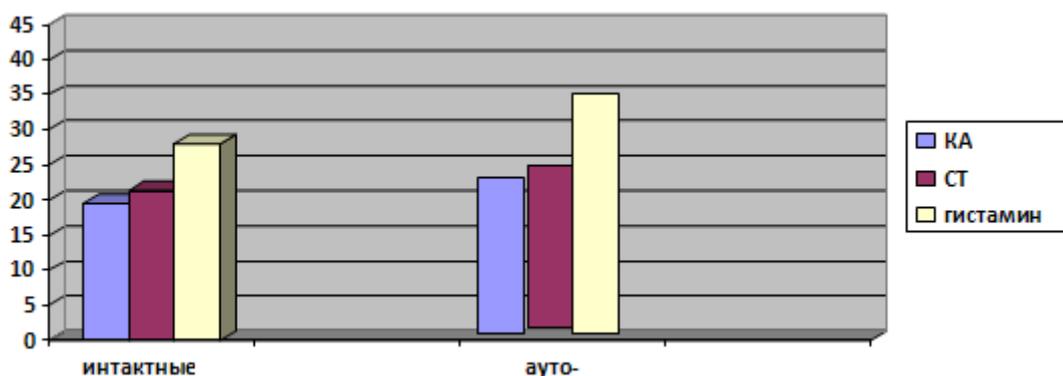


Рис. 2. Содержание нейроаминов в ТК через 40 мин после трансплантации некоторых биоаминов в них

При исследовании гистаминсодержащих структур в мазках костного мозга мышей наблюдается диффузное свечение гистамина во всех видах клеток. В гемопоэтических клетках светятся в основном ядра за исключением бластных форм, у которых люминесцируют периферические части цитоплазмы. Ярче клеток светится межклеточное вещество. Много гистамина в цитоплазме базофильных мегакариоцитов.

Таким образом, в костном мозге через 40 мин после аутогенной пересадки костного мозга

увеличивается число ГЛК и снижается число ТК с увеличением биоаминов в оставшихся (табл. 1). Повышается дегрануляция ТК и выход нейроаминов из гранул ГЛК в межклеточное пространство. Из чего следует, что в межклеточном пространстве оказываются диамины, которые воздействуют на гемопозитические клетки костного мозга.

Таблица 1

Содержание нейроаминов в биоаминосодержащих клетках костного мозга через 40мин после аутопересадки костного мозга

Название клеток	Содержание нейроаминов, у.е.		
	КА	СТ	Гистамин
ГЛК	18,1 ± 0,1	19,2 ± 0,2	34,6 ± 0,3
Число ГЛК	6,3 ± 0,1	7,2 ± 0,1	8,6 ± 0,1
ТК	22,3 ± 0,2	23,1 ± 0,4	34,3 ± 0,2
Число ТК	2,7 ± 0,1	3,5 ± 0,1	6,3 ± 0,1
Лимфоциты	6,8 ± 0,1	7,4 ± 0,3	7,8 ± 0,2

Примечание: даны среднеарифметические цифры ± амплитуда колебания содержания веществ

Методом Массона-Фонтана определяли в мазках наличие индолсодержащих веществ в костном мозге мышей после аутопересадки. Происходит группировка сходных клеток, и определяются группы лимфоцитов, окрашенные более интенсивно. Наблюдается увеличение числа митозов практически во всех видах клеток. Однако идет гомеобластическое кроветворение.

При окраске препаратов по Унна все клетки окрашены одинаково ортохромно, за исключением эозинофильного ряда, где в цитоплазме выявляется легкая метахромазия. Чем моложе клетка, тем слабее окрашено ее ядро.

ТК окрашены В-метахроматично, их 3 вида: одни мелкие с асимметрично расположенными голубыми ядрами, другие овальные с центрально расположенным ядром, третьи — дегранулированные вплоть до тотального распада.

При исследовании препаратов по Паппенгейму определяются морфологически одинаковые клетки, расположенные группами, среди которых имеются митотически делящиеся лимфоциты. Анализируя данные, можно видеть, что увеличивается как число лимфобластов с 12,5 до 16,8 %, так и бластных форм клеток с 3,9 до 5,2 (табл. 2).

Таблица 2

Миелограммы мышей при различных пересадках костного мозга

Название структур	Процентное содержание	
	Интактные	Ауто
Эритроидный ряд	28,7 ± 0,1	28,7 ± 0,1
Миелобласты	2,1 ± 0,1	2,6 ± 0,1
Промиелоциты	1,5 ± 0,1	1,7 ± 0,1
Метамиелоциты эозинофильные	5,2 ± 0,1	5,9 ± 0,1

Структуры	Взаимодействия	Сроки после трансплантации	
		Интактные	40 мин
ГЛК	КА/СТ	-0,9	0,9
	СТ/гистамин	0,4	0,6
	КА/гистамин	-0,5	0,53
	Серотониновый индекс	0,9	1,06
ТК	КА/СТ	0,9	0,97
	СТ/гистамин	0,8	0,7
	КА/гистамин	-0,7	0,65
	Серотониновый индекс	1,09	1,04

В ТК также все взаимосвязи стали положительными и сильными. Все это говорит о том, что происходит нейромедиаторное взаимодействие и воздействие нейроаминов в тандеме.

Серотониновый индекс (J_s) в обеих структурах стал выше 1. Это говорит о том, что в этом процессе СТ является ведущим нейроамином. А так как этот моноамин обладает сдерживающими свойствами в отношении бластных форм клеток и дифференцировке зрелых форм, то неконтролируемого размножения не происходит. В то же время, J_s чуть больше 1. Поэтому этот процесс контролируется адренергическим звеном ВНС.

Анализируя полученные данные, можно заключить, что при экспериментальном исследовании через 40 мин выявляется повышенное число ГЛК. В настоящее время доказано, что часть ГЛК относят к макрофагальной системе [2]. Известно, что макрофаги участвуют в регуляции кроветворения, продуцируя биогенные амины (колониестимулирующий фактор, интерлейкины, интерферон, эндорфин, гистамин, простагландины). Однако происходит дегрануляция и выход нейроаминов из гранул клеток в межклеточное вещество, где отмечалась усиленная диффузность свечения.

Число ТК снижено, однако содержание некоторых нейроаминов остается повышенным, что связано с усиленной дифференцировкой клеток, способных регулировать микроциркуляцию в ткани и органе, проницаемость сосудов, величину экспрессии на эндотелиальных клетках молекул адгезии, усиление антителообразования [7, 8], активацию ферментов. Секретируемые вещества ТК влияют на миграцию гранулоцитов, макрофагов, лимфоцитов, способны изменять метаболизм иммунокомпетентных клеток и тканей.

Отмечалось повышение числа размножающихся зрелых форм с увеличением некоторых биоаминов в них, что указывало на активацию иммунных реакций.

При аутооттрансплантации костного мозга отмечалось увеличение гистамина, который способствовал высвобождению СТ. Но оказалось, что гистамин может ингибировать высвобождение лизосомальных ферментов из сегментоядерных лейкоцитов, угнетать дегрануляцию ТК и базофилов, а также продукцию белков системы комплемента мононуклеарными фагоцитами.

Гистамин активно действует на дифференцировку лимфоцитов, повышает митотическую активность лимфобластов [1], которая связана с появлением рецепторов к этому амину. С другой стороны, при моделировании клеточных иммунных реакций гистамин ингибирует Т-лимфоциты, способствует розеткообразованию, увеличивает число эозинофилов, моноцитов, нейтрофилов [2], является модулятором нейроэндокринной

системы, усиливает фагоцитарную активность макрофагов.

Активность ферментов моноаминоксидазы, кислой фосфатазы была повышена, вследствие чего развивалось усиление окислительно-восстановительных процессов.

Выводы

1. При аутогенной трансплантации костного мозга у опытных мышей снижается число ГЛК, а в них содержание нейроаминов.
2. Часть ТК становятся высоко сульфатированными, наблюдается их дегрануляция.
3. Увеличивается число митозов, образуются шаровидные скопления морфологически одинаковых клеток.

Список литературы

1. Агафонкин С. А. Исследование биогенных аминов и биаминосодержащих структур костного мозга человека при нарушении гемопозза : автореф. дис. ... канд. мед. наук / С. А. Агафонкин. — М., 2006. — 25 с.
2. Идентификация люминесцирующих гранулярных клеток тимуса с дендритными макрофагами / Д. С. Гордон [и др.] // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 2001. — Т. 132, № 7. — С. 118-120.
3. Захарова Л. А. Медиаторы нейроиммунного взаимодействия / Л. А. Захарова, Р. В. Петров // Итоги науки и техники. Сер. Иммунология. — 1990. — Т. 25. — С. 6-7.
4. Кондрашевская М. В. Тучные клетки и гепарин — ключевые звенья в адаптивных и патологических процессах / М. В. Кондрашевская // Вестн. РАМН. — 2010. — № 6. — С. 49-54.
5. Саржевский В. О. Изменения желудочно-кишечного тракта при высокодозной химиотерапии и аутологичной трансплантации костного мозга у пациентов с онкогематологическими заболеваниями / В. О. Саржевский, Е. Г. Смирнова, В. Я Мельниченко // Клин. онкогематология. Фундам. исследования и клин. практика. — 2014. — Т. 7, № 3. — С. 343-353.
6. Смелова И. В. Особенности миграции тучных клеток / И. В. Смелова, Ж. А. Голощапова, Г. К. Попов // Вестн. Южно-Уральского государственного ун-та. Сер. Образование, здравоохранение, физическая культура. — 2012. — № 42 (301). — С. 121-123.
7. Влияние гистамина на регуляцию иммунологической реактивности у человека / О. А. Ставинская [и др.] // Вестн. Северного (Арктического) федерального ун-та. Сер. Естественные науки. — 2008. — № 2. — С. 35-40.
8. Шур В. Ю. Серотонин: биологические свойства и перспективы клинического применения / В. Ю. Шур, М. А. Самотруева, М. В. Мажитова // Фундам. исследования. — 2014. — № 7-3. — С. 621-629.

CHARACTERISTIC OF BIOAMINOCONTAINING CELLS AT INTRODUCTION OF SELF MARROW

L. A. Lyubovtseva, O. V. Vorobyeva

FSBEI HPE «Chuvash state university n. a. I. N. Ulyanov» (Cheboksary, The Chuvash Republic)

The objective of research: studying Influence of marrow heterotransplantation on distribution of neuroamines between bioaminocontaining marrow structures. *Research methods.* Under a deep etherization 1 ml of a mouse s marrow from a femur was placed in 2 ml of normal saline solution and carefully stirred. 1 ml of suspension of marrow was entered into a caudal vein of the same mouse. The cells amount was $2,1 \times 10^8$ peer 1 ml of suspension. Luminescent and histochemical research was performed after that. *Results of research.* During the experiment the expressed changes in marrow neuromediators are registered — the number of the granular luminescing cells with decrease of quantity of granules in them and decrease of number of mast cells owing to their destruction is enlarged. Marrow autotransplantation leads to redistribution of catecholamines and serotonin in structures of marrow that changes the direction of cellular cytodifferentiation, changes the content of neuroamines in granular luminescing cells and mast cells.

Keywords: autotransplantation, catecholamines (CA), serotonin (ST), histamine.

About authors:

Lyubovtseva Lyubov Alekseevna — doctor of biological science, professor, head of chair of general and clinical morphology and forensic medicine at FSBEI HPE «Chuvash state university n. a. I. N. Ulyanov», e-mail: olavorobeva@mail.ru

Vorobyeva Olga Vasilyevna — candidate of medical science, assistant professor of chair of general and clinical morphology and forensic medicine at FSBEI HPE «Chuvash state university n. a. I. N. Ulyanov», e-mail: olavorobeva@mail.ru

List of the Literature:

1. Agafonkin S. A. Research of biogenic amines and bioaminocontaining marrow structures of the person at disturbance of hematopoiesis : theses.... cand. of medical science / S. A. Agafonkin. — M., 2006. — 25 p.
2. Identification of luminescing granular cells of thymus with dendritic macrophages / D. S. Gordon [et al.] // Bulletin of exper. biology and medicine. — 2001. — Vol. 132, N 7. — P. 118-120.
3. Zakharova L. A. Mediators of neuroimmune interaction / L. A. Zakharova, R. V. Petrov // Results of science and equipment. Series. Immunology. — 1990. — Vol. 25. — P. 6-7.
4. Kondrashevskaya M. V. Mast cells and heparin — key links in adaptive and pathological processes / M. V. Kondrashevskaya // Bulletin of the Russian Academy of Medical Science. — 2010. — N 6. — P. 49-54.
5. Sarzhevsky V. O. Changes of digestive tract at a high-dose chemotherapy and autologous

- marrow transplantation at patients with oncohematological diseases / V. O. Sarzhevsky, E. G. Smirnova, V. Y. Melnichenko // Clin. haemato-oncology. Fundam. researches and clin. practice. — 2014. — Vol. 7, N 3. — P. 343-353.
6. Smelova I. V. Features of migration of mast cells / I. V. Smelova, Z. A. Goloshchapov, G. K. Popov // Bulletin of Southern ural state university. Series. Education, health care, physical culture. — 2012. — N 42 (301). — P. 121-123.
 7. Influence of histamine on regulation of immunologic reactivity at the person / O. A. Stavinskaya [et al.] // Bulletin of Northern (Arctic) federal university. Series. Natural sciences. — 2008. — N 2. — P. 35-40.
 8. Schur V. Y. Serotonin : biological properties and prospects of clinical application / V. Y. Schur, M. A. Samotrueva, M. V. Mazhitova // Fundam. researches. — 2014. — N 7-3. — P. 621-629.