

МЕЖОРГАННЫЕ КОРРЕЛЯЦИОННЫЕ СВЯЗИ МЕЖДУ КОСТНЫМ МОЗГОМ И АППЕНДИКСОМ ПРИ АУТОТРАНСПЛАНТАЦИИ

[Л. А. Любовцева, О. В. Воробьева](#)

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

Цель исследования: изучение межорганных связей между костным мозгом и аппендиксом при аутопересадке. *Методы исследования.* Мышам производили аутопересадку путем внутривенного введения суспензии костного мозга, полученной от этой же мыши. В дальнейшем производили люминесцентно-гистохимическое исследование. *Результаты исследования.* У опытных мышей отмечено увеличение числа гранулярных люминесцирующих клеток с уменьшением количества гранул в них и уменьшением числа тучных клеток вследствие их разрушения. В миелограмме увеличиваются бластные формы клеток. В аппендиксе также отмечается увеличение содержания нейтрофилов. Отмечены корреляционные связи в костном мозге и аппендиксе. *Выводы:* 1) появляются новые центры размножения; 2) выявлены усиленные межорганные корреляционные связи между костным мозгом и аппендиксом.

Ключевые слова: аутотрансплантация, катехоламины, серотонин, гистамин, аппендикс.

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

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», e-mail: olavorobeva@mail.ru

Актуальность проблемы. Трансплантация костного мозга используется для лечения многих гематологических, онкологических заболеваний [3, 4]. В последнее время в патогенезе онкозаболеваний огромное значение придается морфологическим структурам, участвующим в местной регуляции органов. Для регуляции этих процессов большое значение имеют нейтрофины, которые вырабатываются этими структурами [1,

2]. Костный мозг, как известно, является универсальным органом иммуногенеза и кроветворения и оказывает большое влияние на соответствующие периферические органы. Он является и донором кроветворных клеток, и донором биологически активных веществ, которые в нем образуются [5, 6]. Аппендикс является периферическим органом иммуногенеза, чрезвычайно насыщенным лимфоцитами, которые находятся как в свободном состоянии, так и в лимфоидных узелках. Поэтому *целью нашего исследования* явилось изучение межорганной корреляционной связи между костным мозгом и аппендиксом после трансплантации.

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 нейромедиаторов 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 — аутогенная пересадка костного мозга — животным этой группы внутривенно вводили суспензию костного мозга, полученную от этой же мыши.

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 тучные клетки (ТК) после их изучения по Кроссу, Евена, Роста (1971) и цитоспектрофлуориметрии обрабатывали полихромным толудиновым 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.

Результаты исследования и обсуждения. У экспериментальных животных через 15 мин от начала эксперимента в костном мозге увеличивается число гранулярных люминесцирующих клеток (ГЛК) до 8,2 на одно поле зрения вместо 3–4-х ($p < 0,05$) и ТК до 4-х вместо 1-й — 2-х ($p < 0,05$), по сравнению с интактными животными, с повышенным содержанием в них КА и СТ. Увеличивается число гистаминсодержащих гранулярных клеток. При этом содержание гистамина в них почти не изменилось.

Через 40 мин в мазках костного мозга число ГЛК остается повышенным до 7-ми на одно поле зрения. Выявляются ГЛК — мелкие с компактно расположенными гранулами (макрофаги), другие — крупные с рыхло расположенными разнокалиберными гранулами, в которых люминесцируют 2–3 гранулы. Остальные гранулы перестают люминесцировать, т. е. моноамины выходят из гранул, вследствие чего наблюдается увеличение диффузности свечения межклеточных пространств.

Число ТК снижено до 16-ти на одно поле зрения, однако содержание КА и СТ в них повысилось в 2 раза (табл. 1).

Выявляется много дегранулированных ТК. Нервные волокна располагаются в виде петель, около которых находятся ГЛК и ТК.

Таблица 1

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

Название клеток	Содержание нейроаминов, усл. ед.					
	КА		СТ		Гистамин	
	Интактные	Ауто	Интактные	Ауто	Интактные	Ауто
ГЛК	15,6 ± 0,1	18,1 ± 0,1	14,1 ± 0,1	19,2 ± 0,2	31,6 ± 0,3	34,6 ± 0,3
ТК	19,6 ± 0,2	22,3 ± 0,2	21,3 ± 0,4	23,1 ± 0,4	28,1 ± 0,2	34,3 ± 0,2

Примечание: даны среднеарифметические цифры ± амплитуда колебания содержания веществ, $p < 0,05$

Выявляются лимфоциты с ярко люминесцирующими и тусклыми ядрами. У юных и палочкоядерных нейтрофилов начинают слабо люминесцировать ядра. Отмечается увеличение интенсивности свечения цитоплазмы мегакариоцитов, т. е. идет активация иммунной реакции. Остальные гемопоэтические клетки практически не люминесцируют. Повышается количество размножающихся бластных форм с ростом в некоторых из них КА и СТ.

Через 40 мин 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. Увеличивается число гистаминсодержащих гранулярных клеток в 2 раза, однако число ТК снижается с повышением гистамина в оставшихся. Выявляется увеличение содержания гистамина в цитоплазме базофильных мегакариоцитов.

В слизистой оболочке аппендикса отмечалось увеличение числа ТК, число гранулярных клеток осталось без изменений с повышенным содержанием КА и СТ в них.

В лимфоидных узелках также произошло увеличение числа ТК и гранулярных клеток с увеличенным содержанием КА и СТ. Отмечено снижение содержания гистамина в гранулярных клетках, ТК слизистой оболочки, лимфоидного узелка, макрофагах (табл. 2).

Нейромедиаторные взаимодействия в ГЛК и ТК аппендикса после аутоотрансплантации. В гранулярных клетках аппендикса сильные корреляционные связи в паре СТ — гистамин. В ТК усилилась положительная связь между КА — СТ.

Произошло усиление серотонинового индекса как в гранулярных клетках, так и в ТК больше единицы, т. е. большинство процессов размножения и дифференцировки клеток сдерживаются выделяющимся СТ.

Таблица 2

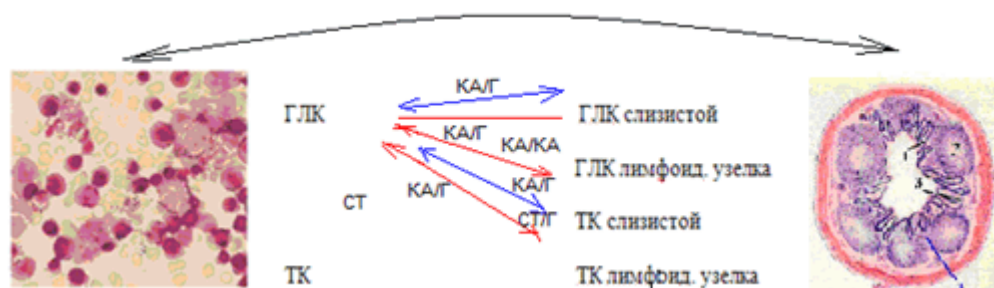
Содержание биогенных аминов в аппендиксе мышей в норме и через 40 мин после аутоотрансплантации костного мозга (усл. ед.)

Структуры	Интактные мыши			Аутопересадка		
	КА	СТ	Гистамин	КА	СТ	Гистамин

<i>t. mucose</i>						
ГЛК	6,5 ± 0,4	13,4 ± 0,8	22,4 ± 1,6	6,8 ± 0,3	13,8 ± 0,4	18,6 ± 1,8
ТК слизистой	8,0 ± 1,2	11,1 ± 1,7	21,2 ± 0,3	8,6 ± 1,4	11,6 ± 1,6	18,1 ± 1,6
Микроокружение	4,4 ± 0,6	6,5 ± 0,8	16,2 ± 0,8	5,4 ± 0,2	9,6 ± 0,6	8,6 ± 0,5
<i>t. s/mucose</i>						
ТК лимфоидного узелка	3,9 ± 0,4	5,8 ± 0,6	13,4 ± 0,2	4,9 ± 0,5	6,2 ± 0,5	7,2 ± 0,2
Внутриузелковые ГЛК	7,1 ± 0,5	10,4 ± 1,8	16,2 ± 0,7	8,5 ± 0,3	12,1 ± 0,3	8,3 ± 0,6
Береговые макрофаги	9,0 ± 0,8	13,7 ± 0,9	19,5 ± 1,1	17,2 ± 2,3	26,8 ± 3,4	8,1 ± 1,5

Примечание: даны среднеарифметические цифры ± амплитуда колебания нейроаминов, $p < 0,05$

При исследовании межорганных взаимодействий при аутотрансплантации между костным мозгом и аппендиксом выявлено, что имеются сильные корреляционные связи между гранулярными клетками костного мозга и гранулярными клетками, ТК аппендикса при помощи КА и гистамина (см. рисунок).



Межорганные взаимодействия между нейроаминами в ГЛК и ТК в костном мозге и аппендиксе после аутотрансплантации; синим цветом указаны отрицательные связи, красным — положительные

Через 15 мин увеличивается содержание *индолсодержащих веществ* в костном мозге в гранулах эозинофилов, в ядрах эритробластов и лимфоцитов и снижается его содержание в гранулах нейтрофильного ряда и ТК.

Через 40 мин в мазках костного мозга мышей индолсодержащие вещества определяются также в основном в ядрах клеток. Происходит группировка сходных клеток, и определяются группы лимфоцитов, окрашенные более интенсивно. Наблюдается увеличение числа митозов практически во всех видах клеток.

Через 40 мин в аппендиксе увеличивается число гранул в энтерохромаффинных клетках, увеличивается число мелких форм аргентафинных ТК по периферии лимфоидного узелка. В самом лимфоидном узелке увеличивается число ГЛК.

В костном мозге увеличивается содержание *нейроспецифической енолазы* в ТК, число которых возросло более чем в 1,5 раза. Причем увеличилось процентное содержание мелких компактных клеток — молодых. Число ГЛК также увеличилось за счет крупных клеток с гранулами разного размера. Произошло увеличение выявляемости клеток, принадлежащих к нейроэндокринной системе.

В аппендиксе ТК с нейроспецифической енолазой после аутотрансплантации располагались по периферии центра размножения. Синаптофизин начинает определяться

в макрофагах и, очевидно, в нервных волокнах.

Кислая фосфатаза в мазках костного мозга мышей выявляется в цитоплазме клеток нейтрофильного, эозинофильного, моноцитарного рядов, а также в лимфоцитах. Кислая фосфатаза выявляется в увеличенном количестве в макрофагах. Выявляемость кислой фосфатазы в аппендиксе слизистой оболочки увеличилась в ТК и макрофагах с ростом числа этих клеток (табл. 3). Их число возросло и в подслизистой оболочке, с увеличением активности этого фермента.

Таблица 3

**Число клеток в аппендиксе мышей на одно поле зрения (ув.: об. 90, ок. 7),
выявленных в норме и через 40 мин после трансплантации КМ**

Метод обработки	Оболочка	Клетки			Норма	Аутопересадка	
Метод Гленнера	Слизистая	ТК	Компактные		3,0 ± 1,6	6,6 ± 1,6	
			Дегранулированные		16,6 ± 2,4	17,0 ± 2,4	
			О.Ч.К.		19,6 ± 3,6	23,1 ± 3,6	
		Макрофаги			0,6 ± 0,5	0,6 ± 0,5	
	Подслизистая основа	ТК	Компактные		2,2 ± 0,6	7,0 ± 0,6	
			Дегранулированные		4,2 ± 0,3	9,4 ± 0,3	
			О.Ч.К.		5,8 ± 0,6	14,0 ± 0,7	
		Лимфоидный узелок	ТК	Компактные		1,6 ± 0,2	1,9 ± 0,2
				Дегранулированные		4,2 ± 0,3	5,7 ± 0,3
				О.Ч.К		5,8 ± 0,6	6,4 ± 0,6
Макрофаги				10,4 ± 0,8	—		
Мышеч-ная	ТК (компактные)			3,0 ± 0,7	4,5 ± 0,7		
Метод одновре-менного азо-сочетания с эфирами нафтолов AS	Слизистая	ТК крипт			14,4 ± 1,2	15,1 ± 1,2	
		Макрофаги			0,6 ± 1,2	0,7 ± 1,2	
	Подслизистая основа	ТК подслизистой			11,8 ± 1,6	14,9 ± 1,6	
		Лимфоидный узелок	ТК		6,2 ± 0,2	7,0 ± 0,2	
			Макрофаги		12,2 ± 1,0	14,1 ± 1,0	
	Мышечная	ТК (компактные)			2,2 ± 0,6	3,7 ± 0,6	
		Макрофаги			—	—	

При окраске препаратов на углеводы по Унна большинство гемопозитических клеток костного мозга окрашены одинаково ортохромно, произошло снижение сульфатации гепарина, за исключением клеток эозинофильного ряда, где в цитоплазме выявляется легкая метакромазия. ТК окрашены В-метакроматично, 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 митотически делящиеся лимфоциты. В миелограмме увеличивается как число лимфобластов с 12,5 до 16,8, так и бластных форм клеток с 3,4 до 5,2.

Итак, в костном мозге через 40 мин после аутогенной пересадки увеличивается число ГЛК и снижается число ТК с увеличением биоаминов в оставшихся. Повышается дегрануляция тучных и выход нейроаминов из гранул гранулярных клеток в межклеточное пространство. Из чего следует, что в межклеточном пространстве оказываются нейроамины, которые оказывают соответствующее влияние на гемопоэтические клетки костного мозга.

Выводы

1. Выявлена межорганная корреляционная связь между костным мозгом и аппендиксом.
2. Увеличивается число митозов, образуются шаровидные скопления морфологически одинаковых клеток.

Список литературы

1. Захарова Л. А. Медиаторы нейроиммунного взаимодействия / Л. А. Захарова, Р. В. Петров // Итоги науки и техники. Сер. Иммунология. — 1990. — Т. 25. — С. 6-7.
2. Любовцева Е. В. Биоаминсодержащие структуры костного мозга при системных заболеваниях крови / Е. В. Любовцева, Л. А. Любовцева // Морфология. — 2012. — № 3. — С. 95-96.
3. Репин В. С. На пути к расшифровке кодов эмбриональных стволовых клеток / В. С. Репин, И. Н. Сабурина // Клеточная Трансплантология. — 2008. — № 3. — С. 30-35.
4. Савченко В. Г. Трансплантация костного мозга в онкогематологии / В. Г. Савченко // Клин. онкогематология. Фундам. исследования и клин. практика. — 2010. — Т. 3, № 4. — С. 478-479.
5. Metcalfe D. D. Mast cells / D. D. Metcalfe, D. Baram, Y. Mekori // Physiol. Rev. — 1997. — Vol. 77. — P. 1033-1079.
6. Mesenchymal Stem Cell-Derived Molecules Reverse Fulminant Hepatic Failure / B. Parekkadan [et al.] // Biochem. Biophys. Res. Commun. in press. — 2007. — N 9. — P. 941-947.

INTERORGAN CORRELATION RELATIONSHIP BETWEEN MARROW AND APPENDIX AT AUTOTRANSPLANTATION

[*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 of interorgan relationship between marrow and appendix at autotransplantation. *Research methods.* Autotransplantation at mice by intravenous administration of the suspension of marrow received from the same mouse was performed. Further made Luminescent and histochemical research was conducted later. *Results of research.* The increase in number of granular luminescing cells with reduction of quantity of granules in them and reduction of number of corpulent cells owing to their destruction is registered at trial mice. Blast forms of cells increase in myelogram. The increase of neuroamines is also registered in appendix. Correlation relationship in marrow and appendix are distinguished. *Conclusions:* 1) new centers of multiplication come into sight; 2) strengthened interorgan correlation relationship between marrow and appendix are revealed.

Keywords: autotransplantation, catecholamines, serotonin, histamine, appendix.

About authors:

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

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

List of the Literature:

1. 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.
2. Lyubovtseva of E. V. Bioamin-containing structure of marrow at system diseases of blood / E. V. Lyubovtseva, L. A. Lyubovtseva // Morphology. — 2012. — N 3. — P. 95-96.
3. Repin V. S. On the way to interpretation of codes of embryonic stem cells / V. S. Repin, I. N. Saburina // Cellular Transplantation. — 2008. — N 3. — P. 30-35.
4. Savchenko V. G. Transplantation of marrow in haematooncology / V. G. Savchenko // Clin. haematooncology. Fundam. researches and clin. practice. — 2010. — Vol. 3, N 4. — P. 478-479.
5. Metcalfe D. D. Mast cells / D. D. Metcalfe, D. Baram, Y. Mekori // Physiol. Rev. — 1997. — Vol. 77. — P. 1033-1079.
6. Mesenchymal Stem Cell-Derived Molecules Reverse Fulminant Hepatic Failure / B.

Parekkadan [et al.] // Biochem. Biophys. Res. Commun. in press. — 2007. — N 9. — P. 941-947.