

# НЕЙРОАМИННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ МЕЖДУ КОСТНЫМ МОЗГОМ И АППЕНДИКСОМ ПРИ АЛЛОТРАНСПЛАНТАЦИИ

*[О. В. Воробьева, Л. А. Любовцева](#)*

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

*Цель исследования:* изучение влияния аллопересадки костного мозга на распределение биогенных аминов между биоаминосодержащими структурами костного мозга и аппендикса. *Методы исследования.* Мышам внутривенно вводили суспензию костного мозга, полученную от мыши другой линии (аллотрансплантация). Извлекали костный мозг и аппендикс. В дальнейшем производили люминесцентно-гистохимическое исследование. *Результаты исследования.* Аллопересадка до 40 мин сопровождается активацией клеток-регуляторов, после происходит супрессия синтеза нейроаминов, гранулярные люминесцирующие и тучные клетки постепенно перестают синтезировать нейроамины. В аппендиксе, наоборот, наблюдался синтез биогенных аминов в клетках-регуляторах, что сопровождалось увеличением их содержания в гранулярных и тучных клетках. Имеется корреляционная зависимость между костным мозгом и аппендиксом. *Выводы:* выявлена нейроаминная регуляция в костном мозге и аппендиксе при помощи гранулярных люминесцирующих и тучных клеток с увеличением числа клеток-регуляторов, а в них — нейроаминов.

*Ключевые слова:* аллотрансплантация костного мозга, катехоламины, серотонин, гистамин, гранулярные люминесцирующие клетки, тучные клетки, 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.* В настоящее время на Земле повышен радиационный фон в силу

многих причин, зависящих и от человека, и от всевозможных естественных причин. В силу этого имеется напряжение в органах, отвечающих за кроветворную и иммунную системы [2]. Участились случаи поражения кроветворной системы, в том числе костного мозга [3]. Необходимо изыскивать варианты помощи таким пациентам. Наиболее известная помощь — это пересадка костного мозга. Однако здесь возникают проблемы. Свой костный мозг может оказаться уже неспособным восстанавливаться, а если его изымать, то в этом случае объем взятия его довольно большой. Необходимо или находить какие-то заменители, или привлекать в какой-то мере свои собственные кроветворные органы. Одним из таких органов может оказаться аппендикс [2, 5]. С одной стороны, его можно изъять без особых проблем, с другой стороны, он, по данным литературы, содержит и бластные формы клеток и, возможно, вещества и структуры, активирующие свою кроветворную систему [1, 4, 7, 8].

Вследствие названных причин изучение структур, содержащих нейромедиаторы, которые являются одним из регуляторных звеньев организма при трансплантации красного костного мозга, в настоящее время является очень актуальным.

*Цель исследования:* изучение влияния аллопересадки костного мозга на распределение биогенных аминов между биоаминосодержащими структурами костного мозга и аппендикса.

*Материал и методы исследования.* Опытные животные были разделены на 2 группы: первая группа — интактные мыши ( $n = 15$ ), вторая группа — животным этой группы внутривенно вводили суспензию костного мозга, но полученную от мыши другой линии (аллотрансплантация). Под глубоким эфирным наркозом у животных брали костный мозг и аппендикс через 40 мин. Все процедуры по уходу осуществлялись по нормам и правилам обращения с лабораторными животными [6]. Белые мыши содержались в обычных условиях вивария в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985), правилами лабораторной практики в Российской Федерации (Приказ МЗ РФ от 19.06.2003 № 267).

Использовались методы исследования: люминесцентно-гистохимический метод Кросса, Эвена, Роста для выявления гистамина. Для избирательного выявления катехоламинов (КА) и серотонина (СТ) применялся люминесцентно-гистохимический метод Фалька-Хилларпа. Количественно уровень КА, СТ и гистамина в структурах оценивались с помощью цитоспектрофлуориметрии. Представление о количественном распределении тучных клеток (ТК) и гранулярных люминесцирующих клеток (ГЛК) дает метод подсчета их в 5-ти полях зрения микроскопа при увеличении об. 40 ок. 10. Окраска полихромным толуидиновым синим по Унна применяли для определения степени сульфатированности гепарина и состояния ТК. Ортохромную (голубую) окраску дает моно- и дисульфатированный, незрелый гепарин. Бета-метахроматическую (чернильно-фиолетовую) дает трехсульфатированный, созревающий гепарин и гамма-метахроматическая (пурпурная) окраска присуща зрелому, пентасульфатированному гепарину. Миелограмму исследовали в расчете на 500 клеток после окраски препаратов по Паппенгейму. Полученные цифровые данные обрабатывались статистически по специально разработанной программе «Statistica», версия 6.

*Результаты исследования и обсуждение.* У опытных мышей через 15 мин в костном мозге после аллопересадки отмечается снижение содержания КА и СТ в 2 раза как в ГЛК, так и в ТК. Однако выявлялись мегакариоциты, у которых содержание всех

исследованных веществ было несколько повышено. Гистаминсодержащие тучные и гранулярные клетки не обнаруживали люминесценции, т. е. не содержали гистамина.

Через 40 мин при исследовании на КА и СТ свечение было резко сниженным, наблюдалась диффузия препарата. Число тучных и гранулярных клеток было также снижено до 1-й — 2-х клеток на несколько полей зрения при иммерсионном увеличении с уменьшением в них содержания КА и СТ в 2 раза (табл. 1).

Таблица 1

**Содержание нейроаминов в биоаминсодержащих клетках через 40 мин после аллотрансплантации костного мозга**

Название клеток	Содержание нейроаминов, усл. ед.					
	КА		СТ		Гистамин	
	Интактные	Алло-	Интактные	Алло-	Интактные	Алло-
ГЛК	15,6 ± 0,1	8,8 ± 0,1	14,1 ± 0,1	9,7 ± 0,1	31,6 ± 0,3	17,6 ± 0,3
ТК	19,6 ± 0,2	10,1 ± 0,2	21,3 ± 0,4	11,3 ± 0,4	28,1 ± 0,2	12,4 ± 0,2

*Примечание:* даны среднеарифметические цифры ± амплитуда колебания содержания веществ

Через 40 мин при исследовании на гистамин в некоторых местах отмечалось резкое снижение диффузного свечения межклеточных пространств и всех основных видов клеток, в других областях происходило усиление люминесценции межклеточных пространств. Содержание гистамина повысилось в клетках эритроидного ряда, лимфоцитах и ядрах плазмоцитов. Выявлялись мегакарициты, у которых содержание всех исследованных веществ было несколько повышено. Гранулярные клетки люминесцировали темно-оранжевым цветом и выявлялись в небольшом числе, полноценных клеток было 1-2 на весь препарат, однако обнаруживались клетки, у которых люминесцировали 2-3 гранулы размером 0,05 мкм. Таких клеток было до 2-3-х на одно поле зрения.

Произошло резкое снижение числа клеток-регуляторов и числа гранул в них. Такая же картина наблюдалась и с ТК, иногда вместо клеток выявлялись темно-оранжевые тени с расположенными рядом гранулами размером 0,005 мкм. Произошел тотальный распад этих клеток. Такие клетки не содержали свободного гистамина.

При исследовании препаратов по Паппенгейму определялись одинаковые клетки, расположенные группами, среди которых имелись митотически делящиеся. Миелограмма указывает на то, что число бластных форм, клеток эритроидного ряда увеличилось. Содержание зрелых лейкоцитов резко снизилось.

Таким образом, при аллогенной пересадке в препаратах костного мозга снижается число биоаминсодержащих клеток (ГЛК и ТК), а в них содержание биогенных аминов. Аллогенная пересадка костного мозга приводит к супрессии синтеза нейроаминов.

При исследовании нейроаминов в слизистой оболочке аппендикса через 40 мин выявлялось увеличенное число мелких ТК с повышенным содержанием КА и СТ в них (табл. 2). Лимфоидные узелки были заполнены ГЛК и ТК. По краю лимфоидного узелка прослеживался краевой синус, около которого обнаруживались наиболее крупные гранулярные клетки, имеющие наиболее интенсивное свечение. Гранулярные клетки были небольшого размера, располагались преимущественно по периферии центра

размножения. ТК обнаруживались как и по периферии центра размножения, так и внутри него. Наблюдалось увеличение числа ТК, однако содержание гистамина в них уменьшилось. В лимфоидных узелках наблюдалось увеличение числа ТК с пониженным содержанием гистамина в них. Содержание гистамина в ГЛК также снизилось.

Таблица 2

**Содержание биогенных аминов в аппендиксе мышей в норме и через 40 мин после аллотрансплантации КМ (усл. ед.)**

Структуры	Интактные мыши			Аллопересадка		
	КА	СТ	Гистамин	КА	С	Гистамин
<i>t. mucose</i>						
ГЛК	6,5 ± 0,4	13,4 ± 0,8	22,4 ± 1,6	7,1 ± 0,3	14,2 ± 1,2	17,4 ± 1,7
ТК	8,0 ± 1,0	11,1 ± 1,0	21,0 ± 0,3	8,9 ± 2,0	11,9 ± 2,8	17,0 ± 0,5
<i>t. s/mucose</i>						
ТК	3,9 ± 0,4	5,8 ± 0,6	13,4 ± 0,2	5,9 ± 0,6	11,5 ± 0,7	10,4 ± 0,2
Внутриузелковые ГЛК	7,1 ± 0,5	10,4 ± 1,8	16,2 ± 0,7	10,0 ± 0,7	13,4 ± 1,3	11,9 ± 0,5
Береговые макрофаги	9,0 ± 0,8	13,7 ± 0,9	19,5 ± 1,1	9,5 ± 0,6	14,6 ± 1,6	18,5 ± 1,1

При изучении корреляционных связей в гранулярных и ТК костного мозга выявлены все положительные связи. Сильные связи в ГЛК определялись в паре КА—СТ до 0,9, а в ТК все связи оказались сильными. Серотониновый индекс изменился незначительно (табл. 3).

Таблица 3

**Корреляционные взаимодействия нейроаминов костного мозга в ГЛК и ТК при аллотрансплантации**

Структуры	Взаимодействия	Сроки после трансплантации	
		Интактные	40 мин
ГЛК	КА/СТ	-0,9	0,9
	СТ/гистамин	0,4	0,5
	КА/гистамин	-0,5	0,5
	Серотониновый индекс	0,9	1,1
ТК	КА/СТ	0,9	0,9
	СТ/гистамин	0,8	0,8
	КА/гистамин	-0,7	0,75
	Серотониновый индекс	1,09	1,1

Анализируя данные межорганных взаимодействий между КМ и аппендиксом выявлено, что постепенно происходит выход нейроаминов в межклеточное пространство из ГЛК и дегрануляция ТК. Нейроамины оказываются вместе. В результате чего происходит взаимодействие веществ по пути, отличному от интактных животных. Этот процесс сказывается и на дифференцировке клеток к 40 мин при аллотрансплантации.

В аппендиксе число положительных клеток на синаптофизин в эпителии уменьшается,

а в слизистой и лимфоидных узелках увеличивается в 2,1 раза. Появляются дополнительные лимфоидные узелки, где эти клетки располагаются как по периферии узелков, так и в центре размножения.

При исследовании на моноаминоксидазу в костном мозге отмечается резко увеличенное содержание в тучных и гранулярных клетках, в эозинофилах, макрофагах, в межклеточном пространстве. В гранулярных клетках моноаминоксидаза определяется в единичных гранулах.

В аппендиксе моноаминоксидаза в слизистой оболочке обнаруживалась в ТК. Дегранулированные формы, как правило, преобладали, около них можно было наблюдать свободнолежащие черные гранулы. Кроме них в криптах обнаруживались и макрофаги, число которых, как и в срезах, обработанных на кислую фосфатазу, было невелико и составляло в среднем 0,5 клеток на поле зрения. Активность моноаминоксидазы в ТК и макрофагах увеличилась незначительно. В подслизистой основе ТК преимущественно располагались по краю лимфоидного узелка, их число было увеличено, активность моноаминоксидазы в них имела тенденцию к повышению (табл. 4).

Таблица 4

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

Метод	Оболочка	Клетки		Норма	Алло-пересадка	
Метод Гленнера	Слизистая	ТК	Компактные	3,0 ± 1,6	8,1 ± 1,6	
			Дегранулированные	16,6 ± 2,4	17,6 ± 2,4	
			О.Ч.К.	19,6 ± 3,6	25,5 ± 3,6	
	Подслизистая основа	ТК	Компактные	2,2 ± 0,6	8,6 ± 0,6	
			Дегранулированные	4,2 ± 0,3	13,6 ± 0,3	
			О.Ч.К.	5,8 ± 0,6	16,6 ± 0,7	
		Лимфоидный узелок	ТК	Компактные	1,6 ± 0,2	2,1 ± 0,2
				Дегранулированные	4,2 ± 0,3	6,0 ± 0,3
				О.Ч.К.	5,8 ± 0,6	7,8 ± 0,6
Макрофаги		10,4 ± 0,8	11,4 ± 0,8			
Мышечные	ТК (компактные)		3,0 ± 0,7	4,7 ± 0,7		
Метод одновременного азосочетания с эфирами нафтолов AS	Слизистая	ТК крипт		14,4 ± 1,2	15,4 ± 1,2	
		Макрофаги		0,6 ± 1,2	0,8 ± 1,2	
	Подслизистая основа	ТК подслизистой		11,8 ± 1,6	15,8 ± 1,6	
		Лимфоидный узелок	ТК	6,2 ± 0,2	7,9 ± 0,2	
			Макрофаги	12,2 ± 1,0	14,9 ± 1,0	
	Мышечные	ТК (компактные)		2,2 ± 0,6	4,6 ± 0,6	

При реакции на кислую фосфатазу в костном мозге этот фермент обнаруживался в моноцитах, сегментоядерных нейтрофилах, т. е. происходила активация процессов утилизации излишков нейроаминов и, возможно, гибнущих клеток.

В аппендиксе активность кислой фосфатазы в ТК, энтерохромаффинных клетках снизилась. В подслизистой основе, мышечной оболочке отмечалось увеличение выявляемого фермента (табл. 4). Клетки располагались по периферии центра размножения, число центров размножения составляло 4-5 на узелок.

При окраске по Унна через 15 мин все клетки костного мозга окрашены одинаково ортохромно. Число ТК имеет тенденцию к снижению до 1-й — 2-х клеток на несколько полей зрения.

Через 40 мин среди гемопозитических клеток определяются неправильной формы клетки с ортохромным (синим) ядром и неокрашенными гранулами разного размера. ТК имеют гамма-метахроматичную окраску, клетки тотально дегранулируют, т. е. распадаются.

#### *Выводы*

1. Выявлена активация нейроаминной регуляции в костном мозге и аппендиксе при помощи ГЛК и ТК до 40 мин. В связи с чем любые трансплантации костного мозга необходимо проводить до 40 мин путем пересадки небольшой порции собственного КМ, так как к этому времени происходит увеличение числа клеток-регуляторов, а в них — нейроаминов.
2. При аллотрансплантации костного мозга в аппендиксе увеличивается содержание нейроаминов. Активированный аппендикс можно использовать для выделения из него лимфоцитов и клеток-регуляторов и вводить пациенту отдельно либо вместе со стволовыми клетками.

#### *Список литературы*

1. Баглай Е. О. Тучные клетки ключевые участники патогенеза иммуновоспалительных заболеваний / Е. О. Баглай // Научно-практическая ревматология. — 2015. — № 2 (53). — С. 182-189.
2. Бахмет А. А. Влияние некоторых иммунопептидов на иммунные структуры лимфоидных бляшек тонкой кишки (экспериментальное исследование) / А. А. Бахмет // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. — 2008. — Т. 18, № 5. — С. 38-44.
3. Готье С. В. Донорство и трансплантация органов в Российской Федерации в 2013 году (VI сообщение реестра Российского трансплантологического общества) / С. В. Готье // Вестн. трансплантологии и искусственных органов. — 2014. — XVI, № 2. — С. 8-22.
4. Гусельникова В. В. Происхождение тучных клеток: современное состояние проблемы / В. В. Гусельникова // Вопр. морфологии XXI века. — 2010. — № 2. — С. 108-115.
5. Костиленко Ю. П. Структурно-функциональная характеристика червеобразного отростка людей в возрастном аспекте / Ю. П. Костиленко // Мир медицины и биологии. — 2012. — Т. 8, № 2. — С. 103-106.
6. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях/ под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. М.: Медицина. 2010. — 344с.
7. Agarwala S. Histamine dihydrochloride: inhibiting oxidants and synergising IL-2-mediated immune activation in the tumour microenvironment / S. Agarwala // Expert Opin Biol. Ther. — 2001. — Sep. 1 (5). — P. 869-879.
8. Claas F. H. J. TCR cross-reactivity and allorecognition: new insights into the immunogenetics of allorecognition / F. H. J. Claas // Immunogenetics. — 2012. — Vol. 64. — P. 77-85.

# NEUROAMINE REGULATION BETWEEN MARROW AND APPENDIX AT ALLOTRANSPLANTATION

*O. V. Vorobyeva, L. A. Lyubovtseva*

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

*The objective of research:* studying of influence of marrow allotransplantation on distribution of biogenous amines between bioaminocontaining structures of marrow and appendix.

*Research methods.* Mice were intravenously entered the marrow suspension received from a mouse of other line (allotransplantation). Marrow and appendix were exhausted.

Luminescent and histochemical research was made after that. *Results of research.*

Allotransplantation up to 40 min is followed by activation of cells regulators, after there is a suppression of neuroamines synthesis, granular luminescing and corpulent cells gradually cease to synthesize neuroamines. In appendix, on the contrary, synthesis of biogenous amines in cells regulators was observed that was followed by increase in their contents in granular and corpulent cells. There is a correlation dependence between marrow and appendix.

*Conclusions:* neuroamine regulation in marrow and appendix by means of the granular luminescing and corpulent cells with increase in number of cells regulators, and in them — neuroamines is revealed.

**Keywords:** allotransplantation of marrow, catecholamines, serotonin, histamine, granular luminescing cells, corpulent cells, 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. Baglay E. O. Corpulent cells key participants of pathogenesis of immunoinflammatory diseases / E. O. Baglay // Scientific and practical rheumatology. — 2015. — N 2 (53). — P. 182-189.
2. Bakhmet A. A. Influence of some immunopeptides on immune structures of lymphoid plaques of small intestine (pilot study) / A. A. Bakhmet // Rus. Journal of gastroenterologies, hepatology, coloproctology. — 2008. — Vol. 18, N 5. — P. 38-44.
3. Gaultier S. V. Donorship and organ transplantation in the Russian Federation in 2013 (the VI message of the register of the Russian transplantological society) / S. V. Gaultier // Buletting of transplantology and artificial organs. — 2014. — XVI, N 2. — P. 8-22.
4. Guselnikova V. V. Origin of corpulent cells : current state of a problem / V. V. Guselnikova //

Issues of morphology of the XXI century. — 2010. — N 2. — P. 108-115.

5. Kostilenko Y. P. Structurally functional characteristic of worm-shaped shoot of people in age aspect / Y. P. Kostilenko // *World of medicine and biology*. — 2012. — Vol. 8, N 2. — P. 103-106.
6. The guidance to laboratory animals and alternative models in biomedical technologies / under the editorship of N. N. Karkishchenko, S. V. Grachev. — M. : Medicine, 2010. — 344 p.
7. Agarwala S. Histamine dihydrochloride: inhibiting oxidants and synergising IL-2-mediated immune activation in the tumour microenvironment / S. Agarwala // *Expert Opin Biol. Ther.* — 2001. — Sep. 1 (5). — P. 869-879.
8. Claas F. H. J. TCR cross-reactivity and allorecognition: new insights into the immunogenetics of allorecognition / F. H. J. Claas // *Immunogenetics*. — 2012. — Vol. 64. — P. 77-85.