

## ОСОБЕННОСТИ НЕЙРОАМИННОГО ФОНА ПРИ АУТОТРАНСПЛАНТАЦИИ КОСТНОГО МОЗГА

**Воробьева О.В.**

*ФГОУ ВПО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова», медицинский факультет, Чебоксары, Россия (428000, Россия, Чебоксары, Московский проспект, 45), olavorobeva@mail.ru*

В настоящей работе описаны некоторые особенности нейроаминов после аутотрансплантации костного мозга, позволяющие в дальнейшем использовать вещества, стимулирующие функции нарушенных нейромедиаторов, что приведет к регуляции тканевых процессов. Объектом исследования служили 40 мышей, 20 из которых проводили аутотрансплантацию костного мозга. В эксперименте отмечаются 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 (клетках автономной регуляции органов). Изменяется активность нейроспецифической енолазы.

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

## FEATURES NEYROAMINNOGO BACKGROUND WHEN AUTOLOGOUS BONE MARROW TRANSPLANTATION

**Vorobeva O.V.**

*Chuvash state University. n.a. I.N. Ulyanov, medical faculty, Cheboksary, Russia (428000, Russia, Cheboksary, Moscow Avenue, 45), olavorobeva@mail.ru*

This paper describes some of the features neuroaminov after autologous bone marrow to allow further use of the substance stimulates the function of neurotransmitters broken, resulting in the regulation of tissue processes. The object of the study were 40 mice, 20 of which were performed autologous bone marrow transplantation. In the experiments the marked changes in neurotransmitters bone marrow - increased number of granular luminescent cells with decreasing amounts of the granules and the decrease in their number of mast cells due to their destruction. Autologous bone marrow transplantation leads to a redistribution of the structures of the bone marrow of catecholamines and serotonin, which changes the direction of cytodifferentiation cells changes the content neyroaminov in granular luminescent cells and mast cells (cells of autonomic regulation). Changes activity neuron specific enolase

Keywords: autologous bone marrow, catecholamines (CA), serotonin (ST), granular luminescent cells (HCA), mast cells (MC)

В последнее время для лечения онкологических, гематологических заболеваний используется трансплантация костного мозга [5], целью которой является восстановление кроветворения больного после применения цитостатиков в массивных дозах и лечебного облучения вследствие приживления введенных костномозговых клеток. Одновременно с максимальным уничтожением опухолевой ткани при трансплантации костного мозга подавляется и иммунитет больного.

Развитие иммунной реакции в организме сопровождается значительными изменениями содержания катехоламинов, серотонина, гистамина как в крови, так и в тканях [2, 4, 6]. Изменение их количества приводит к изменению скорости пролиферации и



толлуидиновым синим по А. Унну. Окраска по А. Унну применялась для определения сульфатированности гепарина и состояния тучных клеток.

5. Иммуногистохимическое исследование с антителами к нейроспецифической енолазе (Производство Daco, USA). Ядра клеток докрашивались гематоксилином. Подсчитывалось количество иммуноположительных клеток на 1 мм<sup>2</sup>.

6. С помощью гистохимической окраски по Гленнеру выявляли моноаминоксидазу (МАО) – фермент, осуществляющий ингибирование нейроаминов (Glenner G.G. et al., 1957).

7. Методом одновременного азосочетания с эфирами нафтолов AS определяли кислую фосфатазу (КФ), выявляли клетки, способные к фагоцитозу (в основном макрофаги).

8. Методом Массона—Фонтаны выявляли несвободный серотонин и его предшественников (индолсодержащие вещества).

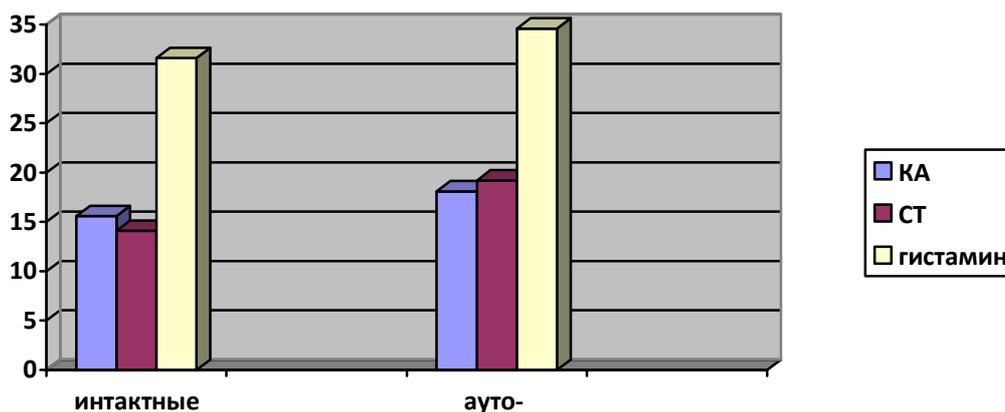
10. Цифровые результаты, полученные в ходе научной работы, подвергались статистической обработке посредством специально разработанной программы «Statistica», версия 6 (Copyright@Stat Soft, 19842001, ИПЧИ 31415926535897).

#### **Результаты исследования и их обсуждение**

В эксперименте проследим динамические изменения у опытных мышей по содержанию нейроаминов в ГЛК костного мозга. Так, через 15 мин от начала опыта в мазках костного мозга увеличивается число ГЛК до 8,2 вместо 3–4 на одно поле зрения и тучных клеток до 4 вместо 1–2 в сравнении с интактными животными. Содержание катехоламинов и серотонина в них повысилось в 2 раза.

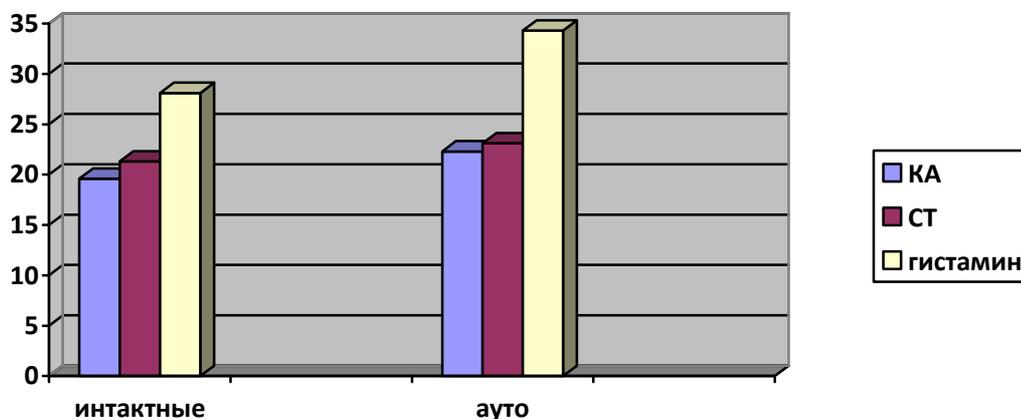
При исследовании моноаминов через 40 мин после аутогенной пересадки костного мозга в мазках костного мозга число ГЛК остается повышенным: до 5–7 вместо 3–4 на одно поле зрения. Увеличено содержание катехоламинов, серотонина и гистамина (диаграмма 1).

Выявляются ГЛК 2 типов – одни 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.



*Диаграмма 1. Содержание нейроаминов в ГЛК через 40 мин после трансплантации*

Число тучных клеток снижено до 16 на весь препарат. Содержание КА и серотонина в них повысилось в 2 раза (диаграмма 2). Нервные волокна располагаются в виде петель, около которых находятся ГЛК и тучные клетки. Выявляются две 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.



*Диаграмма 2. Содержание нейроаминов в ТК через 40 мин после трансплантации*

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

Увеличивается содержание нейроспецифической енолазы в тучных клетках, число которых возросло более чем в 1,5 раза. Причем увеличилось процентное содержание мелких компактных клеток – молодых. Число гранулярных клеток также увеличилось за счет

крупных клеток с гранулами разного размера. Предположительно, при аутопересадке костного мозга через 40 мин произошло увеличение выявляемости клеток, принадлежащих к АПУД-системе.

Таким образом, в препаратах костного мозга мышей снижается число тучных клеток вследствие их разрушения и повышается число ГЛК, а в них — содержание биогенных аминов.

Часть тучных клеток становятся высокосульфатированными. Нейроамины накапливаются в межклеточном веществе. Вследствие этого увеличивается число митозов, образуются шаровидные скопления морфологически одинаковых клеток, по периферии которых располагаются ГЛК.

Происходит увеличение моноаминоксидазы практически во всех формах клеток, за исключением некоторых лимфоцитов, которые образуют шаровидные скопления. В большом количестве моноаминоксидаза распределяется по ходу нервных волокон, выявляемость которых увеличилась. Число гранулярных и тучных клеток увеличилось по сравнению с интактными животными, а в них — содержание моноаминоксидазы.

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.

Через 40 мин после аутопересадки увеличивается содержание несвободного СТ в гранулах эозинофилов, в ядрах эритробластов и лимфоцитов и снижается его содержание в гранулах нейтрофильного ряда и ТК.

Метаболиты серотонина и его производные в мазках костного мозга мышей 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. Однако идет гомеобластическое кроветворение.

При исследовании на гистамин 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.

Число гранулярных люминесцирующих клеток (ГЛК) повышено в 2 раза. Свечение ГЛК яркое, желтое, много разнокалиберных гранул. Много гистамина в цитоплазме базофильных мегакариоцитов.

Люминесцирует только один вид мелких тучных клеток – с асимметрично расположенными, как бы выпирающими, зелеными ядрами. Свечение тучных клеток совпадает с уровнем люминесценции межклеточного вещества.

Таким образом, в костном мозге через 40 мин после аутогенной пересадки костного мозга увеличивается число ГЛК и снижается число тучных клеток с увеличением биоаминов в оставшихся (табл. 3). Повышаются дегрануляция тучных клеток и выход нейроаминов из гранул ГЛК в межклеточное пространство.

При исследовании корреляционных взаимодействий между нейроaminaми в ГЛК можно видеть, что между КА и СТ возникли очень сильные взаимодействия, повысились взаимодействия между СТ и гистамином. Между КА и гистамином взаимодействия стали положительными и сильными (табл. 1).

**Таблица 1**

Корреляционные взаимодействия нейроаминов в гранулярных люминесцирующих и тучных клетках при аутотрансплантации

структуры	Взаимодействия между нейроaminaми	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 тучных клетках также все взаимосвязи стали положительными и сильными. Все это говорит о том, что происходят усиленное размножение гемопоэтических клеток и ускоренная их дифференцировка.

Серотониновый индекс ( $J_s$ ) в обеих структурах стал выше 1. Это говорит о том, что в этот процесс подключилось адренергическое звено вегетативной нервной системы.

Анализируя полученные данные, можно заключить, что при аутогенной трансплантации костного мозга в препаратах костного мозга крыс снижается число тучных и повышается количество гранулярных люминесцирующих клеток, а в них — содержание биогенных аминов. Однако истощается запас этих веществ в каждой отдельно взятой клетке.

Увеличивается люминесценция межклеточного вещества. Наблюдается активация иммунных процессов вследствие увеличения нейроаминов в межклеточном пространстве. Увеличение нейроаминов происходит в результате выхода этих веществ из ГЛК и дегранулирующих ТК. По нашим и литературным данным, повышение содержания катехоламинов приводит к увеличению бластных форм клеток, а увеличение содержания серотонина — к ускоренной дифференцировке.

### **Выводы**

1. При аутогенной пересадке костного мозга в препаратах костного мозга увеличивается число ГЛК с уменьшением количества гранул в них и уменьшением числа ТК вследствие их дегрануляции.
2. Выявляются группы ярко люминесцирующих митотически делящихся клеток.
3. Увеличивается содержание нейроаминов в межклеточном веществе.
4. Произошло увеличение выявляемости клеток, принадлежащих к АПУД-системе.

### **Список литературы**

1. Гордон Б.М. Математическое обоснование специфичности люминесцентно-гистохимических реакций на аутолюминесцентных структурах // Морфология и гистохимия тканей в норме, патологии и эксперименте. — 1982. — № 2. — С. 71–76.
2. Гордон Д.С. Идентификация люминесцирующих гранулярных клеток тимуса с дендритными макрофагами // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2001. — Т. 132, № 7. — С. 118–120.
3. Карноухов Н.А. Люминесцентные параметры ядерных клеток крови в процессе иммунного ответа организма // Биофизика. — 1984. — Т. 29, № 2. — С. 276–279.
4. Любовцева Л.А., Любовцева Е.В. Биоаминсодержащие структуры костного мозга при системных заболеваниях крови // Морфология. — 2012. — № 3. — С. 95–96.
5. Савченко В.Г. Трансплантация костного мозга в онкогематологии // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. — 2010. — Т. 3, № 4. — С. 478–479.
6. Ставинская О.А. Роль гистамина и серотонина в поддержании иммунного гомеостаза // Национальная конференция «Аллергология и клиническая иммунология — междисциплинарные проблемы». Российский Аллергологический Журнал. — 2008. — № 1. — С. 283–284.

7. Azuma, Y. Histamine inhibits chemotaxis, phagocytosis, superoxide anion production, and the production of TNF $\alpha$ , and IL 12 by macrophage via H2 receptors / Y. Azuma, M. Shinohara, P. Wang // Int. Immunopharmacol. 2001, no.9, pp. 1867–1875
8. Velazquez P., Wei B., Braun J. Surveillance B lymphocytes and mucosal immunoregulation.// Immunopathol. 2005, Vol. 26, no. 4, pp. 453–462.

**Рецензенты:**

Малышев И.И., д.м.н., профессор кафедры общей и клинической морфологии и судебной медицины ФГБОУ ВПО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова», г. Чебоксары;

Любовцева Л.А., д.б.н., профессор, завкафедрой общей и клинической морфологии и судебной медицины ФГБОУ ВПО «Чувашский государственный университет имени И.Н.Ульянова», г. Чебоксары.