

## **ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НЕЙРОАМИНОВ В СТРУКТУРАХ АППЕНДИКСА ПРИ АЛЛОТРАНСПЛАНТАЦИИ КОСТНОГО МОЗГА**

**Любовцева Л.А., Воробьева О.В., Любовцева Е.В., Романова Л.П.**

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

При лечении тяжелых гематологических, онкологических заболеваний, тяжелых иммунодефицитов стали применять аллотрансплантацию. Экспериментальными животными были мыши, которым проводили пересадку костного мозга от мыши другой линии. В опыте было выявлено, что развиваются выраженные изменения в нейромедиаторах – увеличение числа тучных клеток с ростом количества катехоламинов, серотонина и понижением гистамина в слизистой оболочке. Подслизистая основа с лимфоидными узелками, содержащими тучные клетки и гранулярные люминесцирующие клетки. Наиболее активная реакция исследуемых веществ происходит в лимфоидных узелках аппендикса. Аллотрансплантация приводит к перераспределению в структурах аппендикса гистамина, катехоламинов и серотонина, что изменяет направление дифференцировки клеток. При исследовании серотонинового индекса выявлено, что аппендикс контролируется адренергическим звеном вегетативной нервной системы.

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

## **NEUROAMINOV INTERACTIONS IN THE STRUCTURES IN APPENDIX ALLOGRAFT BONE MARROW**

**Lyubovtseva L.A., Vorobyova O.V., Lyubovtseva E.V., Romanova L.P.**

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

In the treatment of severe hematological diseases, cancer, severe immune deficiency began to apply allotransplantation. Experimental animals were mice undergoing bone marrow transplantation from a different mouse lines. The experiment revealed that develop pronounced changes in neurotransmitters - an increase in the number of mast cells with increasing amounts of catecholamines, serotonin and histamine decrease in the mucosa. Submucosa with lymphoid nodules containing fat cells and granular luminescent cells. The most active analytes reaction occurs in the lymphoid nodules appendix. Allograft leads to a redistribution of the appendix in the structures of histamine, catecholamines and serotonin, which changes the direction of cell differentiation. In the study of serotonin index revealed that the appendix is controlled by adrenergic link in the autonomic nervous system.

Keywords: bone marrow transplantation, mast cells, granular luminescent cells (GLC), catecholamine (CA), serotonin (ST), histamine.

В настоящее время для лечения гематологических, онкологических заболеваний [2] стали проводить аллогенную трансплантацию костного мозга (трансплантация от донора), при которой донорский костный мозг должен в максимальной степени генетически соответствовать тканям реципиента. Аллотрансплантация гемопоэтическими стволовыми клетками заключается в том, чтобы собственное кроветворение больного было полностью заменено донорским [5,7,9]. Полагают, что важным механизмом коррекции органных дисфункций при трансплантации клеток костного мозга служит продуцирование этими клетками различных регуляторных нейроаминов, в том числе иммунной системы, так как костный мозг является центральным органом иммуногенеза в организме и играет ведущую роль в восстановлении иммунного гомеостаза [1]. Аппендикс является периферическим

органом иммуногенеза, чрезвычайно насыщенный лимфоидными фолликулами. Отросток является иммунорецепторным органом, принимает участие в созревании В-лимфоцитов. По данным многих авторов [3,4,6] 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 по данным многих авторов являются местными регуляторами процессов, происходящих в органах.

**Цель** нашего исследования: изучение нейроаминной регуляции процессов, происходящих в структурах аппендикса после трансплантации костного мозга.

### **Материал и методы исследования**

Работа была выполнена на 70 мышах, которые, в свою очередь, были разделены на 2 группы по 35 крыс в каждой. Уход и все процедуры по уходу осуществлялись по нормам и правилам обращения с лабораторными животными. Под глубоким эфирным наркозом у животных брали аппендикс через 40 минут после трансплантации костного мозга и делали срезы.

1 группа – контрольная группа мышей, у которых небольшие колебания нейроаминов происходят до 30 минут после введения физиологического раствора в дозе 1 мл/кг массы. Вследствие этого материал после пересадок брали для изучения в основном с 40 мин после введения костного мозга.

2 группа – внутривенно вводили суспензию костного мозга, но полученную от мыши другой линии (аллотрансплантация).

### **Методы исследования**

Окраска гематоксилин – эозином (1954 г.) применялась для оценки структур аппендикса мышей. Люминесцентно-гистохимический метод Кросса, Евена, Роста (Cross S.A., Even S.W., Rost F.W., 1971) [8] для выявления гистамина. Для избирательного выявления катехоламина и серотонина применялся люминесцентно-гистохимический метод Фалька – Хилларпа в модификации Е. М. Крохиной (1969). Количественно уровень катехоламинов, серотонина и гистамина в структурах оценивались с помощью цитоспектрофлуориметрии (Карноухов В.Н., 1978). Для качественной и количественной характеристики тучных клеток срезы аппендикса обрабатывали полихромным толлуидиновым синим по Унна. Статистическую достоверность определяли критерием Стьюдента (t). Полученные цифровые данные обрабатывались статистически по специально разработанной программе «Статистика».

### **Результаты исследования**

При изучении морфологической картины аппендикса у интактных мышей было выявлено, что слизистая розовая, лимфоидные фолликулы мелкие, границы четкие, с зародышевыми центрами.

В препаратах обработанных по методу Фалька – Хилларпа в слизистой оболочке выявлялись единичные тучные клетки, обладающие яркой люминесценцией, содержащие большое количество как катехоламинов, так и серотонин, к этим клеткам подходят адренергические нервные волокна.

В собственной пластинке слизистой оболочки люминесцируют эластические волокна, которые здесь образуют густую узко-петлистую сеть. Эластические волокна не имеют, в отличие от адренергических нервных волокон, варикозных расширений.

Лимфоидные узелки имеют густую адренергическую сеть нервных волокон. Сосуды расположены по границе подслизистого и мышечного слоев и кольцеобразно располагаются около лимфоидного узелка и далее идут к криптам. В центре лимфоидных узелков находятся ГЛК, содержащие разнокалиберные гранулы. В зависимости от среза их может быть от 47 до 89. Нервные волокна с периферии доходят до 1,3 узелка. Далее на препаратах они не обнаруживаются [4] .

Выявляются клетки, содержащие крупные гранулы разного размера и разной люминесценции, их относятся к АПУД-системе. Кроме них определяются дендритные макрофаги, меньшие по размеру клетки с не светящимся ядром и одинаковой зернистостью. Их очень много – до 47 на одно поле зрения.

При исследовании аппендикса крыс на гистамин нами выявлено, что эпителий крипт имеет слабую окраску, т.е. в нем обнаруживается в очень малом количестве гистамин. Между эпителием определяются редко расположенные энтерохромоаффинные клетки, которых 3–4 на поле зрения.

Подводя итоги по содержанию нейраминов в аппендиксе крыс, наибольшее содержание катехоламинов определяется в тучных клетках, а максимальное содержание серотонина и гистамина – в ГЛК.

Таким образом, можно сказать, что лимфоидные узелки аппендикса крыс густо оплетены адренергическими нервными волокнами. В центре лимфоидных узелков адренергические нервные волокна определяются крайне редко. Среди экзокринных эпителиоцитов определяются энтерохромоаффинные клетки, а около эпителия, в собственной пластинке слизистой оболочки располагаются тучные клетки, которые находятся в тесном визуальном контакте с адренергическими нервными волокнами.

В центре лимфоидных узелков располагаются ГЛК, среди которых в небольшом числе определяются АПУД клетки, все остальные ГЛК относятся к дендритным макрофагам.

У мышей, подвергшихся аллотрансплантации, через 40 минут отмечается инфильтрация поверхностного отдела слизистой оболочки нейтрофилами, макрофагами, с примесью плазмоцитов.

В препаратах, обработанных по методу Фалька – Хилларпа, в криптах слизистой оболочки выявлялись мелкие тучные клетки, имеющие зеленую флюоресценцию. Содержание катехоламинов и серотонина в них возросло по сравнению с нормой. Эпителий крипт имел темно-зеленую флюоресценцию.

Лимфатические узелки, которые обнаруживались в подслизистой основе, были заполнены ГЛК и ТК. По краю лимфатического узелка прослеживался краевой синус, в котором обнаруживались наиболее крупные ГЛК. Как правило, эти клетки имели наиболее интенсивное свечение. Наблюдалось увеличение числа внутри узелковых ГЛК, ТК по сравнению с нормой. ГЛК небольшого размера располагались преимущественно по периферии центра размножения и имели желто-зеленую флюоресценцию. Тучные клетки обнаруживались, как и по периферии центра размножения, так и внутри его. Клетки обладали зеленой люминесценцией. Содержание биогенных аминов увеличилось в обоих типах клеток.

При обработке по методу Кросса в слизистой оболочке наблюдалось увеличение числа ТК крипт по сравнению с нормой. Светимость тучных клеток уменьшилась, в них содержание гистамина уменьшилось по сравнению с интактными мышами (таблица 1). Эпителий крипт имел зеленую флюоресценцию, содержание гистамина в нем также снизилось. В лимфоидных фолликулах наблюдалось увеличение числа тучных клеток, макрофагов по сравнению с интактными мышами. Тучные клетки имели желто-зеленую флюоресценцию. Макрофаги обладали желтой флюоресценцией, содержание гистамина в них было ниже нормы. В микроокружении содержание гистамина снизилось.

**Таблица 1**

Содержание гистамина в аппендиксе мышей в норме и через 40 мин после трансплантации костного мозга (у. е.)

Оболочка	Биогенный амин	Структура	Норма	Аллопересадка
Подслизистая основа	Гистамин	Тучные клетки лимфоидного узелка	13,4±0,2	10,4±0,2
		Внутриузелковые гранулярные люминесцирующие клетки	16,2±0,7	11,9±0,5
		Микроокружение внутриузелковых клеток	10,0±0,8	7,3±0,3
		Береговые макрофаги	19,5±1,1	18,5±1,1
		Микроокружение береговых макрофагов	8,8±0,5	13,8±0,2

## Описание нейромедиаторных взаимодействий между нейроaminaми в ГЛК и ТК лимфоидных узелков аппендикса после аллотрансплантации

При аллотрансплантации в ГЛК лимфоидных узелков между КА и СТ сильные взаимодействия, происходит разрыв связей между СТ и гистамином, и между КА и гистамином эта связь становится резко отрицательной.

Во внутриузловых ТК наблюдается усиление связи между СТ и гистамином с 0,5 до 0,9 соответственно (таблица 2).

Исследование серотонинового индекса показало, что как в ГЛК, так и в ТК Js больше 1, что говорит о том, что все процессы размножения, дифференцировки клеточных форм в оболочках аппендикса осуществляются под воздействием адренергического звена вегетативной нервной системы, под воздействием КА и СТ.

**Таблица 2**

Корреляционные взаимодействия нейроaminaов в гранулярных люминесцирующих и тучных клетках лимфоидного узелка при аллотрансплантации

структуры	Сроки после трансплантации		
	взаимодействия	интактные	40 мин
ГЛК	КА/СТ	-0,9	<b>0,8</b>
	СТ/гистамин	0,4	<b>-0,9</b>
	КА/гистамин	-0,5	-0,8
	<b>Серотониновый индекс</b>	<b>0,9</b>	<b>1,34</b>
ТК	КА/СТ	0,9	0,7
	СТ/гистамин	0,8	<b>0,9</b>
	КА/гистамин	-0,7	-0,57
	<b>Серотониновый индекс</b>	<b>1,09</b>	<b>1,45</b>

Таким образом, при исследовании аппендикса у интактных мышей выявлено, что наибольшее содержание КА и СТ определяется в ТК, а максимальное содержание гистамина – в ГЛК. Лимфоидные узелки густо оплетены адренергическими нервными волокнами. Тучные клетки мышцы поддерживают равновесие нейроaminaов в организме, поглощая их избытки.

В подслизистой оболочке были более значимые изменения, поскольку в ней имеются многочисленные лимфоидные узелки и межузловковая лимфоидная ткань между ними. Представители тучно-клеточной популяции костного мозга по мере созревания направленно мигрируют во все ткани организма, в том числе аппендикс.

При аллотрансплантации в подслизистом слое лимфоидного узелка также отмечается рост числа ТК с увеличением содержания КА, СТ и понижением гистамина. Число ГЛК увеличилось с увеличением в них КА, СТ и также снижением гистамина. КА изменяют дифференцировку и пролиферацию лимфоцитов, влияют на продукцию лимфокинов,

миграцию клеток. СТ способствует ускоренной дифференцировке клеток лимфоцитарного ряда, также их миграции из центральных органов иммунопоэза в периферические.

Результаты исследования впервые выявляют клетки-регуляторы в аппендиксе, богатыми нейротрансмиттерами, играющие в организме роль трансмиссиверов (передатчиков), и участвуют в местной, автономной регуляции органов. Также отмечаются выраженные изменения в нейромедиаторах. Наиболее активная реакция исследуемых веществ происходит в лимфоидных узелках аппендикса.

### **Выводы**

1. Слизистая оболочка с тучными клетками и гранулярными люминесцирующими клетками; подслизистая основа с лимфоидными узелками.
2. При аллотрансплантации изменяется содержание нейромедиаторов.
3. При изучении корреляционных связей между ГЛК и ТК в лимфоидном узелке аппендикса выявлено, что процессы размножения, дифференцировки клеточных форм в оболочках аппендикса осуществляется под воздействием адренергического звена вегетативной нервной системы.

### **Список литературы**

1. Гордон Д.С. Идентификация люминесцирующих гранулярных клеток тимуса с дендритными макрофагами / Д.С. Гордон, В.Е. Сергеева, А.Т. Смородченко // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2001. – Т. 132, № 7. – С. 118- 120.
2. Григорян А.С. Котрансплантация гемопоэтических и мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток при онкогематологических заболеваниях увеличивают риск развития рецидивов/ А.С. Григорян // Журнал «Клеточная Трансплантология». – 2008. – № 2. – С. 45-50.
3. Любовцева Е.В. Влияние антигенов на локализацию нейромедиаторов в ненервных структурах костного мозга / Е.В. Любовцева// Бабухинские чтения в Орле. – 2005. – С. 130-131.
4. Любовцева Л.А., Любовцева Е.В. Биоаминсодержащие структуры костного мозга при системных заболеваниях крови/ Л.А. Любовцева, Е.В. Любовцева // Морфология. – 2012. – № 3. – С. 95-96.
5. 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.

6. Ставинская О.А. Роль гистамина и серотонина в поддержании иммунного гомеостаза / О.А. Ставинская // Национальная конференция «Аллергология и клиническая иммунология – междисциплинарные проблемы» // Российский аллергологический журнал. – 2008. – № 1. – С. 283-284.
7. Abedi M., B.M Foster, K.D. Wood et al Haematopoietic stem cells participate in muscle regeneration. Br. J. Haematol. 2007, Vol. 138, no. 6, pp. 792-801.
8. Cross S.A.M., Ewen S.W.B., Rost E.W.D. A study of the methods available for the cytochemical localization of histamine by fluorescence induced with o-phthalaldehyde or acetadehude. J.Histochem. 1971, no. 6, pp. 471-476.
9. Ringden O, Blanc K. Le. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: State of the art and new perspectives. APMIS. 2005, Vol. 113, pp.813–830.
10. Parekkadan B, Daan van Poll, Kazuhiro Suganuma et al. Mesenchymal Stem Cell-Derived Molecules Reverse Fulminant Hepatic Failure. Biochem Biophys Res Commun in press. 2007, no. 9, pp. 941-947.

**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;

Иванов Л.Н., д.м.н., профессор кафедры нормальной и патологической физиологии ФГБОУ ВПО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова», г. Чебоксары.