УДК [599.323.4–114.4:616–089.843] ^591/434/2 Оригинальная статья

НЕЙРОАМИНЫ — РЕГУЛЯТОРЫ МЕСТНЫХ ПРОЦЕССОВ ПРИ АУТОПЕРЕСАДКЕ КОСТНОГО МОЗГА

О.В. Воробьева *— ФГБОУ ВПО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова», кафедра общей и клинической морфологии и судебной медицины, доцент кафедры общей и клинической морфологии и судебной медицины, кандидат медицинских наук.*

NEUROAMINES — REGULATORS OF LOCAL PROCESSES AT BONE MARROW AUTOTRANSPLANTATION

O.V. Vorobyova — *Chuvash State University n.a. I.N. Ulyanov, Department of General and Clinical Morphology and Forensic Medicine, Assistant Professor, Candidate of Medical Science.*

Дата поступления — 31.08.2015 г. Дата принятия в печать — 10.12.2015 г.

Воробьева О.В. **Нейроамины — регуляторы местных процессов при аутопересадке костного мозга. Саратовский научно-медицинский журнал 2015; 11 (4): 524–526.**

Цель: определить содержание нейроаминов (гистамина, серотонина, катехоламинов) в биоаминсодержащих структурах костного мозга после аутогенной трансплантации костного мозга. *Материал и методы***.** Животным 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. Криостатные срезы обрабатывали люминесцентно-гистохимическими методами. *Результаты.* После аутотрансплантации костного мозга 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 дегрануляции. Отмечается слабая люминесценция ядер у нейтрофилов. Возможно, это свидетельствует об активации иммунной реакции. *Заключение***.** Аутотрансплантация костного мозга приводит к перераспределению в структурах костного мозга гистамина, катехоламинов и серотонина, что изменяет направление цитодифференцировки клеток, изменяет содержание нейроаминов в гранулярных люминесцирующих клетках и тучных клетках (клетках автономной регуляции органов).

Ключевые слова: аутотрансплантация костного мозга, катехоламины, серотонин, гистамин, гранулярные люминесцирующие клетки, тучные клетки

Vorobyova OV. **Neuroamines — regulators of local processes at bone marrow autotransplantation. Saratov Journal of Medical Scientific Research 2015; 11 (4): 524–526.**

Purpose: to determine the content of neuroamines (histamine, serotonin, catecholamines) in bioamine structures of bone marrow after autotransplantation. *Material and methods.* Animals were injected into the tail vein of bone marrow suspension obtained from the femur of the same mouse. It was taken from the femoral bone marrow of 1 ml and placed in 2 ml of physiological saline and thoroughly stirred. 1 ml of bone marrow suspension was injected into the tail vein. Cryostat sections were treated with luminescent-histochemical methods. *Results.* After bone marrow autotransplantation marked changes were observed in the neurotransmitters of the bone marrow — an increasing number of granular luminescent cells decrease in the amount of granules in them, and a decrease in the number of mast cells because of their degranulation. A weak luminescence was determined in nuclei in neutrophils. Perhaps this proves the activation of the immune response. *Conclusion.* The bone marrow autotransplantation leads to a redistribution of the structures of the bone marrow of histamine, catecholamines and serotonin, which changes the direction of cytodifferentiation, the content of neuroamines in granular luminescent cells and mast cells (cells of autonomic regulation).

Key words: bone marrow autotransplantation, catecholamines, serotonin, histamine, granular luminescent cells, mast cells.

Введение. Проблема злокачественных новообразований продолжает оставаться одной из наиболее актуальных вопросов современной медицины. Следуя литературным данным [1, 2], можно предположить, что некоторые гематологические заболевания связаны с нарушением обмена биогенных аминов в клетке, приводящим к возникновению патологических сдвигов в функционировании красного костного мозга, однако причина такого сдвига в обмене биогенных аминов не известна. В последнее время в патогенезе онкологических заболеваний все большее значение придается морфологическим структурам, участвующим в местной регуляции тканевых процессов, а также биологически активным веществам, которые вырабатываются ими [3]. Известно, что в костном мозге имеются гранулярные люминесцирующие клетки, которые совместно с тучными клетками участвуют в автономной регуляции органов, выполняют функции нейроэндокринных и паракринных менеджеров [4, 5].

Ответственный автор — Воробьева Ольга Васильевна
Тел.: +79373734223
E-mail: olavorobeva@mail.ru

Цель: определить содержание нейроаминов (гистамина, серотонина, катехоламинов) в биоаминсодержащих структурах костного мозга после аутогенной трансплантации костного мозга во временном аспекте.

Материал и методы. Работа выполнена на 45 мышах, которые были разделены на три группы:

1-я группа — интактные мыши без проведения трансплантации костного мозга (n=15);

2-я группа — контрольная группа мышей (n=15), у которых нейроаминные сдвиги в гранулярных и тучных клетках костного мозга происходят в первые 30 минут после введения физиологического раствора в дозе 1 мл, далее их количество в клетках стабилизируется. Вследствие этого материал для изучения брали начиная с 40 мин после введения костного мозга;

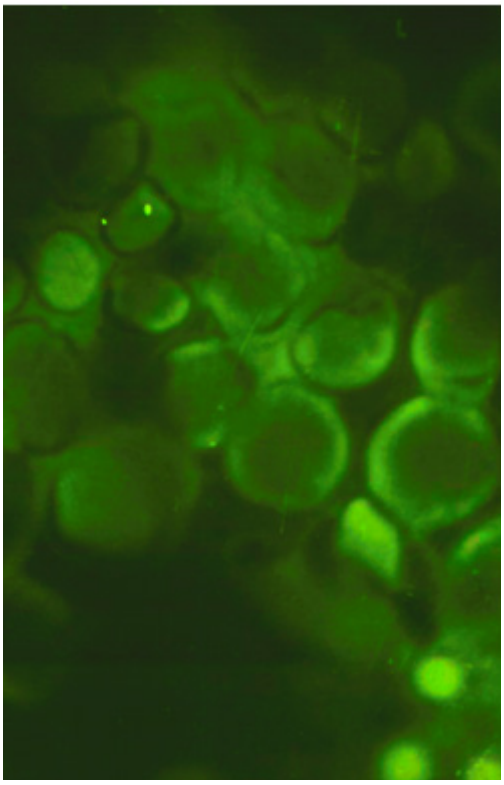
3-я группа — группа мышей, которым производили аутотрансплантацию костного мозга (n=15). Для этого в хвостовую вену вводили суспензию костного мозга. Для получения суспензии производили забор 1 мл костного мозга из бедренной кости этой же мыши. Взятый материал помещали в 2 мл физиологического раствора и тщательно размешивали. Полученный 1 мл суспензии костного мозга и 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 $2,1*10^8$.

Все процедуры по уходу осуществлялись по нормам и правилам обращения с лабораторными животными [6], 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).

В процессе решения поставленных задач использовали люминесцентно-гистохимический метод Кросса, Евена, Роста [7] для выявления гистамина; для избирательного выявления катехоламинов и серотонина использовали метод Фалька — Хилларпа. Количественный уровень катехоламинов, серотонина и гистамина в структурах оценивался с помощью цитоспектрофлуориметрии. Окраска по А. Унна применялась для определения сульфатированности гепарина и состояния тучных клеток. Ортохромную (голубую) окраску дает моно- и дисульфатированный, незрелый гепарин. Бета-метахроматическую (чернильно-фиолетовую) дает трехсульфатированный, созревающий гепарин, и гамма-метахроматическая (пурпурная) окраска присуща зрелому, пятисульфатированному гепарину.

Полученные цифровые данные обрабатывали в программе «Statistica», версия 6 (Copyright@StatSoft, 19842001, ИПЧИ 31415926535897). Статистическую значимость различий определяли по критерию Стьюдента.

Результаты. В данном исследовании на моноамины через 40 мин после аутопересадки выявляются гранулярные люминесцирующие клетки двух разновидностей: мелкие, с компактными гранулами (макрофаги) и крупные, с разнокалиберными гранулами, в которых люминесцируют 2–3 гранулы. Остальные гранулы не люминесцируют, поскольку моноамины выходят из гранул в межклеточные пространства. Число гранулярных клеток остается повышенным до 5–7 вместо 3–4 в одном поле зрения. Число тучных клеток снижено до 16 на весь препарат по сравнению с интактными мышами. Содержание катехоламинов и серотонина в них повысилось в два раза. У юных и палочко-ядерных нейтрофилов начинают слабо



Люминесценция цитоплазмы бластных форм клеток и ядер нормобластов. Метод Кросса. Микроскоп МЛ-6. Ув. имм.

люминесцировать ядра. Остальные гемопоэтические клетки практически не люминесцируют.

Наблюдается диффузное свечение гистамина во всех видах клеток. В гемопоэтических клетках светятся в основном ядра, за исключением бластных форм, и межклеточное вещество (рисунок). Много гистамина в цитоплазме базофильных мегакариоцитов.

Отмечается увеличение содержания несвободного серотонина в гранулах эозинофилов, в ядрах эритробластов и лимфоцитов, и снижается его содержание в гранулах нейтрофильного ряда и тучных клетках. Наблюдается увеличение числа митозов практически во всех видах клеток.

При окраске препаратов по Унна гемопоэтические клетки окрашены ортохромно, за исключением эозинофильного ряда, где в цитоплазме выявляется легкая метахромазия. Чем моложе клетка, тем слабее окрашено ее ядро. Различают 3 вида тучных клеток, которые окрашены В-метахроматично: одни мелкие с голубыми ядрами, другие с центрально расположенным ядром, третьи дегранулированные вплоть до тотального распада. Такие клетки окрашиваются гамма-метахроматично,

При исследовании препаратов по Паппенгейму определяются митотически делящиеся лимфоциты.

В гемопоэтических клетках костного мозга происходит увеличение моноаминооксидазы (МАО), за исключением некоторых лимфоцитов, которые образуют шаровидные скопления. В большом количестве МАО распределяется по ходу нервных волокон, в гранулярных и тучных клетках, число которых также увеличилось по сравнению с интактными животными. 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.

Увеличивается содержание нейроспецифической енолазы в тучных клетках, число которых возросло более чем в 1,5 раза. Причем увеличилось процентное содержание молодых компактных клеток.

Обсуждение. В костном мозге через 40 мин после аутогенной пересадки костного мозга увеличивается число гранулярных люминесцирующих клеток и снижается число тучных клеток с увеличением в них биоаминов. Повышается дегрануляция тучных клеток, увеличивается выход нейроаминов из гранул люминесцирующих клеток в межклеточное пространство. У экспериментальных животных ярко люминесцируют ядра нейтрофилов. Возможно, все это говорит об активации иммунной реакции.

По данным Гордон (1982) [8], гамма-метахромазия свидетельствует о старении тучных клеток и об их усиленной сульфатации.

Увеличивается число митозов, образуются шаровидные скопления морфологически одинаковых клеток, по периферии которых располагаются гранулярные люминесцирующие клетки. В тканях происходит дифференцировка и пролиферация предшественников тучных клеток. Как известно, накопление катехоламинов, серотонина в цитоплазме клеток костного мозга способствует дифференцировке зрелых форм клеток, а накопление гистамина снижает дифференцировку и увеличивает число бластов. По сравнению с данными других авторов [3], мы предполагаем, что нейроамины регулируют гемопоэз, активируют ангиогенез посредством перераспределения нейроаминов в структурах костного мозга. Увеличенная активность ферментов приводит к усилению окислительно-восстановительных процессов.

Выводы:

1. Аутотрансплантация приводит к увеличению числа ГЛК и ТК, а в них повышается содержание нейроаминов, это приводит к изменению цитодифференцировки клеток.

2. Аутопересадка костного мозга стимулирует иммунные процессы.

2. Увеличивается активность ферментов, что активирует окислительно-восстановительные процессы.

Конфликт интересов отсутствует.

References (Литература)

1. Semenov EV, Stancheva NV, Bondarenko SN. Quality of patients with lymphoma in different terms after high-dose chemotherapy with autologous hematopoietic stem cell transplantation. Clinical.oncohematology: Basic research and clinical practice 2014; 7 (4): 577–582. Russian (Семенова Е.В., Станчева Н.В., Бондаренко С. Н. Качество жизни больных лимфомами в разные сроки после высокодозной химиотерапии с аутологичной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток. Клиническая онкогематология: фундаментальные исследования и клиническая практика 2014; 7 (4): 577–582).

2. Abedi M, Foster BM, Wood KD, et al. Haematopoietic stem cells participate in muscle regeneration. Br J Haematol. 2007; 138 (6): 792–801.

3. Lyubovtseva EV. Bioaminsoderzhaschie structure of the bone marrow in systemic blood diseases. Morphology 2012, 3: 95–96. Russian (Любовцева Е.В., Любовцева Л.А. Биоаминсодержащие структуры костного мозга при системных заболеваниях крови. Морфология 2012; 3: 95–96).

4. Makarenkova VP, Coast NV, Schurin MR. The system of dendritic cells: their role in the induction of immunity in the pathogenesis of infectious diseases, autoimmune diseases and cancer. Immunology 2002; 2: 68–76. Russian (Макаренкова В.П., Кост Н.В., Щурин М.Р. Система дендритных клеток: роль в индукции иммунитета и в патогенезе инфекционных, аутоиммунных и онкологических заболеваний. Иммунология 2002; 2: 68–76).

5. Stavinskaya OA. The role of histamine and serotonin in the maintenance of immune homeostasis. In: National Conference “Allergology and Clinical Immunology: interdisciplinary problems”. Allergic Russian magazine 2008; 1: 283–284. Russian (Ставинская О.А. Роль гистамина и серотонина в поддержании иммунного гомеостаза. В кн.: Национальная конференция «Аллергология и клиническая иммунология: междисциплинарные проблемы». Российский аллергологический журнал 2008; 1: 283–284).

6. Karkischenko NN, Grachev SV. Guide to laboratory animals and alternative models in biomedical technologies. M.: Medicinein, 2010; 344 p. Russian (Каркищенко Н.Н., Грачева С. В. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях. М.: Медицина, 2010; 344 с.)

7. Cross SAM, Ewen SWB, Rost EWDA. Stindi of the methods available for the cytochhem: cal localization of histamine by fluorescence induced with o-phthalaldehyde or acetadehude. J. Histochem 1971; 6: 471–476.

8. Gordon BM. Mathematical justification specificity lyuminestsentno- histochemical reactions autolyuminestsentnyh structures. Morphology and histochemistry of normal tissue, pathology and exsperimente 1982; 2: 71–76. Russian (Гордон Б.М. Математическое обоснование специфичности люминесцентно- гистохимических реакций на аутолюминесцентных структурах. Морфология и гистохимия тканей в норме, патологии и эксперименте1982; 2: 71–76).

УДК 612.9-002-022.7 Оригинальная статья

ГЕПАТОТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ СИНЕГНОЙНОГО ЭКЗОТОКСИНА А У БЕЛЫХ МЫШЕЙ В ДИНАМИКЕ ИНТОКСИКАЦИИ

А.В. Моррисон *— ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России, доцент кафедры кожных и венерических болезней, кандидат медицинских наук;* ***В.И. Попович*** *— 33 Центральный научно-исследовательский испытательный институт (ЦНИИИ) МО России, начальник отдела, кандидат медицинских наук;* ***В.В. Моррисон —*** *ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России, профессор кафедры патологической физиологии им. А.А. Богомольца, профессор, доктор медицинских наук.*

PSEUDOMONAS AERUGINOSA EXOTOXIN A-INDUCED HEPATOTOXICITY IN DYNAMICS: AN ANIMAL MODEL IN WHITE MICE

A.V. Morrison — *Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, Department of Skin and Venereal Diseases, Candidate of Medical Science;* ***V.I. Popovich*** *— Central Scientific Research Experimental Institute 33, Head of Department, Candidate of Medical Science;* ***V.V. Morrison*** *— Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, Department of Pathological Physiology, Professor, Doctor of Medical Science.*

Дата поступления — 1.10.2015 г. Дата принятия в печать — 10.12.2015 г.