

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ФЕРМЕНТОВ НА НЕЙРОМЕДИАТОРЫ В СТРУКТУРАХ АППЕНДИКСА ПОСЛЕ АЛЛОТРАНСПЛАНТАЦИИ

ВОРОБЬЕВА О.В., ЛЮБОВЦЕВА Л.А.

THE IMPACT OF CERTAIN ENZYMES IN THE NEUROTRANSMITTERS IN THE STRUCTURES OF THE APPENDIX AFTER ALLOTRANSPLANTATION

VOROBYOVA O.V., LYUBOVTSOVA L.A.

Кафедра общей и клинической морфологии и судебной медицины (зав.кафедрой - профессор Л.А. Любовева) ФГБОУ ВПО «Чувашский государственный университет им. И.Н.Ульянова.

После аллотрансплантации костного мозга - при выявлении моноаминоксидазы и кислой фосфатазы в слизистой оболочке были обнаружены тучные (имеющие разнонаправленное действие, что определяется как многообразием медиаторов, так и особенностями их регуляторных свойств, гистамин тучных клеток повышает коагулянтные (тромботические) свойства крови, увеличивает проницаемость сосудов, оказывает ноцицептивное действие, является одним из наиболее важных медиаторов воспаления и гранулярные клетки (играющие основную роль в автономной регуляции костного мозга, выполняют функцию нейроэндокринную, паракринную и регулируют). При обработке на моноаминоксидазу тучные клетки по структуре можно было разделить на 2 группы клеток: компактные и дегранулированные. При аллотрансплантации на один лимфоидный узелок приходится 4-5 г.

Ключевые слова: трансплантация костного мозга, моноаминоксидаза, кислая фосфатаза, тучные клетки

After allotransplantation bone marrow - the detection of monoamine oxidase, and acid phosphatase in the mucosa were found obese (having a different effect, which is defined as a variety of mediators, and the peculiarities of their regulatory properties, mast cell histamine increases coagulation (thrombotic) properties of the blood, increases the permeability of blood vessels, providing nociceptive action is one of the most important mediators of inflammation and granular cells (which play a fundamental role in autonomic regulation of bone marrow function as neuroendocrine, paracrine and regulatory). In the processing of monoamine oxidase mast cell structure could be divided into two groups of cells: compact and degranulated. When allografting one accounts for 4-5 lymphoid nodule germinal center.

Key words: bone marrow transplantation, monoamine oxidase, acid phosphatase, mast cells

Введение. Трансплантология является молодой медицинской наукой и вполне естественно, что основное внимание исследователей привлечено к наиболее актуальной ее проблеме — пересадке жизненно важных органов [4, 5, 6]. В патогенезе онкозаболеваний все большее значение придается морфологическим структурам, участвующих в местной регуляции тканевых процессов, а также биологически активным веществам, которые вырабатываются ими [2]. Центральную роль в регуляции метаболизма биогенных аминов является моноаминоксидаза, которая выполняет нейромедиаторные функции в живых организмах. Однако наряду с выполнением этих функций моноаминоксидаза катализирует также образование веществ, обладающих собственной биологической активностью, является ферментом с выраженной биологической универсальностью.

Целью исследования - изучить состояние ферментов, расщепляющих нейромедиаторы в структурах аппендикса после аллотрансплантации костного мозга во временном аспекте.

Материал и методы исследования. Работа была выполнена на 60 белых крысах-самцах инбредной линии массой 180-200 г, которые, в свою очередь, были разделены на 2 группы по 30 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-я группа - интактные крысы.

2-я группа - костный мозг мыши брали в объеме 4 мл из эпифизов большой берцовой кости, помещали в 10 мл физиологического раствора и тщательно размешивали. 1 мл суспензии костного мозга вводили в хвостовую вену крысы (аллотрансплантация).

В процессе решения поставленных задач использовались следующие методы:

1. С помощью гистохимической окраски по

Гленнеру, выявляли моноаминоксидазу – фермент, расщепляющий нейромедиаторы.

2. Окраской по Лойда определяли кислую фосфатазу, выявляли клетки способные к фагоцитозу (в основном макрофаги).

3. Статистическую достоверность определяли критерием Стьюдента (t). Полученные цифровые данные обрабатывались статистически по специально разработанной программе «Статистика».

Результаты исследования и их обсуждение. *Морфологическая картина аппендикса у интактных крыс.* При окраске на моноаминоксидазу в слизистой оболочке обнаруживаются тучные и гранулярные клетки. Доказано, что часть гранулярных люминесцирующих клеток относят к макрофагальной системе [1, 2, 3]. Макрофаги располагаются снаружи лимфоидных узелков, они имеют неровную поверхность с многочисленными гребнями. Содержат много лизосом. В лимфатических узелках аппендикса, богатых В-лимфоцитами, преобладают многоотростчатые ретикулярные клетки. Эти клетки не фагоцитируют, имеют тонкий ободок цитоплазмы и соединены друг с другом десмосомами. В них выявляется активность неспецифической эстеразы. В областях, богатых Т-лимфоцитами, клетки стромы имеют полиморфное ядро и отростки особой формы, напоминающие переплетающиеся пальцы. Это большие клетки, в цитоплазму которых глубоко выпячивается либо часть лимфоцита, либо весь лимфоцит. Большинство авторов относят их к макрофагам. Установлено, что Т-лимфоциты вновь возвращаются к указанным макрофагам и располагаются в тесном контакте с ними. Предполагается, что интердигитирующие макрофаги влияют на дифференцировку Т-лимфоцитов.

В подслизистой основе – одиночные тучные клетки, тучные и гранулярные клетки, собранные в лимфоидные узелки.

При окраске на кислую фосфатазу эти клетки узелка располагались по периферии центра размножения, на один лимфоидный узелок приходится один герминативный центр.

Морфологическая картина аппендикса крыс через 40 минут после аллотрансплантации.

При постановке реакции Гленнера на моноаминоксидазу в слизистой оболочке были обнаружены тучные клетки. Клетки были окрашены в коричневый цвет, среди клеток можно было выделить следующие формы:

1. клетки, подвергшиеся дегрануляции.

2. недегранулированные формы клеток (компактные). Дегранулированные формы, как правило преобладали. Около этих клеток можно было наблюдать свободнолежащие черные гранулы. Кроме них в криптах обнаруживались и макрофа-

ги, число которых было не велико и составляло в среднем 0,5 клеток на поле зрения. Активность моноаминоксидазы увеличилась по сравнению с интактными животными.

В подслизистой основе обнаружился рост общего числа одиночных тучных клеток по сравнению с нормой, за счет увеличения количества компактных и дегранулированных клеток. Тучные клетки коричневой окраски, преимущественно располагающиеся по краю лимфоидного узелка. Активность моноаминоксидазы увеличилась по сравнению с нормой.

В лимфоидных узелках было обнаружено два типа клеток:

1. Клетки черного цвета с большим количеством мелких моноаминоксидазо- положительных гранул (тучные клетки), располагались по всей территории узелка.

2. Клетки так же черного цвета, но с крупными гранулами разного диаметра (макрофаги). Макрофаги представляли собой клетки с четкими границами содержащие крупные темно – красные гранулы разного размера. Тучные клетки, напротив, имели в своем составе светлые, мелкие гранулы одинакового размера, наблюдалось незначительное снижение активности моноаминоксидазы по сравнению с интактными крысами. После аллотрансплантации клетки располагались по периферии центра размножения, число центров размножения составляло, как правило, 4 – 5 на узелок. Макрофаги преимущественно занимали центр узелка, тучные клетки находились по его периферии.

В мышечной оболочке число тучных клеток увеличилось по сравнению с интактными животными (табл. 1).

Клетки в основном располагались около кровеносных сосудов группами по 6 – 12 клеток, а также между мышечными слоями, но в гораздо меньшем количестве 1 – 3 клетки.

При обработке препаратов по методу Лойда на кислую фосфатазу в крипах наблюдалось увеличение числа тучных клеток до $0,37 \pm 0,05$ у.е. (норма $0,31 \pm 0,03$ у.е.), активность самой кислой фосфатазы возросла по сравнению с интактными крысами.

В подслизистой основе число одиночных тучных клеток возросло до $0,59 \pm 0,06$ у.е. (норма $0,31 \pm 0,04$ у.е.), активность фермента в этих клетках увеличилась по сравнению с нормой.

В мышечной оболочке количество тучных клеток возросло до $0,26 \pm 0,03$ у.е. (норма $0,21 \pm 0,04$ у.е.), активность кислой фосфатазы кислой фосфатазы также увеличилась.

Таким образом, через 40 мин после аллотрансплантации были обнаружены следующие люминесцирующие структуры:

Таблица.

Активность ферментов (изменение оптической плотности), выявленная в различных структурах аппендикса в норме и через 40 мин после трансплантации костного мозга (у. е.).

Метод обработки	Оболочка	Клетки		Норма	Аллотрансплантация
Тетразолевый метод Гленнера	Подслизистая основа	Тучные клетки подслизистой		0,24±0,06	0,33±0,01
		Лимфоидный узелок	Тучные клетки	0,46±0,04	0,48±0,01
			Макрофаги	0,49±0,03	0,53±0,05
	Мышечная оболочка	Тучные клетки		0,28±0,01	0,29±0,03

слизистая оболочка с тучными клетками; подслизистая основа с лимфоидными узелками, содержащими тучные клетки (тучные клетки в лимфоидном узелке располагались по периферии центра размножения, макрофаги преимущественно в центре узелка, тучные клетки по периферии герминативного центра).

При выявлении моноаминоксидазы и кислой фосфатазы как в норме, так и в опыте в слизистой оболочке - были обнаружены тучные клетки (при обработке на моноаминоксидазу тучные клетки по структуре можно было разделить на 2 группы клеток: компактные и дегранулированные).

В подслизистой основе - одиночные тучные клетки, собранные в лимфоидные узелки (моноаминоксидазо - положительные тучные клетки располагались по всей территории узелка).

При окраске на кислую фосфатазу эти клетки узелка располагались по периферии центра размножения, в норме на один лимфоидный узелок приходится один герминативный центр, при аллотрансплантации - 4-5 центров размножения).

В мышечной оболочке между мышечными слоями располагались тучные клетки.

Таким образом, после 40 мин аллотрансплантации костного мозга в структурах аппендикса крыс наблюдается изменение активности моноаминоксидазы.

Известно, что моноаминоксидаза катализирует реакции дезаминирования серотонина, триптамина, 5-метокситриптамина [3]. В тучных клетках лимфоидного узелка наблюдалось незначительное снижение активности моноаминоксидазы.

Известно, что кислая фосфатаза является маркерным ферментом клеток обладающих макрофагальной активностью. У крыс подвергшихся аллотрансплантации наблюдалось увеличение указанного фермента, как в тучных клетках лимфатического узелка, так и в макрофагах. Следует отметить, что в макрофагах произошли наиболее

значительное увеличение активности кислой фосфатазы. Также увеличение активности произошло и в тучных клетках подслизистой основы и мышечной оболочки.

Таким образом, можно предположить, что наибольшей макрофагальной активностью обладают макрофаги лимфатического узелка > тучные клетки лимфатического узелка > тучные клетки подслизистой основы, также можно сделать предположение, что эти клетки принимают наиболее значительное участие в иммунологической реакции.

Выводы.

Активность моноаминоксидазы меняется незначительно, активность кислой фосфатазы увеличивается.

При аллотрансплантации в лимфоидном узелке аппендикса появляются новые центры размножения: до 4-5.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Волчегорский И.А., Малиновская И.В., Шумелева О.В. и соавт. Динамика активности моноаминоксидазы В и ферментов антиоксидантной защиты головного мозга в процессе постнатального развития человека// Бюлл.эксперим. биол. и мед. - 2006. - Т. 142. - №8. - С. 158-166.
2. Гордон Д.С., Сергеева В.Е., Смородченко А.Т. И соавт. Идентификация люминесцирующих гранулярных клеток тимуса с дендритными макрофагами// Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2001. — Т. 132. - №7. — С. 118-120.
3. Любовцева Л.А., Любовцева Е. В. Биоаминсодержащие структуры костного мозга при системных заболеваниях крови// Ж. Морфология. - 2012. - №3. - С. 95-96.
4. Савченко В.Г. Трансплантация костного мозга в онкогематологии// Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. - №4. - Т.3. - 2010. - С. 478-479.
5. Abedi M., B.M. Foster, K.D. Wood et al.

Haematopoietic stem cells participate in muscle regeneration // Br. J. Haematol. – 2007. – Vol. 138(6). – P. 792-801

6. Ringden, O. *Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: State of the art and new perspectives* // APMIS. – 2005. – Vol. 113. – P. 813–30.

REFERENCES:

1. Volchegorskiy IA, Malinovskaya IV, OV Shumeleva et al. *The dynamics of the activity of monoamine oxidase B and enzymes antioksidaznoy protect the brain during postnatal development of the person* // Byull.eksperim. biol. and med. - 2006. - 142. - №8. - T. S. 158-166.

2. Gordon DS, Sergeeva VE AT Smorodchenko Et al. *Identification luminescent granule cells of the thymus dendritic macrophages* // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. - 2001. - T. 132. - №7. - S. 118-120.

3. Lyubovtseva LA Lyubovtseva EV *Bioaminsoderzhaschie structure of the bone marrow in systemic blood diseases* // J. Morphology. - 2012. - №3. - S. 95-96.

4. Savchenko VG *Bone marrow transplantation*

in clinical hematology // oncohematology. Basic research and clinical praktika. - №4. - T.3. - 2010. - pp 478- 479.

5. Abedi M., B.M. Foster, K.D. Wood et al. *Haematopoietic stem cells participate in muscle regeneration* // Br. J. Haematol. - 2007. - Vol. 138 (6). - P. 792-801

6. Ringden, O. *Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: State of the art and new perspectives* / O.Ringden, K. Le Blanc // APMIS. – 2005. – Vol. 113. – P. 813–30.

Авторская справка:

Воробьева Ольга Васильевна, к.м.н., 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, д.б.н., профессор, заведующая кафедры общей и клинической морфологии и судебной медицины ФГБОУ ВПО «Чувашский государственный университет имени И.Н.Ульянова», Тел. 89061336824.