

Ocena stężenia serotoniny i histaminy w szpiku kostnym pacjentów z chorobami hematologicznymi

mgr Urszula Semeniuk

Streszczenie

Histamina i serotonina są aminami biogennymi pełniącymi wiele ważnych funkcji ustrojowych. Wytwarzanie i magazynowanie histaminy zachodzi m.in. w mastocytach i bazofilach podczas gdy synteza serotoniny zachodzi głównie w komórkach enterochromatofilnych przewodu pokarmowego, a za jej transport odpowiedzialne są płytki krwi. Wydaje się, że zmiany stężeń histaminy oraz serotoniny w szpiku, jako miejscu wytwarzania komórek magazynowych dla obu tych związków, mogą odzwierciedlać zmiany parametrów biochemicznych zachodzące w różnych stanach patologicznych.

Pomiary stężeń tych związków w materiale biologicznym, głównie we krwi, moczu, płynie mózgowo rdzeniowym, prowadzi się najczęściej w celach naukowych, z wykorzystaniem metod immunologicznych. W dostępnym piśmiennictwie brak jest doniesień na temat oceny stężeń tych związków w szpiku kostnym, dlatego też zasadnym było przeprowadzenie badań w odniesieniu do tego materiału. W pierwszym etapie badań opracowano selektywną metodę jakościowo-ilościową do jednoczesnego oznaczania histaminy oraz serotoniny w szpiku kostnym, z wykorzystaniem chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemowym spektrometrem mas. W oparciu o opracowaną metodę analizie poddano szpik pobierany od pacjentów z chorobami hematologicznymi a uzyskane wyniki korelowano z parametrami morfologii krwi oraz rozpoznaniem klinicznym. Do celów statystycznych analizowane przypadki grupowano według rozpoznanej jednostki chorobowej: nowotwory mieloproliferacyjne, zespoły mielodysplastyczne, ostre białaczki, choroby limfoproliferacyjne, inne choroby hematologiczne bez cech nowotworzenia i mastocytoza.

Przeprowadzone badania wykazały, że skuteczny rozdział chromatograficzny histaminy i serotoniny, z uwzględnieniem złożonej matrycy biologicznej, uzyskano w układzie oddziaływań hydrofilowych HILIC. Stosowane powszechnie rozdziały chromatograficzne w odwróconym układzie faz cechowały się niską retencją dla histaminy, chociaż parametry analityczne dla serotoniny pozostawały na odpowiednim poziomie.

Wyznaczone stężenia w próbkach szpiku kostnego wynosiły dla histaminy $344,11 \pm 959,09$ ng/ml i serotoniny $0,61 \pm 3,69$ ng/ml (średnia \pm odchylenie standardowe). Histaminę stwierdzano we wszystkich przeanalizowanych próbkach, natomiast większość z nich nie zawierała serotoniny. Najwyższe stężenie serotoniny (35,7 ng/ml) uzyskano w próbce pacjentki z rozpoznaniem przewlekłej białaczki szpikowej, wariant megakariocytowo-granulocytowy. Analiza statystyczna wykazała istotną zależność ($p < 0,05$) pomiędzy stężeniami histaminy w grupie pacjentów z rozpoznaniem mastocytozy. Dodatkowo, istotne statystycznie korelacje wykazano dla stężenia histaminy i liczby białych krwinek, płytek, odsetka bazofili, neutrofilii i bazofili, ujemne zaś dla stężenia histaminy i limfocytów. Wykazano również, że serotonina koreluje statystycznie istotnie i dodatnio z liczbą białych krwinek oraz płytek krwi, zaś ujemnie z odsetkiem limfocytów i wskaźnikiem MCHC.

Summary

Histamine and serotonin are biogenic amines which carry out a number of important bodily functions. The production and storage of histamine takes place, among others, in mast cells and basophils, while serotonin synthesis occurs mainly in the enterochromaffin cells of the gastrointestinal tract. Platelets are responsible for its transport. It seems that changes in histamine and serotonin concentrations in the bone marrow, the place where the storage cells for both these compounds are produced, may reflect changes in biochemical parameters occurring in various pathological conditions.

Concentrations of these compounds in biological material – mainly in blood, urine and cerebrospinal fluid – are usually measured for scientific purposes with the use of immunological methods. There are no reports in the available literature on the evaluation of the concentrations of these compounds in bone marrow; therefore, it was legitimate to conduct a study in relation to this material. In the first stage of the study, a selective qualitative-quantitative method for the simultaneous histamine and serotonin determination in bone marrow was developed by means of liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. Based on this method, the marrow collected from patients with haematologic diseases was analysed and the results were correlated with complete blood count parameters and clinical diagnosis. For statistical purposes, the analysed cases were grouped according to the disease entity diagnosed: myeloproliferative neoplasms, myelodysplastic syndromes, acute leukaemias, lymphoproliferative diseases, other non-malignant haematologic diseases and mastocytosis.

The study revealed that efficient chromatographic separation of histamine and serotonin, having regard to the complex biological matrix, was achieved in the HILIC hydrophilic interaction system. Commonly used reversed-phase chromatographic separations were characterised by low histamine retention, although the analytical parameters of serotonin remained adequate.

The determined concentrations in bone marrow samples amounted to 344.11 ± 959.09 ng/ml for histamine and 0.61 ± 3.69 ng/ml for serotonin (mean \pm standard deviation). Histamine was found in all analysed samples, however, most of them did not contain serotonin. The highest serotonin concentration (35.7 ng/ml) was obtained in a sample from a patient diagnosed with chronic myeloid leukaemia – megakaryocytic-granulocytic variant. The statistical analysis showed a significant correlation ($p < 0.05$) between histamine concentrations in the group of patients diagnosed with mastocytosis. Positive, statistically significant correlations were found for histamine concentration and white blood cell count, platelets as well as eosinophil, neutrophil and basophil percentages, whereas negative correlations were found for histamine concentration and lymphocyte percentage. It was also proved that serotonin correlates statistically significantly and positively with white blood cell and platelet counts, and negatively with lymphocyte percentage and MCHC index.