

## ЛИТЕРАТУРА

1. Щаницын И. Н., Иванов А. Н., Бажанов С. П. и др. Стимуляция регенерации периферического нерва: современное состояние, проблемы и перспективы // Успехи физиол. наук. 2017. Т. 48. № 3. С. 92–112.
2. Waller A. New method for the study of the nervous system. Lond. J. Med. 1852; 4(43):609–625.
3. Ноздрачев А. Д., Чумасов Е. И. Периферическая нервная система. СПб.: Наука, 1999. 281 с.
4. Koeppe A. H. Wallerian degeneration: history and clinical significance. Journal of the Neurological Sciences. 2004; 220:115–117. DOI: 10.1016/j.jns.2004.03.008
5. Kerns J. M., Walter J. S., Patetta M. J., et al. Histological assessment of Wallerian degeneration of the rat tibial nerve following crush and transection injuries. J Reconstr Microsurg. 2021; 37(5): 391–404.
6. Petrova E. S., Isaeva E. N. Study of effect of embryonic anlage allografts of the rat spinal cord on growth of regenerating fibers of the recipient nerve. Biology Bulletin. 2014; 41(6):479–485.
7. Grigorev I. P., Korzhevskii D. E. Current technologies for fixation of biological material for immunohistochemical analysis (review). Modern Technologies in Medicine. 2018; 10:156–165.
8. Niemi J. P., DeFrancesco-Lisowitz A., Roldán-Hernández L. A critical role for macrophages near axotomized neuronal cell bodies in stimulating nerve regeneration. J. Neurosci. 2013; 33(41):16236–16248.
9. Miyano K., Ikehata M., Ohshima K., et al. Intravenous administration of human mesenchymal stem cells derived from adipose tissue and umbilical cord improves neuropathic pain via suppression of neuronal damage and anti-inflammatory actions in rats. PLoS ONE. 2022; 17(2):e0262892. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262892>

УДК 611.018

<sup>1</sup>Подсумкова Ю. М., <sup>2</sup>Федорова Е. А., <sup>2</sup>Разенкова В. А.

## ВЫЯВЛЕНИЕ ТУЧНЫХ КЛЕТОК В ПРЕПАРАТАХ ПОЧКИ ЧЕЛОВЕКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ КРАСИТЕЛЕЙ

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Российская Федерация

<sup>2</sup>Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Российская Федерация

---

*Аннотация.* Тучные клетки являются важным показателем состояния внутренних органов человека, поэтому необходимо иметь способы их выявления в исследуемом материале.

*Целью работы* стал поиск красителя, способного четко выявить тучные клетки в препаратах почки человека.

Методика работы заключается в исследовании парафиновых срезов почки человека, окрашенных различными гистохимическими способами, направленными на определение количества и функционального состояния тучных клеток. Наряду с распространенными техниками окрашивания, такими как толуидиновый синий и альциановый синий с подкраской ядерным прочным красным, представлен также метод окрашивания основным коричневым.

Основные результаты работы показали, что наиболее эффективными и, как следствие, наиболее подходящими для использования являются техники окрашивания толуидиновым синим и основным коричневым. Показано, что формалиновая фиксация пригодна для выявления тучных клеток в почке человека, а потому фиксация материала в жидкостях с солями металлов для лучшего сохранения тучных клеток не является необходимой.

*Ключевые слова:* тучные клетки, почка, гистохимия.

*<sup>1</sup>Podsumkova Y. M., <sup>2</sup>Fedorova E. A., <sup>2</sup>Razenkova V. A.*

## **MAST CELLS VISUALISATION IN THE HUMAN KIDNEY BY USING DIFFERENT DYES**

*1Saint Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russian Federation*

*2Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation*

---

*Abstract.* Mast cells serve as an important indicator of the human internal organs state. Thus, it seems necessary to have techniques to clearly identify them in the test material.

The aim of this work is to determine a dye, most capable of identifying mast cells in human kidney preparations.

The methodology of the work consists in the study of paraffin sections of a human kidney, stained with various histochemical methods, were the material for the study. Dyes chosen were aimed to determine the number and functional state of mast cells. In addition to common staining techniques such as toluidine blue and alcian blue (with a nuclear fast red counterstain), a Bismarck brown Y staining method is also presented.

The main results of the work showed that the most effective and suitable staining methods are toluidine blue and Bismarck brown Y staining. It has been shown that formalin fixation is suitable for the detection of mast cells in the human kidney, and therefore fixation of the material in liquids with metal salts for better preservation of mast cells is not necessary.

*Keywords:* mast cells, kidney, histochemistry.

## **ВВЕДЕНИЕ**

Соединительная ткань играет важную роль в жизнедеятельности человеческого организма. Среди различных клеток соединительной ткани особый интерес представляют тучные клетки, выполняющие крайне важные функции. Тучные клетки обеспечивают местный гомеостаз соединительной ткани, участвуют в формировании и развитии воспалительного процесса, аллергических и анафилактических реакций путем высвобождения биологически и химически ак-

тивных веществ (гистамин, гепарин, серотонин, дофамин, различные протеазы и пр.) из гранул.

Гранулы тучных клеток сходны по строению и составу содержимого с гранулами базофилов, но не идентичны им. Они также окрашиваются метахроматически, но они мельче, чем в базофилах, более многочисленны и обладают более вариабельной формой и ультраструктурой. Встречаются гранулы с плотным, крупно- или мелкозернистым гомогенным содержимым, с кристаллоидной структурой или с матриксом умеренной плотности, в который погружены более плотные структуры.

Уровень и активность тучных клеток в организме человека является важным показателем, характеризующим состояние различных внутренних органов, в том числе и почек. Выявление тучных клеток обладает диагностическим значением, так как изменение активности тучных клеток может указывать на воспалительный или аллергический процесс, инфекционный процесс [1], анафилактический шок, ранний ревматоидный артрит [2].

Несмотря на то что выявление тучных клеток носит существенное диагностическое значение, в настоящее время для определения их количества и функционального состояния нередко пытаются применить методику окрашивания гематоксилином и эозином, при которой тучные клетки выявляются неудовлетворительно. Поэтому целью исследования стал поиск красителя, способного четко выявить тучные клетки в препаратах почки человека.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве материала для исследования были использованы парафиновые срезы почки человека. Было рассмотрено 4 различных случая. Материал для исследования, фиксированный в 10%-ном формалине, был взят из архива Отдела общей и частной морфологии ФГБНУ Института экспериментальной медицины. На микротоме Microm HM 325 (Thermo Scientific, США) были сделаны срезы толщиной 5 микрон, которые монтировали на стекла HistoBond®+M (Paul Marienfeld, Германия) со специальным адгезивным покрытием. Полученные препараты хранились в термостате при 35 °С.

Для окрашивания препаратов были выбраны следующие красители: толуидиновый синий, метиленовый зеленый, альциановый синий с подкраской ядерным прочным красным (Nuclear Fast Red, NFR) и основной коричневый (Бисмарк коричневый, E. Merck, Германия). Результаты окрашивания сравнивались между собой на предмет наиболее эффективного выявления тучных клеток в исследуемом материале.

Для каждого метода окрашивания первый этап (обеспарафинивание) проводился одинаковым образом. Парафин удаляли в двух сменах орто-ксилола по 7 минут, и затем регидратировали ткань в спиртах нисходящей концентрации по 5 минут в каждом. Далее препарат перемещали в дистиллированную воду, после чего начинался этап окрашивания.

Техника окрашивания толуидиновым синим заключалась в том, что на препарат после воды наносили несколько капель фильтрованного красителя на 7–10 минут. После этого излишек красителя сливали, окрашенный препарат обезвоживали в спиртах, просветляли в ксилолах, после чего заключали в перманентную среду Bio Mount HM (Bio-Optica, Италия).

Техника окрашивания альциановым синим с подкраской ядерным прочным красным заключалась в том, что на препараты наносили свежefильтрованный раствор красителя, инкубировали в термостате при температуре 27 °С 30 минут, после чего промывали и подкрашивали NFR при комнатной температуре 5 минут. Дальнейшая процедура обезвоживания и заключения проводилась обычным способом.

Техника окрашивания метиленовым зеленым и техника окрашивания Бисмарком коричневым без модификации [3] аналогична технике окрашивания толуидиновым синим. Использование красителя основной коричневый для окраски тучных клеток кожи впервые было описано в статье М. Г. Шубича [4].

Окрашенные препараты анализировали под микроскопом Leica DM750 и фотографировали с помощью цифровой камеры Leica ICC50 (Leica, Германия). Препараты анализировались по таким параметрам как количество выявленных тучных клеток и выраженность метахромазии тучных клеток.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При окрашивании толуидиновым синим установили, что метахромазия тучных клеток хорошо выражена, их окраска более интенсивна по сравнению с другими клетками, при большом увеличении можно различить гранулы. Количество тучных клеток, выявленных на препаратах, варьировало от случая к случаю.

При окрашивании метиленовым зеленым установили, что тучные клетки трудно отличить от других клеток соединительной ткани, так как метахромазия выражена слабо или практически не выражена.

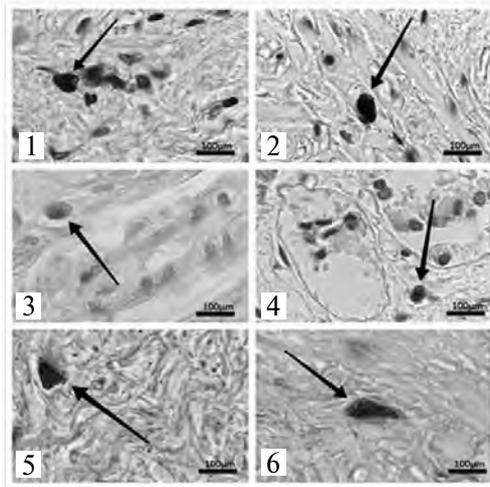
При окрашивании альциановым синим с подкраской NFR установили, что ядро тучных клеток окрашивается в розово-красный, тогда как остальные структуры остаются голубыми после окрашивания альциановым синим. Такие тучные клетки хорошо отличимы от остальных клеток соединительной ткани почки, однако в случаях с небольшим содержанием тучных клеток в исследуемой ткани их становится затруднительно найти в препарате.

При окраске основным коричневым установили, что метахромазия тучных клеток выражена слабо, однако они легко различимы за счет своего строения, а также за счет несколько более интенсивного окрашивания в коричневый цвет. Гранулы, характерные для тучных клеток, хорошо видны на препарате при увеличении  $\times 1000$ .

Результаты исследования позволили установить, что стандартная формалиновая фиксация вполне пригодна для выявления тучных клеток в почке человека (рис. 1). Следовательно, рекомендация фиксировать материал в жидкостях с солями металлов [5] для лучшего сохранения тучных клеток не является необходимой.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволило продемонстрировать, что наиболее показательными методами выявления тучных клеток, которые могут быть использованы в диагностических целях, являются методы окрашивания толуидиновым синим и основным коричневым (Бисмарком коричневым).



*Рис. 1.* Результаты выявления тучных клеток после окрашивания различными красителями, фиксированные с помощью микрофотографии: 1, 2 — тучные клетки, выявленные толуидиновым синим; 3 — тучная клетка, выявленная альциановым синим с подкраской ядерным прочным (NFR); 4 — тучная клетка, выявленная метиленовым зеленым; 5, 6 — тучные клетки, выявленные основным коричневым

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Rivellese F., Rossi F. W., Galdiero M. R., Pitzalis C., de Paulis A.* Mast cells in early rheumatoid arthritis. *Int J Mol Sci.* 2019; 20(8):2040. DOI: 10.3390/ijms20082040
2. *Yu M., Song X. T., Liu B., Luan T. T., Liao S. L., Zhao Z. T.* The emerging role of mast cells in response to fungal infection. *Front Immunol.* 2021; 12:688659. DOI: 10.3389/fimmu.2021.688659
3. *Tomov N., Dimitrov N.* Modified bismarck brown staining for demonstration of soft tissue mast cells. *Trakia Journal of Sciences.* 2017; 3:195–197. DOI: 10.15547/tjs.2017.03.001
4. *Шубич М. Г.* Новая методика элективного окрашивания тучных клеток // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1958. Т. 46. № 12. С. 110.
5. *Ромейс Б.* Микроскопическая техника. М.: Издательство иностранной литературы, 1953. 718 с.