

УДК 612.46+572.7:616-003.821.001.
ББК 58

Л.Ю. ИЛЬИНА, В.А. КОЗЛОВ, С.П. САПОЖНИКОВ

РЕАКЦИЯ ТУЧНЫХ КЛЕТОК ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ АМИЛОИДОЗ

Ключевые слова: мыши, красное виноградное вино, печень, профилактика, тучные клетки, фруктоза, экспериментальный амилоидоз.

В статье рассмотрена реакция тучных клеток (ТК) печени мышей на 1) формирование экспериментальной модели амилоидоза с помощью введения водного раствора соевого заменителя сливок ТУ 9199-004-58706213-10 в разведении 10 г на 100 мл внутрибрюшинно, 15 раз, через день, в дозе 0,1 мл на 10 г массы мыши – 1-я группа; 2) коррекцию амилоидогенеза спонтанным потреблением сухого красного вина с добавлением 5% фруктозы per os – 2-я группа. У мышей 1-й группы относительная площадь ($S_{отн}$) амилоидного поражения на гистологических срезах, окрашенных конго, составила $18,2 \pm 0,14\%$. В капсуле и паренхиме ТК представлены α -орто- и β_1 -метахроматичными недегранулирующими формами в равном соотношении. Доля β_1 -метахроматичных ТК в капсуле печени мышей 1-й группы в 1,8 раза и в паренхиме в 1,5 раза выше, чем у интактных животных. У мышей 2-й группы $S_{отн}$ амилоидного отложения в печени была меньше, чем у мышей 1-й группы, и составила $2,7 \pm 0,13\%$. Во 2-й группе в капсуле печени половина всех ТК имела несulfатированный гепарин и в отличие от аналогичного показателя в интактной группе появились β_2 -метахроматичные и γ -метахроматичные ТК. В паренхиме печени мышей 2-й группы преобладали ТК с незрелым гепарином, впервые в небольшом количестве появились β_3 -метахроматичные ТК, увеличилась доля γ -метахроматичных ТК. Как в капсуле, так и в паренхиме печени мышей 2-й группы появились дегранулированные ТК, выросла доля дегранулирующих форм. Таким образом, реакция ТК на амилоидогенез выражается в изменении степени «зрелости» содержащихся в них мукополисахаридов и количества форм, в том числе и дегранулирующих ТК; красное виноградное сухое вино с добавлением 5% фруктозы может являться фактором профилактики амилоидной болезни.

Актуальность. Амилоидоз возникает в результате нарушения белкового обмена, при котором фрагменты, состоящие из 38-42 аминокислотных остатков, образуют цитотоксичные амилоидные нанотрубки, откладывающиеся в тканях. К синтезу белков-предшественников амилоида способны такие клетки гематогенно-гистиогенного происхождения, как плазматические клетки, макрофаги [25, 27, 28, 29, 30], купферовские клетки печени [22], фибробласты [20, 21], эндотелиальные клетки сосудов [19] и ретикулоэндотелиальные клетки [22, 32]. Все перечисленные клетки получили название амилоидобластов, поскольку они синтезируют белки-предшественники амилоида и непосредственно участвуют в амилоидогенезе. В отличие от них тучные клетки (ТК) не секретируют белки в межклеточное пространство. Однако, являясь неотъемлемыми участниками иммунного воспаления, ТК могут принимать участие в процессах амилоидогенеза [2]. Так, например, ТК были обнаружены в тканях поджелудочной железы при амилоидозе островков Лангерганса [35], рядом с амилоидными депозитами при болезни Альцгеймера [23]. Зафиксирован рост числа ТК в интерстиции почек при АА-амилоидозе и при AL-амилоидозе [20]. Сегодня хорошо известна роль амилоидобластов в амилоидогенезе, однако об участии ТК в формировании амилоидоза сведений недостаточно.

Последовательный анализ участия ТК в амилоидозе почек АА-типа показал выраженную положительную взаимосвязь между площадью амилоидных депозитов и количеством ТК вблизи них [18, 34]. Известно, что ТК способны перемещаться в область повреждения или повышенной функциональной активности ткани [6, 7]. Кроме того, после тотального распада в результате дегрануляции они образуются вновь из клеток предшественников, поэтому количество ТК в тканях может отражать их функциональную активность. Значение ТК в амилоидогенезе стало более наглядным после обнаружения участия гепарина и гепаранов в образовании амилоидных депозитов [31]. Гепарины – молекулы с сильным отрицательным зарядом, тогда как амилоидная нанотрубка на своем протяжении имеет регулярно расположенные через каждые 1,9 нм пучности (локальных максимумов) положительных зарядов [8, 12, 24], по этой причине гепарины и гепараны могут взаимодействовать с амилоидом электростатически, образуя прочный нерастворимый надмолекулярный комплекс. Такое же электростатическое взаимодействие наблюдается с молекулами конго красного, специфически связывающегося с амилоидом своими отрицательно заряженными сульфатными группами, расстояние между которыми в молекуле конго составляет те же 1,9 нм [24]. В опубликованных нами ранее работах было показано, что при экспериментальном амилоидозе почек мышей происходят изменения как по степени сульфатированности гепарина, так и по степени дегрануляции ТК [5].

Следует отметить, что при амилоидозе наряду с чаще всего поражаемыми почками и селезенкой почти всегда в процесс вовлекается печень, поскольку амилоидные депозиты появляются раньше в органах и тканях, являющихся основными местами липидного и холестерина метаболизма [11]. По локализации амилоида выделяют три типа печеночного амилоидоза: интралобулярный, при котором амилоид деформирует печеночные балки, что приводит к их атрофии; перипортальный и периваскулярный, при которых печеночные дольки не страдают, амилоид откладывается в сосудах, в строме портальных трактов [19].

Несмотря на активные поиски средств терапии амилоидозов [17, 33], до сих пор не найдены достаточно эффективные способы лечения. Однако имеются сведения, что красное сухое виноградное вино может оказывать защитное действие при болезни Альцгеймера [16, 26]. Предполагают, что, полифенолы, содержащиеся в красном вине, могут профилактировать или даже замедлять развитие болезни Альцгеймера. Кроме того, еще одним достаточно активным веществом, которое может непосредственно неферментативно связываться с амилоидом, является фруктоза. В эксперименте на мышах с амилоидной болезнью было показано, что употребление красного сухого виноградного вина предупреждает развитие гистоморфологических изменений в паренхиматозных органах (печени, почках, селезенке) и уменьшает количество конго-позитивного вещества в них [13]. Тем не менее эти исследования не позволяют сформировать целостную картину реакции тучноклеточной популяции на амилоидогенез.

Цель исследования – изучение реакции тучноклеточной популяции печени на формирование экспериментальной модели амилоидной болезни и на коррекцию амилоидогенеза при помощи перорального спонтанного потребления сухого красного вина с добавлением 5% фруктозы.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования являлась печень 11 белых мышей 30-дневного возраста массой 20,0–25,0 г, содержание и использование которых соответствовали правилам, принятым в ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова», рекомендациям Национального совета по исследованиям, законодательству Российской Федерации, принципам Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным.

Животные были разделены на интактную и две опытные группы. Интактная группа – пять мышей на обычном содержании вивария. Мышам трех опытных групп одновременно моделировали генерализованный амилоидоз с помощью внутрибрюшинного введения водного раствора 10 г на 100 мл соевого заменителя сливок ТУ 9199-004-58706213-10 15 раз через день из расчета 0,1 мл на 10 г массы мыши [9, 14]. Первая группа из трех мышей служила контролем формирования модели генерализованного амилоидоза. Второй группе из трех мышей предоставляли свободный доступ к сухому красному вину Каберне совиньон (Крым) с содержанием этилового спирта – 10-12°, сахара – 5-10 мг/дм³, которое было дополнено 5%-ным раствором фруктозы. Животные интактной и 1-й групп имели свободный доступ к воде и пище. Животным 2-й группы вода была заменена на вино, доступ к пище – свободный.

Выведение животных из эксперимента проводили путем декапитации [4] на 30-й день от начала эксперимента. Печень фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине с последующей заливкой в парафин по обычному протоколу. Из полученных парафиновых блоков изготавливали последовательные срезы толщиной 4 мкм, которые монтировали на предметные стекла, обработанные белково-глицериновой смесью. С одного случая на стекло монтировали по 4 среза. Депарафинированные срезы окрашивали гематоксилином и эозином для общегистологической характеристики структур печени. Для выявления амилоидных отложений использовали окрашивание конго красным. Срезы микроскопировали в проходящем светодиодном белом свете на микроскопе «Люам-4». Микрофотографии были получены с помощью цифровой камеры Levenhuk C800 NG 8M, USB 2.0 и исследованы морфометрическими методами в приложении к цифровой видеокамере LevenhukLite, с помощью которого измеряли относительную площадь амилоидного поражения (%) на срезах по гистограмме распределения цветов. При таком измерении за 100% берется площадь всего поля зрения в пикселях, с которой сравнивают площадь, закрашенную в цвета красителя конго красного. Тучные клетки выявляли окрашиванием полихромным метиленовым синим по методу Унна [1]. Зрелость гепарина оценивали в ТК по метахромазии красителя полихромного синего [3, 15]. Так, по степени сульфатирования мукополисахаридов ТК делятся на α -ортохроматичные (цитоплазма окрашена в голубой цвет, гепарин несulfатированный), β_1 -метахроматичные (в цитоплазме гранулы фиолетового цвета с более сульфатированным, незрелым гепарином), β_2 -метахроматичные (в цитоплазме гранулы фиолетового цвета с красноватым оттенком, гепарин сульфатированный, созревающий), β_3 -метахроматичные (красно-фиолетовые гранулы с почти зрелым сульфатированным гепарином) и γ -метахроматичные (пурпурные гранулы с полностью сульфатированным, зрелым гепарином). Степень дегрануляции ТК оценивали по методу Д.П. Линднер и др. [10]. Различают следующие виды ТК: T_0 (гранулы плотно расположены в цитоплазме, ядро не визуализируется), T_1 (ядро хорошо просматрива-

ется, гранулы располагаются внутри клетки, за пределы цитоплазматической мембраны не выходят), T_2 (гранулы частично выходят за пределы неповрежденной цитоплазматической мембраны), T_3 (полностью дегранулированные ТК с разорванной цитоплазматической мембраной). Различные формы ТК по степени метахромазии и степени дегрануляции подсчитывали в печеночной капсуле и паренхиме печени при иммерсионном увеличении в 1000 раз в каждом препарате в десяти полях зрения. В качестве статистической величины использовали частоту встречаемости отдельных форм ТК в процентах от их общего количества.

Цифровой материал обработан методами вариативной и дескриптивной статистики. Данные представлены в виде $M \pm m$, где M – средняя арифметическая, m – стандартное отклонение. Различия средних определены с помощью z -теста. Различия частот определены с помощью теста Колмогорова – Смирнова с поправкой Лиллиефорса.

Результаты исследования и их обсуждение. При микроскопии срезов печени животных интактной группы была обнаружена единообразная картина: гепатоциты формируют печеночные балки, имеющие полигональную форму. Цитоплазма гепатоцитов окрашена в светло-розовый цвет и в центре содержит одно или два ядра. Морфологический паттерн соответствует гистологической норме. Амилоидных отложений нет, $S_{отн}$ составила 0%. При окрашивании по Унна α -орто- и β_1 -метахроматичные ТК обнаруживаются в капсуле и паренхиме печени в стенке крупных вен.

В срезах печени животных 1-й группы обнаружены небольшие однородные тяжи и глыбки конгопозитивного вещества вблизи капилляров по периферии долек, а также вокруг сосудов и в соединительной ткани между долями. Печеночные балки деформированы. Цитоплазма гепатоцитов при окрашке конго красным неоднородная, содержит мелкие вакуоли. $S_{отн}$ составила $18,2 \pm 0,14\%$. Заметно уменьшается число ТК как в капсуле, так и в паренхиме печени. Они представлены орто- и β -метахроматичными формами и обнаруживались в основном в области триад.

Во 2-й группе также обнаруживаются амилоидные массы в небольшом количестве, $S_{отн}$ составляет $2,7 \pm 0,13\%$. Атрофия гепатоцитов не столь выражена, печеночные балки не деформированы. Как в капсуле, так и в паренхиме появляются γ -метахроматичные ТК.

Таким образом, на основании гистологической картины изученных срезов можно сделать вывод, что парентеральное введение водного раствора соевого заменителя сливок вызвало выраженное амилоидное поражение печени мышей в 1-й группе, тогда как в группе мышей, получавших красное сухое вино с добавлением фруктозы, нарушения в строении печени есть, но они не столь выражены.

Соотношение ТК печеночной капсулы белых мышей по степени метахромазии в разных группах показано на рис. 1.

В интактной группе ТК капсулы представлены исключительно α -ортохроматичными и β_1 -метахроматичными клетками с преобладанием форм с несульфатированным гепарином в 2,66 раза ($p = 0,0000$, z -тест). У мышей 1-й группы формы ТК капсулы клеток остаются теми же, их процентное соотношение уравнивается ($p = 1,0000$, z -тест), а число клеток снижается почти вдвое по сравнению с интактной группой. ТК паренхимы печени мышей интактной группы представлены α -ортохроматичными, β_1 -и β_2 -метахроматич-

ными клетками, с преобладанием юных форм с несulfатированным гепарином. У мышей из 1-й группы так же, как и в капсуле в паренхиме печени, встречаются только α -ортохроматичные и β_1 -метахроматичные клетки в равном процентном соотношении. Однако общее число ТК снижается по сравнению с тем же показателем в интактной группе более чем в три раза.

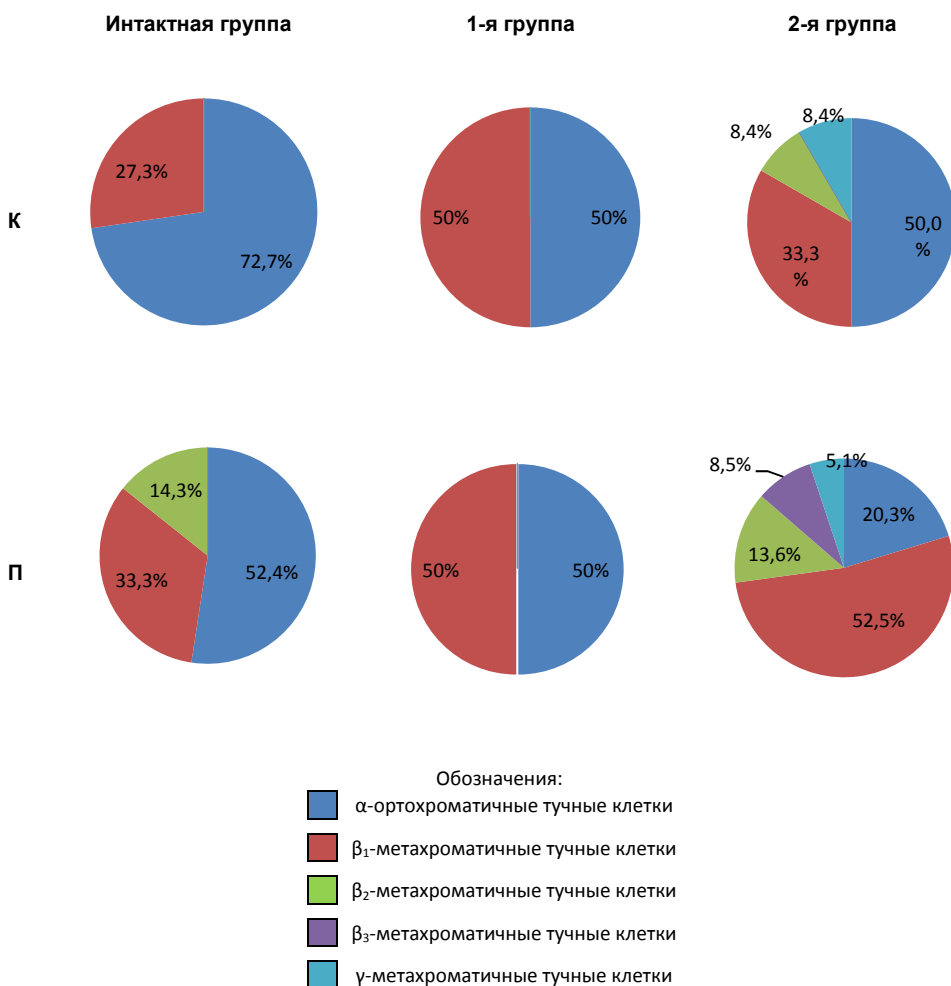


Рис. 1. Распределение тучных клеток капсулы (К) и паренхимы (П) печени белых мышей по степени метахромазии в интактной и опытных группах мышей

Во 2-й группе в капсуле печени наряду с α -орто- и β_1 -метахроматичными формами появляются β_2 - и γ -метахроматичные клетки с созревающим и полностью зрелым, сульфатированным гепарином.

В паренхиме печени мышей 2-й группы обнаруживаются все разновидности ТК от форм с незрелым несulfатированным гепарином до форм с полностью сульфатированным, зрелым гепарином, половину из которых составили β_1 -метахроматичные клетки. Число ТК на поле зрения наибольшим оказалось в паренхиме печени мышей 2-й группы.

При статистическом исследовании частот встречаемости отдельных форм ТК в капсуле печени и ее паренхиме с помощью теста Колмогорова – Смирнова с поправкой Лиллиефорса 1-я, 2-я группы статистически значимо отличаются от аналогичного показателя у интактных мышей ($p = 0,0000$).

Таким образом, моделирование амилоидоза у молодых мышей (30-дневного возраста) сопровождается выраженными изменениями степени сульфатирования гепарина, что заметно по изменению клеточного состава популяции ТК: как в капсуле, так и в паренхиме печени растет доля форм с более сульфатированным незрелым гепарином по сравнению с этим же показателем у интактных животных ($p = 0,0107$, z-тест в капсуле, $p = 0,0903$, z-тест в паренхиме).

Распределение ТК капсулы белых мышей по степени дегрануляции в разных группах заметно варьирует (рис. 2). В интактной группе ТК представлены исключительно T_0 и T_1 формами с преобладанием первых. В 1-й группе формы клеток (T_0 и T_1) остаются теми же, а процентное соотношение становится равным.

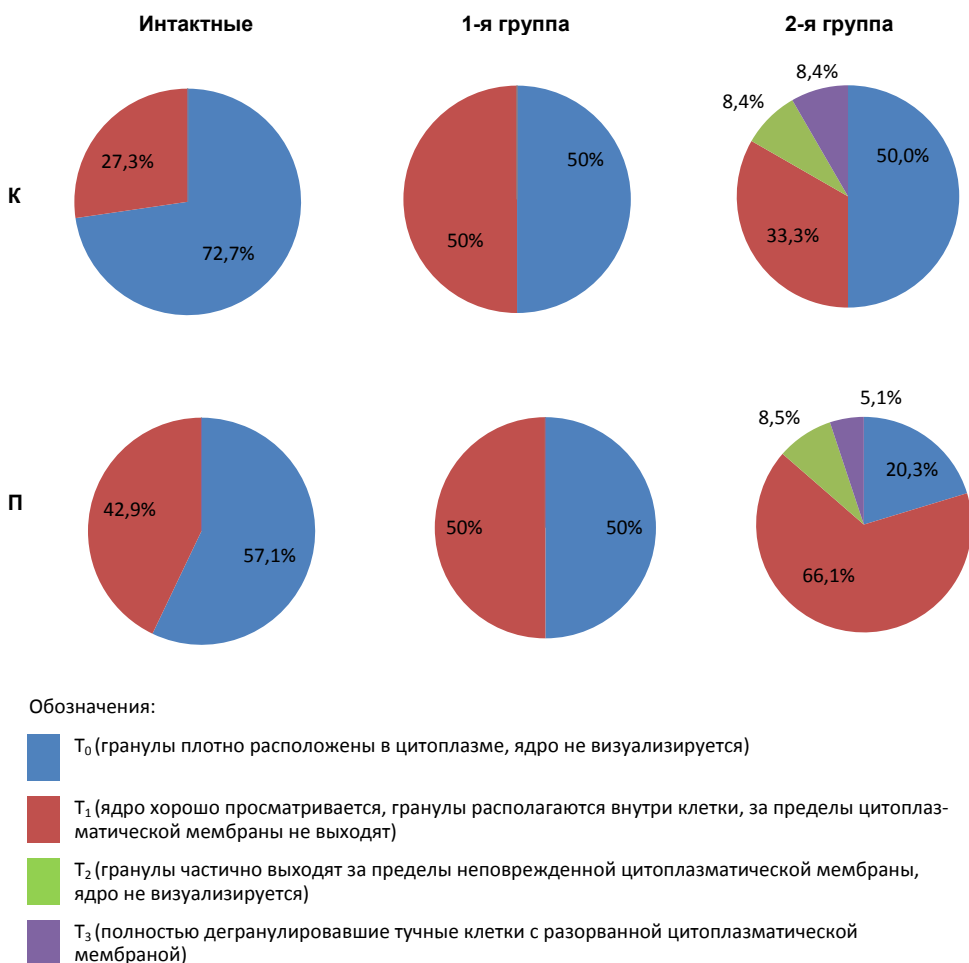


Рис. 2. Распределение тучных клеток капсулы (К) и паренхимы (П) печени белых мышей по степени дегрануляции в интактной и опытных группах мышей

В капсуле печени 2-й группы были обнаружены все формы ТК, половину из которых составили T_0 формы клеток, появились дегранулирующие и полностью дегранулированные ТК в равном соотношении.

В паренхиме печени мышей интактной группы ТК представлены только T_0 и T_1 формами с преобладанием T_0 форм. В 1-й группе соотношение T_0 и T_1 форм становится абсолютно равным, других форм ТК нет. В паренхиме печени мышей из 2-й группы встречаются все формы ТК, преобладает доля T_1 форм клеток, в небольшом количестве появляется T_3 форма клеток.

При исследовании частот встречаемости различных форм дегранулирующих ТК в капсуле печени и ее паренхиме с помощью теста Колмогорова – Смирнова с поправкой Лиллиефорса показатели в двух опытных группах статистически значимо отличаются от показателей интактных мышей ($p = 0,0000$). Первая и вторая группы между собой различаются с тем же уровнем значения p .

Ранее нами был проведен анализ научных статей, посвященных изучению роли ТК в патогенезе амилоидной болезни, из которого следовало, что эти малочисленные публикации в основном являются результатом исследования патоморфологического материала, полученного в клинике. Только единичные работы являются экспериментальными [5]. Из нашего эксперимента явным образом следует, что морфология ТК и частота встречаемости отдельных форм, различающихся как степенью сульфатированности гепарина, так и склонностью к дегрануляции, в целом совпадают с таковыми при тяжелом амилоидном поражении изучаемых органов. Поэтому полученные нами в эксперименте результаты в целом подтверждают наше предположение, что статус популяции ТК при амилоидном поражении может являться дополнительным маркером эффективности разрабатываемых методик лечения и/или профилактики.

Таким образом, формирование амилоидной модели у мышей сопровождается снижением общего числа ТК, доля клеток с более зрелым гепарином при этом растет. Потребление красного виноградного вина увеличивает общее число ТК капсулы и возвращает цитологический статус популяции как по степени метахромазии, так и по степени дегрануляции к уровню, сопоставимому с таковым у интактных мышей. Однако в паренхиме печени наблюдается увеличение доли клеток с более зрелым гепарином, встречаются дегранулирующие клетки. Добавление фруктозы к вину приводит к появлению клеток с более зрелым гепарином, что можно расценивать как мембрано-стабилизирующий эффект.

Выводы. 1. Тучные клетки реагируют на амилоидогенез изменением степени «зрелости» содержащихся в них мукополисахаридов, а также изменением соотношения форм тучных клеток по степени дегрануляции.

2. Красное виноградное сухое вино в сочетании с фруктозой в нашем эксперименте оказывает предупреждающее действие на отложение амилоидных масс во время введения амилоидогена.

Литература

1. Артишевский А.А., Леонтьев А.С., Слука Б.А. Гистология с техникой гистологических исследований. Минск: Высш. шк., 1999. 236 с.
2. Баглай Е.О., Дубиков А.И. Тучные клетки – ключевые участники патогенеза иммуновоспалительных заболеваний // Научно-практическая ревматология. 2015. Т. 53, № 2. С. 182–189. DOI: <http://dx.doi.org/10.14412/1995-4484-2015-182-189>.
3. Гордон Д.С. Тинкториальные параллели тучных клеток. Макро-, микроструктура тканей в норме, патологии и эксперименте. Чебоксары: Изд-во Чуваш. ун-та, 1981. С. 97–101.
4. Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А., Западнюк Б.В. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. 3-е изд., перераб. и доп. Киев: Высш. шк., 1983. 383 с.

5. Ильина Л.Ю., Ефрейкина Н.Б. Состояние популяции тучных клеток почек белых мышей при экспериментальном амилоидозе [Электронный ресурс] // Acta medica Eurasica. 2018. № 2. С. 50–60. URL: <http://acta-medica-eurasica.ru/single/2018/2/8>.
6. Козлов В.А., Глазырина О.С. Миграция тучных клеток в почке // Вестник Чувашского государственного педагогического университета им. И.Я. Яковлева. 2010. № 1(65). С. 40–46.
7. Козлов В.А., Глазырина О.С. Популяция тучных клеток почки и почечной капсулы. М.: ОАО «Щербинская типография», 2009. 104 с.
8. Козлов В.А., Сапожников С.П., Митрасов Ю.Н., Авруйская А.А., Карышев П.Б., Шептухина А.И., Николаева О.В. Амилоид и молекулярные моторы // Наука и инновации – 2015: материалы X Междунар. науч. школы. Йошкар-Ола: Поволжский гос. техн. ун-т, 2015. С. 197–204.
9. Козлов В.А., Сапожников С.П., Карышев П.Б., Шептухина А.И., Николаева О.В. Модель системного амилоидоза у молодых мышей // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2016. Т. 162, № 10. С. 523–527.
10. Линднер Д.П., Поберин И.А., Розкин М.Я., Ефимов В.С. Морфометрический анализ популяции тучных клеток // Архив патологии. 1980. № 6. С. 60–64.
11. Пирюзян Л.А., Лексина Л.А. Переходы от физиологических показателей к патофизиологическим на примере амилоидоза при периодической болезни, инсулиннезависимом сахарном диабете и болезни Альцгеймера // Физиология человека. 2009. Т. 35(1). С. 107–120.
12. Сапожников С.П., Карышев П.Б., Шептухина А.И., Николаева О.В., Авруйская А.А., Митрасов Ю.Н., Козлов В.А. Новые флюоресцентные зонды для выявления амилоида // Современные технологии в медицине. 2017. Т. 9, № 2. С. 91–98. DOI: 10.17691/stm2017.9.2.11.
13. Фуфаева А.И., Козлов В.А., Сапожников С.П., Петрова Ю.В., Александрова В.Ю. Влияние красного виноградного вина и его сочетания с гексозами на формирование стандартной модели амилоидной болезни [Электронный ресурс] // Acta Medica Eurasica. 2018. № 1. С. 42–51. URL: <http://acta-medica-eurasica.ru/single/2018/1/>
14. Шептухина А.И., Николаева О.В., Козлов В.А., Сапожников С.П. Роль этанола в формировании экспериментального амилоидоза // Научный фонд «Биолог». 2015. № 10(14). С. 47–50.
15. Юрина Н.А., Радостина А.И. Морфофункциональная гетерогенность и взаимодействие клеток соединительной ткани. М.: Изд-во УДН, 1990. 398 с.
16. Anekonda T.S. Resveratrol – a boon for treating Alzheimer's disease? *Brain Res. Rev.*, 2006, vol. 52, no. 2, pp. 316–326.
17. Bartolini M., Andrisano V. Strategies for the Ingibition of Protein Aggregation in Human Diseases. *Chem. Bio. Chem.*, 2010, vol. 11, pp. 1–19.
18. Bohle A., Wehrmann M., Eissele R., von Gise H., Mackensen-Haen S., Muller C. The long-term prognosis of AA and AL renal amyloidosis and the pathogenesis of chronic renal failure in renal amyloidosis. *Pathol. Res. Pract.*, 1993, vol. 9, no. 3, pp. 316–331.
19. Cohen A.S., Skinner M. Diseases of the Liver. 6th ed. Philadelphia, 1988, pp. 1093–1108.
20. Danilewicz M., Wagrowska-Danilewicz M. Quantitative analysis of interstitial mast cells in AA and AL renal amyloidosis. *Pathol. Res. Pract.*, 2002, vol. 198, no. 6, pp. 413–419.
21. Gafni J., Merker H.J., Shibolet S., Sohar E., Heller H. On the origin of amyloid. *Ann. Intern. Med.*, 1966, vol. 65, pp. 1031–1044.
22. Gueff B., Chidoni J.J. The site of formation and ultrastructure of amyloid. *Amer. J. Path.*, 1963, vol. 43, pp. 837–854.
23. Harcha P.A., Vargas A., Yi C., Koulakoff A.A., Giaume C., Saez J.C. Hemichannels Are Required for Amyloid β – Peptide-Induced Degranulation and Are Activated in Brain Mast Cells of APP^{swe}/PS1^{dE9} Mice. *J. Neurosci.*, 2015, vol. 35, no. 25, pp. 9526–9538. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3686-14.2015.
24. Klunk W.E., Pettigrew J.W., Abraham D.J. Quantitative evaluation of congo red binding to amyloid-like proteins with a beta-pleated sheet conformation. *J. Histochem. Cytochem.*, 1989, vol. 37, no. 8, pp. 1273–1281.
25. Kuroiwa M., Aoki K., Izumiyama N. Histological study of experimental murine AA amyloidosis. *J. Electron. Microsc.* [Tokyo], 2003, vol. 52, no. 4, pp. 407–413.
26. Marambaud P., Zhao H., Davies P. Resveratrol promotes clearance of Alzheimer's disease amyloid-beta peptides. *J. Biol. Chem.*, 2005, vol. 280, no. 45, pp. 37377–37382.
27. Reid C., Hebert L., Pozullo G., Gervais F. Splenic macrophage activation and functions in amyloid enhancing factor – induced secondary amyloidosis. Study of phagocytosis, killing, respiratory burst and MHC class II surface expression. *J. Leukocyte Biology*, 1993, vol. 53, pp. 651–657.
28. Rokita H., Shirahama T., Cohen A.S., Meck R.L., Benditt E.P., Sipe J.D. Differential expression of the amyloid SAA 3 gene in the liver and peritoneal macrophages of mice undergoing dissimilar inflammatory episodes. *J. Immunol.*, 1987, vol. 139, no. 11, pp. 3849–3853.
29. Shibolet S., Merker H.J., Sohar E., Gafni J., Heller H. Cellular proliferation during the development of amyloid – Electron microscopic observation on the kidneys of Leishmania-infected hamster. *Brit. J. Exp. Path.*, 1967, vol. 48, pp. 244–249.

30. Shirahama T., Miura K., Ju S.T., Kisilevsky R., Gruys E., Cohen A.S. Amyloid enhancing factor-loaded macrophages in amyloid fibril formation. *Lab. Invest.*, 1990, vol. 62, no. 1, pp. 61–68.
31. So M., Hata Y., Naiki H., Goto Y. Heparin-induced amyloid fibrillation of β_2 -microglobulin explained by solubility and a supersaturation-dependent conformational phase diagram. *Protein Sci.*, 2017, vol. 26, no. 5, pp. 1024–1036. DOI: 10.1002/pro.3149.
32. Tao Du, Ali-Khan Z. Pathogenesis of secondary amyloidosis in an alveolar hydatid cyst-mouse model: histopathology and immuno/enzyme-histochemical analysis of splenic marginal zone cells during amyloidogenesis. *J. Exp. Pathol.*, 1990, vol. 71, pp. 313–335.
33. Tillement J.-P., Lecanu L., Papadopoulos V. Amyloidosis and Neurodegenerative Diseases: Current Treatments and New Pharmacological Options. *Pharmacology*, 2010, vol. 85, pp. 1–17. DOI: 10.1159/000259044.
34. Toth T., Toth-Jakatics R., Jimi S., Takebayashi S. Increased density of interstitial mast cells in amyloid A renal amyloidosis. *Mol. Pathol.*, 2000, vol. 13, no. 9, pp. 1020–1028.
35. Westermark P. Mast cells in the islets of Langerhans in insular amyloidosis. *Virchows Arch. A Pathol. Pathol. Anat.*, 1971, vol. 354, pp. 17–23.

ИЛЬИНА ЛИЛИЯ ЮРЬЕВНА – старший преподаватель кафедры медицинской биологии с курсом микробиологии и вирусологии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (lileaseae@rambler.ru).

КОЗЛОВ ВАДИМ АВЕНИРОВИЧ – доктор биологических наук, профессор кафедры медицинской биологии с курсом микробиологии и вирусологии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (rooh12@yandex.ru).

САПОЖНИКОВ СЕРГЕЙ ПАВЛОВИЧ – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой медицинской биологии с курсом микробиологии и вирусологии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (adaptogon@mail.ru).

L. ILYINA, V. KOZLOV, S.SAPOZHNIKOV

REACTION OF MAST CELLS IN MURINE LIVER TO EXPERIMENTAL AMYLOIDOSIS

Key words: mice, red grape wine, liver, prevention, mast cells, fructose, experimental amyloidosis.

The article examines the reaction of mast cells (MCs) in murine liver to 1) forming an experimental model of amyloidosis by intraperitoneal introducing an aqueous solution of soy cream substitute TS 9199-004-58706213-10 diluted in proportion of 10 g per 100 ml, 15 times, every second day, in the dose of 0,1 ml per 10 g of murine body mass – 1st group; 2) amyloidogenesis correction by spontaneous consumption of dry red wine supplemented by 5% fructose per os – 2nd group. In mice of the 1st group the percent area (S_{percent}) of amyloid lesions in Congo-stained histological sections made $17,9 \pm 0,1\%$. The capsule and the parenchyma of mast cells contain α -ortho and β_1 -metachromatic non-degranulating forms in an equal ratio. The proportion of β_1 -metachromatic MC in the capsule of animals' liver was 1,8 times higher and in the parenchyma it was 1.5 times higher than in intact animals. In mice of the 2nd group S_{percent} of amyloid deposition in the liver was less than that in mice of the 1st group and made $2,7 \pm 0,13\%$. In the liver capsule of 2nd group mice, half of all MCs had unsulfated heparin and, unlike the same indicator in the intact group, β_2 -metachromatic and γ -metachromatic MCs appeared. In the liver parenchyma of 2nd group mice, MCs with immature heparin predominated, β_3 -metachromatic MCs appeared for the first time in a small amount, the proportion of γ -metachromatic MCs increased. Both in the capsule and in the parenchyma of the liver in group 2 mice, degranulated MCs appeared and the proportion of degranulating forms increased. Thus, the response of MCs to amyloidogenesis is expressed in changing the "maturity" degree of mucopolysaccharides contained in them, and in the amount of forms, including degranulating MCs; red grape dry wine supplemented with 5% of fructose can be a factor in amyloid disease prevention.

References

1. Artishevskii A.A., Leontyuk A.S., Sluka B.A. *Gistologiya s tekhnikai gistologicheskikh isledovaniy* [Histology with the technique of histological studies]. Minsk, Vysshaya shkola Publ., 1999, 236 p.
2. Baglai E.O., Dubikov A.I. *Tuchnye kletki – klyuchevye uchastniki patogeneza immunosuppressantnykh zabolevaniy* [Mast cells are key participants in the pathogenesis of immunosuppressant diseases]. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya* [Scientific and Practical Rheumatology], 2015, vol. 53, no. 2, pp. 182–189. DOI: <http://dx.doi.org/10.14412/1995-4484-2015-182-189>.

3. Gordon D.S. *Tinktorial'nye parallelituchnykh kletok. Makro-mikrostruktura tkanei v norme, patologii i eksperimente* [Tinctorial parallels of mast cells. Macro-microstructure of tissues in norm, pathology and experiment]. Cheboksary, Chuvash State University Publ., 1981, pp. 97–101.
4. Zapadnyuk I.P., Zapadnyuk V.I., Zakhariya E.A., Zapadnyuk B.V. *Laboratornye zhivotnye. Razvedenie, soderzhanie, ispol'zovanie v eksperimente*. 3-e izd. pererab. I dop [Laboratory animals. Breeding, content, use in the experiment. 3rd ed.]. Kiev, Vysshaya shkola Publ., 1983, 383 p.
5. Ilyna L.Yu., Efeykina N.B. *Sostoyanie populyatsii tuchnykh kletok pochek belykh myshei pri ehksperimental'nom amiloidoze* [The state of mast cells population in mice kidneys in experimental amyloidosis]. *Acta medica Eurasica*, 2018, no. 2, pp. 50–60.
6. Kozlov V.A., Glazyrina O.S. *Migratsiya tuchnykh kletok v pochke* [Migration of mast cells in the kidney]. *Vestnik Chuvashskogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo universiteta im. I.Ya. Yakovleva* [Bulletin of the Chuvash State Pedagogical University named after I. Yakovlev], 2010, no. 1(65), pp. 40–46.
7. Kozlov V.A., Glazyrina O.S. *Populyatsiya tuchnykh kletok pochki i pochechnoi kapsuly* [Population of mast cells of the kidney and renal capsule]. Moscow, 2009, 104 p.
8. Kozlov V.A., Sapozhnikov S.P., Mitrasov Yu.N., Avruiskaya A.A., Karyshev P.B., Sheptukhina A.I., Nikolaeva O.V. *Amiloid i molekulyarnye motory* [Amyloid and molecular motors]. *Nauka i innovatsii – 2015: materialy X Mezhdunar. nauch. shkoly* [Proc. of Int. Sci. School «Science and Innovations – 2015»]. Yoshkar-Ola, 2015, pp. 197–204.
9. Kozlov V.A., Sapozhnikov S.P., Karyshev P.B., Sheptukhina A.I., Nikolaeva O.V. *Model' sistemnogo amiloidoza u molodykh myshei* [Systemic amyloidosis model on young mice]. *Byulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny* [Bulletin of Experimental Biology and Medicine], 2016, vol. 162, no. 10, pp. 523–527.
10. Lindner D.P., Poberin I.A., Rozkin M.Ya., Efimov V.S. *Morfometricheskii analiz populyatsii tuchnykh kletok* [Morphometric analysis of the population of mast cells]. *Ark. Patologii* [Arch. Pathology], 1980, no. 6, pp. 60–64.
11. Piruzyan L.A., Leksina L.A. *Perekhody ot fiziologicheskikh pokazatelei k patofiziologicheskim naprimere amiloidoza pri periodicheskoy bolezni, insulinnezavisimom sakharnom diabete i bolezni Al'tsgeimera* [Transitions from physiological to pathophysiological indicators on the example of amyloidosis in periodic disease, insulin-independent diabetes and Alzheimer's disease]. *Fiziologiya cheloveka* [Human physiology], 2009, vol. 35 (1), pp. 107–120.
12. Sapozhnikov S.P., Karyshev P.B., Sheptukhina A.I., Nikolaeva O.V., Avruiskaya A.A., Mitrasov Yu.N., Kozlov V.A. *Novye flyuorescentnye zondy dlya vyyavleniya amiloida* [New fluorescent probes for the detection of amyloid]. *Sovremennye tekhnologii v meditsine* [Modern technologies in medicine], 2017, vol. 9, no. 2, pp. 91–98. DOI: 10.17691/stm2017.9.2.11.
13. Fufaeva A.I., Kozlov V.A., Sapozhnikov S.P., Petrova YU.V., Aleksandrova V.Yu. *Vliyanie krasnogo vinogradnogo vina i ego sochetaniya s geksozami na formirovanie standartnoi modeli amiloidnoi bolezni* [The influence of red grape wine and its combination with hexoses on the formation of the standard model of amyloid disease]. *Acta medica Eurasica*, 2018, no. 1, pp. 42–51.
14. Sheptukhina A.I., Nikolaeva O.V., Kozlov V.A., Sapozhnikov S.P. *Rol' etanola v formirovanii eksperimental'nogo amiloidoza* [The role of ethanol in the formation of experimental amyloidosis]. *Nauchnyi fond «Biolog»* [Scientific Foundation «Biologist»], 2015, no. 10(14), pp. 47–50.
15. Yurina N.A., Radostina A.I. *Morfofunktsional'naya geterogennost' i vzaimodeistvie kletok soedinitel'noi tkani* [Morphofunctional heterogeneity and interaction of cells of connective tissue]. Moscow, UDN Publ., 1990, 398 p.
16. Anekonda T.S. Resveratrol – a boon for treating Alzheimer's disease? *Brain Res. Rev.*, 2006, vol. 52, no. 2, pp. 316–326.
17. Bartolini M., Andrisano V. Strategies for the Ingibition of Protein Aggregation in Human Diseases. *Chem. Bio. Chem.*, 2010, vol. 11, pp. 1–19.
18. Bohle A., Wehrmann M., Eissele R., von Gise H., Mackensen-Haen S., Muller C. The long-term prognosis of AA and AL renal amyloidosis and the pathogenesis of chronic renal failure in renal amyloidosis. *Pathol. Res. Pract.*, 1993, vol. 9, no 3, pp. 316–331.
19. Cohen A. S., Skinner M. *Diseases of the Liver*. 6th ed. Philadelphia, 1988, pp. 1093–1108.
20. Danilewicz M., Wagrowska-Danilewicz M. Quantitative analysis of interstitial mast cells in AA and AL renal amyloidosis. *Pathol. Res. Pract.*, 2002, vol. 198, no. 6, pp. 413–419.
21. Gafni J., Merker H.J., Shibolet S., Sohar E., Heller H. On the origin of amyloid. *Ann. Intern. Med.*, 1966, vol. 65, pp. 1031–1044.
22. Gueft B., Chidoni J.J. The site of formation and ultrastructure of amyloid. *Amer. J. Path.*, 1963, vol. 43, pp. 837–854.
23. Harcha P.A., Vargas A., Yi C., Koulakoff A.A., Giaume C., Saez J.C. Hemichannels Are Required for Amyloid β – Peptide-Induced Degranulation and Are Activated in Brain Mast Cells of APPswe/PS1dE9 Mice. *J. Neurosci.*, 2015, vol. 35, no. 25, pp. 9526–9538. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3686-14.2015.

24. Klunk W.E., Pettegrew J.W., Abraham D.J. Quantitative evaluation of congo red binding to amyloid-like proteins with a beta-pleated sheet conformation. *J. Histochem. Cytochem.*, 1989, vol. 37, no. 8, pp. 1273–1281.
25. Kuroiwa M., Aoki K., Izumiyama N. Histological study of experimental murine AA amyloidosis. *J. Electron. Microsc.* [Tokyo], 2003, vol. 52, no. 4, pp. 407–413.
26. Marambaud P., Zhao H., Davies P. Resveratrol promotes clearance of Alzheimer's disease amyloid-beta peptides. *J. Biol. Chem.*, 2005, vol. 280, no. 45, pp. 37377–37382.
27. Reid C., Hebert L., Pozullo G., Gervais F. Splenic macrophage activation and functions in amyloid enhancing factor – induced secondary amyloidosis. Study of phagocytosis, killing, respiratory burst and MHC class II surface expression. *J. Leukocyte Biology*, 1993, vol. 53, pp. 651–657.
28. Rokita H., Shirahama T., Cohen A.S., Meck R.L., Benditt E.P., Sipe J.D. Differential expression of the amyloid SAA 3 gene in the liver and peritoneal macrophages of mice undergoing dissimilar inflammatory episodes. *J. Immunol.*, 1987, vol. 139, no. 11, pp. 3849–3853.
29. Shibolet S., Merker H.J., Sohar E., Gafni J., Heller H. Cellular proliferation during the development of amyloid – Electron microscopic observation on the kidneys of Leishmania-infected hamster. *Brit. J. Exp. Path.*, 1967, vol. 48, pp. 244–249.
30. Shirahama T., Miura K., Ju S.T., Kisilevsky R., Gruys E., Cohen A.S. Amyloid enhancing factor-loaded macrophages in amyloid fibril formation. *Lab Invest.*, 1990, vol. 62, no. 1, pp. 61–68.
31. So M., Hata Y., Naiki H., Goto Y. Heparin-induced amyloid fibrillation of β 2-microglobulin explained by solubility and a supersaturation-dependent conformational phase diagram. *Protein Sci.*, 2017, vol. 26, no. 5, pp. 1024–1036. DOI: 10.1002/pro.3149.
32. Tao Du, Ali-Khan Z. Pathogenesis of secondary amyloidosis in an alveolar hydatid cyst-mouse model: histopathology and immuno/enzyme-histochemical analysis of splenic marginal zone cells during amyloidogenesis. *J. Exp. Path.*, 1990, vol. 71, pp. 313–335.
33. Tillement J.-P., Lecanu L., Papadopoulos V. Amyloidosis and Neurodegenerative Diseases: Current Treatments and New Pharmacological Options. *Pharmacology*, 2010, vol. 85, pp. 1–17. DOI: 10.1159/000259044.
34. Toth T., Toth-Jakatics R., Jimi S., Takebayashi S. Increased density of interstitial mast cells in amyloid A renal amyloidosis. *Mol. Pathol.*, 2000, vol. 13, no. 9, pp. 1020–1028.
35. Westermark P. Mast cells in the islets of Langerhans in insular amyloidosis. *Virchows Arch. A Pathol. Pathol. Anat.*, 1971, vol. 354, pp. 17–23.

ILYINA LILIA – Senior Lecturer, Department of Medical Biology with a Course of Microbiology and Virology, Chuvash State University, Russia, Cheboksary (lileaceae@rambler.ru).

KOZLOV VADIM – Doctor of Biological Sciences, Professor of the Department of Medical Biology with a Course in Microbiology and Virology, Chuvash State University, Russia, Cheboksary (pooh12@yandex.ru).

SAPOZHNIKOV SERGEY – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Medical Biology with a Course in Microbiology and Virology, Chuvash State University, Russia, Cheboksary (adaptogon@mail.ru).
