

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

© Коллектив авторов, 2018
УДК 616.819.2018.21

Е. А. Фёдорова¹, И. П. Григорьев¹, М. А. Сырцова¹, Д. А. Суфиева¹, А. Д. Новикова¹,
Д. Э. Коржевский^{1,2}

ВЫЯВЛЕНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ ДЕГРАДУЛЯЦИИ ТУЧНЫХ КЛЕТОК СОСУДИСТОГО СПЛЕТЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ОКРАСКИ И ИММУНОГИСТОХИМИИ

¹ Лаборатория функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы (зав. — проф. РАН Д. Э. Коржевский), ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург;
² кафедра фундаментальных проблем медицины и медицинских технологий (зав. — чл.-кор. РАН А. Н. Суворов), ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»

Цель — определение признаков дегрануляции тучных клеток сосудистого сплетения головного мозга человека при использовании окраски толуидиновым синим, гистохимической реакции на гликозаминогликаны и сульфаминогликаны с помощью альцианового синего и иммуногистохимической реакции на триптазу тучных клеток.

Материал и методы. Исследование проведено на образцах сосудистого сплетения головного мозга 29 людей в возрасте от 14 до 73 лет. Для оценки числа и локализации тучных клеток часть препаратов окрашивали толуидиновым синим и альциановым синим с докраской ядерным прочным красным. Также была проведена иммуногистохимическая реакция с использованием антител к триптазе тучных клеток человека.

Результаты. Все три метода окраски показали разную степень эффективности при выявлении тучных клеток и их дегрануляции. Наилучшим методом визуализации тучных клеток (как гранулированных, так и в процессе дегрануляции) в сосудистом сплетении оказалась иммуногистохимическая реакция на триптазу. Около 60% тучных клеток в сосудистом сплетении головного мозга в исследуемых образцах были представлены дегранулирующими клетками, окруженными иммунопозитивным ореолом, демонстрирующим перицеллюлярную локализацию триптазы.

Выводы. Иммуногистохимическая реакция на триптазу значительно эффективнее выявляет тучные клетки в сосудистом сплетении мозга человека по сравнению с классическими методами окраски толуидиновым синим и альциановым синим. Дегрануляция тучных клеток в сосудистом сплетении мозга человека относится к разновидности постепенной дегрануляции, перманентно влияющей на функциональную активность сплетения и гематоливорного барьера.

Ключевые слова: тучные клетки, триптаза тучных клеток, дегрануляция, сосудистое сплетение головного мозга, головной мозг

Тучные клетки (ТК) — это клетки соединительной ткани, которые участвуют в иммунной защите организма и аллергическом воспалении, а также контролируют локальную гемодинамику и целостность тканевых структур [5]. Отличительной особенностью этих клеток является наличие плотных гранул, заполняющих до 40% цитоплазмы, в которых хранятся синтезируемые ими биогенные амины (гистамин и серотонин), цитокины, ферменты (триптаза, химаза, кислые гидролазы и ряд других), простагландины, лейкотриены, аденозинтрифосфат, нейропептиды (вазоинтестинальный пептид и гонадотропин-рилизинг-гормон) [2]. ТК происходят от плюрипотентных стволовых клеток костного мозга, откуда распространяются по всему организму, где

в местах окончательной локализации завершается их дифференцировка. Они присутствуют почти во всех органах и тканях (за исключением костной и хрящевой ткани). ТК до последнего времени стандартно выявляются с помощью окрашивания катионными тиазиновыми красителями [6, 8], такими как тионин, толуидиновый синий, азур А, благодаря эффекту метахромазии — окрашиванию в цвет, отличный от цвета самой краски. Метахромазия проявляется при связывании красителя с содержащимися в тучных клетках протеогликанами (в первую очередь, гепарином и хондроитинсульфатом). В центральной нервной системе с помощью данного метода тучных клеток долгое время выявить не удавалось. Лишь к 1920-м годам ТК были описаны в сосу-

Сведения об авторах:

Фёдорова Елена Анатольевна (e-mail: iemmorphol@yandex.ru), Григорьев Игорь Павлович, Сырцова Марина Александровна, Суфиева Дина Азатовна, Новикова Анастасия Дмитриевна, Коржевский Дмитрий Эдуардович, отдел общей и частной морфологии, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 12

дистом сплетении мозга некоторых животных, а в отдельных структурах мозга (гипоталамусе, таламусе, поводке, а также мозговых оболочках) они были обнаружены только в 1960–1970-е годы [12].

При активации ТК под действием иммунных механизмов (IgE-зависимых и IgE-независимых), а также внешних и внутренних химических факторов (гормоны, тканевые протеазы, токсины) содержимое клеток выбрасывается путём экзоцитоза — процесса, который в данном случае называется дегрануляцией [18]. Биоактивные компоненты гранул при дегрануляции оказывают локальное действие на близлежащие клетки, в первую очередь — на клетки сосудистой системы [14], а в головном мозгу — в том числе на нервные и глиальные клетки [9], что определяет реакцию ткани головного мозга на повреждающие факторы. Таким образом, тучные клетки (в кооперации с глиальными и нервными клетками) участвуют в развитии нейровоспаления, которое, как установлено в последнее время, лежит в основе или, по меньшей мере, сопровождает практически все нейродегенеративные и многие психические заболевания [11]. Вследствие этого большое значение имеют методические подходы к выявлению и описанию тучных клеток в головном мозгу и их дегрануляции.

Цель настоящего исследования состояла в определении возможностей выявления признаков дегрануляции тучных клеток сосудистого сплетения головного мозга человека при использовании окраски толуидиновым синим, гистохимической реакции на аминокликозогликаны и сульфаминогликаны и иммуногистохимической (ИГХ) реакции на триптазу тучных клеток.

Материалом для исследования служили фрагменты сосудистого сплетения головного мозга 29 людей в возрасте 14–73 года из архива отдела общей и частной морфологии Института экспериментальной медицины. Соблюдение этических норм при архивации биологического материала подтверждается положительным заключением локального этического комитета ИЭМ № 58-9/1-684 от 11.12.2009 г. Материал был фиксирован в этаноле и смеси спирта и формальдегида, обезвожен и залит в парафин по общепринятой методике. Из парафиновых блоков готовили срезы толщиной 6–7 мкм. Для оценки присутствия и локализации тучных клеток часть препаратов окрашивали толуидиновым синим (BioVitrum, Россия) и альциановым синим (BioVitrum, Россия) с докраской 0,5% раствором ядерного прочного красного (Nuclear Fast Red, Sigma Aldrich, США). Дополнительно были проведены ИГХ-

реакции с использованием антител к триптазе ТК человека (мышинные моноклональные — клон AA1), разведение производителя (BioGenex, США). В качестве вторичных антител использовали набор MACH2 Universal HRP Polymer Kit for mouse and rabbit (Biocare Medical, США). Для визуализации продукта ИГХ-реакции применяли 3'3'-диаминобензидин (набор реагентов DAB+, Dako, Дания). Просматривали не менее 10 срезов в каждом из случаев. Выявляли ТК с выраженной грануляцией (наличие плотно расположенных цитоплазматических гранул) и ТК с дегрануляцией (частичное опустошение цитоплазмы и выход отдельных гранул за ее пределы). Анализ полученных препаратов и фотосъемку выполняли, используя микроскоп Leica DM750 и цифровую фотокамеру ICC50 (Leica, Германия).

Подсчет ТК производили на препаратах, окрашенных альциановым синим и ИГХ-методом. Определяли количество ТК на последовательных срезах одного и того же случая, окрашенных альциановым синим или ИГХ на триптазу, и вычисляли соотношение количества ТК, выявляемых после двух разных способов окраски. При проведении ИГХ-реакции оценку степени дегрануляции ТК производили по площади ореола (продукт иммуногистохимической реакции к триптазе) вокруг ТК. Измерения осуществляли в программе ImageJ (NIH, США). Для каждого случая анализировали по 5–10 клеток. Сравнение данных проводили с использованием t-критерия Стьюдента.

Исследование 29 образцов сосудистого сплетения мозга человека после их окраски толуидиновым синим и альциановым синим показало, что в 13 случаях (45%) ТК выявить не удалось. Вследствие этого для дальнейшего изучения были использованы только образцы ткани с обнаруженными ТК (16 наблюдений). При окраске препаратов толуидиновым синим в сосудистом сплетении встречались единичные метахроматически окрашенные ТК. Они были полиморфными, имели круглую, реже вытянутую форму. Для них характерно наличие отчетливо видимых гранул, заполняющих всю цитоплазму (рисунк, а).

Дегранулирующие ТК выявлялись редко (см. рисунок, б).

При окраске альциановым синим в сосудистом сплетении идентифицировали значительно больше ТК. ТК без признаков дегрануляции имели четкие границы (см. рисунок, в), а при дегрануляции клетки границы цитоплазмы неотчетливы, при этом наблюдались группы гранул, расположенных вне цитоплазмы ТК. Цитоплазма дегранулирующих ТК заметно светлее, чем у клеток без дегрануляции (см. рисунок, 1). При подсчете ТК

на препаратах, окрашенных альциановым синим, на долю клеток без дегрануляции приходилось 40 %, а с дегрануляцией — 60 %.

ИГХ-реакция на триптазу визуализирует существенно больше ТК в сосудистом сплетении, чем после окраски альциановым синим. Нередко в одном поле зрения видны по несколько триптазо-иммунореактивных клеток, при этом неспецифического окрашивания ткани сосудистого сплетения не наблюдалось. Обращает на себя внимание частая встречаемость ТК в непосредственной близости к сосудам (см. рисунок, е). Дегранулирующие ТК имели более слабое ИГХ-окрашивание (см. рисунок, е), чем недегранулирующие (см. рисунок, д), и находились в окружении слабоокрашенной области с размытыми границами (своего рода «ореол»). Было выявлено, что доля клеток без дегрануляции составляла 45 %, с дегрануляцией — 55 %. При подсчёте ТК при ИГХ-реакции выявлялось в 3,5 раза больше клеток (максимум 46 клеток на одном препарате), чем после окраски альциановым синим (максимум — 12 клеток на одном препарате). В среднем, альциановый синий выявлял 35 % от количества ТК, определяемых с помощью ИГХ-реакции на триптазу. Было обнаружено, что размеры ТК в процессе дегрануляции ($84,0 \pm 7,4$ мкм²) и в состоянии покоя ($88,3 \pm 15,1$ мкм²) значимо не различались ($p < 0,5$). Площадь образующегося «ореола» при дегрануляции примерно в 9 раз превышает размеры самой клетки ($740,4 \pm 21,3$ мкм²).

Интересно отметить, что, несмотря на разное число выявляемых ТК при ИГХ-реакции и окраске альциановым синим, соотношение ТК с признаками дегрануляции (55–60 %) и без дегрануляции (40–45 %) было одинаковым.

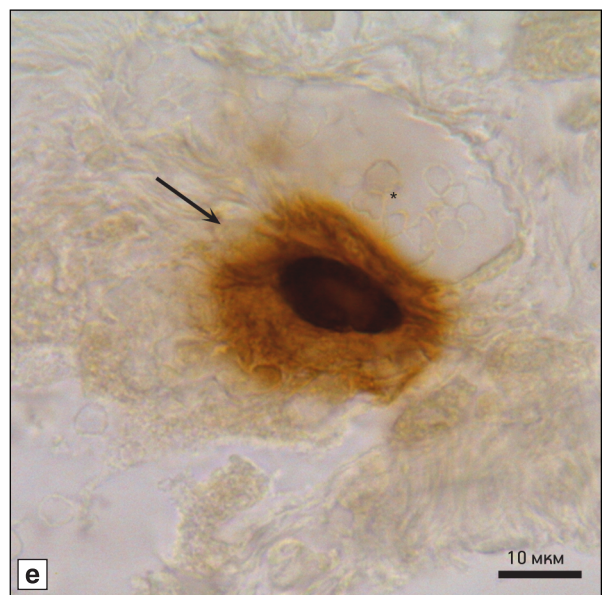
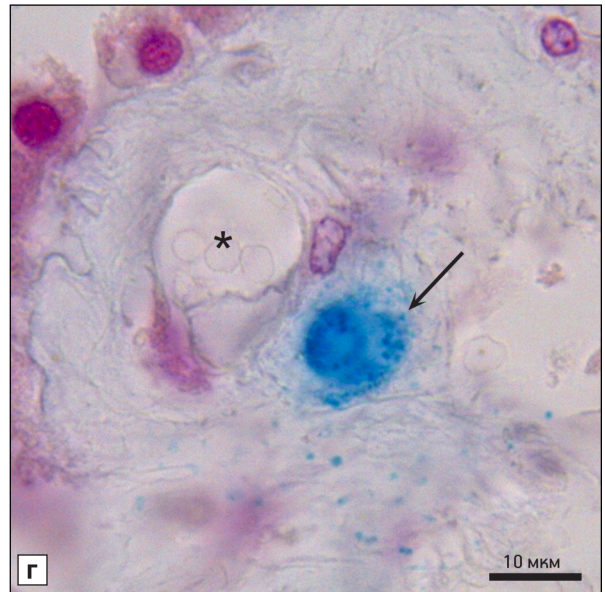
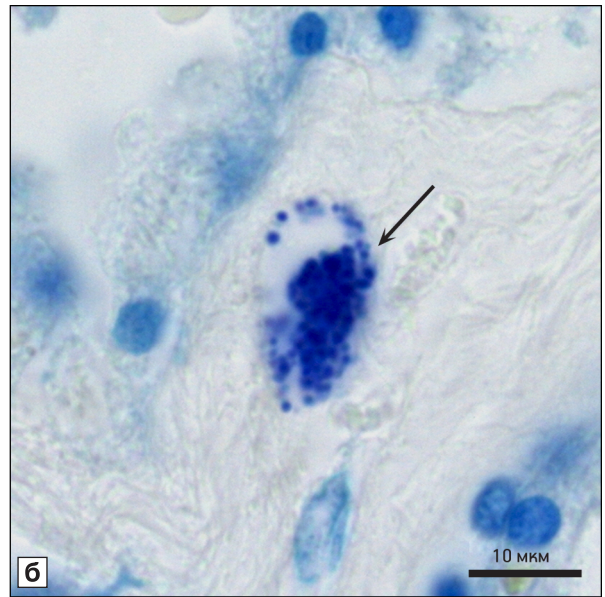
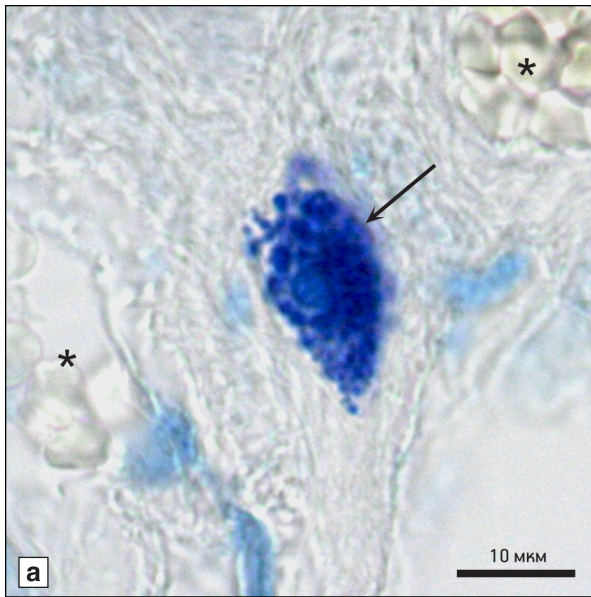
В ходе предварительного исследования в 45 % анализируемых образцов сосудистого сплетения нам не удалось выявить ТК при использовании не только толуидинового синего, но и альцианового синего, который в целом позволяет выявить большее число ТК, чем толуидиновый синий. Ранее нами также было продемонстрировано, что ТК не удаётся выявить в сосудистом сплетении у 60–63 % детей и 20 % взрослых [3, 4]. Другими исследователями в работе, проведённой на области мозга человека, называемой самым задним полем (*area postrema*), эти клетки также не выявлялись в 31 % препаратов, окрашенных толуи-

диновым синим, в 25 % — альциановым синим и в 10 % препаратов с ИГХ-реакцией на триптазу [16]. Эти данные указывают на особую сложность выявления ТК, особенно в центральной нервной системе, на неоднозначность результатов, получаемых разными методами, и важность нахождения наиболее эффективных и адекватных методов выявления ТК и их дегрануляции.

В настоящем исследовании были использованы три метода идентификации ТК: классический метод окраски толуидиновым синим (визуализация опосредуется за счёт их метакромазии), гистохимическое окрашивание на гликозаминогликаны и сульфаминогликаны с помощью альцианового синего и ИГХ-реакцию на триптазу — фермент, характерный для ТК. Все три метода с разной степенью эффективности выявляли данный тип клеток в сосудистом сплетении человека. Наилучшие результаты были получены при использовании ИГХ-реакции на триптазу, тогда как меньше всего ТК выявлялось при окраске толуидиновым синим. Полученные нами результаты сходны с данными исследования ТК в самом заднем поле (*area postrema*) человека. В желудке, тонкой кишке и печени человека ИГХ-реакция на триптазу позволяла выявить вдвое больше ТК, а в коже — на 40 % больше, чем окраска толуидиновым синим [7]. При выявлении двух фенотипов ТК — слизистых оболочек и соединительнотканых — было показано, что ИГХ-реакция на триптазу в желудке мыши выявляет вдвое больше слизистых оболочек ТК по сравнению с окраской толуидиновым синим. Однако выявляемость соединительнотканых ТК в желудке и коже мыши, а также в желудке и печени монгольской песчанки была одинаковой при использовании обоих методов, а в тонкой кишке монгольской песчанки эффективность выявления ТК была одинаковой при использовании толуидинового синего, альцианового синего и ИГХ-реакции на триптазу [1, 7]. Сопоставление полученных нами результатов и данных из приведённых выше работ свидетельствует о сходстве гисто- и ИГХ-характеристик ТК разных структур мозга и желудочно-кишечного тракта человека и различии с ТК других видов животных, у которых наблюдается вариативность химических характеристик ТК разных органов, что согласуется со сведениями о значительной гетерогенности популя-

Тучные клетки в сосудистом сплетении головного мозга человека.

а, в, д — тучные клетки без признаков дегрануляции; б, г, е — дегранулирующие тучные клетки. Стрелка — тучная клетка, звездочка — просвет кровеносного сосуда. а, б — окраска толуидиновым синим; в, г — окраска альциановым синим; д, е — иммуногистохимическая реакция на триптазу



ции ТК — как межвидовой, так и межорганной в пределах одного вида. Эти различия связаны со значительными отличиями биохимических, гистохимических и функциональных характеристик разных видов ТК [17]. Этот факт свидетельствует о необходимости соблюдать осторожность при попытках механически экстраполировать какие-либо данные о ТК, полученные на одном виде организмов, на другие виды, а в пределах одного вида — данные, полученные на одних органах и тканях, — на другие органы и ткани.

Независимо от метода, которым выявлялись ТК, в них визуализировались многочисленные гранулы. Большое число ТК (55–60%) в сосудистом сплетении мозга человека были зафиксированы в состоянии дегрануляции — выделения их содержимого. При этом окрашенные толуидиновым синим или альциановым синим гранулы расположены вблизи ТК, но за пределами их цитоплазмы либо в случае ИГХ-реакции на триптазу — окрашенной области вокруг ТК, в которой нередко видны тёмноокрашенные гранулы.

В литературе описаны определённые критерии, с помощью которых на препаратах, окрашенных толуидиновым синим, отличают дегранулирующие ТК от гранулированных. Помимо наблюдаемых около ТК гранул, особое внимание обращается на то, имеются ли в цитоплазме клеток гранулы, отчетливо отделенные друг от друга. Это расценивается как показатель дегранулирующих клеток. Невозможность обнаружения отдельных гранул внутри ТК из-за их плотной упаковки расценивается как показатель гранулированной клетки [15]. Нельзя не признать, что определение дегранулирующих ТК с помощью ИГХ-реакции на триптазу значительно более наглядно и удобно для исследования.

В полученных нами данных обращает на себя внимание значительная доля дегранулирующих ТК в сосудистом сплетении мозга человека. Известно, что, помимо дегрануляции, вызванной определёнными стимулами, существует так называемая постепенная дегрануляция ТК («piecemeal degranulation»), которая была описана для ТК разных органов и у разных видов животных [10, 13]. По-видимому, тот факт, что наблюдаемые нами ТК в сосудистом сплетении человека в большинстве своём находятся в состоянии дегрануляции, свидетельствует именно о таком характере выделения продуктов ТК, которые оказывают перманентное влияние на окружающую ткань сосудистого сплетения, регулируя его функциональную активность.

Суммируя полученные результаты, следует подчеркнуть, что выявление ТК в сосуди-

стом сплетении мозга человека, как и в целом в центральной нервной системе, а также в других органах, представляет собой сложную задачу. Используемые нами три метода окраски позволили с разной степенью эффективности выявить ТК сосудистого сплетения. Полученные данные свидетельствуют, что наилучшим методом визуализации ТК сосудистого сплетения и процесса их дегрануляции является ИГХ реакция на триптазу в сравнении с окраской толуидиновым синим и альциановым синим. Обнаружение преимущественно дегранулирующих ТК свидетельствует о том, что дегрануляция ТК в сосудистом сплетении мозга человека относится к разновидности постоянной дегрануляции, перманентно влияющей на функциональную активность сплетения и более широко — на проницаемость гематоликворного барьера в целом.

Вклад авторов:

Концепция и дизайн исследования: Д. Э. К.

Сбор и обработка материала: Е. А. Ф., М. А. С., Д. А. С., А. Д. Н.

Статистическая обработка данных: И. П. Г., Д. А. С.

Анализ и интерпретация данных: Д. Э. К., И. П. Г.

Написание текста: И. П. Г., Е. А. Ф., Д. А. С., Д. Э. К.

Авторы сообщают об отсутствии в статье конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Атякшин Д. А., Бурцева А. С., Соколов Д. А. Оценка эффективности выявления тучных клеток в тощей кишке монгольских песчанок с помощью гистохимических методик // Журнал анатомии и гистопатологии. 2016. Т. 5, № 4. С. 85–89 [Atyakshin D. A., Burtseva A. S., Sokolov D. A. Evaluation of the effectiveness of mast cells detection in mongolian gerbils jejunum mucosa using histochemical methods // Zhurnal anatomii i gistopatologii. 2016. Vol. 5, № 4. P. 85–89. In Russ.]. doi: 10.18499/2225-7357-2016-5-4-85-89.
- Быков В. Л. Секреторные механизмы и секреторные продукты тучных клеток // Морфология. 1999. Т. 115, вып. 2. С. 72–79 [Bykov V. L. Secretory mechanisms and secretory products of mast cells // Morfologija. 1999. Vol. 115, № 2. P. 72–79. In Russ.].
- Коржевский Д. Э. Тучные клетки в сосудистом сплетении у детей // Морфология. 1997. Т. 112, вып. 5. С. 48–50 [Korzhevskii D. E. Mast cells in the choroid plexus of the hindbrain in children // Morfologija. 1997. Vol. 112, № 5. P. 48–50. In Russ.].
- Коржевский Д. Э. Тучные клетки в сосудистом сплетении конечного мозга при различных видах смерти // Теория и практика судебной медицины. Труды Петербургск. науч. общ-ва судебных медиков. СПб., 1998. С. 43–45 [Korzhevskii D. E. Mast cells in the forebrain choroid plexus in the case of different causes of death // Teoriya i praktika sudebnoy meditsiny. Trudy Peterburgskogo nauchnogo obshhestva sudebnykh medikov (Theory and practice of the forensic medicine. Proc. St. Petersburg Scientif. Soc. of Forensic Physicians). St. Petersburg, 1998. P. 43–45. In Russ.].

5. Кутукова Н.А., Назаров П.Г. Тучные клетки: роль в воспалении, восстановлении тканей и развитии фиброза // Цитокины и воспаление. 2014. Т. 13, № 2. С. 11–20 [Kutukova N.A., Nazarov P.G. Mast cells: a role in inflammation, tissue repair and fibrosis // *Tsitokiny I Vospaleniye*. 2014. Vol. 13, № 2. P. 11–20. In Russ.].
6. Турыгин В.В., Бабик Т.М., Бояков А.А. Характеристика тучных клеток сосудистых сплетений желудочков головного мозга человека при старении // Морфология. 2004. Т. 126, вып. 6. С. 61–62 [Turygin V.V., Babik T.M., Boyakov A.A. Characteristics of mast cells in the choroid plexus of the ventricles of the human brain in aging // *Neurosci Behav Physiol*. 2005. Vol. 35, № 9. P. 909–911].
7. Atiakshin D., Samoilova V., Buchwalow I., Boecker W., Tiemann M. Characterization of mast cell populations using different methods for their identification // *Histochem Cell Biol*. 2017. Vol. 147, № 6. P. 683–694. doi: 10.1007/s00418-017-1547-7.
8. Babik T.M. Changes in mast cells of vascular plexuses of human cerebral ventricles in atherosclerosis of precerebral arteries // *Bull. Exper. Biol. Med*. 2005. Vol. 140, № 5. P. 571–573.
9. Chikahisa S., Kodama T., Soya A., Sagawa Y., Ishimaru Y., Sei H., Nishino S. Histamine from brain resident mast cells promotes wakefulness and modulates behavioral states // *PLoS One*. 2013. Vol. 8. P. e78434. doi: 10.1371/journal.pone.0078434.
10. Crivellato E., Nico B., Gallo V.P., Ribatti D. Cell secretion mediated by granule-associated vesicle transport: a glimpse at evolution // *Anat. Rec. (Hoboken)*. 2010. Vol. 293, № 7. P. 1115–1124. doi: 10.1002/ar.21146.
11. de Groot N.S., Burgas M.T. Is membrane homeostasis the missing link between inflammation and neurodegenerative diseases? // *Cell Mol. Life Sci*. 2015. Vol. 72, № 24. P. 4795–4805. doi: 10.1007/s00018-015-2038-4.
12. Dropp J.J. Mast cells in the central nervous system of several rodents // *Anat Rec*. 1972. Vol. 174, № 2. P. 227–237. doi: 10.1002/ar.1091740207.
13. Dvorak A.M. Piecemeal degranulation of basophils and mast cells is effected by vesicular transport of stored secretory granule contents // *Chem. Immunol. Allergy*. 2005. Vol. 85. P. 135–184. doi.org/10.1159/000086516.
14. Esposito P., Gheorghe D., Kandere K., Pang X., Connolly R., Jacobson S., Theoharides T.C. Acute stress increases permeability of the blood–brain barrier through activation of brain mast cells // *Brain Res*. 2001. Vol. 888. P. 117–127. doi.org/10.1016/S0006-8993(00)03026-2.
15. Larson A.A., Thomas M.J., McElhose A., Kovacs K.J. Spontaneous locomotor activity correlates with the degranulation of mast cells in the meninges rather than in the thalamus: disruptive effect of cocaine // *Brain Res*. 2011. Vol. 1395. P. 30–37. doi: 10.1016/j.brainres.2011.04.033.
16. Porzionato A., Macchi V., Parenti A., De Caro R. The distribution of mast cells in the human area postrema // *J. Anat*. 2004. Vol. 204, № 2. P. 141–147. doi: 10.1111/j.1469-7580.2004.00256.x
17. Welle M. Development, significance, and heterogeneity of mast cells with particular regard to the mast cell-specific proteases chymase and tryptase // *J. Leukoc. Biol*. 1997. Vol. 61, № 3. P. 233–245.
18. Wernersson S., Pejler G. Mast cell secretory granules: armed for battle // *Nat. Rev. Immunol*. 2014. Vol. 14, № 7. P. 478–494. doi: 10.1038/nri3690.

Поступила в редакцию 22.12.2017

DETECTION OF MORPHOLOGICAL SIGNS OF MAST CELL DEGRANULATION IN HUMAN CHOROID PLEXUS USING DIFFERENT STAINING METHODS AND IMMUNOHISTOCHEMISTRY

Ye. A. Fyodorova¹, I. P. Grigoriyev¹, M. A. Syrtzova¹, D. A. Sufiyeva¹, A. D. Novikova¹, D. E. Korzhevskiy^{1, 2}

Objective — to determine the signs of degranulation of mast cells of the human choroid plexus using toluidine blue staining, histochemical reaction to glycosaminoglycans and sulfaminoglycans by alcian blue and immunohistochemical reaction to mast cell tryptase.

Materials and methods. The study was performed on fragments of the choroid plexus of the brain taken from 29 individuals aged 14–73 years. To assess the number and location of mast cells, some of the slides were stained with toluidine blue and alcian blue with nuclear fast red counterstaining. Also, immunohistochemical reaction to the human mast cell tryptase was carried out.

Results. The applied methods of staining showed different degree of effectiveness in detecting mast cells and their degranulation. It was found that the best method for visualization of mast cells (both granulated and degranulating) in the choroid plexus was tryptase immunohistochemistry. About 60% of the mast cells in the choroid plexus in the specimens studied were degranulating cells surrounded by an immunopositive halo showing a pericellular localization of tryptase.

Conclusions. Tryptase immunohistochemistry was found to be most effective for demonstration mast cells in the choroid plexus of the human brain in comparison to classical methods of toluidine blue and alcian blue staining. The data obtained indicate that degranulation of mast cells in the human choroid plexus belongs to a type of piecemeal degranulation that permanently affects the functional activity of the plexus and, accordingly, the blood-CSF barrier.

Key words: mast cells, mast cell tryptase, degranulation choroid plexus, brain

¹ Laboratory of Functional Morphology of the Central and Peripheral Nervous System, Institute of Experimental Medicine, 12 Akademika Pavlova Str., St. Petersburg 197376; ² Department of Fundamental Problems of Medicine and Medical Technology, Faculty of Dentistry and Medical Technologies, St. Petersburg State University