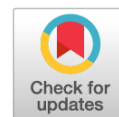


DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.642031>

Применение комбинированной окраски эозином и метиленовым зелёным для селективного выявления эозинофильных гранулоцитов в слизистой оболочке пищеварительного тракта

А.М. Забельникова^{1,2}, Г.В. Безнин¹, И.Н. Абдурасулова¹, О.В. Кирик¹, Е.А. Федорова¹,
Д.Э. Коржевский¹

¹ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия;

² Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

АННОТАЦИЯ

Обоснование. Эозинофильные гранулоциты проявляют антибактериальную, антипаразитарную и противовирусную активность, а также являются важными участниками патогенеза таких заболеваний, как эозинофильный эзофагит и колит. Однако стандартные методы их выявления имеют существенные ограничения, которые затрудняют количественное определение эозинофилов и диагностику ряда заболеваний.

Цель — разработка и оценка нового метода окрашивания для точного и селективного выявления эозинофильных гранулоцитов в тканях желудочно-кишечного тракта.

Методы. Исследование проведено на срезах желудка, тонкой и толстой кишки самцов крыс линии Вистар ($n=16$). Гистологические срезы тканей окрашивали эозином и метиленовым зелёным.

Результаты. Разработанный метод обеспечивает высокую контрастность окрашивания эозинофильных гранулоцитов и превосходит традиционный метод окраски гематоксилином и эозином по точности. Эозинофильные гранулоциты на препаратах, окрашенных новым методом, чётко различимы и хорошо выявляются даже при малых увеличениях объектива. Предложенный метод позволяет легко идентифицировать эозинофилы, проводить их подсчёт и определять локализацию в тканях желудочно-кишечного тракта.

Заключение. Новый метод позволяет точно и селективно выявлять эозинофильные гранулоциты в слизистой оболочке пищеварительного тракта крыс, что делает его перспективным для возможного применения в диагностике заболеваний, связанных с эозинофильной инфильтрацией.

Ключевые слова: эозинофилы; желудочно-кишечный тракт; гематоксилин и эозин; крысы.

Как цитировать:

Забельникова А.М., Безнин Г.В., Абдурасулова И.Н., Кирик О.В., Федорова Е.А., Коржевский Д.Э. Применение комбинированной окраски эозином и метиленовым зелёным для селективного выявления эозинофильных гранулоцитов в слизистой оболочке пищеварительного тракта // Морфология. 2024. Т. 162, № 4. С. 416–424. DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.642031>

DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.642031>

Use of combined eosin and methylene green staining for the selective detection of eosinophilic granulocytes in the gastrointestinal mucosa

Aleksandra M. Zabelnikova^{1,2}, Gleb V. Beznin¹, Irina N. Abdurasulova¹, Olga V. Kirik¹, Elena A. Fedorova¹, Dmitrii E. Korzhevskii¹

¹ Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia;

² Saint-Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

ABSTRACT

BACKGROUND: Eosinophilic granulocytes exhibit antibacterial, antiparasitic, and antiviral activity and play a significant role in the pathogenesis of diseases such as eosinophilic esophagitis and colitis. However, standard methods for their identification have significant limitations, which complicate precise quantification and diagnosis of associated conditions.

AIM: To develop and evaluate a novel staining method for accurate and selective identification of eosinophilic granulocytes in the gastrointestinal tract tissues.

METHODS: The study was conducted using histological sections of the stomach, small intestine, and large intestine from male Wistar rats ($n = 16$). Tissue sections were stained with a combination of eosin and methylene green.

RESULTS: The developed method provided high-contrast staining of eosinophilic granulocytes and demonstrated greater accuracy compared to conventional hematoxylin and eosin staining. Eosinophils were distinctly visible on slides stained with the new method even under low magnification. The technique enabled easy identification, enumeration, and localization of eosinophilic granulocytes within the gastrointestinal tract tissues.

CONCLUSION: The proposed staining method allows for precise and selective detection of eosinophilic granulocytes in the gastrointestinal mucosa of rats and shows promise for use in diagnosing conditions associated with eosinophilic infiltration.

Keywords: eosinophils; gastrointestinal tract; hematoxylin and eosin staining; rats.

To cite this article:

Zabelnikova AM, Beznin GV, Abdurasulova IN, Kirik OV, Fedorova EA, Korzhevskii DE. Use of combined eosin and methylene green staining for the selective detection of eosinophilic granulocytes in the gastrointestinal mucosa. *Morphology*. 2024;162(4):416–424. DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.642031>

DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.642031>

结合伊红和亚甲基绿染色法在消化道黏膜中选择性显示嗜酸性粒细胞的应用

Aleksandra M. Zabelnikova^{1,2}, Gleb V. Beznin¹, Irina N. Abdurasulova¹, Olga V. Kirik¹, Elena A. Fedorova¹, Dmitrii E. Korzhevskii¹

¹ Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia;

² Saint-Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

摘要

论证嗜酸性粒细胞具有抗菌、抗寄生虫和抗病毒作用，并在嗜酸性食管炎、嗜酸性结肠炎等疾病的发病机制中发挥关键作用。嗜酸性粒细胞具有抗菌、抗寄生虫和抗病毒作用，并在嗜酸性食管炎和嗜酸性结肠炎的发病机制中发挥重要作用。

目的。开发并评估一种新的染色方法，用于胃肠道组织中嗜酸性粒细胞的精准且选择性识别。

材料与方法。本研究在Wistar系雄性大鼠（n=16）的胃、小肠和大肠组织切片上进行。组织切片采用联合伊红与亚甲基绿的染色方法处理。

结果。所建立的染色方法显著提高了嗜酸性粒细胞的染色对比度，其识别准确性优于传统的苏木精-伊红染色法。在采用该新型染色方法处理的切片中，嗜酸性粒细胞在低倍镜下即可清晰可见，易于识别。该方法可有效识别嗜酸性粒细胞，便于计数并确定其在胃肠组织中的定位。

结论。该新染色方法能够在大鼠消化道黏膜中实现对嗜酸性粒细胞的精准、选择性识别，具备作为诊断嗜酸性粒细胞浸润相关疾病工具的应用前景。

关键词：嗜酸性粒细胞；胃肠道；苏木精-伊红染色；大鼠。

To cite this article:

Zabelnikova AM, Beznin GV, Abdurasulova IN, Kirik OV, Fedorova EA, Korzhevskii DE. 结合伊红和亚甲基绿染色法在消化道黏膜中选择性显示嗜酸性粒细胞的应用. *Morphology*. 2024;162(4):416–424. DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.642031>

收到: 22.11.2024

接受: 10.01.2025

发布日期: 02.02.2025

ОБОСНОВАНИЕ

Эозинофильные гранулоциты — это один из видов гранулоцитов крови, отличительным признаком которых является сегментированное ядро и наличие крупных гранул, содержащих уникальный набор белков, определяющих основные функции этих клеток:

- основные эозинофильные белки — главный щелочной протеин, эозинофильный катионный протеин, эозинофильная пероксидаза и эозинофильный нейротоксин;
- ферменты — коллагеназа, эластаза, β -глюкуронидаза, катепсин, РНКаза, миелопероксидаза;
- цитокины — интерлейкины ИЛ-2, ИЛ-5 и ИЛ-4, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор и др. [1, 2].

Основным компонентом специфических гранул эозинофилов является главный щелочной (или основной) протеин (Major Basic Protein — MBP). Данный белок имеет сродство к кислотным красителям, что позволяет идентифицировать специфические гранулы эозинофильных клеток — гранулы окрашиваются в оранжево-розовый цвет [3]. Эозинофилы могут индуцировать выброс гистамина базофилами и тучными клетками, нивелировать действие гепарина, проявлять антибактериальную, антипаразитарную и противовирусную активность, оказывать цитотоксическое действие в отношении опухолевых клеток.

Эозинофильные гранулоциты можно рассматривать как клетки соединительной ткани, поскольку количество тканевых эозинофилов в сотни раз превышает количество эозинофилов крови. По некоторым данным, на каждый эозинофил крови приходится 100–300 эозинофилов в тканях [4]. Этот факт особенно важен для понимания роли эозинофильных гранулоцитов в патологических процессах. Они принимают активное участие в патогенезе таких заболеваний, как бронхиальная астма, хронический полипозный риносинусит, гиперэозинофильный синдром и эозинофильные эзофагит, гастрит, энтерит и колит [5, 6]. Эозинофильные гранулоциты оказывают значительное влияние на патогенез воспалительных заболеваний кишечника, таких как язвенный колит, болезнь Крона и синдром раздражённого кишечника [7]. Кортикостероиды эффективно снижают хемотаксис и адгезию эозинофилов, что способствует уменьшению накопления этого типа клеток в тканях. Однако применение кортикостероидов при лечении воспалительных заболеваний кишечника связано с серьёзными побочными эффектами, такими как иммуносупрессия и токсичность для печени, что ограничивает их использование в долгосрочной терапии. В качестве альтернативы предлагается нацеливание на такие молекулы, как CCR3 (C-C chemokine receptor type 3). Это ключевой рецептор, участвующий в хемотаксисе и миграции эозинофилов в ткани. Он связывается с несколькими лигандами, включая эотаксин-1 (CCL11 — C-C Motif Chemokine Ligand 11), который определяет миграцию

эозинофилов в желудочно-кишечный тракт и другие органы. Эотаксин-3 (CCL26 — C-C Motif Chemokine Ligand 26) индуцирует миграцию эозинофилов в пищевод при эозинофильном эзофагите [8, 9]. С учётом новых морфометрических данных о клеточно-дифференном составе эпителия кишечника при патологиях [10], исследование роли эозинофилов в воспалительных процессах становится важным для углублённого понимания патогенеза.

Для диагностики эозинофильного эзофагита рекомендовано использовать биоптаты слизистой оболочки пищевода, желудка и двенадцатиперстной кишки, в которых под микроскопом подсчитывают количество эозинофилов в поле зрения [11]. В случае эозинофильного колита рекомендуется исследование биоптатов из различных отделов толстой кишки с последующим сопоставлением результатов с референтными значениями для данных участков [12]. Таким образом, для подтверждения диагноза необходима высокоточная оценка содержания эозинофилов [13]. Широко используемая стандартная окраска гематоксилином и эозином недостаточно эффективна для определения степени эозинофильной инфильтрации, поскольку низкий цветовой контраст затрудняет идентификацию клеток.

В связи с этим **целью настоящего исследования** являлась разработка метода окрашивания образцов ткани слизистой оболочки пищеварительного тракта, который, с одной стороны, позволяет селективно выявлять эозинофильные гранулоциты, а с другой — ориентироваться в микроанатомических структурах препарата.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Проведено экспериментальное исследование для усовершенствования метода выявления эозинофильных гранулоцитов в желудочно-кишечном тракте с отработкой протокола окрашивания эозином и метиленовым зелёным.

В качестве объекта исследования выбраны срезы желудка, тонкой и толстой кишки самцов крыс линии Вистар ($n=16$). Для каждого фрагмента органа крысы изготавливали семь срезов: три среза окрашивали гематоксилином и эозином по стандартному протоколу; четыре среза — по разработанному авторами методу окраски эозином и метиленовым зелёным.

Описание исследования

Желудок и фрагменты кишечника крыс после извлечения фиксировали в растворе цинк-этанол формальдегида (Вектон, Россия) [14], обезжизивали в спиртах возрастающей концентрации и ксилоле, после чего заливали в парафин. Срезы толщиной 5 мкм изготавливали на ротационном микротоме Rotary 3003 PFM (Германия) и монтировали на предметные стёкла с адгезивным покрытием PCI (Citotest, Китай).

Для окрашивания использовали 0,003% водный раствор эозина (Биовитрум, Россия). Перед работой готовили исходные растворы красителей: 0,1% водный раствор эозина и 0,1% водный раствор метиленового зелёного. Для получения рабочего раствора эозина (0,003%) брали 30 мкл исходного 0,1% раствора и добавляли в 100 мл дистиллированной воды. Водный раствор эозина хорошо сохраняет свои свойства в течение года при комнатной температуре (24–26°C) в закрытой упаковке. Ядра докрашивали 0,1% водным раствором метиленового зелёного (Вектон, Россия). После окраски срезы обезживали и заключали в прозрачную перманентную среду.

В процессе отработки метода были протестированы разные температурные режимы (от 20°C до 37°C) и продолжительность нахождения препаратов в окрашивающем растворе (от 10 до 24 часов). На основании результатов этих экспериментов был выбран оптимальный протокол окрашивания:

- срезы депарафинировали и гидратировали;
- предметные стёкла со срезами погружали в стакан с 0,003% водным раствором эозина, инкубировали 20–24 часа при комнатной температуре (24–26°C);
- промывали препараты в одной смене дистиллированной воды в течение 5 минут;
- на стёкла наносили 0,1% водный раствор красителя метиленового зелёного, инкубировали 7 мин при комнатной температуре (24–26°C);
- срезы промывали в одной смене дистиллированной воды в течение 5 минут;
- на последнем этапе препараты обезживали в спиртах восходящей концентрации, просветляли в ксилоле и заключали в перманентную среду.

Референсом служила наиболее распространённая в гистологической диагностике эозинофилии окраска гематоксилином и эозином [15]. Использовали квасцовый гематоксин Джилла (Биовитрум, Россия) и 1% водный раствор эозина.

Анализ изображений осуществляли на микроскопе Olympus CX41 (Olympus, Япония), оснащённом цифровой камерой Mlchrome 5 Pro (Tucsen, Китай).

Этическая экспертиза

Проведённое исследование одобрено Локальным этическим комитетом ФГБНУ «ИЭМ» (протокол № 3/23 от 20.09.2023). Работу с животными проводили в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложение к приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г.), Хельсинкской декларации 1975 года и её пересмотренным вариантом 2000 года, а также с соблюдением Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург,

18.03.1986). Животных содержали в стандартных условиях вивария ФГБНУ «ИЭМ» при свободном доступе к корму и воде.

Статистический анализ

Статистическая обработка данных не проводилась.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Объекты исследования

В исследовании использованы гистологические срезы желудка, тонкой и толстой кишки самцов крыс линии Вистар ($n=16$) в возрасте 6 месяцев, массой 250–280 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария, а биоматериал был получен в соответствии с протоколами, одобренными локальным этическим комитетом.

Основные результаты исследования

Анализ препаратов желудка, тонкой и толстой кишки крыс, окрашенных по общепринятой методике гематоксилином и эозином, показал, что данный метод позволяет хорошо различать структурные элементы различных отделов кишечника, включая толстую кишку (рис. 1, *a*). На препаратах цитоплазма эпителиальных клеток крипт, коллагеновые волокна и мышечные элементы собственной пластинки соединительной ткани окрашиваются в ярко-розовый цвет, а гранулы эозинофильных гранулоцитов — в малиново-красный (см. рис. 1, *a*). При просмотре препаратов с использованием стандартного объектива 40x/0,65 из-за низкого цветового контраста эозинофилы очень сложно визуально отличить на фоне окружающей ткани, что снижает точность их подсчёта. Использование иммерсионного объектива 100x/1,25 позволяет дифференцировать эозинофилы от других типов клеток благодаря полиморфной форме ядра и характерному малиново-красному оттенку (рис. 1, *b*).

На препаратах, окрашенных по разработанному методу, эозинофильные гранулоциты в соединительной ткани собственной пластинки выявляются как малиново-красные клетки с зернистой цитоплазмой и зелёно-голубым сегментированным ядром.

Высокий цветовой контраст и отсутствие окраски у других эозинофильных структур позволяют не только чётко идентифицировать клетки, но и определять их локализацию относительно микроанатомической структуры уже при малых увеличениях микроскопа (объектив 20x/0,40; рис. 1, *e*).

При применении средних увеличений (объектив 40x/0,65) количественную оценку клеток можно проводить непосредственно под микроскопом (рис. 1, *c*), а с помощью иммерсионного объектива (100x/1,25; рис. 1, *d* и *f*) в отдельных случаях можно наблюдать гранулярную структуру цитоплазмы клеток и процесс

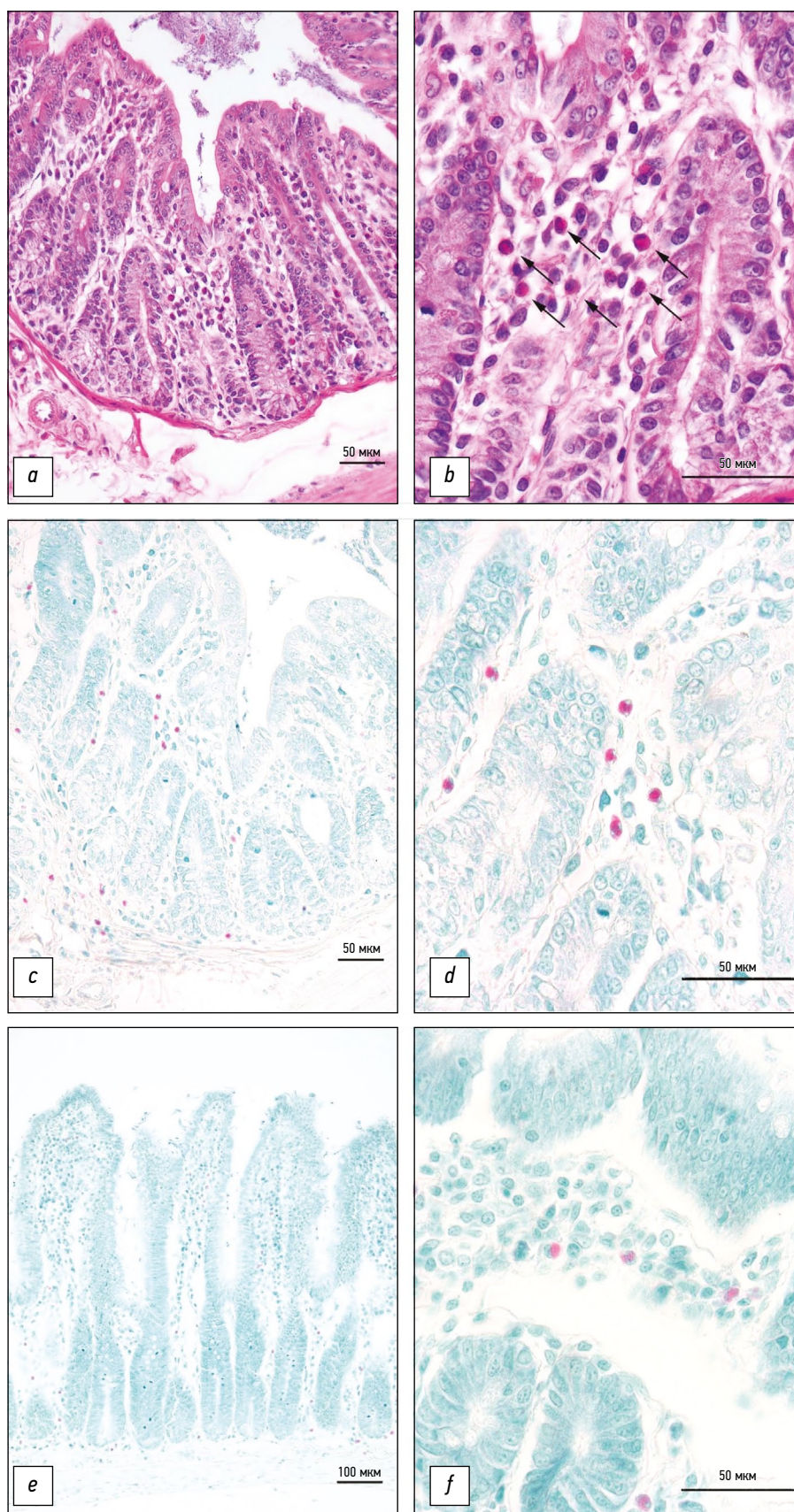


Рис. 1. Микрофотографии гистологических срезов: *a–d* — толстая кишка крысы; *e, f* — тонкая кишка крысы. Окраска: *a, b* — гематоксилином и эозином; *c–f* — эозином и метиленовым зелёным. Стрелками указаны эозинофилы. Объектив: *e* — 20x/0,40; *a, c* — 40x/0,65; *b, d, f* — 100x/1,25.

Fig. 1. Microphotographs of histological sections: *a–d*, rat large intestine; *e, f*, rat small intestine. Staining: *a, b*, hematoxylin and eosin; *c–f*, eosin and methylene green. Eosinophils are indicated by arrows. Objective magnification: *e*, 20x/0.40; *a, c*, 40x/0.65; *b, d, f*, 100x/1.25.

дегрануляции. Возможность ориентироваться в структурах ткани достигается с помощью подкраски ядер метиленовым зелёным.

ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнение разработанного метода с обзорной окраской гематоксилином и эозином показало, что оптимальная толщина срезов для обоих методов составляет 5 мкм. Однако при стандартной окраске гематоксилином и эозином наблюдается низкий цветовой контраст между структурами, что затрудняет идентификацию эозинофильных гранулоцитов. То есть, несмотря на широкое использование, метод имеет ряд существенных ограничений при оценке эозинофильной инфильтрации тканей. Во-первых, эозинофильные гранулы сложно различить даже при среднем увеличении объектива 40х/0,65. Во-вторых, метод требует высокой квалификации специалистов, так как дифференциация клеток может быть затруднена, особенно в случаях дегрануляции эозинофилов, например, при бронхиальной астме и эозинофильном эзофагите [16]. Общепринятый метод окрашивания гематоксилином и эозином в большей степени ориентирован на качественный анализ и визуализацию клеточных элементов, чем на количественную оценку, что затрудняет диагностику заболеваний.

Разработанный метод окраски гистологических препаратов обеспечивает высокий контраст, что позволяет уже при малых увеличениях микроскопа 20х/0,40 дифференцировать эозинофильные гранулоциты и определять места их локализации в ткани. Высокий цветовой контраст позволяет не только выявлять эозинофилы, но и осуществлять их подсчёт в ручном или полуавтоматическом режиме с использованием цифровой камеры и общедоступной программы для обработки изображений Fiji [17].

Помимо рутинных гистологических красителей для выявления эозинофилов в исследованиях часто используют иммуногистохимический метод. Он основан на применении высокоспецифичных антител к компонентам гранул эозинофилов, например, широко используются антитела против главного основного белка или эозинофильной пероксидазы у человека [18]. Однако, некоторые белки-маркеры эозинофилов характеризуются низким уровнем консервативности и имеют существенные межвидовые различия. Производители коммерческих антител в качестве антигена чаще всего используют аминокислотную последовательность белков человека и антитела, полученные таким способом, плохо взаимодействуют с соответствующими антигенами животных. Для ряда исследований в лабораториях самостоятельно вырабатывают антитела к белкам гранул эозинофилов мышей, таким как эозинофильная пероксидаза и главный основной белок [19]. Кроме того, для постановки иммуногистохимических реакций рекомендуется использовать специализированные стёкла с адгезивным покрытием, способные

удержать срезы в жёстких условиях демаскирования антигена. Иммуногистохимический метод невозможно применять в случаях, когда нужна экспресс-диагностика из-за длительной подготовки образцов и процедуры окрашивания. Таким образом, по сравнению с предложенным нами методом иммуногистохимический метод имеет ряд ограничений: отсутствие адаптированных для работы на животных специфичных антител к ряду белков, значительные затраты на реагенты и необходимость в более высокой квалификации исследователя.

Ещё одним альтернативным методом анализа является аутофлуоресцентная визуализация клеток, которая позволяет идентифицировать эозинофилы на основе их уникальных спектральных характеристик. Метод основан на способности эозинофилов испускать достаточно интенсивный аутофлуоресцентный сигнал благодаря значительному содержанию НАДФН (восстановленного никотинамидадениндинуклеотидфосфата), ФАД (флавинадениндинуклеотида) и триптофана в гранулах. Метод позволяет идентифицировать клетки без использования красителей или антител, однако требует специализированного оборудования, например, наличия флуоресцентного микроскопа с набором фильтров, и может быть ограничен спектральными наложениями [20].

Ограничения исследования

С учётом использованных методов и выборок ограничения исследования отсутствуют.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, представленный методический подход позволяет эффективно выявлять эозинофильные гранулоциты в слизистой оболочке органов пищеварительного тракта крыс, достаточно прост в реализации и выполняется с использованием доступных реагентов. Дальнейшие исследования будут направлены на изучение пригодности разработанного метода окрашивания для количественного определения эозинофильных гранулоцитов с использованием различных технических средств.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. Все авторы одобрили рукопись (версию для публикации), а также согласились нести ответственность за все аспекты работы и гарантировали, что вопросы, связанные с точностью или добросовестностью любой части работы, будут должным образом рассмотрены и решены. А.М. Забельникова — подготовка материала, проведение окрашивания, анализ полученных препаратов, обзор литературы, сбор и анализ литературных источников, написание текста и редактирование статьи; Г.В. Безнин — подготовка материала, анализ полученных препаратов, написание текста и редактирование статьи; И.Н. Абдурасулова — анализ полученных препаратов, написание текста и редактирование статьи; Е.А. Федорова — подготовка материала,

проведение окрашивания, анализ полученных препаратов, написание текста и редактирование статьи; О.В. Кирик — анализ полученных препаратов, обзор литературы, сбор и анализ литературных источников, написание текста и редактирование статьи; Д.Э. Коржевский — анализ полученных препаратов, обзор литературы, сбор и анализ литературных источников, написание текста и редактирование статьи.

Источники финансирования. Работа выполнена по государственному заданию ФГБНУ «ИЗМ» в рамках ПНИ FGWG-2023-0004.

Раскрытие интересов. Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов (личных, профессиональных или финансовых), связанных с третьими лицами (коммерческими, некоммерческими, частными), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи, а также иных отношений, деятельности и интересов за последние три года, о которых необходимо сообщить.

ADDITIONAL INFORMATION

Authors' contribution. All authors approved the manuscript (publication version) and agreed to take responsibility for all aspects of the work, ensuring that any issues related to accuracy or integrity will be appropriately addressed and resolved. A.M. Zabelnikova: material

preparation, staining procedures, analysis of obtained specimens, literature review, collection and analysis of literature sources, manuscript writing, and editing. G.V. Beznin: material preparation, specimen analysis, manuscript writing, and editing. I.N. Abdurasulova: specimen analysis, manuscript writing, and editing. E.A. Fedorova: material preparation, staining procedures, specimen analysis, manuscript writing, and editing. O.V. Kirik: specimen analysis, literature review, collection and analysis of literature sources, manuscript writing, and editing. D.E. Korzhevskii: specimen analysis, literature review, collection and analysis of literature sources, manuscript writing, and editing. All authors confirm that their authorship complies with the international ICMJE criteria (all authors made substantial contributions to the study's concept, execution, and manuscript preparation, and have read and approved the final version before publication).

Funding sources. This study was conducted as part of the state assignment of the Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia under the research program FGWG-2023-0004.

Disclosure of interests. The authors declare no relationships, activities, or interests (personal, professional, or financial) involving third parties (commercial, non-commercial, or private) that could be affected by the content of this article. Additionally, they report no other relevant relationships, activities, or interests over the past three years that require disclosure.

REFERENCES

1. Rothenberg ME, Hogan SP. The eosinophil. *Annu Rev Immunol*. 2006;24(1):147–174. doi: 10.1146/annurev.immunol.24.021605.090720
2. Lacy P, Moqbel R. Eosinophil cytokines. *Chem Immunol*. 2000;76:134–155. doi: 10.1159/000058782
3. Hamann KJ, Barker RL, Ten RM, Gleich GJ. The molecular biology of eosinophil granule proteins. *Int Arch Allergy Appl Immunol*. 1991;94(1-4):202–209. doi: 10.1159/000235362
4. Kolobovnikova YuV, Urazova OI, Novitskiy VV, et al. Eosinophil: A modern concept of the kinetics, structure, and function. *Russian journal of hematology and transfusiology*. 2012;57(1):30–36. EDN: PEVZTZ
5. Wechsler ME, Munitz A, Ackerman SJ, et al. Eosinophils in Health and Disease: A State-of-the-Art Review. *Mayo Clin Proc*. 2021;96(10):2694–2707. doi: 10.1016/j.mayocp.2021.04.025
6. Kornienko EA, Moiseenkova YuA, Volkova NL, Loboda TB. Eosinophilic disorders of the gastrointestinal tract: clinical manifestations, diagnosis and treatment. *Almanac of Clinical Medicine*. 2018;46(5):482–496. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-5-482-496 EDN: YNLUAH
7. Jacobs I, Ceulemans M, Wauters L, et al. Role of Eosinophils in Intestinal Inflammation and Fibrosis in Inflammatory Bowel Disease: An Overlooked Villain? *Front Immunol*. 2021;12:754413. doi: 10.3389/fimmu.2021.754413
8. Klion AD, Ackerman SJ, Bochner BS. Contributions of Eosinophils to Human Health and Disease. *Annu Rev Pathol*. 2020;15:179–209. doi: 10.1146/annurev-pathmechdis-012419-032756
9. Filippone RT, Sahakian L, Apostolopoulos V, Nurgali K. Eosinophils in Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2019;25(7):1140–1151. doi: 10.1093/ibd/izz024
10. Bernardelli LI, Indeickin FA, Matyusheva LG, et al. The cellular-differential composition of the intestinal epithelium in various phases of inflammatory bowel diseases. *Morphology*. 2024;162(2):127–139. doi: 10.17816/morph.633461
11. Korochanskaya NV, Serikova SN, Basenko MA, Serikov SS. Supporting therapy in eosinophilic esophagitis: why, whom, how? *Kuban Scientific Medical Bulletin*. 2018;25(3):167–172. doi: 10.25207/1608-6228-2018-25-3-167-172 EDN: LFLAJI
12. Impellizzeri G, Marasco G, Eusebi LH, et al. Eosinophilic colitis: A clinical review. *Dig Liver Dis*. 2019;51(6):769–773. doi: 10.1016/j.dld.2019.04.011
13. Gigon L, Fettelet T, Yousefi S, et al. Eosinophils from A to Z. *Allergy*. 2023;78(7):1810–1846. doi: 10.1111/all.15751
14. Grigorev IP, Korzhevskii DE. Current Technologies for Fixation of Biological Material for Immunohistochemical Analysis (Review). *Modern Technologies in Medicine*. 2018;10(2):156–165. doi: 10.17691/stm2018.10.2.19 EDN: XRVMWL
15. Silva J, Canão P, Espinheira MC, et al. Eosinophils in the gastrointestinal tract: how much is normal? *Virchows Arch*. 2018;473(3):313–320. doi: 10.1007/s00428-018-2405-2
16. Protheroe C, Woodruff SA, de Petris G, et al. A novel histologic scoring system to evaluate mucosal biopsies from patients with eosinophilic esophagitis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2009;7(7):749–755.e11. doi: 10.1016/j.cgh.2009.03.022
17. Schindelin J, Arganda-Carreras I, Frise E, et al. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nat Methods*. 2012;9(7):676–682. doi: 10.1038/nmeth.2019
18. Zhu X, Zimmermann N. Detection of Eosinophils in Tissue Sections by Immunohistochemistry. *Methods Mol Biol (NY)*. 2022;2506:199–209. doi: 10.1007/978-1-0716-2364-0_14

19. Nazaroff CD, LeSuer WE, Masuda MY, et al. Assessment of Lung Eosinophils In Situ Using Immunohistological Staining. *Methods Mol Biol (NY)*. 2021;2223:237–266. doi: 10.1007/978-1-0716-1001-5_17

20. Buchwalow I, Atiakshin D, Samoilova V, et al. Identification of autofluorescent cells in human angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *Histochem Cell Biol*. 2017;149(2):169–177. doi: 10.1007/s00418-017-1624-y

ОБ АВТОРАХ

***Забельникова Александра Михайловна;**

адрес: Россия, 197022, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12;
ORCID: 0009-0002-2618-7670;
eLibrary SPIN: 8573-1606;
e-mail: zabel.am@yandex.ru

Безнин Глеб Владимирович, канд. мед. наук;

ORCID: 0000-0001-5730-4265;
eLibrary SPIN: 7796-1107;
e-mail: beznin.gv@iemspb.ru

Абдурасулова Ирина Николаевна, канд. биол. наук;

ORCID: 0000-0003-1010-6768;
eLibrary SPIN: 5019-3940;
e-mail: i_abdurasulova@mail.ru

Кирик Ольга Викторовна, канд. биол. наук;

ORCID: 0000-0001-6113-3948;
eLibrary SPIN: 5725-8742;
e-mail: olga_kirik@mail.ru

Федорова Елена Анатольевна, канд. биол. наук;

eLibrary SPIN: 5414-4122;
e-mail: el-fedorova2014@ya.ru

Коржевский Дмитрий Эдуардович, д-р мед. наук, профессор;

ORCID: 0000-0002-2456-8165;
eLibrary SPIN: 3252-3029;
e-mail: dek2@yandex.ru

AUTHORS' INFO

***Aleksandra M. Zabelnikova;**

address: 12 Academic Pavlov st, 197022,
Saint Petersburg, Russia;
ORCID: 0009-0002-2618-7670;
eLibrary SPIN: 8573-1606;
e-mail: zabel.am@yandex.ru

Gleb V. Beznin, Cand. Sci. (Medicine);

ORCID: 0000-0001-5730-4265;
eLibrary SPIN: 7796-1107;
e-mail: beznin.gv@iemspb.ru

Irina N. Abdurasulova, Cand. Sci. (Biology);

ORCID: 0000-0003-1010-6768;
eLibrary SPIN: 5019-3940;
e-mail: i_abdurasulova@mail.ru

Olga V. Kirik, Cand. Sci. (Biology);

ORCID: 0000-0001-6113-3948;
eLibrary SPIN: 5725-8742;
e-mail: olga_kirik@mail.ru

Elena A. Fedorova, Cand. Sci. (Biology);

eLibrary SPIN: 5414-4122;
e-mail: el-fedorova2014@ya.ru

Dmitrii E. Korzhevskii, MD, Dr. Sci. (Medicine), Professor;

ORCID: 0000-0002-2456-8165;
eLibrary SPIN: 3252-3029;
e-mail: dek2@yandex.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author