

---

## ВЛИЯНИЕ ПРЕДНИЗОЛОНА НА МОРФОТИПЫ NSE- И CD-68-ПОЗИТИВНЫХ КЛЕТОК СЕЛЕЗЕНКИ

Е.М. Лузикова, В.Е. Сергеева

Кафедра медицинской биологии ЧГУ  
Московский проспект, 45, Чебоксары, Республика Чувашия, 428015  
тел: 45-11-62, email: neta76@mail.ru

Исследовали влияние преднизолона на количественные и морфологические характеристики NSE<sup>+</sup>- и CD-68<sup>+</sup> клеток разных функциональных зон селезенки. В ходе морфометрического исследования были выделены пять морфотипов NSE<sup>+</sup> клеток и 4 морфотипа CD-68<sup>+</sup> клеток. Показано, что наиболее чувствительны к преднизолону клетки CD-68<sup>+</sup> II типа и NSE<sup>+</sup> II и IV типов. Сделан вывод, что высока вероятность идентичности субпопуляций I NSE<sup>+</sup> и 2 CD-68<sup>+</sup>, II NSE<sup>+</sup> и 4 CD-68<sup>+</sup>, III NSE<sup>+</sup> и 4 CD-68<sup>+</sup>, так как они характеризуются одинаковыми морфологическими показателями в норме и в эксперименте.

**Ключевые слова:** селезенка, преднизолон, нейрон-специфическая энολаза, NSE-позитивные клетки, CD-68-позитивные клетки.

Общепризнано, что локализованные практически во всех органах и продуцирующие биологически активные вещества клетки диффузной эндокринной системы (APUD-клетки — Amine Precursor Uptake and Decarboxylation) выполняют роль регуляторов гомеостаза, реализуя свое действие через эндокринные и паракринные механизмы. Нейронспецифическая энολаза (NSE) — специфический сывороточный маркер нейроэндокринных опухолей и клеток системы APUD [1, 3, 4, 5, 7]. Макросиалин (CD-68) — это интегральный гликопротеин I типа, относящийся к маркерам макрофагов. Зная, что NSE<sup>+</sup>-позитивные (NSE<sup>+</sup>) и CD-68-позитивные (CD-68<sup>+</sup>) клетки являются популяциями APUD-клеток [2, 4, 5, 6], мы предположили, что, возможно, некоторые субпопуляции CD-68<sup>+</sup> и NSE<sup>+</sup> клеток могут быть идентичны. Для выявления таких клеток было решено изучить влияние преднизолона на количественные и морфологические характеристики NSE<sup>+</sup>- и CD-68<sup>+</sup> клеток разных функциональных зон селезенки.

**Материалы и методы.** Объектом исследования служила селезенка 30 двухмесячных мышей-самцов, которые были разделены на две группы: 1 — животные, которым вводился изотонический раствор ( $n = 15$ ), 2 — животные, которым вводился однократно преднизолон в дозе 0,3 мг ( $n = 15$ ). Иммуногистохимическую реакцию проводили методом трехэтапного непрямого иммуноферментного анализа с использованием первичных моноклональных антител (МКАТ) к антигенному маркеру NSE (Мо а Hu Neuron-Specific Enolase, Clone BBS/NC/VI-H14), а также МКАТ к антигенному маркеру макроссиалину (Мо а Hu CD68, Clone KP1) в разведении 1 : 100 согласно рекомендации фирмы-изготовителя (Дакко, Дания). Визуализацию первичных МКАТ, связавшихся с антигенами, проводили стандарт-

ным биотин-стрептавидин-пероксидазным методом с использованием набора LSAB-2 (Labeled Streptavidin Biotin System Peroxidase). На заключительном этапе срезы докрашивались толуидиновым синим по Нисслию. Представление о количественном распределении окрашенных клеток получали с помощью программы SigmaScan Pro 5. Статистическая обработка полученных цифровых данных проводилась с использованием пакета программ Microsoft office (Word и Excel). Оценка статистической значимости производилась по *t*-критерию Стьюдента.

**Результаты и обсуждение.** NSE<sup>+</sup> клетки в норме встречаются в красной пульпе, единично в периартериальных лимфоидных муфтах (ПАЛМ) и белой пульпе. Наибольшее среднее значение количества NSE<sup>+</sup> клеток в поле зрения выявляется в периферической (ПКП) ( $14,6 \pm 2,0$ ) и глубокой зонах (ГКП) красной пульпы ( $14,5 \pm 1,6$ ) селезенки контрольных животных. Преднизолон увеличивает количество изучаемых клеток практически во всех зонах селезенки, но максимальные средние значения выявляются в ПАЛМ ( $104,4 \pm 7,3$ ), мантийной (МЗФ) ( $97,8 \pm 5,8$ ) и краевой (КЗФ) ( $40,4 \pm 6,2$ ) зонах фолликулов. В ходе морфологического исследования были выделены 5 морфотипов NSE<sup>+</sup> клеток: 1 — крупные яркие клетки с видимым ядром и с большим количеством крупных NSE<sup>+</sup> гранул, 2 — крупные яркие клетки с видимым ядром и с большим количеством мелких NSE-позитивных гранул, 3 — крупные бледные клетки с видимым ядром и с небольшим количеством мелких NSE<sup>+</sup> гранул, 4 — мелкие бледные клетки с видимым ядром и с большим количеством мелких NSE<sup>+</sup> гранул, 5 — мелкие яркие клетки с видимым ядром и с большим количеством крупных NSE<sup>+</sup> гранул. Во всех зонах селезенки первой группы животных преобладают клетки 4 и 5 морфотипов, в ПАЛМ, МЗФ и КЗФ селезенки второй группы животных преобладают клетки 1-го типа.

Наибольшее среднее значение количества CD-68<sup>+</sup> клеток в поле зрения выявляется в ПКП ( $12,7 \pm 2,3$ ) и ГКП ( $5,0 \pm 0,8$ ) селезенки контрольных животных. Под влиянием преднизолона максимальные средние значения выявляются в ПАЛМ ( $98,7 \pm 7,3$ ), КЗФ ( $23,8 \pm 2,1$ ) и ПКП ( $22,2 \pm 2,7$ ). В процессе исследований были выделены 4 типа CD-68-позитивных клеток: I — крупные яркие клетки, содержащие много гранул макросиалина; II — клетки крупные или среднего размера с видимым ядром, содержащие среднее количество гранул макросиалина; III — мелкие яркие клетки, содержащие много гранул макросиалина; IV — крупные бледные клетки, содержащие мало гранул макросиалина. Преднизолон вызывает более выраженную реакцию NSE<sup>+</sup> клеток 1, 2 и 3-го типов, выявляемую в периартериальной, маргинальной и краевой зонах фолликулов и маргинальном синусе. Аналогичную реакцию преднизолон вызывает у CD-68<sup>+</sup> клеток I и II типов. Исходя из результатов количественного и морфометрического анализа NSE<sup>+</sup> и CD-68<sup>+</sup>, мы пришли к выводу, что высока вероятность идентичности субпопуляций I NSE<sup>+</sup> и II CD-68<sup>+</sup>, так как они характеризуются одинаковыми морфологическими и близкими количественными показателями в норме и под влиянием преднизолона.

## ЛИТЕРАТУРА

- [1] Иммуноферментный метод для количественного определения в сыворотке нейронспецифической енолазы. Инструкция. — М., 1989. — С. 13.
- [2] Сыроева Л.А., Гунин А.Г. О принадлежности люминесцирующих моноаминсодержащих клеток селезенки к АПУД-системе // Экспериментальная и прикладная морфология: Межвузовский сб. науч. трудов. — Чебоксары: Изд-во Чуваш. ун-та, 1988. — С. 112.
- [3] Торопова Н.Е., Дорофеева Е.А., Дворянинова С.П. и др. Оценка информативности нейронспецифической енолазы, определяемой иммуноферментным методом // Клиническая лабораторная диагностика — 1995. — № 1. — С. 15—17.
- [4] Chetty R., Batitang S., Govender D. Large cell neuroendocrine carcinoma of the thymus // Histopathology. — 1997. — V. 31. — № 3. — P. 274—276.
- [5] Nomori H., Oriksa H., Mori et al. Atypical thymoma (WHO B3) with neuroendocrine differentiation: report of a case // Virchows Arch. — 2006. — V. 449. — № 2. — P. 234—237.
- [6] Brelińska R., Ostalska D., Zabel M. Subtypes of thymic epithelial cells defined by neuroendocrine markers // Histochem Cell Biol. — 2000. — V. 114. — № 3. — P. 239—244.
- [7] Brelińska R., Ostalska D., Kaczmarek E. et al. Stages of the rat thymic medulla development in foetal period // Folia Histochem Cytobiol. — 2002. — V. 40. — № 2. — P. 171—172.

## THE EFFECT OF PREDNISOLONE ON THE NSE- AND CD-68-POSITIVE CELLS OF THE SPLEEN

E.M. Luzikova, V.E. Sergeeva

Department of Medical Biology  
Chuvash State University

Moscow avenue, 45 Cheboksary, Republic Chuvashia, Russia, 428015  
tel. 45-11-62, email: nema76@mail.ru

The aim of our research was to study the effect of prednisolone on the quantitative and morphological characteristics of NSE<sup>+</sup> and CD-68<sup>+</sup> cells in different functional zones of the spleen. During the morphometrical research we set up five morphotypes of NSE<sup>+</sup>-cells and four morphotypes of CD-68<sup>+</sup> cells. It showed that CD-68<sup>+</sup> cells of II type and NSE<sup>+</sup>-cells (II and IV types) are more sensitive to prednisolone. We came to the conclusion that there is a probability of identity of subpopulations I NSE<sup>+</sup> and 2 CD-68<sup>+</sup>, II NSE<sup>+</sup> and 4 CD-68<sup>+</sup>, III NSE<sup>+</sup> and 4 CD-68<sup>+</sup> because they are characterised by identical morphological indicators in norm and in experiment.

**Key words:** spleen, prednisolone, neuron specific Enolase, NSE<sup>+</sup>-cells, CD-68<sup>+</sup> cells.