

## ВЛИЯНИЕ ТУЧНЫХ КЛЕТОК НА РЕПАРАТИВНУЮ РЕГЕНЕРАЦИЮ ТКАНЕЙ С РАЗНОЙ СТЕПЕНЬЮ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ ПРИВИЛЕГИРОВАННОСТИ

© Ю. С. Храмцова,<sup>1, 2</sup> \* О. С. Артаян,<sup>1, 2</sup> Б. Г. Юшков,<sup>1, 2</sup>  
Ю. Л. Волкова,<sup>2</sup> Н. Ю. Незголоврова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт иммунологии и физиологии УрО РАН и <sup>2</sup>Уральский федеральный университет  
им. первого президента России Б. Н. Ельцина, Екатеринбург, 620049;  
\* электронный адрес: hramtsova15@mail.ru

Предполагается, что ткани с разной степенью иммунологической привилегированности имеют целый ряд различий в протекании процессов репарации. Это может быть связано с тучными клетками (ТК), содержащимися во всех тканях организма, секрецирующими широкий спектр биологически активных соединений и играющими важную роль в регуляции репаративных процессов. В настоящей работе представлены результаты исследований морфометрических показателей и функциональной активности ТК в тканях с разной степенью иммунологической привилегированности (кожа, семенник). Показано, что на ранних сроках после повреждения происходит миграция в кожу ТК с медленным нарастанием их синтетической активности и индекса дегрануляции в течение 30 сут. В семеннике сразу после повреждения увеличивается индекс дегрануляции ТК при отсутствии их выраженной миграции. Стабилизация мембран ТК препаратором кетотифеном приводит к торможению репарации кожи, что проявляется в отсутствии увеличения толщины дермы, эпидермиса, количества фибробластов и коллагеновых волокон, а также в замедлении формирования рубца. В то же время инактивация ТК способствует репаративной регенерации семенника, на что указывают рост числа нормальных сперматогоний, являющихся пролиферативным пулом для всех последующих стадий сперматогенеза, и значительное снижение числа нефункционирующих канальцев. Таким образом, количество и функциональное состояние ТК оказывают влияние на ход репаративных процессов в тканях с разной степенью иммунологической привилегированности.

**Ключевые слова:** регенерация, иммунологическая привилегированность, тучные клетки, семенники, кожа.

**Принятые сокращения:** СГК — средний гистохимический коэффициент, ИД — индекс дегрануляции, ТК — тучные клетки.

Известно, что иммунная система принимает непосредственное участие в регуляции восстановительных процессов. Это предполагает, что ткани с разной степенью иммунологической привилегированности должны иметь целый ряд различий в протекании репаративных процессов, и ставит вопрос о роли отдельных клеток иммунной системы в формировании особенностей репарации различных органов и тканей.

Среди клеток иммунной системы, играющих важную роль в регуляции репаративных процессов, особое место занимают тучные клетки (ТК), содержащиеся практически во всех органах и тканях организма и секрецирующие широкий спектр биологически активных соединений (Кондашевская, 2010; Юшков и др., 2011; Da Silva et al., 2014). На созревание ТК, их фенотип и функции существенное влияние оказывает микроокружение (Gilfillan, Beaven, 2011). Различия количества и функционального состояния ТК могут оказывать влияние на восстановительные процессы в тканях с разной степенью иммунологической привилегированности и определять особенности их репарации.

В качестве модели изучения репаративных процессов в иммунологически непривилегированных тканях обычно используют повреждение кожи. В коже содержится значительное количество ТК (Юшков и др., 2011), которые играют особую роль в заживлении ран (Данилов, 2008). Действие ТК связывают с выделением модуляторов воспаления, пролиферации и миграции клеток — гистамина, химазы, триптазы, кислой гидролазы, катепсина G, карбоксипептидазы, гепарина, цитокинов и иммуноглобулинов (Prussin, Metcalfe, 2003). Блокирование же дегрануляции ТК замедляет заживление ран и уменьшает содержание коллагена (Mantis et al., 2007).

Удобной моделью для изучения роли ТК в регуляции регенерации иммунологически привилегированных тканей может служить повреждение семенника. Его ТК играют важную роль в развитии и нормальном функционировании яичек млекопитающих (Yamanaka et al., 2000; Lu et al., 2006; Zhao et al., 2014). Так, ИЛ-6, вырабатываемый ТК, оказывает непосредственное влияние на дифференциацию зародышевых клеток и стероидогенез в физиологических условиях (Haidl et al., 2014). ИЛ-1 участвует в

физиологическом апоптозе половых клеток (Guazzone et al., 2009). С ТК связывают развитие целого ряда патологий семенников. Так, мужское бесплодие часто сопровождается увеличением количества ТК в тканях семенника, отчетливой отрицательной корреляцией между такими показателями, как содержание ТК и состояние сперматогенеза (Jezek et al., 1999; Apa et al., 2002; Hussein et al., 2005; Allam et al., 2009; Welter et al., 2011; Windschitl et al., 2014). Одним из главных гистологических изменений в яичках бесплодных мужчин является фиброз в интерстиции и собственной пластинке семенных канальцев (Mechlin et al., 2014). Именно триптаза и химаза ТК индуцируют пролиферацию фибробластов и приводят к фиброзу (Meineke et al., 2000). Триптаза также может выступать в качестве регулятора образования декорина перитубулярными клетками (Adam et al., 2011). Кроме этого, ТК высвобождают медиаторы, которые способствуют увеличению проницаемости сосудов и хемотаксису иммунных клеток в область повреждения (Алексеева, Глухов, 2001; Кутукова, Назаров, 2014; Haidl et al., 2014).

Таким образом, можно предполагать, что особенности восстановительных процессов в тканях с разной степенью иммунологической привилегированности во многом определяются состоянием ТК. Однако подтверждение этого предположения требует специальных исследований.

В настоящей работе изучали влияние ТК на восстановительные процессы в тканях с разной степенью иммунологической привилегированности — семенника и кожи.

## Материал и методика

Исследование проводили на 40 половозрелых крысах — самцах линии Вистар массой 200—300 г. Условия содержания и обращение с используемыми в эксперименте животными соответствовали Директиве Европейского парламента и Совета от 22 сентября 2010 г. «О защите животных, которых используют для научных целей» (Directive, 2010). Повреждением служил прокол одного из семенников и одновременный разрез кожи в области яичка.

Экспериментальных животных делили на три группы: 1) интактные крысы ( $n = 10$ ); 2) крысы, которым прокалывали правый семенник иглой диаметром 3 мм и делали разрез кожи в области яичка с последующим наложение шва на поврежденный участок ( $n = 15$ ) под общим эфирным наркозом; 3) крысы, которым делали односторонний прокол семенника и разрез кожи, как и во второй экспериментальной группе, но на фоне инактивации ТК ( $n = 15$ ). В качестве инактиватора применяли препарат кетотифен (активное вещество фумарат) (Софарма АО, Болгария). Он относится к фармакотерапевтической группе противоаллергических и мембраностабилизирующих средств (в частности, стабилизирует мембранны ТК) (Oliva, Multigner, 2006; Acikgoz et al., 2014). Препарат давали животным в виде сиропа перорально 2 раза за 1 сут через равные промежутки времени в дозе 0.1 мг в течение 7 сут.

Животных выводили из эксперимента через 1, 7 или 30 сут путем передозировки эфирного наркоза. Для исследования брали оба семенника и участок поврежденной кожи в области семенника. Семенники и кожу помещали в гистологические кассеты и фиксировали в 10%-ном формалине, промывали, делали стандартную гистологическую проводку на автомате закрытого типа Shandon

Excelsior (MICROM International GmbH, Германия). Затем заливали в парафин с помощью станции для заливки биологических тканей парафином EC 350. После этого полученные парафиновые блоки нарезали на полуавтоматическом микротоме Thermo Scientific Microm HM 450 (MICROM International GmbH, Германия), толщина срезов семенников составляла 4—5 мкм, кожи — 10—10.5 мкм. Срезы помещали на предметное стекло и подсушивали.

Препараты окрашивали гематоксилином-эозином. Оценку различных показателей репарации проводили на световом микроскопе Leica DM 5000 B, оснащенном камерой Leica DFC 490 (Leica, Германия) и программой SI-AMS MesoPlant.

На препаратах семенников измеряли следующие показатели, свидетельствующие о ходе репарации в семенном железе: 1) диаметр семявыносящего канальца (мкм), 2) площадь поперечного сечения семенного канальца ( $\text{мкм}^2$ ), 3) средний индекс сперматогенеза  $J$ , 4) среднее число сперматогониев в канальце, 5) сперматоцитограмму и 6) количество нефункционирующих канальцев.

Индекс  $J$  рассчитывали на поперечном срезе семенника по 4-балльной системе (с учетом количества слоев эпителиальных клеток в каждом канальце). Если в канальце имелось 4 слоя сперматогенного эпителия (сперматогонии, сперматоциты 1-го и 2-го порядков, сперматиды и сперматозоиды), то этот канальец получал оценку 4 балла, если в канальце присутствовали первые 3 слоя — 3 балла, если 2 слоя — 2 балла и т. д. Средний индекс сперматогенеза  $J$  определяли по формуле  $J = \Sigma a/A$ , где  $a$  — количество слоев сперматогенного эпителия,  $A$  — количество подсчитанных канальцев. Сперматоцитограмму оценивали путем деления общего числа зародышевых клеток различных типов (сперматогоний, сперматоцитов, сперматид) на общее число клеток Сертоли.

На препаратах кожи измеряли следующие показатели: 1) толщину эпидермиса (мкм), 2) толщину дермы (мкм), 3) толщину подкожной жировой клетчатки (мкм), 4) число кровеносных сосудов (на 1  $\text{мм}^2$ ), 5) число сальных желез и волоссяных фолликулов (на 1  $\text{мм}^2$ ), 6) число фибробластов (на 1  $\text{мм}^2$ ). Количество кровеносных сосудов, сальных желез и фибробластов подсчитывали в 15 случайных полях зрения при увеличении объектива 40 $\times$  с последующим пересчетом на 1  $\text{мм}^2$ . Для определения количества коллагеновых волокон срезы окрашивали по Ван-Гизону.

Для подсчета ТК в тканях срезы семенников и кожи окрашивали толуидиновым синим и Азуром II (ортократическое окрашивание кислых сульфатированных гликозаминогликанов в ярко-синий цвет). Подсчет проводили на единицу площади с пересчетом на 1  $\text{мм}^2$ . Типирование клеток проводили, используя объектив с масляной иммерсией и увеличением 100 $\times$ .

Для оценки синтетической активности на основании собственных результатов и данных из литературы ТК классифицировали на четыре типа (Гордон, 1982), визуально определяя содержание гранул в цитоплазме. К 1-му типу относили клетки с малым содержанием гранул секрета в цитоплазме, который располагается окломембранны. Тип 2 — клетки с хорошо дифференцированной гранулярностью в цитоплазме, хорошо контурированным ядром и диффузным расположением гранул. Тип 3 — крупные клетки с плотным и диффузным расположением гранул в цитоплазме, которые придают ей гомогенный вид. К типу 0 относили дегранули-

Таблица 1

**Характеристика тучных клеток (ТК) кожи крысы в разные сроки после ее повреждения без и на фоне инактивации ТК кетотифеном**

Животные	Число ТК дермы на 1 мм <sup>2</sup>	СГК, %	ИД, %
Интактные животные	1031.59 ± 15.46	2.10 ± 0.05	68.33 ± 0.45
1 сут после П	1522.82 ± 13.65 <sup>a</sup>	2.31 ± 0.18	87.00 ± 0.58 <sup>a</sup>
7 сут после П	925.16 ± 19.76	2.32 ± 0.03 <sup>a</sup>	88.93 ± 4.19 <sup>a</sup>
30 сут после П	1039.78 ± 8.78	2.35 ± 0.02 <sup>a</sup>	86.25 ± 5.97 <sup>a</sup>
1 сут после П + К	1621.07 ± 17.31 <sup>a</sup>	2.45 ± 0.18	52.32 ± 7.90 <sup>a, б</sup>
7 сут после П + К	1113.46 ± 10.23	2.33 ± 0.10	62.37 ± 4.05 <sup>б</sup>
30 сут после П + К	1244.46 ± 14.56	2.61 ± 0.17 <sup>a</sup>	69.88 ± 1.50 <sup>б</sup>

Примечание. Здесь и в табл. 1—4: П — повреждение, К — кетотифен, который давали животным перорально 2 раза за 1 сут в дозе 0.1 мг в течение 7 сут. <sup>a</sup>Достоверность отличия от интактной группы,  $P < 0.05$ . <sup>б</sup>Достоверность отличия от группы, не получавшей кетотифена,  $P < 0.05$  (критерий Манна—Уитни).

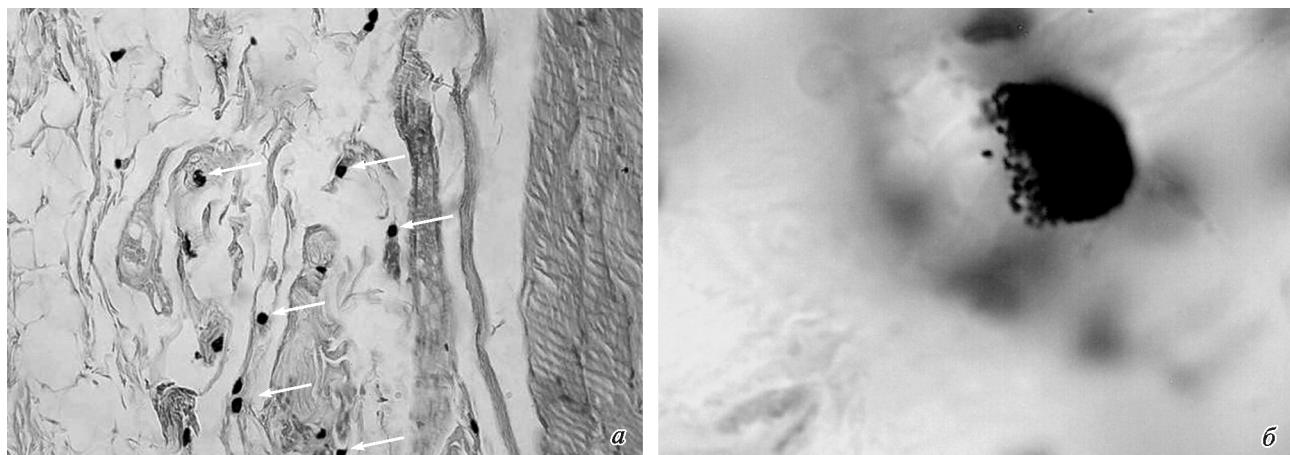


Рис. 1. Тучные клетки (стрелки) в дермальном слое кожи при разном увеличении.  
Окраска Азуром. Об. 20× (a) и 100× (б).

Таблица 2

**Характеристика ТК семенника крысы в разные сроки после его повреждения без и на фоне инактивации ТК кетотифеном**

Животные	Число ТК в семеннике на 1 мм <sup>2</sup>	СГК, %	ИД, %
Интактные животные	43.00 ± 2.38	1.21 ± 0.05	14.33 ± 1.76
1 сут после П	40.00 ± 1.37	2.68 ± 0.10 <sup>a</sup>	33.00 ± 5.20 <sup>a</sup>
7 сут после П	38.00 ± 2.10	2.1 ± 0.09 <sup>a</sup>	39.67 ± 0.88 <sup>a</sup>
30 сут после П	39.00 ± 1.20	1.7 ± 0.01 <sup>a</sup>	39.7 ± 3.76 <sup>a</sup>
1 сут после П + К	45.00 ± 3.45	2.06 ± 0.06 <sup>a, б</sup>	14.40 ± 1.20 <sup>б</sup>
7 сут после П + К	47.00 ± 2.20	1.88 ± 0.01 <sup>a, б</sup>	27.33 ± 4.37 <sup>a, б</sup>
30 сут после П + К	36.00 ± 2.37	1.72 ± 0.01 <sup>a</sup>	22.00 ± 1.53 <sup>a, б</sup>

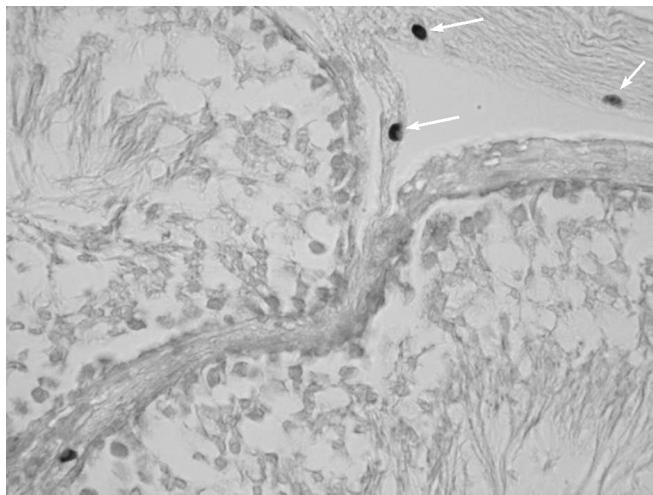


Рис. 2. Тучные клетки (стрелки) в семеннике.

Окраска толуидиновым синим. Об. 20×.

рованные клетки с явными признаками нарушения целостности цитоплазматической мембраны и выделения в окружающее тканевое пространство цитоплазматических гранул. Для определения синтетической активности вычисляли средний гистохимический коэффициент (СГК) (Astaldi, Verga, 1957):

$$\text{СГК} = (3n + 2n + 1n + 0n)/100,$$

где 3n, 2n, 1n и 0n — соответственно число клеток типов 3, 2, 1 или 0 согласно классификации, приведенной выше, 100 — общее число подсчитанных клеток в группе.

Для оценки функциональной активности по выбросу гранул ТК в межклеточное пространство все ТК делили на три группы: 1) неактивные или слабо дегранулирующие (выделение единичных гранул), 2) умеренно дегранулирующие, 3) активно дегранулирующие (с полным разрушением цитоплазматической мембраны). Индекс дегрануляции ТК (ИД, %) рассчитывали по формуле ИД = D/(D+H) (100, где D — число ТК с явными признаками дегрануляции, H — число неактивированных ТК).

Статистическую обработку данных проводили с использованием непараметрических методов статистики (Statistica 6.1). Сравнение групп выполняли с использованием критерия Манна—Уитни. Различия считали достоверными при  $P < 0.05$ .

## Результаты и обсуждение

При повреждении кожи в 1-е сут наблюдается увеличение общего количества ТК в зоне повреждения. Через 7 сут число ТК возвращается к показателям интактных животных. Увеличение числа ТК на ранних сроках эксперимента наряду с повышенной пролиферацией может быть связано с миграцией этих клеток в зону повреждения, что было неоднократно описано в литературе ранее (Юшков и др., 2011). Помимо количественных изменений ТК претерпевают и функциональные изменения. Так, нами показано повышение СГК, а также увеличение ИД (табл. 1; рис. 1). Это свидетельствует о повышении синте-

Таблица 3

### Морфофункциональные параметры кожи после ее повреждения без и на фоне инактивации ТК кетогифеном

Животные	Толщина эпидермиса, мкм	Толщина сосочкового слоя, мкм	Толщина сетчатого слоя, мкм	Толщина поджожной жировой клетчатки, мкм	Число кровеносных сосудов на 1 мм <sup>2</sup>	Число волосистых фолликулов и сальных желез на 1 мм <sup>2</sup>	Число фибробластов в дерме на 1 мм <sup>2</sup>	Число коллагеновых волокон в дерме на 1 ед. площади
Интактные животные	56.96 ± 1.62	109.55 ± 7.67	133.51 ± 2.32	54.88 ± 0.80	201.45 ± 14.32	1719.32 ± 61.81	5993.05 ± 60.16	213.69 ± 2.84
1 сут после П	66.98 ± 3.22 <sup>a</sup>	113.13 ± 5.79	108.46 ± 0.64 <sup>a</sup>	57.37 ± 1.03	564.92 ± 7.68 <sup>a</sup>	270.18 ± 28.36 <sup>a</sup>	13954.47 ± 671.65 <sup>a</sup>	238.25 ± 1.42 <sup>a</sup>
7 сут после П	76.70 ± 7.24 <sup>a</sup>	117.46 ± 10.12	216.70 ± 15.12 <sup>a</sup>	57.53 ± 5.71	599.30 ± 33.50 <sup>a</sup>	184.21 ± 7.09 <sup>a</sup>	7923.10 ± 509.79 <sup>a</sup>	233.34 ± 2.84 <sup>a</sup>
30 сут после П	68.12 ± 2.60 <sup>a</sup>	135.45 ± 9.23 <sup>a</sup>	127.17 ± 8.16	88.60 ± 4.11 <sup>a</sup>	388.07 ± 28.43 <sup>a</sup>	294.74 ± 28.36 <sup>a</sup>	7383.24 ± 469.99 <sup>a</sup>	238.25 ± 1.42 <sup>a</sup>
1 сут после П + К	57.39 ± 8.58	74.41 ± 8.14 <sup>a,b</sup>	135.34 ± 15.99	56.15 ± 2.01	442.11 ± 13.45 <sup>a,b</sup>	442.11 ± 14.18 <sup>a,b</sup>	7623.94 ± 533.42 <sup>a,b</sup>	196.49 ± 2.84 <sup>a,b</sup>
7 сут после П + К	54.05 ± 2.75 <sup>b</sup>	120.80 ± 14.01	229.15 ± 31.35 <sup>a</sup>	98.91 ± 22.06	589.48 ± 21.97 <sup>a</sup>	785.97 ± 198.53 <sup>a,b</sup>	5762.17 ± 151.73 <sup>b</sup>	171.93 ± 14.18 <sup>a,b</sup>
30 сут после П + К	46.72 ± 4.78 <sup>b</sup>	93.01 ± 12.34 <sup>b</sup>	148.11 ± 16.81	90.61 ± 2.19 <sup>a</sup>	383.16 ± 27.57 <sup>a</sup>	307.02 ± 49.63 <sup>a</sup>	6353.40 ± 92.42 <sup>a,b</sup>	179.30 ± 4.25 <sup>a,b</sup>

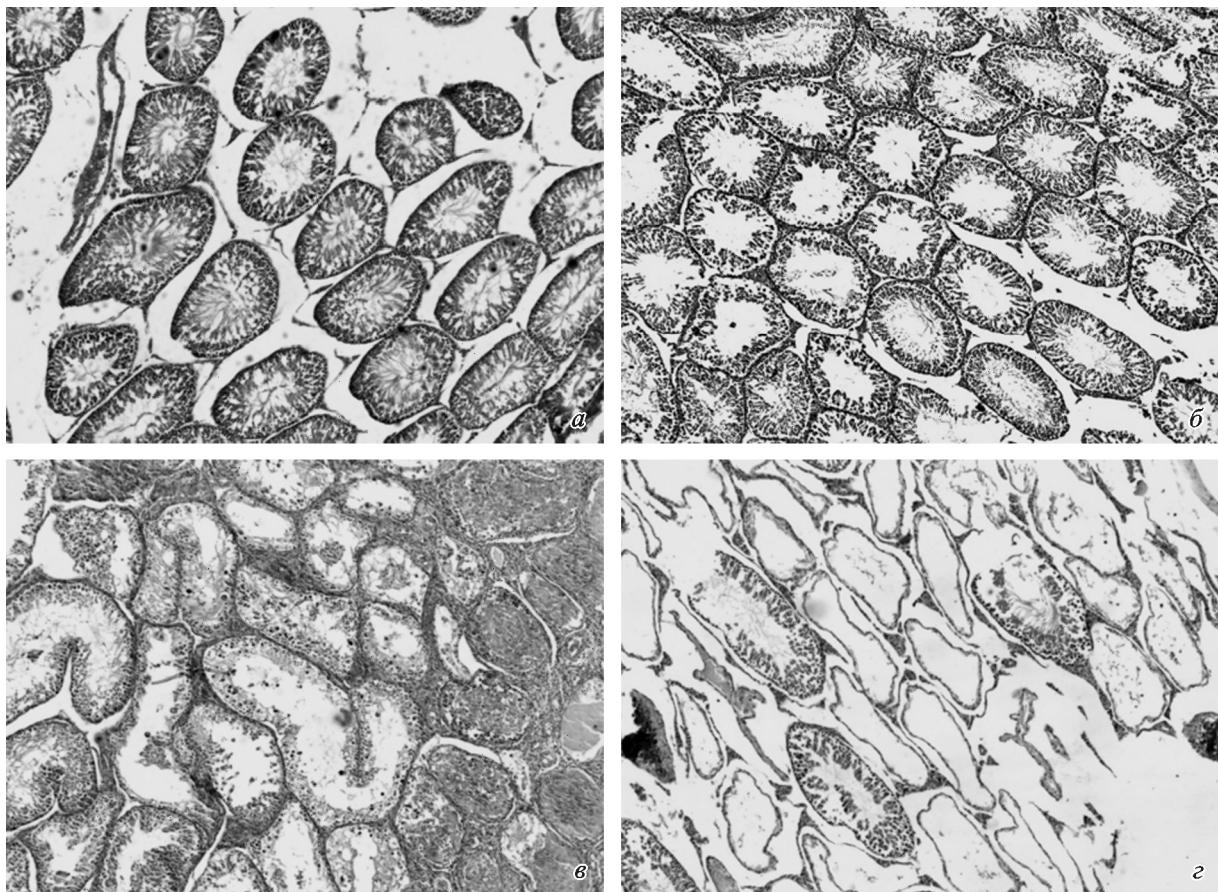


Рис. 3. Срезы семенника крысы интактного (*а*) и через 1 (*б*), 7 (*в*) и 30 (*г*) сут после его повреждения.

Окраска гематоксилин-эозином. Об. 10×. Показано постепенное развитие деструктивных процессов, выражющееся в снижении количества зародышевых клеток в канальцах вплоть до их полного опустошения и появлении некротизированных канальцев.

тической активности ТК кожи на 7-е и 30-е сут после повреждения и активном выбросе секрета на всех сроках эксперимента.

При повреждении семенника количество ТК в нем не изменяется на всех сроках эксперимента, что, вероятно, является отличительной особенностью реакции ТК при повреждении этого органа — отсутствие их миграции в раневую зону. В то же время, как и в случае повреждения кожи, увеличиваются СГК и ИД ТК (табл. 2; рис. 2), что свидетельствует о повышении синтетической и функциональной активности ТК.

Полученные данные указывают на различия в реакции ТК на повреждение в тканях с разной степенью иммунологической привилегированности. В коже на ранних сроках эксперимента отмечается миграция в зону повреждения ТК с медленным нарастанием синтетической и секреторной активности в течение 30 сут, а в семеннике сразу после повреждения увеличивается функциональная активность ТК при отсутствии их выраженной миграции.

Для оценки влияния функционального состояния ТК на ход reparативных процессов проведены эксперименты

Таблица 4

**Гистологические показатели поврежденного семенника крыс без и на фоне инактивации ТК кетотифеном**

Животные	Средний индекс сперматогенеза	Среднее количество нормальных сперматогониев на 1 каналец	Доля нефункционирующих каналцев, %
Интактные животные	$3.60 \pm 0.10^a$	$78.07 \pm 1.93$	0
1 сут после П	$3.12 \pm 0.10^a$	$59.63 \pm 3.49^a$	$1.40 \pm 0.24^a$
7 сут после П	$2.16 \pm 0.30^a$	$36.67 \pm 4.53^a$	$21.00 \pm 1.08^a$
30 сут после П	$2.35 \pm 0.12^a$	$43.12 \pm 1.91^a$	$25.00 \pm 5.21^a$
1 сут после П + К	$3.50 \pm 0.08$	$54.26 \pm 2.18^a$	0
7 сут после П + К	$2.34 \pm 0.29^a$	$57.88 \pm 1.94^{a,b}$	$12.80 \pm 1.58^{a,b}$
30 сут после П + К	$2.84 \pm 0.13^{a,b}$	$60.06 \pm 1.29^{a,b}$	$10.10 \pm 2.10^{a,b}$

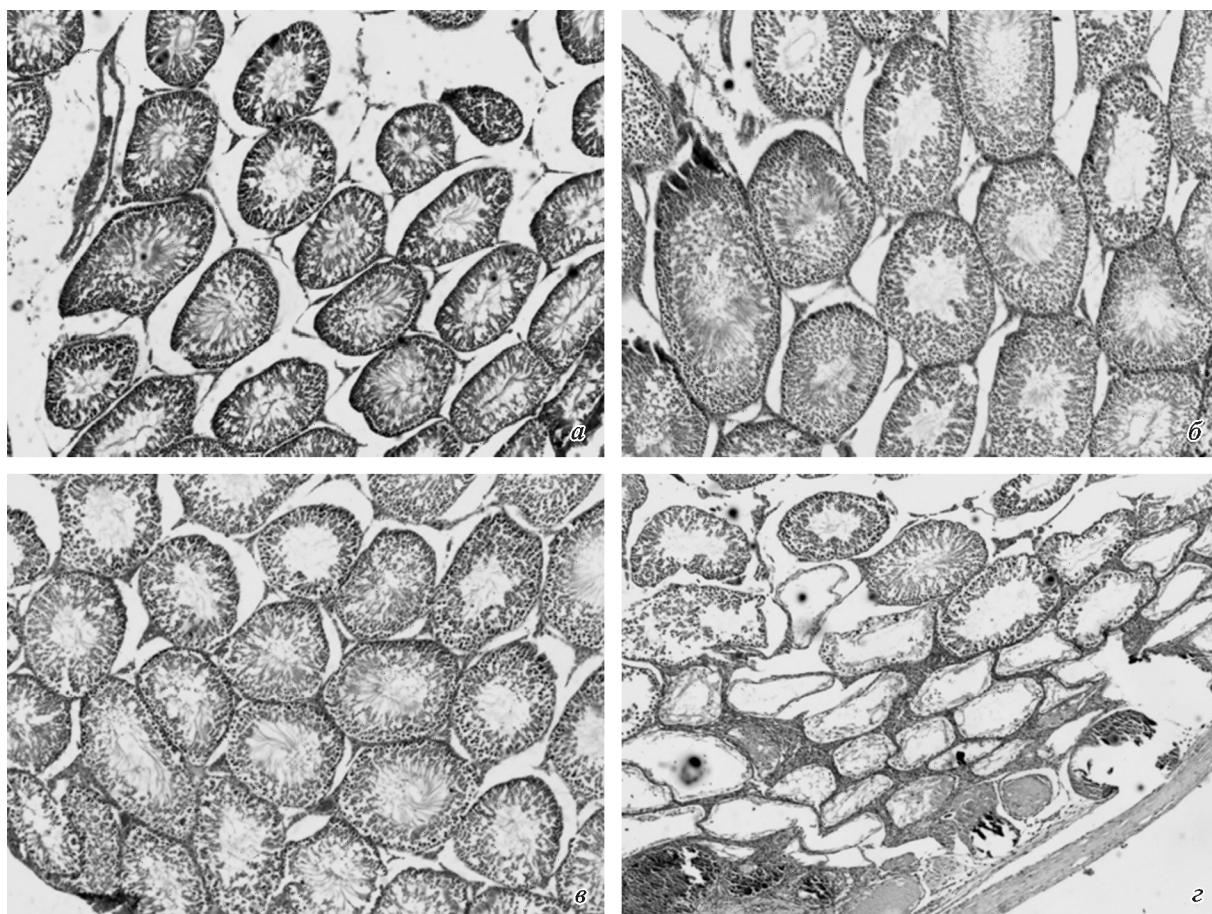


Рис. 4. Срезы семенника крысы интактного (*а*) и через 1 (*б*), 7 (*в*) и 30 (*г*) сут после его повреждения на фоне инактивации тучных клеток препаратом кетотифеном.

Окраска гематоксилин-эозином. Об. 10×. Видно, что инактивация тучных клеток не отменяет развития деструктивных процессов, однако снижает количество нефункционирующих и некротизированных канальцев по сравнению с контролем.

с использованием стабилизатора клеточных мембран ТК — препарата кетотифена. Применение стабилизатора мембран снижает до минимума возможные регуляторные эффекты ТК на репаративные процессы в ткани и позволяет оценить ход восстановительных процессов в органах на фоне резкого снижения функциональной активности ТК.

При повреждении кожи у животных, не получавших препарата, наряду с изменением функциональной активности ТК происходят изменения исследованных показателей (табл. 3). Утолщаются эпидермис и дерма кожи, растет число кровеносных сосудов, значительно увеличивается количество фибробластов и коллагеновых волокон. Происходит уменьшение количества сальных желез, что объясняется процессом рубцевания.

Инактивация ТК препаратом кетотифеном не влияет на миграцию этих клеток в зону повреждения кожи, но тормозит синтетическую активность и резко снижает секрецию биологически активных веществ ТК (табл. 1). Эти изменения приводят к торможению реакций, характерных для регенерации кожи. На ранних сроках не наблюдается утолщения эпидермиса кожи, а на 7-е и 30-е сут эксперимента этот показатель даже ниже, чем в группе интактных животных. Толщина дермы поврежденной кожи также не увеличивается. В 1-е сут у крыс, получавших препарат, количество кровеносных сосудов растет

по сравнению с интактными животными, но тем не менее оно статистически ниже, чем в группе животных с повреждением кожи без приема кетотифена (контрольная группа). На 7-е и 30-е сут число сосудов не отличается от показателей контрольной группы. Количество фибробластов и коллагеновых волокон значительно ниже, чем в контрольной группе. Количество сальных желез ниже, чем у интактных животных, но в тоже время повышенено относительно контрольной группы (табл. 3). Эти изменения свидетельствуют о замедлении процесса рубцевания на фоне инактивации ТК и, следовательно, о нарушении reparаций кожи в целом.

При механическом повреждении семенника развиваются интенсивные и не угасающие спустя 1 мес процессы деструкции органа (рис. 3). Появляются канальцы с фиброзом, семенные шары, образующиеся за счет слияния сперматид в сперматогенном эпителии и в ходе последующего их отторжения в просвет канальца, снижается количество зародышевых клеток в канальцах. Снижается индекс сперматогенеза *J*, что указывает на нарушение процессов образования половых клеток конечных стадий сперматогенеза. Падает показатель сперматоцитограммы, что свидетельствует о сокращении числа зародышевых клеток в канальцах и может быть связано с повреждением целостности их структуры и выходом половых клеток в интерстициальное пространство, а также с запускающи-

мися процессами апоптоза. Кроме этого, снижается и количество нормальных сперматогониев, представляющих собой пролиферативный пул для семенников. Через 1 мес после повреждения отмечается еще большее нарушение сперматогенеза, что выражается в опустошении значительного количества канальцев и увеличении числа фиброзных канальцев (табл. 4).

Инактивация ТК кетотифеном замедляет рост синтетической активности и резко снижает индекс дегрануляции этих клеток (табл. 2). Эти изменения не отменяют развития деструктивных процессов в поврежденном семеннике, однако благоприятноказываются на развитии восстановительных процессов и позволяют сохранить регенераторный потенциал органа (рис. 4). Это выражается в росте числа нормальных сперматогоний в канальцах по сравнению с данным показателем в группе животных, не получавших кетотифена. Кроме этого, значительно снижается число нефункционирующих канальцев, что свидетельствует об ослаблении деструкции органа на фоне инактивации ТК (табл. 4).

На основании полученных данных можно утверждать, что ТК являются одним из факторов, который определяет различия в протекании восстановительных процессов в тканях с разной степенью иммунопривилегированности, поскольку инактивация ТК приводит к торможению реакций, характерных для регенерации кожи (иммунологически непривилегированного органа), и способствует reparативной регенерации семенника (иммунологически привилегированного органа).

Работа выполнена в рамках программы УрО РАН «Фундаментальные науки — медицине» (№ 15-3-4-24) и при финансовой поддержке постановления № 211 правительства Российской Федерации (контракт № 02.A03.21.0006).

### Список литературы

- Алексеева Н. Т., Глухов А. А. 2011. К вопросу о роли тучных клеток в процессе заживления ран. Вестн. эксперим. клин. хирургии. 4 (4) : 864—870. (Alexeeva N. T., Glukhov A. A. 2011. The role of mast cells in wound healing. Vestnik Exp. Clin. Surgery. 4 (4) : 864—870.)
- Гордон Д. С. 1982. Тучные клетки в эксперименте. Чебоксары: Изд-во Чуваш. ун-та. 29 с. (Gordon D. S. 1982. Mast cells in experiment. Cheboksary: Publ. House Chuvash Univ. 29 p.)
- Данилов Р. К. 2008. Раневой процесс: гистогенетические основы. СПб.: ВМедА им. С. М. Кирова. 380 с. (Danilov R. K. 2008. Wound process: histogenetic bases. SPb.: VMedA of S. M. Kirov. 380 p.)
- Кондашевская М. В. 2010. Тучные клетки и гепарин — ключевые звенья в адаптивных и патологических процессах. Вестн. РАМН. 6 : 49—54. (Kondashhevskaya M. V. 2010. Mast cells and heparin — key links in adaptive and pathological processes. Vestnik RAMN. 6 : 49—54.)
- Кутукова Н. А., Назаров П. Г. 2014. Тучные клетки: роль в воспалении, восстановлении тканей и развитии фиброза. Цитокины и воспаление. 13 (2) : 11—20. (Kutukova N. A., Nazarov P. G. 2014. Mast cells: a role in an inflammation, restoration of tissues and development of fibrosis. Cytokines Inflammation. 13 (2) : 11—20.)
- Юшков Б. Г., Черешнев В. А., Климин В. Г., Артاشян О. С. 2011. Тучные клетки. Физиология и патофизиология. М.: Медицина. 240 с. (Yushkov B. G., Chereshnev V. A., Klimin V. G., Artashyan O. S. 2011. Mast cells. Physiology and pathophysiology. M.: Medicine. 240 p.)
- Acikgoz A., Asci R., Aydin O., Çavuş H., Donmez G., Buyukalpelli R. 2014. The role of ketotifen in the prevention of testicular damage in rats with experimental unilateral undescended testes. Drug Des. Devel. Ther. 8 : 2089—2097.
- Adam M., Schwarzer J. U., Köhn F. M., Strauss L., Poutanen M., Mayerhofer A. 2011. Mast cell tryptase stimulates production of decorin by human testicular peritubular cells: possible role of decorin in male infertility by interfering with growth factor signaling. Hum. Reprod. 26 : 2613—2625.
- Allam J. P., Langer M., Fathy A., Oltermann I., Bieber T., Novak N., Haidl G. 2009. Mast cells in the seminal plasma of infertile men as detected by flow cytometry. Andrologia. 41 : 1—6.
- Apa D. D., Cayan S., Polat A., Akbay E. 2002. Mast cells and fibrosis on testicular biopsies in male infertility. Arch. Androl. 48 : 337—344.
- Stalldi G., Verga Z. 1957. The glycogen content of the cells of lymphatic leukemia. Haematology. 17 : 129—131.
- Da Silva E. Z., Jamur M. C., Oliver C. 2014. Mast cell function: a new vision of an old cell. J. Histochem. Cytochem. 62 : 698—738.
- Directive, 2010. Directive 2010/63/EU of the European parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Of. J. Eur. Union. 2010. L 276/33.
- Gilliland A. M., Beaven M. A. 2011. Regulation of mast cell responses in health and disease. Crit. Rev. Immunol. 31 : 475—529.
- Guazzone V. A., Jacobo P., Theas M. S., Lustig L. 2009. Cytokines and chemokines in testicular inflammation: a brief review. Microsc. Res. Tech. 72 : 620—628.
- Haidl G., Duan Y. G., Chen S. J., Kohn F. M., Schuppe H. C., Allam J. P. 2014. The role of mast cells in male infertility. Expert. Rev. Clin. Immunol. 7 : 627—634.
- Hussein M. R., Abou-Deif E. S., Bedaiwy M. A., Said T. M., Mustafa M. G., Nada E., Ezat A., Agarwal A. 2005. Phenotypic characterization of the immune and mast cell infiltrates in the human testis shows normal and abnormal spermatogenesis. Fertil. Steril. 83 : 1447—1453.
- Jezek D., Banek L., Hittmair A., Pezerovic-Panijan R., Goluzza T., Schulze W. 1999. Mast cells in testicular biopsies of infertile men with «mixed atrophy» of seminiferous tubules. Andrologia. 31 : 203—210.
- Lu L. F., Lind E. F., Gondek D. C., Bennett K. A., Gleeson M. W., Pino-Lagos K., Scott Z. A., Coyle A. J., Reed J. L., Van Snick J., Strom T. B., Zheng X. X., Noelle R. J. 2006. Mast cells are essential intermediaries in regulatory T-cell tolerance. Nature. 442 : 997—1002.
- Mantis P., Lloyd D. H., Pfeiffer D., Stevens K., Auxilia S., Noli C., Abramo F., Miolo A. 2007. Assessment of the effect of an aliamide-containing topical gel by evaluation of the reduction of wound volume measured by high resolution ultrasound biomicroscopy. Wounds. 19 : 113—119.
- Mechlin C. W., Levesque J., Feustel P., Kogan B. A. 2014. Mast cell numbers negatively correlate with fibrosis in cryptorchid testes. J. Pediatr. Urol. 10 : 527—531.
- Meineke V., Frungieri M. B., Jessberger B., Vogt H., Mayerhofer A. 2000. Human testicular mast cells contain tryptase: increased mast cell number and altered distribution in the testes of infertile men. Fertil. Steril. 74 : 239—244.
- Oliva A., Multigner L. 2006. Ketotifen improves sperm motility and sperm morphology in male patients with leukocytospermia and unexplained infertility. Fertil. Steril. 85 : 240—243.
- Prussin C., Metcalfe D. D. 2003. IgE, mast cell, basophils and eosinophils. Allergy Clin. Immunol. 111 : 486—494.
- Welter H., Kohn F. M., Mayerhofer A. 2011. Mast cells in human testicular biopsies from patients with mixed atrophy: increased numbers, heterogeneity, and expression of cyclooxygenase 2 and prostaglandin D2 synthase. Fertil. Steril. 96 : 309—313.
- Windschitl S., Nettersheim D., Schlatt S., Huber A., Welter H., Schwarzer J. U., Kohn F. M., Schorle H., Mayerhofer A. 2014. Are testicular mast cells involved in the regulation of germ cells in man? Andrology. 2 : 615—622.

Yamanaka K., Fujisawa M., Tanaka H., Okada H., Arakawa S., Kamidono S. 2000. Significance of human testicular mast cells and their subtypes in male infertility. *Hum. Reprod.* 15 : 1543—1547.

Zhao S., Zhu W., Xue S., Han D. 2014. Testicular defense systems: immune privilege and innate immunity. *Cell Mol. Immunol.* 11 : 428—437.

Поступила 17 IX 2015

## INFLUENCE OF MAST CELLS ON REPARATIVE REGENERATION OF TISSUES WITH DIFFERENT DEGREE OF IMMUNOLOGICAL PRIVILEGES

*Yu. S. Khramtsova,<sup>1,2,\*</sup> O. S. Artashyan,<sup>1,2</sup> B. G. Yushkov,<sup>1,2</sup>  
Yu. L. Volkova,<sup>2</sup> N. Yu. Nezgoverova<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the RAS,  
and <sup>2</sup> Ural Federal University named after the First President of Russia B. N. Yeltsin, Ekaterinburg, 620049;  
\* e-mail: hramtsova15@mail.ru

It is assumed that tissues with different degree of immunological privileges have a number of distinctions in the processes of reparation. This may be associated with mast cells, which are found in all body tissues of an organism, secrete a wide range of biologically active substances and are important in the regulation of repair processes. This paper present the results of investigations of morphometric parameters and functional activity of mast cells in tissues with varying degrees of immune privilege (skin, testis). It has been shown that migration of mast cells in the skin is observed early after the injury and followed by a slow increase of synthetic activity and index of degranulation of mastocytes within 30 days. Index of degranulation of mast cells in the testes increased immediately after the injury in the absence of their pronounced migration. Stabilizing membranes of mast cells using the drug ketotifen led to inhibition of the repair of the skin, which was manifested itself in the absence of increasing the thickness of dermis, epidermis, the number of fibroblasts and collagen fibers, and also in slowing down the formation of scar. At the same time, the inactivation of mast cells promoted reparative regeneration of testes as was indicated by increase in the number of normal spermatogonia which are proliferative pool for all subsequent stages of spermatogenesis, and by considerable decrease in the number of non-functioning tubules. Thus, the number and the functional state of the mast cells have an impact on the course of reparative processes in tissues with varying degrees of immune privileges.

**Key words:** regeneration, immunological privileges, mast cells, testicles, skin.