

ТУЧНЫЕ КЛЕТКИ КАК БИОМАРКЕРЫ "INFLAMM-AGEING"

Садек А.¹, Храмцова Ю.С.², Юшков Б.Г.²

¹ ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»,
г. Екатеринбург, Россия

² ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук,
г. Екатеринбург, Россия

Резюме. Считается, что большинство механизмов старения в той или иной степени связаны с воспалением. С возрастом развивается уникальная форма хронического воспаления – "inflamm-ageing". Механизм развития этого явления на сегодняшний день до конца не ясен из-за отсутствия надежных критериев его оценки. Одной из систем, участвующих в ускорении возрастных изменений в организме, является иммунная система. Она же принимает непосредственное участие в процессе воспаления. В патогенезе последнего одно из центральных мест занимает реакция тучных клеток. Особого внимания заслуживает роль тучных клеток в ремоделировании тканей, что является основной характеристикой проблем старения. Таким образом, процесс старения может повлиять на функцию тучных клеток, а тучные клетки, в свою очередь, могут ускорить процесс старения, что в итоге и приведет к развитию различных возрастных заболеваний. Все это дает основание рассматривать "inflamm-ageing" в качестве одного из показателей старения, а тучные клетки как индикатор этого процесса. С целью проверки предложенной гипотезы проведено исследование по определению возрастных морфофункциональных изменений популяций тучных клеток в различных органах у крыс. На разновозрастных (4 месяца и 2 года) крысах самцах линии Wistar проведена оценка морфофункциональных параметров тучных клеток (количество, синтетическая и функциональная активность, степень созревания) в разных органах животных. В тимусе, надпочечниках и коже с возрастом наблюдается снижение количества тучных клеток и их синтетической активности при значительном повышении их функциональной активности. В желудке, тонком и толстом кишечнике при неизменном количестве тучных клеток отмечается снижение их синтетической и увеличение функциональной активности. Данные изменения приводят к увеличению среднего размера кровеносных сосудов в исследуемых органах. Печень – единственный орган, в котором с возрастом не происходит изменений тучных клеток. При старении наблюдается тенденция увеличения количества незрелых тучных клеток в органах, что указывает на снижение скорости их созревания. Таким образом, в процессе старения происходят изменения количественных и качественных показателей тучных клеток в различных органах у животных. При этом наибольшие изменения наблюдаются в органах, непосредственно участвующих в стресс-реакциях. Данные изменения тучных клеток играют важную роль в формировании феномена "inflamm-ageing", которое происходит при старении, т. к. данные клетки являются неотъемлемым компонентом воспалительных реакций. Развитие этого феномена приводит к накоплению цитокинов и провоспалительных медиаторов в тканях, которые, в свою очередь, и активируют тучные клетки. В то же время повышенная дегрануляция мастоцитов может усиливать процесс "inflamm-ageing". Отмеченное взаимное влияние тучных клеток и "inflamm-ageing" дает возможность рассматривать мастоциты в качестве потенциальных кандидатов в биомаркеры "inflamm-ageing".

Ключевые слова: тучные клетки, дегрануляция, воспаление, старение, ремоделирование тканей, стресс

Адрес для переписки:

Храмцова Юлия Сергеевна
ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии»
Уральского отделения Российской академии наук
620049, Россия, г. Екатеринбург,
ул. Первомайская, 106.
Тел.: 8 (343) 374-00-70.
E-mail: hramtsova15@mail.ru

Address for correspondence:

Khramtsova Yulia S.
Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch,
Russian Academy of Sciences
620049, Russian Federation, Yekaterinburg,
Pervomayskaya str., 106.
Phone: 7 (343) 374-00-70.
E-mail: hramtsova15@mail.ru

Образец цитирования:

А. Садек, Ю.С. Храмцова, Б.Г. Юшков «Тучные клетки как биомаркеры "inflamm-ageing"» // Российский иммунологический журнал, 2022. Т. 25, № 3. С. 299-304. doi: 10.46235/1028-7221-1107-MCA
© Садек А. и соавт., 2022

For citation:

A. Sadek, Yu.S. Khramtsova, B.G. Yushkov "Mast cells as biomarkers of inflamm-ageing", Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy Immunologicheskii Zhurnal, 2022, Vol. 25, no. 3, pp. 299-304. doi: 10.46235/1028-7221-1107-MCA
DOI: 10.46235/1028-7221-1107-MCA

MAST CELLS AS BIOMARKERS OF INFLAMM-AGEING

Sadek A.^a, Khramtsova Yu.S.^b, Yushkov B.G.^b

^a B. Yeltsin Ural Federal University, Yekaterinburg, Russian Federation

^b Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

Abstract. Most mechanisms of ageing are believed to be more or less associated with inflammation. With age, a unique form of chronic inflammation develops which is termed as “inflamm-ageing”. The mechanisms of this process are still not fully clear due to the lack of reliable assessment criteria. Immune system is among those involved in accelerating age-related changes in the body. It also directly participates in the process of inflammation. In its pathogenesis, the reaction of mast cells may be of great importance. The role of mast cells in tissue remodeling deserves special attention, since the latter event is among the main features associated with ageing. Hence, the “inflamm-ageing” is considered a sufficient indicator of ageing, and the mast cells could provide biomarkers of this process. In order to test the proposed hypothesis, the present study was conducted to determine age-related morpho-functional changes in mast cell populations in various organs in rats. Some morpho-functional parameters of mast cells (number, synthetic and functional activity, degree of maturation) in different animal organs were evaluated in male Wistar rats of different ages (4 months and 2 years). We have found the age-dependent changes upon examination of thymus, adrenal glands, and skin, i.e., a decrease in the number of mast cells and their synthetic capacity, along with significantly increased functional activity. In the stomach, small and large intestines, at the constant number of mast cells, we revealed a decrease in their synthetic ability, and increased functional activity. These changes were accompanied by enlargement of blood vessels in the studied organs. Liver is the only organ which did not exhibit any changes in mast cell populations with age. The detected changes in mast cell populations may play an important role in formation of “inflamm-ageing” events, which accompany the ageing processes, because these cells are an integral component of inflammatory response. The progression of “inflamm-ageing” leads to accumulation of cytokines and pro-inflammatory mediators in tissues, which, in turn, activate the mast cells. At the same time, increased degranulation of mastocytes may promote the process of “inflamm-ageing”. The observed mutual influence of mast cells and “inflamm-ageing” makes it possible to consider mastocytes as potential candidates for searching the biomarkers in “inflamm-ageing”.

Keywords: mast cells, degranulation, inflamm-ageing, aging, tissue remodeling, stress

Работа выполнена в рамках госзадания ИИФ УрО РАН (тема № 122020900136-4).

Введение

Увеличение продолжительности жизни сопровождается целым комплексом возрастных изменений, в основе которых лежит прогрессирующая неспособность клеток исправлять все ошибки, происходящие в ДНК, что приводит к накоплению мутаций и, в итоге, к изменению функции клеток [5]. Считается, что большинство механизмов старения в той или иной степени связаны с воспалением и с возрастом развивается уникальная форма хронического воспаления – “inflamm-ageing” [2]. Механизм развития этого явления на сегодняшний день до конца не ясен из-за отсутствия надежных критериев его оценки.

Одной из систем, участвующих в ускорении возрастных изменений в организме, является иммунная система. Она же принимает непосред-

ственное участие в процессе воспаления. В патогенезе последнего одно из центральных мест занимает реакция тучных клеток (ТК). Особого внимания заслуживает роль ТК в ремоделировании тканей [4], что является основной характеристикой проблем старения. Процесс ремоделирования ткани ТК происходит из-за действия медиаторов, которые высвобождаются ТК в процессе дегрануляции. Любой дефект в процессе дегрануляции может привести к ремоделированию ткани и вызвать ее повреждение, которое приведет к нарушению функции тканей и органов. Таким образом, процесс старения может повлиять на функцию ТК, а ТК, в свою очередь, могут ускорить процесс старения, что в итоге и приведет к развитию различных возрастных заболеваний. Это дает основание рассматривать “inflamm-ageing” в качестве одного из показателей старения, а ТК как индикатор этого процесса.

С целью проверки предложенной гипотезы и было проведено данное исследование по опре-

делению возрастных морфофункциональных изменений популяций тучных клеток в различных органах у крыс.

Материалы и методы

Исследование проведено на половозрелых крысах-самцах линии Wistar. Животных содержали по 5 в клетке, при температуре 20-22 °С и в свободном доступе к воде и пище. Экспериментальные животные в условиях опыта были разделены на 2 группы: 1) интактные животные в возрасте четырех месяцев ($n = 6$), который соответствует 14-15 годам жизни человека; 2) интактные животные в возрасте двух лет ($n = 11$), который соответствует 60 годам жизни человека. Животных выводили из эксперимента путем передозировки диэтилового эфира. Для гистологического исследования брали следующие органы: тимус, кожу, надпочечники, печень, желудок, тонкий и толстый кишечник. После стандартной гистологической проводки на автомате закрытого типа Shandon Excelsior (MICROM International GmbH, Германия) материал заливали в парафин с помощью станции для заливки биологических тканей парафином ЕС 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.

Для морфометрических исследований препараты окрашивали гематоксилин-эозином, толуидиновым синим для выявления ТК, оценки их количества и функций, альциановым синим – сафранином для определения степени зрелости ТК. Оценку различных показателей проводили на световом микроскопе Leica DM 5000 B (Leica, Германия), оснащенный камерой Leica DFC 490 (Leica, Германия). Подсчет количественных показателей проводили с использованием программы ImageJ.

Оценка синтетической активности ТК

ТК были классифицированы на 4 типа. К 1-му типу относили клетки с малым содержанием гранул секрета в цитоплазме, который располагается околочелювочно. Тип 2 – клетки с хорошо дифференцированной гранулярностью в цитоплазме и диффузным расположением гранул. Тип 3 – крупные клетки с плотным и диффузным расположением гранул в цитоплазме. К типу 0 относили дегранулированные клетки с признаками нарушения целостности цитоплазматической мембраны и выделения в окружающее тканевое пространство цитоплазматических гранул. Синтетическую активность оценивали с использованием среднего гистохимического коэффициента (СГК), по формуле:

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

где n – число клеток типа 3, 2, 1 или 0, согласно классификации, приведенной выше, 100 – общее число подсчитанных клеток в группе.

Оценка функциональной активности ТК

Для оценки функциональной активности по выбросу гранул ТК в межклеточное пространство использовали индекс дегрануляции (ИД, %), который рассчитывали по формуле:

$$\text{ИД} = \frac{Д}{Д + Н} \times 100\%,$$

где $Д$ – количество тучных клеток с явными признаками дегрануляции (0-й тип), $Н$ – количество неактивированных тучных клеток.

Оценка зрелости ТК

С использованием окраски альциановый синий – сафранин ТК были разделены на 3 группы: 1) наименее зрелые ТК, характеризующиеся наличием в цитоплазме гранул, окрашенных в синий цвет вследствие сродства их компонентов исключительно к альциановому синему (Alc+ гранулы); 2) клетки промежуточной степени зрелости (имеют фиолетовую окраску), содержащие в цитоплазме как Alc+ гранулы, так и Saf+ гранулы, окрашенные в красный цвет вследствие сродства их компонентов к сафранину; 3) наиболее зрелые ТК, содержащие в цитоплазме исключительно Saf+ гранулы, что придает цитоплазме данных клеток ярко-красную или ярко-малиновую окраску.

Для определения влияния возрастных морфофункциональных изменений тучных клеток на кровеносные сосуды в тканях были сделаны микрофотографии препаратов с помощью камеры Levenhuk M1400 Plus (Levenhuk, США), затем были определены длины большой и малой полуосей и вычислена площадь каждого кровеносного сосуда.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программ Statistica 8.0. Сравнение групп выполняли с использованием критерия Манна–Уитни. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В работе были исследованы морфофункциональные параметры тучных клеток и кровеносных сосудов различных органов у двух разновозрастных групп: молодых и старых животных.

Тимус

В тимусе животных с возрастом наблюдается снижение общего количества ТК, их синтетической активности, в то время как функциональная активность этих клеток значительно увеличивается (табл. 1). Наблюдаемое уменьшение количества ТК может быть результатом общего воз-

ТАБЛИЦА 1. МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ТК В ИССЛЕДУЕМЫХ ОРГАНАХ У ЖИВОТНЫХ РАЗНОГО ВОЗРАСТА

TABLE 1. MORPHO-FUNCTIONAL PARAMETERS OF MAST CELLS IN STUDIED ORGANS IN ANIMALS OF DIFFERENT AGES

	Количество ТК в 1 мм ² органа Number of MCs in 1 mm ² of the organ		СГК (усл. ед.) IHC (с. у.)		ИД (%) DI (%)	
	Молодые Young	Старые Old	Молодые Young	Старые Old	Молодые Young	Старые Old
Тимус Thymus	141,50±19,00	88,09±11,38*	2,309±0,120	1,864±0,110*	2,650±1,490	11,114±2,820*
Надпочечник Adrenal gland	46,17±9,53	33,40±5,70	2,330±0,120	1,440±0,970*	2,552±1,210	18,155±4,130*
Желудок Stomach	51,50±2,36	49,73±5,04	2,227±0,080	2,022±0,050*	1,530±0,870	7,291±1,250*
Тонкий кишечник Small bowels	13,50±6,07	10,36±2,56	2,33±0,11	1,72±0,10*	1,12±0,73	10,84±2,18*
Толстый кишечник Large bowels	19,33±9,24	10,73±2,79	2,53±0,11	1,59±0,16*	0,80±0,54	11,68±2,53*
Кожа Skin	192,50±17,77	114,64±9,73*	2,518±0,070	2,080±0,090*	1,846±0,560	7,934±1,390*
Печень Liver	11,83±6,52	17,91±3,37	2,215±0,230	1,876±0,110	11,667±8,330	16,967±4,400

Примечание. * – различия достоверны по сравнению с группой молодых животных ($p < 0,05$, U-критерий Манна–Уитни).

Note. *, differences are reliable compared with a group of young animals ($p < 0.05$, Mann–Whitney U test).

растного снижения функции и продуктивности иммунной системы [7, 9]. Следует отметить, что данный результат не соответствует некоторым исследованиям, в которых была обнаружена обратная тенденция, заключающаяся в увеличении количества ТК в тимусе с возрастом [8]. Изменения функциональной активности ТК, которые проявляются в увеличении дегрануляции, могут быть вызваны процессом "inflamm-ageing". При этом происходит накопление медиаторов воспаления в тканях, что в свою очередь может привести к активации ТК [3]. В тимусе у старых животных имеется тенденция к росту числа незрелых ТК, в то время как количество зрелых и промежуточных клеток уменьшается, т. е. с возрастом все меньше клеток созревает в органе, что, по-видимому, связано со снижением уровня ростовых факторов в ткани (рис. 1).

Надпочечники

В надпочечниках животных с возрастом не меняется количество ТК, но при этом значительно снижается СГХ и увеличивается ИД (табл. 1). Эти результаты показывают, что ТК могут играть важную роль в возрастных изменениях, происходящих в надпочечниках. Повышенная дегрануляция ТК может быть связана с общим дефек-

том иммунной системы, который развивается в процессе старения, а также с реакцией ТК на норадреналин, выделяемый в ответ на различные стрессовые факторы, количество которых с возрастом увеличивается. Норадреналин может связываться с α -рецепторами тучных клеток и вызывать их дегрануляцию [1].

Желудок

В желудке возрастной разницы в общем количестве ТК не наблюдается. Однако у старых животных отмечается увеличение дегрануляции и снижение синтетической активности ТК (табл. 1). Кроме этого, у старых животных наблюдается значительное увеличение количества незрелых ТК и уменьшение промежуточных клеток, что свидетельствует о замедлении процесса созревания данных клеток в органе (рис. 1).

Кишечник

В тонком и толстом кишечнике получены схожие результаты по морфометрическим показателям ТК. В кишечнике не наблюдается изменений в общем количестве ТК с возрастом, при этом отмечается значительное снижение синтетической функции ТК на фоне увеличения их дегрануляции (табл. 1). Данные по возрастной стимуляции функциональной активности ТК схожи с резуль-

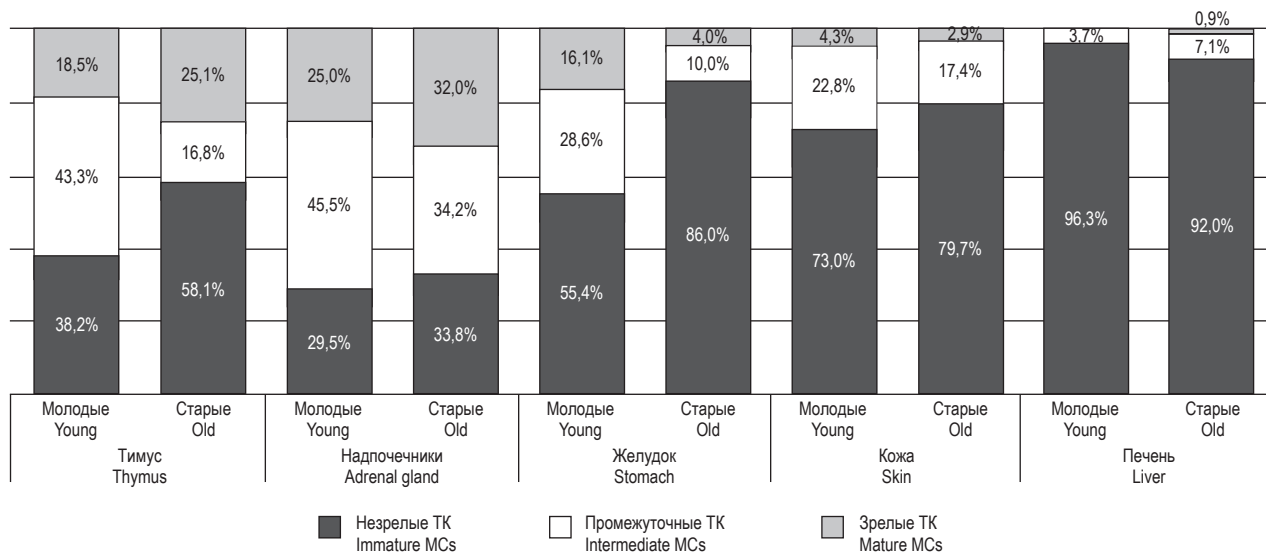


Рисунок 1. Распределение ТК по степени зрелости в органах животных разного возраста

Figure 1. Distribution of MCs by their degree of maturity in the organs of animals of different ages

татами других исследований. Такой повышенный уровень дегрануляции в кишечнике старых животных может быть результатом хронического системного провоспалительного состояния, которое происходит из-за повышения уровня провоспалительных цитокинов, включая IL-1, IL-6, IL-12, TNF α , IFN α , IFN β [6, 11].

Кожа

В коже с возрастом наблюдается снижение общего количества ТК и их синтетической активности при одновременном увеличении дегрануляции (табл. 1). Уменьшение количества ТК в коже может быть результатом снижения экспрессии фактора стволовых клеток в этом органе, наблюдаемом при старении [10]. Разницы в созревании ТК в данной ткани не наблюдается (рис. 1). Результаты по ТК кожи выглядят аналогично тем, которые получены в органах, участвующих непосредственно в стресс-реакциях, особенно в тимусе. Это объясняется тем, что кожа выполняет защитную функцию, в том числе и от влияния различных стрессовых факторов, и при этом очень богата ТК, которые отвечают на возрастные изменения повышением функциональной активности.

Печень

В печени, в отличие от других исследуемых органов, различия в ТК между молодыми и старыми животными не фиксируются (табл. 1). Это может быть обусловлено несколькими причинами. Так, их количество в печени изначально у молодых животных не велико и этого постоянного количества ТК в органе, характеризующихся постепенной небольшой дегрануляцией, достаточно для реализации регуляторных влияний на клетки печени. При этом отмечено, что большинство

ТК в печени являются незрелыми (рис. 1), что свидетельствует о низкой скорости созревания ТК в данном органе вне зависимости от возраста животных. Это может быть связано с низким уровнем факторов в печени, стимулирующих их созревание.

Влияние ТК на сосуды исследуемых органов

Повышение дегрануляции ТК у старых животных во всех изучаемых органах влияет на кровеносные сосуды в них, приводя к увеличению их размеров. Данные изменения происходят во всех органах, кроме печени, в ответ на возрастные изменения популяций ТК. Как известно, кровеносные сосуды легко контролируются ТК, расположенными рядом с ними. Гистамин – медиатор ТК, участвующих в увеличении размера кровеносных сосудов и повышении их проницаемости. Данные изменения важны не только в норме, но и при повреждении тканей. Таким образом, ТК через изменения кровеносных сосудов принимают активное участие в повреждении и ремоделировании тканей, которые происходят с возрастом.

Заключение

В процессе старения происходят изменения количественных и качественных показателей ТК в различных органах у животных. При этом наибольшие изменения наблюдаются в органах, непосредственно участвующих в стресс-реакциях: тимус, надпочечники, ЖКТ. ТК, являясь неотъемлемым компонентом воспаления и одним из важных регуляторов кровеносных сосудов, принимают активное участие в повреждении и ремоделировании тканей, которые происходят с воз-

растом. Следовательно, ТК играют важную роль в формировании феномена "inflamm-ageing", развитие которого приводит к накоплению цитокинов и провоспалительных медиаторов в тканях, которые в свою очередь и активируют ТК [3]. В то же время повышенная дегрануляция ТК может усиливать сам процесс "inflamm-ageing". Таким образом, отмеченное взаимное влияние ТК и

"inflamm-ageing" дает возможность рассматривать ТК, как потенциальные кандидаты в биомаркеры "inflamm-ageing".

Благодарности

Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП ИИФ УрО РАН.

Список литературы / References

1. Baldwin A.L. Mast cell activation by stress. *Mast Cells – Humana Press*, 2006, pp. 349-360.
2. Franceschi C., Garagnani P., Parini P., Giuliani C., Santoro A. Inflammaging: a new immune-metabolic viewpoint for age-related diseases. *Nat. Rev. Endocrinol.*, 2018, Vol. 14, no. 10, pp. 576-590.
3. Franceschi C., Capri M., Monti D., Giunta S., Olivieri F., Sevini F., Panourgia M.P., Invidia L., Celani L., Scurti M., Cevenini E., Castellani G.C., Salvioli S. Inflammaging and anti-inflammaging: a systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans. *Mech. Ageing Dev.*, 2007, Vol. 128, no. 1, pp. 92-105.
4. Legere S.A., Haidl I.D., Légaré J.-F., Marshall J.S. Mast cells in cardiac fibrosis: new insights suggest opportunities for intervention. *Front. Immunol.*, 2019, Vol. 10, 580. doi: 10.3389/fimmu.2019.00580.
5. López-Otín C., Blasco M.A., Partridge L., Serrano M., Kroemer G. The hallmarks of aging. *Cell*, 2013, Vol. 153, no. 6, pp. 1194-1217.
6. Magrone T., Jirillo E. The interaction between gut microbiota and age-related changes in immune function and inflammation. *Immun. Ageing*, 2013, Vol. 10, no. 1, pp. 1-6.
7. Montecino-Rodriguez E., Berent-Maoz B., Dorshkind K. Causes, consequences, and reversal of immune system aging. *J. Clin. Invest.*, 2013, Vol. 123, no. 3, pp. 958-965.
8. Raica M., Cimpean A.M., Nico B., Guidolin D., Ribatti D. A comparative study of the spatial distribution of mast cells and microvessels in the foetal, adult human thymus and thymoma. *Int. J. Exp. Pathol.*, 2010, Vol. 91, no. 1, pp. 17-23.
9. Simon A.K., Hollander G.A., McMichael A. Evolution of the immune system in humans from infancy to old age. *Proc. Biol. Sci.*, 2015, Vol. 282, no. 1821, 20143085. doi: 10.1098/rspb.2014.3085.
10. Wang Z., Wang Y., Bradbury N., Gonzales Bravo C., Schnabl B., di Nardo A. Skin wound closure delay in metabolic syndrome correlates with SCF deficiency in keratinocytes. *Sci. Rep.*, 2020, Vol. 10, no. 1, pp. 1-12.
11. Yu Y., Daly D.M., Adam I.J., Kitsanta P., Hill C.J., Wild J., Shorthouse A., Grundy D., Jiang W. Interplay between mast cells, enterochromaffin cells, and sensory signaling in the aging human bowel. *Neurogastroenterol. Motil.*, 2016, Vol. 28, no. 10, pp. 1465-1479.

Авторы:

Садек Али — аспирант ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, Россия
Храмцова Ю.С. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории иммунофизиологии и иммунофармакологии ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия
Юшков Б.Г. — д.м.н., профессор, член-корр. РАН, заведующий лабораторией иммунофизиологии и иммунофармакологии ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Россия

Authors:

Sadek Ali, Postgraduate Student, B. Yeltsin Ural Federal University, Yekaterinburg, Russian Federation
Khramtsova Yu.S., PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Immunophysiology and Immunopharmacology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation
Yushkov B.G., PhD, MD (Medicine), Professor, Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Head, Laboratory of Immunophysiology and Immunopharmacology, Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russian Federation

Поступила 15.05.2022
Принята к печати 28.05.2022

Received 15.05.2022
Accepted 28.05.2022