

DOI: 10.18499/2225-7357-2020-9-3-94-101



УДК 611.018.1

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

© Коллектив авторов, 2020

Новый гистохимический подход для оценки экспрессии триптазы в популяции тучных клеток

Д. А. Атякшин*, О. А. Герасимова, В. Ю. Мешкова, Н. Ю. Самодурова,
Т. В. Самойленко, В. В. Шишкина

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко»
Минздрава России, Воронеж, Россия

Для изучения селективного влияния тучных клеток на состояние специфического тканевого микроокружения необходима детализация молекулярного состава их секретомы и анализ путей дегрануляции. Разработанный метод сочетания иммуноморфологического и гистохимического протоколов окрашивания триптазы способствует более объективному определению интегрального уровня экспрессии специфической протеазы в популяции тучных клеток кожи. Дополнительные возможности визуализации цитологических характеристик и особенностей процессинга триптазы расширяют эффективность морфологического анализа как в норме, так и при патологии.

Ключевые слова: тучные клетки, триптаза, метакромазия, специфическое тканевое микроокружение, кожа.

Novel Histochemical Approach for Evaluation of Tryptase Expression in the Mast Cell Population

© D. A. Atyakshin*, O. A. Gerasimova, V. Yu. Meshkova, N. Yu. Samodurova,

T. V. Samoilenko, V. V. Shishkina, 2020

N.N. Burdenko Voronezh State Medical University

The paper presents a novel histochemical approach for evaluation of tryptase expression in the mast cell population. To study the selective effect of mast cells (MC) on the parameters of a specific tissue microenvironment, it is necessary to detail the molecular composition of their secretome and analyze the pathways of degranulation. The developed method for combined immunomorphological and histochemical tryptase staining protocols contributes to a more objective determination of the integral level of specific protease expression in the skin MC population. Extra visualization potentials of cytological features and specific aspects of tryptase processing expand efficiency of morphological analysis in both normal and pathological conditions.

Key words: mast cells, tryptase, metachromasia, specific tissue microenvironment, skin.

*Автор для переписки:

Атякшин Дмитрий Андреевич
Воронежский государственный медицинский университет
им. Н.Н. Бурденко, ул. Студенческая, 10, Воронеж,
394036, Российская Федерация

*Corresponding author:

Dmitrii Atyakshin
N.N. Burdenko Voronezh State Medical University, ul. Studencheskaya, 10, Voronezh, 394036, Russian Federation
E-mail: earth-mars38@yandex.ru

свойства секретомы [2, 3, 4]. Однако одной из проблем использования тиазинных красителей для детекции ТК является способность фиксирующих реагентов модифицировать полианионный характер секретомы и тем самым существенно ослаблять визуализируемые проявления метакромазии [18]. После внедрения в морфологическую практику протоколов иммуногистохимии окрашивание триптазы стало наиболее успешным методом определения общего количества ТК в органе [6, 11, 12]. Методической основой для практических выводов послужило сравнение эффективности выявления ТК на серийных срезах с помощью различных методик [8]. Следует принимать во внимание, что даже при таком подходе полученные данные гистохимического и иммуноморфологического анализов при количественном подсчете ТК обладают достаточной относительностью. При этом современное выявление солокализации протеогликанов в цитоплазме ТК с триптаза-позитивным компонентом секретомы во время морфологического анализа представлялось методически невыполнимым. Однако для оценки биологии ТК в аспекте экспрессии

Введение

После открытия тучных клеток (ТК) Паулем Эрлихом в 1978 году они оказались под пристальным вниманием ученых различных областей биологии [9, 13]. Оценка количества ТК является важной характеристикой органоспецифичной популяции. Как правило, общая совокупность ТК в органе обладает достаточной стабильностью, имеющей определенные показатели, как в адаптивных, так и патологических состояниях. По данной причине определение численности ТК в органе – хорошо зарекомендованный методический прием морфологического анализа. Наиболее известные и часто используемые методы детекции ТК основаны на метакроматических

Таблица 1

Содержание триптаза-позитивных клеток в популяции тучных клеток кожи крыс (в %)

Характеристика группы	Триптаза-негативные ТК с метакромазией	Триптаза-позитивные ТК с метакромазией
Контрольная	60.1±3.2	30.9±2.4*
7-е сутки после нанесения раны	29.2±0.9	70.8±4.1*

Примечание: * – $p < 0.05$ по сравнению с контрольной группой.

Таблица 2

Содержание тучных клеток кожи крыс с различной экспрессией триптазы, в % (от общего числа триптаза-позитивных клеток)

Количество триптаза-позитивных гранул в ТК	Контрольная группа	7-е сутки после нанесения раны
Единичные	43.69±2.9	8.55±0.9*
1/3 объема клетки	25.28±1.7	17.42±1.1*
2/3 объема клетки	17.42±1.8	33.66±1.8*
Полное заполнение цитоплазмы	14.24±1.2	38.03±2.9*

Примечание: * – $p < 0.05$ по сравнению с контрольной группой.

специфических протеаз данная задача приобретает первостепенное значение, поскольку функциональная активность триптазы напрямую зависит от солокализации с гепарином, а ее содержание в популяции отражает степень напряженности вектора развития различных адаптивных либо патологических процессов в специфическом тканевом микроокружении [7]. В статье представлены результаты оригинальной методики одновременного выявления протеогликанов и триптазы в секрете ТК на микропрепаратах.

Материал и методы исследования

Исследована кожа крыс в области холки двух экспериментальных групп: интактной ($n=6$) и на 7-е сутки после нанесения раны ($n=6$). Материал фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина в течение 48 часов, после чего образцы кожи заливали в парафин и готовили гистологические срезы толщиной 2 мкм. Окрашивание микропрепаратов осуществляли в два этапа. На первом этапе проводили иммуногистохимическую детекцию триптазы согласно стандартному подходу [10]. Для этого срезы депарафинировали и инкубировали с мышиными моноклональными антителами (#ab2378, разведение 1:2000) в течение ночи. Затем наносили вторичные антитела, конъюгированные с HRP (Goat anti-Mouse IgG H&L, #AS-M1-HRP), которые выявляли реагентом ImmPACTTM DAB Peroxidase Substrat Kit (#SK-4105) согласно инструкции производителя. В результате при завершении первого этапа методики на микропрепаратах кожи визуализировались триптаза-позитивные ТК, отдельно расположенные гранулы, либо фрагменты цитоплазмы.

На втором этапе срезы докрашивали толудиновым синим или раствором Май-Грюнвальда по общепринятым протоколам [2]. Поскольку каждый из гистохимических красителей в той или иной степени контрастировал ядра клеток, гематоксилин не использовали. После второго этапа пробоподго-

товки срезы обезвоживали и заключали в постоянную монтажную среду.

На полученных микропрепаратах кожи крыс проводили планиметрический анализ содержания ТК в расчете на мм^2 . Структуры, не содержащие ТК (волосяные фолликулы, просветы венул и др.), удаляли из площади анализируемой ткани. Среди ТК с метакромазией подсчитывали численность триптаза-негативных и триптаза-позитивных клеток. Последние в зависимости от количества триптаза-содержащих гранул подразделяли на несколько групп: ТК с единичными гранулами; ТК с гранулами, занимающими 1/3, 2/3 либо весь объем цитоплазмы. В дальнейшем абсолютные значения переводили в относительные для выражения в % доли пула ТК с различным содержанием триптазы.

Срезы кожи изучали на микроскопе ZEISS Axio Imager.A2 с системой документирования изображений, включающей цветную цифровую камеру Camera AxioCam 506 color. Полученные фотографии обрабатывали с помощью программы ZEN 2.3 (Carl Zeiss, Germany). Поскольку полученный массив числовых данных представлял собой нормальное распределение, для выявления достоверности различий использовался t-критерий Стьюдента [5].

Результаты и их обсуждение

Исследование кожи крыс контрольной группы показало, что в большинстве ТК с метакромазией триптаза не экспрессировалась (табл. 1, рис. 1В). В сетчатом слое дермы кожи ТК обладали гораздо большими размерами по сравнению с сосочковым слоем, в том числе объемом цитоплазмы, содержанием и величиной секреторных гранул. Экспрессия триптазы в ТК сетчатого слоя дермы была более частой по сравнению с сосочковым слоем. Иногда ТК без триптазы и с ее экспрессией были тесно солокализированы друг с другом (рис. 4Б, 4В, 4Г). В некоторых локусах дермы кожи отмечались скопления триптаза-

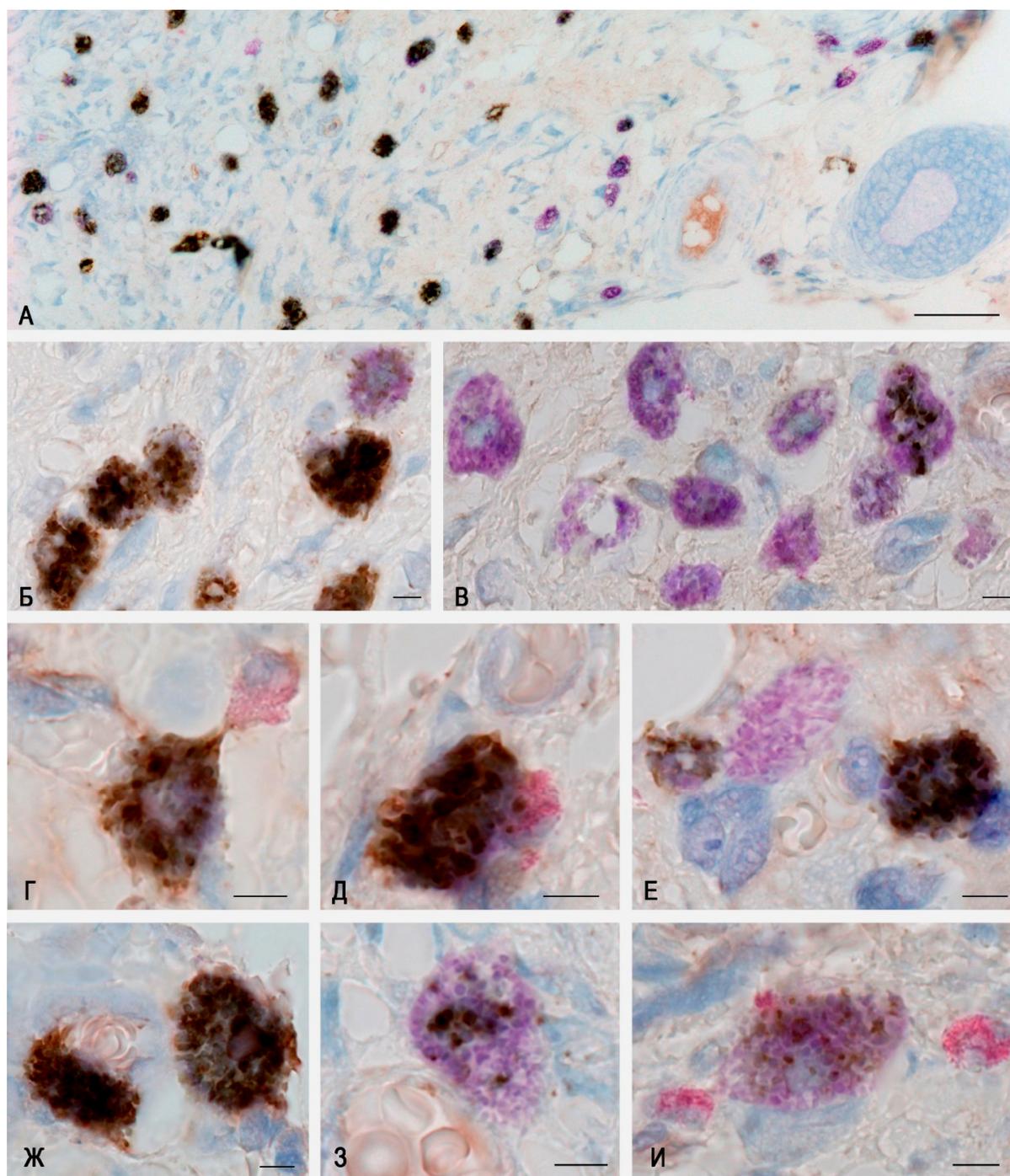


Рис. 1. Гистотопография тучных клеток кожи крыс. Фиксация – 10% нейтральный формалин. Иммуногистохимическое окрашивание на триптазу тучных клеток с докрасиванием раствором Май-Грюнвальда. Масштабный отрезок: А – 50 мкм, остальные – 5 мкм. Обозначения: В, З – группа контроля, остальные – 7-е сутки после нанесения раны; А, Б – преобладание триптаза-позитивных тучных клеток, часть из которых контактирует друг с другом (Б); В – превалирование тучных клеток без экспрессии триптазы; Г – контактирование с гранулярным лейкоцитом; Д – периваскулярная локализация триптаза-позитивной тучной клетки, контактирование с гранулоцитом; Е – тучные клетки с различным уровнем экспрессии триптазы находятся вблизи клеток фибробластического дифферона дермы кожи; Ж, З – тучные клетки с различным уровнем триптазы, прилегающие к базальной мембране эндотелиоцитов капилляра; И – тучная клетка солокализована с нейтрофильными гранулоцитами и фибробластом.

позитивных клеток, но гораздо чаще кооперации формировали ТК без протеазы (рис. 1В).

Исследование кожи крыс на 7-е сут после нанесения раны показало, что вместе с увеличением общего количества ТК в структуре популяции существенно возрастала численность триптаза-позитивных клеток

(табл. 1, рис. 1А, 1Б, 2Д, 2Е, 3Е, 4А, 4Д). Вместе с тем достоверно увеличивался интрагранулярный резерв триптазы (табл. 2, рис. 1Ж, 2Г, 2Д, 2Е). В частности, в коже практически не выявлялись ТК с единичными гранулами, которые были доминирующими в контроле (табл. 2). Превалирующими, наоборот, стано-

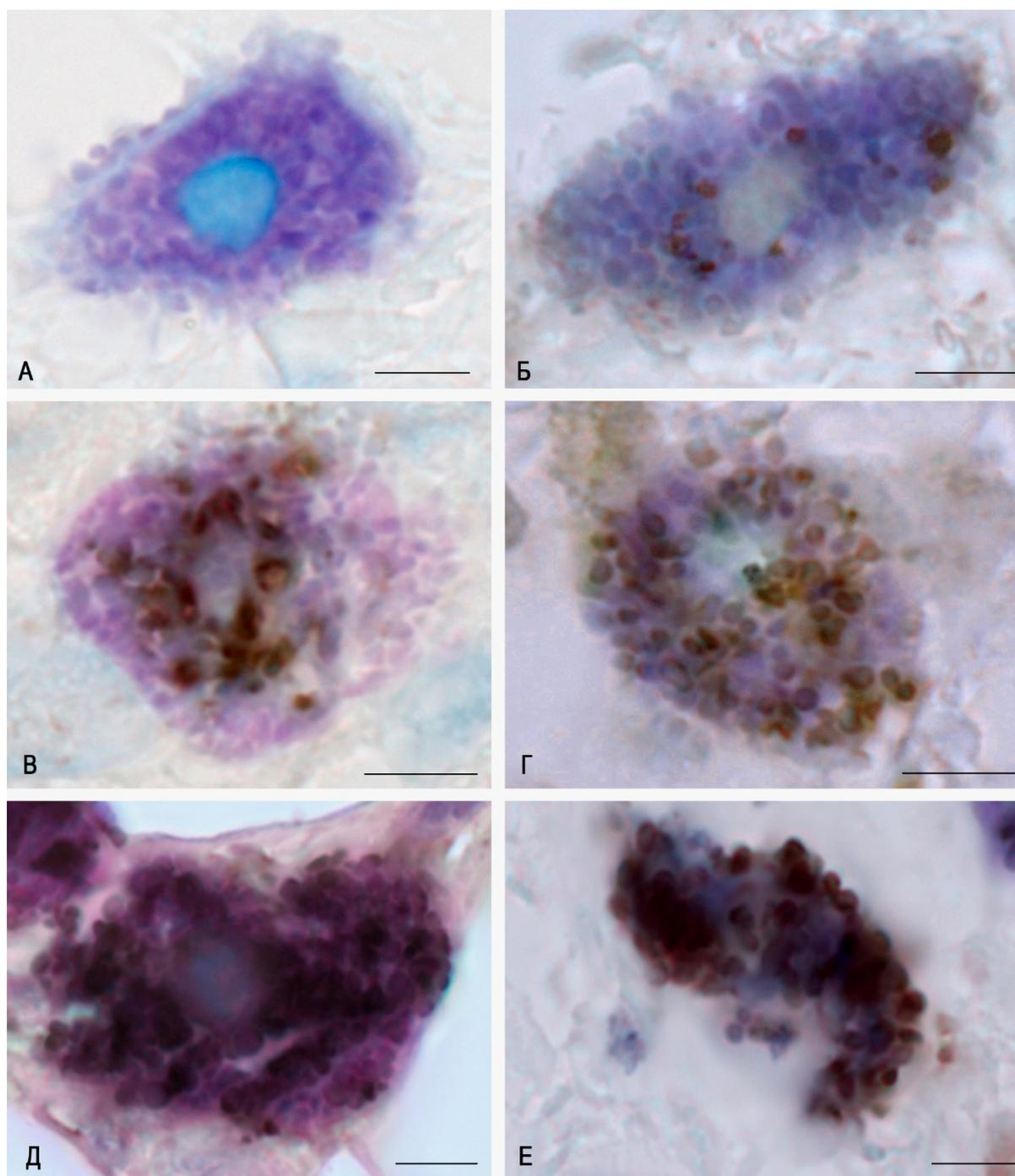


Рис. 2. Типы тучных клеток кожи крыс в зависимости от уровня экспрессии триптазы. Фиксация – 10% нейтральный формалин. Иммуногистохимическое окрашивание на триптазу тучных клеток с докрасиванием раствором Май-Грюнвальда (А, В, Д) или толуидиновым синим (Б, Г, Е). Масштабный отрезок – 5 мкм. Обозначения: А, Б – контроль, В–Е – 7-е сутки после нанесения раны. Тучная клетка без триптазы (А), с единичными триптаза-позитивными гранулами (Б), с триптаза-содержащими гранулами, занимающими 1/3 (В), 2/3 (Г) и всю цитоплазму клетки (Д, Е).

вились ТК, у которых цитоплазма представлялась полностью заполнена триптаза-позитивными гранулами (табл. 2, рис. 1А, 1Б, 2Д, 2Е, 3Е). Таким образом, альтерация ткани при моделировании раны приводила к существенной активизации экспрессии триптазы как в отдельных ТК, так и на уровне всей интраорганной популяции.

Выяснение цитопографических особенностей локализации триптазы в ТК выявило несколько особенностей. Во-первых,

количество триптаза-позитивных гранул в ТК могло существенно различаться – от единичных до полного заполнения цитоплазмы (табл. 2, рис. 2). Очевидно, что в контрольной группе большинство иммунопозитивных ТК к триптазе содержали единичные гранулы с протеазой (табл. 2, рис. 2А, 2Б). Триптаза-положительные гранулы могли локализоваться в различных областях цитоплазмы, располагаясь как перинуклеарно, так и занимая периферическое положение (рис. 3А, 3Б, 3В, 3Г,

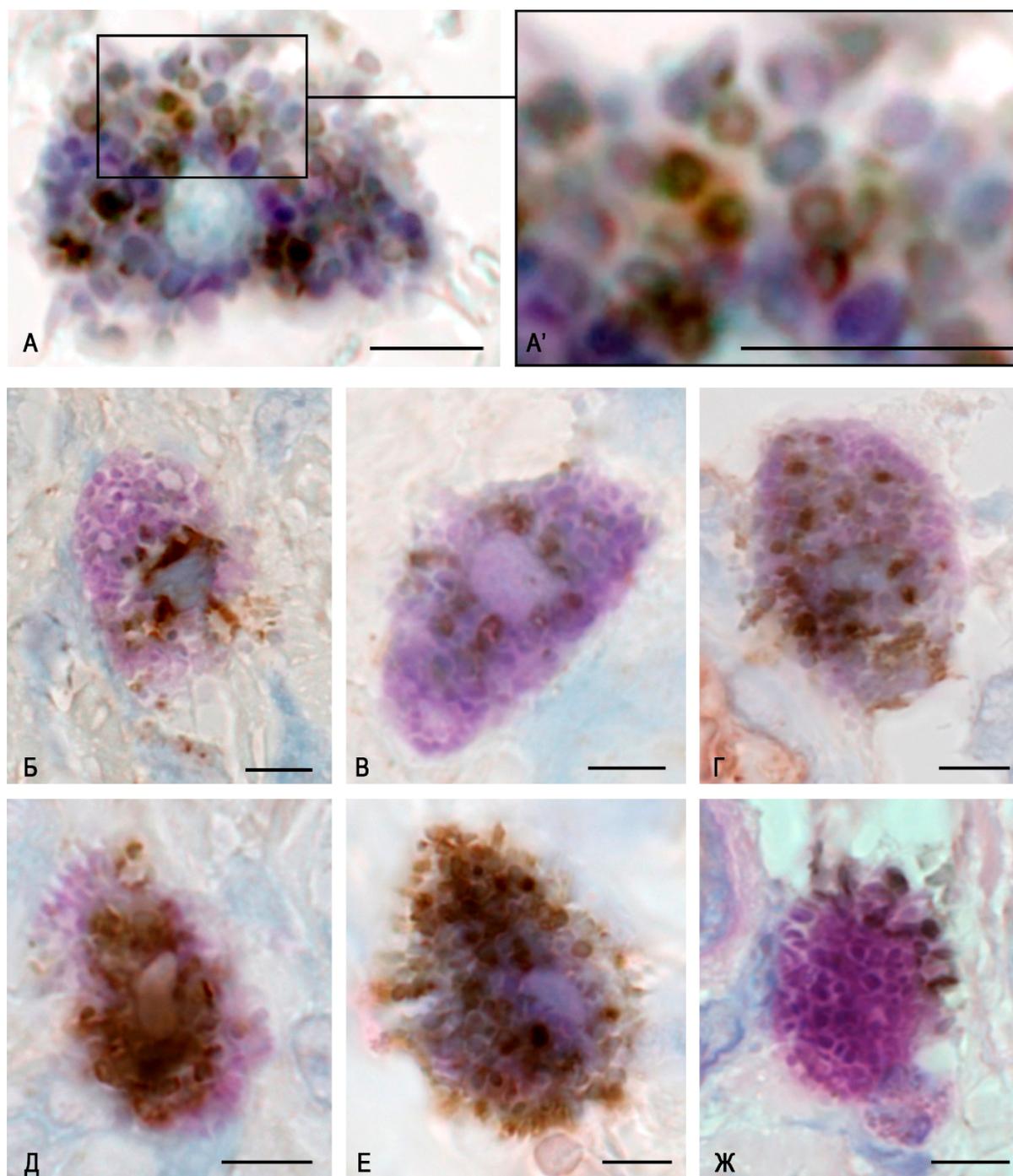


Рис. 3. Цитотопографические особенности секретома тучных клеток кожи спустя 7 суток после нанесения раны. Фиксация – 10% нейтральный формалин. Иммуногистохимическое окрашивание на триптазу тучных клеток с докрасиванием толуидиновым синим (А) или раствором Май-Грюнвальда (Б–Ж). Масштабный отрезок – 5 мкм. Обозначения: А – тучная клетка с триптаза-негативными и триптаза-позитивными гранулами. А' – то же при большем увеличении; триптаза окаймляет секреторные гранулы по периферии, окружая метахроматическую субстанцию секретома в центре гранулы, часть гранул не содержит триптазы и обладает выраженной метахромазией; Б – начальные этапы синтеза триптазы, которая занимает перинуклеарную область и не входит в состав секреторных гранул; В – единичные триптаза-позитивные гранулы находятся преимущественно в перинуклеарной зоне цитоплазмы тучной клетки; Г – диффузное распределение триптаза-позитивных гранул в цитоплазме тучной клетки; Д – триптаза локализована преимущественно в центре клетки, визуализируется секрция гранул без протеазы; Е – высокое содержание триптазы в тучной клетке, экзоцитоз гранул во внеклеточный матрикс; Ж – периферическое расположение в цитоплазме тучной клетки триптаза-позитивных гранул, часть из которых секретируется за пределы цитоплазмы.

3Д). Выявленные морфологические признаки могут быть рассмотрены в качестве этапов биогенеза триптазы и использованы для интерпретации хронологии биосинтеза, посттрансляционной модификации и секреции протеазы во внеклеточный матрикс.

При рассмотрении деталей интрагранулярной упаковки триптазы следует отметить, что свойствами метахромазии в большей степени обладала центральная область гранулы. Молекулы триптазы локализовались по периферии гранулы, окаймляя остальное содержимое гранулы (рис. 3А, 4А). В то же время в ряде случаев становится очевидным метахроматичность гранулы и по периферии, подтверждая данные литературы о тесной связи триптазы с гепарином для формирования функциональной активности протеазы. Можно считать определенной закономерностью снижение интенсивности феномена метахромазии ТК после детекции триптазы, очевидно, в связи с определенными конформационными перестройками секретома при проведении иммуногистохимического протокола, прежде всего, во время использования тетрагидрохлорида диаминобензидина в качестве субстрата для пероксидазы хрена. При этом степень ослабления метахромазии прямо коррелирует с количеством триптаза-позитивных гранул в цитоплазме ТК (рис. 1Е, 1Ж, 2Д, 2Е, 3Е, 4А, 4Д).

Определение количества ТК в органах традиционно представляет особый фокус в фундаментальных исследованиях, поскольку данный показатель является базисом для создания интерпретационного поля полученных данных во время планиметрического анализа. С этой целью использовались различные методы окрашивания с неодинаковым уровнем эффективности при детекции ТК [1, 3, 8, 11, 14, 19]. Однако сравнения результативности выявления ТК с помощью иммуноморфологических и гистохимических методов на одном и том же гистологическом срезе не проводилось. Данное обстоятельство делает очевидным достаточную условность полученных результатов идентификации ТК при раздельном окрашивании, поскольку триптаза-позитивные ТК могли не обладать метахромазией, также, как и ТК с метахромазией могли не содержать триптазы в секретома.

Использованный методический прием сочетания иммуноморфологического и гистохимического протоколов окрашивания позволяет открыть новые особенности в структуре популяции ТК и цитотопографии триптазы в отдельных клетках. Становятся очевидными органоспецифичные особенности популяции ТК кожи крыс, в том числе достаточно низкий уровень экспрессии триптазы в обычных условиях функционирования. В то же время, цитокины, хемокины, факторы роста и другие медиаторы паракринной регуляции специфического тканевого микроокружения способны

приводить к инициации транскрипционной активности генов триптазы и началу синтеза специфичных протеаз с дальнейшей посттрансляционной модификацией в комплексе Гольджи и гранулах ТК [7, 16, 17].

В цитоплазме ТК триптаза-позитивные гранулы могут занимать различное положение. В некоторых случаях большинство гранул располагалось перинуклеарно. Интересно, что в таких клетках дегрануляция не сопровождалась выведением триптазы в гранулах (рис. 3Д). Другие ТК активно осуществляют секрецию гранул во внеклеточный матрикс, часть из которых содержит триптазу (рис. 3Е, 3Ж). Таким образом, очевидна возможность регуляции ТК селективной секреции триптазы в строго определенный локус специфического тканевого микроокружения, тогда как в другие локусы поступают иные компоненты секретома в тесном структурно-функциональном комплексе с протеогликанами (рис. 3Е, 3Ж). Особый интерес представляет возможность обмена триптазой между солокализованными ТК как в составе секреторных гранул различного размера, так и с помощью экзосом (рис. 4).

Поскольку триптаза является преформированным медиатором ТК, можно предположить, что триптаза-негативные ТК представлены юными клетками с незавершенной дифференцировкой к условиям конкретного специфического тканевого микроокружения. Однако, данная точка зрения может быть скомпрометирована ввиду больших размеров цитоплазмы некоторых ТК без триптазы, что свидетельствует о достаточной зрелости и функциональной активности. В частности, такие ТК могут содержать другие специфические протеазы – химазу или карбоксипептидазу А3.

В результате проведенного исследования становится очевидным сохранение метахромазии ТК после демаскировки, что подчеркивает резистентность полианионных молекул гепарина и других гликозаминогликанов к действию высоких температур. Данный факт открывает новые возможности в изучении биологии ТК кожи благодаря визуализации их солокализации с другими иммунопозитивными структурами тканей, включая клетки и структуры внеклеточного матрикса соединительной ткани. Получаемые гистопографические данные расположения метахроматичных клеток в пределах реализации паракринных эффектов с другими иммунопозитивными мишенями (кластерами дифференцировки, белками, цитокинами и др.) представляют собой весьма информативные сведения и могут выступать в некоторой степени аналогом множественного иммуномаркирования при анализе клеточного состава тканей. Однако в данном случае положитель-

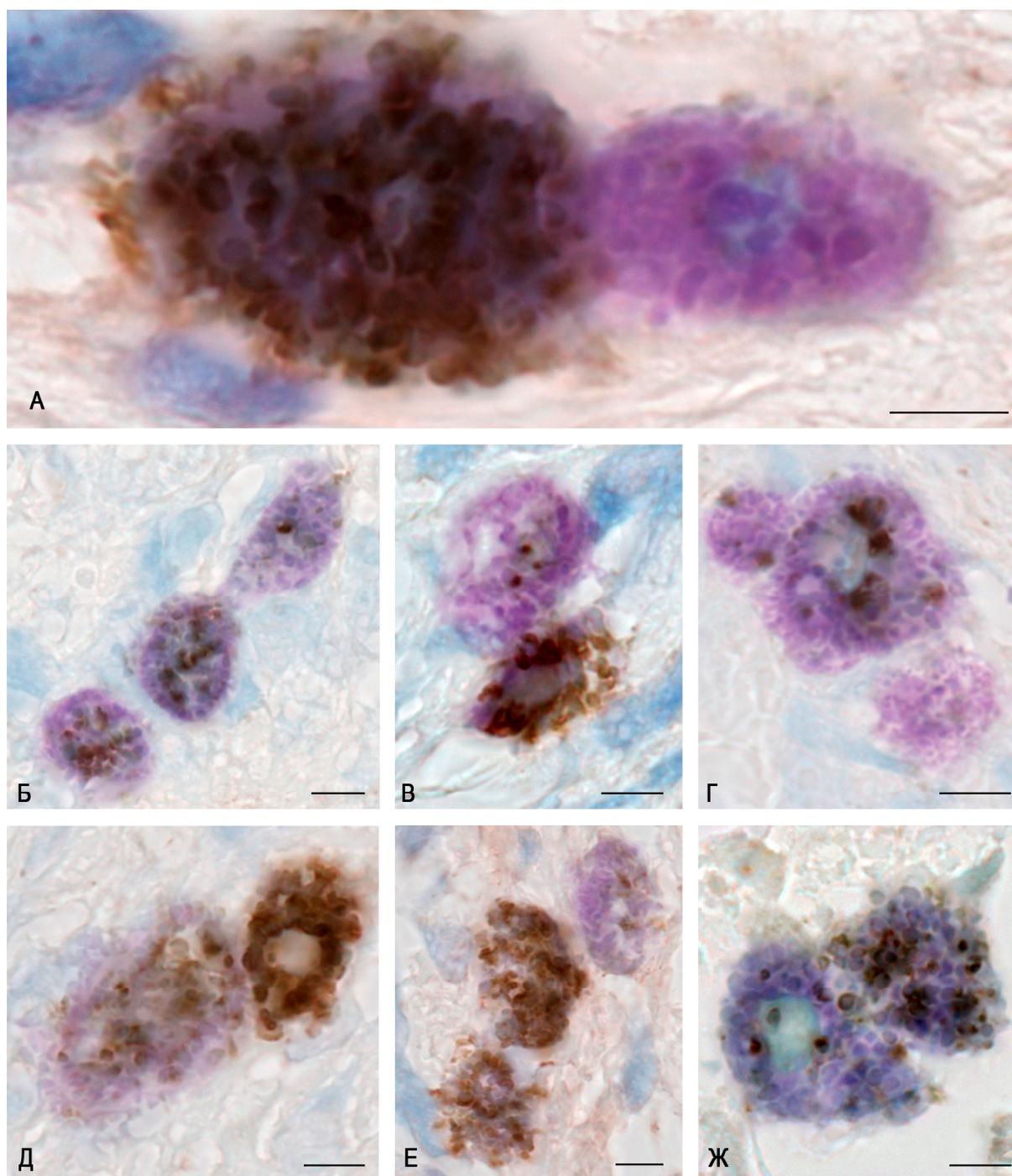


Рис. 4. Морфологические эквиваленты межклеточного сигналинга в популяции тучных клеток кожи. Фиксация – 10% нейтральный формалин. Масштабный отрезок – 5 мкм. Иммуногистохимическое окрашивание на триптазу тучных клеток с докрасшиванием раствором Май-Грюнвальда (А–Е) и толуидиновым синим (Ж). Группа контроля (Б–Г) и экспериментальная группа с нанесением раны (А, Д–Ж). Обозначения: А – контактирование тучных клеток с различным содержанием триптазы. Б–Ж – варианты солокализации триптаза-позитивных тучных клеток.

ным моментом является привычная для исследователя визуализация микропрепарата без использования флуорохромов и соответственно более удобная оценка изучаемых структурных компонентов.

Заключение

В результате использования нового способа окрашивания становится возможным оценивать триптазный профиль в популяции

тучных клеток кожи, что позволяет более объективно интерпретировать и характеризовать вовлеченность тучных клеток в течение адаптивных или патологических процессов. Возрастает объективность исследования биологической активности триптазы при морфологическом исследовании в отношении ремоделирования соединительной ткани, регуляции воспаления, ангио-, онко- и иммуногенеза. Становится возможной визуализация биогенеза и секреторных путей триптазы тучных

клеток, цитотопографии гранул и их направленной миграции от ядра к плазматической мембране. С точки зрения гистотопографии для дальнейшей оценки и интерпретации вопросов межклеточного сигналинга в специфическом тканевом микроокружении полезно учитывать частоту солокализации тучных клеток с гранулоцитами, лимфоцитами, макрофагами, а также представителями фибробластического дифферона. Данная возможность открывает совершенно иные пути иммунотопографического анализа в гистологии, и является методологической основой, как для изучения механизмов иммуногенеза, так и ремоделирования внеклеточного матрикса соединительной ткани *in vivo*.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы / References

1. Атыакшин Д.А., Бурцева А.С., Соколов Д.А. Оценка эффективности выявления тучных клеток в тощей кишке монгольских песчанок с помощью гистохимических методик. Журнал анатомии и гистопатологии. 2016;5(4):85–9 [Atyakshin DA, Burtseva AS, Sokolov DA. Evaluation of the effectiveness of mast cells detection in mongolian gerbils jejunum mucosa using histochemical methods. Journal of Anatomy and Histopathology. 2016;5(4):85–9] (in Russian).
2. Атыакшин Д.А., Бухвалов И.Б., Павлова Т.В., Тиманн М. Гистохимия. Учебно-методическое пособие. Воронеж: Научная книга; 2018 [Atyakshin DA, Bukhvalov IB, Pavlova TV, Timann M. Gistokhimiya. Uchebno-metodicheskoe posobie. Voronezh: Nauchnaya kniga; 2018] (in Russian).
3. Кондашевская М.В. Тучные клетки и гепарин – ключевые звенья в адаптивных и патологических процессах. Вестник российской академии медицинских наук. 2010; 6: 49–54 [Kondashevskaya MV. Mast cells and heparin: key links in adaptive and pathological processes. Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk. 2010;6:49–54] (in Russian).
4. Омеляненко Н.П., Слуцкий Л.И. Соединительная ткань. (гистофизиология и биохимия). Под ред. Миронова С.П. Москва: Известия; 2009 [Omelyanenko NP, Slutskii LI. Soedinitel'naya tkan'. (gistofiziologiya i biokhimiya). Pod red. Mironova SP. Moscow: Izvestiya; 2009] (in Russian).
5. Орлов А.И. Прикладная статистика. М.: Экзамен; 2006. [Orlov A. Prikladnaya statistika. Moscow: Ekzamen; 2006] (in Russian).
6. Федорова Е.А., Суфиева Д.А., Григорьев И.П., Коржевский Д.Э. Тучные клетки эпифиза человека. Успехи геронтологии. 2018; 31(4): 484–489 [Fedorova EA, Sufieva DA, Grigor'ev IP, Korzhevskii DE. Mast cells of the human pineal gland. Uspekhi gerontologii. 2018;31(4):484–9] (in Russian).
7. Atiakshin D, Buchwalow I, SamoiloVA V, Tiemann M. Tryptase as a polyfunctional component of mast cells. Histochemistry and Cell Biology. 2018 Mar 12;149(5):461–77.
8. Atiakshin D, SamoiloVA V, Buchwalow I, Boecker W, Tiemann M. Characterization of mast cell populations using different methods for their identification. Histochemistry and Cell Biology. 2017 Feb 27;147(6):683–94. doi: 10.1007/s00418-017-1547-7
9. Buchwalow I, Boecker W, Tiemann M. The contribution of Paul Ehrlich to histochemistry: a tribute on the occasion of the centenary of his death. Virchows Arch. 2015 Jan;466(1):111–6.
10. Buchwalow IB, Boecker W. Immunohistochemistry: Basics and Methods. 1st ed. London: New York: Springer; 2010.
11. Buckley M., Walls A.F. Identification of mast cells and mast cell subpopulations. Methods Mol Med. 2008;138:285–97.
12. Dubuc V, Laverty S, Richard H, Doré M, Theoret C. Development of a computer-based quantification method for immunohistochemically-stained tissues and its application to study mast cells in equine wound healing (proof of concept). BMC Vet Res. 2020 Jul 2;16(1):228. doi: 10.1186/s12917-020-02444-x
13. Elieh Ali Komi D, Wöhrl S, Bielory L. Mast Cell Biology at Molecular Level: a Comprehensive Review. Clin Rev Allergy Immunol. 2020 Jun;58(3):342–65.
14. Enerback L. Berberine sulphate binding to mast cell polyanions: a cytofluorometric method for the quantitation of heparin. Histochemistry. 1974;42:301–13.
15. Kim HS, Kawakami Y, Kasakura K, Kawakami T. Recent advances in mast cell activation and regulation. F1000Research. 2020 Mar 19;9:196. doi: 10.12688/f1000research.22037.1
16. Komi DEA, Khomtchouk K, Santa Maria PL. A Review of the Contribution of Mast Cells in Wound Healing: Involved Molecular and Cellular Mechanisms. Clin Rev Allergy Immunol. 2020 Jun;58(3):298–312. doi: 10.1007/s12016-019-08729-w
17. Lyons DO, Pullen NA. Beyond IgE: Alternative Mast Cell Activation Across Different Disease States. International Journal of Molecular Sciences. 2020 Feb 22;21(4):1498. doi: 10.3390/ijms21041498
18. Sridharan G, Shankar A. Toluidine blue: A review of its chemistry and clinical utility. Journal of Oral and Maxillofacial Pathology. 2012;16(2):251–5.
19. Wong E, Morgan EW, MacDonald DM. The chloroacetate esterase reaction for mast cells in dermatopathology: a comparison with metachromatic staining methods. Acta Derm Venereol. 1982;62:431–4.

Поступила в редакцию 3.07.2020
Принята в печать 1.09.2020

Received 3.07.2020
Accepted 1.09.2020

Для цитирования: Атыакшин Д.А., Герасимова О.А., Мешкова В.Ю., Самодурова Н.Ю., Самойленко Т.В., Шишкина В.В. Новый гистохимический подход для оценки экспрессии триптазы в популяции тучных клеток. Журнал анатомии и гистопатологии. 2020; 9(3): 94–101. doi: 10.18499/2225-7357-2020-9-3-94-101

For citation: Atyakshin D.A., Gerasimova O.A., Meshkova V.Yu., Samodurova N.Yu., Samoilenko T.V., Shishkina V.V. Novel histochemical approach for evaluation of tryptase expression in the mast cell population. Journal of Anatomy and Histopathology. 2020; 9(3): 94–101. doi: 10.18499/2225-7357-2020-9-3-94-101