

DOI: 10.18499/2225-7357-2019-8-3-79-88

УДК 547.962.9-018:577.462

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

© Коллектив авторов, 2019

Тучные клетки и фибриллогенез коллагена в условиях невесомости

В. В. Шишкина*, Д. А. Атякшин

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

Цель работы – изучение участия тучных клеток кожи мышей C57BL/6J в механизмах фибриллогенеза под влиянием невесомости.

Материал и методы. Проводили гистохимическое исследование кожи латеральной поверхности бедра мышей линии C57BL/6J, экспонированных в течение 21–24 сут на борту Международной космической станции, а также животных контрольных групп – виварийного, базального и наземного. Детекция тучных клеток с оценкой участия секретома в процессах фибриллогенеза коллагена проводилась после использования протоколов раздельного и комбинированного гистохимического окрашивания раствором Гимза и импрегнации серебра. Анализ микропрепаратов проводился с использованием аппаратно-программного комплекса на основе исследовательского микроскопа ZEISS Axio Imager.A2 (Carl Zeiss, Germany).

Результаты. Условия невесомости приводили к активизации либерализации компонентов секретома ТК во внеклеточный матрикс (количество дегранулированных форм достоверно возрастало до $61.5 \pm 3.3\%$ по сравнению с показателями контрольных групп), изменению гистотопографической локализации, уменьшению интрацитоплазматического содержания крупных гранул, снижению кооперации с клетками фибробластического дифферона и интенсивности фибриллогенеза, урежению солокализации с ретикулярными волокнами дермы кожи, а также к модификации внутривидового взаимодействия. Обсуждаются возможные молекулярно-клеточные причины изменения активности фибриллогенеза и полимеризации молекул тропоколлагена в надмолекулярные волокнистые структуры в соединительной ткани кожи на борту Международной космической станции.

Заключение. Пребывание в невесомости вызывало возрастание секреторной активности тучных клеток кожи, моделировало процессы межклеточного сигналинга с другими представителями специфического тканевого микроокружения и приводило к ослаблению фибриллогенеза коллагена.

Ключевые слова: кожа, ретикулин; тучные клетки; мыши инбредные C57BL; невесомость; коллаген; соединительная ткань.

Mast Cells and Collagen Fibrillogenesis in Zero Gravity Conditions

© V.V. Shishkina*, D.A. Atiakshin, 2019

Burdenko Voronezh State Medical University, Voronezh, Russia

The aim of research was to study participation of skin mast cells of C57BL/6J mice in the mechanisms of fibrillogenesis under zero gravity conditions.

Material and methods. A histochemical study of the skin from the lateral thigh of the C57BL/6J mice exposed aboard the International Space Station for 21–24 days, as well as animals of the control groups – vivarium, baseline and ground, – was performed. Mast cells were detected with an assessment of the secretome participation in collagen fibrillogenesis after protocols of separate and combined histochemical staining with Giemsa's solution and silver impregnation. Microsections were analyzed using a hardware-software complex based on a ZEISS Axio Imager. A2 research microscope (Carl Zeiss, Germany).

Results. Zero-gravity conditions led to a change in the activity of mast cells degranulation and histotopographic localization, a decrease in the content of large granules, a decrease in the cooperation with fibroblast/fibrocyte and the intensity of fibrillogenesis, a decrease in co-localization with the reticular fibers of the extracellular matrix of the skin tissue, as well as a modification of the intrapopulation interaction. The article discusses possible molecular-cellular causes of changes in the activity of fibrillogenesis and polymerization of tropo-collagen molecules into supramolecular fibrous structures in the skin connective tissue aboard the International Space Station.

Conclusion. Zero gravity conditions caused an increase in the secretory activity of mast cells in the skin, simulated the processes of intercellular signaling with other representatives of the specific tissue microenvironment, and resulted in the weakening of collagen fibrillogenesis.

Key words: skin, reticulin, mast cells, mice, inbred C57BL, weightlessness, collagen, connective tissue.

***Автор для переписки:**

Шишкина Виктория Викторовна
 ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, ул. Студенческая, 10, Воронеж, 394036, Россия
 E-mail: earth-mars38@yandex.ru

***Corresponding author:**

Viktoriya Shishkina
 N.N. Burdenko Voronezh State Medical University, ul. Studencheskaya, 10, Voronezh, 394036, Russia
 E-mail: earth-mars38@yandex.ru

Введение

Стремительное развитие космонавтики ставит перед медициной новые вопросы, связанные с совершенствованием мер профилактики по нивелированию неблагоприятных физиологических эффектов факторов космического полета. Данная необходимость обусловлена, прежде всего, возрастанием продолжительности орбитальных полетов, приводящая к существенному возрастанию биологических эффектов ряда условий, в том числе невесомости. Адаптивные реакции организма на изменение уровня гравитационного стимула регистрируются в различных органах и системах. Одной из, так называемых критических, наиболее гравичувствительных систем является опорно-двигательный аппарат, структурно-физиологические изменения которого находятся под пристальным вниманием космических биологов, физиологов и медиков. В то же время изучению состояния интраорганной соединительной ткани уделялось гораздо меньшее внимание, аккумулируясь преимущественно в области космической гастроэнтерологии. В этом аспекте важное биологическое значение приобретает специфическое тканевое микроокружение, в пределах которого начинают формироваться начальные изменения клеток и внеклеточного компонента соединительной ткани на действие микрогравитации. Важное значение в remodelировании как волокнистых элементов, так и аморфного вещества стромы кожи принадлежит клеткам соединительной ткани, в том числе тучным клеткам (ТК). Обладая обильным секретом с широким разнообразием биологически активных молекул и высокоселективным рецепторным аппаратом, ТК способны не только активно мониторировать состояние молекулярно-биологических параметров соединительной ткани специфического тканевого микроокружения, но и принимать непосредственное участие в изменении гистоархитектоники внутренних органов [1, 6, 7, 9, 12, 18]. Обладая как прямыми, так и опосредованными эффектами на интегральное соотношение структурных компонентов дермы кожи, ТК являются важными претендентами в формировании биологических эффектов невесомости на строму различных органов человека и животных [1]. В условиях с измененной гравитацией изучение

механизмов фибриллогенеза как фундаментального процесса структурно-метаболической активности тканевого микроокружения приобретает особое значение, позволяя открывать новые признаки эффективности обновления внеклеточного матрикса и гистологические аспекты его взаимодействия с клетками соединительной ткани. Более того, уточнение клеточных механизмов в молекулярных путях обновления элементов стромы внутренних органов открывает новые алгоритмы remodelирования соединительной ткани в физиологических и патологических условиях. Практически повсеместное распространение ТК в организме открывает широкие возможности в понимании особенностей фибриллогенеза в различных органах под влиянием невесомости. В данном аспекте кожа является весьма удобной моделью, где количество ТК в норме достигает 10% от всей численности иммунокомпетентных клеток. Однако, до сих пор фибриллотропные характеристики популяции тучных клеток в исследованиях по космической биомедицине не проводились. Целью работы выполненной работы стало изучение участия тучных клеток кожи мышей C57BL/6J в механизмах фибриллогенеза в условиях микрогравитации.

Материал и методы исследования

Эксперимент «Rodent Research-4» (RR4) выполнен в 2017 году на мышах линии C57BL/6J, полученных из лаборатории Джексона (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME), в возрасте 9-12 недель на начало эксперимента. Изучена кожа латеральной поверхности бедра у мышей трех экспериментальных групп контролей: виварийного (V, n=10), базального (B, n=10), наземного (G, n=10), а также группы орбитального полета (F, n=10). Грызуны в группе V получали питьевую воду и питание ad libitum. Мыши группы B подвергались эвтаназии сразу после старта космического корабля SpaceX10. В группе G мыши находились в наземной экспериментальной камере по имитации условий содержания животных на МКС (Космический центр им. Джона Кеннеди, США), время пребывания повторяло полетный эксперимент. Животные группы F находились в космическом полете в течение 21–24 суток. Перед полетом животные 4 дня находились в транспортном контейнере с 18 февраля 2017 года в капсуле Dragon SV на стартовой площадке. Космический корабль SpaceX-10 был запущен 23 февраля, и 25 февраля лабораторные мыши были доставлены на МКС. Важной и уникальной методической особенностью биоматериала полетной группы заключалась в проведении эвтаназии непосредственно в условиях микрогравитации, на борту МКС. Образцы замораживали и далее содержали в пакетах со льдом. Временной ин-

Таблица 1

Содержание и гистотопографические особенности распределения тучных клеток в дерме кожи мышей (методика: окрашивание раствором Гимза)

Группа эксперимента	Количество тучных клеток (на 1 мм ²)	Частота прилегания ТК друг к другу (в % от общего количества)
Виварийный контроль	34.4±3.1	4.59±0.29 [∞]
Базальный контроль	39.1±4.6	5.24±0.41 ^{∞*}
Наземный контроль	32.6±3.2	3.75±0.27 ⁺
Космический полет	36.6±3.2	3.51±0.18 ⁺

Примечание: достоверные различия ($p < 0.05$) по сравнению с группой наземного контроля (*), базального контроля (+), виварийного контроля (∞) и космического полета (∞).

Таблица 2

Оценка секреторной активности и локализации тучных клеток дермы кожи мышей, в % (окрашивание красителем Гимза)

Группа эксперимента	ТК без признаков секреции	ТК с признаками секреции	Безъядерные фрагменты ТК
Виварийный контроль	26.2±2.7 [∞]	45.7±3.7 ^{∞+}	28.1±1.9
Базальный контроль	21.8±2.4 [∞]	54.8±2.1 ⁺	23.4±2.5
Наземный контроль	25.3±2.1 [∞]	47.1±4.1 [∞]	27.6±2.1
Космический полет	11.5±0.8 ⁺⁺	61.5±3.3 ⁺⁺	27.0±1.8

Обозначения: см. табл. 1.; ТК – тучные клетки.

тервал между эвтаназией и криофиксацией биоматериала составлял 2 мин. Дальнейшее хранение биоматериала (до приземления) происходило в морозильной камере. Протокол работы с животными групп В, V и G соответствовал графику работы с группой F. Полученные пробы были доставлены в Россию на сухом льду без разморозки в соответствии с протоколом НАСА-Роскосмос “Utilization Sharing Plan on-board ISS” (подписан 18 июля 2013 года). Все проводимые процедуры на животных были одобрены Институциональным комитетом по уходу за животными и их использованию г. Эймса (США). Протокол последующей пробоподготовки кожи включал в себя фиксацию в 10% нейтральном формалине, обезживание, заливку в парафин, приготовление срезов толщиной 5 мкм, окрашивание гематоксилином и эозином, а также методики идентификации ТК [4]. Гистохимическая детекция ТК проводилась с помощью окрашивания раствором Гимза [4]. Для одновременного изучения коллагеновых волокон дермы кожи, в т.ч. ретикулярных, окрашивание раствором Гимза комбинировалось с импрегнацией серебром [1]. Анализ микропрепаратов кожи мышей проводился на микроскопе ZEISS Axio Imager.A2 (Carl Zeiss, Germany). После фотодокументирования не менее 25 полей зрения в каждом микропрепарате при использовании об. 20 измерялась площадь поля зрения в мкм². У каждого экспериментального животного подсчитывали общее количество обнаруженных ТК, гранулированных и дегранулированных форм, а также свободно расположенные фрагменты ТК. Кроме того, учитывалась частота прилегания ТК друг к другу, а также локализация ТК с фиброцитами и фибробластами. При получении числового массива данных для повышения объективности проводимого исследова-

ния в аспекте определения объема популяции ТК в дерме кожи из полученных для анализа микрофотографий вручную удаляли площадь, содержащую волосяные фолликулы, сальные и потовые железы. В абсолютных значениях получали количественные характеристики популяции ТК на 1 мм², которые в дальнейшем использовались для вычисления относительных величин (в %) секреторной активности и частоты прилегания клеток друг к другу. Полученные числовые данные экспериментальных групп тестировались на нормальность распределения, достоверность различий оценивалась по t-критерию Стьюдента [3].

Результаты и их обсуждение

По большинству параметров морфофункционального состояния ТК группы контроля были схожи друг с другом. Это касалось как их количественного представительства в коже, так и секреторной активности (табл. 1, 2). ТК дермы были крупных размеров, содержащие хорошо различимый метакрома- тичный секреторный материал, упакованный в гранулы различных размеров, достигая 1 мкм (рис. 2). Иногда единичные гранулы в ТК превышали этот размер, представляя собой отдельные крупные округлые образования (рис. 2 Ж, Н, П, Р). ТК, находящиеся в области сетчатого слоя дермы, поблизости базальной мембраны эпидермиса, обладали более мелкими размерами, а также размерами секреторных гранул. Общая совокупность гранул часто маскировала ядро, хотя в некоторых случаях визуализация ядра проходила без видимых затруднений. Численность дегранулированных ТК была примерно одинаковой и составляла около четверти от объема всей популяции (табл. 2). ТК с морфологиче-

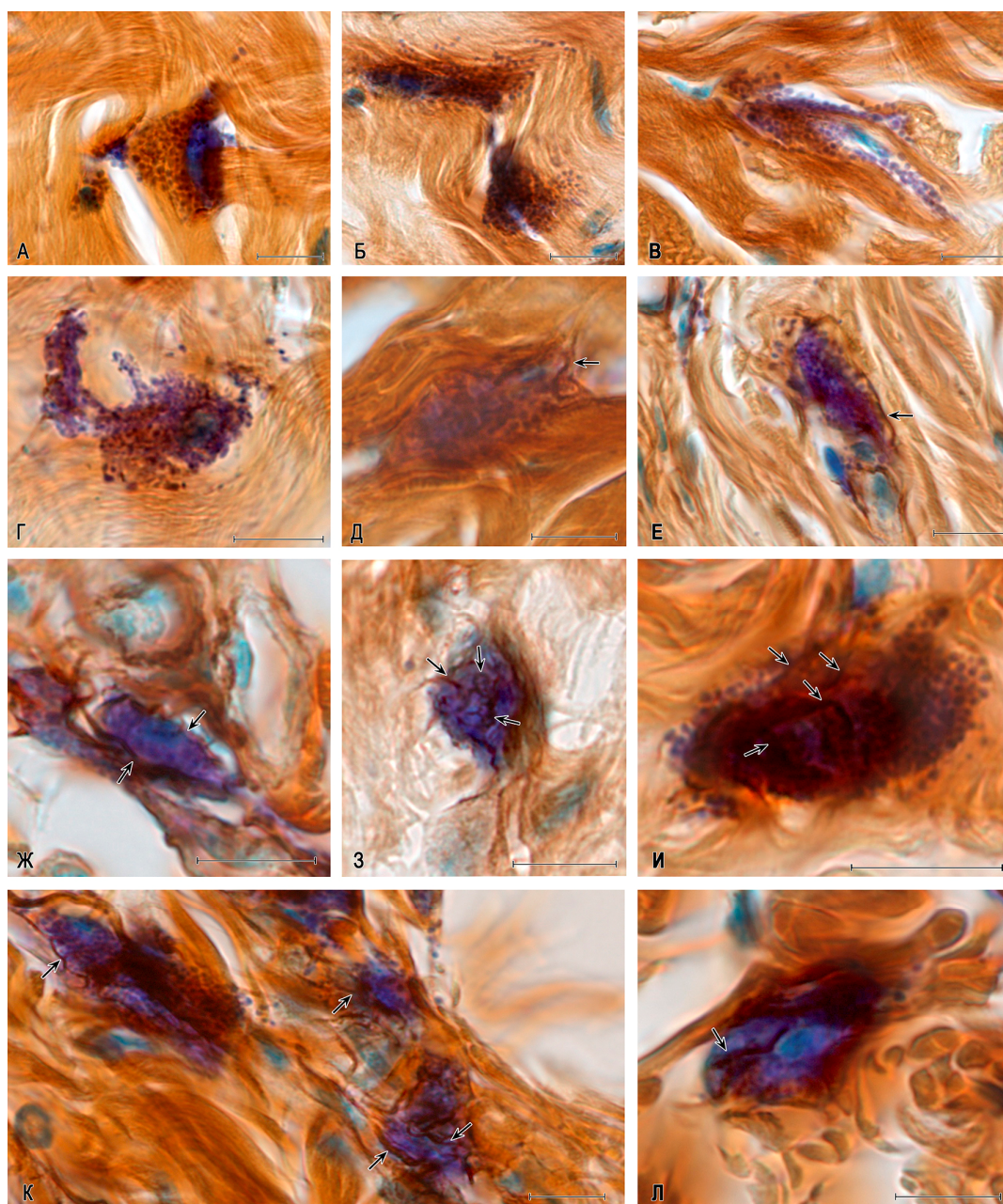


Рис. 1. Кожа бедра мышей C57BL/6J. Обозначения: А–Е – группа космического полета. Гистотопография тучных клеток в дерме не характеризовалась солокализацией с ретикулярными волокнами (А–Г), либо сопровождалась незначительной активностью фибриллогенеза (Д, Е, указано стрелкой). Ж–Л – контрольные группы. Отмечаются различные варианты солокализации ретикулярных волокон с тучными клетками кожи животного наземного (Ж, И), базального (З, Л) и виварийного (К) контролей (указано стрелкой). Методика: комбинация импрегнации серебром с окрашиванием толуидиновым синим. Шкала – 10 мкм.

скими признаками секреции гранул составляли большую часть в общей совокупности (рис. 2 А, 2 М). Достаточно характерной особенностью являлось обнаружение секреторных гранул на некотором расстоянии от материнской цитоплазмы, иногда образующих специфические фигуры (рис. 2 О). Состояние морфофункционального кластера «тучная клетка– фибробласт» находилось примерно в одинаковом статусе у животных всех контрольных групп. ТК часто выявлялись в непосредственной близости с фибробластами и фиброцитами (рис. 2 Г, Е). Ретикулярные волокна выявлялись в дерме достаточно редко,

однако в области прилегания ТК к фибробластам/фиброцитам – с большей частотой по сравнению с другими локусами кожи (рис. 1–И). В то же время, следует отметить существование в коже определенного пула коопераций из нескольких клеток, в состав которых входят ТК, принимающие активное участие в фибриллогенезе и этапах образовании ретикулярных волокон (рис. 1–К). Основной локализацией ТК было межпучковое пространство, в котором ТК контактировали с коллагеновыми волокнами (рис. 1 Ж–З, рис. 1–Л, рис. 2 Б–В). Регуляторная секреция проявлялась высвобождением некоторых гранул с их дальней-

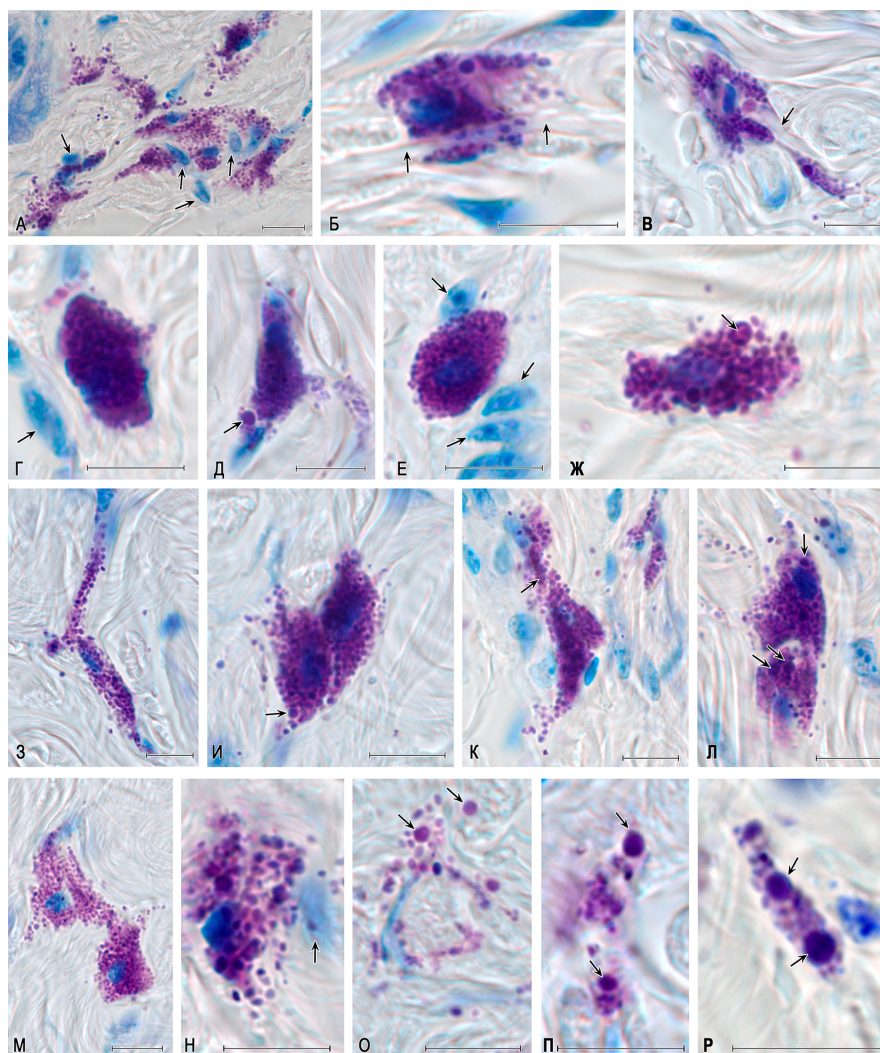


Рис. 2. Кожа бедра мышей C57BL/6J контрольных групп. Обозначения: группы виварийного (Б, Г, З, И, К, Л, О, П), наземного (А, В, Д, Н, Р) и базального (Е, М) контролей. А – кластер тучных клеток с представителями фибробластического дифферона (указаны стрелкой) в дерме кожи. Активное выведение секрета тучных клеток во внеклеточный матрикс. Б, В – тесная солокализация тучных клеток с коллагеновыми волокнами (указаны стрелкой) дермы кожи. В тучных клетках детектируются гранулы различных размеров. Г, Е, Н – варианты прилегания тучных клеток к фибробластам / фиброцитами (отмечены стрелкой), экзоцитоз секреторных гранул (Н). Д – секреция крупных гранул (указаны стрелкой) во внеклеточное пространство. Ж – потеря метахроматичности секрета в центральной области крупной гранулы тучной клетки во время секреции (указана стрелкой). З–М – морфологические варианты солокализации тучных клеток в дерме кожи, низкая интенсивность экзоцитоза. В цитоплазме тучных клеток детектируется гетерогенность размеров секреторных гранул и присутствие крупных секреторных образований (указаны стрелками). О-Р – расположение секреторных гранул во внеклеточном матриксе соединительной ткани дермы кожи, включая гранулы крупных размеров (указаны стрелкой). Методика: окрашивание красителем Гимза. Шкала – 10 мкм.

шим распределением во внеклеточном матриксе (рис. 2 Д, К, Л). Прилегание ТК друг к другу приобретало различные морфологические эквиваленты (рис. 2. З–Л).

Условия орбитального полета не приводили к достоверному изменению численности популяции ТК кожи (табл. 1). На первый план выходили показатели активности дегрануляции ТК, которые свидетельствовали об интенсификации выведения секреторных гранул в межклеточный матрикс (табл. 2, рис. 3). При этом гранулы свободно располагались в экстрацеллюлярном пространстве, локализуясь в межволоконной области либо соприкасаясь с пучками коллагеновых волокон (рис. 1 А–Г).

С точки зрения упаковки секреторного материала необходимо отметить присутствие в цитоплазме ТК секреторных гранул на борту МКС более мелкого размера по сравнению с картинками в контрольных группах. Существенно снижалась гетерогенность величин гранул, которые приобретали более схожие морфометрические характеристики. Особенно заметно было снижение количества крупных метахроматичных гранул размерами более 1 мкм. С одной стороны, это может свидетельствовать об активном расходе продуктов биогенеза и снижении запасов преформированных медиаторов для адаптации к измененной гравитации. Однако с другой стороны,

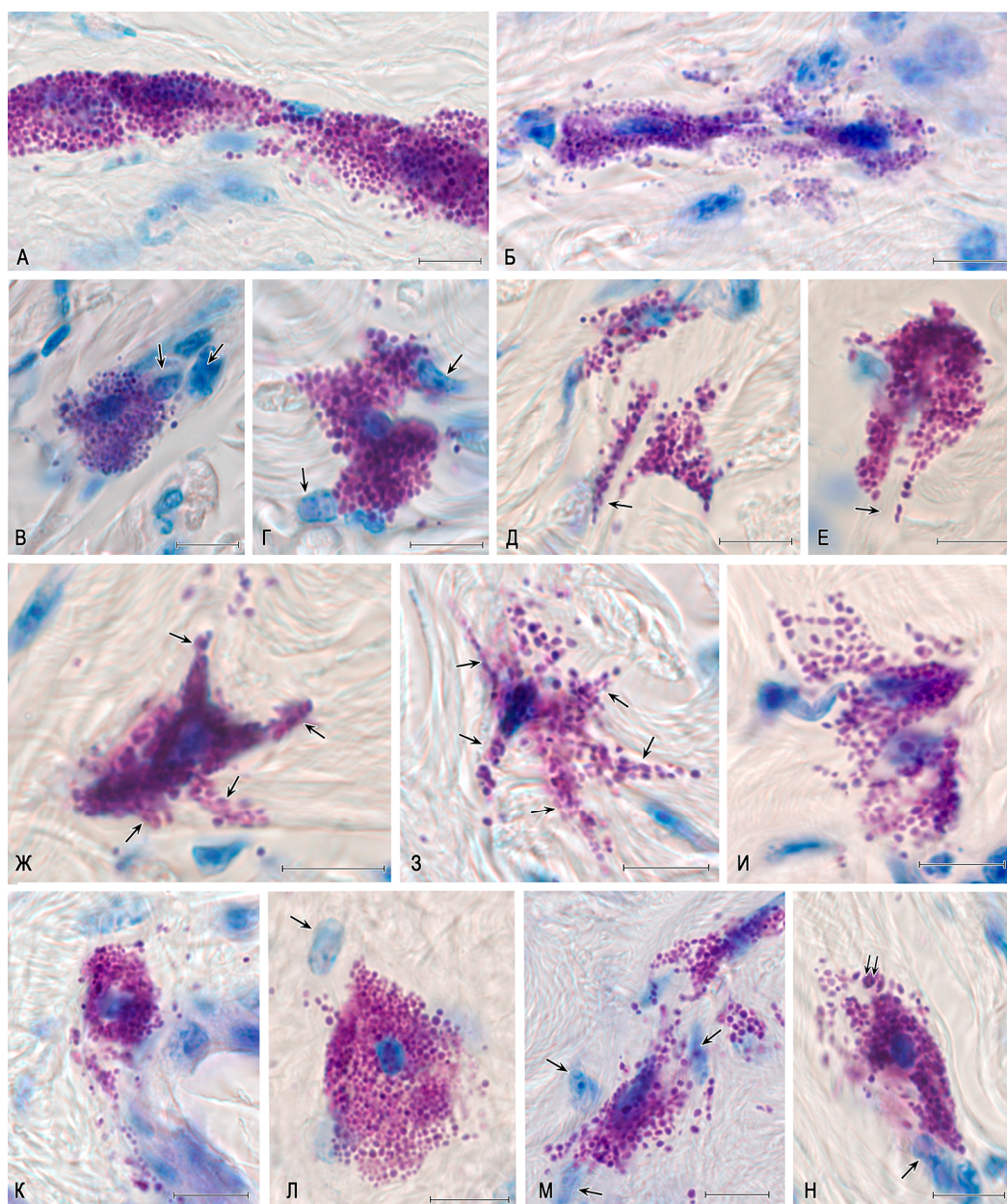


Рис. 3. Кожа бедра мышей C57BL/6J группы космического полета. Обозначения: А, Б – усиление секреторной активности контактирующих тучных клеток. В, Г – низкая секреторная активность тучных клеток, соприкасающихся с фибробластами/фиброцитами (указаны стрелками). Д, Е – прилегание и обхват цитоплазмой тучных клеток коллагеновых волокон дермы (указаны стрелкой). Ж, З – формирование тучных клеток с выростами цитоплазмы (указаны стрелкой); начало секреции (Ж) и ее дальнейшее развитие (З). И – дегрануляция тучных клеток механизмом экзоцитоза. К – активная секреция гранул тучных клеток в сосочковый слой дермы. Л, М, Н – различные варианты прилегания секретирующих тучных клеток к фиброциту/фибробласту (отмечено стрелкой). Частичная потеря метакромазии в центре крупной секреторной гранулы, локализованной во внеклеточном матриксе (отмечено двойной стрелкой). Методика: окрашивание красителем Гимза. Шкала – 10 мкм.

этот факт также может свидетельствовать в среде с практически полным отсутствием гравитационного стимула. Следует отметить, что основные события адаптации кожи к невесомости, очевидно, переходили на уровень межклеточного сигналинга, обеспечивая адекватные реакции специфического тканевого микроокружения в условиях измененной гравитационной среды.

Рецепторный аппарат ТК, обладающий широкими возможностями для тонкой детекции многих параметров как клеточного, так и

экстрацеллюлярного компонентов специфического тканевого микроокружения [20], позволяет предположить их активное участие в реализации биологических эффектов невесомости на тканевом уровне. Полученные результаты свидетельствуют об изменении частоты соприкосновения ТК с клетками фибробластического дифферона в условиях микрогравитации. В частности, в коже группы животных космического полета после окрашивания раствором Гимза и импрегнацией серебром ТК реже прилегали к фибробластам и фибро-

цитам по сравнению с группами базального, виварийного и наземного контролей (рис. 1 А–Е). В ситуации прилегания ТК к фиброциту/фибробласту в полетной группе, несмотря на имеющиеся индивидуальные различия, можно отметить более редкое выявление ретикулярных волокон по сравнению с результатами исследования биоматериала контрольных групп (рис. 1 Д–Е). Вместе с этим, необходимо отметить более низкую морфологически идентифицируемую секреторную активность ТК при солокализации с представителями фибробластического дифферона, о чем свидетельствовало уменьшение числа дегранулированных форм. В целом интенсивность выведения компонентов секрета ТК в специфическом тканевом микроокружении кожи возрастала (табл. 1, рис. 1 А–Г). Создавалось впечатление более «рыхлого» внешнего вида ТК, которые занимали большую площадь в дерме кожи, с большим ареалом распространения гранул при их секреции (рис. 1 А, рис. 1 В–Г).

Важным морфологическим свидетельством ослабления активности участия ТК в фибриллогенезе под влиянием невесомости являлось уменьшение количества преколлагеновых волокон, прилежащих к ТК или отходящих от них в различных направлениях внеклеточного матрикса (рис. 1 А–Е). Возможно, следствием этого являлось и интегральное снижение числа импрегнированных волокон в дерме кожи у мышей полетной группы по сравнению с животными контрольных групп, свидетельствуя о торможении фибриллогенеза в условиях невесомости. Обращал на себя внимание факт более частой солокализации ТК с коллагеновыми волокнами, что может свидетельствовать об изменении их миграционной активности в пределах специфического тканевого микроокружения кожи.

Учитывая функциональные особенности метаболизма секреторных гранул можно предположить их достаточно долгое расположение в местах секреции, что позволяет обеспечивать дополнительный контроль интенсивности метаболических реакций специфического тканевого микроокружения и состояния внеклеточного матрикса. В частности, накопление химазы в местах секреции имеет важное значение для регуляции уровня артериального давления, поскольку данная протеаза способна конвертировать превращение ангиотензина I в ангиотензин II. Более того, специфические протеазы ТК обладают выраженными свойствами к прямому и опосредованному ремоделированию волокнистых структур соединительной ткани [6, 7], что в условиях гипогравитации наделяет ТК особыми свойствами.

Обсуждая полученные результаты, следует отметить существование определенной грависенситивности соединительной ткани

внутренних органов, что было показано в ранее проведенных исследованиях органов пищеварительной системы. В частности, морфологические признаки адаптивного ремоделирования волокнистого компонента интерстиция под влиянием микрогравитации были обнаружены у различных грызунов после космического полета различной продолжительности. При этом в большинстве изученных оболочек представительство волокнистого компонента соединительной ткани снижалось. Аналогичные результаты были получены и в уникальном эксперименте, проведенном на птенцах японского перепела в условиях орбитального полета станции «Мир» [2].

Не вдаваясь подробно в детали молекулярных механизмов фибриллогенеза, необходимо отметить тесную вовлеченность ТК в их реализацию. С одной стороны, ТК оказывают влияние на продукцию коллагеновых белков клетками фибробластического дифферона, таким образом создавая молекулярную основу для формирования волокнистого компонента внеклеточного матрикса [1]. С другой стороны, ТК способны оказывать непосредственное влияние на фибриллогенез, создавая с помощью различных компонентов секрета необходимые условия для индукции сборки молекул проколлагена в надмолекулярные волокнистые структуры. В данном аспекте только лишь наличие гепарина в гранулах ТК кожи представляет собой уникальные возможности в регуляции этого процесса [11, 16].

Фибриллогенез коллагена представляет собой поэтапный, интегрин-зависимый процесс, локализованный вблизи плазматической мембраны, строго контролируемый клетками и необходимый для процессов миграции, пролиферации и функционирования тканей [15]. ТК тесным образом интегрированы в морфогенез тканей благодаря участию в образовании некоторых компонентов межклеточного вещества. Секреция молекул коллагена и модифицирующих ферментов, например, клетками фибробластического дифферона, происходит с определенными пространственными, временными и косвенными паттернами в зависимости от условий специфического тканевого микроокружения. Поэтому характер собранной фибриллярной матрицы зависит не только от синтезированных типов коллагена, но и от других ассоциативных молекул, связанных с фибриллами, включая протеогликаны, адгезивные гликопротеины и др. Не исключено, что данный процесс также является гравитационно-зависимым. Внеклеточная сборка фибрилл начинается в глубоких углублениях или каналах на поверхности фибробластов [8, 9]. Полимеризация молекул волокнистых коллагенов с образованием димеров, микрофибрилл, протофибрилл и фибрилл в физиологических условиях индуцируется автономно в строго

специфичных условиях соотношения молекулярных компонентов межклеточного матрикса. Перикаллярное формирование мезофаз характеризуется параллельным расположением молекул коллагена, сохраняющих взаимное притяжение, несмотря на удаленность друг от друга [5, 13]. Это так называемое состояние «жидкого кристалла», в котором отталкивание препятствует критическому приближению молекул коллагена друг к другу, а имеющееся притяжение сохраняет условия концентрации определенного количества молекул в конкретном объеме. При изменении концентрации коллагена во внеклеточном матриксе расположение макромолекул изменяется [13]. Присутствие необходимых компонентов, в том числе АТФ, полианионов, катионов, различных типов коллагена и др., может изменить баланс этих лабильных взаимодействий и, таким образом, способствовать специфичной для данного тканевого микроокружения форме агрегации. Поэтому перед полимеризацией в перикаллярной области появляется критическое количество супрамолекулярных агрегатов [17, 19].

Для формирования надмолекулярных агрегатов необходимо дальнейшее сближение молекул тропоколлагена, которое происходит по нескольким причинам. Во-первых, может существенно увеличиться концентрация тропоколлагена в межклеточной среде при возрастании биосинтетической активности фибробласта или других клеток. С другой стороны, в среде расположения тактоидов может повыситься концентрация гликозаминогликанов, которые способны поглощать воду и способствовать сближению молекул тропоколлагена до начала полимеризации. Кроме того, должно быть достигнуто надлежащее соотношение таких параметров, как уровень pH, осмотическое давление, концентрация ионов-комплексобразователей и др. компонентов межклеточного вещества [5, 13, 14]. В результате, возникающие силы сцепления между молекулами тропоколлагена приводят к формированию надмолекулярных образований – микрофибрилл, которые представляют собой нити из 4–5 молекул тропоколлагена. Учитывая, что ТК являются практически единственным источником гепарина в тканях, а также других гликозаминогликанов, становится очевидным их тесная вовлеченность в механизмы образования волокон из коллагеновых белков.

Локализация ТК около волокон может свидетельствовать об участии секретируемых ими протеогликанов в удлинении и утолщении фибрилл. Дегрануляция ТК может сопровождаться достижением необходимой концентрации сигнальных и структурных молекул в пределах строго ограниченного микролокуса. Наконец, гранулы ТК могут выступать в роли нуклеаторов – молекулярными локу-

сами инициации старта полимеризации молекул коллагена и началом фибриллогенеза.

Очевидно, что условия микрогравитации могут приводить к изменению условий фибриллогенеза. Помимо изменения гравитационного стимула, можно говорить о развитии гемодинамических изменений, приводящих к дополнительным модификациям специфического тканевого микроокружения. Снижение эффективности экстрацеллюлярной сборки волокнистых коллагенов в межклеточном матриксе может быть обусловлено изменением уровня pH, содержанием белков аморфной фазы внеклеточного матрикса, воды и др. Таким образом, формирование коллагенового волокна будет происходить в иных условиях содержания воды, концентрации тропоколлагена и других протеинов, осмотического давления, ионной силы и других факторов.

С точки зрения полученных результатов важно принимать во внимание риск повреждения кожи во время регенерационных процессов в условиях профессиональной деятельности космонавтов на борту МКС. Очевидно, что в этих условиях, когда процессы фибриллогенеза особенно активны, и могут наблюдаться важные изменения, связанные с определенными изменениями в образовании волокнистого компонента внеклеточного матрикса.

Кроме того, необходимо принимать во внимание роль ТК как иммунокомпетентных клеток, принимающих участие в реализации как врожденного, так и приобретенного иммунитета. С одной стороны, отсутствие значимых изменений объемов популяции ТК позволяет предположить относительную благополучие адаптивных перестроек в коже под влиянием факторов космического полета. Однако, выявленные изменения показывают перемещение главных гравитационно-индуцируемых перестроек на внутриклеточный уровень и механизмы межклеточного сигналинга, направленных на адекватные преобразования функционирования клеточных ансамблей специфического тканевого микроокружения в условиях с измененной гравитационной средой.

Заключение

Условия микрогравитации приводили к изменению гистотопографической локализации тучных клеток, возрастанию дегрануляции, снижению кооперации с клетками фибробластического дифферона и интенсивности фибриллогенеза, урежению сококализации с ретикулярными волокнами внеклеточного матрикса кожи, а также к модификации внутрипопуляционного взаимодействия. На основании этого можно сделать вывод о происходящем в космическом полете моделировании

межклеточного сигналинга тучных клеток с другими представителями специфического тканевого микроокружения, разобщении тучных клеток с локусами накопления коллагеновых белков и молекул тропоколлагена, ограничивая возможности тучных клеток в изменении локальной концентрации компонентов процесса полимеризации надмолекулярных агрегатов тропоколлагена в микрофибриллы, фибриллы и волокна.

Благодарности

Авторы выражают благодарность коллегам из Эймского центра НАСА и центра им. Джонсона НАСА Николь Рэйл, Элизабет Тейлор, Питу Хасбруку, Дженифер Бакли и Джулии Робинсон за предоставление возможности участия в эксперименте RR4. Искренняя благодарность выражается российским космонавтам Андрею Борисенко и Олегу Новицкому за помощь в реализации проекта «Rodent Research». Особую признательность авторы выражают Галине Тверской, Владимиру Сычеву и Ирине Огневой за тесное сотрудничество и предоставление возможности исследования биоматериала мышей из эксперимента RR4.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Атыакшин Д.А. Гистохимические подходы к оценке участия тучных клеток в регуляции состояния волокнистого компонента межклеточного матрикса соединительной ткани кожи. Журнал анатомии и гистопатологии. 2018; 7(3):100–112 [Atyakshin DA. Histochemical approaches to the evaluation of the participation of mast cells in the regulation of the fibrous component of the intercellular matrix of skin connective tissue. Journal of Anatomy and Histopathology. 2018 Oct 3;7(3):100–112] (in Russian) doi: 10.18499/2225-7357-2018-7-3-100-112
2. Гурьева Т.С., Дадашева О.А., Медникова Е.И. и др. Гистогенез внутренних органов эмбрионов японского перепела, развившихся в условиях невесомости. Авиакосмическая и экологическая медицина. 2009; 43(6):8–13 [Gurieva TS, Dadasheva OA, Mednikova EI, Dadasheva MT, Sychev VN. Histogeny of the visceral organs of embryonic japanese quails developed in the microg environment. Aviakosmicheskaya i Ekologicheskaya Meditsina. 2009; 43(6):8–13] (in Russian).
3. Мамаев А.Н. Основы медицинской статистики. М.: Практическая медицина; 2011: 121 [Mamaev AN. Osnovy meditsinskoi statistiki. Moscow: Prakticheskaya meditsina; 2011: 121] (in Russian).
4. Микроскопическая техника: руководство / под ред. Д.С. Саркисова, Ю.Л. Перова. М.: Медицина; 1996: 544 [Microscopic technique: manual / ed. DS Sarkisov, YL Perov. Moscow: Meditsina; 1996: 544] (in Russian).
5. Омельяненко Н.П., Слущкий Л.И. Соединительная ткань (гистофизиология и биохимия): под ред. акад. РАН и РАМН С.П.Миронова. М.: Известия; 2009: 380 [Omelyanenko NP, Slutskii LI. Connective tissue (histophysiology and biochemistry): ed. S.P. Mironov. Moscow: Izvestiya; 2009: 380] (in Russian).
6. 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. doi: 10.1007/s00418-018-1659-8
7. Atiakshin D, Buchwalow I, Tiemann M. Mast cell chymase: morphofunctional characteristics. Histochemistry and Cell Biology. 2019 Aug 8; doi: 10.1007/s00418-019-01803-6
8. Canty EG, Lu Y, Meadows RS, Shaw MK, Holmes DF, Kadler KE. Coalignment of plasma membrane channels and protrusions (fibripositors) specifies the parallelism of tendon. The Journal of Cell Biology. 2004 May 24;165(4):553–63. doi: 10.1083/jcb.200312071
9. Canty EG. Procollagen trafficking, processing and fibrillogenesis. Journal of Cell Science. 2005 Apr 1;118(7):1341–53. doi: 10.1242/jcs.01731
10. Espinosa E, Valitutti S. New roles and controls of mast cells. Current Opinion in Immunology. 2018 Feb;50(50):39–47. doi: 10.1016/j.coi.2017.10.012
11. Fan S-Q, Cai J-L, Qin L-Y, Wang Z-H, Liu Z-Z, Sun M-L. Effect of Heparin on Production of Transforming Growth Factor (TGF)- β 1 and TGF- β 1 mRNA Expression by Human Normal Skin and Hyperplastic Scar Fibroblasts. Annals of Plastic Surgery. 2008 Mar;60(3):299–305. doi: 10.1097/sap.0b013e318061d310
12. Fedorova EA, Sufieva DA, Grigorev IP, Korzhhevskii DE. Mast Cells of the Human Pineal Gland. Advances in Gerontology. 2019 Jan;9(1):62–6. doi: 10.1134/s2079057019010053
13. Ghazanfari S, Khademhosseini A, Smit TH. Mechanisms of lamellar collagen formation in connective tissues. Biomaterials. 2016 Aug;97:74–84. doi: 10.1016/j.biomaterials.2016.04.028
14. Harris JR, Lewis RJ. The collagen type I segment long spacing (SLS) and fibrillar forms: Formation by ATP and sulphonated diazo dyes. Micron. 2016 Jul;86:36–47. doi: 10.1016/j.micron.2016.04.008
15. Kadler KE, Hill A, Canty-Laird EG. Collagen fibrillogenesis: fibronectin, integrins, and minor collagens as organizers and nucleators. Current Opinion in Cell Biology. 2008 Oct;20(5):495–501. doi: 10.1016/j.ceb.2008.06.008
16. Kulke M, Geist N, Friedrichs W, Langel W. Molecular dynamics simulations on networks of heparin and collagen. Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics. 2017 Mar 25;85(6):1119–30. doi: 10.1002/prot.25277
17. Loo RW, Goh JB, Cheng CCH, Su N, Goh MC. Synthesis of Native, Fibrous Long Spacing and Segmental Long Spacing Collagen. Journal of Visualized Experiments. 2012 Sep 20;(67).. doi: 10.3791/4417
18. Olivera A, Beaven MA, Metcalfe DD. Mast cells signal their importance in health and disease. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2018 Aug;142(2):381–93. doi: 10.1016/j.jaci.2018.01.034
19. Rainey JK, Wen CK, Goh MC. Hierarchical as

sembly and the onset of banding in fibrous long spacing collagen revealed by atomic force microscopy. *Matrix Biology*. 2002 Dec;21(8):647–60. doi: 10.1016/S0945-053X(02)00101-4

20. Redegeld FA, Yu Y, Kumari S, Charles N, Blank U. Non-IgE mediated mast cell activation. *Immunological Reviews*. 2018 Feb 12;282(1):87–113. doi: 10.1111/imr.12629

Поступила в редакцию 4.06.2019

Received 4.06.2019

Принята в печать 28.08.2019

Accepted 28.08.2019

Для цитирования: Шишкина В.В., Атякшин Д.А. Тучные клетки и фибриллогенез коллагена в условиях невесомости. Журнал анатомии и гистопатологии. 2019; 8(3): 79–88. doi: 10.18499/2225-7357-2019-8-3-79-88

For citation: Shishkina V.V., Atyakshin D.A. Mast cells and collagen fibrillogenesis in zero gravity conditions. *Journal of Anatomy and Histopathology*. 2019; 8(3): 79–88. doi: 10.18499/2225-7357-2019-8-3-79-88
