

ВЛИЯНИЕ ТЕМНОВОЙ И СВЕТОВОЙ ДЕПРИВАЦИИ НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ ЭПИДЕРМАЛЬНЫХ ЛАМЕЛЛЯРНЫХ ТЕЛЕЦ

Соболевская И.С., Мяделец О.Д.

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов
медицинский университет»,
г. Витебск, Беларусь*

Целью данного исследования являлось изучение влияния темновой депривации на ультраструктуру кератиноцитов эпидермиса.

Ключевые слова: темновая депривация, кератиноцит, эпидермис, кожа, гранулы Одланда, ламеллярные тельца, липиды.

INFLUENCE OF DARK AND LIGHT DEPRIVATION ON THE ULTRASTRUCTURE OF EPIDERMAL LAMELLAR BODIES

Sobolevskaya I.S., Myadelets O.D.

*Vitebsk State Order of Friendship of Peoples Medical University,
Vitebsk, Belarus*

The purpose of this study was to study the effect of dark deprivation on the ultrastructure of epidermal keratinocytes.

Keywords: dark deprivation, keratinocyte, epidermis, skin, Odland granules, lamellar bodies, lipids.

Введение. Эпидермис является тканью, которая активно синтезирует и секретирует липиды и обеспечивает, таким образом, реализацию самой важной функции общего покрова – формирование эффективных барьеров (механического, биохимического и иммунологического) между организмом и окружающей средой. При этом важную роль в поддержании нормального морфофункционального состояния кожи играют эпидермальным ламеллярные тельца (ламеллярные гранулы, гранулы Одланда). Формирование нормальных ламеллярных телец считается отличительной чертой дифференцировки кератиноцитов.

Поскольку кожа подвергается постоянному воздействию внешней среды, ее функции централизованно регулируются и синхронизируются. В настоящее время доказано, что внешние факторы, такие как свет и тьма, могут оказывать непосредственное влияние на циркадные ритмы в общем покрове. Учитывая тот факт, что ламеллярные гранулы являются основным источником внутри- и межклеточных липидов в эпидермисе, любое расстройство суточных ритмов может способствовать их ультраструктурным изменениям и приводить к нарушениям барьерно-защитных свойств кожи. Таким образом,

экспериментальное исследование с моделированием хронодеструкции позволит, во-первых, оценить состояние пластинчатых гранул кератиноцитов, а, во-вторых, установить их роль в развитии метаболических нарушений и тканевых повреждений.

Цель исследования: изучить влияние световой и темновой депривации на ультраструктуру эпидермальных ламеллярных телец.

Материалы и методы: в экспериментах были использованы 35 белых беспородных крыс-самцов с массой тела 170-220 граммов. Все животные находились на одинаковом оптимальном рационе питания, предусмотренном для лабораторных животных.

Подопытные животные в соответствии со схемой эксперимента случайным образом были разделены на 3 группы: группа 1 – интактная (n=5) – животные, находящиеся в условиях стандартного фиксированного освещения (12 ч свет/12 ч темнота); группа 2 (n=15) – животные с моделированием световой депривации в условиях круглосуточной темноты (24 ч темнота) на протяжении 21 суток; группа 3 (n=15) – животные с моделированием темновой депривации в условиях круглосуточного освещения (24 ч свет) на протяжении 21 суток.

Фрагменты кожи фиксировали в 1% растворе четырехоксида осмия (OsO₄) на 0.1M буфере Миллонига (натрий фосфорнокислый, «Анализ-Х», Беларусь, NaOH, «Stanlab», Poland), в течение 2 часов. Полученные образцы заливали аралдитную смолу. Из полученных блоков на ультрамикротоме Leica EM UC7 (Leica, Germany) готовили полутонкие срезы (350 нм) и окрашивали метиленовым синим («Анализ-Х», Беларусь). Ультратонкие срезы (35 нм) контрастировали растворами уранилацетата (Uranyl acetate, «SERVA») и цитрата свинца (нитрат свинца, «MERCK»; натрий лимоннокислый, «Анализ-Х») по E.S. Reynolds. Препараты изучали в электронном микроскопе JEM-1011 (JEOL, Japan) при увеличениях 5 000 - 150 000 и ускоряющем напряжении 80 кВт. Для морфометрической ультраструктурной оценки ламеллярных телец в каждом препарате анализировали 30 непересекающихся полей зрения при увеличении 100 000. Производили подсчет количества гранул Одланда в зернистом слое в расчете на 100 мкм². С помощью прикладной программы ImageScoreM определяли средний и эквивалентный диаметры ламеллярных телец (мкм), а также их периметр (мкм); среднюю площадь одного сечения ламеллярного тела (мкм²); коэффициент округлости и среднюю относительную электронную плотность ламеллярных телец. Производили 20 измерений по каждому препарату.

Проверку статистических гипотез равенства средних генеральной совокупности проводили с помощью критериев U (Манна-Уитни), W (Уилкоксона) и H (Краскела-Уоллиса) при принятом уровне значимости

$\alpha=0,05$. Результаты в тексте представлены в виде средней (М) и доверительного интервала.

Результаты и обсуждение. В контрольной группе ламеллярные гранулы представляли собой тельца округлой или овальной формы, окруженные элементарной биологической мембраной. Их матрикс представлен стопками чередующихся бислоев, разделенных центральной полосой с малой электронной плотностью и ограниченными полосами с большой электронной плотности (липидные везикулы) (рис. 1А).

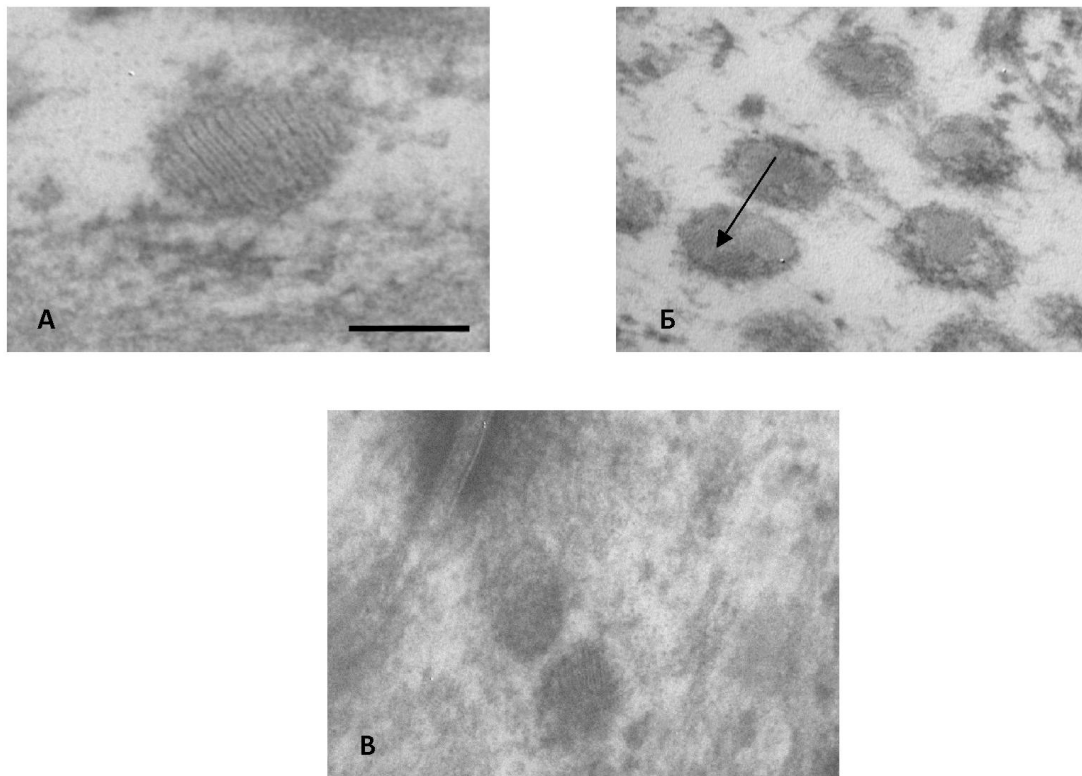


Рис. 1. Ламеллярная гранула
А - контрольная группа; Б – световая депривация;
В – темновая депривация
(электронная микроскопия, длина мерного отрезка 0,1 мкм).

При световой и темновой депривации имели место следующие ультраструктурные изменения со стороны гранул Одланда. Так, липидные пластинки ламеллярных телец были упакованы более рыхло и контурировались менее интенсивно, а в некоторых случаях представляли собой прерывистые структуры. Вместе с тем, при световой депривации в матриксе гранул появлялись участки, лишенные пластинчатого строения и напоминающие вакуоли (рис. 1Б). Можно предположить, что ламеллярные тельца приобретают лизосомальные признаки.

Для более тонкой оценки изменений морфофункционального состояния гранул Одланда при хронодеструкции были проведены их морфометрические исследования. Следует подчеркнуть, что полученные статистические данные подтверждают и визуальные наблюдения. Так, при световой депривации происходило уменьшение размеров гранул Одланда в 1,2 раза ($p < 0,0001$), по сравнению с контролем. Одновременно с этим отмечалось возрастание электронной плотности в тельцах (в 1,2 раза, $p < 0,05$), что является числовым подтверждением изменения степени развития ламеллярных пластинок в них. Наблюдалось также изменение формы гранул о чем свидетельствует возрастание коэффициента округлости в 1,3 раза, по сравнению с контрольной группой ($p = 0,05$).

На фоне темновой депривации количество гранул Одланда в клетках зернистого слоя было в 1,14 раза больше ($p = 0,0036$), по сравнению с контролем. Однако их размеры, напротив, значительно уменьшались, что хорошо видно из таблицы 1. Наблюдались также изменения в степени развития ламеллярных пластинок в самих гранулах, о чем может свидетельствовать и показатели относительной электронной плотности телец. Наблюдалась тенденция к ее увеличению.

Все вышеописанное в совокупности может говорить об изменениях морфофункционального состояния гранул Одланда при десинхронозе.

Заключение. Сдвиги в суточных ритмах приведут к существенным изменениям в ультраструктуре эпидермальных ламеллярных телец. Хронодеструкция способствует уменьшению количества и размеров гранул Одланда, а также изменению степени развития ламеллярных пластинок и повышению их электронной плотности, что может выступать одним из факторов возникновения заболеваний кожи.

Литература

1. Madison, K.C. Barrier function of the skin : ‘La Raison d’Etre’ of the epidermis / K. C. Madison // The journal of investigative dermatology. – 2003. – Vol. 121. – P. 231-141.