

Соболевская И.С., Мяделец О.Д.

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЕБОЦИТОВ КОЖИ КРЫС НА ФОНЕ ТЕМНОВОЙ ДЕПРИВАЦИИ

*Учреждение образования «Витебский государственный медицинский
университет», г.Витебск, Республика Беларусь*

Изучение ультраструктуры себоцитов после темновой депривации показало, что световой режим влияет на морфологию себоцитов, и, по-видимому, на их функциональную активность. Наблюдается и полиморфизм гранул себума. Сделан вывод, что при темновой депривации возрастает активность себоцитов, что ведет к изменению выработки себума.

Ключевые слова: кожа, сальные железы, ультраструктура, темновая депривация.

Sobolevskaya I.S., Myadelets O.D.

ULTRASTRUCTURAL CHANGES IN RAT SKIN SEBOCYTES ON THE BACKGROUND OF DARK DEPRIVATION

Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus

The study of the ultrastructure of sebocytes after dark deprivation showed that the light regime affects the morphology of sebocytes, and, apparently, their functional activity. Polymorphism of sebum granules is also observed. It is concluded that with dark deprivation, the activity of sebocytes increases, which leads to a change in the production of sebum.

Keywords: skin, sebaceous glands, ultrastructure, dark deprivation.

Кожа - самый крупный орган, которому принадлежит ведущая роль в регуляции гомеостаза всего организма. В результате постоянного воздействия неблагоприятных факторов окружающей среды общий покров приобрел автономную систему саморегулирования. Особую роль в поддержании этой системы играют циркадные ритмы. Поскольку циркадные часы модулируют многие кожные процессы, включая иммунитет, пролиферацию клеток, метаболизм и восстановление повреждений ДНК, вполне вероятно, что нарушение циркадной регуляции может способствовать развитию и прогрессированию кожных заболеваний [1].

Сальные железы является важной структурной частью и универсальной органной структурой оволосенной кожи. Установлено, что 90% поверхностных липидов кожи – продукт деятельности сальных желез. Липиды сальных желез используются как энергетический материал, играющий важную роль в

дифференцировке и нормальном функционировании фолликула волоса, отвечают за синтез холестерина, который идет на метаболизм стероидных гормонов, играют важную роль в препятствии трансэпидермальной потере воды и, соответственно, увеличивают водонепроницаемость, а также обеспечивают эластичность и упругость кожи [2, 3]. Следовательно, любое расстройство суточных ритмов может сопровождаться ультраструктурными изменениям в клетках сальных желез и приводить к нарушениям барьерно-защитных свойств кожи. Экспериментальное исследование с моделированием темновой депривации позволит оценить состояние себоцитов, а также в последующем установить их роль в развитии метаболических нарушений и тканевых повреждений общего покрова.

Цель исследования: изучить влияние темновой депривации на ультраструктуру себоцитов сальных желез крыс-самцов.

Материалы и методы исследования. В экспериментах были использованы 20 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 2 группы: контрольная (n=5) – животные, находящиеся в условиях стандартного фиксированного освещения (12 ч свет/12 ч темнота); экспериментальная группа (n=15) – животные с моделированием темновой депривации в условиях круглосуточного освещения (24 ч свет) на протяжении 21 суток.

Для ультраструктурных исследований забирали по 3 образца кожи межлопаточной области спины от 6 животных (3 – интактная группа; 3 – опытная группа) размером 0,2 см×0,2 см×0,05 см. Полученный материал фиксировали в 1% растворе четырехокси осмия (OsO_4) на 0.1M буфере Миллонига (натрий фосфорнокислый, «Анализ-Х», Беларусь, NaOH, «Stanlab», Poland), pH 7,4 при 4°C в течение 2 часов. Далее гистологический материал подвергали дегидратации путем

проведения через спирты восходящей концентрации и ацетон. Полученные образцы заливали в аралдитную смолу. Из полученных блоков на ультрамикротоме Leica EMUC7 (Leica, Germany) готовили полутонкие срезы (350 нм) и окрашивали метиленовым синим («Анализ-Х», Беларусь). Препараты просматривали в световом микроскопе Leica DMLS2 (Leica, Germany) и выбирали участок для дальнейшего изучения ультраструктурных изменений. Ультратонкие срезы (35 нм) контрастировали растворами уранилацетата (Uranylacetate, «SERVA») и цитрата свинца (нитрат свинца, «MERCCK»; натрий лимоннокислый, «Анализ-Х») по E.S. Reynolds. Препараты изучали в электронном микроскопе JEM-1011 (JEOL, Japan) при увеличениях от 5 000x до 150 000x и ускоряющем напряжении 80 кВт. Для получения снимков использовали комплекс из цифровой камеры Olympus Mega View III (Olympus, Japan) и программы iTEM (Version 5,0; Serial Number A3766900-7E852FAB) (JEOL, Japan) для обработки изображений. Все электронномикроскопические исследования проводились на базе учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет».

Для морфометрической оценки в каждом препарате анализировали 30 непересекающихся полей зрения при увеличении 100 000x. Производили подсчет количества митохондрий и лизосом в адипоцитах в пересчете на 100 кв.мкм (обозначается как мкм^{-2}). С помощью прикладной программы ImageScopeM определяли среднюю площадь сечения митохондрий (мкм^2), среднюю относительную электронную плотность матрикса митохондрий. Производили 20 измерений по каждому препарату.

Всю статистическую обработку данных проводили с использованием методов непараметрической статистики с помощью программы «Statistica 10.0» (StatSoft Inc., STA999K347156-W). 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 представляли в виде средней (M) и 95% доверительного интервала (95% CI).

Результаты и их обсуждение. Исследование сальных желез с помощью электронной микроскопии – это особенный подход к оценке их морфофункционального состояния, способный выявить тонкие ультраструктурные изменения в себоцитах при хронодеструкции, которые могут отражаться на их функциональном состоянии.

На электронномикроскопическом (как и на светооптическом) уровне можно выделить несколько групп себоцитов в зависимости от их ультраструктурного строения и регионального положения: малодифференцированные клетки, которые не содержат липидных включений; дифференцирующиеся клетки, содержащие единичные липидные включения; терминально дифференцированные клетки с большим количеством липидных капель; разрушающиеся клетки.

В периферических себоцитах экспериментальных животных темновая депривация приводила к увеличению количества митохондрий до 6,86 (4,63-9,09) мкм^{-2} по сравнению с контролем – 5,41 (4,47–6,37) мкм^{-2} , электронной плотности их матрикса до 141,53 (136,01-147,05) при контрольном значении 137,21 (131,6-142,8) и незначительному возрастанию средней площади сечений митохондрий до 0,18 (0,15-0,20) мкм^2 при контроле 0,13 (0,11-0,15) мкм^2 . При хронодеструкции отмечалось также увеличение количества лизосом до 2,16 (0,93-3,39) мкм^{-2} по сравнению с контрольным значением 1,23 (0,62-1,84) мкм^{-2} (рис. 1А).

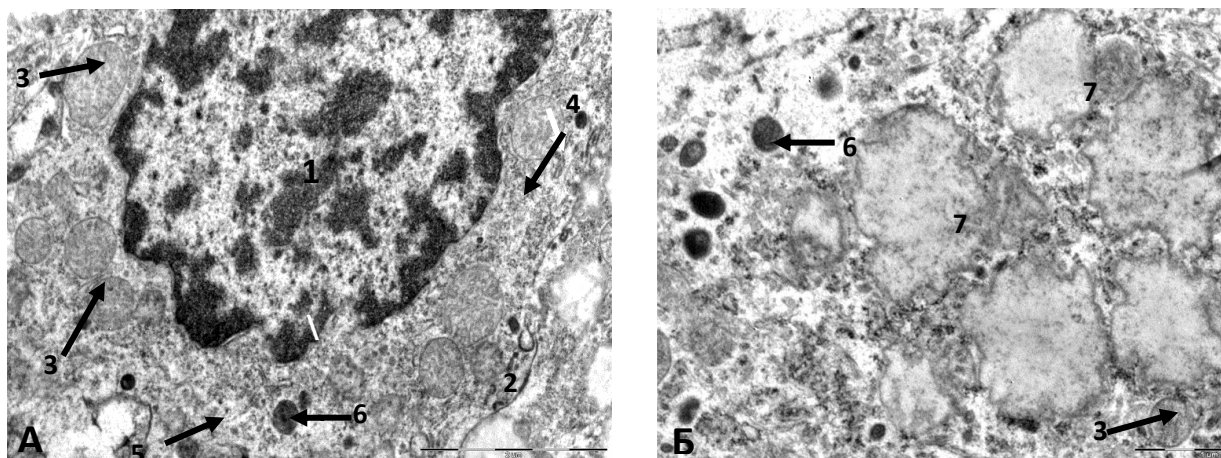


Рис. 1 Себоциты: А – периферические, Б – дифференцирующиеся. 1 - ядро; 2 – десмосомы с пучками тонофиламентов; 3 – митохондрии; 4 – рибосомы; 5 – гранулы гликогена; 6 – лизосомы; 7- липидные капли.

При изучении организации промежуточных себоцитов были отмечены следующие их ультраструктурные особенности. Так, в цитоплазме таких клеток наблюдалось увеличение количества митохондрий до 7,7 (5,05 – 8,95) мкм⁻², возрастало число лизосом до 5,8 (3,6 – 7,15) мкм⁻². В единичных митохондриях наблюдались признаки дегенерации и деструкции. В дифференцирующихся себоцитах отмечалось увеличение площади, занятой комплексом Гольджи и гладкой ЭПС (рис. 1Б). Следует особо отметить, что темновая депривация приводит к возникновению в клетках сальных желез такого феномена, как полиморфизм липидных капель (рис. 2). Так, липидные капли в этой группе имели разную электронную плотность, что может быть свидетельством изменения химического состава их матрикса за счет увеличения содержания белка, а также изменения соотношения триацилглицеролов и сложных эфиров.

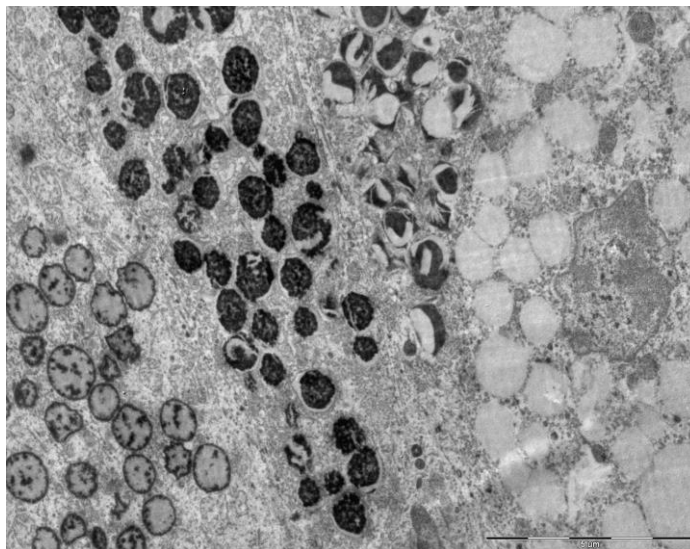


Рис. 2 Темновая депривация. Полиморфизм липидных капель дифференцирующихся себоцитов

Следовательно, темновая депривация способствует изменению не только ультраструктуры себоцитов, но и состава себума. Это в последующем может серьезно повлиять на барьерно-защитные свойства общего покрова.

Самые крупные клетки - зрелые себоциты – составляли большую часть концевых отделов сальной железы. Главными отличительными особенностями таких клеток являлись многочисленные липидные капли и повышенное содержание везикул гладкой эндоплазматической сети и лизосом. Размер и количество липидных капель сильно варьировали как в соседних клетках, так и в пределах одной клетки. В данных клетках происходило увеличение размеров капель. При этом они находились в непосредственной близости друг от друга, но, за счет окружающей их мембраны, не сливались.

В зрелых себоцитах помимо жировых клеток располагалось большое количество гранул гликогена, свободных рибосом и тонофиламентов. Ядро клетки имело небольшие размеры с угловатыми контурами из-за давления, которое на него оказывают липидные капли. Кариоплазма была плотной и часто однородной. Ядрышки плохо дифференцировались. Все эти изменения предшествовали предстоящему кариопикнозу (в момент превращения в себум).

При темновой депривации липидные капли визуально обладали более крупными размерами, но их количество было заметно меньшее. Оставались хорошо выраженные участки цитоплазмы с органеллами (ЭПС, комплекс Гольджи, митохондрии). Как хорошо видно на рисунке 3, количество лизосом возрастало до 5,8 (3,6 – 7,15) мкм⁻² по сравнению с контролем.

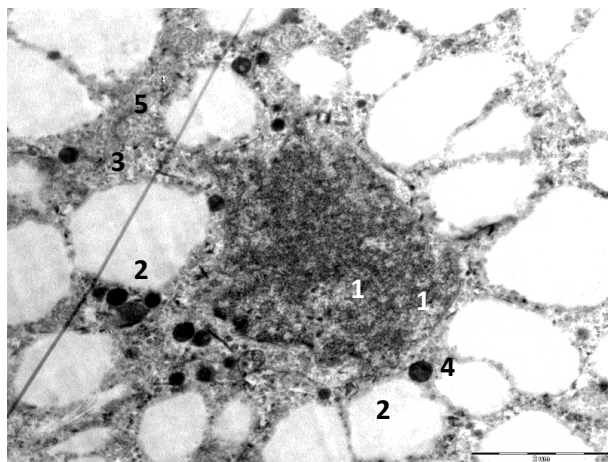


Рис. 3 Строение дифференцирующегося себоцита (темновая депривация)
1 - ядро; 2 – липидные капли; 3 - комплекс Гольджи; 4 – лизосомы; 5 – митохондрии

Далее клетки вступали в стадию некроза. Они полностью заполнялись липидными каплями, которые в ряде случаев сливались между собой. Органеллы не дифференцировались, а ядра становились пикнотичными. В конце концов, мембраны таких клеток разрывались и высвобождали свое содержимое, а также остатки ядер и цитоплазматических органелл, в выводные протоки желез, а далее на поверхность клеток.

Заключение. Таким образом, при десинхронрозе происходят существенные ультраструктурные изменения в себоцитах, которые свидетельствуют об изменении функциональной активности клеток. При этом хронодеструкция, вызванная темновой депривацией, приводит также к изменению физико-химического состояния себума (полиморфизм гранул). Следовательно, закономерным можно считать, что при темновой депривации происходит возрастание активности

себоцитов а это, в свою очередь, приводит к существенному изменению выработки себума.

Литература:

1. Salazar A., von Hagen J. Circadian Oscillations in Skin and Their Interconnection with the Cycle of Life. *Int J Mol Sci.* 2023; 15;24(6):5635. Doi: 10.3390/ijms24065635.
2. Makrantonaki E., Ganceviciene R., Zouboulis C. An update on the role of the sebaceous gland in the pathogenesis of acne. *Dermatoendocrinol.* 2011;3(1):41-9. Doi: 10.4161/derm.3.1.13900.
3. Shamloul G., Khachemoune A. An updated review of the sebaceous gland and its role in health and diseases Part 1: Embryology, evolution, structure, and function of sebaceous glands. *Dermatologic Therapy.* 2021; 34: e14695. Doi: 10.1111/dth.14695