

ДИНАМИКА ФОРМИРОВАНИЯ КОЖНОГО ПОКРОВА КРЫСЫ ПРИ ПЕРЕХОДЕ ОТ ВНУТРИУТРОБНОГО К РАННЕМУ ПОСТНАТАЛЬНОМУ ОНТОГЕНЕЗУ

Е.С. Мишина, М.А. Затолокина, Е.С. Затолокина

*ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации*

Особенности формирования кожи как органа являются базовыми знаниями для изучения процесса старения и регенерации. Также, при изучении данного вопроса, необходимо учитывать экзогенные факторы, влияющие на кожу, которая, в свою очередь, является «барьерным органом». Исследование проводили на коже крыс-самцов линии Wistar в позднем пренатальном и раннем постнатальном периодах. На начальных этапах своего формирования кожа претерпевает свои морфофункциональные изменения в виде утолщения эпидермиса и появления рогового слоя, а также утолщения дермы и изменения формы коллагеновых волокон, входящих в ее структуру. Формирование кожи как полноценного «барьерного органа» происходит в раннем постнатальном онтогенезе.

Ключевые слова: кожа, онтогенез кожи крыс, эпидермис, дерма.

DOI 10.19163/1994-9480-2020-4(76)-77-80

DYNAMICS OF RAT SKIN FORMATION DURING THE TRANSITION FROM PRENATAL TO EARLY POSTNATAL ONTOGENESIS

E.S. Mishina, M.A. Zatolokina, E.S. Zatolokina

FSBEI HE «Kursk State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation

The peculiarities of the skin formation as an organ are the basic knowledge for studying the aging and regeneration process. During studying this issue it is necessary to take into account the exogenous factors affecting the skin, which, in turn, is a "barrier organ". The study was carried out on the skin of male Wistar rats in the late prenatal and early postnatal periods. At the initial stages of its formation, the skin undergoes its morphofunctional changes such as thickening of the epidermis and the appearance of the stratum corneum, as well as thickening of the dermis and changes in the collagen fibers shape that make up its structure. The formation of the skin as a full-fledged "barrier organ" occurs in early postnatal ontogenesis.

Key words: skin, ontogenesis of rat skin, epidermis, dermis.

Кожа, как орган, представляет собой трехкомпонентную систему, образованную эпидермисом, дермой и гиподермой, которые находятся в морфофункциональном единстве. В ходе онтогенеза постепенно складывается структура кожного покрова, оптимально обеспечивающая все многочисленные функции, выполняемые кожей [1, 3]. Исследование структуры кожного покрова млекопитающих, в том числе экспериментальных животных, имеет фундаментальное и прикладное значение и может быть, в определенной степени, экстраполировано на человека [4]. Остаются дискуссионными многие вопросы, касающиеся временной этапности формирования таких структурных компонентов кожи, как волокнистый остов дермы, волос, жировой ткани и их изменение (перестройка) в процессе онтогенеза [2–7]. Недостаточность этих данных затрудняет использование лабораторных животных (крыс) для прикладных исследований в различных сферах медицины и биологии.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучение формирования отдельных структурных компонентов и становления кожи млекопитающих как самостоятельного органа в раннем онтогенезе.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалом исследования служили фрагменты кожи размером 0,5 × 5 см, взятые с латеральной поверхности спины 30 белых крыс линии Wistar, весом (10,0 ± 1,5) г, путем иссечения кожи указанного размера до фасции подкожной мышцы. Возраст животных был выбран следующий: 21 сутки внутриутробного развития (за 1 сутки до родов) и 2 суток после рождения. Животные содержались в стандартных условиях в соответствии с санитарно-эпидемиологическими требованиями к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев) (утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ № 51 от 29 августа 2014 г.). Уход и содержание экспериментальных животных проводился в соответствии со стандартами, описанными Директивой 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях, а также Правилами, утвержденными Приказом Минздрава России от № 199н 01 апреля 2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики».

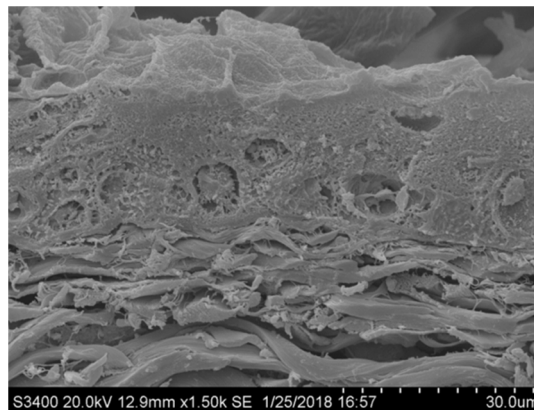
Для сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) кожу фиксировали 10%-м забуференным

нейтральным формалином, обезвоживали в замороженном состоянии в спиртах возрастающих концентраций. Для СЭМ исследований, после спиртового обезвоживания образцов, использовали метод сушки в критической точке с помощью аппарата Quorum K350 (Quorum gala instrument gmbh, Германия). Подготовленные таким образом образцы монтировали на специальный алюминиевый столик токопроводящим углеродным клеем, напыляли золотом или платино-паладиевым сплавом в напылительной установке Quorum Q150TS (Quorum gala instrument gmbh, Германия) и просматривали в сканирующем электронном микроскопе S 3400N (Hitachi, Япония).

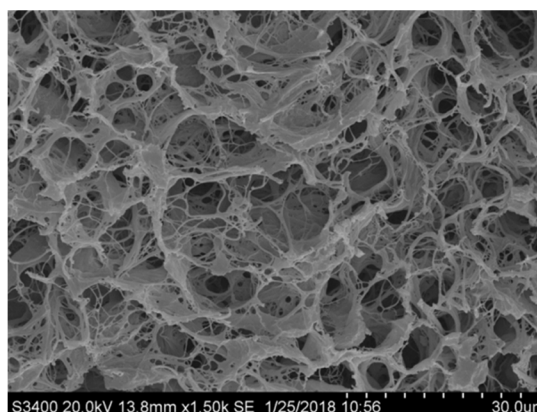
РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Кожный покров плода крысы на поздних этапах внутриутробного развития представлен эпидермисом (многослойный плоский ороговевающий эпителий) и подлежащей рыхлой волокнистой соединительной тканью, без четких границ переходящую в соединительную ткань соседних формирующихся органов. Толщина этого слоя имеет топографические вариации. При исследовании участков с латеральной поверхности спины толщина кожи составляла от $(32,3 \pm 0,5)$ мкм. На этом этапе внутриутробного онтогенеза отмечен достаточно выраженный полиморфизм, как в эпидермисе, так и в подлежащей соединительной ткани. В роговом слое эпидермиса можно выделить 3 подслоя: поверхностный чешуйчатый, толщиной $(4,5 \pm 0,2)$ мкм, центральный, непрерывный, гомогенный, и глубокий, подлежащий, прерывистый, толщиной $(5,2 \pm 0,7)$ мкм, состоящий из диффузного мелкозернистого и глыбчатого (гранулярного) кератогиалина. За счет частичного погружения в эпидермис роговой слой создает своеобразную складчатость, определяя, таким образом, ее поверхностный макро рельеф. Более глубокий слой, следующий после рогового, состоит из вытянутых клеток с многочисленными гранулами кератогиалина в цитоплазме. Базальный слой эпидермиса состоит из одного ряда клеток, большая часть из которых находятся в стадии митоза. Под клетками находится базальная (коллагеново-гликопротеидная пограничная) мембрана, являющаяся связующим звеном между эпидермисом и подлежащей рыхло-волокнистой соединительной тканью (рис. 1).

В глубину от эпидермиса по плотности расположения волокнистых структур можно условно выделить 3 области. Первая с наиболее плотным расположением волокнистых и клеточных структур распространяется на глубину 100–150 мкм от эпидермиса. В этой области наибольшее представительство клеток фибробластического дифферона. Волокнистые структуры представлены индивидуальными фибриллами, до $(32,0 \pm 0,1)$ нм, и формирующимися из них коллагеновыми волокнами, $(5,2 \pm 0,3)$ мкм.



А



Б

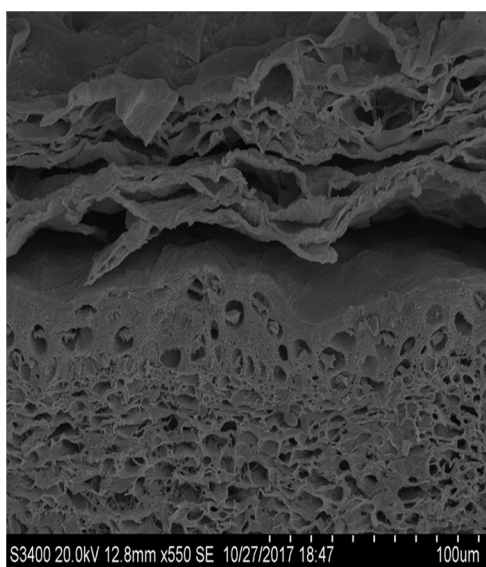
Рис. 1. Микрофотография эпидермиса (А) и дермы (Б) на 21-е сутки внутриутробного развития. СЭМ. Ув. $\times 1500$

Фибриллы имеют характерную поперечную исчерченность, периодичность которой составляет 64 нм и является их главным идентификационным признаком. Они могут существовать индивидуально или образовывать фибриллярные агрегаты – коллагеновые волокна. Особенностью волокнистой составляющей соединительной ткани на этом этапе является то, что большая часть фибриллярных агрегатов имеет форму пластинок. При этом фибриллы в их составе не имеют какой-либо преимущественной ориентации. По толщине эти пластинки имеют одно- или двухслойную организацию. Значительная часть пластинок ориентирована своей плоскостью параллельно эпидермису. Из этих структур построена, в виде 3D сети, подлежащая рыхлая волокнистая соединительная ткань. Форма ячеек овальная и не имеет преимущественной анизотропии. Пространство между структурными компонентами заполнено основным веществом. Здесь также располагаются формирующиеся волосные фолликулы, единичные и небольшие группы поперечно-полосатых мышечных фибрилл и капилляры.

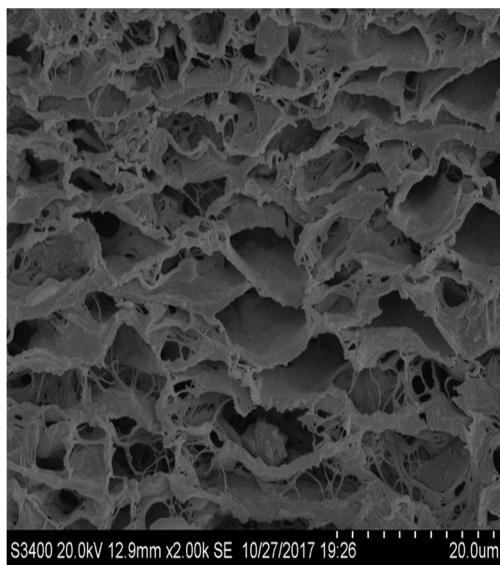
Следующая область менее плотная – в ней клеточный компонент преобладает над волокнистым и основного вещества больше, чем в предыдущей области. В третьей, самой глубокой области,

присутствуют те же структурные компоненты, волокнистые элементы образуют крупноячеистые сети. Соединительная ткань этой области переходит в соединительную ткань, окружающую внутренние органы плода.

У двухдневного новорожденного эпидермис имеет толщину ($62,0 \pm 0,4$) мкм и все ранее представленные слои. Роговой слой представлен различными по толщине кератиновыми пластинками или чешуйками, а также отделен от зернистого слоя эпидермиса и связан с ним локально в отдельных участках. Чешуйки имеют извилистую форму, и расстояние между ними увеличивается по мере удаления от зернистого слоя. На поверхности клеточного слоя сохраняется гомогенный слой кератогиалина, его толщина составляет ($1,5 \pm 0,1$) мкм (рис. 2А).



А



Б

Рис. 2. Микрофотография эпидермиса (А) и дермы (Б) на 2-е сутки раннего постнатального онтогенезе. СЭМ. Ув.: А – $\times 550$, Б – $\times 2000$

В отдельных местах наблюдается впячивание эпидермиса в волосяную воронку. В зернистом слое присутствуют цепочки гранул кератогиалина и их агрегаты, размер которых ($0,62 \pm 0,20$) мкм. В этом слое присутствуют клетки округлой формы со светлой цитоплазмой и дегенерированным ядром. Часть цитоплазмы этих клеток занята кератогиалином. В нижележащем слое четко видны межклеточные мостики, в связи с чем слой этих клеток обозначен как шиповатый. В базальном слое наблюдается клеточный полиморфизм и большое количество митозов. Клетки этого слоя соединены с базальной мембраной полудесмосомами.

Общий принцип строения волокнистой основы субэпидермальной соединительной ткани сохраняется. Наблюдается утолщение волокнистых структур и уменьшение межволоконных промежутков. Данный слой состоит из нескольких (3–4) волокон, общей толщиной ($25,0 \pm 0,2$) мкм, расположенных параллельно поверхности эпидермиса. Среди коллагеновых волокон соединительной ткани визуализируется большое количество клеток фибробластического дифферона, сосуды. Волосы находятся на начальном этапе своего формирования. Внедряющийся эпидермис образует расширение в виде «чаши» над соединительнотканым

В позднем пренатальном периоде, кожа, главным образом, выполняет барьерную функцию, отграничивающую внутренние органы от околоплодных вод. В ней нельзя четко идентифицировать 3 слоя (эпидермис, дерму и гиподерму), и, по данным многих авторов, верхний слой кожи называется перидермой [8]. Перидерма – временная структура и существует до полного завершения стратификации. Позже, за счет активного деления клеток базального слоя, появляется зернистый и шиповатый слой. Пока зародыш находится во внутриутробном состоянии и на первые сутки после рождения, роговой слой представляет собой сплошной слой кератогиалина, покрывающего эпидермис. Такой монослой обеспечивает выполнение роговым слоем барьерной функции. После рождения роговой слой эпидермиса при контакте с воздушной средой расслаивается, наблюдается активный процесс кератинизации, и на поверхности визуализируется большое количество роговых чешуек.

Дерма до рождения представлена, в основном, клеточными компонентами, большую часть клеток которого составляют клетки фибробластического дифферона, и волокнистыми структурами, представленными индивидуальными фибриллами, до ($32,1 \pm 0,2$) мкм, или тонкими волокнами, переходящими в соединительную ткань внутренних органов. После рождения происходит нарастание надмолекулярных агрегатов, объединение в волокна и формирование единого остова.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Формирование кожи как полноценного «барьерного органа» происходит в раннем постнатальном онтогенезе. Структурные компоненты как эпидермиса, так и дермы, заложенные в эмбриогенезе, увеличиваются в размерах, и наблюдается нарастание их числа.

ЛИТЕРАТУРА

1. Клинова Н.Г., Иванова И.Н., Попов В.В., Русinov В.И. Акупунктура в лечении больных хроническими дерматозами // Вестник ВолгГМУ. – 2020. – № 2 (74). – С. 127–129.
2. Мишина Е.С., Затолокина М.А., Сергеева С.Ю. Изучение факторов динамического структурирования коллагеновых волокон в эксперименте // Морфология. – 2019. – № 11 (2). – С. 199.
3. Омеляненко Н.П., Слуцкий Л.И. Соединительная ткань (гистофизиология и биохимия). Т. 1 / под ред. акад. РАН и РАМН С.П. Миронова. – М.: Известия, 2009. – 380 с.
4. Фетисов С.О., Алексеева Н.Т., Никитюк Д.Б. и др. Моделирование как метод оценки специфических морфофункциональных паттернов при регенерации // Журнал анатомии и гистопатологии. – 2015. – № 4 (4). – С. 49–55.
5. Фокина Е.Н., Загребин В.Л., Федорова О.В., Тхабит Худа Салех А. Морфологические аспекты развития кожи на разных стадиях пренатального онтогенеза // Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины. Материалы 63-й итоговой научной конференции студентов и молодых ученых. – 2005. – С. 124–126.
6. Fibrosis: Methods and Protocols. Edited by Laure Rittie. – 2017. – P. 530.
7. Ghazanfari S., Khademhosseini A., Smit T.H. Mechanisms of lamellar collagen formation in connective tissues // Biomaterials. – 2016. – No. 9 (7). – P. 74–84.
8. Sidgwick G.P., McGeorge D., Bayat A. A comprehensive evidence-based review on the role of topicals and dressings in the management of skin scarring // Arch. Dermatol. Res. – 2015. – Vol. 307 (6). – P. 461–477.

REFERENCES

1. Klinova N.G., Ivanova I.N., Popov V.V., Rusinov V.I. Akupunktura v lechenii bol'nyh hronicheskimi dermatozami [Acupuncture in the treatment of patients with chronic dermatoses]. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta* [Journal of Volgograd State Medical University], 2020, no. 2 (74), pp. 127–129. (In Russ., abstr. in Engl.).
2. Mishina E.S., Zatolokina M.A., Sergeeva S.Ju. Izuchenie faktorov dinamicheskogo strukturirovaniya kollagenovykh volokon v jeksperimente [Experimental study of the factors of dynamic structuring of collagen fibers]. *Morgologiya* [Morphology], 2019, no. 11 (2), p. 99. (In Russ., abstr. in Engl.).
3. Omel'yanenko N.P., Slutskii L.I. Soedinitel'naya tkan' (gistofiziologiya i biokhimiya). Vol. 1 [Connective tissue (histophysiology and biochemistry)]. S.P. Mironov (ed.). Moscow: Izvestiya, 2009, 380 p. (In Russ., abstr. in Engl.).
4. Fetisov S.O., Alekseeva N.T., Nikitjuk D.B., et al. Modelirovanie kak metod ocenki specificheskikh morfofunkcional'nykh patternov pri regeneracii [Modeling as a Method of Specific Morphological and Functional Patterns Evaluation in Regeneration]. *Zhurnal anatomii i gistopatologii* [Journal of Anatomy and Histopathology], 2015, no. 4 (4), pp. 49–55. (In Russ., abstr. in Engl.).
5. Fokina E.N., Zagrebina V.L., Fedorova O.V., Tkhabit Khuda Salekh A. Morfologicheskie aspekty razvitiya kozhi na raznykh stadiyah prenatal'nogo ontogenеза [Morphological aspects of skin development at different stages of prenatal ontogenesis]. *Aktual'nye problemy eksperimental'noj i klinicheskoy mediciny. Materialy 63-j itogovoy nauchnoj konferencii studentov i molodykh uchenykh* [Actual problems of experimental and clinical medicine. Materials of the 63rd final scientific conference of students and young scientists], 2005, pp. 124–126. (In Russ., abstr. in Engl.).
6. Fibrosis: Methods and Protocols. Edited by Laure Rittie. 2017. 530 p.
7. Ghazanfari S., Khademhosseini A., Smit T. H. Mechanisms of lamellar collagen formation in connective tissues. *Biomaterials*, 2016, no. 9 (7), pp. 74–84.
8. Sidgwick G. P., McGeorge D., Bayat A. A comprehensive evidence-based review on the role of topicals and dressings in the management of skin scarring. *Arch Dermatol Res*, 2015, vol. 307 (6), pp. 461–477.

Контактная информация

Мишина Екатерина Сергеевна – к. м. н., доцент кафедры гистологии, эмбриологии, цитологии, Кубанский государственный медицинский университет, e-mail: katusha100390@list.ru