

МОРФОЛОГИЯ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА КРИОФРАКТОГРАФИЧЕСКИМ И ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКИМ МЕТОДАМИ

Ш.О. КОРЖАВОВ, Ж.К. АСЛАМОВ, С.И. ХОТАМОВ

Самаркандский Государственный медицинский институт, Республика Узбекистан, г. Самарканд

КРИОФРАКТОГРАФИЧЕК ВА ЭЛЕКТРОННОМИКРОСКОПИК УСУЛЛАР ЁРДАМИДА ОДАМ ТЕРИСИНИНГ МОРФОЛОГИЯСИ

Ш.О. КОРЖАВОВ, Ж.К. АСЛАМОВ, С.И. ХОТАМОВ

Самарканд Давлат медицина институти, Ўзбекистон Республикаси, Самарканд

MORPHOLOGY OF SKIN AND HUMAN KRIOFRAKTOGRAFIЧЕСКИМ ELECTRON METHODS

Sh.O. KORZHAVOV, J. ASLAMOV, S.I. KHOTAMOV

Samarkand State Medical Institute, Republic of Uzbekistan, Samarkand

Sublimatsion metod yordamida olingan odam qorin sohasi terisining ultra ingichka kesimlar, elektronmikroskop ostida o'rganildi. Transmembranali oqsillar, xuddi - 7 mm diametr o'lchamdagi membrane bo'lakchalari ko'rinishida membranalarning yuzasi bo'ldi.

Ultrathin slices from the human abdominal skin and platinum – carbonic replicas, obtained by means of the freeze – fracture method have been studied electron microscopically. Transmembranous proteins are revealed on the membrane surface as membranebound particles with the diameter 5 – 7 nm.

Актуальность. Барьерные функции эпидермиса, в основном, обусловлены мембранными структурами клеток и их взаимоотношением при помощи специфических соединений – десмосом, которые, по мнению некоторых исследователей (Цветкова Г.М., 1993), кроме механической выполняют функции передачи сигналов между клетками эпидермиса. Фиксация, дегидратация, пропитывание смолой и окраска вносят химико – морфологические изменения в строение изучаемой ткани. Новую информацию о строении клеток, особенно их мембранных компонентов, дает исследование реплик, полученных после глубокого и быстрого охлаждения ткани до ультранизких температур.

Цель настоящей работы – сравнительный анализ мембранных компонентов и межклеточных контактов кератиноцитов эпидермиса человека методами электронной микроскопии ультратонких срезов и реплик, полученных при замораживании – травлении.

Материал и методика. Методом реплик изучена кожа живота взрослых людей, погибших в результате травмы, с посмертным периодом до 24 ч. Это же материал заливали в смолу и исследовали в просвечивающем электронном микроскопе. Образцы кожи погружали для криопротекции в изотонический раствор 20% и 30% глицерина на 1 ч при температуре 4 °С, быстро замораживали во фреоне – 22, охлажденном жидким азотом (-145 °С), или в тающем твердом азоте (-210 °С). Затем в жидком азоте (-196 °С) их монтировали на золотые столики и переносили в высоковакуумную установку BAF- 400 для получения сколов. Последние делали металлическим ножом при температуре держателя – 105 °С и давлении 5 x 10⁻⁶ mbar. После этого в течении 5 минут проводили травление образца при температуре (-105 °С) для сублимации льда с плоскости скола. Полученную поверхность напыляли платиной и углеродом под углом 45° и 90°. Образцы извлекали из установки и

при комнатной температуре реплики отделяли от ткани гипохлоридом натрия и промывали в дистиллированной воде. Очищенные реплики монтировали на сетки и просматривали в микроскопе Philips EM-420 с гониометром при ускоряющем напряжении 80 – 100 кВ. При замораживании – скалывании обнажаются не только мембраны клеток и органелл, но и происходит расщепление мембран по их не полярной области (Aumailley M., Rousselle P. 1999). В результате образуются две комплементарные (добавочные) поверхности мембран. Таким образом, этот метод позволяет изучать 4 поверхности мембраны. По общепринятой номенклатуре (Branton D., Bullivant S., Gilula N.B. et al. 2010) эти поверхности имеют следующие обозначения: ES – экзоплазматическая поверхность мембраны, PS – протоплазматическая поверхность мембраны, EF – дополнительная поверхность скола протоплазматической мембраны. Кроме того, органеллы могут раскалываться поперек, обнажая при этом внутреннее строение.

Результаты исследования и их обсуждение. ES поверхность мембраны клеток эпидермиса гладкая, а сами клетки имеют округлую форму с множеством коротких выростов неправильной формы с плоской площадкой на их вершине. Последняя содержит множество микровыростов диаметром 5 – 7 нм. По – видимому, этими площадками соседние клетки контактируют друг с другом. Микровыросты, вероятно, представляют собой остатки волокон неясной природы (Brenner S., Politi Y. 1995), которые соединяют десмосомальные пластинки соседних клеток. На поперечных сколах эпидермиса клетки плотно прилегают друг к другу, разделены извилистым межклеточным пространством шириной 18 – 23 нм. На комплементарной (PF) поверхности клеточной мембраны выявляется незначительное количество мембраносвязанных частиц (МСЧ) диаметром 5 – 7 нм. Десмосомы представлены площадками неправильной формы, заполненными на PF – поверхно-

сти плотно расположенными структурами, по форме и размеру напоминающими МСЧ. В некоторых случаях можно отчетливо проследить агрегацию тонофибрилл в пучки в области десмосом. В основной своей массе они равномерно распределяются по всей клетке, а в отличие от типичной картины на электронной микрофотографиях, где они образуют сложную сеть тонофибриллярных пучков. Иногда десмосома представлена в виде плоского диска, вставленного как бы между внешними мембранами соседних клеток. В цитоплазме, наряду с тонофибриллами, выявляется множество округлых образований различного размера. В основном это митохондрии, меланосомы и различные вакуоли. Цистерны эндоплазматической сети и комплекса Гольджи в кератиноцитах эпидермиса обнаруживаются редко. Митохондрии, как правило, представлены выпуклыми или вогнутыми структурами. При этом на вогнутой РФ – поверхности обнаруживается незначительное количество мембраносвязанных частиц, а на выпуклой ЕФ – поверхности количество этих частиц несколько больше. Меланосомы обычно вытянутой овальной формы и их поверхность довольно ровная. Вакуоли имеют гладкую поверхность и различные размеры. Как правило, у органелл редко представлены поперечно сколотые поверхности.

Ядра кератиноцитов эпидермиса скалываются произвольно, нуклеоплазма на криофрактограммах представлена в виде мелкозернистого вещества, равномерно заполняющего ядро. Ядерная оболочка хорошо выявляется, и в ней различаются различные поверхности, образующиеся при скалывании образца. Наружная поверхность внутренней ядерной мембраны довольно гладкая, с небольшим количеством мембраносвязанных частиц диаметром 5 – 7 нм. Дополнительная поверхность (РФ) содержит значительное количество равномерно расположенных МСЧ, придающих ей шероховатый вид. При этом, как и на электронных микрофотографиях, на репликах отчетливо выявляются мембраны ядерной оболочки и заключенное между ними перинуклеарное пространство шириной 15 – 20 нм. На поверхности ядра обнаруживаются округлые структуры диаметром 80 – 100 нм, расположенные произвольно. Эти образования соответствуют ядерным порам.

По периферии поры выявляются округлые образования диаметром 15 – 20 нм, выступающие над оболочкой. Обычно их 8, в центре поры глобула не всегда обнаруживается. Идентичные структуры выявляются и на электронных микрофотографиях, если срез проходит через ядро тангенциально.

Базальная мембрана, зона дермо – эпидермального сплетения и дерма являются довольно сложным участком кожи для анализа и интерпретации криофрактограмм. Базальная мембрана, которая отчетливо видна на ультратонких срезах, на репликах обычно не определяется. В этой зоне кожи на репликах удается идентифицировать базальные кератиноциты и их внешнюю мембрану, а также нижележащие коллагеновые фибриллы, которые не всегда хорошо выявляются. Последние плотно прилегают друг к другу, их толщина 50 – 60 нм, а между собой они связаны мик-

рофибриллами диаметром 8 – 10 нм. Помимо поперечной исчерченности, на криофрактограммах коллагеновых фибрилл хорошо прослеживается их спиральная структура, сформированная микрофибриллами диаметром 8 – 10 нм. Между фибриллами располагаются вакуоли и фрагменты соединительнотканых клеток. Основное вещество дермы на репликах имеет ямки и бугорки неправильной формы и различной величины. Эластика представлена обширными полями с гомогенной структурой.

Таким образом, полученные данные, коррелирующие с ранее опубликованными (Алексеев А.Г., Банин В.В. и Ноздрин В.И., 2010; Aumailley M., Rouselle P., 1999). Наличие МСЧ на протоплазматической поверхности мембраны и их малое количество на экзоплазматической свидетельствует о том, что интегральные или трансмембранные белки более прочно связаны с внутренней поверхностью внешней мембраны клетки. По – видимому, незначительное количество МСЧ на Е – поверхности обусловлено периферическими белками, не полностью погруженными в бислой липидов (Chen J.D., Zhang K. Et al., 1993). Хотя некоторые (Lin M.S., Mascaro J.M.Jr., Liu Z. et al., 1997) исследователи полагают, что мембранные белки, несущие иммунные, гормональные, ферментативные и транспортные функции, имеют сродство к наружной поверхности внешней мембраны клетки. На ультратонких срезах десмосомы удается изучать в основном поперечных срезах, где они имеют лямеллярное строение.

Изучая криофрактограммы, можно предположить, что МСЧ, выявляемые на поверхностях десмосом, соответствуют трансмембранным или адсорбированным гликопротеидам, присутствие которых в этой области клеточной мембраны показано многими авторами (Nordlund J.J. and Boissy E., 2001; Виноградова Е.В., 2005), а некоторые (Калантаевская К.А. 2002) полагают, что межклеточное пространство между соседними десмосомами пронизано волокнами полисахаридной природы.

На криофрактограммах и электронных микрофотографиях выявляется различное пространственное расположение тонофибриллярного каркаса кератиноцитов. Не исключено, что это объясняется различными методами подготовки материала. Вполне вероятно, что предварительная фиксация, основанная на химической сшивке белковых молекул, приводит к искаженной картине распределения тонофибрилл в клетке.

При изучении ядерного аппарата клеток методом замораживания – скалывания можно более детально исследовать ядерную оболочку и пронизывающие её поры. Глобулярные структуры по периферии ядерных пор можно наблюдать на электронных микрофотографиях, если срез проходит тангенциально. По мнению ряда авторов (Alberts B., Johnson A., Lewis J. et al., 2002; Agache P.Q., Monneur C., Leveque J.L., DeRigal J., 2008), они являются макромолекулами из свернутых молекулярных цепей и, по всей видимости, идентичны интегральным белкам ядерной оболочки, но выполняют более специфические функции.

Литература:

1. Алексеев А.Г., Банин В.В. и Ноздрин В.И. Меланоциты кожи. // Морфология, 2009, Том 136, № 5, С – 81 – 89
2. Виноградова Е.В. Структурные основы прочности и растяжимости кожи человека по данным световой и растровой электронной микроскопии. // В кн.: Биомеханика. Профилактика, патогенез и лечение травм и ортопедических деформаций. Труды Рижского НИИТО. Рига, 2005, вып. 13, С. 169 – 174.
3. Калантаевская К.А. Морфология и физиология кожи человека. // Киев, Здоровье, 2002.
4. Цветкова Г.М. Морфология нормальной кожи человека. // В кн.: Патология кожи. М., Медицина, 1993, С – 5 – 115.
5. Agache P.Q., Monneur C., Leveque J.L., De Rigal J. Mechanical properties and Young's modulus of human skin in vivo. // Arch Dermatology Res, 2008, v. 269, p. 221 – 232.
6. Alberts B., Johnson A., Lewis J. et al. Molecular biology of the cell. // 4 th – ed., N.Y. Garland Science, 2002.
7. Aumailley M., Rousselle P. Laminins of the dermal – epidermal junction. // Matrix Biol. 1999, Vol 18, P – 19 – 28.
8. BrantonD.,BullivantS., GilulaN.B. etal. Freeze – etching nomenclature. Science, 2010, v. 190, p. 54-55
9. Brenner S., Politi Y. Dermatologic diseases and problems of women throughout the life cycle. // Int. J. Dermatology, 1995, v. 34, p. 369 – 379.
10. Chen J.D., Zhang K. Et al. Epidermal growth factor (EGF) promotes human keratinocyte locomotion on collagen by increasing the alpha-2 integrin subunit. // Exp. Cell. Res., 1993, v. 209 № 2, p. 216 – 223.
11. Lin M.S., MascaroJ.M.Jr., Liu Z. et al. The desmosome and hemidesmosome in cutaneous autoimmunity. // ClinExp Immunology, 1997, v. 137, p. 9 – 15.
12. Nordlund J. J. and Boissy E. Biology of melanocytes. In: The biology of skin. // Pearl River, N.Y., Parthenon Publishing, 2001, p. 113 – 131.

МОРФОЛОГИЯ КОЖИ ЧЕЛОВЕКА КРИОФРАКТОГРАФИЧЕСКИМ И ЭЛЕКТРОННОМИКРОСКОПИЧЕСКИМ МЕТОДАМИ

Ш.О. КОРЖАВОВ, Ж.К. АСЛАМОВ, С.И.
ХОТАМОВ

Самаркандский Государственный медицинский институт, Республика Узбекистан, г. Самарканд

Ультратонкие срезы от человека кожи живота и платины - угольной реплики, полученные с помощью сублимационной - методом гидроразрыва были изучены под микроскопом электрона. Трансмембранного белка выявлены на поверхности мембраны, как мембранных частиц с диаметром 5 - 7 мм.

Ключевые слова: эпидермис, кожа, криофрактограмма.