

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

## ВЛИЯНИЕ СТРЕССА НА МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЛИПИДНАКАПЛИВАЮЩИХ И ЛИПИДСИНТЕЗИРУЮЩИХ СТРУКТУР ОБЩЕГО ПОКРОВА КРЫСЫ

СОБОЛЕВСКАЯ И.С.\* , ГУСАКОВА Е.А.\* , ПАШИНСКАЯ Е.С.\* , ГРУШИН В.Н.\* , МЯДЕЛЕЦ М.О.\*\*

\*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

\*\* УЗ «Витебский областной кожно-венерологический диспансер»

### Резюме.

Продуцентами липидов кожи являются адипоциты жировой ткани; кератиноциты, производящие жиры в ходе терминальной дифференцировки; себоциты сальных желез, которые в ходе голокриновой секреции вырабатывают кожное сало. В работе представлен сравнительный анализ морфометрических показателей липидсодержащих и липидсинтезирующих структур общего покрова крыс под воздействием экспериментального стресса.

Ключевые слова: кожа, стресс, липиднакапливающие и липидсинтезирующие структуры.

### Abstract.

Producers of skin lipids are, firstly, adipocytes of fat tissue; secondly, keratinocytes, which produce fats in the course of terminal differentiation; thirdly, sebocytes of oil glands, which produce sebum through holocrine secretion. The paper deals with the results of the comparative analysis of morphometric indicators of lipid-containing and lipid-synthesizing structures of rats integument under the influence of experimental stress.

Key words: skin, stress, lipid-containing and lipid-synthesizing structures.

Важнейшую роль в обмене липидов в коже играют липиднакапливающие и липидсинтезирующие структуры, которые активно синтезируют, аккумулируют, а также выделяют жиры. За счет этой особенности данные структуры обеспечивают важнейшие функции нормальной кожи и ее косметические свойства. К данным структурам относятся эпидермис, сальные железы и жировая ткань гиподермы. Значение липидов, производимых этими компонентами кожного покрова, весьма велико.

Данные об изменениях в липидсинтезирующих и липиднакапливающих структурах кожи в состоянии стресса имеют большое значение для понимания места и роли липидного компонента в разрывании механизмов нарушения нормального структурно-функционального состояния кожи, возникновения и обострения индуцированных стрессом

дерматозов. Известно, что в основе многих кожных заболеваний, таких, как атопический дерматит, псориаз, экзема, лежит нарушение барьерно-защитной функции кожи, и, что все эти виды патологии возникают или обостряются при стрессе [3]. Однако до настоящего времени отсутствуют литературные данные, посвященные оценке качественных и количественных показателей липиднакапливающих структур общего покрова под действием стрессорных факторов.

Результаты исследования в этой области откроют возможность поиска новых путей ограничения и предупреждения негативных последствий стресса на структурное состояние кожи и выполнение ею своих специфических функций.

В связи с этим целью исследования является изучения влияния стресса на липидсо-

держание и липидсинтезирующие структуры общего покрова крысы.

### Методы

Опыты поставлены на 10 половозрелых беспородных белых крысах-самцах массой 220-250 г в осенне-зимний период. Крыс содержали в стандартных клетках на сбалансированном рационе в условиях вивария. За две недели до начала исследования подопытные животные проходили карантин и содержались на стандартном рационе в сухом помещении с искусственным освещением.

Стресс моделировали по методике «свободное плавание в клетке» (СПК) [1] в течение 1 часа. Животные плавали в стандартной пластиковой клетке (50x30x20 см), заполненной водой (22°C) на высоту 15 см и закрытой сверху сеткой. В клетку помещали по 5 особей. Расстояние от сетки до поверхности воды составляло 5 см. Животных забивали декапитацией под уретановым наркозом (1 г/кг массы тела) через 1 час.

Для исследования использовали участки кожи из пяти топографических областей: голова, грудь, эпигастральная область, спина, паховая область.

Для световой микроскопии материал фиксировали в кальций-формоле. Гистологические срезы изготавливали на замораживающем микротоме и окрашивали гистохимическими методами, используя специальные красители для выявления липидов: специфический краситель судан III и IV, Oil Red в изопропанолу с последующей докраской гематоксилином, а также судан черный В с докраской квасцовым кармином. Оценку морфологических признаков проводили на светооптическом уровне при увеличении x100, x200, x400, x630 и x1000. Цифровые данные получали с помощью микроскопа Leica DM 2000 с видеопроекционной системой, используя прикладную морфометрическую программу Leica «LAS V3.6».

Для получения гистологической информации учитывали следующие показатели:

1. Количество сальных желез в 10 полях зрения микроскопа (ок.10, об.20);
2. Глубина залегания сальных желез в дерме (мкм);
3. Ширина концевых (секреторных) отделов сальных желез (мкм).

4. Диаметр адипоцитов подкожной основы и дермы (мкм);

5. Интенсивность окраски слоев эпидермиса выражали в условных единицах (полуколичественный метод) по общепринятой пяти балльной системе (0 – отсутствие окраски, 1 – слабая, 2 – умеренная, 3 – высокая, 4 – очень высокая, 5 – максимальная степень окраски).

Статистическую обработку данных проводили с помощью прикладных программ MS Excel 2007 и Statistica 6.0. Оценку вида распределения изучаемых признаков осуществляли с помощью критерия Шапиро-Уилка, Колмагорова-Смирнова и Лиллиефорса [2]. При сравнении количественных и качественных признаков в двух группах использовали критерий U Вилконсона-Манна-Уитни. Различия считали достоверными при уровне значимости менее 0,05 ( $p < 0,05$ ). Рассчитывали среднюю (M), медиану (Me), размах (Min–Max), межквартильный интервал (25-й и 75-й процентиля), а также 95% доверительный интервал (ДИ) для медианы и средней [5]. Результаты в тексте отображали в виде средней и ДИ.

### Результаты и обсуждение

Результаты исследования показали, что количество сальных желез у крыс при стрессе по сравнению с контролем оставалось неизменным, что, может свидетельствовать о постоянном уровне содержания в коже с момента закладки и дифференцировки в ходе эмбриогенеза и в разные сроки постнатального развития.

При оценке показателей глубины залегания сальных желез исследуемых регионов кожи наблюдались достоверные различия. Как видно из рисунка 1, при стрессе отмечалось увеличение глубины залегания желез по сравнению с контролем в области груди (в 1,97 раза,  $p_{\text{Mann-Whitney}} < 0,001$ ) и бедра (в 1,22 раза,  $p_{\text{Mann-Whitney}} < 0,05$ ), а в области головы (в 1,1 раза), живота (в 1,25 раза) и спины (в 1,77 раза) железы были расположены более поверхностно в дерме ( $p_{\text{Mann-Whitney}} < 0,01$ ) (рис. 1). Такую динамику можно объяснить изменением толщины эпидермиса за счет увеличения или уменьшения количества слоев рогового слоя, а также изменением толщины сетчатого слоя дермы за счет количества и объема во-



Рисунок 1 – Глубина залегания сальных желез в коже крыс пяти топографических областей (мкм):  
\* - достоверное отличие от данных кожи в норме (при  $p_{\text{Mann-Whitney}} < 0,01-0,05$ ).



Рисунок 2 – Ширина концевых отделов сальных желез в коже крыс пяти топографических областей (мкм):  
\* - достоверное отличие от данных кожи в норме (при  $P_{\text{Mann-Whitney}} < 0,01-0,05$ ).

локнистого соединительнотканного компонента.

При изучении ширины (диаметра) концевых отделов (альвеол) сальных желез были обнаружены некоторые различия в размере концевых отделов по сравнению с контролем в области живота (увеличение с 27,55 мкм (95% ДИ: 27,23 – 27,87), до 31,98 мкм (95%

ДИ: 28,26 – 35,69),  $p_{\text{Mann-Whitney}} < 0,05$ ) и бедра (уменьшение с 46,29 мкм (95% ДИ: 45,95 – 46,63), до 31,35 мкм (95% ДИ: 28,64 – 34,05)),  $p_{\text{Mann-Whitney}} < 0,001$ ) (рис. 2). Это, вероятно, обусловлено максимальным соприкосновением этих регионов кожи с водой в ходе эксперимента. В результате под действием этого стрессорного фактора сосуды сужаются, и,

следовательно, кровообращение дермы ухудшается, что приводит к уменьшению поступления липидов в себоциты сальных желез.

В других исследуемых областях достоверных изменений ширины концевых отделов сальных желез в коже при действии стресса не наблюдалось.

Наиболее значимые колебания под действием стресса, как видно из рисунка 3,

отмечались в показателях диаметра адипоцитов подкожной основы и дермы. Так, под действием стрессовых факторов наблюдалась тенденция к снижению размеров адипоцитов дермы (в 1,18 - 2,17 раза в коже груди, живота и спины ( $p_{\text{Mann-Whitney}} < 0,001$ ). В то же время, в коже головы было зарегистрировано достоверное увеличение диаметра клеток в 1,41 раза ( $p_{\text{Mann-Whitney}} < 0,001$ ). В



Рисунок 3 – Диаметр дермальных адипоцитов в коже крыс пяти топографических областей (мкм): \* - достоверное отличие от данных кожи в норме ( $P_{\text{Mann-Whitney}} < 0,01-0,05$ ).



Рисунок 4 – Диаметр гиподермальных адипоцитов в коже крыс пяти топографических областей (мкм): \* - достоверное отличие от данных кожи в норме ( $P_{\text{Mann-Whitney}} < 0,01-0,05$ ).

коже бедра значимые различия отсутствовали (рис. 3).

Вместе с тем, в гиподерме отмечалось достоверное ( $p_{\text{Mann-Whitney}} < 0,005$ ) увеличение размера адипоцитов кожи груди (в 2,4 раза), живота (в 1,92 раза), спины (в 1,54 раза) и бедра (в 1,16 раза). Исключение составила кожа головы где, напротив, выявлено статистически значимое снижение (в 1,08 раза,  $p_{\text{Mann-Whitney}} < 0,005$ ) размеров адипоцитов по сравнению с контролем (рис. 4).

Еще одной структурой кожи, которая претерпевает некоторые изменения при действии стрессового фактора, является эпидермис. Липиды в нем образуются в результате терминальной дифференцировки кератиноцитов и выявляются в той или иной степени во всех слоях эпидермиса. Совместно с секретом сальных желез поверхностные эпидермальные липиды образуют липидную пленку на поверхности кожи.

В результате исследований было установлено, что под действием стресса интенсивность окраски поверхностных липидов кожи (ПЛК), слущивающегося, собственно рогового и зернистого слоев эпидермиса остается без видимых изменений. При этом в шиповатом слое межклеточные и внутриклеточные липиды отсутствуют по сравнению с нормальной кожей крыс. Это может свидетельствовать о том, что стресс приводит к снижению процесса липидообразования в эпидермисе, а соответственно – к повышению проницаемости кожи и замедлению скорости восстановления эпидермального барьера.

### Заключение

Таким образом, под влиянием экспериментально вызванного стресса, на фоне ослабления регуляции адаптационных механизмов кожи, происходят структурные изменения, подавляющие или, напротив, активирующие защитные системы общего покрова, что, соответственно, приводит к нарушению его клеточного и тканевого гомеостаза. Это повышает приспособленность организма к стрессорным условиям. Как известно, воздействие стресса приводит к выработке определенных гормонов стресса (например, кортизол), которые, в свою очередь, оказывают непосредственное влияние на липидсинтези-

рующие и липиднакапливающие структуры кожи. За счет действия гормонов происходит нарушение кровоснабжения дермы и, таким образом, поверхностные участки лишаются притока крови. Отмечается снижение поступления питательных веществ и кислорода к базальным клеткам эпидермиса. Это, вероятно, замедляет скорость деления и дифференцировки кератиноцитов, и как результат - снижение синтеза липидов и работы трансэпидермального барьера.

В гиподерме стресс усугубляет процесс накопления массы жировой ткани (увеличение размеров жировых клеток), возможно, за счет нарушения метаболизма, что приводит к аккумулялированию липидов внутри клетки и в итоге – к ожирению. В дерме же наблюдается обратный эффект. Усиливается липолиз, что ведет к выделению энергии, необходимой для нормальной работы придатков кожи. В результате этого процесса появляются адипоциты, содержащие небольшое количество жира.

### Выводы:

1. Глубина залегания сальных желез при стрессе в 1,22 – 1,97 раза больше в области груди и бедра и в 1,1–1,77 раза меньше в коже головы, живота и спины.

2. Диаметр концевых отделов сальных желез под действием экспериментального стресса увеличивается в области живота и уменьшается в коже бедра. В остальных регионах кожи ширина альвеол остается практически без изменений.

3. Размеры адипоцитов гиподермы и дермы кожи отличаются от таковых в норме. Так, диаметр клеток дермы в области груди, живота и спины в 1,18 – 2,17 раза меньше, а в гиподерме, напротив, в 1,16 – 2,4 раза больше. Исключение составляют адипоциты кожи головы, которые в 1,41 раза больше в дерме и в 1,08 раза меньше в подкожной основе.

4. В коже всех топографических областей интенсивность окраски липидов эпидермиса при действии стресса оставалась практически неизменной.

### Литература

1. Бондаренко, С.Н. Влияние различных методик стрессирования и адаптации на поведенческие и соматические показатели у крыс / С.Н. Бон-

- даренко, Н.А. Бондаренко, Е.Б. Манухина // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1999. – Т. 128, № 8. – С.157-160.
2. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica / О.Ю. Реброва. – М. : МедиаСфера, 2002. – 312 с.
3. Эрнандес, Е.И. Липидный барьер кожи и косметические средства / Е.И. Эрнандес, А.А. Марголина, А.О. Петрухина. – 3-е изд. – М. : КЛАВЕЛЬ, 2005. – 400 с.

*Поступила 09.09.2013 г.*

*Принята в печать 06.12.2013 г.*

**Сведения об авторах:**

Соболевская И.С. – к.б.н., старший преподаватель кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии УО «ВГМУ»;

Гусакова Е.А. – ассистент кафедры общей и физико-органической химии УО «ВГМУ»;

Пашинская Е.С. – к.б.н., ассистент кафедры медицинской биологии и общей генетики УО «ВГМУ»;

Грушин В.Н. – к.вет.н., доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии УО «ВГМУ»;

Мяделец М.О. – врач УЗ «Витебский областной кожно-венерологический диспансер».

**Адрес для корреспонденции:** 210023, г.Витебск, пр-т Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии. Тел.моб.: +375 (33) 697-85-69 – Соболевская Ирина Сергеевна.