

УДК 611–018:611.778:611.91+611.9

© Т. А. Коломоец, 2013

СТАНОВЛЕНИЕ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА В ЗАКЛАДКАХ КОЖИ В РАННЕМ ЭМБРИОГЕНЕЗЕ ЧЕЛОВЕКА

Т. А. Коломоец

Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии (зав. — профессор Е. Ю. Шаповалова), ГУ «Крымский государственный медицинский университет имени С. И. Георгиевского». 95006 Украина, г. Симферополь, бул. Ленина 5/7. E-mail:

FORMATION OF CARBOHYDRATE EXCHANGE IN THE SKIN GERMS IN THE EARLY HUMAN EMBRYOGENESIS

T. A. Kolomojets

SUMMARY

Quantitative content of components of carbohydrate exchange — glycogen and glycoproteins — has been investigated with the help of PAS-reaction and cytospectrophotometry in 122 human embryos at the age of 21 days to 12 weeks of intrauterine development. In the epithelial and mesenchymal germs of skin biosynthesis of glycogen and glycoproteins begins from 35 days of embryo development (embryos of 6.5 mm in length). Biosynthesis of glycogen with increase of embryo age rises, and then is replaced by biosynthesis of more compound substances — glycoproteins. Epithelial cells of epidermis and cells of embryonic connective tissue of dermis until 62 days (embryos of 32 mm in length) are more active in synthesis of glycogen. After this age biosynthesis of glycoproteins gradually rises and predominates over biosynthesis of glycogen at common increase of total PAS-positive substances in epidermis and their decrease in dermis.

СТАНОВЛЕННЯ ВУГЛЕВОДНОГО ОБМІНУ В ЗАКЛАДКАХ ШКІРИ В РАНЬОМУ ЕМБРИОГЕНЕЗІ ЛЮДИНИ

Т. А. Коломосц

РЕЗЮМЕ

Кількісний зміст [вміст] компонентів вуглеводного обміну — глікогену і глікопротеїнів — вивчено за допомогою ШИК-реакції і цитоспектрофотометрії у 122 зародків людини у віці від 21 доби до 12 тижнів внутріутробного розвитку. У епітеліальних і мезенхімних [закладках] [закладеннях] шкіри біосинтез глікогену і глікопротеїнів починається з 35 днів розвитку (зародки 6,5 мм довжини). Біосинтез глікогену [з] [з] збільшенням віку зародків наростає, а потім змінюється біосинтезом складніших з'єднань [сполучень] — глікопротеїнів. Епітеліоцити епідермісу і клітини ембріональної сполучної тканини дерми до 62-ої доби (зародки 32 мм довжини) активніше синтезують гомоглікан [глікоген]. Після [потім] цього віку біосинтез глікопротеїнів поступово зростає і переважає над біосинтезом глікогену при загальному [спільному] збільшенні сумарних ШИК-позитивних речовин в епідермісі і зменшенні в дермі.

Ключевые слова: эмбриогенез человека, кожа, гликоген, гликопротеины.

Кожа человека развивается в результате взаимодействия эпителия и подлежащей мезенхимы, которые воздействуя друг на друга, обеспечивают образование целостного органа, состоящего из разнородных элементов, формирующих эпидермис с его производными и соединительнотканную основу дермы. Все его структурные компоненты, выполняя различные функции, объединены в единое функциональное целое [10]. Пороки развития кожи — мало изученная гетерогенная группа заболеваний, чаще всего связанная с нарушением развития соединительной ткани дермы. Эта группа заболеваний включает более десяти клинических форм [11], причем среди них ряд системных заболеваний, таких как туберозный склероз, синдром Бушке-Оллендорф, псевдоксантома эластическая [4]. Для этой патологии характерно медленное прогрессирование и существование в течение всей жизни [5].

В пренатальном органогенезе гликоген и гликопротеины являются энергетическим и пластическим материалом, обеспечивающим дифференцировку клеток многих органов [2, 9]. В настоящий

момент нами не найдена информация о содержании этих компонентов углеводного обмена при дифференцировке закладок кожи человек, несмотря на несомненную актуальность данной проблемы.

Целью нашего исследования явилось определение содержания и перераспределения гликогена и гликопротеинов в клетках эпителиальных и мезенхимных закладок кожи эмбрионов человека, развивавшихся в матке при отсутствии явно выраженных повреждающих факторов внешней и внутренней среды.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на 122 зародышах и предлодах человека в возрасте от 21 суток до 12 недель внутриутробного развития. Это дало возможность изучить зародыши человека на стадиях последовательно от раннего периода нервного желобка до начала дефинитивного плодного периода. Обзорные препараты окрашивали гематоксилином и эозином [6]. Гликоген и гликопротеины выявляли ШИК-реакцией [1]. Количество ШИК-позитивных веществ в срезах измеряли с помощью цитоспектро-

фотометра, сконструированного на базе ультрафиолетового микроскопа МУФ — 3М и спектрофотометра СФ — 4А при длине волны 575 нм и диаметре светового зонда 1 мкм. Определяли среднее значение поглощенного света, выраженное в условных единицах. Содержание гликогена в препаратах определяли путем оценки разности между количеством ШИК-положительных веществ в препаратах, предварительно обработанных альфа-амилазой в течение 1 часа при температуре 38°C.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Цитохимические исследования показали, что у одного из самых ранних зародышей человека в возрасте 35 суток (6,5 мм длины) эктодермальный покров представлен однослойным кубическим эпителием с четкими границами между клетками. Базальная мембрана просматривается не на всем протяжении. ШИК-реакция дает неяркое розовое окрашивание цитоплазмы клеток. Количество ШИК-положительных веществ составляет 20,15±0,11 у.е. (табл. 1). Гранул гликогена мало. Они небольших

размеров и равномерно распылены по цитоплазме клеток эпителиальных пластов. Количество гликогена выражается 17,83±0,03 у.е. После обработки срезов амилазой розовая окраска цитоплазмы сохраняется, свидетельствуя о присутствии здесь гликопротеинов. Их количество мало и составляет 2,32±0,08 у.е. Подлежащая мезенхима не уплотнена. Цитоплазма клеток слабо базофильна. Длинные тонкие отростки соседних клеток, соединяясь, образуют крупнопетлистый синцитий. Ядра округлой формы. При изучении серийных срезов обнаружено малое количество равномерно и мелко распыленного гликогена по цитоплазме. После воздействия амилазой в цитоплазме клеток мезенхимы сохраняется слабое розовое диффузное прокрашивание, являющееся маркером наличия здесь гликопротеинов. Результаты цитоспектрофотометрического анализа представлены в табл. 2.

Поскольку направление и темпы дифференцировки клеток связаны непосредственно с налаживанием специфического биосинтеза, метаболический показатель в развивающейся системе

Таблица 1
Содержание компонентов ШИК-положительных веществ в клетках эпидермиса кожи эмбрионов человека

Возраст в сутках	ШИК-положительные вещества		Гликопротеины		Гликоген	
	$\bar{X} \pm Sx$ (в у.е.)	% прироста	$\bar{X} \pm Sx$ (в у.е.)	% прироста	$\bar{X} \pm Sx$ (в у.е.)	% прироста
35	20,15±0,11	-	2,32±0,08	-	17,83±0,03	-
38	20,15±0,11	-	2,32±0,08	-	17,83±0,03	-
42	31,18±0,16	+35,38	2,87±0,04	+19,16	28,31±0,12	+37,02
47	42,68±0,14	+26,94	7,49±0,07	+61,68	35,19±0,07	+19,55
52	51,08±0,12	+16,44	8,35±0,04	+10,30	42,73±0,08	+17,65
62	56,03±0,12	+8,83	17,64±0,06	+52,66	38,39±0,06	-10,16
10 нед	56,79±0,14	+1,34	29,38±0,07	+39,96	27,41±0,07	-28,60
12 нед	57,34±0,14	+0,96	34,85±0,06	+15,70	22,49±0,08	-17,95

Таблица 2
Содержание компонентов ШИК-положительных веществ в клетках эмбриональной соединительной ткани кожи эмбрионов человека

Возраст в сутках	ШИК-положительные вещества		Гликопротеины		Гликоген	
	$\bar{X} \pm Sx$ (в у.е.)	% прироста	$\bar{X} \pm Sx$ (в у.е.)	% прироста	$\bar{X} \pm Sx$ (в у.е.)	% прироста
35	5,15±0,01	-	1,05±0,01	-	4,10±0,01	-
38	6,26±0,02	+17,73	1,52±0,01	+30,92	4,76±0,01	+13,87
42	12,56±0,03	+50,16	1,99±0,01	+23,62	10,57±0,02	+54,97
47	47,14±0,13	+73,36	8,64±0,05	+76,97	38,50±0,08	+72,55
52	47,98±0,15	+1,75	8,87±0,07	+2,59	39,11±0,08	+1,56
62	48,27±0,14	+0,61	16,53±0,08	+46,34	31,74±0,06	-18,84
10 нед	47,03±0,14	-2,57	20,42±0,09	+19,05	26,61±0,05	-16,16
12 нед	46,15±0,15	-1,88	28,31±0,09	+27,87	17,84±0,06	-32,96

является основным признаком, характеризующим состояние и потенциальные возможности клеток и их популяций [7]. Метаболическая активность эмбриональных клеток определяется синтезом гликогена. С биосинтезом этого гомогликана на ранних этапах эмбриогенеза сопряжено становление иммунохимических и защитных реакций [3, 12]. У поврежденных и находящихся в состоянии регрессии эмбрионов происходит не только снижение количества гликогена и гликопротеинов, но даже исчезновение из закладок [8]. До 52-х суток (зародыши 23 мм длины) клетки эпителиальных и мезенхимных закладок кожи очень активно синтезируют ШИК-положительные вещества в основном за счет гликогена, демонстрируя высокий процент прироста по сравнению с предыдущим возрастом (см. табл. 1 и табл. 2).

На 62-е сутки (зародыши 32 мм длины) эпидермис кожи имеет двухслойное строение. Базальный слой состоит из кубических клеток с базофильной цитоплазмой. На поверхности этих клеток лежит второй слой, образованный мелкими клетками с более темными круглыми ядрами. Базальная мембрана развита слабо. По цитофотометрическим измерениям количества полисахаридов в клетках эпидермиса, представленных в табл. 1, обращает на себя внимание нарастание и усложнение биосинтеза углеводных компонентов ткани. В эпителиоцитах увеличилось содержание гликопротеинов и снизилась продукция гликогена при, по-прежнему, общем росте количества ШИК-положительных веществ. Аналогичная картина прослеживается в клетках эмбриональной соединительной ткани кожи, однако количество ШИК-позитивных веществ не достигает уровня эпителиальных клеток эпидермиса (см. табл. 2). В последующем до конца изученного периода внутриутробного развития к 12-ти неделям (зародыши 70 мм длины) толщина эпидермиса заметно увеличивается. На четко видимой базальной мембране лежит 3–4 слоя кубических эпителиальных клеток со слабо базофильной цитоплазмой и округло-овальными ядрами. Поверхностные клетки уплощены. В результате ШИК-реакции количество веществ, тропных к этой реакции, несколько увеличивается, демонстрируя низкий процент прироста (см. табл. 1). Малочисленные красно-фиолетовые гранулы гликогена четко контурируются на яркорозовом фоне цитоплазмы клеток эпидермиса кожи. После предварительного воздействия амилазой гранулы гомогликана не выявляются, но в срезе сохраняется яркое розовое окрашивание цитоплазмы, указывающее на наличие в клетках значительного количества гликопротеинов. В эмбриональной соединительной ткани дермы молодые фибробласты веретенной формы. Их ядра повторяют форму клеток. После окраски реактивом ШИФФА обна-

руживается уменьшение количества гликогена. Параллельно с этим клетки продуцируют во все возрастающих количествах гликопротеины, хотя общий суммарный биосинтез ШИК-положительных веществ падает (см. табл. 2).

ВЫВОДЫ

1. В эпителиальных и мезенхимных закладках кожи биосинтез гликогена и гликопротеинов начинается с 35 суток развития (зародыши 6,5 мм длины).

2. Биосинтез гликогена, являющегося энергетическим и пластическим материалом, с увеличением возраста зародышей нарастает, а затем сменяется биосинтезом более сложных соединений — гликопротеинов.

3. Эпителиоциты эпидермиса до 62-х суток (зародыши 32 мм длины) активнее синтезируют гомогликан гликоген. После этого возраста биосинтез гликопротеинов постепенно возрастает и преобладает над биосинтезом гликогена при общем увеличении суммарных ШИК-положительных веществ.

4. Клетки эмбриональной соединительной ткани дермы до 62-х суток (зародыши 32 мм длины) активнее синтезируют гомогликан гликоген. Затем биосинтез гликопротеинов постепенно возрастает и преобладает над биосинтезом гликогена при общем уменьшении суммарных ШИК-положительных веществ.

5. В изученный отрезок пренатального онтогенеза общее содержание ШИК-позитивных веществ выше в цитоплазме клеток эпидермиса по сравнению с клетками эмбриональной соединительной ткани.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Изучение особенностей становления углеводного обмена кожи на основе методов гистохимии в раннем эмбриогенезе поможет вскрыть закономерности нормального развития этого органа, нарушающегося при формировании пороков развития тканей кожи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Горальський Л. П. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології / Л. П. Горальський, В. Т. Хомич, О. І. Кононський. — Житомир «Полісся», 2011. — 215 с.
2. Жарков С. В. Некоторые особенности биосинтеза полисахаридных комплексов мезенхимными производными в нефрогенезе у человека: первичная почка / Жарков С. В., Шаповалова Е. Ю. // Український морфологічний альманах. — 2005. — Т. 3, № 1. — С. 96–98.
3. Костиленко В. А. Гистохимические особенности подчелюстных слюнных желез у сельскохозяйственных животных / В. А. Костиленко // Акт. вопр. морфології. — Черновці, 1990. — С. 160.
4. Мордовцев В. Н. Наследственные заболевания кожи / В. Н. Мордовцев, К. Н. Суворова. — Алма Ата, 1995. — 70 с.

5. Пономарев А. А. Редкие кожно- висцеральные синдромы / А. А. Пономарев, Е. П. Куликов, Н. С. Караваев. — Рязань, 1998. — 600 с.
6. Руководство по гистологической, гистохимической и иммуногистохимической технике / Марковский В. Д., Сорокина И. В., Гольева Н. В. [и др.]. — Харьков, 2010. — 151 с.
7. Слука Б. А. Роль липидсинтезирующей функции легких в эмбриогенезе / Б. А. Слука // Морфология. — 1998. — Т. 113, № 3. — С. 111.
8. Чех С. Обмен гликогена в эмбрионах млекопитающих предимплантационного периода / С. Чех, О. В. Волкова, С. С. Мисюлин // Архив АГЭ. — 1982. — № 8. — С. 88–95.
9. Шаповалова Е. Ю. Изменение углеводного состава тканей в процессе раннего эмбрионального гистогенеза поджелудочной железы у человека / Е. Ю. Шаповалова, А. Д. Луцик // Таврический медико-биологический вестник. — 2000. — № 3–4. — С. 193–197.
10. Шихов А. В. Взаимосвязь потовых желез и структурных элементов кожи человека у плодов и новорожденных / А. В. Шихов // Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения: матер. 52 науч. конф. молод. ученых и студ. — Екатеринбург: Изд. ИГМА, 1997. — С. 229–230.
11. Pierard G. E. Nevi of connective tissue a reappraisal of their classification / G. E. Pierard, Charles V. Lapiere // The American journal of dermatopathology. — 1985. — Vol. 7, N 4. — P. 325–333.
12. Post M., Smith B. T. Histochemical and immunocytochemical identification of alveolar type II / M. Post, B. T. Smith // Am. Rev. Respir. Dis. — 1988. — Vol. 137, N3. — P. 525–530.