

6. Левченко В. І. Ветеринарна клінічна біохімія / [В. І. Левченко, В. В. Влізло, І. П. Кондрахін та ін.] ; За ред. В. І. Левченка і В. Л. Галяса. – Біла Церква, 2002. – 400 с.
7. Влізло В. В. Лабораторна діагностика у ветеринарній медицині / В. В. Влізло, І. А. Максимович, В. Л. Галяс, М. І. Леньо. – Львів, 2008. – 90 с.

Рецензент: завідувач лабораторії екологічної фізіології та якості продукції, доктор ветеринарних наук, професор, член-кореспондент НААН Федорук Р. С.

УДК 611.781: 616.594.1

УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ВОВНЯНОГО ВОЛОКНА ЗА НОРМИ ТА ПАТОЛОГІЧНОГО СТОНШЕННЯ

В. В. Гавриляк

Інститут біології тварин НААН

Досліджували поверхню та поперечні зрізи вовняного волокна за норми та патологічного стоншення, відомого як «голодна тони́на» за допомогою скануючої (SEM) та трансмісійної електронної мікроскопії (ТЕМ). Ідентифікували такі клітинні структури вовняного волокна як його кортекс і кутикулу, а також такі тонкі субламелярні компоненти кутикули як А-шар, екзо-, ендокутікула та клітинно-мембранні комплекси. Показано, що для вовняного волокна характерна білатеральна диференціація кортексу на дві морфологічно відмінні ділянки – орто- і паракортекс.

Виявлено пошкодження кутикулярного шару вовняного волокна як у нормі, так і за умов його патологічного стоншення.

Ключові слова: ВОВНЯНЕ ВОЛОКНО, УЛЬТРАСТРУКТУРА, КУТИКУЛА, КОРТЕКС, ПАТОЛОГІЧНЕ СТОНШЕННЯ.

Виняткове значення вовни для текстильної промисловості обумовило ґрунтовне вивчення її структури, хімічного складу та фізичних параметрів. Сучасні уявлення про ультраструктуру кератинових волокон склалися в основному завдяки застосуванню електронної мікроскопії, яка дозволяє оцінити властивості кератинових волокон та їх структурних компонентів на мікро/нанорівнях, що не лише збагачує наші знання про це нанокомпозитне волокно, але й несе важливу інформацію, необхідну для діагностики його різноманітних пошкоджень та захворювань [1–3].

Хоча дослідження структури вовни були предметом інтенсивних досліджень, проте у доступній літературі відсутні повідомлення про особливості ультраструктури вовняного волокна при його патологічному стонненні. Тому метою роботи було порівняти структуру вовняного волокна асканійських кросбредних вівцематок у нормі та з «голодною тониною». У зв'язку з цим варто наголосити, що патологічне стоншення вовни, або так звана «голодна тони́на», є серйозною вадою, що виражається у різкому стонненні та втраті міцності волокна і супроводжується одночасним зменшенням розмірів як кутикули, так і кортексу.

Матеріали і методи

Об'єктом досліджень були вовняні волокна асканійських кросбредних вівцематок, що належали Інституту тваринництва степових районів ім. М. Ф. Іванова «Асканія-Нова». У своїй роботі ми використовували штапель руна із видимою вадою, так званою «голодною тониною». Поперечні зрізи готували із двох різних ділянок одного і того ж волокна – нормального та з ознаками патологічного стоншення.

Зразки вовни спочатку промивали у нейтральному мийному розчині, ретельно споліскували, висушували і екстрагували спочатку в апараті Сокслетта

чотирихлористим вуглецем, а потім сумішшю спирт-ефір. Для роботи брали пучки по 10–20 штук паралельно розміщених волосин довжиною 8–10 мм.

Поверхню вовняного волокна досліджували за допомогою скануючого електронного мікроскопа JEOL JSM-T 220A, а поперечні зрізи – трансмісійного електронного мікроскопа ПЕМ-100.

Для отримання зображень зразки фіксували за допомогою осміевого фіксатора (1,5 %- ний розчин чотирихлориду осмію в 0,2 н какодилатному буфері (pH 7,2) протягом 24 годин за кімнатної температури, потім промивали та зневоднювали за загальноприйнятою схемою [4].

Для забезпечення стікання заряду для скануючої мікроскопії зразок напиляли міддю за допомогою установки ВУП-5.

Для отримання зображень у електронному трансмісійному мікроскопі зневоднені препарати заливали в епоксидну смолу EPON 812 і MNA. Перед заливкою зразок просочували заливочним середовищем, розведеним оксидом пропілену у співвідношенні 1:1, а потім – у чистому заливочному середовищі протягом 12 години за кімнатної температури.

Полімеризацію блоків проводили в термостаті при 60 °C протягом 48 годин. Із отриманих блоків готували зрізи на ультратомі УМТП 6М за допомогою алмазного ножа фірми «Diatome» (Швейцарія). Ультратонкі зрізи контрастували цитратом свинцю і ураніл-ацетатом і використовували для перегляду та фотографування. У роботі використовували оксид осмію фірми «Sigma», а решту реактивів – фірми «Fluka».

Фотографії в електронному трансмісійному мікроскопі отримували за допомогою цифрової фотокамери «Sony H 9» при збільшення 8000–10000.

Результати й обговорення

Результати досліджень поверхні вовняних волокон, отримані за допомогою SEM, представлені на рисунках 1–3.

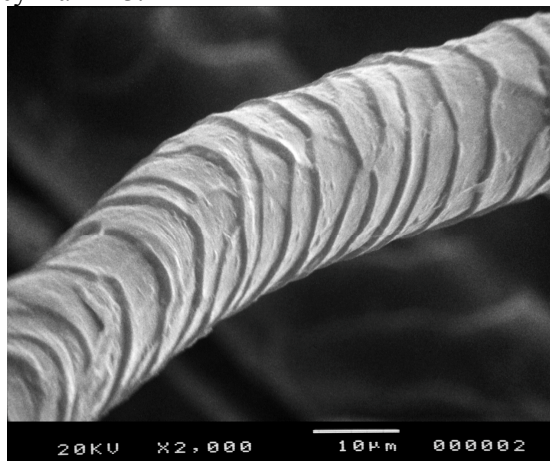


Рис. 1. Зовнішня поверхня вовняного волокна, отримана за допомогою SEM

Як видно з рисунка 1, морфологічна будова кутикулярного або поверхневого шару характеризується кільцеподібною формою лусочок, які орієнтовані у напрямку до верхівки волокна. Такий малюнок кутикули характерний для пухових волокон та перехідного волоса.

На рисунках 2–3 показано пошкодження зовнішніх кутикулярних клітин, яке включає сколення та розщеплення країв лусочок. Дрібні частинки різної форми та

щільності, що спостерігаються на поверхні волокон, очевидно, слід розглядати як продукти механічного руйнування лусок, залишки жиропоту та сторонні забруднення.

На рисунках 4–5 представлена загальна картина ультраструктури вовняного волокна. Зовні волокно оточене кутикулою, основну його частину становить кортекс, а серцевина відсутня.

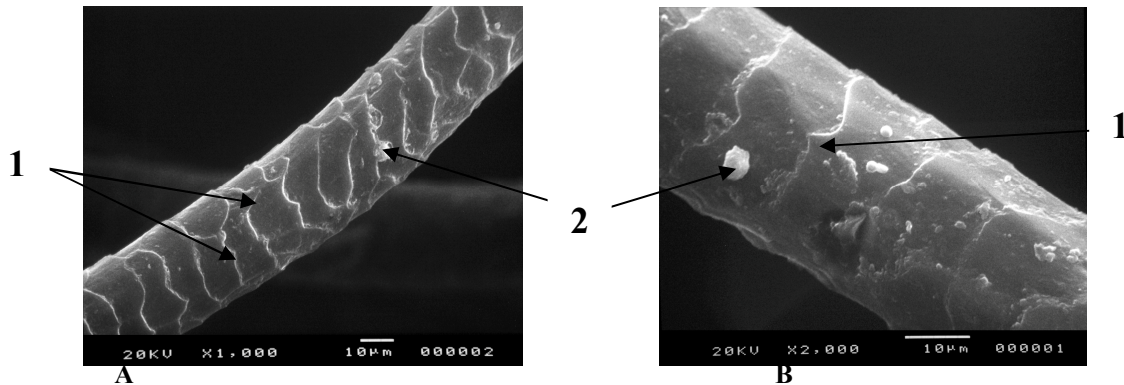


Рис. 2–3. Зображення зовнішньої поверхні вовняного волокна у нормі (А) та на ділянці з «голодною тониною» (В), отримане за допомогою SEM (1 – пошкодження кутикули; 2 – сторонні вclusions)

У результаті наших досліджень показано, що на різних ділянках кутикулярний шар вовни асканійських кросбредів складається із 1-3 клітин. На рисунку 4 показано розшарування між цими клітинами, що може вказувати на пошкодження клітинно-мембранного комплексу (КМК). Проте, самі внутрішньоклітинні шари залишаються незмінними за винятком тих волокон, де відмічене істотне пошкодження кутикулярних клітин, або взагалі їх втрата (рис. 4–5). Варто зауважити, що такі ушкодження зустрічаються як на нормальній ділянці вовни, так і на стоншеній, що свідчить насамперед про вплив зовнішніх чинників на волокно.

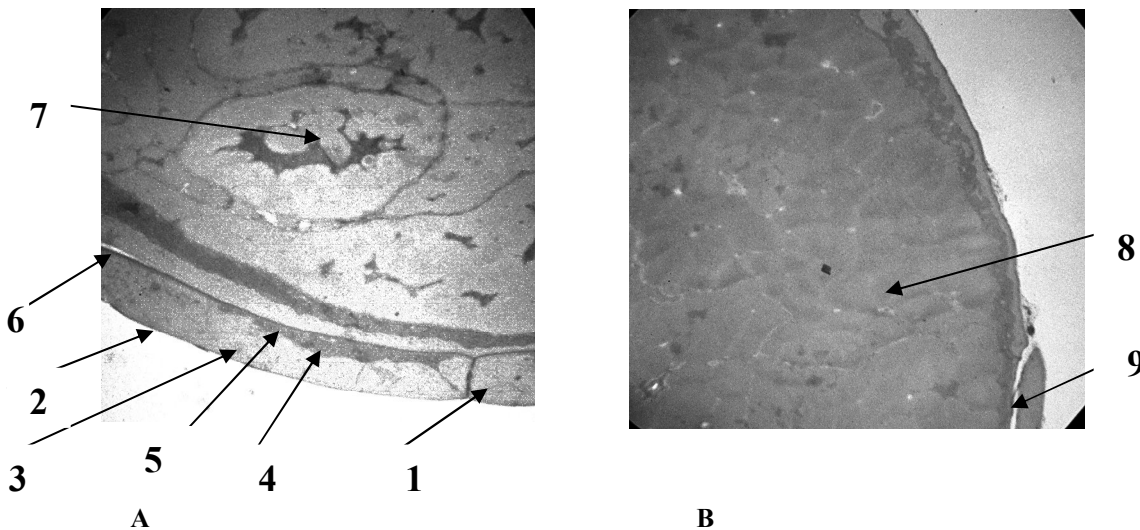


Рис. 4–5. Поперечні зрізи вовняного волокна у нормі (А) та стоншенні (В) (1 – з'єднання лусочок кутикули; 2 – А-шар; 3 – екзокутикула; 4 – ендокутикула; 5 – клітинно-мембранний комплекс; 6 – розшарування клітин кутикули; 7 – паракортикальна клітина, 8 – ортокортес; 9 – надрив кутикули, X 8000)

На представлених рисунках чітко видно, що кутикула характеризується складною будовою і складається із різних субламелярних шарів – А-шару, екзо- і ендокутікули та КМК.

Роздільна здатність мікроскопа за умов наших досліджень не дозволила виявити епікутикулу. Проте з літератури відомо, що цей тонкий гідрофобний шар містить 18-метилейкозенову кислоту, зв'язану із протеоліпідною мембраною, яка багата на цистин (приблизно 12 %) [5].

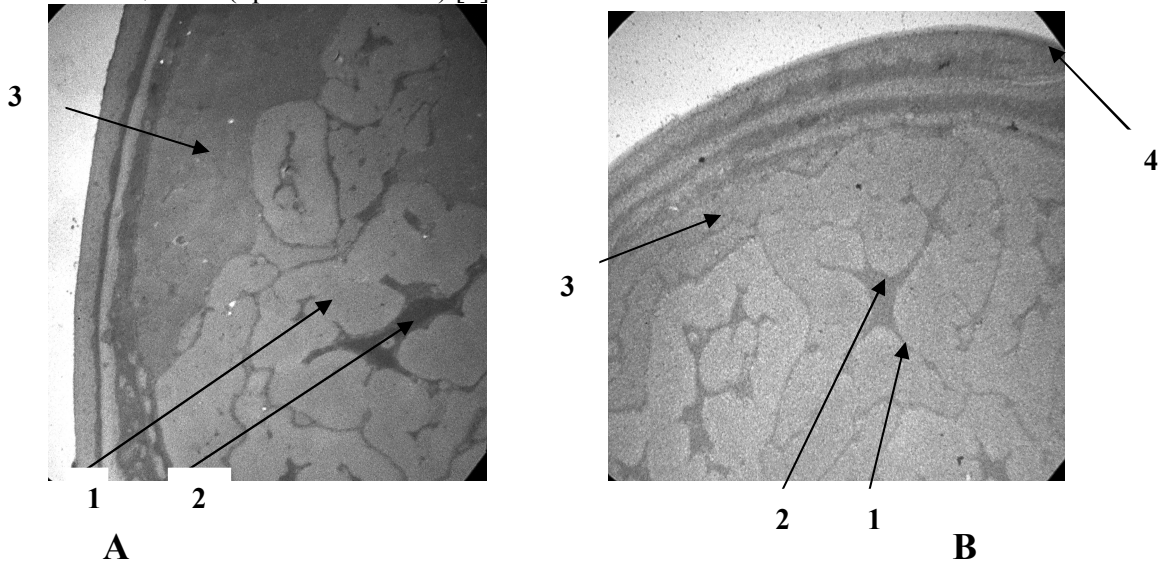


Рис. 6–7. Поперечні зрізи вовняного волокна : **А** – норма; **В** – «голодна тонина» (1 – паракортес, 2 – залишки ядра, 3 – ортокортес, 4 – кутикулярна луска, X 8000)

Під епікутикулою розташований А-шар і екзокутикула (рис. 4–5), що, як і кортекс, характеризуються високим вмістом цистину та гідрофобним характером. Ці шари забезпечують механічну міцність та хімічну стійкість волоса. Ендокутікула складається із некератинового матеріалу, який у більшості випадків розчинний у воді [5].

Результати наших досліджень (рис. 6–7) показали, що для вовни асканійських кросбредів, на відміну від людського волоса, характерна білатеральна структура, що виражається у диференціації основної частини волокна – кортексу на два сегменти: орто- і паракортес. На поперечних зрізах чітко видно дві ділянки, що відрізняються між собою морфологічно. Паракортикальні клітини більш овальні і за розмірами значно більші, ніж клітини ортокортесу. Окрім того клітини паракортесу мають чітко виражені мембрани, а у центрі спостерігаються залишки ядра.

Ортокортес, на відміну від паракортесу, займає меншу кількість коркової речовини волокна. Клітини значно менші, округлої форми і більше сплюснуті одна до одної. Залишків ядер не спостерігається.

Кожна кортикальна клітина, особливо паракортикальна, містить тонкі волоконця – мікрофібрили, що добре видно при великих збільшеннях, які формують більші агрегати – макрофібрили, занурені в осміюфільне середовище – матрикс, який знаходиться між кортикальними клітинами і виконує роль своєрідного міжклітинного цементу.

Асиметрія кортексу асоціюється із звивистістю волокна, яка характерна і для вовни асканійських овець: ортокортикальні клітини, які характеризуються меншим

вмістом сірки, розміщується ближче до середини волокна, а паракортес, що має вищий рівень сірки, навпаки, ззовні [6]. Деякі автори описують ще один тип кортикальних клітин у вовні тонкорунних овець – мезокортес, основна відмінність якого полягає у гексагональному розміщенні інтермедіальних філаментів, що характерно для вовни із більшим діаметром та нижчою звивистістю [7]. Проте в умовах нашого дослідження мезокортикальних клітин ми не виявили. Характерно, що такою будовою кортексу вовняні волокна відрізняються від людського волоса, де нема диференціації, а більшість клітин є сумішшю орто- і паракортикальних клітин [8].

Деякі дослідники вказують на взаємозв'язок між діаметром волокна та співвідношенням різних типів кортикальних клітин у вовняному волокні, зокрема збільшення частки ортокортесу і зниження пара- і мезокортикальних клітин із збільшенням товщини волокна [9].

Цікаву думку було висловлено Scobie et al (1992), які вважали, що співвідношення кортикальних клітин пов'язане із вмістом сірки, тобто із збільшенням вмісту сірки послідовність розташування різних типів клітин у вовні така: серцевина → ортокортес → мезокортес → паракортес [10]. Інша думка полягає у тому, що різні типи кортикальних клітин відрізняються між собою за складом кератин-асоційованих білків [11].

Важливо також відзначити, що нам не вдалося виявити суттєвих різниць у гістологічній будові волокна у нормі та з ознаками «голодної тонини». Очевидно, що така вада як патологічне стоншення волокна виникає на других рівнях організації кератинових молекул.

Висновки

Електронно-мікроскопічні дослідження свідчать про складну будову вовняних волокон, які представляють собою комплекс різних клітинних структур і визначають його властивості.

Деструктивні зміни у структурі кутикули виникають у першу чергу під впливом фізичних факторів і свідчать про неоднакову відповідь різних морфологічних компонентів клітин на дію різних чинників зовнішнього середовища.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження будуть скеровані на з'ясування молекулярних механізмів, які лежать в основі патологічного стоншення вовняного волокна.

V. Havrylyak

ELECTRON MICROSCOPY INVESTIGATION OF WOOL ULTRASTRUCTURE UNDER NORM AND PATHOLOGICAL THINNING

S u m m a r y

The surface and transverse sections of normal and pathological thinning wool fibre using scanning (SEM) and transmission electron microscopy (TEM) were studied. The cellular structures such as hair cortex and cuticle and such sublamellar cuticle structure as A-layer, the exo-, endocuticle and cell-membrane complexes were identified.

It was shown that wool fibre characterized by bilateral distribution of cortex into two morphological different parts – orto- and paracortex.

It was found damage of cuticle both normal and pathological thinning wool fibre.

В. Гавриляк

**ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ
УЛЬТРАСТРУКТУРЫ ШЕРСТНОГО ВОЛОКНА В НОРМЕ И ПРИ
ПАТОЛОГИЧЕСКОМ УТОНЕНИИ**

А н н о т а ц и я

С помощью сканирующей и трансмиссивной микроскопии изучали поверхность и поперечные срезы шерстного волокна в нормальном состоянии и патологически утонщенного. Идентифицировали такие клеточные структуры шерсти, как кортекс и кутикула, а также такие тонкие субламелярные компоненты кутикулы как А-слой, экзо-и эндокутикула и клеточно-мембранный комплекс.

Показано, что для шерстного волокна характерна билатеральная дифференциация кортекса на орто- и паракортекс.

Виявлены деструктивные изменения поверхности волокна как в норме, так и при патологическом утонщении шерсти.

1. *Deedrick D. W.* Microscopy of hair part 1: a practical guide and manual for human hair / D. Deedrick // *Forensic Sci. Commun.* – 2004. – V. 1. – P. 1–7.
2. *LaTorre C.* Nanotribological characterization of human hair and skin using atomic force microscopy / C. LaTorre, B. Bhushan // *Ultramicroscopy.* – 2005. – V.105. –P. 75–155.
3. *Smith J. R.* Lamellar subcomponents of the cuticular cell membrane complex of mammalian keratin fibres show friction and hardness contrast by AFM / J. R. Smith, J. A. Swift // *J. of Microsc.* – 2002. – V. 206. – P. 182–193.
4. *Салига Ю. Т.* Електронна мікроскопія біологічних об'єктів / Ю. Т. Салига, В. В. Снітинський. – Львів: В-во «Світ, 1999. – 152 с.
5. *Jones L. N.* The role of 18-methylcosanoic acid in the structure and formation of mammalian hair fibers / L. N. Jones, D. E. Rivetti // *Micron.* – 1997. – V. 28. – P. 469–485.
6. *Dowling L. M.* The protein composition of cell in wool cortex / L. M. Dowling, K. F. Ley., A. M. Pearce // *Proc. 8th Int. Wool. Tex. Res. Conf.* – 1990. – V. 1. – P. 205–214.
7. *Caldwell J. P.* The three-dimensional arrangement of intermediate filaments in Romney wool cortical cells / J. P. Caldwell, D. N. Mastronade, J. L. Woods, W. G. Bryson // *J. Struct. Biol.* – 2005. – V.151. – P. 298–305.
8. *Popescu C.* Hair- the most sophisticated biological composite material / C. Popescu, H. Hocker // *Chem. Soc. Rev.* – 2007. – V. 36. – 1282–1291.
9. *Dick J. L.* The relationship between structure and fibre diameter in primary and secondary wool fibres of yearling Perendale sheep / J. L. Dick, R. M. W. Sumner // *Proc. NZ Soc. Anim. Prod.* –1995. – V. 55. – P. 31–34.
10. *Scobie D. R.* A rewiev implicating a two compartment model of the process of cell division and differentiation in the wool follicle / D. R. Scobie, J. L. Woods // *Proc. NZ Soc. Anim. Prod.* –1992. –V. 52. – P. 265–271.
11. *Plowman J. E.* Protein expression in orthocortical and paracortical cells of Merino wool fibres / J. E. Plowman, S. Deb-Choudhury, S. Clerens, W. G. Bryson, J. M. Dyer // *J. Agr. Food. Chem.* – 2007. – V.57. – P. 2174–2180.

Рецензент: головний науковий співробітник лабораторії ембріональної біотехнології, доктор біологічних наук, професор Розгоні І. І.