

4. Rathak B., Sheibani L., Lee R. Cholestasis of pregnancy // Obstet. Gynecol. Clin. North. Am.- 2010.- Vol. 37. №2. - P. 269-282.

5. Walker J.A.L., Nelson-Piercy C., Williamson C. Role of bile acid measurement in pregnancy // Ann. Clin. Biochem.- 2000. – Vol. 39, №2.- P. 105-113.

ФОСФАТАЗОПОЗИТИВНОЕ МЕЖКЛЕТОЧНОЕ ВЕЩЕСТВО ДЕРМЫ КОЖИ БЕЛЫХ КРЫС В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ И ПРИ ЗАЖИВЛЕНИИ КОЖНОЙ РАНЫ

Мяделец О.Д., Лебедева Е.И., Мяделец Н.Я., Пилипенко Н.Н.

Витебский государственный медицинский университет
(miadelets@rambler.ru)

Введение. Фермент щелочная фосфомоноэстераза (ЩФ) в коже в состоянии покоя выявляется только в эндотелии микрососудов. Однако во время интенсивных морфогенетических процессов в эпидермисе и в фазу роста волос фермент выявляется также в кератиноцитах (КЦ) эпидермиса и в волосяных фолликулах. Известно, что ЩФ является маркером эмбриональных и региональных стволовых клеток (СК) [1,2]. В литературных источниках, однако, отсутствуют сведения о наличии активности фермента во внеклеточном матриксе (ВМ).

Цель исследования - изучить возможность наличия в коже белых крыс в постнатальном онтогенезе и при регенерации кожной раны в разных условиях температурного режима ЩФ-позитивного ВМ.

Материал и методы исследования. Материал для настоящего исследования был получен в ходе выполнения экспериментов в период времени с 1980 по 1993 годы и в последующем по некоторым соображениям был использован не в полном объеме. В связи с резко возросшим в последнее время интересом к стволовым клеткам тканей возникла необходимость вернуться к полученным ранее материалам и рассмотреть их с позиций учения о СК. Появилась возможность опубликовать полученный материал, который ранее не печатался. Материалом для исследования явились полнослойные лоскуты кожи межлопаточной области интактных белых беспородных крыс разных возрастов. Изучались также особенности заживления кожных ран у половозрелых крыс при нанесении и заживлении ран межлопаточной

области в условиях нормотермии и глубокой 6-часовой гипотермии. Для этого белых половозрелых крыс под эфирным наркозом охлаждали до ректальной температуры $+18^{\circ}\text{C}$. После достижения в прямой кишке данной температуры животным наносили в межлопаточной области полнослойные штампованные раны диаметром 1 см, и затем состояние гипотермии продлевали в течение 6 ч. Последующее согревание животных, как и охлаждение, осуществляли со скоростью 1°C за 4-5 мин. Контрольным животным раны наносили при нормотермии. Образцы интактной кожи и кожи регенерата с окружающими его нетравмированными участками фиксировали в жидкости Буэна с заливкой в парафин и готовили парафиновые срезы, которые окрашивали гематоксилином-эозином, ШИК-реакцией и орсеином. Образцы замораживали также в жидком азоте и готовили криостатные срезы. Методом азосочетания по М. Берстону с использованием фосфата нафтола AS-MX и прочного синего RR ЩФ выявляли в них активность ЩФ.

Результаты исследования и их обсуждение. У новорожденных крысят волосяной покров отсутствовал. ЩФ в эпидермисе выявлялась в единичных разрозненных кератиноцитах (КЦ) базального слоя эпидермиса. В дерме определялись зачатки многочисленных волосяных фолликулов, которые не достигали поверхности эпидермиса. ЩФ в них отсутствовала. Она была максимальной в микрососудах дермы. У 7-дневных крысят появлялся хорошо выраженный волосяной покров из волос небольшой длины. В эпидермисе и волосяных фолликулах появлялись ЩФ-позитивные СК, образующие дискретные скопления в базальном слое. Они давали умеренно выраженную реакцию на фермент. В дерме отмечались признаки ее созревания и активация фолликулогенеза, возрастало число фибробластов, коллагеновых волокон разной толщины, появлялись тучные клетки. На 16-36-е сутки жизни животных в коже происходили наиболее выраженные морфогенетические процессы. Толщина дермы у этих животных увеличивалась, появлялись достаточно толстые волокна в сетчатом слое и оформлялся сосочковый слой. Помимо фибробластов, в дерме обнаруживались макрофаги и тучные клетки. Волосяные фолликулы находились в фазе анагена. В них в наружном корневом влагалище выявлялась достаточно высокая активность ЩФ, которая определялась максимально и в волосяном сосочке. Вокруг формирующихся волосяных фолликулов появлялись значительные участки ЩФ-

позитивного ВМ. На 36-е сутки жизни волосяной покров у животных достигал его объема у взрослых животных. В то же время, в эпидермисе часто обнаруживались митозы, что свидетельствует о продолжении морфогенетических процессов. Интенсивность окраски на ЩФ ВМ стала более выраженной. Чаще это окрашивание локализовалось в области расположения волосяных фолликулов, окружая их в виде своеобразной муфты. К 90-м суткам жизни животных кожа имела строение, характерное для половозрелых крыс. В это время у них наблюдалась смена волос (анаген). При этом в эпидермисе и волосяных фолликулах выявлялась высокая активность ЩФ. Помимо них она определялась в эпителии наружного корневого влагалища и, максимально – в волосяной луковице и волосяном сосочке. Окрашивание в них имело сливной характер. Можно предположить, что окрашивание захватывает не только клетки волосяного сосочка, но и его ВМ. Вокруг анагенных волосяных фолликулов выявлялось интенсивно окрашенное ЩФ-позитивное вещество. У подвергнутых гипотермическому воздействию животных наблюдалось существенное замедление течения раневого процесса. Однако у них раневой процесс завершался формированием органотипического регенерата, тогда как у нормотермических крыс формировался соединительнотканый рубец. В коже интактных половозрелых крыс она выявлялась только в эндотелии микрососудов и в волосяном сосочке. При исследовании фермента при заживлении раны в условиях нормотермии уже в течение первых трех суток в эпидермисе, окружающей рану, появлялись КЦ с высокой активностью ЩФ. Эти клетки формировали 2-3 ряда. По мере эпителизации раны, которая у этих крыс завершалась по истечении 10 сут, интенсивность реакции постепенно снижалась, и затем она полностью отсутствовала. У нормотермических крыс в первые 5 сут наблюдалось максимальное окрашивание также тканей регенерата и струпа. В дерме, окружающей кожу, в это время появлялось фосфатазопозитивное межклеточное вещество. По мере заживления раны, которая полностью эпителизировалась к 10-м суткам наблюдения, объем и интенсивность его окрашивания постепенно снижались, и к 15-20-м суткам оно не отсутствовало. Иная ситуация наблюдалась у подвергнутых гипотермическому воздействию животных. У этих животных регенерация замедлялась, интенсивность реакции на ЩФ струпа и тканей регенерата была от низкой до умеренной. Фосфатазопозитивные кератиноциты по краю раны у этих

животных отсутствовали вплоть до 10-х суток, однако в последующем они появлялись в большом количестве и имели максимальную активность фермента. При этом эпидермис формировал многочисленные погружения в подлежащую формирующуюся дерму. В последующем они превращались в волосяные фолликулы. По мере завершения формирования волосяных фолликулов фосфатазопозитивные КЦ, образующие их, постепенно исчезали, но выраженная активность фермента сохранялась в волосяных сосочках. В коже вокруг раны фосфатазопозитивный внеклеточный матрикс отсутствовал. Однако после 10-х суток наблюдения ситуация менялась, и ВМ интенсивно окрашивался вокруг формирующихся волосяных фолликулов. Эти изменения можно объяснить так. Основной задачей раневого процесса в коже является быстрое закрытие дефекта для прекращения действия на организм вредных, в том числе микробных факторов. Восстановление первоначальной структуры кожи при этом является второстепенной задачей, и организм от него отказывается, быстро закрывая дефект. При этом регенеративный рост эпидермиса опережает таковой соединительной ткани. После закрытия дефекта происходит быстрое созревание соединительной ткани регенерата с формированием соединительнотканного рубца, и это препятствует реализации полноценной регенерации органа и формированию других органов общего покрова. При гипотермическом воздействии существенное замедление регенераторного процесса создает условия для длительного пребывания эпидермиса в регенеративном состоянии с персистенцией фосфатазопозитивных стволовых клеток, которые не только восстанавливают межфолликулярный эпидермис, но и создают дериваты кожи.

Выводы. Обнаружено явление, не обсуждаемое ранее в доступной литературе. Оно заключается в том, что на 16-36-е сутки жизни животных и при анагене у взрослых крыс установлена позитивная реакция внеклеточного матрикса на ЩФ. Есть сведения, что данный фермент может секретироваться в культуральную среду и является индуктором для СК [1], но не исключена его секреция и *in vivo*, во ВМ. Очевидно, обнаруженный факт может играть важную роль для активации региональных стволовых клеток кожи и морфогенетических процессов в ней во время постнатального онтогенеза и при заживлении кожной раны.

Литература

1. Мучкаева И.А., Дашинимаяев Э.Б., Артюхов А.С. и др. Репрограммирование клеток дермальной папиллы человека до плюрипотентного состояния // *Acta Nature*. – 2014. – Т.6, № 1. - С. 48-58.
2. Целуйко С.С., Горбунов М.М, Накамонова Н.П и др. Влияние природных антиоксидантов на регенерацию эпителия слизистой оболочки трахеи при общем охлаждении организма // *Дальневосточн. мед. журн.* 2014. – № 1. – С. 95-99.

MORPHOLOGY OF ADENOHYPHYSIS IN IONIZING EXPOSURE IN EXPERIMENT

Novoseltseva O.K., Bessalova Ye.Yu., Bolshakova O.V.

Medical academy named after S.I. Georgievsky, Crimean Federal University, Simferopol, Russian Federation (olyapioner@mail.ru)

Introduction. At present, one of the urgent problems of medicine is the study of the effects of ionizing radiation on biosystems and protection from it. This is due to the development of industry, including defense, as well as medical equipment for radiation diagnosis and therapy. The development of a stress response, adaptation in response to various stimuli of different quality, underlies many pathological processes [3]. The dynamism of the structures and functions of the adenohiphysis, the wide possibilities of organ variability, testify to its direct participation in their regulation [4].

Purpose of the study. To study the dynamics of morphological changes in adenocytes and microcirculatory bed of the pituitary gland during irradiation in dynamics for 14 days from the moment of irradiation.

Materials and methods. The experiment was performed on 36 laboratory white Wistar rats. The rats were divided into two equal groups: 1) control, 2) experimental (animals were exposed to ionizing radiation). Radiation damage was simulated on the linear accelerator Clinac 2100. The working energy of the linear accelerator is 6 MeV, the exposure time is 50 sec, the single dose is 500 rad (5 Gray), the field size is 40 cm x 40 cm, the depth is 2.5 cm. The recommendations "On legal, legislative, ethical norms and requirements in the implementation of scientific morphological studies" were implemented. Animals were removed from the experiment under ether anesthesia. The conclusion of the Committee of Bioethics No. 3 of 19.10.2015. The pituitary gland was removed from the