ЭМБРИОЛОГИЯ

УДК 611.018+591.478.1

РЕКОНСТРУКЦИЯ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ВОЛОСЯНОГО ФОЛЛИКУЛА ПО ГЕОМЕТРИЧЕСКИМ ПАРАМЕТРАМ РАСТУЩЕГО ВОЛОСА

П.Д. Голиченкова, Ю.К. Доронин

(кафедра эмбриологии; e-mail: doronin@soil.msu.ru)

К настоящему времени накопились сведения о количественных закономерностях увеличения числа клеток как в эмбриональных зачатках, так и в тканях взрослого организма. Развитие закладки начинается от нескольких клонообразующих клеток. Количество клеток в закладке возрастает экспоненциально вплоть до достижения стационарного уровня. Таким образом, изменяется численность клеток при сперматогенезе, на протяжении дробления зародышей, при формировании нейральной сетчатки (Morris, Cowan, 1984, 1995) и, вероятно, клона компетентных клеток в процессе иммунного ответа. В.А. Лившиц (1975, 1978, 1986, 1987), проанализировав фактический материал, указывает на то, что абсолютное количество клеток, формирующих органы и структуры (формации мозга, мышцы, жировые депо) млекопитающих, приближаются и кратны 2ⁿ, где n — целое число. Кажется вероятным, что так же происходит накопление клеток волосяного фолликула в каждом цикле физиологической регенерации.

Предполагается, что волосяной фолликул развивается из 2-3 прогениторных клеток (Катітиra et al., 1998). В волосяной луковице существуют две различные зоны: матрикс и зона дифференцировки (Всеволодов, 1979). Клетки последней являются прямыми потомками клеток матрикса. В фазе анагена клетки луковицы волосяного фолликула активно пролиферируют в зоне матрикса, а затем практически без потерь (лишь незначительная доля клеток матрикса подвержена процессу апоптоза, (Stenn, Paus, 2001) переходят в зону дифференцировки. Клетки определенной зоны матрикса одновременно смещаются в верхние слои и дифференцируются, формируя материал будущего волоса и внутреннего влагалища волосяного фолликула (Соколов и др., 1988).

Морфология развивающейся луковицы позволяет полагать, что в структуре волоса "зафиксированы" события, происходящие с клетками луковицы. В частности, изменение объема растущего волоса должно отражать динамику пролиферации клеток луковицы (в той ее части, из которой формируется стержень волоса). Именно в этой связи мы попытались определить геометрические параметры остевого волоса мыши в процессе его роста.

Материалы и методы

Объектом исследования служили 8-месячные самки мышей линии Balb/с. Волосяной покров выщипывали на участке спины ниже проекции лопаток на площади около 1 см². Лишенную шерсти поверхность кожи ежедневно проверяли под бинокулярным микроскопом. Через 7—10 дней после эпиляции над поверхностью кожи появлялись кончики волос. Далее ежедневно эпилировали 15 остевых волос, которые заключали в канадский бальзам на предметном стекле без какой-либо предварительной обработки.

Отдельные завершившие рост (телогенные) волосы заключали в эпоксидную смолу и рассекали (перпендикулярно оси волоса) на отрезки длиной от 0,2 до 1,3 мм. Длину эпилированных волос и площадь поперечных срезов волос измеряли на электронной копии с помощью программы анализа изображений "Plana". В качестве эталона длины применяли объект-микрометр, площади — сетку камеры Горяева.

Объем волос рассчитывали следующим образом. Форму первого участка (кончик волоса) полагали конической и его объем (V) рассчитывали по формуле объема конуса высотой h и площадью поперечного сечения S

$$V=\frac{1}{3}h\cdot S.$$

Полагая, что последующие (проксимальные) фрагменты волоса представляют собой усеченные неправильные конусы, их объем рассчитывали по формуле

$$V_{i} = \frac{1}{3}h_{i}\left(S_{i-1} + S_{i} + \sqrt{S_{i-1} \cdot S_{i}}\right),$$

где S_{i-1} и S_i — площади последовательных поперечных сечений.

Результаты и обсуждение

Динамика удлинения остевых волос во времени наилучшим образом ($R^2 = 0,896$) описывается трехпараметрической сигмоидальной зависимостью

$$L(t) = \frac{a}{1 + e^{-\left(\frac{t - t_0}{b}\right)}},$$
(1)

где предельная длина волос a = 5,05 (p < 0,0001), b = 60,88 (p < 0,0001), точка перегиба сигмоидальной кривой (т.е. момент, начиная с которого скорость прироста волос снижается) $t_0 = 313,68$ (p < 0,0001) (рисунок, *A*).

Коэффициент вариации длины волоса по мере его роста существенно снижается на протяжении приблизительно 350 ч с момента эпиляции, а затем не изменяется. Из этого следует, что интенсивность роста различных волос в одной и той же области на теле, одновременно инициированных к росту, заметно различается к моменту появления волоса над поверхностью кожи, но длина их выравнивается по мере возрастания скорости роста волоса. Вероятно, вскоре после достижения максимально возможной скорости роста (в точке t_0) вариабельность длин волос становится минимальной.

Форма поперечного сечения остевого волоса различна на его протяженности: в дистальной части приближается к кругу, далее — уплощается и становится эллипсовидной, а затем — бобовидной. По мере дальнейшего смещения к корню, сечение волоса становится все более эллипсовидным, а затем и округлым. Изменение площади поперечного сечения волос по их длине представлено на рисунке *Б*.

Для получения временной развертки динамики возрастания объема остевого волоса мы воспользовались данными о кинетике роста волоса (рисунок, *A*) и зависимостью объема остевого волоса от его длины (рисунок, *B*). Из уравнения (1) следует, что время (*t*) связано с длиной волоса следующим образом:

$$t = t_0 - b \cdot \ln\left(\frac{a}{L} - 1\right),$$



Параметры роста и динамика накопления продукта дифференцировки волосяного фолликула остевого волоса мыши.

А. Динамика удлинения остевого волоса мыши.

Ось абсцисс — время после эпиляции, ч; ось ординат — длина волоса, мм.

Б. Изменение площади поперечного сечения остевого телогенного волоса на различных участках его длины.

Ось абсцисс — относительная длина отрезка волоса (от кончика к основанию, в % от всей длины волоса); ось ординат — площадь поперечного сечения, мм².

В. Изменение объема остевого телогенного волоса по мере его удлинения.

Ось абсцисс — относительная длина отрезка волоса (от кончика к основанию, в % от всей длины волоса); ось ординат — объем волоса, мм³. Г. Сопоставление изменения объема волоса во времени с фазами развития волосяного фолликула. На протяжении первых двух третей фазы анагена скорость увеличения объема волоса возрастает (указано треугольниками), а затем падает (квадраты). Аппроксимация экспоненциального увеличения объема волоса показана линией. Римскими цифрами обозначены фазы цикла волосяного фолликула: І — фаза анагена, II — фаза катагена, III — фаза телогена.

Ось абсцисс — время, ч; ось ординат — объем волоса, мм³

где b = 60,88 (р < 0,0001), $t_0 = 313,68$ (р < 0,0001); при переходе к относительным единицам длины значение *a* было принято равным 100 условным единицам. Произведя пересчет значений удлинения волоса во время, мы получили временную динамику роста объема волоса, которая с высокой достоверностью ($\mathbb{R}^2 = 0,946$) аппроксимируется сигмоидальной логистической зависимостью:

$$V(t) = \frac{a}{1 + \left(\frac{t}{t_0}\right)^b}$$

где a = 0,0034 (p < 0,0001), b = -6,79 (p < 0,0001), $t_0 = 295,26$ (p < 0,0001).

На протяжении первых 223,9 ч с момента эпиляции объем волоса увеличивается в соответствии с экспоненциальным законом (рисунок, Γ):

$$V = a \cdot e^{bt},$$

где $a = 2,26 \cdot 10^{-7}$ (p = 0,0035), b = 0,034 (p < 0,0001), R² = 0,998.

Поскольку увеличение объема волоса предопределено накоплением продуктов дифференцировки кератиноцитов, кажется весьма вероятным, что именно на протяжении этого срока (т.е. до половины фазы анагена) число клеток в матриксе волосяной луковицы возрастает экспоненциально.

На протяжении последней трети фазы анагена (приблизительно с 300 ч после эпиляции) и на протяжении фазы катагена (394—470 ч после эпиляции) темпы увеличения объема волоса постепенно снижаются. Это, вероятно, предопределено гра-

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

В с е в о л о д о в Э.Б. 1979. Волосяные фолликулы. Алма-Ата.

Лившиц В.А. 1975. Клональная теория дифференцировки Б. Минтц и "закон 2ⁿ" для числа клеток и волокон в формациях мозга // Онтогенез. **6**. № 4. 640—641.

Лившиц В.А. 1978. Статистическая достоверность закономерности 2ⁿ для числа мышечных волокон в мышце млекопитающих // Онтогенез. 9. № 3. 315—316.

Лившиц В.А. 1986. Статистическая достоверность правила 2^k для чисел нейронов в формациях мозга // Онтогенез. 17. № 3. 333—336.

Лившиц В.А. 1987. Статистическая достоверность закономерности 2^k для абсолютного числа жировых клеток в жировых депо млекопитающих // Онтогенез. **18**. № 6. 664—665.

дуальным снижением митотической активности в матриксе луковицы. На протяжении фазы телогена (начиная с 470 ч после эпиляции) объем волоса фактически не изменяется, что может свидетельствовать о прекращении пролиферации в луковице.

Для пуховых волос характерны, как правило, три перегиба, отделяющие приблизительно одинаковые по длине прямые участки волоса — сегменты. В отличие от остевого волоса, форма поперечного сечения пухового волоса изменяется от округлого в середине сегмента (в наиболее толстой части) до эллипсовидного или даже веретеновидного в конце сегмента (в области перегиба). В области перегиба толщина стержня волоса минимальна. Площади поперечных сечений в середине сегмента существенно превосходят таковые в области утончения волоса. Соответственно, поперечное сечение пуховых волос изменяется волнообразно. Объем пухового волоса по мере удлинения изменяется фактически прямолинейно.

Заключение

Таким образом, анализ характерной формы волоса позволяет восстановить динамику накопления материала волоса, которая однозначно связана с клеточной динамикой регенерирующего волосяного фолликула. Динамика развития (регенерации) последнего, восстановленная по геометрическим параметрам волоса, свидетельствует о том, что накопление клеточной массы волосяной луковицы принципиально подобно как таковому при развитии некоторых закладок in situ, так и в условиях периодического культивирования клеток in vitro.

Соколов В.Е., Скурат Л.Н., Степанова Л.В. и др. 1988. Руководство по изучению кожного покрова млекопитающих. М.

Kamimura J., Lee D., Baden H.P., Brissette J., Dotto G.P. 1998. Primary mouse keratinocytes cultures contain hair follicle progenitor cells with multiple differential potential // J. Invest. Dermatol. **110**. 534–540.

Morris V.B., Cowan R. 1995. An analysis of the growth of the retinal cell population in embryonic chicks yielding proliferative ratios, numbers of proliferative and non-proliferative cells and cell-cycle times for successive generations of cell cycles // Cell Prolif. **28**. 373–391.

Morris V.B., Cowan R. 1984. A growth curve of cell numbers in the neural retina of embryonic chicks // Cell Tissue Kinet. **17**. 199–208.

Stenn K.S., Paus R. 2001. Controls of hair follicle cycling // Physiol Rev. 81. N 1. 449-494.

RECONSTRUCTION OF PROLIFERATIVE ACTIVITY OF HAIR FOLLICLE CELLS BASED ON THE GEOMETRIC PARAMETERS OF THE HAIR SHAFT

P.D. Golichenkova, Y.K. Doronin

Proliferative activity and differentiation rate of hair follicle cells determine shape of the hair shaft and parameters of hair growth. We analyzed hair growth rate and changes of geometric parameters of the hair shaft during its elongation (in time) to reconstruct the dynamics of cell proliferation of hair follicle matrix. The reconstruction showed that the number of hair follicle matrix cells increases in a typical manner including phase of exponential growth and stationary phase.