

УДК 576.32/.36:591.8:591.478

КЛЕТОЧНАЯ ДИНАМИКА НАРУЖНЫХ СЛОЕВ ВОЛОСЯНОГО ФОЛЛИКУЛА ТОНКОРУННЫХ ОВЕЦ В ФАЗЕ УСТОЙЧИВОГО РОСТА ВОЛОСА

© 2014 г. Э. Б. Всеволодов**, В. А. Голиченков*, И. Ф. Латыпов**

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова
119192, Москва, Ломоносовский пр-т, 31, корп. 5

**Институт общей генетики и цитологии Минобрнауки Республики Казахстан,
050060, Алматы, пр-т аль-Фараби, 75А

E-mail: eduardvsevolodov@mail.ru

Поступила в редакцию 11.03.2014 г.
Окончательный вариант получен 26.04.2014 г.

Структура, происхождение и миграция клеток наружного влагалища волосяного фолликула домашних овец изучались электронно-микроскопическим, и автордиографическим и гистохимическим (гликоген) методами с целью углубления понимания его роли в морфогенезе волоса. Получены данные о вклинивании клеток наружных слоев наружного влагалища в его внутренний “сопровождающий” слой. Хотя этот процесс происходит по всей длине фолликула от нижней части луковицы до устьев сальных желез, но преимущественно в зоне непосредственно над луковицей. Вклинившиеся здесь в сопровождающийся слой меченые клетки мигрируют к уровню устьев сальных желез, опережая меченые клетки внутреннего влагалища и волоса более, чем на сутки, так как включают метку не в камбии луковицы (как волос и внутреннее влагалище), а выше луковицы, откуда и начинают свое восходящее движение. Вклинивание клеток в сопровождающийся слой должно приводить к росту его объема, причем добавочный объем отводится в пилярный просвет вблизи устьев сальных желез. Это может обеспечивать механизм продвижения волоса и внутреннего влагалища к устьям сальных желез.

Ключевые слова: Наружное влагалище волосяного фолликула, вклинивание клеток наружного слоя во внутренний, “восходящая” миграция меченых клеток.

DOI: 10.7868/S0475145014060093

Волосяные фолликулы привлекают все большее внимание как объект биологии развития по целому ряду причин. Не говоря уже о немалом практическом значении этого объекта в сельскохозяйственной биологии (шерстная продуктивность: уровень настрига шерсти, изменчивость параметров волос, растущих на одном квадратном миллиметре кожи), волосяные фолликулы представляют интерес в медицинском и косметологическом (этология пола) аспекте. Ничуть не меньшую ценность имеют и модельные достоинства волосяных фолликулов при изучении механизмов морфогенеза, клеточной дифференцировки, структуры потоков позиционной информации, генетики развития. Достаточно вспомнить, что клетки камбиальной зоны луковицы покидая ее в ходе роста волоса распадаются по меньшей мере на шесть разных слоев с экспрессией специфического набора активированных генов в каждом слое. Вокруг матрикса и над ним присутствуют не менее двух слоев клеток, относительно проис-

хождения и динамики которых у специалистов по морфогенезу нет до сих пор единства взглядов (Orwin, 1971; Всеволодов, 1979). В зависимости от вида животных и локализации на теле устойчивый рост продолжается разное время (от нескольких дней у мышей до нескольких лет у тонкорунных овец или на скальпе у людей). Это находит выражение в резко различной длине волос. Очень многие эксперименты с волосяными фолликулами проводятся на мышах, где весь период роста волоса составляет порядка 3 недель, в которые включается начало формирования шиловидного кончика волоса неустойчивой толщины и завершения роста волоса с постепенным его утончением и нарушением нормальной структуры (катаген) с последующей фазой отсутствия роста (телоген). Краткость фазы устойчивого роста и смена фаз почти неизбежно отвлекают исследователей на изучения механизма смены фаз и сопутствующих явлений.

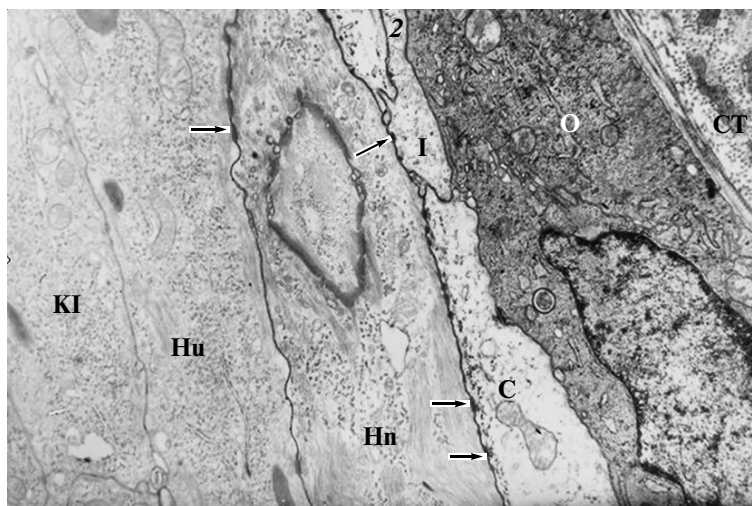


Рис. 1. Электронная микрофотография участка луковицы волосяного фолликула овцы. KI – кутикула внутреннего влагалища и слою Гексли (Nu) и Генле (Hn) внутреннего влагалища на стадии начала дифференцировки. O – наружный слой наружного влагалища. C – сопровождающий слой, I – часть отростка клетки сопровождающего слоя в разрыве между двумя клетками C, контактирующая со слоем Генле. 2 – часть того же отростка вне контакта со слоем Генле, что означает существование второго слоя, отделенного от прямого контакта со слоем Генле в некоторых местах. CT – соединительная ткань, окружающая фолликул. Стрелки – десмосомы, прикрепляющие слой Генле как к сопровождающему слою, так и к слою Гексли. Положение участков, соответствующих каждому из рисунков на волосяном фолликуле приведено на схеме после последнего 7-го рисунка.

Под устойчивым ростом мы понимаем период, когда растущий волос находится в фазе анаген VI и сохраняет более или менее постоянный диаметр и структуру.

На поперечном срезе волосяной фолликул на уровне нижней части луковицы состоит из двух очень тонких уплощенных слоев наружного влагалища (НВ): внутреннего, или сопровождающего слоя (СС), и наружного слоя, а также клеток камбия луковицы (“матрикса”), часто со вставленными между этими слоями клетками, обнаруживающими первые признаки дифференцировки в слой Генле (СГн) внутреннего влагалища (ВВ) (рис. 1).

На уровне верхней части луковицы и на некотором протяжении над ней волосяной фолликул на поперечном срезе выглядит как единая целостная более многослойная структура. Она включает:

- 3 слоя волоса: сердцевину, корковый слой и кутикулу волоса;

- 3 слоя ВВ – кутикулу внутреннего влагалища, слой Гексли и (СГн);

- 2 слоя наружного влагалища (НВ) – внутренний – “сопровождающий слой” (СС), который течет вверх к поверхности кожи вместе с волосом и внутренним влагалищем, и наружный(ые) слой(и) (Оgwin, 1971; Всеволодов, 1979).

В отношении взглядов на происхождение клеток волоса и ВВ из клеток матрикса существенных расхождений между разными исследователями нет.

В отношении происхождения клеток СС, нет единства мнений. Роджерс (G.E. Rogers) (Rogers, 2004) – автор одного из лучших недавних обзоров по гистохимии волосяных фолликулов считает, что СС имеет то же происхождение, что и ВВ т.е. из клеток матрикса. В качестве аргумента он приводит тот факт, что некоторые кератиноподобные белки в СС являются общими с ВВ. Однако, геном всех клеток организма один и тот же. Поэтому существует возможность включения любых генов тканеспецифичной экспрессии в клетках независимо от их происхождения (в данном случае от матрикса или от клеток наружного слоя НВ) при наличии сигналов позиционной информации и соответствующих рецепторов к ним.

Что касается клеток наружного слоя НВ, то они не представляют собой непрерывного потока клеток, текущих в сторону поверхности кожи (по крайней мере, сопоставимого по скорости с потоком клеток волоса и ВВ). Более того, часть из них, будучи стволовыми клетками должна двигаться в противоположном направлении в камбиальную зону луковицы, чтобы обеспечить возможность роста волоса в течение многих месяцев и даже нескольких лет. Дело в том, что клетки камбия луковицы делятся, примерно, раз в сутки или даже быстрее и, следовательно, должны исчерпать потенциал деления (“лимит Хэйфлика”) (Hayflick, 1970) за несколько месяцев, тогда как в действительности рост ряда типов волос (в частности, на скальпе у человека) может продолжаться по не-

скольким лет без пауз. Это возможно только за счет постепенной замены камбия потомством активированных стволовых клеток, располагающихся, в частности, в наружном влагиалище (см. ниже). Во всяком случае, работавший в США Пантелеев с соавторами (А.А. Panteleev et al.) [Panteleev, 2001] приводил данные в пользу миграции клеток НВ из области над луковицей на уровень луковицы.

На уровне устьев сальных желез наружные слои НВ резко истончаются, а выше переходят в структуру другой природы, сходную во многих отношениях с поверхностным эпидермисом кожи, завернутым в виде воронки на небольшую глубину внутрь фолликула. Этот эпидермис откладывает в сторону волоса слои роговых чешуй, которые в конце концов отделяются и выносятся растущим волосом за поверхность кожи.

В эту воронку эпидермиса “упирается” поток клеток ВВ (успевающих частично подвергнуться гидролизу) и СС. Поток клеток этих слоев продолжает поступать из глубины фолликула, и эти слои ложатся в складки (Gemmel and R.E. Charman, 1971; Всеволодов, 1979), выступающие в пиллярный просвет. В них клетки СС и отчасти остатки ВВ надолго задерживаются, но в конце концов разрушаются и выходят на поверхность кожи в виде детрита из ороговевших клеток.

Задачей настоящей статьи является исследование процессов морфогенеза в слоях НВ с целью углубить наши представления о клеточной динамике НВ и СС в связи с его функциями, которую G.E. Rogers (Rogers, 2004) считал пока не известной. При этом мы считали целесообразным провести эксперименты с изучением миграции меченых клеток и их ультраструктуры на тонкорунных овцах с почти постоянным ростом каждого волоса на туловище, без помех вызываемых частыми переходами из фазы анагена к фазам неустойчивого роста.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом служили овцы казахской тонкорунной породы, содержащиеся в условиях вивария.

Для изучения миграции клеток в волосяном фолликуле использовался авто- радиографический метод меченых H^3 -тимидином клеточных ядер, техника которого была изложена нами ранее (Всеволодов, Прусова, 1976) и основывалась на прослушанной нами методической лекции профессора Н.Г. Хрущева в лаборатории цитологии Института биологии развития. Для улучшения надежности определения границы продвижения меченых клеток, применялось многократное введение H^3 -тимидина в одни и те же участки кожи с интервалами 3.5 часа в течение 36 часов (“насыщающие” метки) с последующим взятием

биопсий соответствующих участков кожи в разные сроки после 1-й инъекции от 1 часа до 120 часов.

Для электронной микроскопии применялась ранее описанная методика (Всеволодов и др., 1984). Биоптаты кожи белой казахской тонкорунной овцы помещали в 3%-ный раствор глутаральдегида на какодилатном буфере (рН 7.2) на 4.5 часа при 4°C, затем проводилась обработка 1%-ным раствором OsO_4 также на какодилатном буфере с добавлением 1.6 мл 5.4%-ного раствора глюкозы на 10 мл раствора OsO_4 . После обезвоживания в этанолах возрастающей концентрации кусочки кожи заливали в аралдит по общепринятой методике. Полученные на ультратоме ЛКВ срезы контрастировали 35-ым раствором уранилацетата и цитрата свинца. Срезы исследовали под электронным микроскопом УЭМВ-100 К при ускоряющем напряжении 75 кВ и апертуре диафрагмы 30 мкм.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Наиболее важными с точки зрения происхождения клеток СС, с нашей точки зрения, являются следующие данные.

1. Электронно-микроскопические исследования НВ на уровне нижней половины луковицы показали, что НВ представлено, как минимум, двумя рядами чрезвычайно уплощенных клеток (рис. 1):

– внутренним (СС), примыкающим к наружному слою ВВ, который обнаруживает признаки начала дифференцировки в слой Гн (рис. 1), опережающий в этом отношении все другие слои;

– наружным слоем, примыкающим к базальной мембране, одевающей весь волосяной фолликул и отделяющей соединительно-тканый сосочек от камбия луковицы.

Вопреки тому, что утверждает G.E. Rogers (Rogers, 2004), по крайней мере, на уровне нижней половины луковицы СС связан со слоем Гн значительным количеством десмосом (рис. 1), (см. также (Всеволодов, Прусова, 1976; Всеволодов и Прусова, 1976, рис. 3)), тогда как между наружным и сопровождающим слоями НВ десмосомные связи, если и попадают, то очень редко.

Из этого следует, во-первых, что СС уже имеется на уровне нижней половины луковицы.

Во-вторых, что на уровне луковицы СС “плывет” в более дистальные отделы фолликула в тесной связи с ВВ и так или иначе должен достигать уровня камбиальной зоны над луковицей вместе с клетками ВВ.

В-третьих, наше представление о том, что СС представлен единственным слоем клеток не столь однозначно. В световой микроскоп виден только один ряд ядер клеток СС.

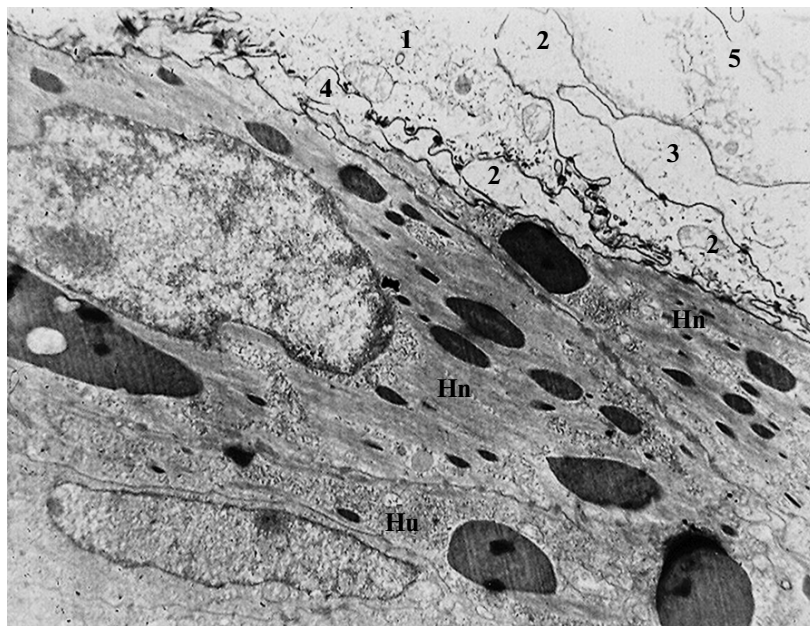


Рис. 2. Электронная микрофотография среза верхней половины луковицы волосяного фолликула каракульского ягненка. 1–5 – разные клетки наружного влагалища и сопровождающего слоя. Одни и те же цифры находятся в разных частях одной и той же клетки. Hn – 2 соседние клетки слоя Генле внутреннего влагалища с развитыми пучками волокон и разного размера черными гранулами “белка-клея” трихогиалина, Hu – слой Гексли с гранулами трихогиалина, но пока слабо развитыми пучками волокнистого белка. Стрелка – протыкающий клетку 2 отросток клетки 1 почти достиг поверхности клетки Генле. Направление роста волоса справа налево, что видно из налегания правой клетки слоя Генле на левую, т.е. нижней на верхнюю.

В электронный микроскоп видно, что отростки некоторых клеток НВ могут образовывать 2 и более слоев в непосредственной близости от СГн. При этом, на отдельных участках отростки клеток наружного слоя НВ, отделенные от СГн тонким слоем цитоплазмы СС, прилежащими к СГн), “просовываются” между клетками СС и вступают в непосредственный контакт со СГн (рис. 1). Иными словами, отростки клеток НВ под острым углом протыкают СС, достигая СГн. Но клетки НВ непосредственно контактирующие со СГн должны рассматриваться как клетки СС по определению. Так сколько же слоев клеток в СС?

Более того, даже клетки, ядра которых расположены в наружных слоях НВ, образуют такие отростки, протыкающие СС. Формирование таких отростков клетками наружных слоев, вероятно, иногда является этапом их перехода в СС посредством амебоидного движения. Протыкание СС может, по-видимому, происходить прямо через цитоплазму клетки СС (рис. 2, 3).

2. В ближайшие 1–8 часов после начала насыщающего мечения ядер клеток H^3 -ти-мидином границы зон меченых клеток, практически, совпадают с границами камбиальных зон волосяного фолликула. Таковыми являются:

а) многочисленные клетки матрикса – нижней половины луковицы волосяного фолликула на уровне соединительно-тканного сосочка (рис. 4),

б) некоторая часть клеток наружных слоев НВ в его расширенной части сразу выше луковицы (рис. 5),

с) редкие клетки наружного слоя НВ на большом протяжении от зоны сразу над луковицей до уровня устьев сальных желез.

3. Часть меченых ядер матрикса переходит в составе дифференцирующихся клеток в слой волоса и ВВ над луковицей и движется в ходе роста волоса и ВВ до уровня устьев сальных желез в составе ВВ, а в волосах ДНК разрушается при завершении дифференцировки клеток и движение метки прослеживается только в течении, примерно, 3 дней. Во ВВ часть ДНК ядер и, соответственно, метка в ней сохраняется и после завершения кератинизации. Поэтому удастся проследить движение клеток ВВ до зоны устьев сальных желез, на что уходит не менее 4.5–5 суток с момента включения метки в клетку матрикса, давшую начало клетке ВВ.

4. Через 1–3.5 суток после начала насыщающего мечения ядер клеток камбиальных зон волосяных фолликулов в СС выше луковицы можно видеть цепочки почти сплошь меченых ядер (рис. 4, 6). Эти ядра располагаются гораздо дистальнее, чем

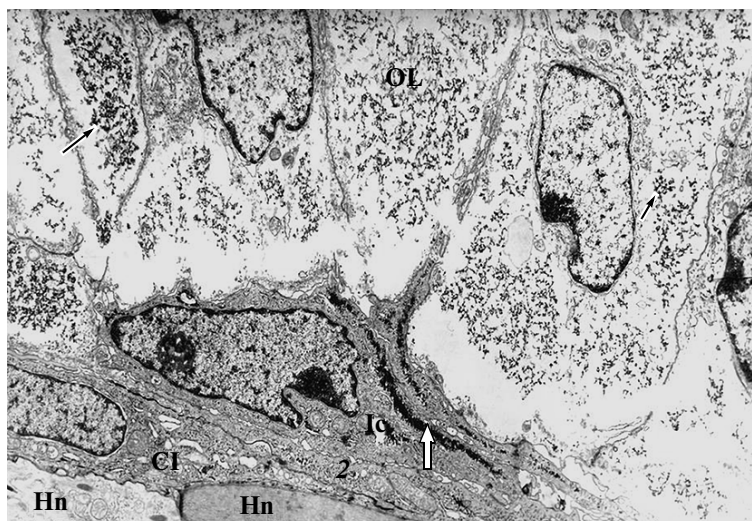


Рис. 3. Электронограмма ультратонкого среза сегмента волосяного фолликула каракульского ягненка. Сегмент включает 2 клетки слоя Генле (Hn), неподвижные клетки наружного слоя OI наружного влагалища, содержащие многочисленные мелкие зерна гликогена (стрелки), клетку сопровождающего слоя (CI) и клетку (Ic), по-видимому, вклинивающуюся из наружного слоя наружного влагалища в сопровождающий слой. Запасы гликогена в ней компактизировались (светлая стрелка), а цитоплазма содержит электронно-плотный материал, очевидно цитоскелетные элементы, определяющие подвижность клетки. 2 – Отросток второго слоя, отделенный отростком 1-го слоя клетки CI от слоя Генле (Hn), с которым он сближается под острым углом. Направление роста волоса слева направо, что видно из большей степени ороговения правой клетки слоя Генле.

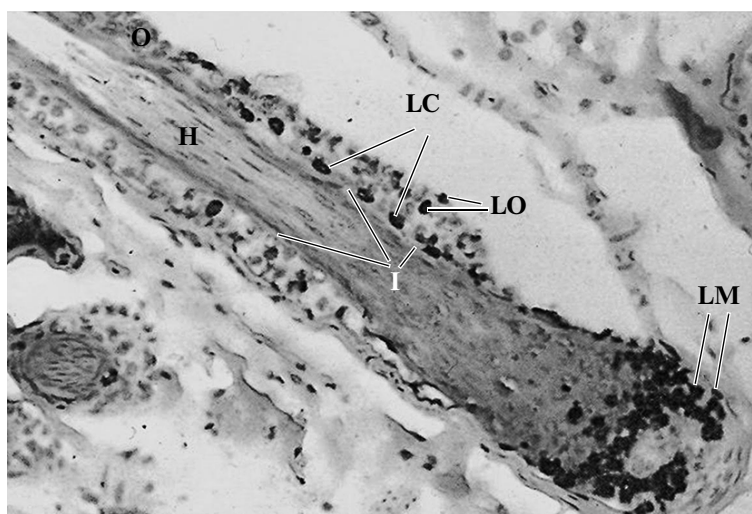


Рис. 4. Автограф продольного среза волосяного фолликула тонкорунной овцы. Биопсия взята через 25 часов после начала серии многократных введений с интервалами 3.5 часа Н3-тимидина. LM – многочисленные меченые ядра камбиальной зоны луковицы (“матрикса”). LO – меченые ядра наружного слоя наружного влагалища над луковицей (2я камбиальная зона фолликула). LC – цепочка меченых клеток сопровождающего слоя над луковицей (эти клетки прижаты к тонкому роговому слою Генле (I)). O – наружный слой наружного влагалища выше зоны продвижения меченых ядер сопровождающего слоя к 25 часам. H – волос с пока немечеными ядрами. За сутки фронт меченых ядер продвинулся из камбия луковицы только в начало зоны дифференцировки (верхняя половина луковицы выше сосочка). Объектив 25x.

наиболее, продвинутые к тому же сроку меченые ядра во ВВ и волосе. При этом, в более ранние сроки (через 1–8 часов) меченые ядра в СС выше луковицы отсутствуют (рис. 5). Следовательно, меченые клетки мигрируют в СС над луковицей

из какого-то другого места за 16 часов (24 ч – 8 ч = 16 ч), причем в значительном количестве.

На продольных срезах часто отмечается асимметрия в такой миграции: по одну сторону от волоса СС состоит в основном из меченых клеток, а

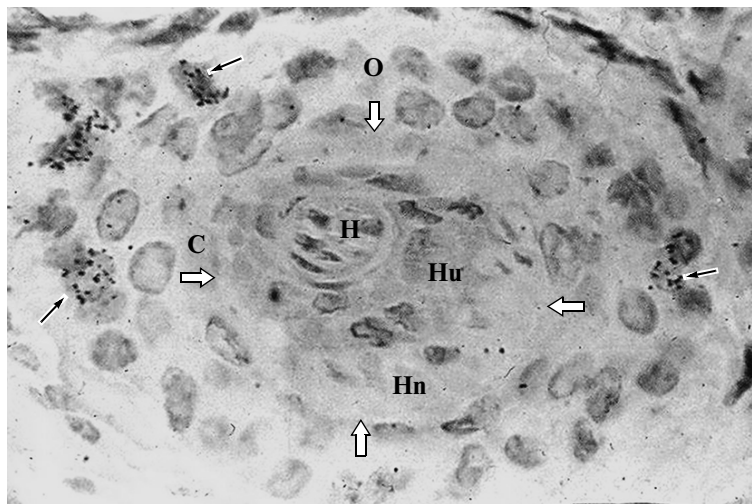


Рис. 5. Автограф поперечного среза волосяного фолликула тонкорунной овцы на уровне кератогенной зоны над луковицей, где в наружных слоях (О) имеется камбиальная зона, содержащая клетки, включившие метку НЗ-тимидина (черные стрелки) через 8 часов после введения метки. Светлые стрелки указывают границу сопровождающего слоя (С) со светлосерым ороговевшим слоем Генле (Нn). В сопровождающем слое меченые ядра в этот срок отсутствуют. Нn – розоватый незрелый слой Гексли внутреннего влагалища. Н – незрелый волос на стадии синтеза кератина в корковом слое. Объектив 100х.

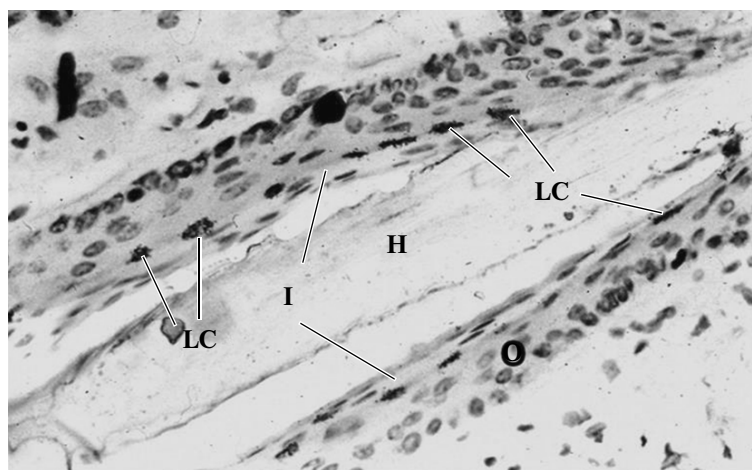


Рис. 6. Волосяной фолликул тонкорунной овцы на уровне зрелого волоса немного ниже устьев сальных желез через 83 часа после начала введения серии НЗ-тимидиновых меток. Введение продолжалось в течение 36 часов с интервалами 3.5 часа.

Во внутреннем влагалище (I) с его слабо окрашенной ороговевшей цитоплазмой, местами различимы игловидные или веретеновидные ядра иногда в 3 ряда (что соответствует 3 слоям Генле, Гексли и кутикуле), которые однако на этом уровне и в этот срок не несут метки т.е. черного “порошка” из мельчайших кристалликов серебра. Снаружи к внутреннему влагалищу примыкает единственный слой клеток сопровождающего слоя с бледно-серой цитоплазмой, практически, все ядра которого такую метку (LC) несут.

Таким образом, фронт меченых клеток в сопровождающем слое далеко опережает фронт меченых клеток во внутреннем влагалище. Снаружи к сопровождающему слою примыкают средние и наружные (базальные) слои клеток наружного влагалища (O), где меченые ядра в основном отсутствуют. Направление роста волоса (H) слева направо, что видно из поворота слоев наружного влагалища в сторону волоса в верхнем правом углу снимка в связи с формированием складчатой структуры и ее постепенным сбросом в pilarный просвет. Увеличение на пленке 118х. Объектив 25х.

по другую в основном из немеченых (рис. 4). Через 3.5 суток на уровне сразу ниже устьев сальных желез можно видеть ряд почти сплошь меченых

клеток в СС, в то время как в других слоях фолликула меченые ядра в этот срок на этом уровне еще отсутствуют (рис. 6).

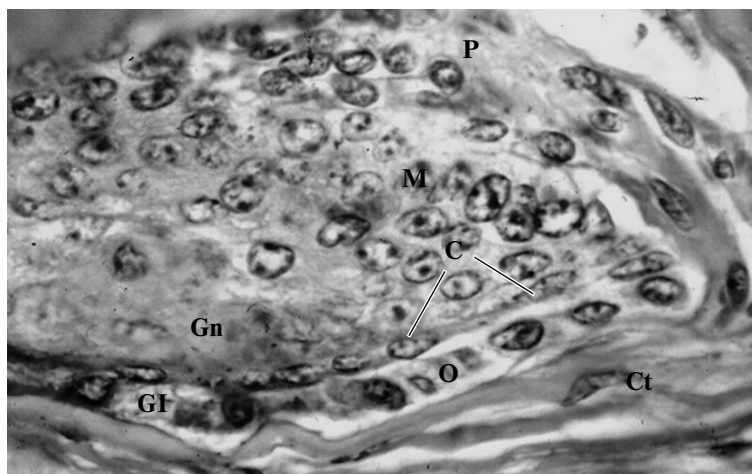


Рис. 7. Участок луковицы волосяного фолликула овцы через сутки после локального облучения кожи в дозе 150 sZv. Окраска ШИК-методом на гликоген с докраской гематоксилином. Ct — соединительно-тканная сумка вокруг луковицы переходит в сосочек (P), полуостровом вдающийся в матрикс (M) — камбий луковицы.

Число клеток в матриксе резко уменьшено (пострадиационная гипоплазия).

O — наружный слой наружного влагалища представлен более рыхло расположенными клетками, чем в норме. C — проводящий слой, плотно прилегает к клеткам матрикса, готовым дифференцироваться в слой Генле (Gn) внутреннего влагалища, но не обнаруживает плотного прилегания к наружному слою наружного влагалища. Наружный и сопровождающий слои вблизи сосочка лишены гликогена, но на уровне вблизи вершины сосочка и выше гликоген (фуксиновая окраска) имеется в обоих слоях. Объектив 100×.

Однако через 5 суток после начала введения метки (т.е. с опозданием более, чем на сутки) меченые ядра на этом уровне появляются и в слое ВВ.

Итак, совершенно очевидно, что СС присутствует уже на уровне нижней половины луковицы и движется вместе с клетками ВВ в сторону поверхности кожи в сцеплении со СГн. Восполнение уходящих клеток СС из этой зоны возможно только из клеточных популяций, расположенных в самой луковице. Такими популяциями могут быть либо матрикс — камбиальная зона луковицы, либо наружный слой наружного влагалища. Во втором случае восполнение постоянной эвакуации клеток СС из нижней луковицы может достигаться за счет вклинивания клеток наружного слоя НВ в СС. При этом становится понятным существование отростков, которые “протыкают” снаружи слой отростков СС, прилежащих к СГн, и в каком-то месте достигают СГн, вступая с ним в непосредственный контакт (рис. 1). Эти “протыкающие” отростки могут являться отростками клеток наружного слоя НВ, находящимися в процессе вклинивания в СС.

Как известно, для НВ (по крайней мере на уровне верхней половины луковицы и выше) характерно наличие значительного количества гликогеновых включений, которые могут служить меткой клеток НВ, хотя, вероятно, достаточно лабильной, так как в других слоях волосяного фолликула они в устойчивый период роста волоса отсутствуют. Гликоген легко выявляется классическим ШИК-методом (окраска реактивом Шиффа

после обработки йодной кислотой). На электрограммах гликоген имеет характерную структуру осмиофильных включений рыхлую в одних (покоящихся) клетках и компактизованную в мигрирующих клетках, имеющих более осмиофильную цитоплазму.

При допущении вклинивания клеток наружного слоя НВ в СС на уровне луковицы становится понятным характерное распределение гликогена в НВ и СС на уровне луковицы через сутки после облучения участка кожи в дозе 150 сЗв. С одной стороны, на уровне нижней половины луковицы гликоген отсутствует как в наружном слое НВ, так и в СС (рис. 7). С другой стороны, в более дистальных (удаленных от основания луковицы) участках луковицы в наружном слое НВ присутствует гликоген, который здесь же появляется и в СС, т.е. в клетках, которые предполагаются прибывшими снизу из матрикса основания луковицы, где в них не было гликогена. Возможно, часть клеток СС, содержащих здесь гликоген, происходят из вклинившихся в СС клеток НВ расположенных выше и уже содержащих гликоген. Самые нижние клетки СС, лишенные гликогена, могут происходить из самых нижних клеток наружного слоя НВ, потерявших гликоген в ходе миграции из верхней части луковицы к основанию сосочка, где они формируют СС, лишенный гликогена на этом уровне. Из рисунка 7 видно, что клетки наружного слоя НВ при диспластиче-

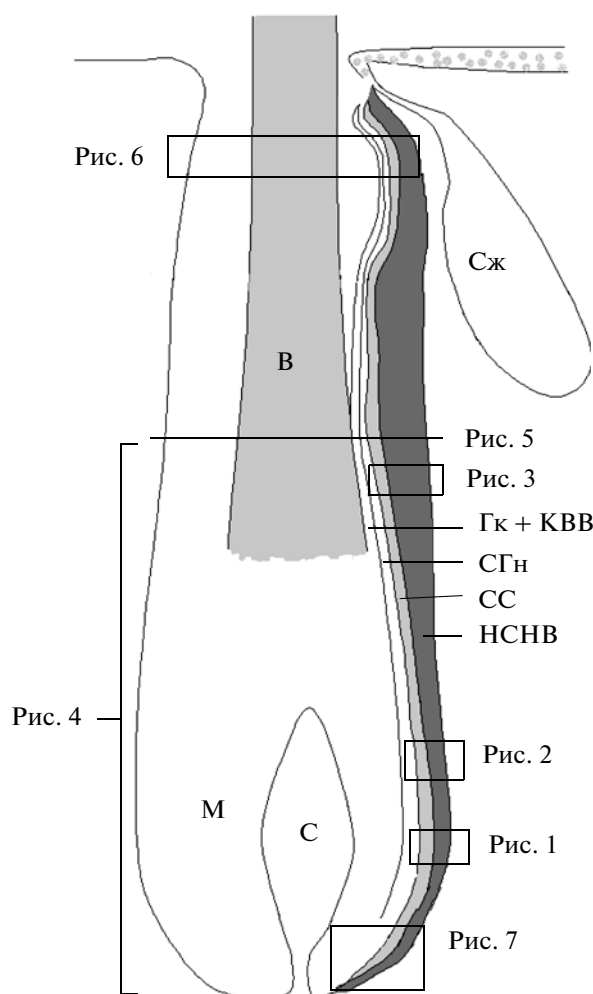


Рис. 8. Схема расположения участков, представленных на рисунках 1–7, на волосяном фолликуле. С – соединительно-тканый сосочек, М – матрикс луковицы, СЖ – сальная железа, В – дифференцирующий волос, НСНВ – наружный слой наружного влагалища, СС – сопровождающий слой, СГн – слой Генле внутреннего влагалища, Гк + КВВ – слой Гексли + кутикула внутреннего влагалища. Цифрами показаны номера рисунков, отражающих участки волосяного фолликула (прямоугольники или скобки).

ском сокращении массы клеток матрикса после облучения оказываются не столь уплощенными, отделяются щелью от СС, а у основания сосочка имеют структуру, которая допускает истолкование как переход в СС.

Против происхождения СС из матрикса можно представить следующие доводы:

- нет признаков плавного перехода между почти изодиаметрическими клетками матрикса и предельно плоскими клетками СС в самой нижней части луковицы;

- если СС – это самый наружный слой ВВ, то представляется не вполне логичным, что СГн ороговеет очень рано и быстро, а более глубо-

кие слои ВВ, т.е. Гексли и кутикула ВВ, позже и медленнее, а самый поверхностный слой ВВ, в качестве которого выступает, согласно этой гипотезе, СС, еще позже и медленнее.

Что касается происхождения клеток СС, наблюдаемых выше уровня луковицы, то без массового вклинивания клеток наружных слоев НВ невозможно объяснить того факта, что фронт движения меченых клеток СС далеко опережает аналогичный фронт движения клеток по ВВ. Присутствие уже через сутки после начала меченых клеток целой цепочки меченых клеток СС над луковицей не может быть объяснено продвижением их из нижней части луковицы, т.е. из мат-

рикса. Ведь аналогичное продвижение меченых клеток по ВВ и волосу требует двух суток или даже немного более, причем клетки СС на уровне нижней части луковицы, сцеплены десмосомами с ВВ и, следовательно, обогнать их не могут. При использовании не насыщающих, а импульсных меток R.E. Chapman (Chapman, 1971) также пришел к выводу, что меченые клетки СС движутся с той же скоростью, что и клетки ВВ, а тот факт, что меченые клетки СС опережают в своем движении к устьям сальных желез клетки ВВ объясняется только тем, что часть клеток СС происходит не из матрикса, а из клеток НВ, расположенных над луковицей. Вклинивание клеток из наружного слоя НВ над луковицей в СС требует гораздо меньше времени (всего одних суток, если не меньше). Существенная длина цепочки меченых клеток уже через сутки может объясняться не только быстрым движением волоса, ВВ и СС выше луковицы, но и тем, что камбиальная зона НВ над луковицей имеет некоторую протяженность в длину, и по всей этой длине происходит вклинивание клеток из наружного слоя НВ в СС.

Асимметрия доли меченых клеток в СС над луковицей по разные стороны от волоса может определяться асинхронностью клеточных делений в наружном слое НВ по разные стороны волоса. По одну сторону от волоса может располагаться более или менее синхронизированная по клеточному циклу субпопуляция клеток. Синхронизация может отражать клональное происхождение субпопуляции от единой недавно претерпевшей митоз клетки в НВ, потомки которой в течении последующих митозов сохранили относительную синхронность вплоть до своих критических митозов с последующим синхронным переходом в СС. По другую сторону волоса не нашлось клетки-основателя синхронной субпопуляции в данный период времени и клетки СС представлены потомками клонов развившихся до введения H^3 -тимидина, и мигрировавших сюда с уровня луковицы за более длинный срок, чем тот, что прошел от начала введения метки.

Вклинивание клеток НВ в СС может оказаться главным механизмом выдвижения ВВ и волоса от луковицы в сторону поверхности кожи. Такое выдвижение имеет место и после подавления митотической активности в фолликуле, например, радиацией, и, следовательно, давление роста в луковице не является необходимым условием такого выдвижения. Даже скорость выдвижения волоса мало снижается при ингибировании пролиферации (Всеволодов, 1979), как это видно из опытов с мечением сегментов волоса S^{35} -метионином. Вклинивание новых клеток в СС должно вести к росту его объема. Но, поскольку в период

устойчивого роста на деле параметры слоев фолликула остаются неизменными, добавленный объем должен отводиться за пределы СС. Отведение в сторону луковицы невозможно по ряду причин, и, главное, меченые клетки СС реально перемещаются к устьям сальных желез. Отводимые сюда клетки СС ороговевают и в конечном счете сбрасываются в виде детрита в пилярный просвет после длительного пребывания в постоянно образующихся складках (Gemmel and Chapman, 1971). Иными словами, вклинивание все новых клеток НВ в СС должно создавать в нем повышенное давление, толкающее СС и прикрепленное к нему ВВ к устьям сальных желез со сбрасыванием более старых его клеток в пилярный просвет вместе с остатками клеток ВВ, подвергающихся частичному гидролизу. ВВ над луковицей до уровня образования пилярного просвета жестко сцеплено с волосом и последний тянется ВВ вверх в сторону поверхности кожи. Пилярный просвет отделяет волос от ВВ, и волос продолжает выталкиваться из кожи нижней частью ВВ над луковицей, в свою очередь, транспортируемой СС и НВ в целом. Возможная роль НВ в выдвижении волоса постулировалась и ранее (Straile, 1965; Всеволодов, 1979).

Не исключено, что вклинивание клеток наружных слоев НВ в СС происходит на всем протяжении НВ от нижней части луковицы до устьев сальных желез, но интенсивность этого процесса распределена неравномерно. Месту с наиболее интенсивным вклиниванием должно соответствовать место с наибольшим уровнем пролиферативной активности НВ, компенсирующей расход клеток НВ на вклинение в СС. Таким местом является зона активной пролиферации наружных слоев НВ сразу выше луковицы. В отсутствие компенсации потерь клеток на вклинивание с помощью пролиферации популяция клеток НВ должна истощаться, но до полного истощения НВ сформированный проксимальный конец волоса успевает выдвинуться к устьям сальных желез. Выше ближайшей надлуковичной зоны нерегулярно встречаются редкие островки меченых H^3 – тимидином ядер.

Часть клеток наружного слоя НВ над луковицей, повидимому, мигрирует не в СС на том же уровне, а и вниз к основанию луковицы (Ogwin, 1971; Chapman, 1971) и восполняет убыль клеток НВ, расходуемых на формировании СС на уровне луковицы и клеток матрикса по мере снижения их пролиферативного потенциала вследствие действия лимита Хэйфлика (Hayflick, 1970).

К числу других возможных функций СС можно отнести вступление в прямой контакт с разволокненным нижним кончиком волоса после завершения фазы устойчивого роста (переходная

стадия к покою — катаген и стадия покоя тело-ген), что позволяет удерживать не растущий волос в коже на уровне ниже устьев сальных желез в течение недель.

Можно предположить также, что СС выделяет индуктор ускоренной кератинизации наружного слоя ВВ и превращения его в СГн.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представление, что клетки сопровождающего слоя происходят исключительно из матрикса луковицы волосяного фолликула (если вообще клетки в сопровождающий слой поступают из матрикса), не соответствует действительности. Действительно, меченые клетки из матрикса через сутки после начала насыщающего меченья не успевают выйти за пределы верхней половины луковицы, а в сопровождающем слое фронт меченых клеток уходит гораздо выше луковицы. Более быстрое движение сопровождающего слоя мимо слоя Генле невозможно, так как на уровне луковицы эти два слоя связаны многочисленными десмосомами. Источником продвинутых вверх меченых клеток сопровождающего слоя над луковицей являются метящиеся над луковицей в наружном слое наружного влагалища клетки. Они быстро мигрируют в сопровождающий слой, а далее в его составе к устьям сальных желез, сохраняя тот же опережающий отрыв от мигрирующих в том же направлении клеток внутреннего влагалища, включивших метку в матрикс. К 3.5 суткам после начала насыщающего меченья фронт меченых клеток в сопровождающем слое достигает уровня устьев сальных желез, тогда как во ВВ фронт меченых клеток достигает этого уровня на 1–1.5 суток позже.

Переход клеток из наружного слоя наружного влагалища в сопровождающий слой возможен пу-

тем вклинивания клеток наружного слоя между уже имеющимися клетками сопровождающего слоя до достижения вклинивающимися клетками участка поверхности слоя Генле. Это дает право называть такие клетки вторым сопровождающим слоем, пока они не установили контакт со слоем Генле на широком фронте.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Orwin D.F.G.* Cell differentiation in the lower outer sheath of the Romney wool follicle; a companion cell layer // *Australian J. Biol. Sci.* 1971. V. 24. P. 989–999.
- Всеволодов Э.Б.* Волосяные фолликулы. “Наука”, Алма-Ата, 1979. С. 1–190.
- Rogers G.E.* Hair follicle differentiation and regulation // *Intern. J. Dev. Biol.* 2004. V. 48. P. 163–170.
- Hayflick L.* Aging under glass // *Exp. Gerontology.* 1970. V. 5. P. 291–303.
- Panteleev A.A., Jahoda C.A.B., Christiano A.M.* Hair follicle predetermination // *J. C. Sci.* 1 October 2001. V. 114. P. 3419–3431.
- Gemmel R.T., Chapman R.E.* Formation and breakdown of the inner root sheath and features of the pillary canal epithelium in the wool follicle // *J. ultrastructure research.* 1971. V. 36. P. 355–366 (Fig. 10).
- Всеволодов Э.Б., Прусова Л.С.* Кинетика клеточной популяции волосяного фолликула овцы // *Цитология.* 1976. Т. XVIII. № 3. С. 324–329 (рис. 3).
- Всеволодов Э.Б., Очилов К.Д., Воробьевский А.П., Федосеев В.М.* Взаимоотношения клеток наружного корневого влагалища волосяного фолликула // *Архив анат., гист. и эмбриол.* 1983. Т. LXXXIV. № 5. С. 64–69.
- Chapman R.E.* Cell migration in wool follicles of sheep // *J. Cell. Sci.* 1971. V. 9. P. 791–803.
- Straile W.E.* Root sheath-dermal papilla relationships and the control of hair growth. In: *Biology of the skin and hair growth. Proceeding of a symposium held at Canberra.* Angus and Robertson / Sydney: 1965. P. 35–58.

Cellular Dynamics of the Outer Layers of the Hair Follicle of Fine-Wool Sheep During the Phase of Stable Hair Growth

E. B. Vsevolodov^b, V. A. Golichenkov^a, and I. F. Latypov^b

^a*Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119192 Russia*

^b*Institute of General Genetics and Cytology, Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan, Almaty, 050060 Kazakhstan*

e-mail: eduardvsevolodov@mail.ru

Received March 11, 2014; in final form, April 26, 2014

Abstract—The structure, origin, and migration of outer sheath cells of the hair follicles of domestic sheep were studied by electron microscopic, autoradiographic, and histochemical (glycogen) in order to understand the role of this layer in hair morphogenesis. We demonstrated that the cells of the outer layers of the outer sheath interpose into the inner “companion” layer of the outer sheath. Although this process takes place all along the hair follicle from the lower bulb up to the sebaceous glands orifices, it mainly takes place over the bulb. Labeled cells interposed into the companion layer move towards sebaceous glands orifices more than

24 hours faster than labeled cells of the inner sheath and hair, because these cells included the label not in the bulb cambium (as hair and inner sheath) but over the bulb, and from this point they start movement. Interposition of cells into the companion layer must cause increase of its volume and additional volume supposed to be led away into the pillar canal around the hair near the sebaceous glands orifices. This can provide the mechanism for the propagation of the hair and inner sheath promotion to sebaceous gland orifices.

Keywords: Outer sheath of the hair follicle, interposition of the outer layer cells into inner layer, “incline” labeled cell migration