

© Коллектив авторов, 2011
УДК 611.77-053

В.И. Ноздрин, М.В. Горелова и Т.А. Белоусова

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭПИДЕРМИСА КОЖИ ВОЛОСИСТОЙ ЧАСТИ ГОЛОВЫ У МУЖЧИН

Научный отдел (руков. — чл.-кор. РАМН проф. В.В. Банин), Фармацевтическое научно-производственное предприятие «Ретиноиды», Москва; кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии (зав. — проф. В.И. Ноздрин), Медицинский институт Орловского государственного университета, e-mail: science@retinoids.ru; orelhistret@orl.ru

Гистологическими, морфометрическими и иммуноцитохимическими методами на аутопсийном материале изучали интерфолликулярный эпителий кожи височной области головы людей мужского пола в возрасте от 7 мес до 75 лет. Использовали моноклональные антитела к Ki-67, инволюкрину и p53 для оценки пролиферативного пула эпидермиса, толщины слоя клеток, вступивших в терминальную дифференцировку, и фракции клеток, подвергающихся апоптозу. У детей эпидермис тонкий, отличается низким содержанием Ki-67- и p53-позитивных клеток, а также небольшой толщиной пласта инволюкрин-позитивных клеток. В возрасте 19–21 года определяется наибольшая пролиферативная активность кератиноцитов, и эпидермис достигает максимальной толщины. В дальнейшем наблюдается истончение эпителиального слоя кожи, снижение в нём уровня пролиферации кератиноцитов и увеличение доли p53-позитивных клеток. Абсолютная величина толщины слоя инволюкрин-позитивных клеток с возрастом практически не изменяется, а его доля в общей толщине эпидермиса возрастает.

Ключевые слова: кожа, голова, интерфолликулярный эпидермис, пролиферация, старение

Кожа человека, несмотря на принципиально единый план строения, отличается видовыми, расовыми, половыми, возрастными и региональными особенностями, что отмечается практически во всех работах обзорного характера [6, 9–11, 29].

Эти особенности имеют определённое значение при решении дерматологических и косметологических проблем [9, 10]. Фрагментарные сведения о возрастных изменениях эпидермиса кожи волосистой части головы у человека можно встретить лишь в единичных работах [6, 9–11], хотя в связи с проблемой алопеции такие знания могут быть важны. Ранее, в предварительных сообщениях было отмечено, что у взрослых мужчин с годами толщина эпидермиса в этой области и способность его клеток к делению уменьшаются [2, 12], что подтверждает достаточно хорошо доказанный факт снижения пролиферативной активности кератиноцитов у пожилых и старых людей [14]. Цель настоящей работы — исследование динамики преобразования эпидермиса волосистой части головы у мужчин на протяжении длительного времени, включающего, по существу, весь период постнатального онтогенеза.

Материал и методы. Объектом исследования служили образцы кожи височной области, полученные от 90 трупов людей мужского пола в возрасте от 7 мес до 75 лет (всего 46 возрастных точек). Секционный материал получали из судебно-медицинских моргов и патологоанатомических отделений больниц г. Орла и Москвы не позднее 12–14 ч

после смерти, наступившей преимущественно от травм и реже от соматических заболеваний. Образцы фиксировали в 10 % нейтральном формалине и заливали в парафин. Срезы толщиной 4–5 мкм окрашивали гематоксилином–эозином, а также обрабатывали моноклональными антителами с последующей докраской.

Толщину клеточного эпидермиса (до рогового слоя) определяли на аппаратно-программном комплексе «ДиаМорф» (Россия). Проводили по 3 измерения в каждом поле зрения, при этом количество исследованных полей зрения определялось размерами среза и составляло 16–22 в препарате. Приведённые в работе средние значения величин характеризуют индивидуальные случаи для каждой изученной возрастной точки. При наличии нескольких случаев для данного возраста результаты суммировали.

Белки: Ki-67 (маркер пролиферации, выявляющийся в ядрах только тех клеток, которые готовятся к делению [7, 28]), инволюкрин (маркер терминальной дифференцировки [31]) и p53 (белок, активирующий репаративные процессы в клетках с повреждениями ДНК, а также развитие апоптоза в случае высокой степени этих повреждений [1, 13]), выявляли с помощью моноклональных антител (Cell marque, США) методом двойного непрямого маркирования. Демаскирование антигенов проводили кипячением срезов под повышенным давлением в растворах Trilogy (для выявления Ki-67- и p53-позитивных клеток) и Decler — для выявления инволюкрин-позитивных клеток (Cell marque, США). Локализацию первичных антител определяли с помощью иммунопероксидазного метода (Histofine Simple Stain MAX PO Multi, Япония) с использованием в качестве субстрата 3,3-диаминобензидина (ДАБ) для выявления Ki-67- и инволюкрин-позитивных клеток или 3-амино-9-этилкарбазола (АЭК) для выявления p53-позитивных клеток, после чего срезы докрашивали гематоксилином Караччи. Рассчитывали индекс Ki-67 как долю Ki-67-позитивных клеток от общего числа клеток базального и шиповатого слоёв в поле зрения микроскопа

[4]. Определяли толщину инволюкрин-позитивного пласта в эпидермисе (в микрометрах) и вычисляли его долю от общей толщины клеточного эпидермиса. Продукт реакции при этом локализовался преимущественно под плазмолеммой кератиноцитов, вследствие чего границы клеток становились плохо различимыми. Индекс p53 определяли так же как индекс Ki-67.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы «Statistica», версия 6.1. Для более наглядного выявления общей тенденции изменений с помощью программы Microsoft Office Excel 2007 строили полиномиальную линию тренда VI степени, которая применима для характеристики большого ряда нестабильных возрастающих и убывающих величин.

Результаты исследования. При микроскопии гистологических срезов видно, что у детей и подростков интерфолликулярный эпидермис кожи волосистой части головы состоит в основном из кератиноцитов базального и шиповатого слоёв, причем число рядов клеток в шиповатом слое не превышает 3–4. Поверхностные слои эпидермиса представлены скудно, эпидермальные гребешки развиты слабо. К 19–21 годам эпителиальный пласт кожи сформирован в полной мере — он толстый, и в нём отчётливо выявляются все клеточные слои; эпидермальные гребешки хорошо выражены и глубоко внедряются в дерму. В дальнейшем с возрастом эпидермис истончается, преимущественно за счёт шиповатого слоя; у стариков эпителиальные гребешки неглубокие или полностью отсутствуют, зернистый и роговой слои выражены плохо (рис. 1, а, б, см. цветную вклейку на стр. 77).

Измерения показали, что толщина интерфолликулярного эпидермиса минимальна у детей грудного возраста, в дальнейшем она довольно быстро нарастает и достигает максимальных значений к 19–21 годам (рис. 2; таблица). Начиная примерно с 26 и до 75 лет (последний исследованный возраст), происходит вначале быстрое, а затем постепенное истончение эпидермиса, однако значения средних величин, характерные для воз-

Толщина интерфолликулярного эпидермиса кожи височной области у людей мужского пола различного возраста ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, мкм)

№ возрастной группы	Возраст (годы)	Количество наблюдений	Исследованный параметр
0	0–3	4	20,9±0,8
1	11–15	2	31,2±1,1
2	16–20	2	49,5±2,0
3	21–25	4	37,0±1,3 [#]
4	26–30	6	28,5±0,6*
5	31–35	9	28,4±0,4
6	36–40	8	25,4±0,4**
7	41–45	10	23,0±0,4
8	46–50	12	20,33±0,24
9	51–55	8	21,7±0,3
10	56–60	8	17,4±0,3**,***
11	61–65	6	18,6±0,4
12	66–70	5	18,6±0,5
13	71–75	6	20,0±0,4

Различия значимы: [#] между группами 0 и 3; * между группами 3 и 4; ** между группами 4 и 6, 4 и 10; *** между группами 6 и 10 при $P < 0,001$.

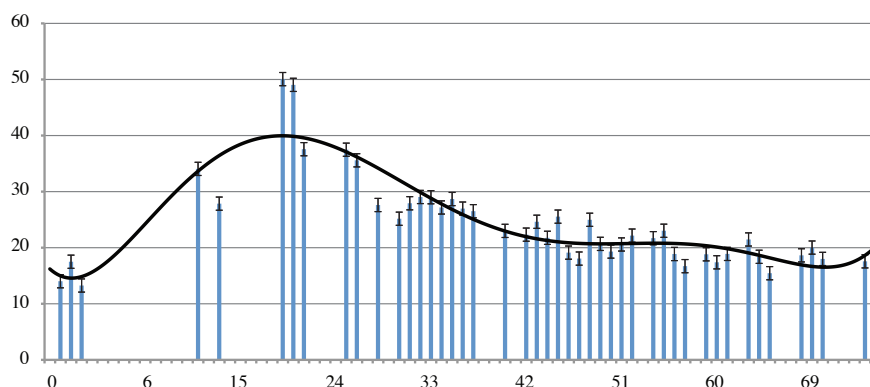
растных групп 41–45 лет и 71–75 лет, статистически не различаются.

Ki-67-позитивные клетки в эпителиально-клеточном пласте могут находиться не только в глубине росткового (мальпигиева) слоя, но и в средних отделах шиповатого слоя (рис. 3, а, б, см. цветную вклейку на стр. 77), что дало нам основания использовать для определения индекса Ki-67-позитивных клеток общее число клеточных элементов в базальном и шиповатом слоях.

У детей раннего возраста доля пролиферирующих клеток довольно высока, затем она, возможно, временно снижается или монотонно нарастает, достигая своего максимума к 19–21 годам. В интервале от 25 до 43–45 лет этот показатель удерживается на одном уровне, а к старости про-

Рис. 2. Толщина интерфолликулярного эпидермиса кожи височной области головы у людей мужского пола в возрасте от 7 мес до 75 лет.

По оси абсцисс — возраст (годы); по оси ординат — исследованный параметр (мкм); вертикальные отрезки — значения стандартной ошибки; сплошная линия — полиномиальная линия тренда.



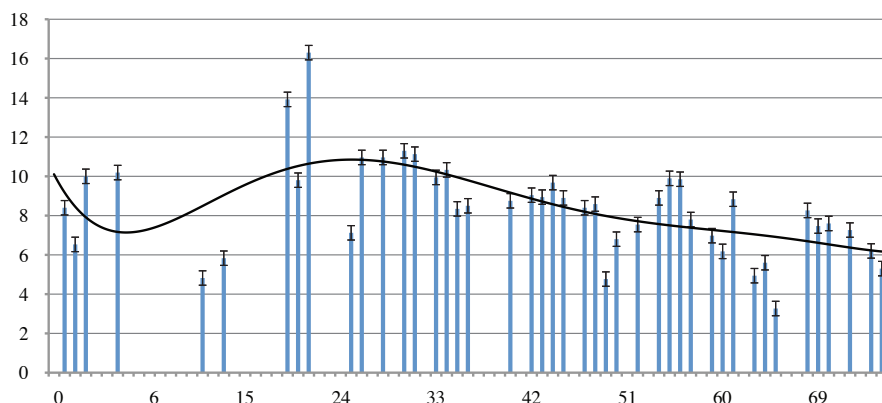


Рис. 4. Индекс Ki-67 в интерфолликулярном эпидермисе кожи височной области головы у людей мужского пола в возрасте от 7 мес до 75 лет.

По оси абсцисс — возраст (годы); по оси ординат — исследованный параметр (%); вертикальные отрезки — значения стандартной ошибки; сплошная линия — полиномиальная линия тренда.

исходит уменьшение величины пролиферативного пула эпидермиса (рис. 4).

При сопоставлении результатов измерения толщины эпидермиса кожи височной области и индекса, характеризующего пролиферативную активность кератиноцитов, видно, что эти параметры связаны между собой и в совокупности отражают изменения интенсивности физиологической регенерации эпидермиса волосистой части головы — её возрастание в молодые годы и снижение к старости.

Клетки, меченные антителами к инволюкрину, располагаются в верхних слоях эпидермиса, образуя инволюкрин-позитивный пласт (рис. 5, а, б, см. цветную вклейку на стр. 77). Как показали измерения, толщина пласта инволюкрин-позитивных клеток в интервале от 11 до 75 лет практически не зависит от возраста и колеблется от 11 до 27 мкм (рис. 6, а). Как и следовало ожидать, при постоянной абсолютной толщине пласта его доля в эпидермисе изменяется в обратной зависимости от величины общей толщины. Так, у 11-летнего ребенка она составляет 46,1 %, у мужчины в возрасте 21 года — 68,1 %, в 63 года — 95,4 %, после чего наблюдается незначительное снижение показателя — до 82,6% у мужчин 75 лет (см. рис. 6, б).

p53-позитивные клетки, как и клетки, экспрессирующие маркер пролиферации, локализируются и в базальном, и в шиповатом слоях эпидермиса (рис. 7, а, б, см. цветную вклейку на стр. 77). Подсчёт p53-позитивных клеток показал, что их доля от общего числа клеток базального и шиповатого слоев также изменяется с возрастом. Так, индекс p53 у детей минимальный, у молодых мужчин (21–25 лет) составляет около 10 %, затем несколько снижается и в период с 26 до 55 лет стабилизируется на уровне 7–8%. После этого фракция клеток, экспрессирующих белок p53, неуклонно нарастает, достигая к 71–75 годам 12–14 % (рис. 8).

Более интересными нам кажутся иные аспекты настоящей работы. Мы полагаем, что для решения некоторых задач анализ достаточно большой последовательности индивидуальных величин, изменяющихся в соответствии с временной шкалой, может быть не менее информативным, чем анализ средних значений, полученных с соблюдением статистических требований. На диаграмме (рис. 9) отражены изменения толщины эпидермиса в соответствии с возрастными группами, указанными в таблице. Так, при сравнении рис. 9 с диаграммой, представленной на рис. 2, нетрудно видеть, что, несмотря на некоторые различия в конкретных значениях, кривые тренда, характеризующие общее направление изменений и их динамику, практически совпадают. Подобные же сопоставления можно провести и для остальных исследованных показателей.

Рис. 1. Фрагменты кожи височной области головы у мужчин 19 (а) и 74 (б) лет.

Эп — эпидермис; Д — дерма. Гематоксилин–эозин. Ув. 300.

Рис. 3. Ki-67-позитивные клетки (стрелки) в интерфолликулярном эпидермисе (Эп) кожи височной области головы у мужчин 19 (а) и 74 (б) лет.

Обозначения те же, что на рис. 1. Реакция на Ki-67 (диаминобензидин), гематоксилин Караччи. Ув. 600.

Рис. 5. Пласты инволюкрин-позитивных клеток (стрелки) интерфолликулярного эпидермиса (Эп) кожи височной области головы у мужчин 19 (а) и 74 (б) лет.

Обозначения те же, что на рис. 1. Реакция на инволюкрин (диаминобензидин), гематоксилин Караччи. Ув. 300.

Рис. 7. p53-позитивные клетки (стрелки) в интерфолликулярном эпидермисе (Эп) кожи височной области головы мужчин 19 (а) и 74 (б) лет.

Обозначения те же, что на рис. 1. Реакция на p53 (3-амино-9-этилкарбазол), гематоксилин Караччи. Ув. 600.

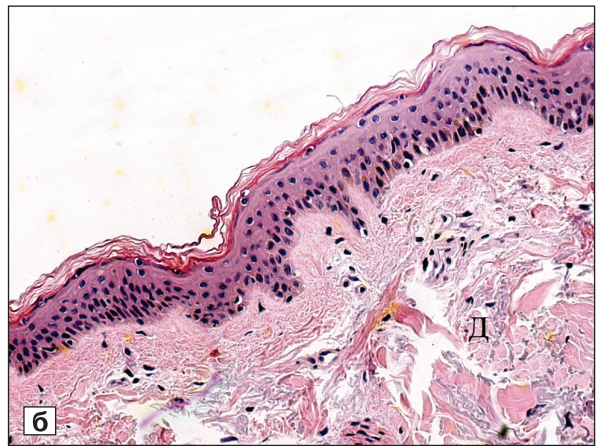
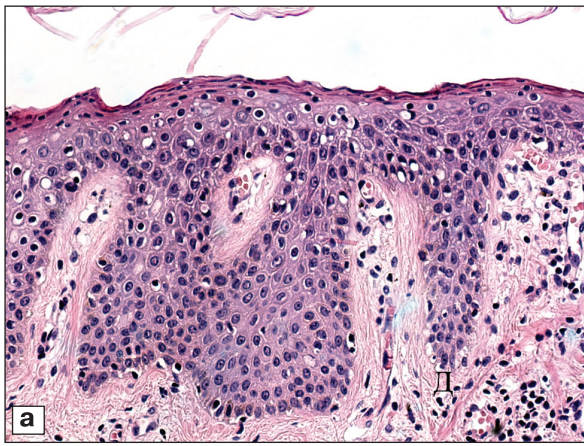


Рис. 1

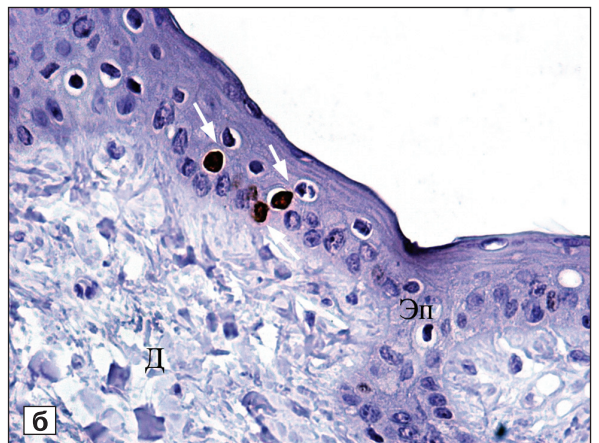
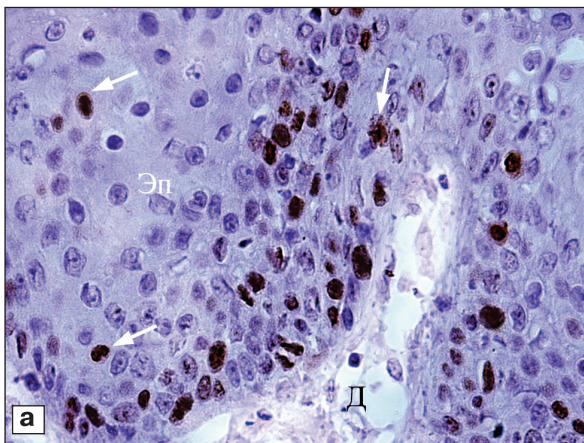


Рис. 3

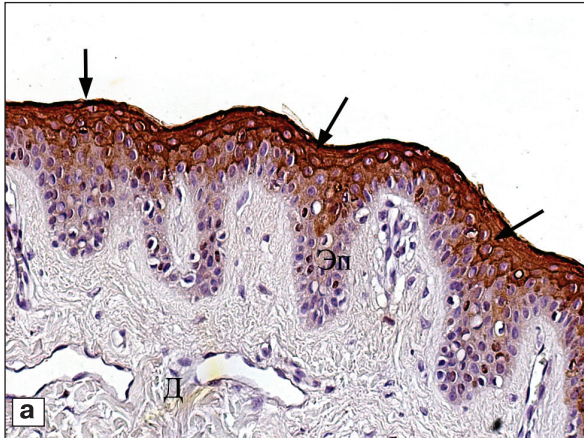


Рис. 5

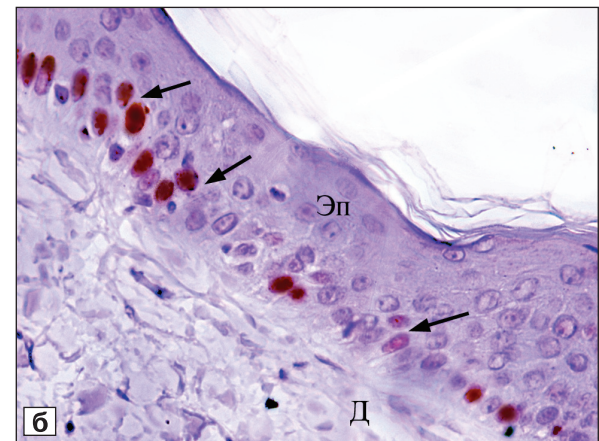
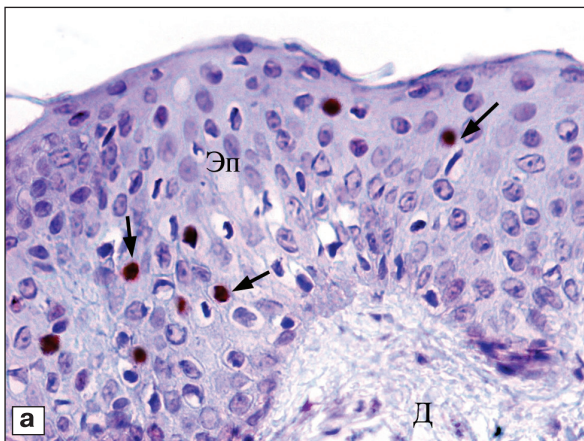


Рис. 7

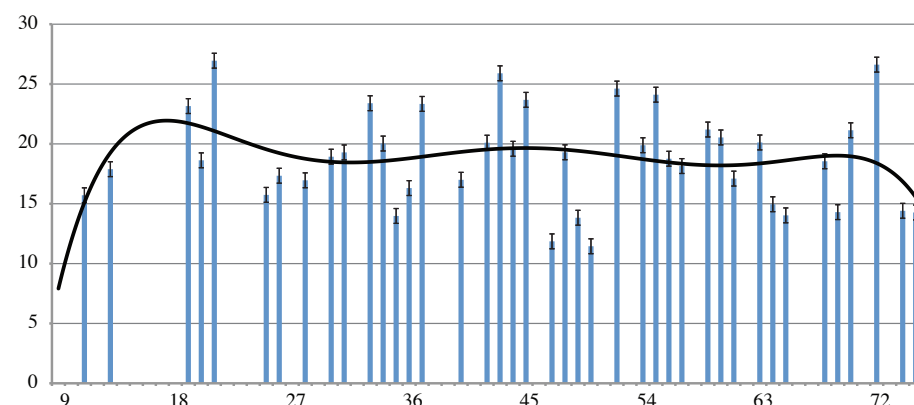
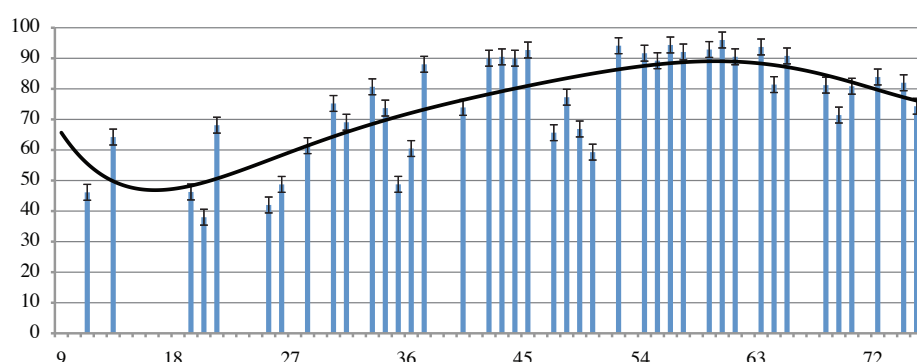
**а****б**

Рис. 6. Толщина пласта инволюкрин-позитивных клеток (а) и ее доля от общей толщины интерфолликулярного эпидермиса (б) кожи височной области головы людей мужского пола в возрасте от 11 до 75 лет.

По оси абсцисс — возраст (годы); по оси ординат — исследованные параметры: а (мкм), б (%). Вертикальные отрезки — значения стандартной ошибки; сплошная линия — полиномиальная линия тренда.

Обсуждение полученных данных. Сведения о толщине эпидермиса кожи волосистой части головы у человека немногочисленны. Так, в диссертации Е.А. Загорученко [5], выполненной на аутопсийном материале, полученном от людей мужского пола в возрасте от первых суток жизни до 82 лет, отмечено, что в коже волосистой части головы эпителиальные гребешки достигают максимального развития к 18 годам и в дальнейшем подвергаются инволюции. Ростковый слой эпидермиса, по данным этого автора, наиболее тонким оказался у новорождённых; к 25 годам увеличивался вдвое и после 50 лет истончался. В исследовании И.Г. Железникова [3], посвящённом изучению строения кожи у детей, отмечено утолщение эпидермиса в теменной области от периода новорождённости до 7 лет более чем в 3 раза. В отечественных и зарубежных монографиях, посвящённых гистофизиологии кожи [6, 9, 10, 12, 22], затрагиваемые вопросы отсутствуют или изложены фрагментарно.

Маркер пролиферации Ki-67 широко используется для оценки митотической активности эпидермиса [24], особенно в ситуациях, где изучается патологически изменённая кожа при псориазе, опухолевом росте и других заболеваниях [8, 16,

25, 26]. Некоторыми аналогами могут служить фрагменты исследований, в которых изучалась митотическая активность эпидермиса людей различного возраста в коже иной локализации [10, 25]. Приводимая в этих работах величина пролиферативного пула, оценённая с помощью выявления Ki-67, в целом, близка к показателям, вычисленным нами, и укладывается в диапазон 8–15%. Определённые количественные соответствия наблюдаются и в отношении других использованных нами маркеров — p53 и инволюкрин [20, 27]. В общем, эти соответствия понятны, поскольку объектом исследования является кожа человека, а использованные методы достаточно стандартизованы.

При анализе совокупности полученных результатов обнаружено, что у новорождённых и мальчиков раннего возраста эпидермис ещё незрел, не развит в достаточной степени. Он тонкий, в шиповатом слое содержит мало дифференцированных клеток, а в базальном слое — относительно мало делящихся клеток. По мере роста и развития пролиферативная активность кератиноцитов увеличивается и достигает максимума примерно к 20–25 годам. Ki-67-позитивные клетки выявляются уже не только в глубине рост-

Рис. 8. Индекс p53 в базальном и шиповатом слоях эпидермиса кожи височной области головы людей мужского пола в возрасте от 11 до 75 лет.

По оси абсцисс — возраст (годы); по оси ординат — исследованный показатель (%). Вертикальные отрезки — значения стандартной ошибки; сплошная линия — полиномиальная линия тренда.

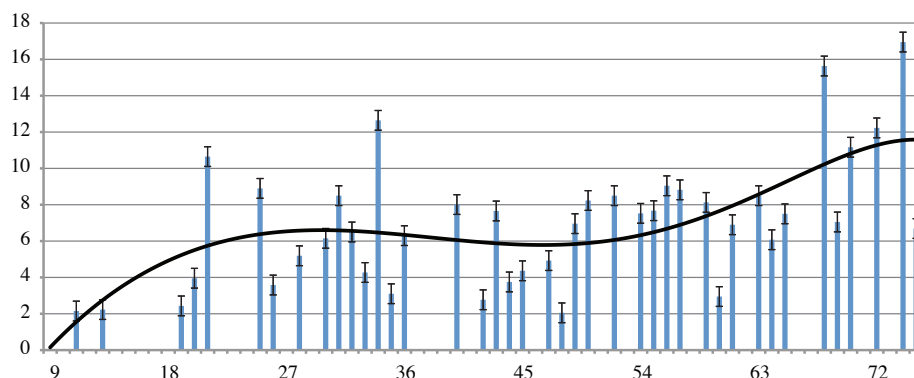
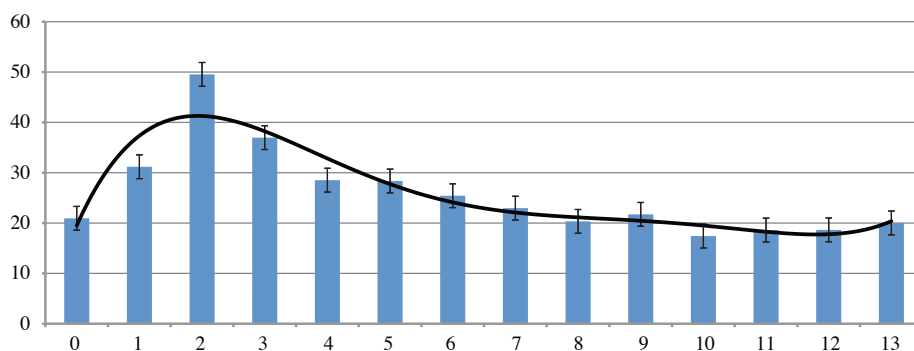


Рис. 9. Изменение толщины интерфолликулярного эпидермиса кожи височной области головы людей мужского пола различных возрастных групп.

По оси абсцисс — номер возрастной группы; по оси ординат — исследованный параметр (мкм). Вертикальные отрезки — значения стандартной ошибки; сплошная линия — полиномиальная линия тренда.



кового слоя, но и в его средней части. Примерно в это же время выявляется первый максимум относительного содержания p53-позитивных клеток. Это вполне понятно, если принять во внимание, что активация белка p53 маркирует клетки с повреждённой ДНК или клетки, индуцированные к апоптозу [1, 15] — чем выше пролиферативная активность, тем больше вероятность появления клеток с дефектами генома. Высокая пролиферативная активность в интервале 20–25 лет сопровождается увеличением толщины эпидермиса, что свидетельствует о высокой скорости обновления клеток [23], которые, тем не менее, последовательно проходят все стадии дифференцировки. Появление второго максимума экспрессии p53 на фоне низкой пролиферативной активности (возрастной интервал 70–75 лет) связано, вероятно, уже с другими причинами. Известно, что частота появления дефектных клеток с возрастом увеличивается во многих тканях [15, 19]. Эпителий кожи головы в этом отношении особенно уязвим, поскольку он на протяжении длительного периода подвергается воздействию неблагоприятных факторов, например инсоляции [17, 18, 26]. Вероятно, активность p53 в старости направлена на элиминацию именно таких повреждённых клеток.

К пожилому возрасту и в старости общая толщина эпидермиса существенно уменьшается, однако абсолютные значения толщины пласта

инволюкрин-положительных клеток, т.е. клеток, вступивших в стадию терминальной дифференцировки, остаются неизменными и примерно равными тому значению, которое характерно для эпидермиса в молодом возрасте. Это обстоятельство может свидетельствовать о том, что, несмотря на низкую скорость клеточного обновления в старости (небольшая толщина и низкая пролиферативная активность), клетки раньше вступают в фазу терминальной дифференцировки и, очевидно, пропускают ряд промежуточных фаз, характерных для последовательно дифференцирующихся клеток зрелого эпидермиса. Такое предположение возможно, поскольку, как показали недавние исследования [21, 30], программа терминальной дифференцировки кератиноцитов находится под контролем белков группы polycomb repressive complexes (PRCs), которые репрессируют гены терминальной дифференцировки, сохраняя, таким образом, пролиферативный потенциал клеток базального слоя. Последовательное снятие этой блокады позволяет клеткам вступать на путь терминальной дифференцировки за счёт активации транскрипции соответствующих генов с помощью белков AP1. Показано также, что с возрастом и детерминацией клеток к терминальной дифференцировке активность PRCs существенно уменьшается. Поскольку пласт клеток, в которых экспрессируются инволюкрин и другие вещества

маркеры терминальной дифференцировки, выполняет основную функцию защитного барьера кожи [11, 23, 27], его сохранение даже в старческом возрасте, несмотря на снижение пролиферативной активности эпидермиса, кажется жизненно необходимым.

Таким образом, постнатальный гистогенез эпидермиса кожи волосистой части головы не является монотонным, однонаправленным процессом. Его динамика характеризуется закономерным изменением морфологических параметров, активацией или снижением пролиферативной активности и активности контрольных механизмов, ответственных за детекцию и удаление повреждённых кератиноцитов. С возрастом эпидермис становится существенно более тонким, деление клеток в нём происходит более редко, а активность апоптоз-индуцирующих факторов возрастает. Неизменность толщины пласта инволюкрин-положительных клеток свидетельствует о том, что барьерная функция эпидермиса кожи является одной из наиболее важных и строго контролируемых констант.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анисимов В.Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения. СПб., Наука, 2003.
2. Горелова М.В. Проллиферативная активность интерфолликулярного эпидермиса кожи височной области мужчин 20–45 лет. Морфология, 2010, т. 137, вып. 4, с. 59.
3. Железников И.Г. Гистологическое строение и топографические особенности кожи в раннем детском возрасте. Изв. АН КазССР. Сер. мед. и физиол., 1957, вып. 1(8), с. 63–80.
4. Жучков С.А. Состояние кератиноцитов интерфолликулярного эпидермиса при аппликации 13-цис-ретиновой кислоты (иммуноцитохимический анализ). Морфология, 2007, т. 132, вып. 4, с. 68–72.
5. Загорученко Е.А. Возрастные морфологические особенности кожи волосистой части головы, шеи и груди людей мужского пола: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Одесса, 1954.
6. Калантаевская К.А. Морфология и физиология кожи человека. Киев, Здоровье, 1965.
7. Кирик О.В., Безнин Г.В. и Коржевский Д.Е. Маркеры пролиферации, применяемые в гистологических исследованиях. Морфология, 2009, т. 136, вып. 6, с. 95–100.
8. Корсунская И.М., Резникова М.М., Тогоева Л.Т. и др. Новое в патогенетической терапии псориаза. Доктор. Ру., 2005, №3, с. 20–24.
9. Мяделец О.Д. и Адашкевич В.П. Морфофункциональная дерматология. М., Мед. лит., 2006.
10. Ноздрин В.И., Барашкова С.А. и Семченко В.В. Гистофизиология кожи. Омск, Орёл, Омская областная типография, 2008.
11. Ноздрин В.И., Белоусова Т.А., Альбанова В.И. и Лаврик О.И. Гистофармакологические исследования кожи. М., изд. ЗАО «Ретиноиды», 2006.
12. Ноздрин В.И., Горелова М.В., Алексеев А.Г. и Банин В.В. Морфологические особенности эпидермиса и волосных фолликулов кожи височной области мужчин в возрастном аспекте. Морфология, 2010, т. 137, вып. 4, с. 143.
13. Прохоренков В.И., Рукша Т.Г., Петрова Л.Л. и Салмина А.Б. Запрограммированная клеточная гибель кератиноцитов и ее роль в патогенезе некоторых заболеваний кожи. Вестн. дерматол., 2005, № 4, с. 4–7.
14. Смирнова И.О. Функциональная морфология старения кожи. Успехи геронтол., 2004, вып. 13, с. 44–51.
15. Чумаков П.М. Белок p53 и его универсальные функции в многоклеточном организме. Успехи биологической химии, 2007, т. 47, с. 3–52.
16. Чупров И.Н. Клинико-морфологические и прогностические особенности различных вариантов базально-клеточного рака кожи: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. СПб., 2010.
17. Balasubramanian S., Sturniolo M.T., Dubyak G.R. and Eckert R.L. Human epidermal keratinocytes undergo epigallocatechin-3-gallate-dependent differentiation but not apoptosis. Carcinogenesis, 2005, vol. 26, № 6, p. 1100–1108.
18. Batinac T., Zamolo G., Hadzisejdic I. et al. Expression of Bcl-2 family proteins in psoriasis. Croat. med. J., 2007, v. 48, p. 319–326.
19. Batinac T., Zamolo G., Jonjic N. et al. p53 protein expression and cell proliferation in non-neoplastic and neoplastic proliferative skin diseases. Tumori, 2004, v. 90, p. 120–127.
20. El-Domyati M.B., Attia S., Saleh F. et al. Expression of p53 in normal sun-exposed and protected skin (Type IV–V) in different decades of age. Acta Derm. Venereol., 2003, v. 83, p. 98–104.
21. Ezhkova E., Pasolli H.A., Parker J.S. et al. Ezh2 orchestrates gene expression for the stepwise differentiation of tissue-specific stem cells. Cell, 2009, v. 136, p. 1122–1135.
22. Fairley J.A. and Zivony D. Epidermal kinetics and regulation of cell proliferation. In: The biology of the skin. New-York, London, The Parthenon Publishing Group, 2001, Chapt. 12, p. 201–207.
23. Hanley K., Wood L., Ng D.C. et al. Cholesterol sulfate stimulates involucrin transcription in keratinocytes by increasing Fra-1, Fra-2, and Jun D. J. Lipid Res., 2001, v. 42, p. 390–398.
24. Heenen M., Thiriar S., Noël J.C. and Galand P. Ki-67 immunostaining of normal human epidermis: comparison with 3H-thymidine labelling and PCNA immunostaining. Dermatology, 1998, v. 197, № 2, p. 123–126.
25. Knaggs H.E., Holland D. B., Morris C. et al. Quantification of cellular proliferation in acne using the monoclonal antibody Ki-67. J. Invest. Dermatol., 1998, v. 197, № 2, p. 123–126.
26. Lu S., Tiekso J., Hietanen S. et al. Expression of cell-cycle proteins p53, p21 (WAF-1), PCNA and Ki-67 in benign, premalignant and malignant skin lesions with implicated HPV involvement. Acta Derm. Venereol., 1999, v. 79, p. 268–273.
27. Robinson N.A., LaCelle P.T. and Eckert R.L. Involucrin is a covalently crosslinked constituent of highly purified epidermal corneocytes: evidence for a common pattern of involucrin crosslinking in vivo and in vitro. J. Invest. Dermatol., 1996, v. 107, p. 101–107.
28. Ross W. and Hall P.A. Ki-67: from antibody to molecule to understanding? J. Clin. Pathol., Mol. Pathol., 1995, v. 48, p. 113–117.
29. Steen K.S. and Paus R. Controls of hair follicle cycling. Physiological Rev., 2001, v. 81, № 1, p. 449–494.

30. Watt F.M. Women in cell biology: how personal lives shape careers. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, 2006, v. 7, №5, p. 378–380.
31. Watt F.M. and Phil D. Involucrin and other markers of terminal differentiation. *J. Invest. Derm.*, 1983, v. 81, p. 100–103.

Поступила в редакцию 17.09.10

AGE-RELATED CHANGES OF THE EPIDERMIS OF MEN'S SCALP

V.I. Nozdrin, M.V. Gorelova and T.A. Belousova

Histological, morphometric and immunocytochemical methods were used to study the autopsy samples of the interfollicular epidermis in the temporal region of scalp of male individuals aged from 7 months to 75 years. Monoclonal antibodies against Ki-67, involucrin and p53 were applied to evaluate the proliferative pool in the epidermis, the thickness of the layer of the cells

which started the terminal differentiation, and the fraction of the apoptotic cells. Epidermis in children was thin; it had a low content of Ki-67- and p53-positive cells and small thickness of involucrin-positive cell layer. The highest proliferative activity and maximal thickness of the epidermis were detected at the age of 19–21 years. Thereafter the epidermis thinning was observed, together with the progressive decrease of keratinocyte proliferative activity and an increase of the fraction of p53-positive cells. Absolute thickness of the involucrin-positive cellular layer remained practically constant at different ages, while its proportion in the total epidermal thickness increased.

Key words: *skin, scalp, interfollicular epidermis, proliferation, aging*

Scientific Department, «Retinoids» Pharmaceutical Joint-Stock Company, Moscow; Department of Histology, Cytology and Embryology, Medical Institute of Oryol State University

© Коллектив авторов, 2011
УДК 616.71-001.5-089.843:599.323.4

Л.Б. Буравкова¹, М.П. Валушкина¹, Е.Р. Андреева¹ и В.И. Логинов²

РЕПАРАТИВНЫЙ ОСТЕОГЕНЕЗ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА, КУЛЬТИВИРУЕМЫХ ПРИ РАЗЛИЧНОМ СОДЕРЖАНИИ КИСЛОРОДА

¹ Группа клеточной физиологии (руков. — проф. Л.Б. Буравкова), ² лаборатория морфологии (зав. — А.С. Капланский), Государственный научный центр РФ, Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

Проведен сравнительный гистологический и морфометрический анализ костной мозоли (КМ) через 14 и 30 сут у крыс, которым сразу после экспериментального перелома малоберцовой кости в область перелома вводили клеточные препараты мультипотентных стромальных клеток костного мозга (МСККМ), называемых также мезенхимальными стромальными клетками. Культивирование МСККМ *in vitro* было проведено в условиях нормоксии (20% O₂) и пониженного содержания кислорода (5% O₂). Через 14 сут у крыс без МСККМ (контроль) и с МСККМ вновь образованная КМ состояла из фиброзной, хрящевой и грубоволокнистой костной тканей (ГВКТ). Доля КМ, занятая ГВКТ у крыс, которым вводили МСККМ (5% O₂), была значительно больше, чем в других экспериментальных группах. Коэффициент утолщения КМ через 14 сут восстановления был в 1,3–1,4 раза больше у животных с МСККМ (5% O₂) и МСККМ (20% O₂, P<0,05), чем у крыс без МСККМ. Через 30 сут у крыс с МСККМ КМ была более зрелой с гистологической точки зрения, а восстановление исходной толщины кости было более эффективным. Продемонстрировано улучшение формирования костно-хрящевого фрагмента и образования КМ после введения в область перелома кости у крыс аллогенных МСККМ, предварительное культивирование которых проведено *in vitro* при различном содержании кислорода.

Ключевые слова: *кость, регенерация, мультипотентные стромальные клетки костного мозга, гипоксия*

Мультипотентные стромальные клетки костного мозга (МСККМ), называемые также мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками, с высоким пролиферативным и дифференцировочным потенциалом могут быть выделены из костного мозга взрослого организма и культивированы *in vitro* до получения необходимой клеточной массы. Развитие клеточных технологий в регенеративной медицине обусловило

интерес к МСККМ в связи с перспективой их использования для улучшения процесса заживления при лечении переломов и повреждений больших участков костей, что было продемонстрировано в ряде исследований, в том числе и в нашей лаборатории [2, 3, 5–7].

Ранее было показано, что при понижении содержания O₂ до 5% в среде культивирования увеличивается пролиферативная активность