

© Коллектив авторов, 2011
УДК 611.781.1.018:612.66

В.И. Ноздрин^{1, 2}, А.Г. Алексеев² и Т.А. Белоусова¹

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПРЕДСТАВИТЕЛЬСТВА МЕЛАНОЦИТОВ В ВОЛОСЯНЫХ ФОЛЛИКУЛАХ КОЖИ ВИСОЧНОЙ ОБЛАСТИ ГОЛОВЫ У МУЖЧИН

¹ Научный отдел (руков. — канд. биол. наук О.И. Лаврик), Фармацевтическое научно-производственное предприятие «Ретиноиды», Москва; ² кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии (зав. — проф. В.И. Ноздрин), Орловский государственный университет, Медицинский институт; e-mail: science@retinoids.ru, orelistret@orl.ru

Морфометрическими и иммуногистохимическими методами на аутопсийном материале изучали распределение меланинсодержащих клеток в волосяных фолликулах кожи височной области головы у 74 мужчин разного возраста (10–79 лет). Во всех исследованных возрастных группах меланоциты идентифицируются только в эпителиальном матриксе волоса — как на препаратах, окрашенных гематоксилином — эозином, так и на срезах, обработанных моноклональными антителами к тирозиназе. При изучении неокрашенных срезов обнаружено, что после 15 лет происходит снижение суммарной площади, занимаемой гранулами меланина, находящимися в цитоплазме меланоцитов и кератиноцитов. С 26 лет отмечается неравномерное, но устойчивое уменьшение числа пигментобразующих клеток. Количество меланоцитов, идентифицированных с помощью моноклональных антител к тирозиназе, превышает число пигментных клеток, выявленных стандартными методами.

Ключевые слова: кожа, возрастные изменения, волосяные фолликулы, меланоциты, гранулы меланина

В литературе достаточно подробно отражены сведения об ультраструктуре меланоцитов и их распределении в коже человека и лабораторных животных [2, 5, 6, 9, 10, 13]. В этих работах имеются данные о расположении меланинсинтезирующих клеток в интерфолликулярном эпидермисе и волосяных фолликулах человека. В наших предварительных сообщениях также были приведены отдельные результаты исследований, в которых прослеживались изменения количества меланоцитов волосяных фолликулов [1, 7]. Вместе с тем, продолжают оставаться всё ещё малоизученными количественные характеристики содержания и функциональной активности меланоцитов в волосяных фолликулах в постнатальном онтогенезе у человека. В связи с этим целью настоящего исследования явилось изучение меланоцитов в составе волосяных фолликулов кожи височной области головы у мужчин различных возрастных групп (локализация и количество клеток, содержание пигментных гранул в меланоцитах и кератиноцитах).

Материал и методы. Исследование проведено на аутопсийном материале, полученном в Бюро судебно-медицинской экспертизы № 1 Москвы и в Бюро судебно-медицинской экспертизы г. Орла. Изучаемые образцы кожи височной области головы мальчиков, юношей и мужчин в возрасте от 10 до 79 лет (74 случая) были разделены на 13 возрастных групп (таблица).

Взятие материала, фиксацию, проводку, заливку, приготовление и окрашивание срезов проводили по общепринятым гистологическим методикам. Исследовали только волосяные фолликулы, находящиеся в стадии анагена. Меланоциты изучали на препаратах, окрашенных гематоксилином — эозином,

а также на срезах, обработанных моноклональными антителами (МКА) к тирозиназе (Тир). Тир служит ключевым ферментом в процессе биосинтеза меланина меланоцитами; катализирует превращение тирозина в 3,4-дигидроксифенилаланин и другие реакции этого метаболического пути [12]. Тир выявляли с помощью моноклональных антител (Cell marque, США) методом двойного непрямого иммуно-мечения. Демаскировку антигена проводили кипячением срезов под повышенным давлением в растворе Trilogy (Cell marque, США). Локализацию первичных антител определяли с помощью иммунопероксидазного метода (Histofine Simple Stain MAX PO Multi, Япония) с использованием в качестве субстрата 3-амино-9-этилкарбазола с последующим докрасиванием гематоксилином Караччи. Используя микроскоп Axiostar 2 (Zeiss, Германия) при объективе 40, определяли среднее количество меланоцитов и Тир-позитивных клеток в профиле волосяного фолликула.

В качестве морфологического критерия функциональной активности меланоцитов использовали суммарную площадь среза, занимаемую пигментными гранулами, в цитоплазме как самих меланоцитов, так и окружающих их кератиноцитов. Измерение общей площади, занимаемой пигментными гранулами в поле зрения микроскопа (об. 40), осуществляли на неокрашенных парафиновых срезах толщиной 5 мкм с помощью цифрового микроскопического комплекса «МИКМЕД-2-1600-3» (Россия) и аппаратно-программного комплекса «ДиаМорф» (ДиаМорф, Россия). Исследование состояло из следующих этапов: получения изображения с помощью цифрового фотоаппарата, проведения бинарной сегментации (процесс разделения цифрового изображения на 2 сегмента: белый и черный) для выделения из общего фона пигментных гранул, измерения их суммарной площади [3]. Математическую обработку материала проводили с использованием программы Statistica, версия 6.1; для построения линии, демонстрирующей общее направление изменений — полиномиальной линии тренда, применяли программу Microsoft Office Excel 2003.

Результаты исследования. На гистологических препаратах, окрашенных гематоксилином—эозином, меланоциты обнаруживались в эпителиальном матриксе (ростковой части) волоса и имели вид отростчатых клеток, содержащих в цитоплазме большое количество гранул меланина (рис. 1, а, б).

В период от 11 до 15 лет у мужчин в срезе волосяного фолликула выявлено 23,4–27 меланоцитов. В возрасте от 16 до 40 лет число меланоцитов, выявленных при традиционном способе окраски, снижалось, после чего оставалось практически на одном уровне до 51–55 лет, будучи равным для этой группы 12,1–13,7. В последующие 15 лет было отмечено дальнейшее уменьшение количества фолликулярных меланоцитов — до 1,8–3,2 клеток в группе людей 66–70 лет (см. рис. 1, в; таблицу). На препаратах, обработанных МКА к Тир, Тир-позитивные клетки также имели отростчатую форму. В период от 11 до 15 лет их количество в срезе волосяного фолликула составило 24,7–27,5, а в 21–25 лет наблюдалось повышение этого показателя до максимального значения (29,7–32,9). В возрасте 26–55 лет содержание меланоцитов в волосяном фолликуле снижалось до 13,7–16,7. К 70 годам и в более позднем возрасте было отмечено дальнейшее уменьшение числа фолликулярных меланоцитов — до 1,9–2,9 клеток (рис. 2, а–в; см. таблицу).

Суммарная площадь пигментных гранул в меланоцитах и кератиноцитах волосяных фолликулов с возрастом становится меньше. Максимальное значение этого показателя (4496,6–5856,8 мкм²)

наблюдалось в 11–15 лет, т. е. раньше, чем количество меланоцитов достигло своего пика. В последующие возрастные периоды показатель суммарной площади гранул меланина снижался, составив в 36–40 лет 1795,1–2422,7 мкм² и достигнув минимального значения (526,3–722,9 мкм²) после 70 лет (рис. 3, 4).

У мужчин старших возрастных групп сохранившиеся единичные меланоциты имеют крупные размеры, часто — вакуолизированную цитоплазму и отличаются высокой функциональной активностью выработки пигмента. На это указывает линия тренда, отражающая направление возрастных изменений средней площади среза, занимаемой гранулами меланина, в пересчёте на одну пигментную клетку (рис. 5).

Обсуждение полученных данных. В настоящем исследовании выявлено, что меланоциты волосяных фолликулов кожи височной области у мужчин, идентифицированные как Тир-позитивные клетки, во всех возрастных группах локализуются в эпителиальном матриксе (ростковой части) волоса и имеют отростчатую форму. С годами количество меланоцитов и функциональная активность их популяции в волосяной луковице снижаются. Подобных работ, полученных с использованием МКА, опубликовано мало. Наши данные перекликаются, в частности, с результатами исследования Е.К. Nishimura и соавт. [11], которые изучали кожу волосистой части головы, полученную от пациентов одного из госпиталей США. На представленных в работе микро-

Количество меланоцитов в волосяных фолликулах кожи височной области головы у мужчин различных возрастных групп ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Возрастные группы	Возраст, лет	Количество изученных образцов	Количество меланоцитов в профиле волосяного фолликула, гематоксилин—эозин	Количество тирозиназопозитивных клеток в профиле волосяного фолликула
1-я	11–15	4	25,2±1,8	26,1±1,4
2-я	16–20	4	24,3±0,9	27,2±1,1
3-я	21–25	6	22,3±1,6	31,3±1,6
4-я	26–30	6	17,8±1,2	22,9±1,2
5-я	31–35	6	17,6±1,5	19,9±1,1
6-я	36–40	6	13,6±1,0*	14,6±0,9*
7-я	41–45	6	13,9±1,2	16,3±0,9
8-я	46–50	6	10,9±1,0	11,8±0,7
9-я	51–55	6	12,8±0,9	15,2±1,5
10-я	56–60	6	9,1±0,5	10,6±0,6
11-я	61–65	6	6,5±0,8	9,4±0,6
12-я	66–70	6	2,5±0,7	2,4±0,5
13-я	Больше 70	6	3,5±0,9*, **	2,4±0,5*, **

* Различия значимы по сравнению с 1-й группой; ** по сравнению с 6-й группой при $P \leq 0,05$.

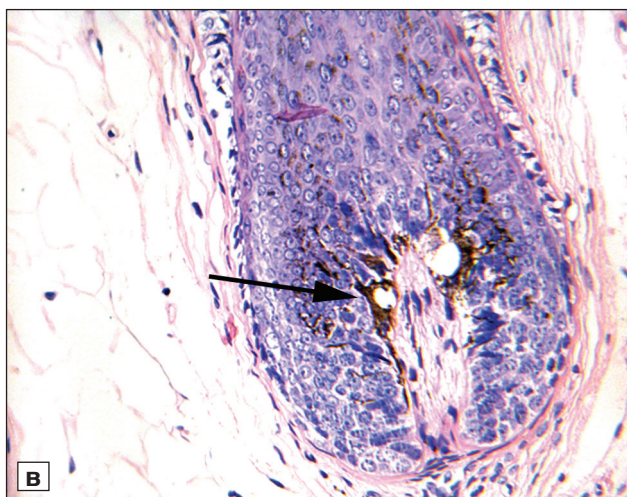
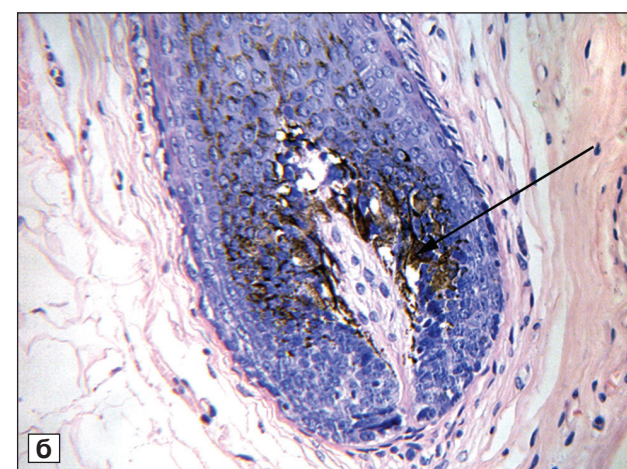
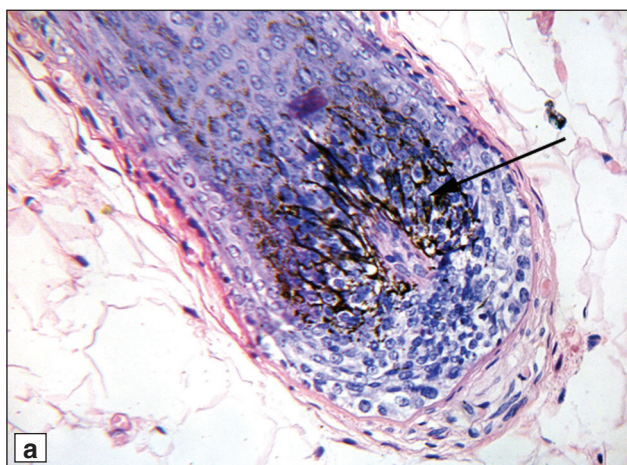


Рис. 1. Волосные луковицы в коже мужчин 21 (а), 45 (б) и 70 (в) лет.

Меланоциты отростчатой формы (стрелки) в эпителиальном матриксе волоса; с возрастом уменьшение их количества в волосном фолликуле. Окраска гематоксилином—эозином. Ув. 300.

фотографиях видно, что Mitf-позитивные клетки (Mitf — ядерный белок, продукт экспрессии одноимённого гена, ответственный за направление дифференцировки клеток по меланоцитарному типу) локализуются в области матрикса волоса и

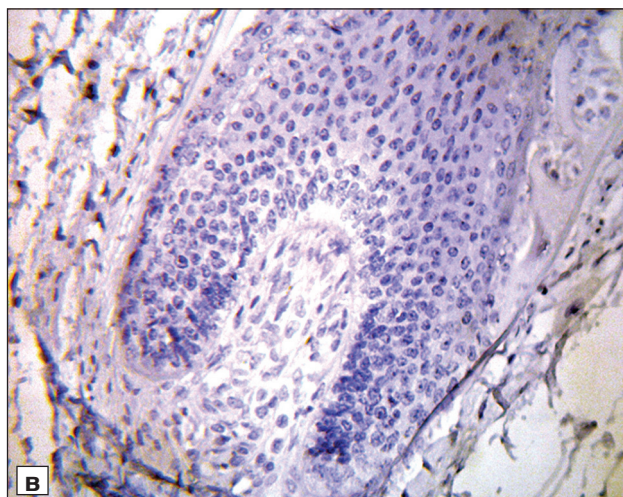
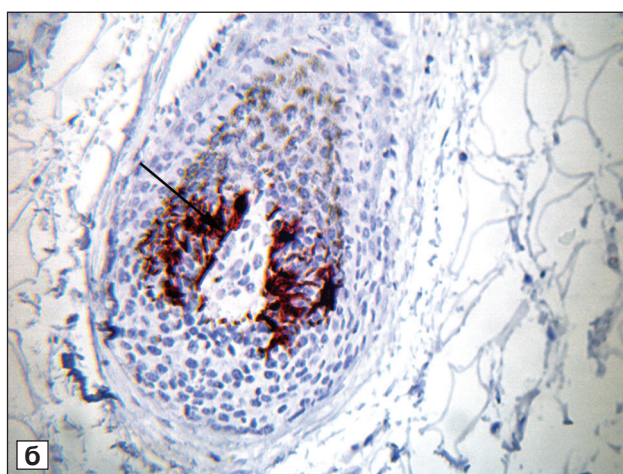
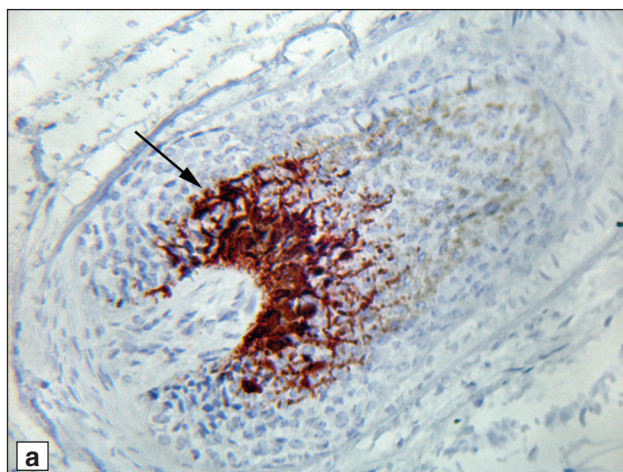


Рис. 2. Волосные луковицы в коже мужчины 21 (а), 45 (б) и 70 (в) лет.

Тирозинопозитивные клетки отростчатой формы (стрелки). Обработка моноклональными антителами к тирозиназе, докраска гематоксилином Караччи. Ув. 300.

точки роста волосного фолликула. Точкой роста называют расширенную часть (bulge) наружного корневого эпителиального влагалища у места прикрепления мышцы, поднимающей волос; здесь, предположительно, располагаются стволовые и

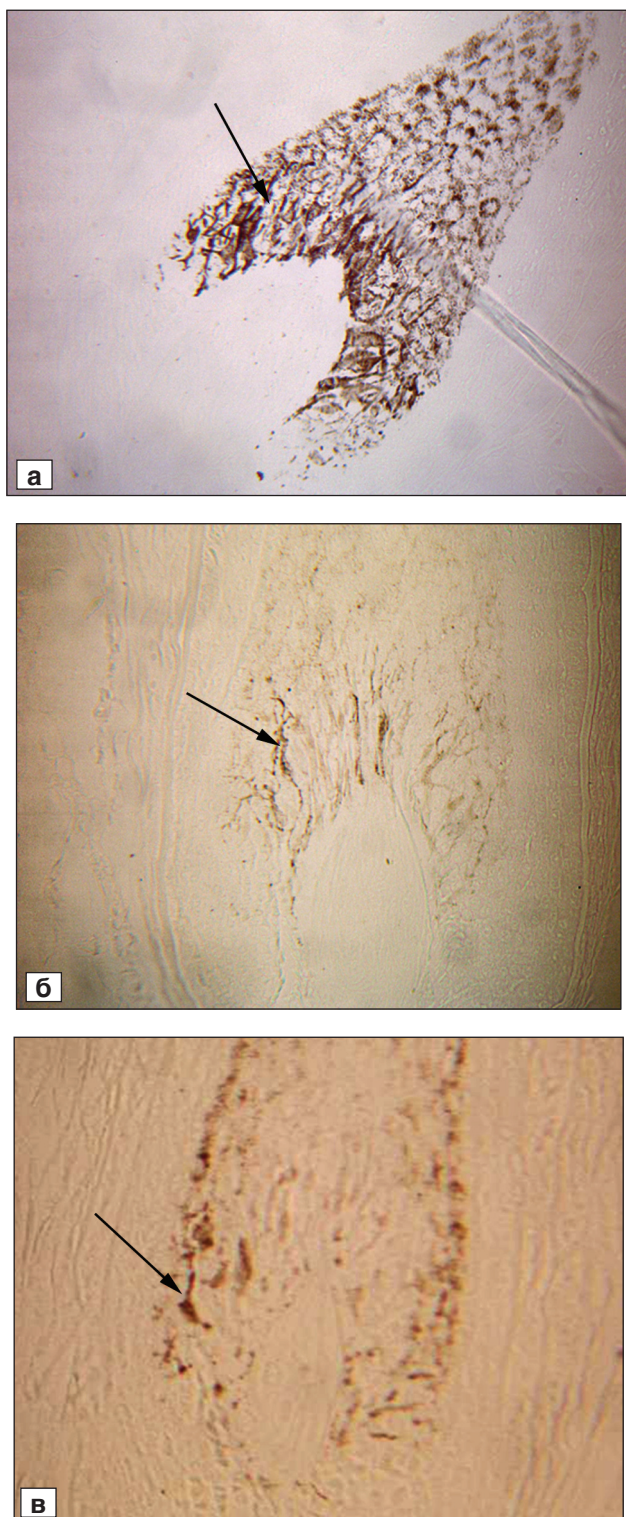


Рис. 3. Гранулы меланина (стрелки) в волосяных фолликулах кожи височной области мужчин 20 (а), 45 (б) и 70 (в) лет.

Неокрашенный препарат. Ув. 300.

камбиальные меланоцитарные клетки. У людей в возрасте 20–30 лет Mitf-позитивные меланоциты составляют 2–3% от всех клеток, они присутствуют в возрастной группе 40–60 лет и не выявляются

после достижения 70-летнего возраста. В работе D.J.Tobin [15] приведены микрофотографии волосяных луковиц, в которых можно видеть gp100-позитивные клетки (gp100 — маркер меланосом пигментных клеток). Авторы других работ ссылаются в основном на аргументы упомянутых выше исследователей и собственных доказательств не приводят. Выявленный в настоящем исследовании факт присутствия в волосяных луковицах кожи мужчин старших возрастных групп крупных меланоцитов с выраженной способностью синтезировать пигмент напоминает наблюдения D.J.Tobin, опубликовавшего фотографию подобной клетки, выявленной МКА к gp100 [14].

Отмеченная нами вакуолизация меланоцитов у пожилых людей согласуется с результатами исследования P.C.Agck и соавт. [8], которые объясняют её дегенеративными изменениями, происходящими в этих клетках под воздействием оксидативного стресса. Сопоставление количества меланоцитов, выявляемых на препаратах, окрашенных гематоксилином—эозином, с количеством Тир-позитивных клеток (рис. 6; см. таблицу) показывает, что при применении МКА в отдельных возрастных группах можно выявить на 12–40% больше пигментных клеток. Эти различия могут быть обусловлены тем, что активность Тир выявляется так же и в пигментных клетках, которые ещё не накопили гранул меланина.

Установленная динамика представительства меланинсодержащих клеток в эпителиальном матриксе волоса (максимальные значения в юном и молодом возрасте и дальнейшее последовательное снижение) согласуется с данными о возрастных изменениях пролиферативной активности кератиноцитов интерфолликулярного эпидермиса кожи головы, полученными в аналогичных условиях [4]. Описанные изменения объективно отражают возрастание в молодом возрасте и снижение у пожилых и старых людей уровня физиологической регенерации в эпителиальных структурах волосяного фолликула.

Таким образом, применение морфометрического и иммуногистохимического методов исследования позволило получить дополнительную объективную информацию о количестве и функциональной активности пигментных клеток кожи височной области у мужчин в постнатальном онтогенезе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеев А.Г. Распределение фолликулярных меланоцитов кожи височной области мужчин в возрасте 20–45 лет. Морфология, 2010, т. 137, вып. 4, с. 15.
2. Алексеев А.Г., Банин В.В. и Ноздрин В.И. Меланоциты кожи. Морфология, 2009, т. 136, вып. 5, с. 81–89.

Рис. 4. Суммарная площадь пигментных гранул в волосяных фолликулах кожи височной области головы мужчин в возрасте от 10 до 79 лет.

По оси абсцисс — возрастные группы; по оси ординат — исследованный параметр (мкм^2); сплошная линия — линия тренда; вертикальные отрезки — значения стандартной ошибки.

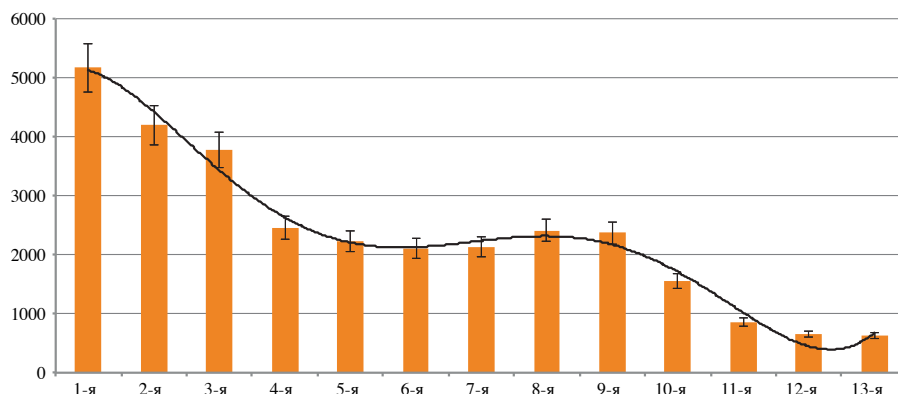


Рис. 5. Средняя площадь среза, занимаемая пигментными гранулами, синтезированными одним меланоцитом, в волосистой луковице кожи височной области головы у мужчин различных возрастных групп.

По оси абсцисс — возрастные группы; по оси ординат — исследованный параметр (мкм^2). Сплошная линия — линия тренда.

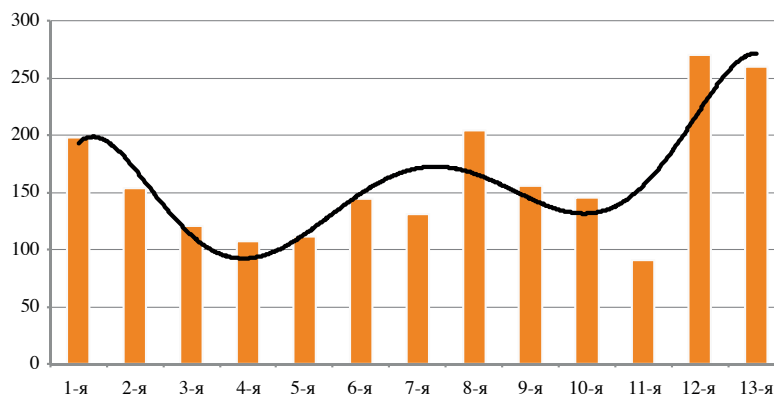
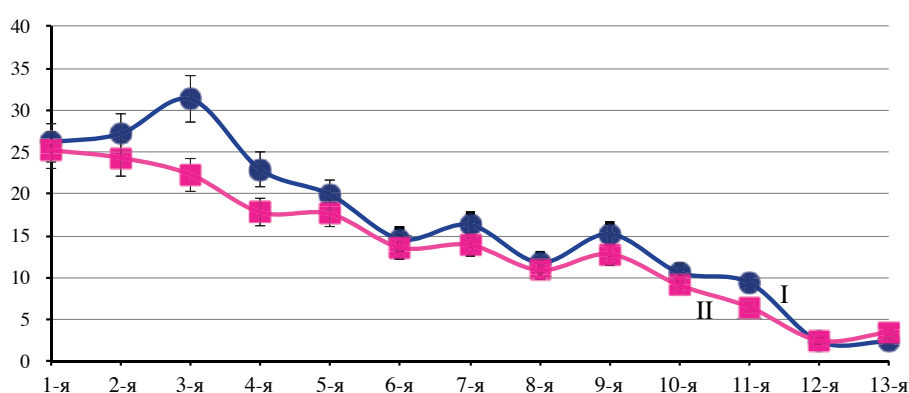


Рис. 6. Среднее количество меланоцитов в волосяных фолликулах кожи височной области головы мужчин.

По оси абсцисс — возрастные группы; по оси ординат — количество клеток. I — при обработке моноклональными антителами к тирозиназе; II — при окраске гематоксилином — эозином; вертикальные отрезки — значения стандартной ошибки.



- Алексеев А.Г. и Жучков С.А. Способ оценки содержания меланина в эпидермисе. В кн.: Материалы 6-й Всероссийской научной конференции «Бабушкинские чтения в Орле», 28–29 марта 2007 г. М., изд. ЗАО «Ретиноиды», 2007, с. 98.
- Горелова М.В. Направление изменения толщины эпидермиса кожи волосистой части головы мужчин с учётом пролиферации кератиноцитов. Учён. записки Орловск. гос. ун-та, 2010, т. 36, № 2, с. 150–155.
- Кичигина Т.Н., Грушин В.Н., Беликова И.С. и Мяделец О.Д. Меланоциты: строение, функции, методы выявления, роль в кожной патологии. Вестн. Витебск. гос. мед. ун-та, 2007, т. 6, № 4, с. 5–16.
- Мяделец О.Д. и Адаскевич В.П. Морфофункциональная дерматология. М., Мед. лит., 2006.
- Ноздрин В.И., Горелова М.В., Алексеев А.Г. и Банин В.В. Морфологические особенности эпидермиса и волосяных фолликулов кожи височной области мужчин в возрастном аспекте. Морфология, 2010, т. 137, вып. 4, с. 143.

- Arck P.C., Overall R., Spatz K. et al. Towards a “free radical theory of graying”: melanocyte apoptosis in the aging human hair follicle is an indicator of oxidative stress-induced tissue damage. FASEB J., 2006, v. 20, p. 1567–1569.
- Commo S. and Bernard B.A. Melanocyte subpopulation turnover during the human hair cycle: an immunohistochemical study. Pigment Cell. Res., 2000, v. 13, p. 253–259.
- Commo S., Gaillard O. and Bernard B.A. Human hair graying is linked to a specific depletion of hair follicle melanocytes affecting both the bulb and the outer root sheath. Br. J. Dermatol., 2004, v. 150, p. 435–443.
- Nishimura E.K., Granter S.R. and Fisher D.E. Mechanisms of hair graying: incomplete melanocyte stem cell maintenance in the niche. Science, 2005, v. 307, p. 720–724.
- Nordlund J. and Boissy E. Biology of melanocytes. In: The Biology of Skin, Pearl River, NY, Parthenon Publishing, 2001, p. 113–131.

13. Park H-Y., Pongpudpunth M., Lee J. and Yaar M. Biology of Melanocytes. In: Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine, 7 ed. New York, McGraw-Hill, 2007, p. 591–608.
14. Tobin D.J. Biology of hair follicle pigmentation. In: Hair growth and disorders. Berlin, Springer, 2008, p. 51–74.
15. Tobin D.J. The Aging Hair Pigmentary Unit. In: Aging Hair. Berlin, Springer, 2010, p. 77–90.

Поступила в редакцию 25.10.2010

Получена после доработки 25.02.2011

AGE-RELATED CHARACTERISTICS OF MELANOCYTES IN THE HAIR FOLLICLES OF THE TEMPORAL REGION SKIN IN MEN

V.I. Nozdin, A.G. Alekseyev and T.A. Belousova

Using morphometric and immunocytochemical methods, the distribution of melanin-containing cells in the hair follicles was studied using the autopsy samples of the skin obtained from the temporal region of scalp of 74 male individuals of different age

(10–79 years). In all age groups, the melanocytes were identified only in the epithelial hair matrix — both in sections stained with hematoxylin–eosin and in sections treated with the monoclonal antibodies against tyrosinase. The examination of unstained sections demonstrated that after 15 years the reduction of a total area occupied by melanin granules in the cytoplasm of melanocytes and keratinocytes took place. After 26 years the irregular but stable decrease was found in the number of pigment-forming cells. The number of melanocytes identified using the monoclonal antibodies against tyrosinase, was greater than the number of pigment cell detected by routine methods.

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 611.018:618.3

Л.Р. Мустафина, Е.В. Хон, С.В. Логвинов и С.Ю. Юрьев

КЛЕТОЧНЫЙ СОСТАВ ИНФИЛЬТРАТА В БАЗАЛЬНОЙ ДЕЦИДУАЛЬНОЙ ОБОЛОЧКЕ В РАННИЕ СРОКИ БЕРЕМЕННОСТИ ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ УРОГЕНИТАЛЬНЫМИ МИКОПЛАЗМАМИ

Кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии (зав. — проф. С.В. Логвинов), Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, e-mail: mustafinalr@rambler.ru

Проведен иммуногистохимический анализ состава и распределения иммунокомпетентных клеток в базальной децидуальной оболочке человека при беременности 6–8 нед в норме (контроль) и при инфицировании микоплазмами разных видов (микробное число более 10^4 КОЕ). Во всех исследованных группах выявлено преобладание моноцитов; в равных соотношениях встречались большие гранулярные лимфоциты (с фенотипом $CD56^{++}CD16^{-}CD3^{-}$), макрофаги (с фенотипом $CD68^{+}$) и иммунонегативные лимфоциты; в наименьшем количестве были представлены НК-клетки ($CD56^{+}CD16^{+}$), плазмциты и гранулоциты. Статистически значимых различий между показателями содержания этих клеток у исследованных групп выявлено не было. Полученные данные показали, что микоплазменная инфекция, даже с высоким микробным числом, не вызывает значимых изменений в составе клеточного инфильтрата децидуальной оболочки.

Ключевые слова: *базальная децидуальная оболочка, лимфоциты, макрофаги, микоплазменная инфекция*

Строма базальной децидуальной оболочки (БДО), наряду с децидуальными клетками, содержит ряд иммунокомпетентных клеток, принимающих активное участие в процессах имплантации и поддержании беременности [1, 10, 14]. Лейкоциты и другие клетки, присутствующие в эндометрии и мигрирующие в него во время имплантации и в ранние сроки беременности, продуцируют множество цитокинов, способных не только сохранять беременность, но и модулировать иммунный ответ на микроорганизмы [15]. Реакция иммунокомпетентных клеток маточно-плацентарной

области на отдельные виды микоплазм, по данным разных авторов, может быть неодинаковой. Так, например, при инфицировании *Mycoplasma hominis* показана локальная активация иммунокомпетентных клеток, направленная на усиление воспалительных реакций, а при инфицировании *Ureaplasma urealyticum* — иммуносупрессия [7]. Другими авторами отмечено лишь снижение локального иммунитета при латентном течении бессимптомного воспалительного процесса, вызванного уреа- и/или микоплазменным инфицированием, без конкретизации действия отдельных