

## РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ФАКТОРОВ РОСТА И ЦИТОКИНОВ В ВОЛОСЯНЫХ ФОЛЛИКУЛАХ И ИХ МИКРООКРУЖЕНИИ В НОРМЕ И ПРИ ГНЕЗДНОЙ АЛОПЕЦИИ.

ФОМЧЕНКО Ю.А.

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»*

**Резюме.** С помощью методов иммуногистохимии исследовано распределение фактора некроза опухолей- $\alpha$ , интерлейкина  $1\beta$ , фактора роста эпидермиса, фактора роста фибробластов в коже волосистой части головы практически здоровых людей и людей, страдающих гнездной алопецией. Описано распределение данных факторов в норме и при гнездной алопеции. Характер распределения факторов роста и цитокинов в условиях нормы позволяет предположить, что ростовые факторы являются субстанциями постоянной секреции со стороны структур волосяного фолликула, которые могут участвовать в стимуляции постоянного деления эпителиоцитов и функционирования волосяного сосочка. При алопеции наблюдается отклонение от нормального распределения ростовых факторов в структурах волосяного фолликула и его микроокружения. Особенно выраженные изменения наблюдаются в распределении цитокинов при гнездной алопеции. Общей характерной особенностью является более интенсивная окраска и широкое распространение в окружающей дерме. Это позволяет выдвинуть предположение об общем изменении синтеза регуляторных молекул при гнездной алопеции. Увеличение синтеза цитокинов при гнездной алопеции может приводить к нарушению нормальной пролиферации эпителиоцитов и преждевременному вступлению волоса в анаген. При этом одним из факторов патогенеза при алопеции может быть нарушение соотношения синтеза цитокинов и факторов роста.

**Ключевые слова:** волосяной фолликул, гнездная алопеция, фактор некроза опухолей- $\alpha$ , интерлейкин  $1\beta$ , фактор роста эпидермиса, фактора роста фибробластов.

**Abstract.** The distribution of tumor necrosis factor - $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin  $1\beta$  (IL- $1\beta$ ), epidermis growth factor (EGF), fibroblast growth factor (FGF) was investigated by immunohistochemical methods in the hair skin of head of healthy individuals and patients with alopecia areata. The distribution of these factors in the normal skin and with alopecia areata was described. The pattern of distribution lets us to suggest that the growth factors are the constantly secreted substances by the structures of hair follicle, which may participate in epitheliocytes division stimulation and functioning of hair papilla. It was observed the deviation from normal distribution of factors in alopecia hair follicles and their microenvironment. The most expressed changes in cytokine distribution are observed in alopecia areata patients. The general characteristics of the changes are more intensive staining and wide spreading in surrounding dermis. This leads to conclusion about general shift in

pattern of regulatory molecules synthesis in alopecia areata skin. The increase in cytokine synthesis may lead to a failure of normal epitheliocytes proliferation and premature anagen phase induction. The one of the important factor of alopecia pathogenesis can be the misbalance between cytokine and growth factor synthesis.

**Key words:** hair follicle, alopecia areata, tumor necrosis factor- $\alpha$ , interleukin 1 $\beta$ , epidermal growth factor, fibroblast growth factor.

**Адрес для корреспонденции:** Республика Беларусь, 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, Витебский государственный медицинский университет, кафедра гистологии.

### Введение.

До сих пор волосяной фолликул является «темной лошадкой» для многих исследователей физиологии и морфологии волоса. Это связано прежде всего с цикличностью роста волоса и действием неких «биологических часов», определяющих продолжительность жизни волоса [1]. В волосяном фолликуле присутствуют делящиеся клетки, которые по интенсивности деления напоминают опухолевые. Это позволяет задуматься о степени и уровне контроля таких регуляторов клеточной популяции, как митоз и апоптоз. Каким образом волосяному фолликулу удается держать под контролем скорость деления клеток? От каких факторов, веществ, межклеточных взаимодействий может зависеть рост и гибель волосяного фолликула? Многие исследователи приходят к выводу, что здесь играет роль дермо-эпителиальное взаимоотношение, основанные на выделении специфических регуляторных факторов. При этом продуцентами регуляторных факторов, могут выступать как эпителиальные клетки волосяного фолликула, так и клетки микроокружения [2, 3]. Одним из заболеваний, демонстрирующих явное нарушение цикла роста волоса, является гнездная алопеция (ГА), характеризующаяся появлением ровных очагов выпадения волос волосистой части кожи головы, области усов и бороды [1, 3]. Современные исследователи определяют две группы биологически активных веществ, влияющих на рост волоса. Это факторы роста и цитокины. Исследования провоспалительных цитокинов и ростовых факторов открывают достаточно противоречивые факты их воздействия на рост волосяного стержня, клетки волосяного фолликула и дермального сосочка. При ГА выявляется необычная экспрессия ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$ , которая в норме присутствует только во внутреннем корневом влагалище [4, 5]. Показано, что ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$  ингибируют и прекращают рост волосяного фолликула в зависимости от дозы, вызывая в культуре волосяных фолликулов образование дистрофических анагеновых волос, которые очень похожи на таковые при ГА [9, 5, 7, 10]. В то же время доказано, что клетки дермального

сосочка синтезируют ИЛ-1 $\beta$ , а клетки фолликулярного матрикса экспрессируют тип I ИЛ-1 рецепторов, на которые действует ИЛ-1 $\beta$  [11]. Относительно ростовых факторов, которые могут синтезироваться фибробластами волосяного сосочка, имеется мало сообщений и они достаточно противоречивы. Так, трансформирующий фактор роста- $\beta$  (ТФР- $\beta$ ) большинство исследователей относят к фактору, который ингибирует нормальное развитие волосяного фолликула и деление клеток матрикса, и может вызвать катагеноподобные изменения в культуре волосяных фолликулов [5, 6, 12]. Эпидермальный ростовой фактор (ЭРФ)—одни исследователи говорят о его ингибирующем влиянии на рост волоса вплоть до его полного прекращения и образования булавовидных волосяных фолликулов, похожих на морфологию катагеновых волосяных луковиц [5]. Обработка культуры волосяных фолликулов ЭРФ приводила к резкой стимуляции клеточной пролиферации наружного корневого влагалища, которое вызывало нарушение нормальных механизмов клеточных взаимодействий и вызывало депиляторный эффект [8].

В связи с этим целью данного исследования было изучить распределение факторов роста и цитокинов в волосяных фолликулах и их микроокружении в норме и при гнездной алопеции.

#### Материал и методы

Строение волосяных фолликулов изучали на материале, полученном от 15 трупов людей обоего пола в возрасте от 18 до 50 лет, вскрытых в морге Управления Государственной службы медицинских судебных экспертиз, 10 пациентов, оперированных в нейрохирургическом отделении Витебской областной клинической больницы. Изучена кожа волосистой части головы 10 пациентов, страдающих гнездной алопецией. Парафиновые и криостатные срезы толщиной 10 мкм исследовали методом непрямой иммуногистохимии с мечеными антителами против фактора некроза опухолей- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ), интерлейкина 1 $\beta$  (ИЛ-1 $\beta$ ), фактора роста эпидермиса (ФРЭ), фактора роста фибробластов (ФРФ).

#### Результаты

В условиях нормы ФНО- $\alpha$  выявляется в малодифференцированных клетках коркового мозгового вещества и внутреннего корневого влагалища, расположенных в нижних отделах волосяного фолликула (Рис. 1).

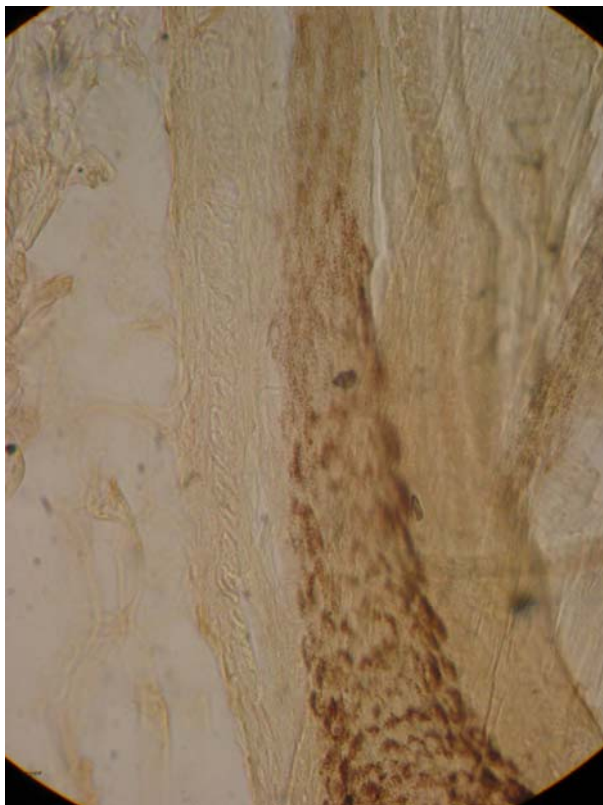


Рис. 1. Фактор некроза опухолей выявляется в малодифференцированных клетках коркового, мозгового вещества волоса и внутреннего корневого влагалища. Непрямой иммуногистохимический метод с мечеными антителами против ФНО- $\alpha$ . Увел. 200.

Клетки, расположенные ниже, обладают более высокой, иногда до максимальной, интенсивностью окрашивания. По мере продвижения в вертикальном направлении интенсивность окрашивания постепенно снижается, а затем исчезает. В клетках микроокружения окраска на ФНО- $\alpha$  отсутствует, за исключением клеток мышцы, поднимающей волос. В клетках наружного корневого влагалища продукт реакции полностью отсутствует.

ФРЭ выявляется в клетках луковицы волосяного фолликула и клетках внутреннего корневого влагалища, расположенных вблизи волосяного сосочка. Продукт реакции выявляется в отдельных, но не во всех волосяных фолликулах в виде мелкой зернистости коричневого цвета (Рис. 2). В клетках волосяного фолликула, расположенных центрально (т.е. дающих мозговое и корковое вещество волос), реакция несколько ниже, чем в периферических клетках, являющихся источником развития корневых влагалищ. В кутикуле волоса активность реакции достаточно интенсивная. По направлению к поверхности кожи интенсивность окрашивания быстро убывает и затем оно исчезает полностью. В наружном корневом влагалище продукт реакции либо полностью отсутствует на всех уровнях, либо выявляется в крайне незначительном количестве в единичных клетках. В клетках волосяного сосочка обнаруживается умеренное содержание продукта реакции. Такой же интенсивности реакция имеет место в фибробластах “подушки”. В эпидермисе

и соединительнотканых образованиях, а также в железах продукт реакции отсутствует.

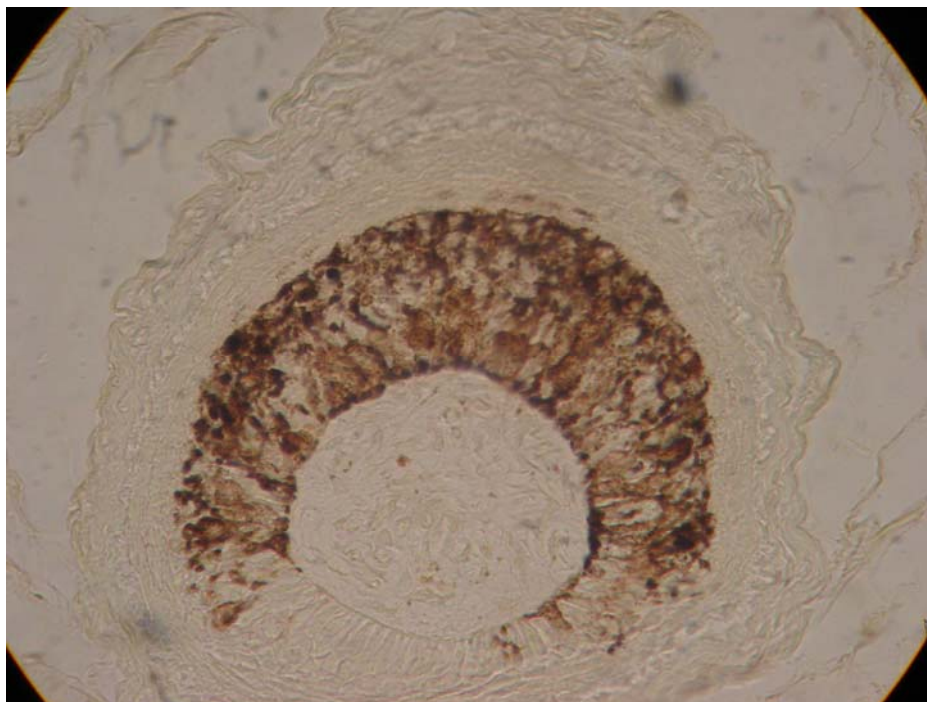


Рис.2. ФРЭ выявляется в клетках волосяной луковицы. Слабое окрашивание на ФРЭ в клетках волосяного сосочка. Непрямой иммуногистохимический метод с мечеными антителами против ФРЭ. Увел. 200.

ИЛ-1 $\beta$  в условиях нормы практически не выявляется. Лишь в отдельных волосяных фолликулах в области волосяной луковицы выявляются единичные клетки округлой формы, дающие слабое окрашивание на ИЛ-1 $\beta$ . В остальных фолликулах подобные клетки отсутствуют. Окрашивание отсутствует также в соединительнотканых клетках. В эпидермисе, а также в эпителиоцитах желез продукт реакции отсутствует (Рис. 3).



Рис. 3. Интерлейкин-1 $\beta$  выявляется в виде слабого окрашивания в клетках волосяной луковицы. Непрямой иммуногистохимический метод с мечеными антителами против ИЛ-1 $\beta$ . Увел. 200.

ФРФ в условиях нормы обнаруживается в умеренном количестве в фибробластах волосяного сосочка и “подушки”, а также во внутренних клетках матрицы. В дермальных клетках микроокружения ФРФ практически не выявляется (Рис. 4).

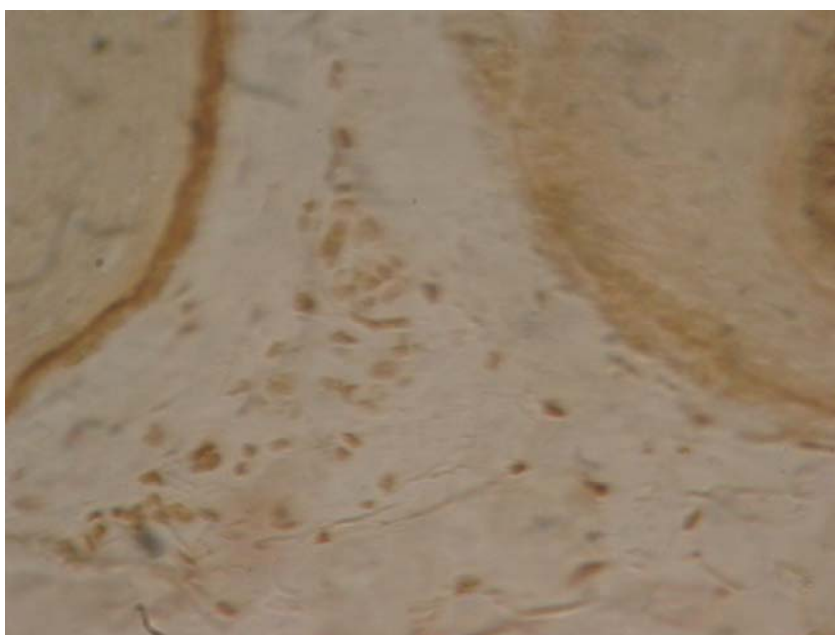


Рис. 4. Фактор роста фибробластов (ФРФ) выявляется во внутренних клетках матрицы фолликула и в фибробластах волосяного сосочка. Непрямой иммуногистохимический метод с антителами против ФРФ. Увел. 400.

При алопеции ФНО- $\alpha$  выявляется в измененных волосяных фолликулах в виде слабого или умеренного светло-коричневого гомогенного окрашивания. При этом невозможно связать окрашивание с какими-либо клетками. Окрашивание определяется на уровне волосяной луковицы и тех частей фолликула, которые расположены над ней. В более высоких отделах фолликула продукт реакции выявляется только в наружном корневом влагалище, а при приближении к эпидермису исчезает и в нем. В клетках мезенхимного происхождения ФНО- $\alpha$  выявляется в значительно большей степени, чем в эктодермальных производных. Вблизи наружного корневого влагалища выявляются округлые либо отростчатые клетки, дающие умеренное окрашивание. Вокруг некоторых фолликулов интенсивность окрашивания клеток соединительной ткани может быть значительно выше. В данном случае продукт реакции выявляется в округлых мелких и более крупных клетках, окружающих волосяную луковицу и имеющих морфологию и размеры соответственно лимфоцитов и макрофагов (Рис. 5).

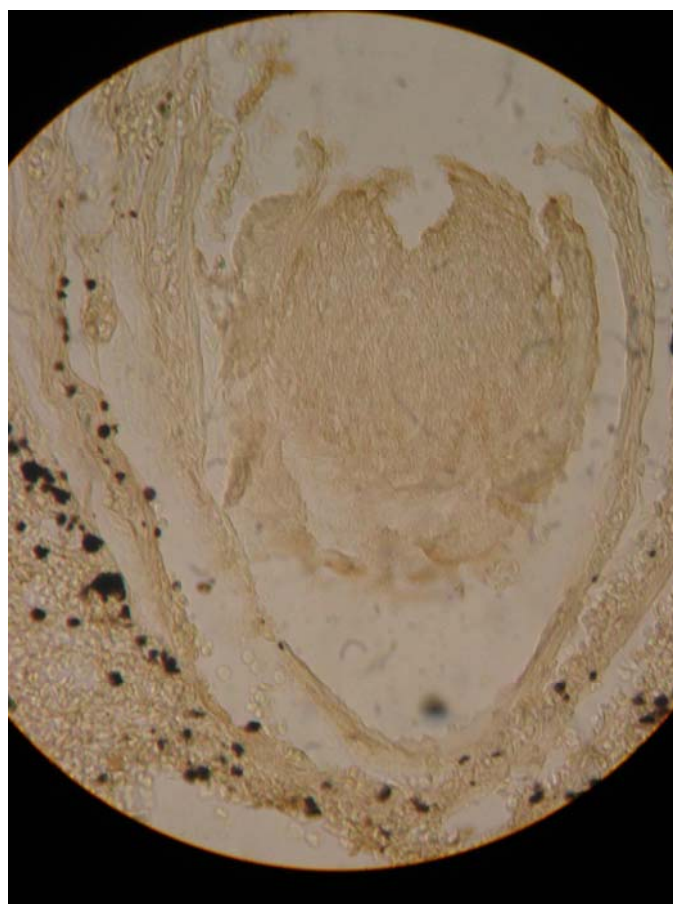


Рис. 5. Кожа волосистой части головы больного гнездовой алопецией. Фактор некроза опухоли выявляется в большом количестве в лимфоцитах и макрофагах, образующих инфильтрат вокруг измененного волосяного фолликула. Непрямой иммуногистохимический метод с мечеными антителами против ФНО- $\alpha$ . Увел. 200.

Окрашивание на ФРЭ интенсивное практически во всех клетках луковицы волосяного фолликула. ФРЭ выявляется как в клетках боковых рогов

луковицы, так и в клетках, расположенных над волосяными сосочками (Рис. 6). Окрашивание более интенсивное, чем в контроле. Кроме эпителиальных структур, продукт реакции обнаруживается и в клетках волосяного сосочка, а также в клетках «подушки» сосочка. Внутреннее корневое влагалище дает очаговое окрашивание на ФРЭ. В наружном корневом влагалище ФРЭ выявляется в клетках овальной или слабоотростчатой формы, расположенных на разных уровнях от базальной мембраны

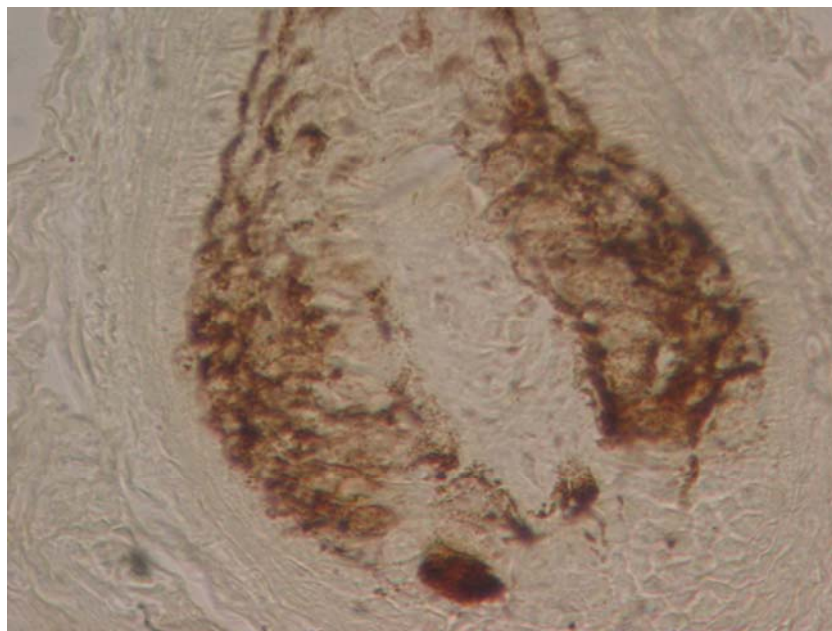


Рис. 6. Кожа волосистой части головы больного гнездовой алопецией. ФРЭ выявляется в клетках матрицы, волосяного сосочка и «подушки». Непрямой иммуногистохимический метод с мечеными антителами против ФРЭ. Увел. 400.

ИЛ-1 $\beta$  при гнездовой алопеции в отличие от нормы выявляется в гораздо большем количестве клеток волосяного фолликула и его микроокружения. ИЛ-1 $\beta$  отчетливо, хотя и в небольших количествах, определяется в клетках наружного корневого влагалища. Незначительное, но достаточно отчетливое окрашивание определяется также в отдельных клетках внутреннего корневого влагалища, переходящее в фоновое, иногда исчезающее окрашивание. В волосяной луковице, подвергшейся деформации и дистрофическим изменениям, окрашивание наиболее интенсивное, причем отдельные клетки дают субмаксимальное окрашивание. В клетках соединительной ткани, окружающей измененные волосяные фолликулы, также определяется достаточно отчетливое специфическое окрашивание на ИЛ-1 $\beta$  (Рис. 7). Вокруг некоторых волосяных фолликулов и их луковиц определяются инфильтраты из клеток, дающих максимальную положительную реакцию на ИЛ-1 $\beta$ . Такие, похожие на лимфоциты и макрофаги клетки, окрашиваются гомогенно в черный или черно-коричневый цвет.



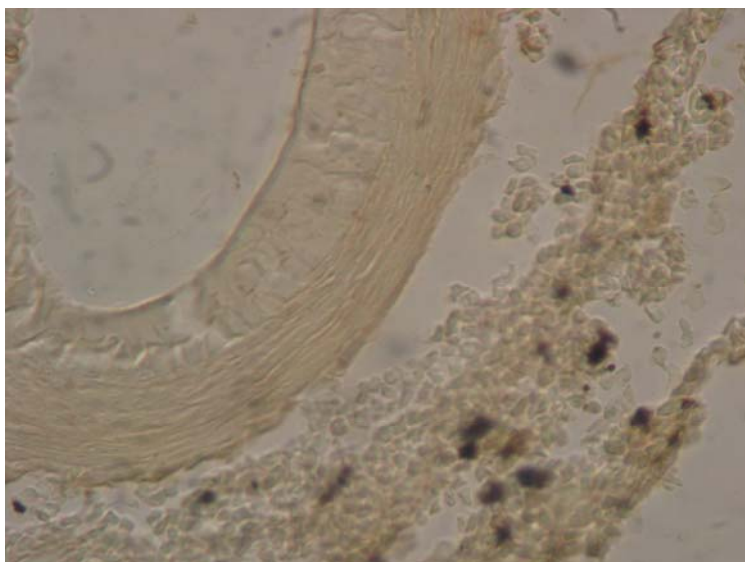


Рис. 7. Кожа волосистой части головы больного гнездой алопецией. ИЛ-1 $\beta$  выявляется в мононуклеарных клетках, окружающих волосяные фолликулы. Непрямой иммуногистохимический метод с мечеными антителами против ИЛ-1. Увел. 400.

ФРФ при гнездой алопеции в значительном количестве выявляется в скоплениях клеток округлой формы, напоминающих клетки фибробластического ряда, которые располагаются вблизи измененных волосяных фолликулов. Вблизи их находятся структуры с фоновым окрашиванием, в ряде случаев напоминающие коллагеновые волокна. Они часто располагаются в непосредственной близости от измененных волосяных фолликулов (Рис. 8). В области выражено измененных волосяных сосочков отмечаются скопления соединительнотканых клеток, дающих окрашивание на ФРФ в разной степени.

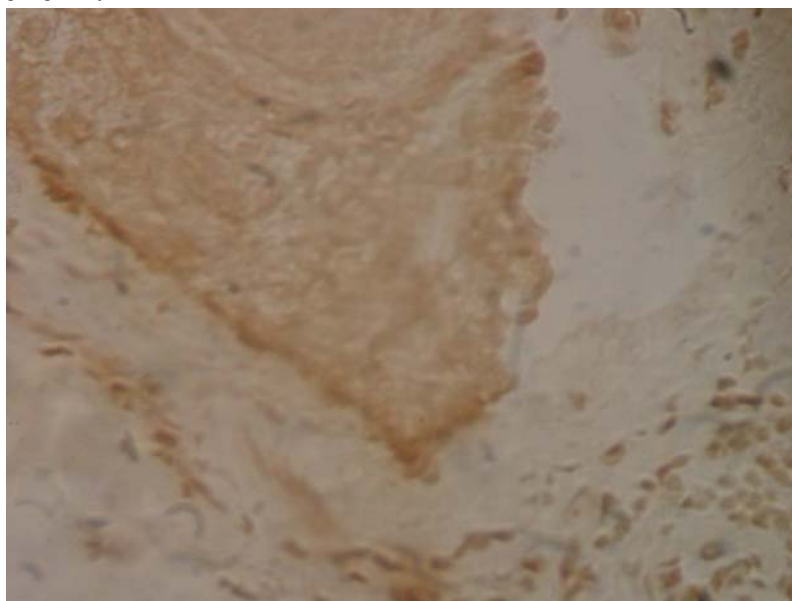


Рис. 8. Клетки волосяного фолликула и его микроокружения больного гнездой алопецией, дающие положительное окрашивание на ФРФ. Непрямой иммуногистохимический метод с мечеными антителами против ФРФ. Увел. 400.

### Выводы.

Таким образом, в условиях нормы в структурах волосяных фолликулов и их микроокружения цитокины выявляются в относительно небольших количествах. Как ФНО- $\alpha$ , так и ИЛ-1 $\beta$  выявляются лишь в отдельных волосяных фолликулах и отдельных клетках. При этом в клетках микроокружения цитокины отсутствуют. Факторы роста присутствуют в относительно большем количестве, чем цитокины. Характерно, что ФРФ выявляется преимущественно в фибробластах волосяного сосочка и рядом расположенной соединительной ткани, а ФРЭ виден в клетках эпителиального ряда. Характер распределения факторов роста и цитокинов в условиях нормы позволяет предположить, что ростовые факторы являются субстанциями постоянной секреции со стороны структур волосяного фолликула, которые могут участвовать в стимуляции постоянного деления эпителиоцитов и функционирования волосяного сосочка.

При алопеции наблюдается отклонение от нормального распределения ростовых факторов в структурах волосяного фолликула и его микроокружения. Окрашивание на ФРЭ интенсивное практически во всех клетках луковицы волосяного фолликула. Кроме эпителиальных структур, продукт реакции обнаруживается и в клетках волосяного сосочка, а также в клетках «подушки» сосочка. ФРФ в значительном количестве выявляется в скоплениях клеток округлой формы, напоминающих клетки фибробластического ряда, которые также располагаются в волосяном сосочке, а также вблизи измененных волосяных фолликулов. Особенно выраженные изменения наблюдаются в распределении цитокинов при гнездной алопеции. Общей характерной особенностью является более интенсивная окраска и широкое распространение в окружающей дерме. ФНО- $\alpha$  распространен так широко, что дает гомогенное окрашивание структур волосяного фолликула и дермы. В клетках мезенхимного происхождения ФНО- $\alpha$  выявляется в значительно большей степени, чем в эктодермальных производных. ИЛ-1 $\beta$  при гнездной алопеции в отличие от нормы выявляется в гораздо большем количестве клеток волосяного фолликула и его микроокружения, а также в клетках соединительной ткани и в инфильтратах вокруг волосяного фолликула. Это позволяет выдвинуть предположение об общем изменении синтеза регуляторных молекул при гнездной алопеции. Увеличение синтеза цитокинов при гнездной алопеции может приводить к нарушению нормальной пролиферации эпителиоцитов и преждевременному вступлению волоса в анаген. При этом одним из факторов патогенеза при алопеции может быть нарушение соотношения синтеза цитокинов и факторов роста.

Литература

1. Адаскевич, В.П. Гистопатология кожи при гнездовой алопеции / В.П. Адаскевич, О.Д. Мяделец, И.В. Тихоновская // Алопеция / В.П. Адаскевич, О.Д. Мяделец, И.В. Тихоновская. – М., 2000. – С. 128-147.
2. Бухова, В.П. Иммуноморфологические исследования у больных очаговой алопецией./ В.П. Бухова, В.А. Самсонов, А.В. Резайкина, И.А. Фомкина // Вест. дерм. и венерол. - 1998. - №5. - С. 74-75.
3. Суворова, К.Н. Гнездовая алопеция. Часть 1. Этиология и патогенез / К.Н. Суворова, А.Г. Гаджигороева.// Вест. дерм. и венерол. - 1998. - №5. - С. 67-72.
4. Achmed, A. A. Immunohistochemical studies of proinflammatory cytokines and their receptors in hair follicles of normal human skin / A. A Achmed, K Nordlind et all.// Acta. Derm. Venereol. - 1996. - №5. - P. 348-352.
5. Hoffmann, R. Cytocines and growth factors influence hair growth in vitro. Possible implications for the pathogenesis and treatment of AA / R. Hoffmann, W. Eicheler, A. Huth, E. Wenzel, R. Happle // Arch. Dermatol. Res. - 1996. - №3. - P. 153-156.
6. Offidani, A. Immunogistochemical localisation of TGF- $\beta$  in the skin of patients with alopecia areata / A. Offidani, G. Lugarine, A. Cellini et al // J. Eur. Acad. Dermat. - 1996. - №7. - P. 75-77.
7. Philpott, M. P. Effects of interleukins, colony-stimulating factor and tumor necrosis factor on human hair follicle growth in vitro: a possible role for interleukin-1 and tumor necrosis factor-alpha in alopecia areata / M. P. Philpott, D. A. Sanders, J. Bowen, T. Kealy // Br. J. Dermatol. - 1996. - №6. - P. 942-948.
8. Philpott, M. P. Human hair growth in vitro: a model for the study of hair follicle biology / M. P. Philpott, D. A. Sanders, G. E. Westgate, T. Kealy // J. Dermatol. Sci. - 1994. - №7. Suppl. - P. 55-72.
9. Tosti, A. What's new in hair research / A. Tosti // 11 European trichology forum abstracts. - 1997. - P. 17.
10. Soma, T. Analysis of apoptotic cell death in human hair follicles in vivo and in vitro / T. Soma, M. Ogo, J. Suzuki, T. Takahashi, T. Hibino // J. Invest. Dermatol. - 1998. - №6. - P. 948-954.
11. Xiong, Y. Interleukin 1- $\beta$  is differentially expressed by human dermal papilla cells in response to PKC activation and potent inhibitor of human hair follicle growth in organ culture / Y. Xiong, C. S. Harmon // J. Interferon Cytokine Res. - 1997. - №3. - P. 151-157.
12. Wollina, U. Expression of transforming grows factors  $\beta$  isoforms and their receptors during hair grows in mice / U. Wollina, D. Lange, K. Funa, R. Paus // Histol. Histopathol. - 1996. - №11. - P. 432-436.