

649-2
П 821

АКАДЕМИЯ НАУК КАЗАХСКОЙ ССР

ОБЪЕДИНЕННЫЙ УЧЕНЫЙ СОВЕТ ИНСТИТУТОВ ЗООЛОГИИ
И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БИОЛОГИИ

На правах рукописи

Л. С. ПРУСОВА

ГИСТОХИМИЧЕСКОЕ И ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕ-
СКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ДЕСТРУКТИВНЫХ И РЕГЕНЕРАТОРНЫХ
ПРОЦЕССОВ В ЛУКОВИЦЕ ВОЛОСЯНОГО ФОЛЛИКУЛА
ОВЦЫ ПОСЛЕ X — ОБЛУЧЕНИЯ

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научные руководители:

доктор биологических наук
А. М. Мурзамадиев и кандидат
биологических наук
Э. Б. Всеволодов

Алма-Ата — 1968

610. 599. 75-5
П 251

Работа выполнена в лаборатории гистологии и цитологии Института экспериментальной биологии Академии наук Казахской ССР.

Диссертация изложена на 131 странице машинописи. В работе приведены 2 таблицы, 1 график, 1 диаграмма и 4 цветных микрофотографии. К работе прилагается альбом, содержащий 115 микрофотографий.

Список использованной литературы включает 66 наименований, из которых 28 отечественных и 38 иностранных.

О Ф И Ц И А Л Ь Н Ы Е О П П О Н Е Н Т Ы :

1. Академик Академии наук КазССР,
доктор биологических наук Ф. М. Мухимедгалиев
2. Кандидат биологических наук Л. Д. Литвинова

Автореферат разослан _____ января 1968 года. Защита состоится 
~~Автореферат~~ 1968 года на заседании Объединенного ученого Совета институтов зоологии и экспериментальной биологии Академии наук Казахской ССР.

Отзывы на автореферат просим направлять по адресу: город Алма-Ата, 72, проспект Абая, 38, Институт экспериментальной биологии

Настоящая работа представляет собой один из разделов исследований по общим закономерностям гистогенеза шерсти и влияния на него физических и химических факторов, которые проводятся в лаборатории гистологии и цитологии Института экспериментальной биологии АН Казахской ССР.

Предпринимая данное исследование, мы ставили перед собой две задачи. 1. Проанализировать на цитологическом уровне степень и характер повреждаемости ионизирующей радиацией отдельных структур волосяного фолликула с тем, чтобы попытаться внести посильный вклад в решение некоторых радиобиологических проблем, в частности проблемы связи между степенью и характером дифференцировки клеток и уровнем и формами проявления их лучевого повреждения. Использование, в качестве объекта исследования, овец позволяло надеяться на получение практически важных для животноводства и ветеринарии данных об ингибирующем или возможном стимулирующем влиянии радиации на рост волоса. 2. Использовать облучение волосяных фолликулов рентгеновскими лучами, нарушавшее или модифицировавшее в той или иной мере процесс формирования шерстяного волокна, как инструмент экспериментальной морфологии для решения вопросов, связанных с механизмами гистогенеза шерсти, с ролью отдельных структур и процессов в фолликуле в формировании шерстяного волокна. Как можно было предположить, радиация поражает различные слои или зоны фолликула в разной мере. Если это так, то при некоторых дозах можно избирательно подавить активность того или иного слоя или зоны, что вызвало бы специфические нарушения гистогенетических процессов в фолликуле. Тем самым наиболее уязвимый компонент фолликула может обнаружить характер своего участия в нормальном гистогенезе шерсти.

В радиобиологическом плане волосяной фолликул представляет большой интерес. В нем существуют градиентные изменения некоторых тканевых показателей. Так, например, митотическая активность постепенно убывает в волосяной луковице в проксимодистальном направлении. Степень дифференцировки клеток презумптивного коркового слоя постепенно нарастает от уровня верхней трети сосочка в дистальном направлении вплоть до конца кератогенной зоны. Все более дистально лежащие клетки являются

непосредственными прямыми потомками более проксимально лежащих клеток матрикса. Таким образом, облучение волосяного фолликула означает облучение клеток единого происхождения, но находящихся на разных стадиях дифференцировки и обладающих разным уровнем пролиферативной активности. Более того, происходящие из единого пролиферативного пула клетки дифференцируются в существенно различных направлениях, что дает возможность изучать влияние вариантов дифференцировки на степень и характер повреждения клеток X-лучами.

Кроме того, волосяной фолликул, как радиобиологический объект, имеет и другие ценные свойства. Это множественный орган, благодаря чему облучение небольшого участка кожи означает постановку эксперимента разом на тысячах фолликулов с идентичным геномом. Этот орган допускает узлокальное облучение, легко доступен для серийных биопсий. Наконец, еще одной ценной особенностью волосяного фолликула является то, что часть его «продукции» — волос сохраняет постоянную связь с фолликулом. Волос можно сравнить с лентой самопишущего прибора, на которой зарегистрирована динамика функционирования луковицы до облучения, в период «возмущения», вызванного облучением, и в период стабилизации после повреждения. Как известно из литературных данных (Beaumarriage, 1964, Caneshem и др., 1965, Malkinson и Griem 1965, Van Scott и др., 1957), ионизирующая радиация может вызвать так называемую «дисплазию» волоса, т. е. резкое уменьшение его толщины. Это связано с почти полным разрушением луковицы, обратимым подавлением в ней митотической активности и резким уменьшением ее размеров. Спустя некоторое время после начала периода угнетения роста волоса, в луковице восстанавливаются митотическая активность и размеры луковицы и соответственно восстанавливается диаметр волоса.

Изучение изменений корней волос проводилось главным образом на человеке и лабораторных животных многими исследователями (Бак и Александер, 1963, Турусов, 1963, Chase и Herman, 1958, Chow, Rotman и др., 1964, Ellinger, 1951, Ellinger, 1957, Geary, 1952, Locassagné и Griccouroff 1941, Montagna и Chase, 1956, Van Scott, 1958). Однако в большинстве случаев такие работы имели по преимуществу микроанатомический характер и уделяли наибольшее внимание конечным результатам воздействия или, в лучшем случае, важнейшим этапам дегенерации и регенерации волосяных фолликулов после облучения. Тонкие гистологические и гистохимические подробности картины развития лучевой эпиляции изучены относительно слабо.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования служили тонкорунные овцы в возрасте 12—18 месяцев, а в предварительных экспериментах кролики. Всего было взято 86 биопсий от 10 овец и 2-х кроликов.

Облучение производилось при помощи рентгеноустановки РУП-1, при напряжении 80 кВ, силе тока 15 мА, алюминиевом фильтре 0,75 мм и мощности дозы 20—30 р/мин. Кожно-фокусное расстояние составляло около 30 см. Облучались участки кожи на дорзо-латеральной поверхности тела размером 3 × 3 см через отверстие в двойной свинцовой пластине общей толщиной 2 мм, при помощи которой были экранированы все остальные участки тела животного. Во время облучения овцы находились под общим хлоралгидратным паркозом.

Облучение участков кожи овец проводилось в дозе 50, 150, 300 и 500р. Взятие биопсий проводилось через 1 час 30 мин., 1 час 50 мин, 6 часов, 9 часов, 24 часа, 2, 3, 4, 5, 10 и 12 дней. Контролем служили симметричные облученным участки кожи. Гистологически в коже контрольной стороны не было обнаружено отклонений от нормы.

Кожные биопсии для гистохимического исследования фиксировались в жидкости Карпуа, в фиксаторе Буэна и для электронно-микроскопических исследований фиксировались по Палладэ в OsO_4 (см. Пиз, 1963).

Поскольку цитонекрозы вообще наиболее ярко проявляются в повреждениях ядер и нуклеопротеидов, наибольшее внимание в цитопатологическом плане было уделено ядрам и гистохимическому выявлению нуклеиновых кислот. Срезы окрашивались гематоксилин-эозином, по Фельгену на ДНК, по Браше на РНК (Пирс, 1962, стр. 187). Некоторые вопросы цитопатологии требовали для своего решения привлечения также электронной микроскопии. Для этих целей кусочки тщательно обезживались и заключались в смесь бутил-и-метил-метакрилата (4 : 1). Срезы толщиной 200—400 Å изготовлялись на ультратоме Шострапда, помещались на сетки покрытые формваровой смолой, контрастировались уранилацетатом и исследовались в электронном микроскопе УМВ-100.

Основная масса наблюдений была проведена на гистохимических препаратах на верхнем пределе разрешения светового микроскопа, что требовало приготовления более тонких, чем в обычных микроанатомических исследованиях кожи, срезов. В качестве подсобного метода была использована также люминисцентная микроскопия фиксированных препаратов с акридиновым оранже-

вым в качестве флюорохрома. Для выяснения полноты подавления синтеза ДНК в период наибольшего цитонекроза был использован метод гистоавторадиографии с применением тимидина — ^3H .

Некоторые вопросы, связанные с дифференцировкой клеток волоса и внутреннего влагалища, в частности синтез кератина, совершенство параллельной ориентировки кератиновых фибрилл было удобно решать (помимо использования общегистологических методов) при помощи поляризационной микроскопии.

Поскольку наружное влагалище волосяного фолликула чрезвычайно богато гликогеном, который исчезает из него в период линьки и на стадии покоящегося фолликула (Ryag, 1958), естественно было предположить, что гистохимическое исследование фолликула на гликоген может позволить зарегистрировать резкие изменения в функциональном состоянии наружного влагалища, если таковые возникнут в результате облучения.

Кроме того, в виду отсутствия в нормальных фолликулах гликогена в иных слоях кроме наружного влагалища, гликоген оказалось удобно использовать как своеобразную «метку» клеток наружного влагалища. Это обстоятельство может быть особенно ценно в тех случаях, когда имеют место перемещения клеток наружного влагалища в поврежденной луковице.

Была применена методика гистохимического определения SH — групп в клетках кожи, с которым связывают радиорезистентность клеток Граевский, Константинова, Тарасенко (1966).

Для выявления влияния радиации на диаметр волоса и на его микроанатомическую структуру проводились соответствующие измерения волос, заключенных в глицерин, при помощи окулярмикроскопа с надлежащей статистической обработкой.

Полученные результаты и обсуждение

1. Общий характер воздействия радиации на растущий волос

Полное выпадение волос наблюдалось через 10—12 дней только на участках, облученных максимальной дозой 500р. При 300р также имело место выпадение, но только небольшой части волос. При дозах 150р и 50р эпиляции не наблюдалось. Наблюдения проводились до 30 дней после облучения, затем волосы состригались и исследовались под микроскопом. Волосы, выросшие после облучения дозой 150 и 300р, обнаруживали отчетливые повреждения. Прослеживая волос под микроскопом в дисто-проксимальном направлении легко обнаружить область, которая формировалась

вскоре после облучения, по несомненно характерного рисунка кутикулярных чешуй. Далее следует зона сильного истончения волоса, где он в 1,5 — 4 раза меньше по диаметру, чем до облучения. Постепенно, сначала рисунок кутикулы, а затем и диаметр волоса у всех просмотренных волос к концу периода наблюдения (т. е. через 3—4 недели) восстанавливается. При дозе 150р только у одного из 2-х животных мы смогли обнаружить дефекты волоса, возникшие после облучения. Эти дефекты были выражены гораздо слабее, чем при дозе 300р.

Проксимальные концы волос, сформировавшихся через 3—4 недели после облучения в дозе 300р, достоверно превосходят по толщине дистальные концы тех же волос, а также проксимальные концы волос, состриженных одновременно с ними с контрольных (необлученных) участков кожи. Возможно, это следует рассматривать как проявление стимуляции роста волос X-облучением, близкой по природе к стимуляции, известной из медицинской литературы (Dostrowsky, 1934).

Обнаружена достоверная положительная корреляция между диаметрами волос в самом тонком месте в области дисплазии и диаметрами тех же волос до облучения. Следовательно, более толстые волосы более устойчивы против эпилирующего действия радиации. Любопытно, что на облученном в дозе 300р участке кожи сохраняется положительная корреляция между диаметром дистальных и проксимальных концов, что, очевидно, указывает на наличие радиорезистентного механизма детерминации толщины волокна.

От дозы 50р никаких изменений при микроскопическом просмотре сформированных волос мы отметить не смогли. Не обнаружилось каких бы то ни было изменений и в длине волос при дозах в 50 и 150р по сравнению с контролем. При дозе 300 р очень высокая ломкость диспластического участка волоса не позволила измерить длину этих волокон.

Через 1 час 30 мин. после облучения дозой 500р в луковице волосяного фолликула мы не обнаружили достоверных отклонений от нормы, не считая почти полного исчезновения митозов. Однако спустя 20 минут, т. е. через 1 час 50 минут в луковичном матриксе (т. е. в пролиферирующих клетках, расположенных на уровне соединительного сосочка) появляются многочисленные проявления цитонекроза.

Количество некротизирующихся клеток достигает максимума через 6 часов после облучения. В этот период цитонекрозы можно наблюдать в матриксе, наружном влагалище и внутренних слоях внутреннего влагалища. Клетки презумптивного волоса, распола-

гающиеся выше вершины сосочка, вовсе не обнаруживают цитопекротических изменений. В верхней трети матрикса, где часть клеток обнаруживает самые ранние признаки дифференцировки (снижение митотического коэффициента и уменьшение ядерно-плазменного отношения), цитонекрозов мало. В наружном влагаллице волосяного фолликула почти на всех его уровнях можно видеть значительное количество цитонекрозов. В нижних $\frac{2}{3}$ матрикса основная масса клеток обнаруживает резко выраженные пекротические изменения. Зона массового цитонекроза из нижних $\frac{2}{3}$ герминативной зоны обычно продолжается во внутренних слоях внутреннего влагаллица до уровня вершины сосочка или даже дистальнее. Через 1 час 50 минут после облучения цитонекрозы обнаруживаются неключительно в нижних $\frac{2}{3}$ матрикса, причем, с самого начала отмечается существенно различный характер протекания цитонекроза в нижней и средней третях матрикса. В нижней трети матрикса в отдельных клетках развивается картина гиперхроматоза ядерной оболочки и выход гранул хроматина из ядра в цитоплазму так, что в клетке можно видеть ядро и одну или несколько гранул хроматина. В средней трети матрикса гиперхроматоз ядерной оболочки появляется одновременно в целых группах смежных клеток и поврежденные ядра сближаются до соприкосновения друг с другом, вероятно, в связи с быстрым гидролизом цитоплазматических структур. Происходит как бы «аглотинация» ядер смежных клеток. К 6 часам после облучения такие «аглотинировавшие» ядра разрушаются и сливаются в сплошную неоднородную массу богатую ДНК. Такую форму цитонекроза мы назвали ядерной «сникоагуляцией».

В свете полученных гистологических, гистохимических и электронно-микроскопических данных картина развития лучевого некроза в клетках луковичного матрикса рисуется следующим образом. В ближайшие часы после облучения осмиофильная зернистость («кариосомы») обнаруживает тенденцию к «коагуляции», что выражается в плотном расположении осмиофильных гранул в одних участках ядра (особенно в некоторых местах под ядерной оболочкой) и в более редком расположении зерен в остальных участках («гиперхроматоз»).

По достижении некоторого критического значения плотности зернистости, последняя отменивается от остального содержимого ядра, и в ядре образуется гранула богатая высокополимерной ДНК. Такие гранулы продолжают уплотняться и «выталкиваются» в цитоплазму, унося с собой часть ядерной оболочки, которая окружает их со всех сторон. Интересно, что выход нескольких гранул хроматина может не быть связан с полной деструкцией остального

ядра. Наряду с одной или несколькими хроматиновыми гранулами («карниорекенс») в клетке может присутствовать оптически почти пустое ядро, в основном лишенное хроматина, т. е. картина «карниорекенса» может развиваться не только в результате одноактного разрушения ядерной оболочки, как обычно излагается в руководствах по патоморфологии, но и путем последовательного выхода гранул хроматина из ядра, при временном сохранении обедненного хроматином ядра. Для такой формы разрушения ядра можно было предложить название «экзохроматоз». Упомянутое оптически пустое ядро, в случае быстрого гидролиза хроматиновых гранул, вероятно, можно было бы принять за картину карниорекенса.

В цитоплазме хроматиновые гранулы подвергаются дальнейшим изменениям. Первоначально такая гранула почти целиком состоит из Фельген — положительного материала. Позднее ДНК постепенно деполимеризуется, в результате чего сначала часть гранулы, а затем и вся гранула утрачивает средство к метилгрюю (по Браше) и окрашивается пиронином, причем, пиросиневая окраска устойчива против действия РНК-азы (см. Пирс, стр. 189). Под электронным микроскопом метилгрюофильный колпачок представляется почти гомогенным и высоко-осмиофильным. Он довольно резкой границей отделен от остальной менее осмиофильной зернистой части гранулы. Постепенно та часть гранулы, которая лишилась высокополимерной ДНК, приобретает средство к пиронию и с акридиновым оранжевым начинает давать красную флюоресценцию, а позднее начинает окрашиваться лихтергоном (по Фельгену) и эозином. Описанные выше гистохимические и ультраструктурные особенности хроматиновых гранул могут, повидимому, быть объяснены на основе предположения, что волна деполимеризации ДНК начинается у одного полюса и постепенно прокачивается через гранулу сплошным фронтом, «оттесняя» остатки высокополимерной ДНК к противоположному полюсу гранулы. Здесь остатки Фельген-положительного колпачка могут дробиться на отдельные островки и затем постепенно уменьшаться в размерах и исчезать. Продвижение волны деполимеризации ДНК может быть связано, например, с волной диффузии ДНК-аз из разрушенных лизосом. Кроме того, появление хроматиновых гранул с двойной окраской может объясняться отмещиванием высокополимерной ДНК от ДНП гранулы после разрушения ДНП под действием ДНП-аз (Ермолаева, 1966).

Ввиду того, что в матриксе ядерно-плазменное отношение необыкновенно высоко, достаточно обоснованные выводы об изменениях в цитоплазме сделать очень трудно. С несомненностью можно утверждать лишь то, что вокруг ядра некротизирующейся клетки цитоплазма оказывается резко обедненной какими бы то ни было органоидами (околоядерное гало). Структура области ядерной

«синкоагуляции» во многом сходна с таковой экстрауклеарной хроматиновой гранулы и отличается от гранулы своими гигантскими размерами и большей внутренней неоднородностью, что, вероятно, связано с включением цитоплазматических элементов в массу «синкоагулята».

Через 24 часа после облучения в герминативной зоне луковицы клеток почти не остается, а немногие уцелевшие клетки обычно имеют признаки некротических изменений. Ядра приобретают обыкновенно слишком крупные для матрикса размеры и обнаруживают признаки гиперхроматоза, сопровождающегося выталкиванием из ядра гранул хроматина, среди которых можно встретить гранулы с двойной окраской. Однако в общем хроматиновых гранул в цитоплазме через 24 часа остается очень мало по сравнению с тем, что можно было видеть через 6 часов после облучения. Наиболее характерным проявлением цитопатологии в остатках герминативной зоны на этой стадии развития лучевого поражения является кариолизис. Зона синкоагуляции смещается на уровень вершины сосочка или даже несколько дистальнее его. Между остатками матрикса и приступившими к дифференцировке клетками презумптивного волоса, лежащими выше сосочка и отличающимися высокой базофильностью своей цитоплазмы, появляется резкая граница.

В слое Гексли внутреннего влагалища поврежденные клетки достигают более дистального уровня в фолликуле, чем через 6 часов. Число некротизирующихся клеток в наружном влагалище к 24 часам резко сокращается. Однако даже и через 5 суток цитонекрозы как в наружном влагалище, так и в матриксе встречаются достаточно часто. Полное исчезновение хроматиновых гранул произошло между 5 и 12 днем.

Ход цитонекротических процессов в масштабе отдельных клеток при дозах 50, 150, 300 и 500р одинаков. Исключением составляет, по-видимому, лишь синкоагуляция, которая заменяется во внутреннем влагалище (уже при 300р) и в средней трети матрикса (при 50р) обычным «индивидуальным» цитонекрозом с формированием изолированных гранул с двойной окраской.

На основании полученных данных можно заключить, что из 7 видов (по Баку и Александру, 1963) повреждения клеток в луковице волосяного фолликула овцы имеют место по крайней мере 4 типа повреждения клеток: интеркинетическая гибель клеток матрикса; образование гигантских клеток, т. е. клеток, которые продолжают синтезировать ДНК, но утрачивают способность делиться; обратимая задержка митозов; гибель некоторых клеток в результате атипичных митозов (хромосомные мосты).

Если в качестве критерия радиочувствительности избрать встречаемость картин цитонекроза и дозу гибели основной массы клеток в сравниваемых зонах, не вызывает сомнения тот факт, что наименьшую радиочувствительность обнаруживают клетки нижних $\frac{2}{3}$ матрикса. Даже при дозе 50р через 6 часов после облучения в этой зоне встречается много цитонекрозов. В пределах этой зоны можно, очевидно, говорить не столько о различной радиочувствительности, сколько о различной интенсивности цитопатологических процессов: в средней трети матрикса «сликкоагуляция», а в нижней трети некроз носит «индивидуальный» характер. Таким образом, герминативная зона луковицы, которая морфологически представляется однородной, под действием облучения обнаруживает свою физиологическую неоднородность. Групповой характер разрушения клеток в средней трети герминативной зоны, возможно, объясняется синхронностью протекания фаз митотического цикла в целых группах рядом расположенных клеток матрикса (Griem, 1966). Синхронное проявление в таких группах клеток лучевых повреждений может способствовать общему усилению повреждения клеточных структур за счет повышения концентрации токсических продуктов распада в центре группы пораженных клеток.

Меньшую радиочувствительность обнаруживает наружное влагалище. Это видно из того, что при минимальной дозе в 50р, в отличие от матрикса, оно практически не содержит цитонекрозов. Кроме того, при дозе 500р процент поврежденных клеток в наружном влагалище явно меньше, чем в матриксе. Наименьшей радиочувствительностью характеризуется верхняя половина луковицы; здесь цитонекрозов вообще не наблюдается даже при максимальной дозе 500р. Исключение составляют слои внутреннего влагалища, в котором очень часто имеются некрозы. Можно предполагать, что некрозы просто «втягиваются» в этот слой из средней трети матрикса. Уже самые первые признаки дифференцировки при переходе от средней трети матрикса к верхней трети и далее к преэлонгационной зоне, резко понижают радиочувствительность клеток, что в полной мере соответствует правилу Бергонье и Трибондо (1906).

2. Цитологические механизмы дисплазии, эпиляции и регенерации

Совершенно очевидно, что важнейшим фактором, обуславливающим дисплазию волоса, т. е. резкое уменьшение его толщины или даже эпиляцию, является внезапная гибель всех клеток матрикса или их значительной части. При дозе 50р пролиферативная активность уцелевших клеток сохраняется на высоком уровне и нет

надобности предполагать иных источников регенерации матрикса, кроме самих же клеток матрикса. После облучения в дозе 50р волос не обнаруживает никаких очевидных изменений. При дозе в 150р резкое уменьшение объема матрикса через сутки прекрасно видно благодаря тому, что проксимальная граница матрикса смещается в дистальном направлении от основания сосочка и проксимальная треть сосочка оказывается «оголенной», т. е. не покрытой эпителием луковицы. Одновременно становится совершенно очевидным, что 2 ряда клеток наружного влагалища достигают поверхности сосочка и обнаруживают картины, которые можно толковать как перестройку клеток наружного влагалища в клетки матрикса. Правда, клетки слоев наружного влагалища, достигающие непосредственной близости сосочка, лишены гликогена. Однако при изучении картины луковицы через 3 суток после облучения, в некоторых луковицах богатое гликогеном наружное влагалище достигало устья сосочка и, что особенно показательно, клетки проксимальной трети матрикса, в которые непрерывно продолжался слой наружного влагалища, также содержали значительные запасы гликогена. Такую картину трудно толковать иначе, как пополнение клеток нижней трети матрикса за счет миграции в эту область клеток наружного влагалища. В остальных отношениях луковицы в этот срок и при этой дозе представляются нормальными. Тот факт, что даже в нормальной на вид луковице клетки проксимальной зоны наружного влагалища после облучения пополняют матрикс, заставляет задуматься над тем, не пополняется ли матрикс и в нормальных луковицах за этот счет. В этом предположении нет ничего невероятного, если учесть, что после линьки у животных луковица регенерирует именно из клеток наружного влагалища (Чагиров и Литвинова, 1959, Chase, Ranch и др. 1951).

Доза 150р достаточна для резкого подавления митотической активности в луковице, которая к 24 часам остается ниже нормы и только через 3 дня нормализуется.

При дозе облучения в 300р матрикс почти полностью разрушается к 24 часам после облучения. Через 24—48 часов богатые гликогеном клетки наружного влагалища мигрируют на поверхность сосочка на место исчезнувших клеток матрикса. Богатые гликогеном клетки в этот же период достигают уровня, соответствующего зоне кератинизации. Через 48 часов после облучения в дистальной части кератогенной зоны картина практически не отличается от нормы, зато между вершиной сосочка и кератогенной зоной располагается постепенно сужающийся к сосочку тяж мало дифференцированных клеток, обычно богатых гликогеном.

Примерно на уровне середины сосочка тяж этих недифферен-

цированных клеток смыкается с наружным влагалищем. Таким образом, складывается впечатление, что клетки наружного влагалища, пришедшие в контакт с сосочком, не успевают израсходовать запасы своего гликогена, втягиваются вслед за концом нормального дифференцированного волоса и формируют атипичное продолжение волоса и внутреннего влагалища.

В общем сходные картины наблюдаются и через 1—2 суток после облучения в дозе 500р. Разница заключается в том, что обычно лишь тонкий плоский слой наружного влагалища достигает поверхности сосочка, а картины, напоминающие переход клеток, наружного влагалища в тяж недифференцированных клеток, наблюдаются не на уровне середины сосочка, а скорее у самой вершины его.

Итак, через 2 дня после облучения, как в дозе 300р, так и в дозе 500р настоящая луковица фактически отсутствует. Матрикс заменяется гликогенсодержащими клетками, непрерывно продолжающимися в наружное влагалище, и над сосочком клетки, окружающие этот последний, продолжают в недифференцированный тяж богатых гликогеном клеток, достигающий верхней половины кератогенной зоны, которая выглядит более или менее нормально. Присутствие гликогена в клетках этого тяжа легче всего объяснить их происхождением из наружного влагалища. Волос, как известно (Straille, 1962), продолжает выдвигаться из кожи даже в том случае, если пролиферативная активность в луковице вообще отсутствует. Поэтому клетки наружного влагалища, располагающиеся у вершины сосочка, непрерывно увлекаются вслед за выдвигающимся корнем волоса, не успевая превратиться в полноценные клетки матрикса и растратить гликоген.

Реальность такого «срывания» клеток, приступающих к формированию матрикса, с вершины сосочка подтверждаются тем фактом, что на 3—4 день после облучения митозы можно видеть в верхней половине луковицы гораздо выше вершины сосочка, где их в норме никогда не бывает.

Дальнейшие изменения развиваются следующим образом. При 500р через 3 суток пролиферативная активность явно не успевает за убылью клеток. Ранее недифференцированный тяж в значительной степени подвергается ороговению, причем появляется различимый слой Генле, сформированный из периферических клеток тяжа. Тяж отрывается от вершины сосочка, конец волоса слегка округляется. Между концом тяжа и вершиной сосочка смыкаются клетки наружного влагалища. Это предотвращает преждевременное срывание тех из них, которые непосредственно прилегают к вершине сосочка, поскольку теперь они не связаны с непрерывно выдвигающимся волосом совсем, или иногда связаны только тон-

чайшим тяжем клеток внутреннего влагаллица. В результате этого вокруг вершины сосочка клетки наружного влагаллица получают возможность сформировать небольшой по объему матрике, дающий начало полноценной луковице.

При субэпиляционной дозе в 300р темп пролиферации клеток наружного влагаллица, перестраивающегося в матрике, оказывается достаточным, чтобы поддержать в большинстве случаев толстую струйку клеток матрикса, увлекаемых из района вершины сосочка вслед за выдвигающимся волосом без наступления разрыва волоса. Причем, вплоть до 48 часов картина мало отличается от того, что мы видим при дозе в 500р. Однако уже через 3 суток объем матрикса при субэпиляционной дозе далеко превосходит таковой при эпиляционной дозе, хотя толщина волоса и на 4-й день продолжает уменьшаться по сравнению с 3 днем, возможно в связи с тем, что скорость продвижения волоса, по-видимому, связанная с работой наружного влагаллица, восстанавливается раньше, чем скорость пролиферации. Лишь на 5-й день при дозе в 300р большинство луковиц не только достигает нормального размера и дифференцировки, но даже несколько превосходит нормальные. При дозе 500р на 3-й и 4-й день луковицы оставались крайне мелкими и плохо сформированными при незначительной митотической активности и только на 5-й день они наконец сформировались, хотя, по-видимому, все еще уступали в размерах нормальным.

Таким образом, при эпиляционной дозе срок восстановления более или менее нормального роста волоса лишь на 1—2 дня отстает от такового для субэпиляционной дозы, и все же этого короткого временного разрыва оказывается достаточно для появления качественного различия: в одном случае рост волоса продолжается, несмотря на облучение, и волос сохраняет свою непрерывность; в другом волос выпадает и немедленно вслед за выпавшим через несколько дней появляется вновь начавший расти волос.

Таким образом, лучевая эпиляция ни в коей мере не означает индукции сложного биологического процесса линьки. Здесь не формируется расщепленного конца волоса, «заякоренного» в особом разрастании наружного влагаллица. При лучевой эпиляции луковица не прекращает, а лишь на весьма короткое время приостанавливает формирование волоса, в результате чего оформляется конец волоса, который вскоре в результате этого выпадает.

Из всего выше изложенного видно, что значительное различие в радиочувствительности матрикса и наружного влагаллица позволило в условиях сильного подавления пролиферации матрикса выявить любопытные морфогенетические потенции наружного влагаллица. Оказалось, что его клетки могут постепенно проникать на

поверхность сосочка и редифференцироваться в клетки матрикса, постепенно растрачивая запасы гликогена, которые столь характерны для клеток наружного влагалища.

Помимо превращения в матрикс, клетки наружного влагалища обнаружили потенцию к более или менее типичной или атипичной дифференцировке в клетки волоса в тех случаях, когда матрикс в результате облучения быстро разрушается. Эти наблюдения, по-видимому, служат свидетельством плодотворности применения X-облучения для решения задач экспериментальной морфологии шерсти.

В Ы В О Д Ы

1. Минимальная доза X-лучей средней жесткости, достаточная для полной эпиляции у тонкорунных овец (и их помесей), лежит в интервале между 300 и 500р. Уже при дозе 300р имеет место частичная эпиляция.

2. Облучение в дозах 150р (иногда) и 300р (всегда) оставляет легко обнаруживаемый при тотальном осмотре волоса под микроскопом «след» даже на волосах, продолжавших расти и после облучения. «След» состоит в обратимом истончении волоса, некотором нарушении строгой продольной ориентировки кератиновых фибрилл. Таким образом, облучение кожи овцы в интервале доз 150—300р может быть диагностировано по шерсти даже спустя значительный срок после нормализации картины в коже.

3. В волосяной луковице большое количество цитонекрозов было отмечено даже при минимальной дозе облучения 50р, что заставляет рассматривать луковицу волосяного фолликула как высоко радиочувствительный «микроорган».

4. При использовании встречаемости цитонекрозов в качестве критерия радиочувствительности зон фолликула, последние по уровню радиочувствительности располагаются в следующий ряд (от наивысшей к низкой радиочувствительности): нижние $\frac{2}{3}$ матрикса, проксимальный отдел слоя Гексли внутреннего влагалища, наружное влагалище, верхняя половина луковицы и кератогенная зона.

5. В нижней и средней третях матрикса по-разному проявляется лучевой цитонекроз («индивидуальный» цитонекроз и «синкоагуляция»), что указывает на физиологические различия между ними.

6. Предлагается следующая схема радионекроза ядра: кон-

центрация хроматина (кариосом) под ядерной оболочкой — отмишвание уплотненных участков хроматина от остального содержимого ядра — выход сформированных гранул уплотненного хроматина в цитоплазму при сохранении «запустевшего» ядра — постепенная деполимеризация ДНК в грануле с расслоением ее на Фельген-положительную и пиронинфильную — уменьшение Фельген-положительной части гранулы до ее полного исчезновения — гидролиз гранул, сморщивание и гидролиз остатков ядра.

7. В средней трети матрикса и во внутреннем влагаллице этот процесс может модифицироваться в результате сближения и слияния гиперхроматозных ядер («синкоагуляция»).

8. Отдельные этапы пострадиационного цитолиза протекают в разных зонах луковицы с различной скоростью. Деполимеризация ДНК протекает в наружном влагаллице быстрее, а в слое Гексли медленнее, чем в матриксе.

9. Даже максимальная доза в 500р полностью не устраняет синтез ДНК в луковице, протекающий в немногих уцелевших клетках матрикса на фоне массового некроза остальных.

10. Некротические процессы, развивающиеся в клетках спустя сутки и более после облучения, протекают сходно с таковыми, развивающимися в ближайшие часы после облучения. Лучевой цитонекроз практически прекращается в луковицах между 5 и 12 днями после облучения в дозе обратимой эпилепсии.

11. Под действием X-лучей в волосяном фолликуле овцы наблюдались следующие изменения: цитонекрозы, обратимое прекращение митотической активности, формирование гигантских клеток в матриксе, временное исчезновение луковичного матрикса, включение клеток наружного влагаллица в матриксе и в формирующийся волос, эпилепсия или временное истончение волоса, нарушение нормальной дифференцировки клеток коры и кутикулы волоса.

12. Нормальная дифференцировка клеток проксимального отдела корня волоса через 2—4 дня после облучения в дозе 300—500р часто нарушается, и эти клетки вплоть до завершения атиничного ороговения содержат гликоген, что, вероятно, указывает на их происхождение из наружного влагаллица.

13. В то же время богатые гликогеном клетки могут иногда принимать форму нормально дифференцированных клеток коры волоса и формировать кератиновые фибриллы до того, как запасы гликогена в их цитоплазме будут исчерпаны.

14. Действие радиации (экзохроматоз и очаговый некроз клеток матрикса) можно имитировать внутрикожной инъекцией йодата, подавляющего гликолиз.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	1
----------	---

Глава I — Обзор литературы

1. Действие X-лучей на клетку	7
2. Действие ионизирующей радиации на волосяной фолликул	18

Глава II — Собственные исследования

1. Материал и методика	26
2. Общий характер воздействия радиации на растущий волос	34
3. Морфология и гистохимия нормальной волосяной луковицы	41
4. Цитопатологические изменения в клетках волосяного фолликула после облучения	47
5. Сравнительно-патологические наблюдения над цитонекрозом в луковице при воздействии моноиодацетатом	59
6. Ближайшие последствия облучения луковиц волосяных фолликулов различными дозами X-излучений	62
7. Поздние последствия облучения луковиц X-лучами	66
8. Гистохимическое исследование волосяных фолликулов на содержание гликогена	71

Глава III — Обсуждение полученных результатов

1. Общая радиочувствительность луковицы волосяного фолликула овцы	79
2. Природа лучевого цитонекроза в волосяном фолликуле	88
3. Цитопатологические изменения в клетках волосяного фолликула	90
4. Цитологические механизмы дисплазии, эпипляции и регенерации	101
5. Дисплазия и некоторые проблемы гистогенеза волокна	110
Заключение	119
Выводы	124
Список литературы	127

18783

**Основное содержание диссертации
отражено в следующих работах**

1. Морфологические изменения в волосяной луковице овцы под влиянием рентгеновского облучения. Известия АН КазССР, серия биологическая № 6, 1966 г.
2. Некоторые проблемы гистогенеза шерсти — Материалы научной конференции морфологов Казахстана, посвященной 100-летию со дня рождения А. Н. Северцова. Алма-Ата, 1966.
3. Некоторые ультраструктурные аспекты радиационного цитонекроза. Известия АН КазССР № 5, 1967.
4. Некоторые гистохимические изменения в ядрах луковицы волосяного фолликула при радиационном цитонекрозе. Известия АН КазССР, серия биологическая № 6, 1967 г.

Материалы диссертации доложены:

1. На научной конференции морфологов Казахстана, посвященной 100-летию со дня рождения А. Н. Северцова. Алма-Ата, сентябрь 1966 года.
2. На обществе патологов города Алма-Аты. Октябрь, 1966 г.
3. На I научной конференции Института экспериментальной биологии АН КазССР. Февраль, 1967 г.
4. На юбилейной научной конференции молодых ученых Института экспериментальной биологии АН КазССР. Октябрь, 1967 г.