

СТРУКТУРНІ ЗМІНИ КЕРАТИНУ ВОЛОСА ЛЮДИНИ ЗА НОРМИ ТА ПАТОЛОГІЇ

У статті наведено дані стосовно співвідношення різних груп білків-кератинів волоса людини за норми і патології. Показано, що патологічні зміни у волоссі супроводжуються перерозподілом фракцій кератину, зокрема зменшенням вмісту низькомолекулярних матриксних білків, які характеризуються високим вмістом сірки та збільшенням частки високомолекулярних білків.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: волос людини, трихограми, структура, кератози, матрикс, мікрофібрили, кутикула.

ВСТУП. Волосяний фолікул (ВФ) і на сьогодні залишається предметом пильної уваги дослідників різних галузей. Цей інтерес зумовлений необхідністю отримання інформації щодо розуміння механізмів формування волосяного покриву в ссавців, що, у свою чергу, необхідно для ефективної селекційної роботи з тваринами – продуцентами руна з різними технологічними властивостями.

Волосяний фолікул займає у дерматології особливе місце як основний компонент шкірного покриву людини, що підпадає під ряд специфічних патологій та відображає загальний стан організму людини.

Значні успіхи в косметології та дерматології протягом останніх десятиліть є результатом досягнень у біології волоса в цілому, розуміння закономірностей формування волосяного фолікула, клітинних механізмів процесів кератинізації. Проте, незважаючи на певні досягнення, деякі аспекти функціонування ВФ, особливо ті, що лежать в основі його порушень, поки-що залишаються малоз'ясованими.

Варто зазначити, що вміст протеїнів у таких кератинізованих структурах, як волос людини і тварин, нігті, роги, перо тощо, становить близько 80 % від їх загальної маси. Відомі дві великі групи цих білків: тверді α -кератини, з яких утворюються макро- і мікрофібрили та білки, що формують нефіламентний матрикс, і кератинасоційовані протеїни [8]. Дослідження даних білків ускладнюється труднощами отри-

мання їх у нативному стані через утворення міцних дисульфідних зв'язків між мікрофібрилярними та матриксними білками.

На сьогодні існують два різні підходи до розділення білків стержня волоса, а саме: окиснення за допомогою надкислот та відновлення за присутності аніонних детергентів [10].

Метою даної роботи було оцінити функціональну діяльність ВФ за параметрами продукту кінцевої диференціації кератиноцитів – стержня волоса та вивчити структурні зміни білків-кератинів за норми і патології.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. В експерименті використали зразки людського волосся, отримані на умовах анонімності від пацієнтів обласного шкірно-венерологічного диспансеру. Співвідношення різних фаз циклу росту волоса оцінювали методом трихограм [9], на основі аналізу яких було сформовано дві групи: контрольну (норма), де співвідношення волосся в стадії анаген/телоген становило 8,2:1,8, та дослідну (патологія) зі співвідношенням 5,4:4,6.

Білки волоса фракціонували шляхом окиснення надмурашиною кислотою з наступним розчиненням у лузі за Asquit et al. [7], а також шляхом відновлення за допомогою постадійної екстракції їх із застосуванням розчину 2-меркаптоетанолу (2-ME) різних концентрацій за присутності денатурувальних агентів [5].

Результати досліджень опрацьовували статистично з використанням середнього арифметичного і стандартної похибки ($M \pm m$) та до-

стовірного інтервалу для оцінки ступеня вірогідності (p) за допомогою критерію Стьюдента (t). Розбіжності вважали статистично достовірними при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати дослідження трихограм, які дозволяють відстежити співвідношення волоса у різні фази його росту, наведено в таблиці 1. При перегляді зразків ми враховували і такі форми волосся, як дистрофічне та диспластичне [9]. Цифрові дані таблиці свідчать про те, що в пацієнтів, яких ми відносили до групи з патологією (дослідна група), кількість волосся у фазу фелогену збільшилася у 2,2 раза. Так, при нормальному співвідношенні у трихограмах волосся в стадії анаген/телоген (7,9:2,1) у дослідній групі цей показник становив 5,5:4,5. Збільшення у трихограмах кількості волосся у телогенову фазу може бути наслідком атрофії волосяних фолікулів і призводити до стоншення та порідіння волосся [1]. Про стоншення свідчила також велика кількість диспластичного волосся.

Для з'ясування змін, що виникають у стержні волоса, ми використали метод фракціонування кератинів після їх попереднього окиснення надмурашиною кислотою. Результати цих досліджень наведено у таблиці 2. У своїх попередніх роботах [2, 3] ми вказували на те, що виділені білкові фракції – кератози відповідають певним структурним елементам волоса. Зокрема, альфа-кератоза відповідає білкам макро- і мікрофібрил кіркового шару, бета-кератоза – мембранам клітин кортексу, залишків клітинних ядер та фрагментів кутикули, а гамма-кератоза характеризує матрикс, або міжклітинний цемент волоса.

Таблиця 1 – Співвідношення фаз росту волоса

Фаза росту	Норма, % (n=5)	Патологія, % (n=5)
Анаген	79	45
Катаген	0	6
Телоген	18	40
Диспластичне волосся	3	5
Дистрофічне волосся	–	4

Таблиця 2 – Структура волоса, % ($M \pm m$, n=5)

і нст, амсВ	Компнент тВ	
	ано тВ	. т%дне9В
α Суот%, тВ	хййзлзйшВ	ххйзлзйкз1В
β Суот%, тВ	з5йг лийшВ	зкй0±ийбиВ
γ Суот%, тВ	50йшклзйкВ	5кй клзйкВ

Примітка. У цій і наступній таблицях: * – статистично вірогідна різниця між порівнюваними показниками ($p \leq 0,05 - 0,001$).

Проведені дослідження показали, що існують певні відмінності у структурній організації волоса при патологічних порушеннях, і стосуються вони, головним чином, двох основних груп білків волоса. Так, частка білків макро- і мікрофібрил зросла на 9 % ($p < 0,05$) у дослідній групі порівняно з контролем, тоді як вміст матриксних протеїнів мав лише тенденцію до зменшення. Вміст нерозчинного залишку волоса практично однаковий в обох групах.

Подібні результати були отримані Р. М. Юсуфовим [4], який вказував на зміни у співвідношенні кератоз у бік зменшення частки гамма-кератози та збільшення двох інших фракцій (альфа- і бета-кератози) при деяких хворобах волоса.

Отже, основні білки волоса можна розділити за молекулярною масою, яка для матриксних протеїнів коливається у діапазоні 10–30 кДа, тоді як молекулярна маса білків мікрофібрил становить 45–55 кДа [6]. При використанні для екстракції основних білків волоса аніонних детергентів у поєднанні з відновником встановлено, що кількість екстрагованих білків залежить від концентрації відновника. Матриксні білки екстрагуються за 2 М концентрації 2-МЕ, тоді як білки мікрофібрил можна виділити за допомогою 0,4 М 2-МЕ. При використанні дитіотреїтолу (ДТТ), сильнішого відновника, ніж 2-МЕ, ми отримали фракцію з молекулярною масою в межах 100 кДа, яку віднесли до високомолекулярних білків. Отже, оскільки 2-МЕ і ДТТ мають у своїх молекулах спиртову групу -ОН, то денатурувальна ефективність сурфактанта послаблюється при високій концентрації відновників. Це пояснює той факт, що матриксні білки можна виділити лише при високих концентраціях 2-МЕ [5].

Отже, фракціонування кератину волосся шляхом відновлення за допомогою різних концентрацій 2-МЕ дозволило нам отримати 4 групи білків, співвідношення яких наведено в таблиці 3. Як свідчать цифрові дані таблиці, кортикальні білки волоса становлять понад 70 % від його маси, тоді як вміст протеїнів матриксу – до 30 %. Таким чином, після поетапної екстракції цих груп білків залишається кутикулярний залишок, вміст якого коливається у межах 20 %.

Наведені дані свідчать про те, що вміст матриксних білків при патологічних змінах у волоссі зменшується на 7,5 %. Аналогічні зміни стосуються і фракції мікрофібрилярних білків, частка яких знижується на 6,6 %. Натомість спостерігають збільшення фракцій високомолекулярних білків та кутикули.

Таблиця 3 – Структура волоса, % (M±m, n=5)

Стан волоса	Структурний елемент волоса			
	білки матриксу	білки мікрофібрил	високомолекулярні білки	кутикулярний залишок
Норма	29,71±0,38	44,76±1,10	9,00±0,42	16,54±1,22
Lim (min-max)	28,58–30,57	42,09–48,28	7,87–10,09	14,01–20,18
Патологія	27,49±0,32	41,81±0,49	10,12±0,47	20,58±0,39
	p≤0,01	p≤0,05	p≥0,1	p≤0,01
Lim (min-max)	26,70–28,35	40,52–43,47	8,95–11,36	19,79–21,96

ВИСНОВКИ. Встановлено, що патологічні зміни волосся, які характеризуються його посилиним випаданням, супроводжуються певними відмінностями у співвідношенні різних груп білків кератину. Запропоновані методи

фракціонування волоса можуть бути використані як для оцінювання ступеня його пошкодження, так і для тестування різноманітних фармакологічних та косметологічних препаратів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Адашкевич В. П. Алопеция / В. П. Адашкевич. – Нижний Новгород : Издательство НГМА, 2000. – С. 99–126.
2. Гавриляк В. В. Морфоструктурні та хімічні зміни вовняного волокна в нормі та патології / В. В. Гавриляк // Вісник Луганського національного університету імені Тараса Шевченка. – 2012. – № 17 (252). – С. 31–37.
3. Гавриляк В. В. Порівняльна характеристика кератинів людського волоса та вовняного волокна / В. В. Гавриляк, Г. М. Седіло // Біологія тварин. – 2012. – **14**, № 1–2. – С. 69–74.
4. Юсуфов Р. М. Болезни волос в судебно-медицинском отношении : автореф. дис. на соискание ученой степени д-ра мед. наук / Р. М. Юсуфов. – М., 1985. – 18 с.
5. Analysis of damaged components of permed hair using biochemical technique / R. Kon, A. Nakamura, N. Hirabayashi, K. Takeuchi // J. of Cosmetic Sciences. – 1998. – **49**. – P. 13–22.
6. A rapid extraction procedure of human hair proteins and identification of phosphorylated species / A. Nakamura, M. Arimoto, K. Takeuchi, T. Fudjii // Biol. Pharm. Bull. – 2002. – **25**. – P. 569–572.
7. Asquith R. S. The morphological origin and reactions of some keratin fractures / R. S. Asquith, D. C. Parkinson // Textile Research Journal. – 1966. – **36**. – P. 1064–1071.
8. Gillespie J. M. The structural protein of hair: isolation, characterization and regulation of biosynthesis. In: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology of the Skin [Text] Ed. L. Goldsmith / J. M. Gillespie. – Oxford : Oxford University Press, 1991. – **1**. – 659 p.
9. Kostanecki W. Choroby wlosow [Text] / W. Kostanecki. – Warszawa : Panstwowy Zaklad Wydawnictw Lekarskich, Wyd. II., 1979. – 180 s.
10. Powell B. C. Formation and structure of Human Hair / Powell B. C., Rogers G. E.; ed. P. Jones, H. Zahn – Hocker-Birhanser Verlag Basel – Switzerland. – 1997. – P. 148.

В. В. Гавриляк¹, Л. Ю. Сенцев², О. М. Шехович²

ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЖИВОТНЫХ НААН УКРАИНЫ¹, ЛЬВОВ
ОБЛАСТНОЙ КОММУНАЛЬНЫЙ КОЖНО-ВЕНЕРОЛОГИЧЕСКИЙ ДИСПАНСЕР², ЛЬВОВ

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КЕРАТИНА ВОЛОСА ЧЕЛОВЕКА В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ

Резюме

В статье приведены данные о соотношении различных групп белков-кератинов волоса человека в норме и при патологии. Показано, что патологические изменения в волосе сопровождаются перерас-

пределением фракций кератина, в частности уменьшением содержания низкомолекулярных матричных белков, характеризующихся высоким содержанием серы и увеличением доли высокомолекулярных белков.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: волос человека, трихограммы, структура, кератозы, матрикс, микрофибриллы, кутикула.

V. V. Havrylyak¹, L. Yu. Sentsev², O. M. Shekhovych²
INSTITUTE OF ANIMAL BIOLOGY OF NAAS OF UKRAINE¹, LVIV
REGIONAL MUNICIPAL DERMATOVENEROLOGIC CLINICS², LVIV

STRUCTURAL CHANGES OF HUMAN HAIR KERATINS UNDER NORM AND PATHOLOGY

Summary

The data about the ratio of different groups of human hair keratins under norm and pathology are presented. It was shown that pathological changes in human hair are accompanied by the redistribution of keratin fractions, including a decrease of low-molecular matrix proteins, which are characterized by a high sulfur content and increasing the high molecular weight protein.

KEY WORDS: human hair, trichogramma, structure, keratoses, matrix microfibrils, cuticle.

Отримано 22.01.13

Адреса для листування: В. В. Гавриляк, Інститут біології тварин НААН України, вул. Стуса, 38, Львів, 79034, Україна.