مقاله پژوهشی

مجله سلول و بافت (علمی - پژوهشی)
جلد ۳، شماره۲، تابستان ۱۳۹۱، ۱۴۰-۱۲۷

آشکار سازی پتانسیل تکثیر سلول‌های اپیدرمی زاینده‌ی فولیکول مو به دنبال کندن مداوم رشته‌ی مو و ارتباط آن با سلول‌های بنیادی و کنترل چرخه‌ی رشد مو

احمد قارزی .Ph.D [1*] و کالین جاهودا .Ph.D [2]

۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران
۲- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه دورهام، انگلستان
* پست الکترونیک نویسنده مسئول: ahgharzi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۲/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۲/۲۴

چکیده

هدف: هدف از انجام این پژوهش ارزیابی درستی نظریهٔ بالژ در مورد قابلیت تکثیر شوندگی محدود سلولهای اپیدرمی واقع در انتهای قاعده‌ای فولیکول مو بود.

مواد و روش‌ها: در فولیکول ویبریسای رت رشته‌های مو یک‌بار و یا به دفعات متوالی کنده شده و به دنبال آن الگوی تقسیم سلولی و زنجیره وقایع ترمیمی در فولیکول‌های تیمار شده با روش‌های اندازه‌گیری طول رشته ترمیم شده، بافت‌شناسی فولیکول در حال ترمیم و ایمنوهیستوشیمی (با روش درون روی BrDU به سلول‌های اپیدرمی) مورد سنجش قرار گرفت.

نتایج: بعد از یک‌بار و یا دفعات متوالی کندن مو، یک ماتریکس اپیدرمی جدید صرفا از فعالیت میتوزی سلول‌های زاینده اپیدرمی باقیمانده در قاعده فولیکول ایجاد شد و در تشکیل این ماتریکس سلول‌های ناحیه‌ی بالژ نقشی نداشت. این ماتریکس منشا تولید موهای جدیدی شد که با سرعتی معادل همتایان طبیعی خود در فولیکول‌های تیمار نشده رشد نمودند. طول نهایی موی ترمیم شده در فولیکول‌های تیمار بسیار بلندتر از مویی بود که معمولا در طی فاز رشد در فولیکول طبیعی ایجاد شده بود.

نتیجه‌گیری: پتانسیل تکثیری سلول‌های اپیدرمی قاعده فولیکول (بولب) محدود به یک چرخه نمی‌باشد. بنابراین توقف فاز رشد فولیکول از پتانسیل محدود این سلول‌ها ناشی نمی‌شود بلکه احتمالا عوامل دیگری در این فرآیند دخالت دارند.

کلمات کلیدی: فولیکول مو، سلول‌های بنیادی، ایمنوهیستوشیمی، بافت شناسی، تقسیم سلولی

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

فولیکول مو یک ساختار خیره کننده و سهل‌الوصولی برای مطالعه جنبه‌های مختلف زیست شناسی جانوری است. به ویژه، ماهیت چرخه‌ای رشد مو سبب می‌شود که فولیکول مو در جانوران بالغ به یک ساختار جالب توجه از نظر فعالیت‌های تکوینی تبدیل گردد و به این دلیل این ساختار به طور روز افزونی مورد توجه محققین قرار می‌گیرد (۱، ۲، ۳ و ۴). یکی از جنبه‌های جالب توجه و همچنین بحث برانگیز در زیست‌شناسی مو به موقعیت دقیق محل قرارگیری سلول‌های بنیادی اپیدرمی در فولیکول مو مربوط می‌شود. عقیده بر این است که فولیکول مو شبیه تمام سیستم‌های تجدید پذیر واجد یک خزانه‌ای از سلول‌های بنیادی است که نقش اصلی در رشد، ترمیم و تمایز فولیکول مو بر عهده دارد (۵، ۶ و ۷). بر طبق تعریف رایج، سلول‌های بنیادی، سلول‌هایی ابتدایی و با عمر درازی هستند که نرخ فعالیت میتوزی در آن‌ها پایین است. در بیشتر مدل‌ها، این سلول‌ها در پاسخ به نیازهای بافت و تحت تاثیر عوامل تحریکی مختلف فعال می‌گردند و وارد فاز تکثیری شده و تعدادی سلول‌های تقسیم شونده موقتی (transient amplifying) یا TA را به وجود می‌آورند. سلول‌های اخیر از این قابلیت برخوردارند که با سرعت زیاد تقسیم شده و تعدادی زیادی سلول‌های دختر به وجود می‌آورند، لیکن این سلول‌ها از ظرفیت محدودی برای تقسیم برخوردارند و در نتیجه پس از چند دور تقسیم میتوز به سرنوشت نهایی خود تمایز پیدا می‌کنند (۸ و ۹).

با وجود اجماع عمومی درباره وجود سلول‌های بنیادی اپیدرمی در فولیکول مو، نظرات مختلفی پیرامون محل و موقعیت قرارگیری آن‌ها در فولیکول مو وجود دارد. بسیاری از محققین معتقدند که سلول‌های بنیادی اپیدرمی در پایین‌ترین ناحیه بولب از فولیکول (بخش قاعده‌ای فولیکول) قرار دارند، جایی که در آنجا سلول‌های تقسیم شونده رشته مو و سایر محصولات تمایزیافته را در طی فاز رشد چرخه فولیکول به وجود می‌آورند (۱۰). از طرف دیگر، محققین دیگری اخیرا فرضیه بالژ را پیشنهاد کرده‌اند که بر مبنای آن سلول‌های بنیادی در بخش بالایی غلاف ریشه خارجی (outer root sheath) یا ORS فولیکول مو مستقر هستند، یعنی در ناحیه نزدیک به نقطه اتصال عضله راست کننده مو (۱۱، ۱۲، ۱۳ و ۱۴). بعضی پیشنهاد کرده‌اند که در فولیکول موهای سر انسان، این سلول‌های بنیادی در ناحیه بالژ قرار دارند (۱۵ و ۱۶)، در حالی که دیگران خزانه آن‌ها را در زیر سطح میانی فولیکول و بالای بولب در نظر گرفته‌اند (۱۷).

شواهد چندی وجود دارد که نظریه بالژ را تایید می‌کند. به طور مثال، ثابت شده که اگر یک سوم تحتانی فولیکول قطع گردد، باقیمانده فولیکول می‌تواند ترمیم گردد و یک موی جدیدی را به وجود آورد. در اینجا سلول‌های جدید اپیدرمی موجود در بولب قاعدتا بایستی از سطح بالای محل قطع شدگی منشا گرفته باشند (۱۸ و ۱۹) و چون ناحیه بالژ در بالای فولیکول قرار دارد منطقی است که نتیجه بگیریم این سلول‌ها از ناحیه بالژ سرچشمه گرفته‌اند. علاوه بر این، نشان داده شده که سلول‌های حاصل از بخش‌های میانی و بالایی فولیکول در محیط کشت از توانایی تکثیری بیشتری در مقایسه با سلول‌های بولب برخوردار هستند (۱۲) و همچنین بسیاری از نشانگرهای مربوط به سلول‌های بنیادی را بیان می‌کنند (۲۰، ۲۱ و ۲۲).

بر طبق نظریه قرارگیری سلول‌های بنیادی در بالژ یا نظریه فعال شدن بالژ، سلول‌های زاینده اپیدرمی (GE) موجود قاعده فولیکول یا بولب (bulb) سلول‌های TA هستند که ظرفیت تکثیری محدود آن‌ها در انتهای هر فاز رشد به اتمام می‌رسد و همین امر است که منجر به توقف رشد مو و ورود فولیکول به مرحله انتقالی (catagen) می‌گردد (۹). اگر این نظریه درست باشد، به یکی از جالب‌ترین و پر مناقشه ترین سؤالات در زمینهٔ زیست‌شناسی فولیکول مو، یعنی" چه عاملی طول فاز رشد هر چرخه را معین می‌کند؟" جواب می‌دهد.

شواهد مربوط به پتانسیل تکثیری سلول‌های اپیدرمی واقع در بالژ و بولب (۲۳، ۲۴ و ۲۵) و همچنین سایر مشخصات مرتبط با طبیعت بنیادی بودن و نبودن آن‌ها (۲۶، ۲۷، ۲۸ و ۲۹) عمدتا از کشت این سلول‌ها در محیط کشت حاصل شده است، ولی تاکنون این پتانسیل به طور مستقیم و در in vivo مورد سنجش و ارزیابی قرار نگرفته است. از این‌رو ما در این تحقیق بر آن شدیم که پتانسیل سلول‌های اپیدرمی را که بعد از کندن مو در انتهای بولب فولیکول باقی می‌مانند مورد سنجش قرار دهیم. همان طور که برای همگان مشهود است، موقعی که یک موی در حال رشد از فولیکولش کنده می‌شود، سبب شروع تولید یک موی جدید می‌گردد. این موضوع این سوال را در ذهن متبادر می‌کند که سلول‌های موجود در این موی جدید از کجا می‌آیند؟ در این راستا نشان داده شده که موقعی که یک موی در حال

www.SID.ir
Archive of SID

رشد کنده می‌شود، اصولا دو جمعیت از سلول‌های اپیدرمی در فولیکول باقی می‌مانند: یکی جمعیت کوچکی از سلول‌های زاینده‌ی بولب هستند که به شکل یک ساختار حلقه‌مانند در پایین‌ترین بخش فولیکول (بولب) باقی می‌مانند (۳۰) و دیگری اجتماعی از سلول‌های ORS هستند که در ناحیهٔ بالژ بر جا می‌مانند (۳۱). کندن مو سبب خارج کردن اکثر سلول‌های ORS مستقر در بین این دو جمعیت شده و در این محل یک فضای خالی بر جای می‌گذارد. هدف ما از این تحقیق این بوده است که مشخص کنیم کدامیک از این دو جمعیت سلول‌های اپیدرمی باقیمانده (بولب و بالژ) در ترمیم و تشکیل موی جدید دخالت دارند تا بر اساس آن قابلیت تکثیری و نقش سلول‌های بولب را روشن‌تر نماییم.

در این تحقیق ما بررسی‌های خود را روی فولیکول‌های ویبریسا (موهای پشت لب بعضی از پستانداران از جمله جوندگان) موش صحرایی (رت) انجام دادیم و دلیل آن این است که اولا بر خلاف چرخه‌ی رشد بسیاری از انواع فولیکول که تحت تاثیر عوامل هورمونی یا محیطی قرار می‌گیرد (۴، ۳۲ و ۳۳)، فولیکول ویبریسا جوندگان واجد چرخه‌ای است که با یک دقت زیاد توسط عوامل درونی کنترل می‌گردد. با توجه به این ویژگی محققین قادرند مراحل رشد فولیکول را پیش‌بینی کنند و طول رشتهٔ موی آن‌را با دقت میلی‌متر تخمین بزنند (۳۴). ثانیا اینکه این فولیکول‌ها در یک نظم کاملا مشخص و شناخته شده بر روی پوست لب پشتی قرار می‌گیرند. به واسطه این نظم هر فولیکول با دارای آدرس مشخصی بوده و با این آدرس کاملا از فولیکول‌های مجاور متمایز می‌گردد (۳۵).

مواد و روش‌ها

الف) حیوانات و روش خارج نمودن مو از فولیکول:
موش‌های صحرایی یا رت نژاد PVG (Inbred Piebald Virol Glaxo rat) با رعایت کامل موازین اخلاقی از هر دو جنس نر و ماده (صرفا جهت تصادفی بودن انتخاب‌ها) برای این کار فراهم شدند. برای اطمینان از یکنواختی آزمایش، فقط فولیکول‌هایی که در میانه‌ی فاز رشد یا آناژن (anagen) بودند استفاده شدند. این فولیکول‌ها به این طریق معین شدند که در آن‌ها طول موی در حال رشد یک سوم تا دو سوم طول موی فاز رشد قبلی (club) بود. در کل، ۸۲ فولیکول آناژن از ۱۷ موش صحرایی برای تحقیق روی جنبه‌های مختلف ترمیم مو متعاقب کندن مو مورد استفاده قرار گرفتند. قبل از کندن رشته مو، حیوانات با استفاده از فلوتن (شرکت دامپزشکی مالینکرات- انگلستان) بی هوش شدند و موقعیت فولیکول‌های میانه آناژن روی لب فوقانی حیوان با توجه به نام‌گذاری اولیور مشخص گردید (۳۵). به منظور تسهیل کندن رشته‌های مو و به حداکثر رساندن مقدار بافت خارج شده، ابتدا با کمک پنس‌های ظریف موهای فاز رشد قبلی یا کلاب (club fiber)، از فولیکول‌های انتخابی جدا گردید. سپس رشته موی در حال رشد با دقت از نزدیک به سطح پوست گرفته شده و به آرامی بیرون کشیده شد تا اینکه رشته‌ی مو از فولیکول خارج گردید. انتهای نزدیک یا پروکزیمال موی خارج شده فورا زیر استرئومیکروسکوپ مورد مشاهده قرار گرفت تا اینکه اطمینان حاصل شود که حداکثر مقدار ماتریکس خارج شده باشد و این عمل در تمام فولیکول‌ها یکسان انجام شده باشد. انتهای پروکزیمال رشته موهایی که به درستی کنده شده بودند معمولا به صورت فنجانی با لبه‌های صاف دیده می‌شد (شکل ۱). فولیکول‌هایی که رشته موی کنده شده‌ی آن‌ها چنین ساختاری را نمایان نمی‌کرد از تحقیق کنار گذاشته می‌شدند. معمولا در هر موش صحرایی تعداد ۴ تا ۵ فولیکول که متعاقب کنده شدن رشته موی آن‌ها کاملا شرایط مورد نظر را دارا بودند برای ادامه‌ی کار استفاده می‌شدند.

برای بررسی وقایعی که متعاقب یک‌بار کندن مو در فولیکول رخ می‌دهد، حیوانات مذکور ۶، ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت و همچنین ۴ و ۷ روز پس از عمل کندن کشته شدند و فولیکول‌های تجربی به طریق مرسوم از پوست لب فوقانی آن‌ها جدا گردید (۳۶). این فولیکول‌ها سپس یا برای کارهای بافت‌شناسی تثبیت شدند و یا اینکه برای کارهای ایمنوهیستوشیمی و نشان‌دار کردن با BrdU به سرعت فریز گردیدند.

برای تعیین اندازه‌گیری قابلیت فولیکول‌ها در ایجاد موی جدید، قبل از کندن، طول موی کلاب و موی در حال رشد اندازه‌گیری شد. سپس در فواصل معین زمانی، فولیکول‌های مورد آزمایش مشاهده تا اینکه موی در حال ترمیم از سطح پوست خارج گردید. از این به بعد طول این مو در فواصل زمانی ۱ تا ۳ روز به طور مرتب اندازه گیری شد. موقعی که طول این موی در حال ترمیم به یک سوم تا یک دوم طول موی کلاب رسید، این مو مجددا به طریق فوق‌الذکر کنده شد. فرایند کندن و اندازه گرفتن تا ۵ بار متوالی انجام گرفت و در این مورد زمان آزمایش حدود ۱۱۰ روز طول کشید. در هر مرحله از آزمایش فولیکول‌هایی که

Archive of SID

www.SID.ir

شرایط آزمایش به درستی در مورد آن‌ها انجام نمی‌شد از ادامه‌ی تحقیق کنار گذاشته می‌شدند. داده‌های بدست آمده از این اندازه‌گیری های متوالی وارد نرم افزار SPSS 16 گردید و با استفاده از آزمون یک-طرفه‌ی ANOVA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و با استفاده از همین نرم افزار نمودار رشد مو در فولیکول‌های تیمار تهیه گردید. طول کلی موی تولید شده به وسیله هر فولیکول به وسیله جمع زدن طول موی اولیه و مجموع طول موهای ترمیم شده مشخص گردید. این طول سپس با طول موی کلاب مقایسه شد. حیواناتی که موی فولیکول‌های آن‌ها برای چندین بار متوالی کنده شده بود، ۶ یا ۲۴ ساعت پس از آخرین کندن کشته شدند و فولیکول‌های مورد آزمایش آن‌ها جدا و برای کارهای بافت شناسی و ایمنوهیستوشیمی آماده گردیدند. در یک مورد، بعد از سومین بار کندن مو، به فولیکول‌ها اجازه داده شد تا رشد کنند و به طول انتهایی خود برسند و در همین حین طول موی ترمیمی آن‌ها به طور مرتب اندازه گیری می‌شد. در این زمان این مو برای بار چهارم کنده شد و سپس حیوان کشته شده و فولیکول‌های مورد آزمایش آن برای کارهای بافت شناسی تثبیت گردیدند.

ب) بافت شناسی: فولیکول‌های جدا شده در فرمالین نمکی ۴ درصد تثبیت و از میان یک سری اتانول با غلظت بالارونده عبور داده شد تا آبگیری شوند و با زایلول شفاف و نهایتا در پارافین قالب گیری شدند. برش‌هایی طولی با ضخامت ۷ میکرون از فولیکول‌ها تهیه گردید و با ترکیبی از هماتوکسیلین وایگرت، آبی آلسین و کورتیس پونسا S (تماما فراهم شده از سیگما، انگلستان) رنگ آمیزی شدند.

ج) نشان‌دار کردن با BrdU و ایمنوهیستوشیمی: فولیکول‌ها متعاقب جدا شدن از حیوان، فورا در محیط کشت حداقل یا MEM (Minimum Essential Medium) که حاوی ۱۰ میکرو مول بر لیتر ماده‌ی نشان‌دار برمودزکسی یوریدین یا BrdU (سیگما، انگلستان) بود قرار داده شده و محیط مذکور برای مدت ۱ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. BrdU نوکلئوتیدی است که در جریان همانندسازی DNA در فاز سنتز بجای نوکلئوتید تیمین در رشته‌ی DNAی در حال ساخت وارد می‌گردد. برای برداشتن و خارج کردن BrdU آمیخته نشده، نمونه‌ها سه بار با بافر PBS (phosphate buffer solution) شستشو شده و سپس در همان بافر به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. فولیکول‌های نشان‌دار شده سپس به قالب‌های آلومینیومی حاوی مایع tissue-tek (شرکت مایلز ساینتیفیک، انگلستان) منتقل شدند. این قالب‌ها سپس به سرعت با شناور کردن آن‌ها در نیتروژن مایع فریز شدند. فولیکول‌های فریز شده با استفاده از کرایوستات (برایت، انگلستان) در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد به طور طولی و با ضخامت ۶ میکرون برش داده شدند. برش‌ها سپس به روی لام‌های پوشیده شده با پلی L-لیزین منتقل شده و به آن‌ها اجازه داده شد تا در دمای اتاق خشک شوند. این برش‌ها سپس با اتانول ۷۰ درصد (در بافر گلیسین، ۵۰ میلی مول بر لیتر، با pH برابر با ۲) فیکس شدند. سپس برش‌ها سه بار با PBS شسته شده و سپس برای مدت ۱ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با محلول آنتی-BrdU (شرکت بورینگر منهیم بیومدیکا، انگلستان) انکوبه شدند. این نمونه‌ها بعدا سه بار با بافر PBS شسته شده و مجددا برای مدت یک ساعت در محلول rabbit anti-mouse lg-fluorescein (شرکت داکوA/S، دانمارک) که به نسبت ۱ به ۴۰ با PBS حاوی ۷۰ میکرو مول بر میلی‌لیتر آبی ایوان (مرک، آلمان) رقیق شده بود انکوبه شدند. دلیل استفاده از آبی ایوان ایجاد تضاد در زمینه بود. اسلایدهای حاوی برش بعدا با PBS به صورت فوق‌الذکر شسته و با محلول سیتوفلور (آگار اید، انگلستان) پوشانده شدند. برش‌های نشان‌دار شده در زیر میکروسکوپ فلورسنس زایز اکسیورت ۱۳۵ (کارل زایس، آلمان) که به دوربین عکاسی مجهز بود مشاهده و تصویرهای لازم تهیه شد.

د) قطع و جدا نمودن بخش بالایی فولیکول‌های کنده شده در in vivo: برای این کار رت‌ها با فلوتن بیهوش شدند و ردیف عقبی فولیکول‌های ویبریسا [ردیف A بر اساس نام‌گذاری اولیور، ۱۹۶۶(۳۵)] پس از بریدن پوست در معرض دید قرار گرفتند. سه چهارم بالایی فولیکول‌های مورد نظر از بافت‌های همبند اطراف پاک‌سازی شد و سپس موهای کلاب و در حال رشد از فولیکول‌های انتخاب شده کنده و سپس با کمک قیچی‌های ظریف فولیکول‌ها درست از بالای ناحیه بولب به دو قسمت تقسیم شدند. این کار باعث شد که ناحیه بولب کاملا از ناحیه‌ی فوقانی فولیکول جدا گردد. بعد از این کار، پوست لب بالای حیوان به موقعیت اولیه برگردانده شد و محل بریدگی به دقت بخیه زده شد. لازم به ذکر است این عمل هیچ مزاحمتی برای غذا خوردن حیوان ایجاد نمی‌کرد به طوری که پس از به هوش آمدن حیوان عمل شده قادر بود به طور طبیعی تغذیه کند. به

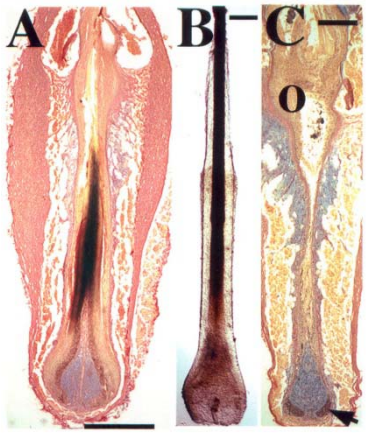
Archive of SID

www.SID.ir

طور کلی ۱۶ فولیکول در ۵ رت (شامل ۳ نر و ۲ ماده) به این طریق قطع گردید. بیست روز پس از عمل قطع کردن، حیوانات کشته می‌شدند و بعد از بریدن پوست لب بالایی و نمایان کردن محل مورد نظر، نیمه‌های فولیکول‌های قطع شده جدا و در محلول فرمالین نمکی فیکس می‌شدند. سپس این نیمه فولیکول‌ها از بافت‌های اطراف پاک می‌شد و برای مطالعات بافت شناسی به شیوه‌ای که در بالا ذکر شد آماده می‌شدند.

نتایج

موقعی که رشتهٔ موی از یک فولیکول در حال رشد کنده می‌شود (شکل ۱A)، این عمل کندن نه تنها رشتهٔ مو را خارج می‌کند بلکه غلاف خارجی ریشه و بیشتر بخش اپیدرمی (ماتریکس) بولب را نیز بر می‌دارد (شکل ۱B). لیکن متعاقب این کار به طور پیوسته یک جمعیت کوچکی از سلول‌های اپیدرمی ماتریکس در پایین‌ترین ناحیهٔ فولیکول بر جای می‌ماند (شکل ۱C). در بالای بخش بولب فولیکول، یک لایه‌ی ناقصی از سلول‌های قاعده‌ای (بازال) غلاف خارجی ریشهٔ به صورت چسبیده به دیوارهٔ فولیکول باقی می‌ماند ولی فضایی که قبلا با رشته‌ی مو پر شده بود مملو از خون و بقایای سلولی می‌گردد. همچنین به طرف بالای فولیکول، در بخشی که به بالژ شناخته می‌شود یک غلاف خارجی نسبتا ضخیم بر جای می‌ماند (شکل ۱C).



شکل ۱: اثر کندن رشته مو بر فولیکول‌های آناژن. A) برش طولی از یک فولیکول ویبریسای رت در مرحله میانی آناژن. B) یک رشته موی کنده شده از فولیکول مرحله آناژن. C) یک برش طولی از فولیکول ویبریسا درست بعد از کنده شدن رشته مو. دو جمعیت از سلول‌های اپیدرمی در فولیکول باقی مانده، شامل: سلول‌های زاینده بولب (فلش) در قاعده فولیکول و سلول‌های غلاف خارجی ریشه (o) در بالای فولیکول. رنگ آمیزی در A و C: آبی آلسین، هماتوکسیلین وایگرت، کورتیس پونسا S خط نشانه در A برابر با ۴۰۰ میکرومتر، در B برابر با ۲۰۰ میکرومتر و در C برابر ۳۰۰ میکرومتر.

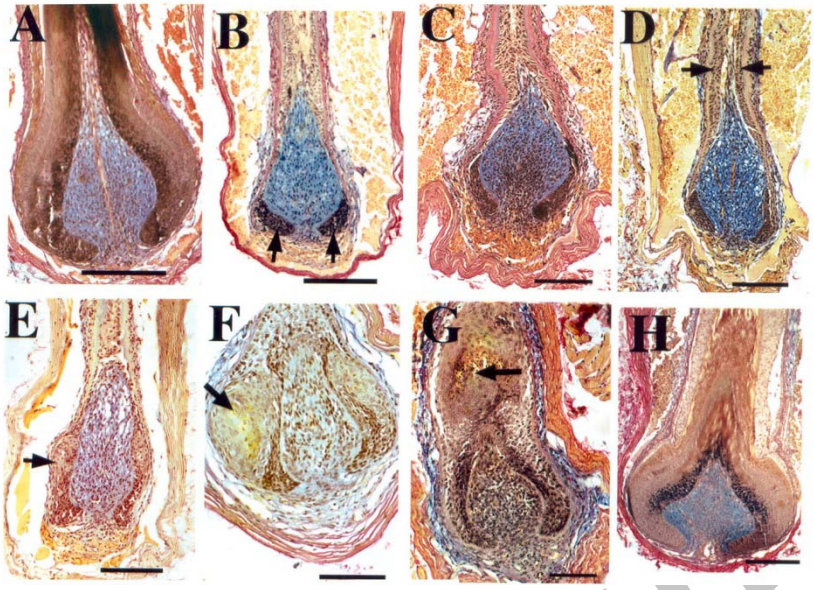
ترمیم و تجدید رشد مو در ناحیهٔ بولب فولیکول متعاقب کنده شدن رشتهٔ مو

عمل کندن رشتهٔ مو ظاهرا آسیبی به پاپیلای درمی (dermal papilla) فولیکول وارد نمی‌کند چرا که این ساختار متعاقب کندن همان مورفولوژی و ویژگی‌های مرحلهٔ آناژن را حفظ می‌کند به طوری که به صورت گلابی شکل باقی مانده و دارای یک ناحیهٔ راسی مشخص می‌باشد. این پاپیلا همان طور که در بالا ذکر شد در قسمت قاعده‌ای به وسیلهٔ حلقه‌ای از سلول‌های اپیدرمی ماتریکس احاطه می‌گردد. سلول‌های پاپیلا در این ساختار به خوبی پراکنده شده و فضای بین سلولی آن‌ها غنی از مواد گلیکوزآمینوگلیکان می‌باشد (با توجه به رنگ گرفتن شدید آن‌ها با رنگ آبی آلسین) و مویرگ‌های خونی به خوبی در آن منشعب شده‌اند (شکل ۲A را با ۲B مقایسه کنید).

شش ساعت بعد از کندن، تغییرات مورفولوژیکی اندکی در فولیکول مشاهده می‌شود (شکل ۲C) و ۱۲ ساعت پس از این کار نیز این تغییرات قابل توجه نمی‌باشد (شکل ۲D)، لیکن پس از ۲۴ ساعت بخش اپیدرمی بولب یک حجیم شدگی و گسترش بارزی را به نمایش می‌گذارد (شکل ۲E). در این زمان سلول‌های اپیدرمی باقیمانده هنوز به صورت سلول‌های با رنگ تیره‌تر مشخص هستند در حالی که یک جمعیت جدیدی از سلول‌های روشن‌تر در بالای آن‌ها قابل روئیت می‌باشد. در ساعت ۴۸ این ناحیهٔ جدیدا رشد کرده گسترده شده و به طرف بالا پیشروی کرده است و در همین حال نشانه‌ای از تمایز در سلول‌های بالایی و بیرونی ماتریکس جدید مشاهده می‌گردد (شکل ۲F). این گروه از سلول‌های تمایز یافته بعدا به طرف بالا حرکت کرده و چهار روز پس از کندن در بالای بولب مشاهده می‌شوند. در این زمان سلول‌های پاپیلای درمی متراکم شده و یک کاهش مشخص در مواد خارج سلولی آن دیده می‌شود، در حالی که ماتریکس اپیدرمی با اپیدرم بالای فولیکول پیوسته شده است. در روز هفتم رشد فیبر مو از سر گرفته شده (تصویر نشان داده نشده) و در روز نهم فولیکول از نظر مورفولوژی کاملا به یک فولیکول میانهٔ آناژن شباهت پیدا کرده است به طوری که دارای یک پاپیلای درمی گلابی شکل و سلول‌های اپیدرمی در مراحل مختلف تکثیر و تمایز می‌باشد (شکل ۲H). در این زمان، در تعدادی از فولیکول‌ها رشتهٔ موی جدید از سطح پوست خارج شده است.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۲: بافت‌شناسی ناحیه‌ی قاعده‌ای یا بولب فولیکول قبل (A) و در مراحل مختلف (B-H) بعد از برداشته شدن رشته مو. A) بولب فولیکول در میانه آناژن دارای یک پاپیلای درمی گلابی شکل است که به وسیله ماتریکس اپیدرمی احاطه می‌شود. B) بولب فولیکول درست بعد از کندن مو. C) در ساعت ۶: سلول‌های GE یک واکنش بازوفیلی شدیدی از خود نشان می‌دهند و در پاپیلای درمی سلول‌ها فشرده‌تر شده‌اند. D) در ساعت ۱۲: سلول‌های GE فعالانه درگیر فعالیت میتوزی هستند. E) در ساعت ۲۴: یک گسترشی در بخش GE مشهود است. سلول‌های GE اولیه هنوز در قاعده بولب به صورت ناحیهٔ تیره‌تر دیده می‌شوند، در حالی که یک جمعیت جدیدی از سلول‌های روشن‌تر درست در بالای آن‌ها (فلش) ایجاد شده است. F) در ساعت ۴۸: ماتریکس اپیدرمی جدید به سمت بالا گسترش پیدا کرده و تقریبا پاپیلای درمی را احاطه کرده است. سلول‌های بالایی در حال فرایند تمایز هستند (فلش). G) در روز چهارم، در اطراف پاپیلای درمی یک ماتریکس جدید شکل گرفته است. سلول‌های اپیدرمی تمایز یافته اکنون در بالای بولب قابل تشخیص می‌باشند (فلش). H) در روز نهم: بولب به ظاهر آناژن طبیعی برگشته است. رنگ آمیزی در تمام موارد، آبی آلسین، هماتوکسیلین وایگرت، کورتیس پونسا S، خط نشانه در A-E برابر ۲۰۰ میکرومتر، در F برابر با ۱۰۰ و در G-H برابر با ۲۰۰ میکرومتر.

توزیع BrdU در فولیکول متعاقب یک‌بار کندن مو

شش ساعت پس از کندن، ماده نشان‌دار BrdU به شدت در سلول‌های اپیدرمی ماتریکس که در قاعده فولیکول باقی مانده‌اند دیده می‌شود (شکل‌های ۳A و ۳B). در این مرحله توزیع ماده نشان‌دار فقط به همین سلول‌ها محدود می‌شود و نشانه چندانی از وجود این ماده در سلول‌های اپیدرمی میانی و بالایی فولیکول (ناحیه بالژ) دیده نمی‌شود (شکل ۳C, D). در ساعت ۱۲ (شکل ۴A) مادهٔ نشان‌دار هنوز به شدت در ناحیه قاعده‌ای دیده می‌شود (شکل ۴B) اما در این زمان مشاهده می‌شود که تعدادی از سلول‌های ORS بالای بولب نیز نشان‌دار شده‌اند (شکل ۴C) ولی نواحی بالایی فولیکول هنوز فاقد ماده نشان‌دار می‌باشند (شکل‌های ۴D و ۴E). در ساعت ۲۴ (شکل ۵A) سلول‌های اپیدرمی بولب باز هم ماده نشان‌دار را بیان می‌کنند (شکل ۵B) و اکنون علائم نشان‌دار شدن در نیمه فوقانی فولیکول مشاهده می‌شود (شکل‌های ۵C و ۵D). در ساعت ۴۸ فضای داخلی فولیکول با یک تودهٔ متراکمی از سلول‌های ORS پر شده است (شکل ۶A). در این زمان ماده نشان‌دار باز هم به صورت پیوسته در ناحیه بولب قابل مشاهده است (شکل ۶B) ولی همزمان تعداد محدودی تقسیم سلولی در لایه بازال سلول‌های اپیدرمی ORS دیده می‌شود (شکل‌های ۶B,C,D).

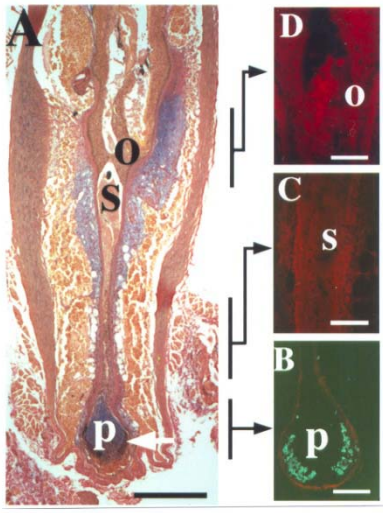
به طور کلی این مشاهدات نشان داد که متعاقب کنده شدن مو از فولیکول تقسیم سلول‌های به طور غالب در ناحیه ماتریکس بولب دیده می‌شود و این گروه از سلول‌ها به طور پیوسته تکثیر می‌شوند ولی با گذشت زمان تقسیم سلولی به نواحی بالاتر فولیکول نیز گسترش می‌یابد ولی در ساعت ۴۸ سلول‌های ناحیهٔ بالژ نیز نشان‌دار می‌گردند (شکل‌های ۶D و ۶E).

مورفولوژی فولیکول مو و توزیع BrdU متعاقب خارج کردن متوالی رشتهٔ مو

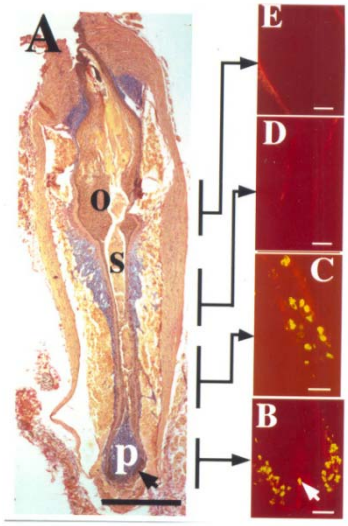
بافت شناسی و توزیع BrdU در زمان‌های مختلف بعد از کندن متوالی دقیقا مشابه فولیکول‌هایی بود که این کار فقط یک‌بار در مورد آن‌ها انجام شد (مشاهدات ارائه نشده)، بدین ترتیب که

www.SID.ir
Archive of SID

ماده نشان‌دار از همان ابتدا در سلول‌های برجای مانده ماتریکس دیده می‌شد ولی متعاقبا به نواحی بالایی فولیکول نیز گسترش پیدا می‌کرد (شکل ۷). موضوع جالب توجه اینکه BrdU هیچ گاه در سلول‌های پاپیلای درمی مشاهده نشد. گاهی ماده نشان‌دار به طور خیلی نادر (یک یا دو سلول) در داخل این ساختار مشاهده می‌شد ولی سلول‌های نشان‌دار شده سلول‌های پاپیلای درمی نبودند بلکه آن‌ها سلول‌های موجود در دیواره رگ‌های خونی تغذیه کننده پاپیلا بودند که ماده نشان‌دار را به خود گرفته بودند (شکل 4B). در این مطالعات هیچ گونه تفاوت مشهودی از نظر نتایج بدست آمده در دو جنس نر و ماده مشاهده نشد.



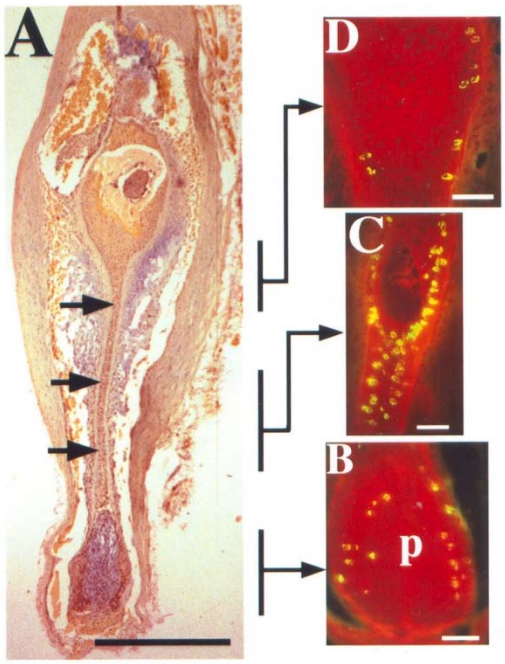
شکل ۳: بافت‌شناسی (A) و توزیع BrdU نشان‌دار (B-D) در فولیکول‌ها ۶ ساعت بعد از کندن رشته مو. A) سلول‌های زاینده اپیدرمی باقیمانده (فلش) در اطراف قاعده پاپیلای درمی (p) دیده می‌شوند. در طول بیشتر فولیکول، لوله توخالی (s) محل موی قبلی با خون و تفاله‌های سلولی پر شده است. سلول‌های ORS (o) در بخش بالایی فولیکول حفظ شده‌اند. رنگ آمیزی: آبی آلسین، هماتوکسیلین وایگرت، کورتیس پونسا S خط نشانه برابر با ۴۰۰ میکرومتر. B) سلول‌های زاینده در اطراف پاپیلا (p) به شدت با آنتی‌بادی anti-BrdU (فلش) نشان‌دار شده‌اند. در بالای این بخش و در بالای بولب عملا هیچ ماده نشان‌داری دیده نمی‌شود. همچنین در قسمت‌های میانی (C) و بالایی (D) فولیکول هیچ نشانه‌ای از تقسیم سلولی دیده نمی‌شود. خط نشانه B-D برابر با ۵۰ میکرومتر.



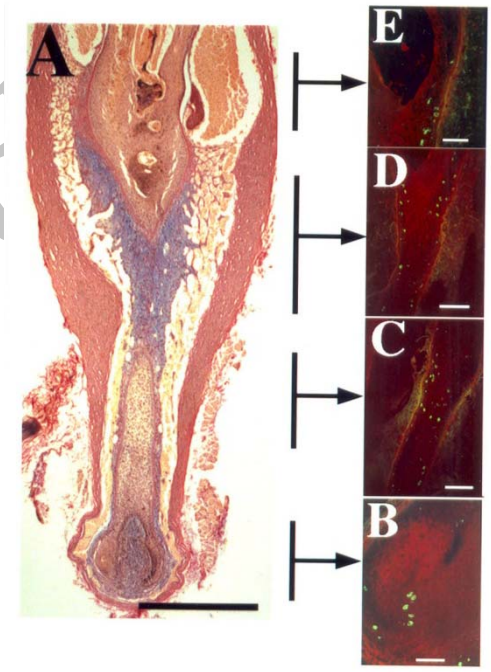
شکل ۴: بافت‌شناسی (A) و توزیع BrdU نشان‌دار (B-D) در فولیکول‌ها ۱۲ ساعت بعد از کندن رشته مو. A) در برش طولی، مورفولوژی فولیکول بسیار مشابه آن چیزی است که در ساعت ۶ (شکل ۳A) مشاهده می‌شد. رنگ آمیزی: آبی آلسین، هماتوکسیلین وایگرت، کورتیس پونسا S خط نشانه برابر با ۴۰۰ میکرومتر. B) سلول‌های GE در سرتاسر بولب اکنون با آنتی-BrdU نشان‌دار شده‌اند. نشان‌دار شدن یک سلول واحد در پاپیلای درمی در محل قرارگیری مویرگ‌های خونی (فلش) دیده می‌شود. C) سلول‌های در حال تقسیم در یک چهارم پایینی فولیکول دیده می‌شوند، هر چند که تعداد آن‌ها به طرف بالا کاهش پیدا می‌کند. (D و E) یک‌بار دیگر، تقسیم سلولی (یا تعداد بسیار محدودی) در بخش میانی و بخش بالایی فولیکول دیده نمی‌شود. خط نشانه B-E برابر با ۵۰ میکرومتر.

Archive of SID

www.SID.ir



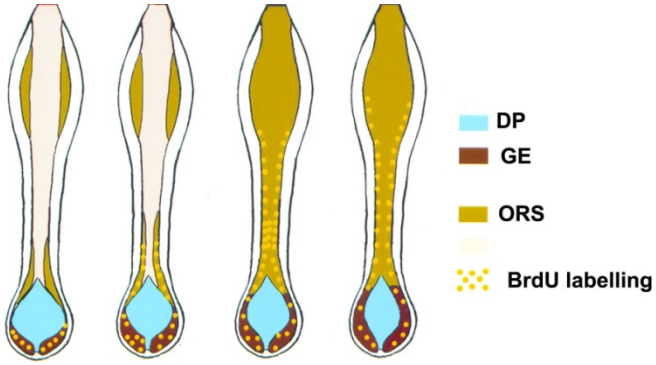
شکل ۵: بافت‌شناسی (A) و توزیع BrdU نشان‌دار (B-D) در فولیکول‌ها ۲۴ ساعت بعد از کندن رشته مو. A) علاوه بر ترمیم ماتریکس، در بالای بولب سلول‌های اپیدرمی اکنون حفره داخلی را پر کرده‌اند (فلش). رنگ آمیزی: آبی آلسین، هماتوکسیلین وایگرت، کورتیس پونسا S، خط نشانه برابر با ۴۰۰ میکرومتر. B) تقسیم سلولی به شدت در تمام سلول‌های اپیدرمی موجود در بولب دیده می‌شود. (p) پاپیلای درمی. C) ماده نشان‌دار BrdU اکنون در ناحیه پایینی و میانی فولیکول دیده می‌شود. D) برای اولین بار، ماده نشان‌دار BrdU در این بخش بالایی از فولیکول دیده می‌شود، هر چند که تراکم آن‌ها اندک بوده و توزیع آن‌ها به جوانب محدود می‌شود. خط نشانه B-D برابر ۵۰ میکرومتر.



شکل ۶: بافت‌شناسی (A) و توزیع BrdU نشان‌دار (B-D) در فولیکول‌ها ۴۸ ساعت بعد از کندن رشته مو. A) ماتریکس کاملا ترمیم یافته است. رنگ آمیزی: آبی آلسین، هماتوکسیلین وایگرت، کورتیس پونسا S، خط نشانه برابر با ۴۰۰ میکرومتر. B) مادهٔ آنتی-BrdU هنوز هم سلول‌های در حال تقسیم ناحیه پایینی بولب را رنگ کرده است. C) سلول‌های در حال تقسیمی که در این ناحیه از فولیکول دیده می‌شوند هنوز نیز ظاهرا به لایه قاعده‌ای ORS محدود می‌شوند. D) ماده نشان‌دار اکنون در بیشتر طول فولیکول مشاهده می‌شود، هر چند که در سطوح بالایی تراکم پایینی را نشان می‌دهد. خط نشانه B-D برابر با ۱۰۰ میکرومتر.

Archive of SID

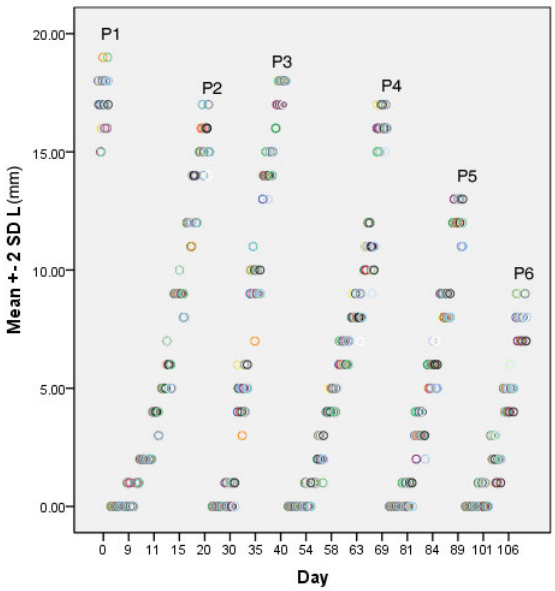
www.SID.ir



شکل ۷: دیاگرام شماتیکی که طرح کلی تقسیم سلولی مشاهده شده در فولیکول‌ها را متعاقب کنده شدن رشته مو خلاصه کرده است. در ابتدا، ماده نشان‌دار BrdU به سلول‌های زاینده اپیدرمی بر جای مانده در بولب محدود می‌شود و تقریبا هیچ نشانه‌ای از این ماده در سایر بخش‌های فولیکول دیده نمی‌شود. ماده نشان‌دار سپس به طرف بالا گسترش یافت و یک سوم پایینی فولیکول را در بر گرفت و تا ساعت ۲۴ تقسیم سلولی در سرتاسر نیمه پایینی فولیکول قابل تشخیص بود. در ساعت ۴۸، BrdU در سه چهارم طول فولیکول مشاهده می‌شد. در تمام طول مدت بعد از کنده شدن رشته مو، ماده نشان‌دار به طور پیوسته در بخش پایینی GE دیده می‌شد.

اندازه‌گیری رشد موهای ترمیم شده

موهای جدید در فاصله زمانی بین ۸ تا ۱۰ روز بعد از کندن در سطح پوست ظاهر شدند (نمودار ۱). این زمان برای بار اول یا دفعات دوم و سوم تغییر نمی‌کرد ولی در مورد فولیکول‌هایی که عمل کندن برای ۴ یا ۵ بار در آن‌ها تکرار شده بود زمان خروج موی جدید از سطح پوست قدری افزایش یافت و به ۹ تا ۱۱ روز تغییر کرد. با توجه به تعداد زیاد موارد اندازه‌گیری مشخص شد که موهای ترمیمی با نرخی حدود ۰/۹ تا ۱ میلی متر در روز رشد می‌کنند و این نرخ در دفعات بعدی نیز تغییر چندانی نشان نمی‌داد. در ۲ مورد فولیکول‌ها یک کاهش جزئی در نرخ رشد مو بعد از چهارمین و پنجمین بار کنده شدن نشان دادند، اما در هیچ‌کدام از فولیکول‌های مورد آزمایش رشد مو متوقف نشد. موهای جدید تا موقعی که به میانه مرحله رشد می‌رسیدند طول آن‌ها اندازه‌گیری می‌شد و در این زمان مجددا کنده می‌شدند. موقعی که طول موهای ترمیمی با یکدیگر جمع شد و به طول موی در حال رشد اولیه اضافه شد مشخص شد که در تمام فولیکول‌ها این طول بیشتر از طول موی کلاب آن‌ها است (۲۶۵-۳۲ درصد) و هر چه دفعات کنده شدن بیشتر می‌شد این افزایش بیشتر و مشخص‌تر بود (جدول ۱).

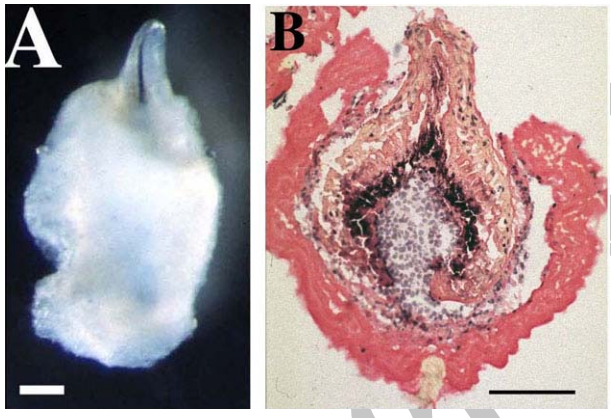


نمودار ۱: منحنی رشد مو (بر مبنای میلی‌متر متعاقب ۵ بار کنده شدن متوالی. موی اولیه و موهای ترمیم شده همیشه در مرحله میانی آناژن کنده می‌شدند و موهای جدید معمولا ۹ تا ۱۲ روز پس از کنده شدن از سطح پوست خارج می‌شدند. نرخ متوسط رشد موها به طور پیوسته حدود ۱ میلی‌متر در روز بود. حروف P1-P6 دفعات تکرار کندن مو(plucking) را نشان می‌دهد

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱: طول موهای تولید شده بعد از یک‌بار یا چندین بار متوالی کنده شدن. با توجه به اینکه فولیکول‌های با اندازهٔ مختلف در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند فاصله پایین‌ترین عدد با بزرگ‌ترین عدد بسیار زیاد است.

تعداد دفعات کندن مو	تعداد فولیکول‌های اندازه گیری شده	میانگین طول موی رشد کرده (میلی متر)	میانگین طول موی کلاب (میلی متر)	محدوده درصد افزایش نسبت به کلاب	میانگین درصد افزایش نسبت به کلاب
۱	۵	۵۸	۴۱	۳۰-۶۶	۴۴
۲	۶	۶۰/۳	۳۱/۵	۶۰-۱۲۰	۹۰/۸
۳	۴	۷۷/۵	۴۶/۷۵	۴۲-۱۴۸	۷۰
۴	۶	۸۱	۲۶/۵	۸۰-۲۶۵	۱۷۰/۸
۵	۸	۱۰۲	۳۸/۷	۹۵-۱۸۴	۱۴۱/۶



شکل ۸: میکروگراف قطعه‌ی پایینی فولیکول (بولب) که ۲۰ روز قبل عمل کنده شدن رشته‌ی مو و قطع از بخش بالایی در آن انجام شده بود. A) مشاهده می‌شود که یک موی پیگماندار از بالای فولیکول به بیرون رشد کرده است. B) برش طولی این قطعه که مشاهده می‌شود یک ماتریکس اپیدرمی جدید در اطراف پاپیلای درمی به وجود آمده است. رنگ آمیزی در B: آبی آلسین، هماتوکسیلین وایگرت، کورتیس پونسا S خط نشانه در A برابر با ۵۰۰ میکرومتر و در B برابر با ۶۰۰ میکرومتر.

ترمیم مو در قطعه‌های فولیکول در *in vivo*

از میان ۱۶ نیمه یا قطعه بولب فولیکول، مشاهده شد که در ۱۱ مورد (۶ مورد متعلق به جنس نر و ۵ مورد متعلق به جنس ماده) موی جدیدی در آن‌ها ایجاد شده و از بالای بولب خارج گشته است. طول این موها بین ۱ تا ۳ میلی‌متر در تغییر بود (شکل ۸A). این موها به شدت تاخورده و در هم تابیده بودند و به وسیله بافت همبند کاملا احاطه شده بودند. از نظر بافت شناسی این قطعه‌ها دارای یک ماتریکس اپیدرمی بودند که به طور واضح ترمیم شده بود و هنوز ویژگی‌های مرحله آناژن را نشان می‌داد. پاپیلای درمی موجود در این در این قطعه‌ها نیز مورفولوژی گلابی شکل خود را حفظ کرده بود (شکل ۸B).

بحث

فولیکول مو در بالغین به دلیل فرآیند ترمیم سلولی و فیزیولوژیکی چرخه‌ای خود یک جایگاه غیرمعمولی را در تکوین پستانداران اشغال می‌کند. احتمالا مهم‌ترین سوال در زیست شناسی فولیکول مو این است که چه عاملی زمان‌بندی این فعالیت چرخه‌ای را کنترل می‌کند (۳۷ و ۳۸). در پژوهش حاضر ما فعالیت سلولی را متعاقب کندن یک‌بار و چند بار متوالی مو از فولیکول دنبال کردیم و شاهدی قوی بر این موضوع یافتیم که سلول‌های زاینده اپیدرمی موجود در قاعده فولیکول قادرند که بیشتر از آن چیزی که برای معمولا در هر چرخه تقسیم می‌شوند تقسیم گردند. این یافته این عقیده را که فاز رشد چرخه مو به وسیله پتانسیل تکثیری محدود این سلول‌ها کنترل می‌شود به چالش می‌کشد (۳۱و ۳۹).

در گذشته از کندن مو برای مطالعه جنبه‌های مختلفی از رفتار فولیکول استفاده شده است (۳۴)، لیکن در این مطالعات به غیر از توصیف عواقب آنی متعاقب این عمل اطلاعات دیگری در رابطه با وقایع سلولی داخل فولیکول ارائه نشده است (۳۰). استاندارد کردن و یکنواخت کردن آزمایش در این پژوهش بسیار اهمیت داشت چرا که نشان داده شده که کندن ویبریسا در مراحل مختلف چرخه رشد می‌تواند روی زمان‌بندی فاز رشد بعدی تاثیر بگذارد (۴۰). در ابتدا ما نشان دادیم که سلول‌هایی که در طی کنده شدن از فولیکول خارج می‌شوند با تقسیم مداوم

www.SID.ir
Archive of SID

سلول‌های زاینده‌ی اپیدرمی باقیمانده در قاعده فولیکول جایگزین می‌شوند. این موضوع با توجه به نشان‌دار شدن پیوستهٔ این سلول‌ها با BrdU کاملا آشکار شد ضمن اینکه مطالعات بافت شناسی نیز رشد پیوستهٔ بخش اپیدرمی باقیمانده و ایجاد موی جدید در فولیکول را نشان داد. قبلا پیشنهاد شده که بعد از کنده شدن یک توقفی در فعالیت میتوزی سلول‌های زاینده‌ی اپیدرمی باقیمانده رخ می‌دهد (۴۰) ولی در اینجا ما چنین توقفی را مشاهده نکردیم. این فرضیه که ماتریکس اپیدرمی ترمیم شده‌ی جدید از سلول‌های غلاف ریشه بالای فولیکول (یا ناحیه بالژ) منشا می‌گیرند نمی‌تواند صحت داشته باشد زیرا مطالعات نشانه گذاری با BrdU نشان داد که متعاقب کندن مو، قبل از اینکه تقسیم سلولی در بخش بالایی فولیکول شروع شود فرآیند ترمیم در بخش پایینی پیشرفت زیادی پیدا کرده است. کندن رشته مو در فولیکول‌های انسان و همچنین ویبریسا یک لایه نازکی از سلول‌های غلاف خارجی ریشه را در طول دیواره فولیکول برجای می‌گذارد (۲۴ و ۴۱) و نشان داده شده که سلول‌های واقع در بین بولب و بالژ دارای توانایی تکثیری قابل ملاحظه‌ای هستند (۱۵ و ۱۷). اما در اینجا نشان داده شد که هنگامی که سلول‌های ORS بالای بولب شروع به تقسیم می‌کنند (با توجه به نشانه گذاری با BrdU) سلول‌های حاصل از تقسیم ابتدا فضای خالی برجای مانده از رشته مو را پر می‌کنند و به نظر می‌رسد که سهمی در تشکیل ماتریکس ندارند. علاوه بر شواهد ایمنوهیستوشیمی و بافت شناسی آزمایش کندن مو و سپس جدا کردن نیمه پایینی فولیکول از بخش بالایی در in vivo بدون هیچ گونه شبهه‌ای آشکار کرد که سلول‌های GE باقیمانده در قاعده فولیکول قادر به بازسازی ماتریکس و تولید یک موی جدید هستند. قابلیت ناحیه بولب فولیکول (بدون کندن مو) برای رشد در in vivo خیلی قبل به وسیله سایر محققین نشان داده شده است (۴۲) ولی ما در اینجا برای اولین بار نشان دادیم که بولب فولیکول بعد از کنده شد مو نیز می‌تواند در داخل بدن خود را ترمیم و یک موی جدید ایجاد نماید. این آزمایش نشان داد که هم ماتریکس و هم موی جدید از همان گروه از سلول‌ها منشا می‌گیرند که متعاقب کندن در انتهایی‌ترین نقطه فولیکول بافی می‌مانند و در این ساختارهای جدید سلول‌های بالایی فولیکول نقش ندارند.

در فولیکول‌هایی که عمل کنده شدن مو را چندین بار متوالی تجربه کرده بودند درست همان وقایع بافت شناسی و نشان دار شدن BrdU دیده شد که در همتایان یک بار کنده شده آن‌ها مشاهده گردید. در اینجا نیز سلول‌های GE باقیمانده سرچشمه ماتریکس و موی جدید بودند. بر طبق فرضیهٔ بالژ (۳۱)، سلول‌های GE به عنوان سلول‌های تقسیم شونده موقتی با پتانسیل تکثیری محدود طبقه بندی می‌شوند. از این‌رو بر طبق این نظریه مدت زمان آناژن و طول موی ایجاد شده به وسیله پتانسیل تکثیری این اجتماع سلولی تعیین می‌گردد. به این ترتیب که برای مثال، اگر موی یک فولیکول در زمانی کنده شود که آن دو سوم طول آناژن خود را سپری کرده در آن صورت انتظار می‌رود که سلول‌های GE باقیمانده فقط تا این حد ظرفیت داشته باشند که مویی تولید کنند که حداکثر یک سوم طول موی نهایی باشد. با بهره گرفتن از رشد چرخه‌ای دقیق و قابل پیش‌بینی فولیکول ویبریسا، ما در اینجا نشان دادیم که مجموع کلی طول موی تولید شده به وسیله این سلول‌ها بسیار بیشتر از آن چیزی است که آن‌ها معمولا در طی هر دوره تولید می‌کنند. ما برای آزمایشات خود چند سپر اطمینان قرار دادیم چرا که پیشنهاد شده که در فولیکول ویبریسا در مراحل انتهایی فاز رشد (آناژن) نسل جدید سلول‌های GE ممکن است از ناحیه بالژ به سمت پایین حرکت کنند و برای شروع چرخهٔ بعدی در بولب قرار گیرند (۲۳). برای حذف این احتمال در اینجا همیشه سعی شد که عمل کنده شدن مو در میانه فاز رشد انجام گیرد و اجازه داده نمی‌شد که فولیکول‌ها وارد فاز انتقالی (کاتاژن) گردند. به عبارت دیگر، این احتمال وجود نداشت که سلول‌های GE جدید قبل از عمل کندن به بولب وارد شده باشند. به علاوه، این موضوع نیز جالب بود که هنگامی که پس از آخرین بار کندن به فولیکول‌ها اجازه داده می‌شد که تا فاز رشد خود را تکمیل کنند، آن‌ها قادر بودند مویی تولید کنند که از نظر طول، شکل و پهنا با همتایان غیرآزمایشی خود تفاوتی را نشان نمی‌دادند. هر چند که در این پژوهش ما حداکثر برای ۶ بار عمل کندن را تکرار کردیم ولی هیچ دلیلی وجود ندارد که تصور کنیم این عمل بیش از این قابل انجام نیست و شاید اگر برای تمام طول حیوان این کار را انجام دهیم هم چنان این سلول‌ها قادرند که موی جدیدی تولید کنند. همچنین ممکن است این اشکال رفته شود که تکثیر سلول‌های GE بعد از کندن مو در حقیقت نوعی پاسخ به جراحت وارده است تا پتانسیل طبیعی آن‌ها. اما حتی اگر این هم درست باشد این ثابت می‌کند که این سلول‌ها توانایی و قابلیتی دارند که شبیه سلول‌های بنیادی است زیرا طبق تعریف یکی از ویژگی‌های سلول‌های بنیادی این است که آن‌ها قادرند به آسیب و جراحت وارده بر بافت پاسخ داده و از فاز استراحت

Archive of SID

www.SID.ir

وارد فاز تکثیر گردند (۴۳). در همین راستا اخیرا نشان داده شده که سلول‌های زاینده اپیدرمی بولب در صورت پیوند شدن به ناحیه پشت موش‌های بدون تیموس می‌توانند به تمام انواع سلول‌های پوستی و فولیکولی تمایز پیدا کنند (۱۲، ۴۴ و ۴۵).

به طور خلاصه، ما با اتکا به این نتایج قصد نداریم این احتمال را رد کنیم که سلول‌های GE در فولیکول ویبریسا در طول حیات خود و تحت شرایط طبیعی دچار نوعی تجدید و نوسازی نمی‌شوند، بلکه ما نشان دادیم که حداقل در فولیکول ویبریسا، سلول‌های GE مستقر در ناحیه‌ی بولب فولیکول دارای یک ظرفیت تکثیری زیادی هستند که بسیار بیشتر از آن چیزی است که معمولا در هر چرخه‌ی رشد از خود نشان می‌دهند و بنابراین با توجه به قابلیت تکثیر آن‌ها در in vitro که قبلا نشان داده شد (۴۶) و در in vivo که در این تحقیق آشکار شد و همچنین مطالعه‌ی اخیر که وجود جمعیتی از سلول‌های چند توانه را در ناحیه بولب گزارش کرده (۸) به نظر غیرمحتمل می‌آید که این سلول‌ها از نوع سلول‌های تقسیم شونده‌ی موقتی باشند بلکه سلول‌هایی هستند که ویژگی‌های سلول‌های بنیادی را بروز می‌دهند.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج نشان داده شده در این تحقیق و تحقیقات قبلی که توسط نویسندگان و دیگران صورت گرفته سلول‌های اپیدرمی واقع در انتهایی ترین ناحیه قاعده فولیکول ویبریسا در رت ویژگی‌هایی را به نمایش می‌گذارند که مشابه سلول‌های بنیادی بوده و با توجه به این ویژگی‌ها آن‌ها در گروه سلول‌های تقسیم شونده موقتی قرار نمی‌گیرند و از این‌رو طول فاز رشد فولیکول‌های مذکور توسط قابلیت تکثیری این سلول‌ها تعیین و محدود نمی‌گردد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات سرکار خانم معصومه نجیب زاده برای انجام آنالیزهای آماری صمیمانه قدردانی می‌گردد.

منابع

1. Noveen A, Jiang TX, Ting-Berreth SA, Chuong, CM. Homeobox genes Msx-2 are associated with induction of skin appendages, J. Invest. Dermatol. 1995; 104: 711-719.

2. Stenn KS, Combates NJ, Eilertson KJ, Gordon JS, et al. Hair follicle growth controls. Dermatologic Clinic. 1996; 14: 543-558.

3. Fuchs E. The Tortoise and the Hair: Slow-Cycling Cells in the Stem Cell Race. Cell. 2009; 137(5): 811-819.

4. Krause K, Foitzik K. Biology of hair follicle. Basics. Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery. 2006; 25(1): 2-10.

5. Messenger AG. The control of hair growth: an overview. J. Invest. Dermatol. (Suppl). 1993; 101(1): 4-9.

6. Blanpain C, Lowry WE, Geoghegan A, Polak L, et al. Self-Renewal, Multipotency, and the Existence of Two Cell Populations within an Epithelial Stem Cell Niche. Cell. 2004; 118: 635–648.

7. Hsu YC, Pasolli HA, Fuchs E. Dynamics between Stem Cells, Niche,and Progeny in the Hair Follicle. Cell. 2011; 144(1): 92-105.

8. Kopan R, Lee J, Lin MH, Syder AJ, et al. Genetic Mosaic Analysis Indicates That the Bulb Region of Coat Hair Follicles Contains a Resident Population of Several Active Multipotent Epithelial Lineage Progenitors. Developmental Biology. 2002; 242: 44–57.

9. Zhang YV, Cheong J, Ciapurin N, McDermitt DJ, et al. Distinct self-Renewal and differentiation phases in the niche of infrequently dividing hair follicle stem cells. Cell Stem Cell. 2009; 5(3): 267–278.

10. Cotsarelis G, Cheng SZ, Dong G, Sun TT, et al. Existence of slow-cycling limbal epithelial basal cells that can be preferentially stimulated to proliferate: Implications on epithelial stem cells. Cell. 1989; 57: 201-209.

11. Sun TT, Cotsarelis G, Lavker RM. Hair follicle stem cells: the bulge activation hypothesis. J. Invest. Dermatol. (suppl). 1991; 96: 77-78.

12. Taylor G, Lehrer MS, Jensen PJ, Sun TT, et al. Involvement of Follicular Stem Cells in Forming Not Only the Follicle but Also the Epidermis. Cell. 2000; 102: 451-461.

13. Christiano AM. Hair Follicle Epithelial Stem Cells Get Their Sox On. Cell stem cell. 2008; 3: 3-4.

14. Tiede S, Kloepper JE, Bodo E, Tiwari S, et al. Hair follicle stem cells: walking the maze. European Journal of Cell Biology. 2007; 86(7): 355-376.

15. Yang JS, Lavker RM, Sun TT. Upper human hair follicle contains a subpopulation of keratinocytes with superior in vitro proliferative potential. J. Invest. Dermatol. 1993; 101: 652-659.

Archive of SID

www.SID.ir

16. Morris RJ, Liu Y, Marles L, Yang Z, et al. Capturing and profiling adult hair follicle stem cells. Nat. Biotechnol. 2004; 22(4): 411-417.

17. Rochat A, Kobayashi K, Barrandon Y. Location of stem cells of human hair follicles by colonal analysis. Cell. 1994; 76: 1063-1073.

18. Jahoda CAB, Oliver RF. Changes in hair growth characteristics following the wounding of vibrissa follicles in the hooded rat. J. Embryol. Exp. Morph. 1984; 83: 81-93.

19. Matsuzaki T, Inamatsu M, Yoshizato K. The upper dermal sheath has a potential to regenerate the hair in the rat follicular epidermis. Differentiation.1996; 60: 287-297.

20. Zhang Y, Xiang M, Wang Y, Yan J, et al. Bulge cells of human hair follicles: segregation, cultivation and properties. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 2006; 47(1): 50-56.

21. Liu Y, Lyle S, Yang Z, Cotsarelis G. Keratin 15 promoter targets putative epithelial stem cells in the hair follicle bulge. J Invest Dermatol. 2003; 121(5): 963-968.

22. Ohyama M, Terunuma A, Tock CL, Radonovich MF, et al. Characterization and isolation of stem cellenriched human hair follicle bulge cells. J Clin Invest. 2006; 116(1): 249-260.

23. Kobayashi K, Rochat A, Barrandon Y. Segregation of keratinocyte colony-forming cells in the bulge of the rat vibrissa. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1993; 90: 7391-7395.

24. Moll I. Proliferate potential of different keratinocytes of plucked human hair follicles. J. Invest. Dermatol. 1995; 105(1): 14-21.

25. Dunnwald M, Tomanek-Chalkley A, Alexandrunas D, Fishbaugh J, et al. Isolating a pure population of epidermal stem cells for use in tissue engineering. Exp Dermatol. 2001; 10(1): 45-54.

26. Amici AW, Yamato M, Okano T, Kobayashi K. The multipotency of adult vibrissa follicle stem cells. Differentiation. 2009; 77(3): 317-323.

27. Kaur P, Li A. Adhesive properties of human basal epidermal cells: an analysis of keratinocyte stem cells, transit amplifying cells, and postmitotic differentiating cells. J Invest Dermatol. 2000; 114(3): 413-420.

28. Strachan LR, Scalapino KJ, Lawrence HJ, Ghadially R. Rapid adhesion to collagen isolates murine keratinocytes with limited long-term repopulating ability in vivo despite high clonogenicity in vitro. Stem Cells. 2008; 26(1): 235-243.

29. Roh C, Tao Q, Photopoulos C, Lyle S. In vitro differences between keratinocyte stem cells and transit-amplifying cells of the human hair follicle. J Invest Dermatol. 2005; 125(6): 1099-1105.

30. Bassukas ID, Hornstein OP. Effects of plucking on the anatomy of the anagen hair bulb: A light microscopic study. Arch. Dermatol. Res. 1989; 281: 188-192.

31. Cotsarelis G, Sun TT, Lavker RM. Label-retaining cells reside in the bulge of the pilosebaceous unit: Implications for follicular stem cells, Hair Cycle, and Skin Carcinogenesis. Cell. 1990; 61: 1329-1337.

32. Ebling FGJ. The hormonal control of hair growth. In Hair and Hair diseases (Orfanos, C. and Happle, R.). Berlin, Springer-Verlag. 1990.

33. Reichrath J, Schilli M, Kerber A, Bahmer FA, et al. Hair follicle expression of 1,25-Dihydroxyvitamin D-3 receptors during the murine hair cycle. Brit. J. Dermatol. 1994; 131: 477-482.

34. Ibrahim L, Wright EA. The growth of rats and mice vibrissa under normal and some abnormal conditions. J. Embryol. Exp. Morph. 1975; 33: 831-844.

35. Oliver RF. Whisker growth after removal of dermal papilla and lengths of follicle in the hooded rat. J. Embryol. Exp. Morphol. 1966; 15: 331-347.

36. Gharzi A, Abbasi M, Jahoda CAB. Study of expression of α-SMA in dermal cells of skin appendages by immunohistochemistry. Journal of Cell &Tissue. 2011; 1(2): 65-74 [in Persian].

37. Schneider, MR, Schmidt-Ullrich R, Paus R. The Hair Follicle as a Dynamic Miniorgan. Current Biology. 2009; 19(3): 132-142.

38. Paus R. Control of the hair cycle and hair diseases as cycling disorders. Current Opinion in Dermatology. 1996; 3: 248-258.

39. Ohyama M. Hair follicle bulge: A fascinating reservoir of epithelial stem cells Journal of Dermatological Science.2007; 46(2): 81-89.

40. Ibrahim L, Wright EA. The effect of single plucking at different times in the hair cycle on the growth of individual mouse vibrissa. Brit. J. Dermatol. 1978; 99: 365-370.

41. Reynolds AJ, Jahoda CAB. Hair follicle reconstruction in vitro. J. Dermatological Science. 1994; 7: 84-97.

42. Cohen J. The transplantation if individual rat and guinea-pig whisker papillae. J. Embryol. Exp. Morph. 1961; 9: 117-127.

Archive of SID

www.SID.ir

43. Jaks V, Kasper M, Toftgard R. The hair follicle—a stem cell zoo . Experimental Cell Research, 2010; 316(8): 1422-1428.

44. Claudinot S, Nicolas M, Oshima H, Rochat A, et al. Longterm renewal of hair follicles from clonogenic multipotent stem cells. Proc Natl Acad Sci USA. 2005; 102(41): 14677-14682.

45. Yu H, Fang D, Kumar SM, Li L, et al., Isolation of a Novel Population of Multipotent Adult stem cells from Human hair follicles. The American Journal of Pathology. 2006; 168(6): 1879-1888.

46. Gharzi A, Jahoda CAB. A survey of attachment and proliferative characteristics of different population of hair follicle epithelial cells in culture. Cell and Tissue. 2012; in press [in Persian].

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Cell & Tissue (JCT)
Summer 2012; 3(2): 127-140

Research Article

Revelation of Replicative Capability of Hair Follicle Germinative Epidermal Cells after Repeated Plucking: Implications for Stem Cells and Hair Growth Cycle Control

, Jahoda CAB, Ph.D. [2*] Ahmad Gharzi A, Ph.D. [1]

1. Department of Biology, Faculty of Science, Lorestan University, Khorramabad
2. Department of Biology, Faculty of Science, University of Durham, UK

* Email corresponding author: ahgharzi@yahoo.com

Received: 7 Mar. 2012 Accepted: 13 May. 2012

Abstract

Aim: The aim of this study was to evaluate the validity of bulge hypothesis on the limited proliferative potential of epidermal cells located at the basal end of hair follicle.

Material and methods: Fibers of rat vibrissa follicles were plucked once or repeatedly and then pattern of cell replication and sequence of regenerative events was examined by measuring length of growing fiber, histology of regenerating follicle and immunohistochemistry (BrdU uptake of epidermal cells).

Results: Data provided here demonstrated that after single or multiple depletions, a new epidermal matrix originated merely from the residual germinative epidermal cells of the follicle base and cells from the bulge region had no role in formation of this structure. The matrix is the source of a new fiber which grows at a equivalent rate to its native counterparts from unplucked follicles. The total length of hair produced from the plucked follicles was much longer when compared to the fiber produced in normal follicles.

Conclusion: Based on our results, replicative potential of epidermal cells located at the follicle base is not limited to a single cycle. We therefore consider it unlikely as cessation of growth phase of follicle is due to restricted proliferative potential of these cells.

Key words: Hair follicle, Stem cells, Immunohstochemistry, Histology, Cell division

Archive of SID

www.SID.ir