МЕХАНИЗМЫ РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ КОЖИ.

Гумовский Александр Николаевич .(группа Б7104, курс 4, направление: Биотехнические системы и технологии), Мамаев Павел Олегович, Шмелев Михаил Евгеньевич (группа С7207, направление: медицинская биофизика), Серебренников Дании Николаевич (группа С7206, направление: медицинская биохимия)

Дальневосточный Федеральный Университет, *Инженерная школа ДВФУ; Школа Биомедицины ДВФУ, Владивосток, Россия (690950, Владивосток, ул. Суханова, 8; RevaGal@yandex.ru)*

(Кафедра фундаментальной медицины, научный руководитель: Рева Г.В.

MECHANISMS REPARATIVE REGENERATION IN THE SKIN.

Gumovskiy A.N. (group B 7401), Mamaev P.O., Shemelev M.E. (group S7207), Serebrennikov D.N. (group S7206)

Far Eastern Federal University (FEFU, Vladivostok, Russia)*, Engineering School FEFU; Biomedicine School FEFU, Vladivostok, Russia (690950, Vladivostok, Suchanova street,8; e-mail: RevaGal@yandex.ru*

Работа выполнена при поддержке Научного Фонда ДВФУ и Международного гранта ДВФУ (соглашение № 13-09-0602-м_а от «6» ноября 2013 г.).

В структуре травматизма, по данным ВОЗ, ожоги, включая ожоги паром, занимают 3-4% у взрослых и являются наиболее распространенными травмами у детей. Согласно аналитическим данным ВОЗ, в мире ежегодно получают травмы около 50 млн человек; более 100 млн подвергаются хирургическим вмешательствам. Медицинские и социально-экономические аспекты определяют актуальность проблемы ожогового травматизма, обусловленную частотой ожогов и их последствиями: временной и стойкой утратой трудоспособности с переходом на инвалидность, а также высоким

уровнем смертности от тяжёлых ожоговых травм. Известно, что сильные ожоги оставляют рубцы, которые не только нарушающие внешний вид, но и функции. Между тем, до настоящего времени нет таких методов лечения, которые надежно остановили бы прогрессирование патологического рубца и его рецидив после хирургического лечения. Причиной этого является недостаточная изученность процесса репаративной регенерации кожи как после ожога, так и оперативных вмешательств на коже, что диктует более глубокое изучение механизмов заживления ран кожи. До сих пор неясна роль иммунокомпетентных клеток в процессах регенерации в ожоговой ране, что не позволяет разрабатывать патогенетически обоснованное иммуно моделирование репаративных процессов при ожогах.

Ключевые слова: ожоги, регенерация, кожа человека, комбустиология, механизмы репации.

In the structure of injuries, according to WHO, burns, including burns steam occupy 3-4% of adults and are the most common injuries in children. According to analytical data from WHO, the world each year are injured about 50 million people; more than 100 million are exposed to surgical procedures. Health and socio-economic aspects determine the urgency of the problem of burn injuries due to the frequency of burns and their consequences: temporary and permanent disability with the transition to disability, as well as high mortality of severe burn injuries. It is known that severe burns leave scars that are not only violating the appearance, but also the functions. Meanwhile, to date there are no treatments that reliably would have stopped the progression of pathological scar and its recurrence after surgical treatment. This is due to insufficient knowledge about the process of reparative regeneration of the skin after the burn, and surgery of the skin, which dictates a more profound study of the mechanisms of wound healing of the skin. Is still unclear role of immune cells in the processes of regeneration in the burn wound, which prevents development of pathogenetically justified immuno modeling reparative processes in burns.

Key words: burns, regeneration, human skin, combustiology, repair mechanisms

Актуальность. В структуре травматизма, по данным ВОЗ, ожоги, включая ожоги паром, занимают 3-4% у взрослых и являются наиболее распространенными травмами у детей [4]. Согласно аналитическим данным ВОЗ, в мире ежегодно получают травмы около 50 млн человек; более 100 млн подвергаются хирургическим вмешательствам [5]. Медицинские и социально-экономические аспекты определяют актуальность проблемы ожогового травматизма, обусловленную частотой ожогов и их последствиями: временной и стойкой утратой трудоспособности с переходом на инвалидность, а также высоким уровнем смертности от тяжёлых ожоговых травм [1]. Известно, что сильные ожоги оставляют рубцы, которые не только нарушающие внешний вид, но и функции [6].

О проблемах в изучении ожоговой болезни свидетельствует факт отсутствия на современном этапе единой международной классификации ожогов. Важнейшим прогностическим показателем ожогов служит глубина поражения тканей. Применяют различные классификации ожогов в зависимости от глубины повреждения: Буайе (1814 г.), разработавшего трехступенчатую классификацию; Крейбиха (1927 г.), предложившего выделять пять степеней ожогов. По данным T. Alster(2003), келоидные и гипертрофические рубцы наблюдаются у 1,5-4,5% общей популяции, а по результатам - W. Chernoff (2007) – у 10%. Более 4 миллионов человек страдают от рубцовых деформаций после глубоких и распространенных ожогов. Образование рубцов – нормальная функция поврежденных тканей, без которой не может существовать ни один живой организм. Рубцовая ткань не является идентичной той ткани, которую заменяет, и обладает более низкими функциональными свойствами. Необходимость предотвращения избыточного рубцеобразования после хирургических вмешательств, травм и т.д. является актуальной научно-практической задачей. Несмотря на постоянное совершенствование методов лечения термотравм и тактики

послеоперационного ведения больных, образование грубых деформирующих рубцов составляет одну из серьезных проблем современной медицины [3]. Рубцы сохраняются пожизненно, доставляя психологический дискомфорт пациенту, нарушая социальную адаптацию человека после травм и операций, и значительно влияют на качество жизни.

По мнению LucasT, WaismanA, RanjanR, etal., (2012), большинство описанных методов лечения и профилактики избыточного роста соединительной ткани у пациентов, у которых сформировались келоидные и гипертрофические рубцы, не основаны на глубоких представлениях о патогенетических аспектах репаративной регенерации кожи человека [2].

Между тем, до настоящего времени нет таких методов лечения, которые надежно остановили бы прогрессирование патологического рубца и его рецидив после хирургического лечения. Причиной этого является недостаточная изученность процесса репаративной регенерации кожи как после ожога, так и оперативных вмешательств на коже, что диктует более глубокое изучение механизмов заживления ран кожи. До сих пор неясна роль иммунокомпетентных клеток в процессах регенерации в ожоговой ране, что не позволяет разрабатывать патогенетически обоснованное иммуно моделирование репаративных процессов при ожогах [4].

Целью исследования является повышение эффективности лечения больных с тяжёлыми ожогами на основе данных имунологического мониторинга ожоговой раны в процессе заживления.

Соответственно цели была поставлена задача:

Установить роль иммуноцитов в репаративной регенерации кожи после термотравмы.

Материалы и методы: В работе проанализирован материал кожи 28 пациентов мужского пола, получивших глубокие термические ожоги, различных возрастных групп и без соматической патологии в возрасте от 12

до 67 лет в период с 2002 по 2013 год. Группу контроля составили 8 пациентов (включая детей) в возрасте от 7 до 57 лет. Биопсийный материал фиксировался по прописи для подготовки к иммуногистохимическим исследованиям сразу после забора. Группа физиологического контроля включала цельные биоптаты кожи, полученные путем иссечения кожи боковой части живота при операциях у лиц без видимого поражения кожного покрова. Репаративные процессы в зоне термотравмы изучены от момента поступления пациента в клинику и до завершения лечения. Мониторинг проводился в одно и то же время утром в 10.00, чтобы избежать влияния суточных циркадных ритмов и только у лиц мужского пола, чтобы исключить влияние эстрогенов на пролиферативные процессы в коже пациентов. Использованы классические гистологические методы исследования с окрашиванием г/э; Victoriablu, а также иммуногистохимические методы на выявление CD4, CD8, CD 68, CD163, TUNEL-метод на выявление апоптозирующих клеток, Ki67 для выявления пролиферативной активности. Анализ материала проведён с помощью микроскопа Olympus – Bx82 и цифровой камеры CDx82 с фирменным программным обеспечением.

Результаты собственных наблюдений и их обсуждение. Установлено, чтов процессе регенерации в ожоговой ране пролиферативная активность гена Ki67 в структурах эпидермиса и дермы нарастает до 7-10 дня после получения термотравмы, сохраняется на достигнутом уровне до 14 дня, а затем достоверно снижается до значений, соответствующих регенераторному потенциалу в первые часы при поступлении.

Нами отмечено, что в процессе заживления ожоговой раны на этапе гнойно-некротической фазы наблюдалась высокая степень бактериальной загрязнённости, отёчность тканей, гиперемия области раны. Иммунологический мониторинг показал, что преобладающей формой эффекторных иммуноцитов в ожоговой ране был нейтрофильный клеточный

пул, что обеспечивает активное противостояние бактериальной флоры и иммунной системы. Одновременно в соответствующей динамике идентифицируются лимфоциты с рецепторами CD4. Известно, что рецепторы CD4 экспрессируются преимущественно на Т-лимфоцитах и, будучи комплементарными HLA-антигенам II класса, обеспечивают контакт Т-клеток с макрофагально-гистиоцитарным микроокружением, на клетках которого экспрессируются HLA II класса. Взаимодействие CD4 с HLA II класса в ходе межклеточных контактов способствует ассоциации CD4 и Т-клеточного рецептора в единый комплекс и последующей активации пролиферативного и секреторного ответа Т-клеток .

В целом нами отмечено, что существует заметная активация и проникновение в зону раневой поверхности клеток памяти Т CD4 + в первый период воспаления после ожога. Также увеличивается количество антиген представляющих клеток (LCs Наблюдается дегрануляция тучных клеток. Регенераторный процесс в коже после ожога сопровождается её поражением и ремоделированием, вызванным хроническим воспалением. Эти изменения кожи связаны с утолщением и увеличением осаждения коллагена в дерме.

В фазу эпителизации происходит восстановление кожного покрова с формированием рубца, окончательное заживление раны. Поэтому в зоне ожоговой раны и подлежащей верхним слоям соединительной ткани появляются клетки, отвечающие за реструктуризацию кожного покрова. Мониторинг показал, что на этом этапе идентифицируются CD8 и CD163 макрофаги, фибробласты, тучные клетки. Поскольку в третьей фазе следует обеспечить максимальную защиту раны от внешних воздействий, чтобы способствовать полноценной регенерации, появляются CD8+-лимфоциты, которые продуцируют те же цитокины, что и CD4+-Тх1 (ФНО-альфа и бета, ИЛ-2,3, гамма-ИФ, ГМ-КСФ). Эти иммуноциты ограничивают иммунный

ответ, предотвращая реакции гиперчувствительности ИС и запуск аутоиммунных процессов.

Нами отмечено, что в стадию ожоговой токсемии в результате активации парасимпатической системы происходит расширение концевых артериол и начинается перфузия крови по капиллярному руслу и миграция эффекторных клеток иммунофагоцитарного звена в повреждённую ткань. Но одновременно с этим начинается массивный выход в кровеносное русло продуктов распада некротических тканей из зоны термического поражения. Это вызывает явления эндотоксикоза, что негативно влияет как на саму сосудистую стенку капилляров и артериол, так и на ее проницаемость. В результате этого количество функционирующих капилляров хоть и выше, чем в стадию ожогового шока, но, тем не менее, значительно ниже нормальных значений.

Также нами установлено, что наиболее высокая пролиферативная активность клеточных элементов наблюдается в области краевой эпителизации раны. Повышение АПК в ожоговой ране нарастает до 14 дней после термотравмы и снижается с 14 дня.3. В аутодермотрансплантатах, пересаженных в сроки до 7-х суток после термической травмы, можно прогнозировать превалирование регенераторных процессов над деструктивными.

В аутодермотрансплантатах, пересаженных в сроки после 7-х суток, можно прогнозировать превалирование деструктивных процессов. Высокая пролиферативная активность во всех структурах кожи в зоне термотравмы, в интактной коже и на границе повреждённой и интактной кожи отмечается в сроки до 7 дней после ожоговой травмы.

Литература

1. Delavary BM, van der Veer WM, van Egmond M, Niessen FB, Beelen RHJ. Macrophages in skin injury and repair. Immunobiology. 2011;216(7):753–762.
2. Farroha, Q. Frew, S. Jabir, P. Dziewulski. Staphylococcal scalded skin syndrome due to burn wound infection.//Ann Burns Fire Disasters. 2012 September 30; 25(3): 140–142.
3. Iwasaki A, Medzhitov R. Toll-like receptor control of the adaptive immune responses. Nature Immunology. 2004;5(10):987–995.
4. Garibyan L, Chiou AS, Elmariah SB. Advanced aging skin and itch: addressing an unmet need. //DermatolTher. 2013 Mar;26(2):92-103.
5. Gericke J, Ittensohn J, Mihály J, Alvarez S, Alvarez R, Töröcsik D, de Lera AR, Rühl R. Regulation of Retinoid-Mediated Signaling Involved in Skin Homeostasis by RAR and RXR Agonists/Antagonists in Mouse Skin.//PLoS One. 2013 Apr 24;8(4):e62643.
6. Gratieri T, Alberti I, Lapteva M, Kalia YN. Next generation intra- and transdermal therapeutic systems: Using non- and minimally-invasive technologies to increase drug delivery into and across the skin.//Eur J Pharm Sci. 2013 Apr 6. doi:pii: S0928-0987(13)00127-9.