

# ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ



В.В. ПАШУТИН

4 · 2008 ·

Москва • Медицина •

8. *Coles R. B.* // *Am. J. Med. Sci.* — 1925. — Vol. 3. — P. 335—352.
9. *Croissant O.* // *Bull. Soc. Med. Hôp.* — Paris, 1916. — Vol. 40 — P. 1926—1928.
10. *Baker J. S., Brown G. C., Brooks L.* // *Am. J. Ophthalmol.* — 1987. — Vol. 103. — P. 664—668.
11. *Darand D. V., Locantze C., Cathelbras P.* // *Medicine (Baltimore)*. — Vol. 76, N 3. — P. 170—184.
12. *Francis P. J., Stamford M. R., Graham E. M.* // *Acta Ophthalmol Scand.* — 2003. — Vol. 81. — P. 415—416.
13. *Graham G.* // *Proc. Roy. Soc. Med.* — 1919. — Vol. 13. — P. 23—42.
14. *Hoffman R., Benz E. J., Shattil S. J.* *Hematology: Basic Principles and Practice.* — 3<sup>rd</sup> Ed. — New York, 2000. — P. 135—138.
15. *Hopkins D. J., Horan E., Burton I. L.* // *Br. J. Ophthalmol.* — 1974. — Vol. 58. — P. 732—737.
16. *Korelitz B. L., Coles R. S.* // *Gastroenterology.* — 1976. — Vol. 52. — P. 78—82.
17. *Leibowitz H. M.* // *N. Engl. J. Med.* — 2000. — Vol. 343. — P. 345—351.
18. *Lewine J. B., Lukawski-Trubish D.* // *Gastroenterol. Clin. N. Am.* — 1995. — Vol. 24. — P. 633—646.
19. *Lichtenstein D. R., Park P. D., Lichtenstein G. R.* // *Probl. Gen. Surg.* — 1999. — Vol. 16. — P. 23—39.
20. *Lynn J. L., Rosenbaum J. T.* // *Arch. Ophthalmol.* — 1997. — Vol. 115. — P. 61—64.
21. *Martinez F., Berenguer M., Prieto M. et al.* // *Dig. Liver Dis.* — 2004. — Vol. 36. — P. 157—162.
22. *Maxwell E. M., Kiep W. H.* // *Br. J. Ophthalmol.* — 1918. — Vol. 2. — P. 71—79.
23. *Mintz R., Feller E. R., Bahr R. L.* // *Inflamm. Bowel Dis.* — 2004. — Vol. 10, N 2. — P. 135—139.
24. *Nakla M. L., Heffler K. F.* // *Gastroenterol. Clin. N. Am.* — 1998. — Vol. 27. — P. 697—711.
25. *Renfro L., Snow J. S.* // *Dermatol. Clin.* — 1992. — Vol. 10. — P. 505—512.
26. *Salmi M., Jalkanen S.* // *Inflamm. Bowel Dis.* — 1998. — Vol. 4. — P. 149—156.
27. *Schafer A. L.* // *Lancet.* — 1994. — Vol. 344. — P. 1739—1742.
28. *Schulman M. F., Sugar A.* // *Ann. Ophthalmol.* — 1981. — Vol. 13. — P. 109—113.
29. *Shoari M., Katz B. J.* // *J. Neuro-Ophthalmol.* — 2005. — Vol. 4. — P. 286—288.
30. *Tayanipour R., Pulido J. S., Postel E. A. et al.* // *Retina.* — 1998. — Vol. 18. — P. 376—377.
31. *Walker J. C., Selva D., Pietrus G.* // *Aust. N. Z. J. Ophthalmol.* — 1998. — Vol. 26. — P. 329—332.
32. *Wilhelmus K. R., Grierson J., Watson P. G.* // *Am. J. Ophthalmol.* — 1981. — N 6. — P. 697—705.

Поступила 28.02.08

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2008

УДК 616.5-003.92-07:616.151.53

Ю. А. Петрович, Н. В. Ярема, С. М. Киченко,  
А. Н. Гурин

## ЗНАЧЕНИЕ КЛЕТОК КРОВИ ФИБРОЦИТОВ ПРИ ТРАВМЕ, РАЗВИТИИ РУБЦА И КЕЛОИДА

Московский государственный медико-стоматологический университет; Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии, Москва

### Введение

Направленный на полное или частичное восстановление нарушенного метаболизма и морфологии тканей, процесс репарации тканей после ранений и других повреждений, вызванных ожогом, воспалением, инфекцией, комплексно регулируется иммунной, нервной, эндокринной, сосудистой системами, с участием многочисленных медиаторов, факторов роста, тромбоцитов, моноцитов/макрофагов, Т-лимфоцитов, эндотелиальных клеток, фибробластов, других клеток и химических веществ.

После травм кожи восстановление поврежденных тканей проходит через стадии воспаления, грануляций и рубца. Источником грануляционных узлов служит в основном соединительная ткань, окружающая поврежденную область. В этом процессе участвуют эндотелиоциты микрососудов, клетки воспаления, фибробласты, миофибробласты, и недавно идентифицирован-

ные и циркулирующие в крови клетки — фиброциты (ФЦ) [15, 21, 33].

При небольших травмах местные фибробласты продуцируют достаточное количество коллагена I и III типов, фибронектина, протеогликанов и других компонентов для образования нового межклеточного матрикса [25, 40, 41]. Есть указания на продукцию фибробластами коллагена XIV типа [8].

Часть фибробластов функционирует во время митоза, другие — в постмитотической фазе [17, 18]. При нормальном регенеративном процессе пролиферация и дифференцировка фибробластов совершаются скоординированно, при аномальном течении координация нарушается.

О. С. Роговая и соавт. (2004) использовали фибробласты человека, выращенные на микроносителях, для формирования эквивалента соединительной ткани [3]. Эти же авторы (Е. В. Швецова и соавт., 2008) [4] сопоставляли способность фибробластов разного происхождения сокращать гель при конструировании модели кожи. При одинаковом количестве клеток фетальные фибробласты кожи сокращали коллагеновый гель *in vitro* примерно в 6 раз сильнее, чем постнатальные дермальные фибробласты, костномозговые и мезенхимальные фибробласты. По мнению авторов, изучение свойств фибробластов разного происхождения может помочь разработать новые подходы к терапии и регуляции заживления тканей, в том числе при их фиброзном превращении.

Миофибробласты также участвуют в заживлении ран и в патогенезе микроконтрактивных заболеваний [26], способствуя экспрессии маркера цитоскелета  $\alpha$ -актина гладких мышц ( $\alpha$ -SMA), ускоряют дифференцировку ФЦ [33], что приводит к фиброзу тканей. Вместе с тем есть сведения о том, что ФЦ могут быть предшественниками миофибробластов [44]. Миофибробластами их назвали, так как в молодой грануляционной коже при травме появляются клетки, похожие на клетки гладких мышц. Сходство подтверждено электронно-микроскопически, иммуноморфологически, биохимически и фармакологически. Миофибробласты обнаружены во многих тканях.

Большой гликопротеин фибронектин с молекулярной массой 230 кД, состоящий из двух субъединиц, участвует в интеграции межклеточных веществ, адгезии, миграции, пролиферации, дифференцировке клеток [14, 35]. Фибронектин имеет 7 разных функциональных доменов, присоединяющих коллаген, ДНК, гепарин, фибрин, протеогликан, фермент трансглутаминазу либо поверхности клеток.

Полифункциональная специфичность фибронектина осуществляется в основном с помощью последовательности трипептида RGD (аргинин—глицин—аспарагиновая кислота), позволяющей присоединяться к 19 клеточным рецепторным белкам-интегринам, состоящим из индивидуальных комбинаций двух субъединиц  $\alpha$  и  $\beta$  [12, 13]. Всего имеется разных 14 $\alpha$  и 8 $\beta$  субъединиц. Лигандами интегринов, кроме фибронектина, являются коллаген, лейкоциты, фибриноген и многие другие соединения и клетки.

Исключительное значение последовательности RGD в физиологии и патологии подчеркивается тем, что при анализе пептидов, имеющихся среди 360 000 белков в банке данных, сочетание трех аминокислот аргинина—глицина—аспарагиновой кислоты встречается чаще, чем любые последовательности трех других аминокислот.

### Фиброциты

В зону травмы фибробласты, локализованные в других тканях, практически не транспортируются. При больших ранах и других травмах, особенно осложненных, участия фибробластов в заживлении поврежденной ткани недостаточно и для регенерации требуется значительное количество циркулирующих в крови мобильных клеток ФЦ [21], которые из крови направляются к ране или к другому травматическому повреждению, где продуцируется недостающий коллаген, фибронектин и иные компоненты, необходимые для регенерации [6, 23, 40, 54]. Антигены, Т-лимфоциты и хемоаттрактанты привлекают CD4<sup>+</sup>-клетки и Т-лимфоциты. Рецептор хемоаттрактанта CCR7 взаимодействует с лимфоидными цитокинами, вызывая миграцию ФЦ в рану [5]. ФЦ индуцируют ангиогенез *in vitro* и *in vivo* [27].

ФЦ при регенерации и лечении ран вызывают антигенспецифический ответ хозяина, пролиферацию и миграцию клеток, ангиогенез, продукцию и реорганизацию межклеточного матрикса, цитокинов, факторов роста [27, 33, 54].

Мнения о происхождении, структуре и метаболизме циркулирующих в крови ФЦ, а также их роли во взаимодействии разных клеток и регуляции каскада реакций при заживлении ожогов и других травм неодинаковы. Одни считают, что ФЦ — это субпопуляция лейкоцитов [21, 49], другие рассматривают их как мезенхимальные клетки, возникшие из костного мозга [19, 31],

третьи — как одноядерные адгезированные клетки периферической крови [53, 54], четвертые затрудняются назвать их происхождение [33]. Вместе с тем все подчеркивают их роль в регенерации тканей.

Как впервые выяснили R. Bucala и соавт. (1984), ведущая роль в активации и координации многофакторного механизма репараций ожогов, других травм кожи и разных тканей принадлежит циркулирующим в крови ФЦ, быстро направляющимся в зону травмы [20, 21, 33].

ФЦ чаще имеют веретенообразную форму. Они составляют от 0,1 до 0,5% клеток крови. Среди других клеток крови ФЦ идентифицируют с помощью иммунофлуоресцентной окраски анти-CD34-родамином и 1-флуоресцеин-5-(6)-изотиоцианатом (антиколлагеном I типа) после лизиса эритроцитов. Препарат ФЦ 70–89% чистоты можно получить из крови человека или крысы после 10–14 дней инкубации культуры клеток ФЦ в среде Dubessio Eag, содержащей сыворотку плодов телят без добавления других факторов. ФЦ выполняют функции, частично свойственные фибробластам. Однако в отличие от фибробластов, локализованных в определенных органах, циркулирующие в крови ФЦ быстро проникают в место повреждения, способствуя заживлению ран, в том числе после ожогов кожи. Локализованные в тканях вдали от места травмы фибробласты практически не выходят из места локализации и не участвуют в репарации поврежденного органа.

На схеме показаны превращение одноядерных клеток крови в созревающие ФЦ и дифференцировка последних в зрелые ФЦ.

Следует обратить внимание на то, что термин "фиброциты" давно применяли А. А. Заварзин и другие морфологи, описывая фибробласты, утратившие способность к дальнейшей дифференцировке, по аналогии с терминами "остеокласты — остеоциты" [1, 22, 34]. Однако на нашей схеме термин "фиброциты" применен в современной интерпретации R. Bucala и соавт. [20, 21]. В подобной трактовке его использовали в своих работах сотни исследователей.

Среди культуры адгезированных моноцитов у 18 пациентов с ожогами определили достоверно большее количество ФЦ, чем у 12 здоровых лиц [55]. При ожогах имеется положительная корреляция между увеличением сывороточного трансформирующего фактора роста  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) и числа адгезированных клеток в отличие от здоровых лиц. Также констатировали, что ФЦ происходят из CD14<sup>+</sup>-клеток, а не из CD14<sup>-</sup>-клеток. Добавление TGF- $\beta$  к культуре моноцитов увеличивает образование КОЛ<sup>+</sup>-клеток. Введение анти-TGF- $\beta$ -антител снижает дифференциацию ФЦ. Таким образом, ожог кожи влияет на образование ФЦ, а увеличение содержания TGF- $\beta$  в сыворотке стимулирует дифференциацию моноцитов крови в КОЛ<sup>+</sup>-клетки, необходимые для заживления ран и образования рубца.

Было установлено, что специфический белок лейкоцитов-1 (LSP-1) является маркером ФЦ [49]. LSP-1 — это белок, связанный с F-актином, и одновременно субстрат T-38 митоген-активированных протеинкиназ и протеинкиназы C. У мышей LSP-1 ускоряет лечение ожогов кожи, резпителизацию, синтез коллагена и ангиогенез. Применение LSP-1 в лечении ран повышает количество нейтрофилов, макрофагов и ФЦ. Увеличение инфильтрации лейкоцитами способствует заживлению ран кожи, ускоряя синтез и освобождение хемокинов и факторов роста. Дальнейшее изучение LSP-1 может наметить пути лечения фибротических изменений кожи и других тканей.

Выяснили, что ФЦ участвуют в синтезе внесклеточного матрикса [50]. С помощью масс-спектрометрии показано, что значительно меньшее количество гидроксипролина образуется при участии пролилгидроксилазы под влиянием нормальных ФЦ в проколлагене и коллагене, а также в ожоговых ранах кожи, чем в фибробластах кожи. Обработка средой из ФЦ, полученных по-

сле ожогов кожи, но не из нормальных ФЦ повышает пролиферацию и миграцию фибробластов кожи. С помощью конфокальной микроскопии, цитометрии и иммуноблоттинга показано большее повышение экспрессии  $\alpha$ -SMA под воздействием ФЦ, чем под влиянием фибробластов кожи. Подобное увеличение наблюдали и при определении способности образовать контакты в пространственной решетке коллагена. Чтобы установить, какое соединение способствует опосредованию этих эффектов, TGF- $\beta_1$  или фактор роста соединительной ткани (CTGF) измерили общий уровень TGF- $\beta$ , иммуносорбентным методом содержание мРНК, белка фибринобластов и ФЦ с помощью обратной транскриптазы в полимеразной цепной реакции и иммуноблоттинга. В результате обнаружили гораздо большее количество TGF- $\beta_1$  и CTGF, продуцируемых фагоцитами пациентов с ожогами кожи. Применение антител, нейтрализующих TGF- $\beta_1$ , существенно снизило активирующее влияние среды, полученной от пациентов с ожогами, на пролиферацию и миграцию кожных фибробластов, на уплотнение пространственной решетки коллагена. Следовательно, ФЦ принадлежат определенное место в регуляции заживления ожоговых ран.

### Гипертрофический рубец

Во многих случаях при репаративной регенерации после ожогов кожи II степени, особенно III и IV степени, образуется соединительнотканый гипертрофический рубец (ГТР). Появление ГТР может сопровождаться сильными болями [51], ограничить движение вплоть до контрактуры, вызвать косметический дефект [45]. Однако в тканях эмбриона и плода ГТР не образуется [32].

Вместе с тем при большой поверхности и глубине повреждения кожи объем локальной продукции фибробластов и других репаративных недостаточен для регенерации тканей, особенно при осложнениях.

При исследовании роли CD4<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов в процессе образования ГТР обнаружили повышение их количества в периферической крови и в ГТР при лечении ожогов кожи [48, 52]. Т-лимфоциты выполняют регуляторную роль в процессах формирования ГТР, влияя на функции фибробластов кожи. Показано повышение пролиферации клеток и синтеза коллагена фибробластами кожи, леченными экстрактом CD4<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов ожоговых пациентов, но не здоровых людей. Используя конфокальную микроскопию и иммуноблоттинг, авторы обнаружили повышение содержания  $\alpha$ -SMA и фибробластов после лечения.

ГТР и келоиды в виде узлов, грануляций частично или полностью покрыты эндотелиальными клетками [28, 30]. Их возникновение связано со значительными биохимическими изменениями. Особенно много они содержат коллагена III типа, фибриногена, иммуноглобулинов и других белков плазмы, а также гликозаминогликана, хондроитин-4-сульфата. Грануляционная ткань из ГТР содержит большое количество фибробластов, предрасполагающих к образованию узлов. Вероятно, полимер фибрин стимулирует избыточное накопление фибробластов, присутствуя в ранах с грануляциями.

В ГТР по сравнению с нормальным рубцом парциальное давление кислорода ( $pO_2$ ) ниже, а  $pCO_2$  выше. Предполагают, что активация синтезов способствует гипоксии. Дегградация коллагена возникает в результате активации или высвобождения коллагеназы и других лизосомальных гидролаз.

У пациентов не только в ГТР кожи после ожогов до 5 раз повышено содержание мРНК и белка фиброгенного цитокина TGF- $\beta$ , в ране и сыворотке крови, но и клетки фибробластов ГТР значительно больше продуцируют мРНК проколлагена I типа при сравнении со здоровыми людьми [46, 52].

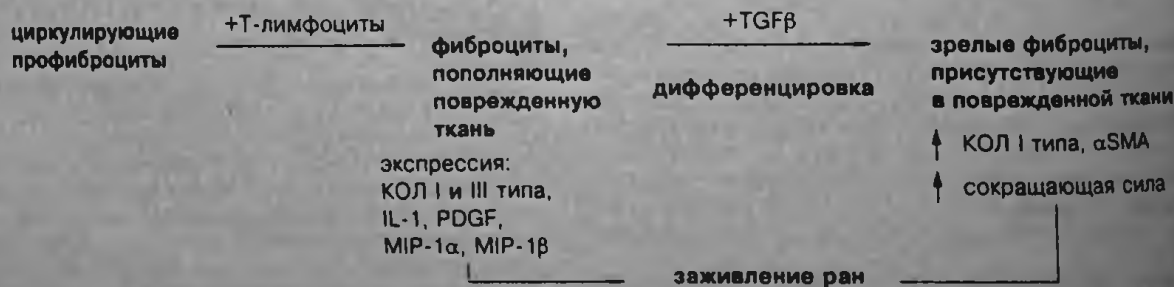


Схема дифференциации фиброцитов из циркулирующих предшественников в зрелую популяцию (С. N. Metz, 2003) [33].

Примечание. КОЛ I и III — коллагены I и III типов, PDGF — фактор роста тромбоцитов, MIP-1 $\alpha$  и MIP-1 $\beta$  — белки воспаления макрофагов 1 $\alpha$  и 1 $\beta$ .

Показатели	Гипертрофический рубец	Келоид
Экспрессия АТФ	Низкая	Высокая
Экспрессия $\alpha$ -SMA	В виде тонких, хорошо организованных волоконистых узлов, расположенных параллельно эпидермису	Вокруг кровеносных сосудов Большие, толстые Тесно и беспорядочно расположены
Локализация гиалуроновой кислоты	Большое количество в сосочковом слое дермы	—
Миофибробласты	Присутствуют	Отсутствуют
Отложение муцина	Отсутствует	Локально в коже
Уровень P <sub>11</sub>	Низкий	Высокий
Аморфное вещество	Отсутствует	Диффузный рисунок

Исследовали роль Т-клеток и их цитокинов в образовании ГТР после термического ожога кожи у людей, измеряя уровень внутриклеточных цитокинов в течение года после ожога. При этом выявлено снижение количества интерферона (IFN)- $\gamma$  и интерлейкина (IL)-12. У пациентов без ГТР содержание мРНК IL-4-активированных периферических моноцитов крови увеличилось, тогда как у больных с ГТР оно не изменялось. Результаты исследования позволяют полагать, что фиброз и образование ГТР связаны с повышением уровня Т-клеток и выбросом фибриногенетических цитокинов.

Иммуногистохимическими методами определяли локализацию малых протеогликанов декорина, бигликана и большого протеогликана версикана, а также TGF- $\beta$  в здоровой коже и после ожогов. Бигликан и версикан определяли в ГТР и практически не выявляли в здоровой коже. Окраска на декорин была хорошо выражена в здоровом эпидермисе, однако в глубоких слоях кожи была слабой [42]. Содержание TGF- $\beta_1$  увеличивалось в послеожоговом ГТР. Протеогликан декорин в послеожоговом ГТР ингибирует биологическую активность TGF- $\beta$  [54].

Считают, что качество ГТР улучшается за счет снижения числа ФЦ у пациентов, систематически получающих IFN- $\alpha_2b$ , который *in vivo* дозозависимо замедляет дифференциацию ФЦ из периферических одноклеточных клеток крови и ингибирует пролиферацию Т-лимфоцитов и ФЦ, снижает количество TGF- $\beta$ , посредничающего с  $\alpha$ -SMA при экспрессии ФЦ [49]. Снижение числа ФЦ показано по уменьшению количества таких маркеров ФЦ, как CD34 и CD45, с помощью конфокальной микроскопии, иммунофлюоресцентной окраски и проточной цитометрии.

#### Келоиды

У некоторых людей рубец, обычно образующийся на месте ожогового и другого повреждения кожи или на расстоянии от раны, вызвавшей его появление, превращается в келоид — временное или постоянное плотное разрастание соединительной ткани, постепенно возвышающееся до нескольких миллиметров над уровнем кожи.

Келоиды рассматривают как доброкачественные новообразования или псевдоопухоль кожи при аномальном заживлении ран и других повреждений кожи. Вместе с тем они нередко требуют хирургического лечения.

Келоиды, возникшие из ГТР, сначала красного или розово-синюшного цвета, затем белого или обычного цвета кожи. Белый цвет имеют келоиды, образовавшиеся на месте атрофических рубцов. Келоиды часто сопровождаются сильным зудом.

Развитию келоидов способствуют два фактора: травмирование кожи и генетическая предрасположенность.

При возникновении келоида без видимой причины нельзя исключить, что пациент не заметил незначительного повреждения кожи. У животных появления келоида не зафиксировано ни в условиях естественного существования, ни в качестве экспериментальной модели.

Происхождение келоида остается неясным. В качестве возможных гипотез рассматривают роль избыточного синтеза коллагена, фибриноектина, секреции гистамина, возникновение гипоксии, ингибирование апоптоза, неврогенного воспаления и др. [7, 9, 11, 36]. Недавно высказана инфекционная гипотеза о значении генома некоего вируса в патогенезе келоида, во-первых, при транспорте из лимфатической системы и костного мозга в рану с помощью ФЦ, а также лимфоцитов Т- и В-типа, привлекаемых хемотаксисом поврежденной кожи, и во-вторых, при переносе вируса с кожи рук, с пищей, с вещами домашнего обихода в ротовую полость и далее через слюну вирус проглатывается и всасывается в кишечнике [11]. Авторы, ссылаясь на латентный период при заражении вирусом простого герпеса и папилломавируса [1, 38], предполагают их роль, так как формирование келоида действительно напоминает латентную вирус-

ную инфекцию. Попадая в клетки, геном вируса до превращения в активно реплицирующуюся форму может долго находиться в латентном состоянии. Возможно инфицирование при татуировке кожи, пирсинге и при лечебном иглоукаливании.

Вероятно, потенцировать образование келоида может также ген меланина, так как формирование келоида описано у представителей всех рас, причем у афроамериканцев келоид встречается в 15 раз чаще, чем у лиц со светлой кожей [10, 37]. Не описаны случаи выявления келоида у людей-альбиносов [36].

При обследовании на острове Ямайка 137 женщин и 74 мужчин афрокарибского происхождения с одиночным и множественными келоидными рубцами нашли у них достоверно большую частоту появления келоидов в молодом возрасте, причем среди больных с келоидом женщин было больше, чем мужчин [16].

Обнаружена высокая активность метаболизма келоида челоука [48]. С помощью хроматографии установлено, что в красных рубцах содержание АТФ  $1,06 \pm 0,14$  ммоль на 1 г белка, в розовых  $0,12 \pm 0,02$  ммоль на 1 г белка, в белых атрофических  $0,19 \pm 0,06$  ммоль на 1 г белка и в келоидах  $1,06 \pm 0,19$  ммоль на 1 г белка. Спустя длительное время после травмы количество АТФ снижается в рубцах, однако в келоидах уровень АТФ стойко высокий даже через 10 лет после повреждения. В окрашенных гематоксилином и эозином гистологических препаратах количество фибробластов на площади  $56 \times 10^{-4}$  мм<sup>2</sup> (при увеличении 400) составляет в келоидах 4,8, в красных рубцах 5,1, в розовых 2,4 и в белых атрофических 1,3. Число ФЦ на этой же площади 0,4 в келоидах, 0,4 в красных рубцах, 2,3 в розовых и 1,3 в белых атрофических рубцах. Следовательно, келоиды и красные рубцы содержат больше АТФ и фибробластов, чем розовые и белые рубцы, а при превращении красных рубцов в белые число фибробластов снижается. В келоидах количество АТФ и фибробластов длительно остается высоким.

Исследовали при пересевах (со 2-го на 14-й день) кинетику роста культуры клеток фибробластов, выделенных из рубца келоида и нормальной кожи.

Скорость синтеза коллагена при пересчете на фибробласт была выше в келоидах, чем в двух других группах во все изученные сроки. Способность фибробластов келоидов значительно повышать синтез коллагена приводит к его накоплению в этих клетках.

Фибробласты келоидов больше, чем фибробласты нормальной кожи, ускоряют биосинтез фибронектина, коллагена, протеогликанов и других компонентов внеклеточного матрикса [15].

Недавно при сочетанном биохимическом и микроскопическом исследовании было показано значительное отличие ГТР от келоидов (см. таблицу) [29].

Представленный обзор, освещающий значение ФЦ при травме и их осложнениях в виде ГТР и келоидов, составлен на основании зарубежных публикаций. В отечественных изданиях такие сведения практически отсутствуют.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Заварзин А. А. Курс гистологии и микроскопической анатомии. — М., 1939.
2. Петрович Ю. А., Терехина Н. А. // Успехи соврем. биол. — 1990. — Т. 109, № 1. — С. 77—89.
3. Роговая О. С., Васильев А. В., Киселев И. В. и др. // Онтогенез — 2004. — Т. 35, № 2. — С. 105—109.
4. Швецова Е. В., Роговая О. С., Ткаченко С. Б. и др. // Изв. РАН. Сер. биол. — 2008. — № 2. — С. 169—173.
5. Abe R., Donnelly S. C., Peng T. et al. // J. Immunol. — 2001. — Vol. 166. — P. 7556—7562.
6. Abergel R. P., Pizzurro D., Meeker C. A. et al. // J. Invest. Dermatol. — 1985. — Vol. 84. — P. 384.
7. Akagi A., Tajima S., Ishibashi A. et al. // J. Invest. Dermatol. — 1999. — Vol. 113. — P. 246—250.

Показатель	Гипертрофический рубец	Келоид
Экспрессия АТФ	Низкая	Высокая
Экспрессия $\alpha$ -SMA	В виде тонких, хорошо организованных волоконистых узлов, расположенных параллельно эпидермису	Вокруг кровеносных сосудов Большие, толстые Тесно и беспорядочно расположены
Локализация гиалуроновой кислоты	Большое количество в сосочковом слое дермы	—
Многочисленность	Присутствуют	Отсутствуют
Отложение муцина	Отсутствует	Локально в коже
Уровень P <sub>55</sub>	Низкий	Высокий
Аморфное вещество	Отсутствует	Диффузный рисунок

Исследовали роль Т-клеток и их цитокинов в образовании ГТР после термического ожога кожи у людей, измеряя уровень внутриклеточных цитокинов в течение года после ожога. При этом выявлено снижение количества интерферона (IFN)- $\gamma$  и интерлейкина (IL)-12. У пациентов без ГТР содержание мРНК IL-4-активированных периферических моноцитов крови увеличилось, тогда как у больных с ГТР оно не изменялось. Результаты исследования позволяют полагать, что фиброз и образование ГТР связаны с повышением уровня Т-клеток и выбросом фибриногенетических цитокинов.

Иммуногистохимическими методами определяли локализацию малых протеогликанов декорина, бигликана и большого протеогликана версикана, а также TGF- $\beta$  в здоровой коже и после ожогов. Бигликан и версикан определяли в ГТР и практически не выявляли в здоровой коже. Окраска на декорин была хорошо выражена в здоровом эпидермисе, однако в глубоких слоях кожи была слабой [42]. Содержание TGF- $\beta$ , увеличивалось в послеожоговом ГТР. Протеогликан декорин в послеожоговом ГТР ингибирует биологическую активность TGF- $\beta$  [54].

Считают, что качество ГТР улучшается за счет снижения числа ФЦ у пациентов, систематически получающих IFN- $\alpha$ 2b, который *in vivo* дозозависимо замедляет дифференциацию ФЦ из периферических одноклеточных клеток крови и ингибирует пролиферацию Т-лимфоцитов и ФЦ, снижает количество TGF- $\beta$ , посредничающего с  $\alpha$ -SMA при экспрессии ФЦ [49]. Снижение числа ФЦ показано по уменьшению количества таких маркеров ФЦ, как CD34 и CD45, с помощью конфокальной микроскопии, иммунофлюоресцентной окраски и проточной цитометрии.

#### Келоиды

У некоторых людей рубец, обычно образующийся на месте ожогового и другого повреждения кожи или на расстоянии от раны, вызвавшей его появление, превращается в келоид — временное или постоянное плотное разрастание соединительной ткани, постепенно возвышающееся до нескольких миллиметров над уровнем кожи.

Келоиды рассматривают как доброкачественные новообразования или псевдоопухоль кожи при аномальном заживлении ран и других повреждений кожи. Вместе с тем они нередко требуют хирургического лечения.

Келоиды, возникшие из ГТР, сначала красного или розово-синюшного цвета, затем белого или обычного цвета кожи. Белый цвет имеют келоиды, образовавшиеся на месте атрофических рубцов. Келоиды часто сопровождаются сильным зудом.

Развитию келоидов способствуют два фактора: травмированная кожа и генетическая предрасположенность.

При возникновении келоида без видимой причины нельзя исключить, что пациент не заметил незначительного повреждения кожи. У животных появления келоида не зафиксировано ни в условиях естественного существования, ни в качестве экспериментальной модели.

Происхождение келоида остается неясным. В качестве возможных гипотез рассматривают роль избыточного синтеза коллагена, фибриноектина, секреции гистамина, возникновение гипоксии, ингибирование апоптоза, неврогенного воспаления и др. [7, 9, 11, 36]. Недавно высказана инфекционная гипотеза о значении генома некоего вируса в патогенезе келоида, во-первых, при транспорте из лимфатической системы и костного мозга в рану с помощью ФЦ, а также лимфоцитов Т- и В-типа, привлекаемых хемотаксисом поврежденной кожи, и во-вторых, при переносе вируса с кожи рук, с пищей, с вещами домашнего обихода в ротовую полость и далее через слюну вирус проглатывается и всасывается в кишечнике [11]. Авторы, ссылаясь на латентный период при заражении вирусом простого герпеса и папилломавируса [1, 38], предполагают их роль, так как формирование келоида действительно напоминает латентную вирус-

ную инфекцию. Попадая в клетки, геном вируса до превращения в активно реплицирующуюся форму может долго находиться в латентном состоянии. Возможно инфицирование при татуировке кожи, пирсинге и при лечебном иглоукальвании.

Вероятно, потенцировать образование келоида может также ген меланина, так как формирование келоида описано у представителей всех рас, причем у афроамериканцев келоид встречается в 15 раз чаще, чем у лиц со светлой кожей [10, 37]. Не описаны случаи выявления келоида у людей-альбиносов [36].

При обследовании на острове Ямайка 137 женщин и 74 мужчин афрокарибского происхождения с одиночным и множественными келоидными рубцами нашли у них достоверно большую частоту появления келоидов в молодом возрасте, причем среди больных с келоидом женщин было больше, чем мужчин [16].

Обнаружена высокая активность метаболизма келоида человека [48]. С помощью хроматографии установлено, что в красных рубцах содержание АТФ  $1,06 \pm 0,14$  ммоль на 1 г белка, в розовых  $0,12 \pm 0,02$  ммоль на 1 г белка, в белых атрофических  $0,19 \pm 0,06$  ммоль на 1 г белка и в келоидах  $1,06 \pm 0,19$  ммоль на 1 г белка. Спустя длительное время после травмы количество АТФ снижается в рубцах, однако в келоидах уровень АТФ стойко высокий даже через 10 лет после повреждения. В окрашенных гематоксилином и эозином гистологических препаратах количество фибробластов на площади  $56 \times 10^{-4}$  мм<sup>2</sup> (при увеличении 400) составляет в келоидах 4,8, в красных рубцах 5,1, в розовых 2,4 и в белых атрофических 1,3. Число ФЦ на этой же площади 0,4 в келоидах, 0,4 в красных рубцах, 2,3 в розовых и 1,3 в белых атрофических рубцах. Следовательно, келоиды и красные рубцы содержат больше АТФ и фибробластов, чем розовые и белые рубцы, а при превращении красных рубцов в белые число фибробластов снижается. В келоидах количество АТФ и фибробластов длительно остается высоким.

Исследовали при пересевах (со 2-го на 14-й день) кинетику роста культуры клеток фибробластов, выделенных из рубца келоида и нормальной кожи.

Скорость синтеза коллагена при пересчете на фибробласт была выше в келоидах, чем в двух других группах во все изученные сроки. Способность фибробластов келоидов значительно повышать синтез коллагена приводит к его накоплению в этих клетках.

Фибробласты келоидов больше, чем фибробласты нормальной кожи, ускоряют биосинтез фибронектина, коллагена, протеогликанов и других компонентов внеклеточного матрикса [15].

Недавно при сочетанном биохимическом и микроскопическом исследовании было показано значительное отличие ГТР от келоидов (см. таблицу) [29].

Представленный обзор, освещающий значение ФЦ при травме и их осложнениях в виде ГТР и келоидов, составлен на основании зарубежных публикаций. В отечественных изданиях такие сведения практически отсутствуют.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Заварзин А. А. Курс гистологии и микроскопической анатомии. — М., 1939.
2. Петрович Ю. А., Терехина Н. А. // Успехи соврем. биол. — 1990. — Т. 109, № 1. — С. 77–89.
3. Роговая О. С., Васильев А. В., Киселев И. В. и др. // Онтогенез. — 2004. — Т. 35, № 2. — С. 105–109.
4. Швецова Е. В., Роговая О. С., Ткаченко С. Б. и др. // Изв. РАН. Сер. биол. — 2008. — № 2. — С. 169–173.
5. Abe R., Donnelly S. C., Peng T. et al. // J. Immunol. — 2001. — Vol. 166. — P. 7556–7562.
6. Abergel R. P., Pizzurro D., Meeker C. A. et al. // J. Invest. Dermatol. — 1985. — Vol. 84. — P. 384.
7. Akagi A., Tajima S., Ishibashi A. et al. // J. Invest. Dermatol. — 1999. — Vol. 113. — P. 246–250.

8. Akaishi S., Ogawa R., Hyakusoku H. Keloid and hypertrophic scar: Neurogenic inflammation hypotheses // Medical Hypotheses. 2008. <http://intl.elsevierhealth.com>.
9. Al-Attar A., Mess S., Thomassen J. M. et al. // Plast. Reconstr. Surg. — 2006. — Vol. 117, N 1. — P. 286—300.
10. Alhady S. M., Sivanantharajah K. // Plast. Reconstr. Surg. — 1969. — Vol. 44. — P. 564—566.
11. Alonso P. E., Rioja L. F., Pera C. // Med. Hypothes. — 2008. — Vol. 70. — P. 156—166.
12. Arnaout M. A., Goodman S. L., Xiong J.-P. // Cur. Opin. Cell Biol. — 2007. — Vol. 19. — P. 495—507.
13. Aumailley M., Gurrath M., Muller G. et al. // FEBS Lett. — 1991. — Vol. 291. — P. 50—54.
14. Babu M., Diegelmann R., Oliver N. // Mol. Cell. Biol. — 1989. — Vol. 9, N 4. — P. 1642—1650.
15. Babu M., Diegelmann R., Oliver N. // J. Invest. Dermatol. — 1992. — Vol. 99. — P. 650—655.
16. Bayat A., Arscott G., Ollier W. E. et al. // Br. J. Plast. Surg. — 2005. — Vol. 58, N 1. — P. 28—37.
17. Bayreuther K., Rodemann H. P., Hommel R. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1988. — Vol. 85. — P. 5112—5116.
18. Bayreuther K., Franz P. I., Rodemann H. P. et al. // Ontogenez. — 1995. — Vol. 26, N 1. — P. 22—37.
19. Bellini A., Mattoli S. // Lab. Invest. — 2007. — Vol. 87, N 9. — P. 858—870.
20. Bucala R., Spiegel L. A., Chesney J. et al. // Mol. Med. — 1984. — Vol. 1, N 1. — P. 71—81.
21. Bucala R. // J. Am. Coll. Radiol. — 2008. — Vol. 5, N 1. — P. 36—39.
22. Bucher O., Gattiker R. // Anat. Anz. — 1955. — Bd 23, N 4. — S. 312—326.
23. Chesney J., Bacher M., Bender A. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1997. — Vol. 91. — P. 6307—6312.
24. Chovre M., Dresner-Pollak R., Eshel Y. et al. // Biopolymers. — 1995. — Vol. 37, N 6. — P. 367—375.
25. Diegelmann R. F., Cohen I. K., McCoy B. J. // J. Cell. Physiol. — 1979. — Vol. 98. — P. 341.
26. Gabbiani G. // J. Pathol. — 2003. — Vol. 200. — P. 500—503.
27. Hartlapp I., Abe R., Saeed R. W. et al. // FASEB J. 2001. — Vol. 12. — P. 2215—2224.
28. Hoopes J. E., Su C. T., Im M. J. // Plast. Reconstr. Surg. — 1971. — Vol. 47, N 2. — P. 132—137.
29. Kirscher C. W., Sheller M. R., Chvapi I. M. // Scan. Electron. Microsc. — 1982. — Pt 4. — P. 1699—1713.
30. Kose O., Waseem A. // J. Dermatol. Surg. — 2008. — Vol. 34. — P. 336—346.
31. Lama V. N., Phan S. H. // Proc. Am. Thorac. Soc. — 2006. — Vol. 3, N 4. — P. 373—376.
32. Metcalfe A. D., Ferguson M. W. J. // Biomaterials. — 2007. — Vol. 28. — P. 5100—5113.
33. Metz C. N. // Cell. Mol. Life Sci. — 2003. — Vol. 60. — P. 1342—1350.
34. Mühlethaler J. P. // Anat. Anz. — 1953. — Bd 98, N 21—24. — S. 394—409.
35. Murrey R. K., Granner D. K., Mayes P. A. et al. Harper's Biochemistry. — 25th Ed. — Stanford, 2000.
36. Niessen F. B., Spauwen P. H., Schalkwijk J. et al. // Plast. Reconstr. Surg. — 1999. — Vol. 104. — P. 1435—1458.
37. Olfa K. Z., Jose L., Salma D. et al. // Lab. Invest. — 2005. — Vol. 85, N 12. — P. 1507—1516.
38. Oluwasanmi J. O. // Clin. Plast. Surg. — 1974. — Vol. 1. — P. 179—195.
39. Petrovich Ya. A., Manuchin I. B., Nazarenko Z. N. // 3<sup>rd</sup> International Symposium on Molecular Diagnostics in Laboratory Medicine. — Graz, 2000. — P. 214.
40. Quan T. E., Cowper S., Wu S.-P. et al. // Int. J. Biochem. Cell Biol. — 2004. — Vol. 36. — P. 598—606.
41. Schmidt M., Sun G., Stacey M. A. et al. // J. Immunol. — 2003. — Vol. 171. — P. 380—389.
42. Scott P. G., Dodd C. M., Tredget E. E. et al. // Histopathology. — 1995. — Vol. 26, N 5. — P. 423—431.
43. Scott P. G., Dodd C. M., Ghahary A. et al. // Clin. Sci. (Lond.). — 1998. — Vol. 94, N 5. — P. 541—547.
44. Scott P. G., Ghahary A., Tredget E. E. // Hand. Clin. — 2000. — Vol. 16. — P. 271—287.
45. Tredget E. E., Nedelec B., Scott P. G. et al. // Surg. Clin. N. Am. — 1997. — Vol. 77. — P. 701—730.
46. Tredget E. E., Wang R., Shen Q. // J. Interferon Cytokine Res. — 2000. — Vol. 20, N 2. — P. 143—151.
47. Tredget E. E., Yang L., Delehanty M. et al. // J. Interferon Cytokine Res. — 2006. — Vol. 26, N 3. — P. 179—189.
48. Ueda K., Furuva E., Yasuda Y. et al. // Plast. Reconstr. Surg. — 1999. — Vol. 104, N 3. — P. 694—698.
49. Wang J. F., Jiao H., Stewart T. L. et al. // Wound Repair Regen. — 2007. — Vol. 15, N 1. — P. 113—121.
50. Wang J., Jiao H., Stewart T. L. et al. // J. Leukoc. Biol. — 2007. — Vol. 82, N 6. — P. 1554—1563.
51. Wang J., Jiao H., Stewart T. L. et al. // J. Interferon Cytokine Res. — 2007. — Vol. 27, N 11. — P. 921—930.
52. Wang J., Jiao H., Stewart T. L. et al. // Wound Repair Regen. — 2007. — Vol. 15, N 4. — P. 530—539.
53. Wang R., Chahary A., Shen Q. et al. // Wound Repair Regen. — 2000. — Vol. 8, N 2. — P. 128—137.
54. Yang L., Scott P. G., Giuffre J. et al. // Lab. Invest. — 2002. — Vol. 82, N 9. — P. 1183—1192.
55. Yang L., Scott P. G., Dodd C. et al. // Wound Repair Regen. — 2005. — Vol. 13. — P. 398—404.
56. Zang Z. // Burns. — 2007. — Vol. 33, N 5. — P. 634—641.

Поступила 15.07.08

## МЕТОДИКА

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2008

УДК 616.12-008.331.1-092.9

**Т. П. Новгородцева<sup>1</sup>, М. В. Антонюк<sup>1</sup>,  
Ю. К. Караман<sup>1</sup>, В. Н. Котельников<sup>2</sup>,  
Т. А. Гвозденко<sup>1</sup>, И. Б. Королев<sup>2</sup>, И. Г. Агафонова<sup>3</sup>**

### МОДЕЛИРОВАНИЕ КАРДИОВАЗОРЕНАЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ У КРЫС

<sup>1</sup>Владивостокский филиал ГУ ДНЦ ФПД СО РАМН — НИИ медицинской климатологии и восстановительного лечения, <sup>2</sup>ГО ВПО Владивостокский государственный медицинский университет Росздрава, <sup>3</sup>Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН

Экспериментальные модели артериальной гипертензии (АГ) широко используются для изучения механизмов развития заболевания, выяснения роли различных факторов внешней и внутренней среды в становлении патологического процесса, дают возможность подробно изучить патогенез и изыскать средства

для рационального терапевтического вмешательства и профилактики [1, 3]. Патогенетические и саногенетические аспекты АГ обычно изучают с использованием экспериментальных моделей, сопровождающихся стойким повышением артериального давления (АД). В каждой из известных моделей АГ за основу берется только один фактор инициации роста АД. Примером может служить модель ренальной гипертензии по Гольдблатту, активирующая изолированно рениновый механизм гипертензии путем наложения зажимов на одну почечную артерию [2]. Для изучения влияния генетической предрасположенности к эмоциональному стрессу на формирование устойчивой АГ селекционирована линия крыс НИСАГ с повышенной чувствительностью к стрессирующим факторам [4].

Недостатком известных вариантов моделирования АГ является формирование монофакторной, изолированной патологии развития АГ. Узкоспециализированное моделирование АГ затрудняет выполнение анализа изменений сердечно-сосудистой системы и ограничивает спектр мониторингирования эффективности гипотензивных средств применительно к разным клиническим формам АГ. Конкретные рекомендации по лечению и профилактике АГ требуют учета мультифакторных нарушений системы кровообращения, инициирующие развитие АГ, отсутствуют.

Цель работы — создание экспериментальной модели АГ, основанной на совокупности патогенетических механизмов