

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ИММУНОЦИТОВ КОЖИ В ПРОЦЕССЕ РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ В РАНЕ

Костоломова Е. Г.¹, Суховой Ю. Г.¹, Унгер И. Г.¹,
Акунеева Т. В.²

¹ООО «Тюменский филиал Института Клинической Иммунологии»; ²ФГБОУ ВО
"Тюменский государственный университет", Тюмень, Россия

Проведен эксперимент на 20 половозрелых кроликах с целью уточнения роли иммуноцитов в репаративной регенерации кожи в условиях гнойно-инфицированной раны. Понимание роли иммунокомпетентных клеток в процессах регенерации в ране и образовании рубцовой ткани возможно, может способствовать поиску новых подходов к терапии, связанной с воздействием на иммунные механизмы для профилактики образования рубцов.

Ключевые слова: регенерация в ране, механизмы репарации, иммуноциты кожи, иммуногистохимия

Введение. Известно, что заживление около 55 % послеоперационных и 25 % посттравматических повреждений кожи заканчивается грубым рубцеванием [1], а у 19-26 % пациентов формируется гипертрофический рубец [2]. Несмотря на широкое обсуждение на страницах отечественной и зарубежной печати вопросов патогенеза, диагностики и лечения патологического рубцевания мнения специалистов и ученых остаются крайне противоречивыми в определении единых подходов к профилактике и лечению рубцующейся ткани. Причиной этого является недостаточная изученность процесса репаративной регенерации кожи после, что диктует более глубокое изучение механизмов заживления ран кожи. До сих пор неясна роль иммунокомпетентных клеток в процессах регенерации в ране, что не позволяет разрабатывать патогенетически обоснованное иммуномоделирование репаративных процессов [3].

Цель работы. Установить роль иммуноцитов кожи в процессе репаративной регенерации в условиях гнойно-инфицированной раны.

Материалы и методы. Эксперимент выполнен на 20 половозрелых кроликах-самцах. Под общим обезболиванием на спине животного по паравертебральной линии формировали инфицированные раны мягких тканей по ранее описанной методике [4]. После формирования инфицированной раны через 3-5 суток начинали лечение. перевязки проводили 1 раз в день. Лечение проводили традиционным

методом: после обработки краев раны раствором Люголя, рану промывали 3 % раствором перекиси водорода, осушали. В фазу воспаления применяли повязки с водным раствором антисептика, мазями на водной основе, в фазу регенерации и эпителизации – мази на жировой основе. Закрытие раневого дефекта происходит к 20 суткам, с формированием грубого соединительнотканного рубца.

Группа физиологического контроля включала биоптаты кожи, полученные путем иссечения кожи без видимого поражения кожного покрова. Репаративные процессы происходящие в гнойной ране изучены с 1 по 20 сутки. Под местной анестезией выполняли биопсию раны через все слои на глубину до 1.8-2.2 см. Биопсийный материал фиксировался по прописи для подготовки к иммуногистохимическим исследованиям сразу после забора. Иммуногистохимические реакции проводили в парафиновых срезах с использованием соответствующих первичных антител CD4, CD8, CD14, CD68, CD204, CD163 (DAKO) и системы визуализации En vision. Ядра докрашивали гематоксилином. Анализ материала проведен с помощью микроскопа Olympus – CX41 и цифровой камеры CDx41 с фирменным программным обеспечением.

Результаты. Ранее нами было установлено, что процессы апоптоза и пролиферации играют важную роль как в патогенезе образования рубцовой ткани, так и в поддержании гомеостаза здоровой кожи [5]. В процессе заживле-

ния раны на этапе гнойно-некротической фазы преобладающей формой иммуноцитов был нейтрофильный клеточный пул, что обеспечивает активное противостояние бактериальной флоры и иммунной системы. Одновременно идентифицируются лимфоциты экспрессирующие на мембране рецептор CD4⁺. Общее количество клеток данной субпопуляции снижается по сравнению с клетками здоровой кожи ($9,33 \pm 0,26$ и $13,85 \pm 0,19$ соответственно). Известно, что рецепторы CD4 присутствуют преимущественно на Т-лимфоцитах и, будучи комплементарными HLA-антигенам II класса, обеспечивают контакт Т-клеток с макрофагально-гистиоцитарным микроокружением. В процессе заживления раны наблюдается периваскулярное разрежение Т-клеток по сравнению с нормальной здоровой кожей. Так же уменьшается количество антиген представляющих клеток Лангерганса CD68⁺ ($25,7 \pm 0,29$ и $34,0 \pm 0,32$ соответственно), а следовательно и их способность вступать в межклеточные взаимодействия при реализации адаптивного иммунного ответа. Снижается миграционная активность клеток CD68⁺, на их поверхности уменьшается число молекул адгезии, продуктов генов главного комплекса гистосовместимости II класса и костимулирующих молекул.

Нарушение хода физиологической регенерации и появление участков гипертрофии возможно связано с нарушением функции антигенпрезентации клеток Лангерганса, их расположением в подлежащей эпителию соединительной ткани на фоне снижения количества, что может свидетельствовать о нарушении антигенпредставления в структурах кожи человека и последующем снижении контроля за физиологической и репаративной регенерацией в целом, запуску процесса адаптивной гипертрофии в структурах кожи для сохранения барьерных свойств эпителия. Наблюдается снижение пула тучных клеток CD204⁺ ($2,17 \pm 0,2$ и $4,0 \pm 0,18$ соответственно), а так же их дегрануляция. Численность моноцитов кожи CD14⁺ достоверно увеличивается $11,5 \pm 1,4$ в ране и $4,34 \pm 0,49$ в контроле. В условиях повреждения кожи возникает повышенный запрос ткани на миграцию макрофагов для фагоцитоза некротизированных клеток, а также для защиты от контаминирующих микроорганизмов. Регенераторный процесс в коже сопровождается её поражением и remodelированием, 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 и окончательное заживление раны. В зоне раны и подлежащей верхним слоям соединительной ткани визуализируются активированные макрофаги, характеризующиеся экспрессией CD163⁺ и фибробласты, отвечающие за реструктуризацию кожного покрова. Для обеспечения максимальной защиты раны от внешних воздействий и полноценной регенерации, появляются CD8⁺-лимфоциты, продуцирующие те же цитокины, что и CD4⁺-Тх1 (ФНО α и ФНО β , ИЛ-2,3, ИФ γ , ГМ-КСФ).

Выводы. Установлена роль иммуноцитов кожи в процессе репаративной регенерации в условиях гнойно-инфицированной раны. В частности: выявлено угнетение Т-клеточного звена, снижение количества клеток Лангерганса и тучных клеток кожи в фазу воспаления, что приводит к извращению антигенпрезентации и нарушению в дальнейшем иммунных клеточных взаимодействий, а так же нормального хода регенерации эпидермальных пластов и дермы кожи.

Для понимания процессов образования рубцовой ткани необходимы дополнительные исследования, результаты которых, возможно, помогут разработать патогенетически обоснованное лечение и профилактики образования рубцов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sund B. New developments in wound care.– London: PJB Publications, 2000.– P. 1-255.
2. Флакс Г.А. Клинико-статистический мониторинг рубцовых гипертрофий кожи в условиях многопрофильных клиник и разработка оптимальной программы введения больных: автореф. дис. ...докт. наук.– Новосибирск, 2012.– С. 6-8. [Flaks G. A. Clinical-statistical monitoring of cicatricial hypertrophy of the skin in a multi-profile hospitals and development of an optimal program of introducing patients: Avto-ref. dis. ...doctor. Sciences.– Novosibirsk, 2012.– Pp. 6-8.]
3. Garibyan L, Chiou AS, Elmariam SB. Advanced aging skin and itch: addressing an unmet need. //DermatolTher. 2013 Mar;26(2):92-103.
4. Суховой Ю.Г., Костоломова Е. Г., Цирятыева С. Б., Аргунова Г.А., Унгер И. Г., Гольцов С.В. Регенераторно-репаративные и антибактериальные свойства препарата «Cellgel» в эксперименте// Российский Иммунологический Журнал, 2015, том 9 (18), № 2(1). с.44-46 [Regenerative and re-

- parative antibacterial characteristics of the drug «cellgel» in experiment Sukhovey J.G., Kostolomova E. G., Tsyryateva S. B., Argunova G. A., Unger I. G., Goltsov S. V.//Russian Journal of immunology, 2015, 9(18), № 2(1). с 44-46.]
5. Костоломова Е. Г., Суховой Ю. Г., Гольцов С. В., Унгер И. Г., Акунеева Т. В. Некоторые иммунофизиологические механизмы регенерации ран

в условиях применения ранозаживляющего средства «Cellgel» //Российский Иммунологический Журнал, 2016, том 10 (19), № 3. с2 89-291. [Certain immunophysiological mechanisms of wound repair in condition of wound healing medical means «Cellgel» application Kostolomova E. G., Sukhovey J. G., Goltsov S. V., Unger I. G., Akuneeva T. V.//Russian Journal of immunology, 2016, 10(19), № 3. с 289-291]

THE INTERACTION OF IMMUNE CELLS OF THE SKIN IN THE PROCESS OF REPARATIVE REGENERATION IN THE WOUND

Kostolomova E. G.¹, Sukhovey Y.G.¹, Unger I. G.¹, Akuneeva T.V.²

¹Tyumen filial of the Institute Clinical Immunology; ²FSBEEHE Tyumen State University, Tyumen, Russia

An experiment is conducted on 20 adult rabbits in order to clarify the role of immune cells in the reparative regeneration of skin in conditions of purulent-infected wounds. Understanding the role of immune cells in the regeneration processes in the wound and the formation of scar tissue may contribute to search for new approaches to therapy-related effects on the immune mechanisms for the prevention of scarring.

Key words: regeneration in the wound repair mechanisms, immune cells, skin, immunohistochemistry

ИЗМЕНЕНИЯ В СУБПОПУЛЯЦИОННОМ СОСТАВЕ В-ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ РАССЕЯННОМ СКЛЕРОЗЕ

Кудрявцев И. В.^{1,2}, Ильвес А. Г.³, Кробинец И. И.⁴, Минеев К. К.³,
Серебрякова М. К.¹, Петров А. М.³, Столяров И. Д.³

¹ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»; ²ФГБУ «НИИ онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России; ³ФГБУН Институт мозга человека им. Н. П. Бехтерева РАН; ⁴ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии ФМБА России», Санкт-Петербург, Россия

Механизмы демиелинизации нервных волокон при рассеянном склерозе (РС) могут быть связаны с продуцирующими аутореактивные антитела В-клетками, созревающими в специализированных лимфоидных фолликулах, локализованных в пределах центральной нервной системе. С применением многоцветной проточной цитометрии было показано, что относительное содержание В-клеток с фенотипом CD19⁺ в периферической крови больных РС (n=25) было достоверно выше (p=0,005) при сравнении с результатами, полученными для условно здоровых добровольцев (n=27, 17,88% (12,88; 25,15) и 11,77% (9,52; 15,26), соответственно). Для выявления отдельных субпопуляций В-лимфоцитов исследовали коэкспрессию IgD и CD38, IgD и CD27, а также CD5 и CD27. Показано, что при РС наблюдается достоверное снижение относительного содержания как «наивных» IgD^{dim}CD38^{low}, так и клеток памяти за счет увеличение доли активированных IgD^{dim}CD38^{dim} лимфоцитов. У больных РС достоверно (p<0,001) повышено относительное содержание В-клеток с фенотипом IgD^{dim}CD27^{low}, тогда как процент остальных субпопуляций более зрелых фенотипов значимо снижен. Детальное исследование роли как В-клеток, так и фолликулярных Т-хелперов, оказывающих непосредственное влияние на процессы созревания и дифференцировки В-лимфоцитов, может оказать существенное влияние на современное понимание причин возникновения и патогенез рассеянного склероза, а также разработать новые подходы к терапии данного заболевания.

Ключевые слова: рассеянный склероз, проточная цитометрия, В-лимфоциты, IgD и CD38