

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ РУБЦОВ ПРИ КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ ИНГИБИТОРОВ КАЛЬЦИНЕВРИНА

Проценко Т.В., Борзых Ю.А., Бондаренко Н.Н.

Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького

Резюме. *Целью нашего исследования явилось повышение эффективности лечения патологических рубцов. Под наблюдением находились 40 пациентов в возрасте от 21 лет до 35 лет, в том числе 17 (42,5 %) пациентов с келоидными рубцами, 23 (57,5 %) больных с гипертрофическими рубцами. Лечение проводилось сочетанным методом путем микродермабразии и нанесения топического ингибитора кальциневрина. Проведено морфологическое исследование до и после лечения патологических рубцов. Сочетанное применение метода микродермабразии и ТИК позволило улучшить терапевтический и эстетический результат при келоидных и гипертрофических рубцах.*

Ключевые слова: *патологические рубцы, лечение, морфологические изменения, ингибиторы кальциневрина.*

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время отмечается увеличение количества пациентов, страдающих от различных повреждений кожи, приводящих к развитию патологических рубцов [2]. Даже незначительные рубцы кожи у лиц с лабильной психикой могут приводить к патологическим изменениям в психоэмоциональной сфере, снижению качества их жизни вследствие эстетических и социальных проблем. До сих пор дискутируется тактика лечения рубцов. Предлагаемое консервативное лечение не во всех случаях позволяет добиться

эстетического эффекта, по-прежнему остаются актуальными малоинвазивные методы и оперативное лечение [2, 3]. Отсутствие общепринятого алгоритма лечения гипертрофических и келоидных рубцов, неудовлетворённость эстетическими результатами воздействий обосновывает поиск новых методов лечения, позволяющих достичь более полного регресса рубцовых деформаций.

Цель исследования - морфологическое обоснование сочетанного использования микродермабразии и топических ингибиторов кальциневрина (ТИК) в лечении патологических рубцов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Под наблюдением находились 40 пациентов в возрасте от 21 лет до 35 лет, из них 17 пациентов с келоидными рубцами, 23 – с гипертрофическими рубцами.

В зависимости от давности существования рубцов больные были распределены на четыре группы (до 6 мес; 6-12 мес; 1-3 года; свыше 3-х лет).

Протокол лечения пациентов с патологическими рубцами включало ежедневное топическое применение ингибиторов кальциневрина в сочетании с микродермабразией, количество которых зависело от давности существования рубцов: до 6 месяцев 0-4-6 процедур; от 6 месяцев до 1 года 6-10 процедур; 1-3 года и свыше 3 лет 10-14 процедур.

У всех больных производили биопсию зоны рубца до лечения и по окончании лечения. Биопсийный материал для гистологических исследований фиксировали в течение 48 часов в 10% нейтральном растворе формалина на фосфатном буфере (pH=7,4) и заливали в парафин по общепринятой методике. С парафиновых блоков готовили срезы толщиной 5 ± 1 мкм по 5-6 срезов на 2-3 предметных стеклах. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином (обзорная микроскопия с изучением общего плана строения ткани) и пикрофуксином по ван Гизону (выявление коллагеновых волокон). Оценка микроскопических данных с морфометрическим исследованием [1] и последующим микрофотографированием, проводилась в световом микроскопе Olympus BX-40. Подсчет тканевых элементов осуществляли в 5-ти стандартных полях зрения каждого препарата при увеличении микроскопа в 400 раз. Статистическую обработку полученных данных осуществляли на персональном компьютере Pentium-III в среде Windows-XP с использованием пакета статистической программы MedStat.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При микроскопическом исследовании келоидных рубцов, независимо от сроков давности, морфологическая картина была сходной и проявлялась истончением эпидермиса и сглаженностью сосочков дермы, слабо выраженной лимфо-гистиоцитарно-плазмоцитарной инфильтрацией, высокой плотностью функционально активных фибробластов (до 74 ± 11 в одном поле зрения), наличием гигантских форм фибробластов (ФБл) и рыхлых с мукоидным набуханием неориентированных пучков коллагеновых волокон, окружающих очаги роста, единичными спавшимися гемокapиллярами (табл. 1).

У пациентов с гипертрофическими рубцами структурные особенности дермы также не зависели от давности и проявлялись утолщением эпидермиса, очаговыми умеренно выраженными воспалительными изменениями в виде лимфо-гистио-плазмоцитарной инфильтрации между пучками волокон и вокруг гемокapилляров, разволокнением пучков коллагеновых волокон с их гомогенизацией и фибриноидным набуханием, преобладанием дефинитивных клеточных форм – фиброцитов (до 46 ± 9 в одном поле зрения) (табл. 2), гидropической трансформацией основного аморфного вещества, наличием немногочисленных узких с толстыми склерозированными стенками гемососудов в более глубоких отделах дермы.

Анализ структурной организации келоидов после лечения позволил установить нарастание репаративных процессов в эпидермисе в виде увеличения числа клеток базального слоя с фигурами митоза (увеличение количества клеток с мигурами митозов в 8,4 раза по сравнению с таким до лечения, $p<0,001$). Возможно, выравнивание рельефа кожи при микродермабразии за счет удаления эпидермиса и верхней части сосочкового слоя дермы, явилось одним из факторов пролиферативной реакции эпидермиса и усиления процесса дегradации избытка коллагеновых волокон путем повы-

шенной секреции коллагеназы базальными эпителиоцитами [5]. Увеличение удельного веса макрофагов (в 8,3 раза) в сосочковом слое дермы при этом является благоприятным признаком, поскольку данные клетки регулируют регенераторные процессы в эпителии путем секреции факторов индукции и ингибиции пролиферации [4, 5]. При этом в сосочковом слое дермы отмечались признаки воспалительной реакции с доминированием нейтрофильной инфильтрации, гидропической трансформации основного аморфного вещества (удельная площадь возросла в 4,3 раза, по сравнению с таковой до лечения), увеличение численности макрофагов. Использование ТИК сопро-

вождалось ингибированием миграции лимфоцитов в зону рубца, что привело к смещению соотношения численности лимфоциты/макрофаги вправо за счет последних. После повреждения тканей и начальной фазы воспалительной реакции, «покоящиеся» фибробласты трансформируются в секреторно активные клетки, продуцирующие вещества с анаболическими и катаболическими свойствами [5]. Выявленное уменьшение толщины пучков коллагеновых волокон зоны рубца и их удельной площади (на 24,96 %, по сравнению с таковой до лечения, $p < 0,05$), вероятно свидетельствует о смещении баланса фибриллогенез/коллагенолиз в сторону последнего.

Таблица 1

Количественная характеристика очага фибротического поражения кожи при комбинированном лечении пациентов с келоидными рубцами (n=17)

Показатели	До лечения (M±m)	После лечения (M±m)
Численность клеток с фигурами митоза в эпидермисе в 1 поле зрения	0,33 ± 0,07	2,77 ± 0,14**
Удельная площадь лейкоцитарных инфильтратов, %	0,13 ± 0,07	11,45 ± 2,61
Соотношение численности лимфоцитов/макрофагов	1/1	1/8,3**
Удельная площадь основного аморфного вещества, %	0,22 ± 0,05	0,95 ± 0,13**
Удельная площадь пучков коллагеновых волокон, %	84,73 ± 3,92	63,58 ± 2,15*
Количество гемососудов сосочкового слоя дермы (в 1 поле зрения)	2,55 ± 0,40	3,72 ± 0,46
Количество фибробластов в 1 поле зрения	74,0 ± 11,0	56,0 ± 9,0*
Количество фибробластов, контактирующих с коллагеновыми волокнами в 1 поле зрения	12,5 ± 2,5	1,33 ± 0,70**

Примечание: * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$ по сравнению с аналогичным показателем до лечения.

Наиболее вероятной причиной данного явления может быть доказанное иммуносупрессивное действие ТИК на лимфоциты и ингибирование ими продукции интерферона гамма, который тормозит секрецию фибронектина [4, 6]. В отсутствии блокирующего действия интерферона гамма секреция активированными фибробластами фибронектина, могла стать фактором, способствующим росту пучков коллагеновых волокон

в зоне рубца [3]. Одним из перспективных препаратов, используемых с этой целью могут быть ингибиторы кальциневрина, – в частности, такролимус. Известно, что ТИК специфически и конкурентно связывается с кальциневрином и ингибирует его, как следствие – блокируются Т-клеточные сигнальные пути трансдукции, транскрипция лимфокинных генов, что в итоге проявляется иммуносупрессивным эффектом в

виде угнетения формирования цитотоксических лимфоцитов, снижения активации Т-клеток, зависимой от Т-хелперов пролиферации В-клеток, секреции лимфокинов (ИЛ-2, ИЛ-3 и γ -интерферон), экспрессии рецептора ИЛ-2 [3]. Тем не менее, отсутствие стимулирующего влияния лимфоцитов на дифференцировку миофибробластов позволило снизить их численность в рубцовой ткани. В подтверждение данного феномена нами выявлено уменьшение в 9,4 раза популяции фибробластов, контактирующих с коллагеновыми волокнами – это, как правило, миофибробласты связанные с волокнами матрикса с помощью фибронектина. В целом, после лечения в очаге рубцов численность фибробластов снизилась на 24,3%, по сравнению с таковой до лечения ($p < 0,05$), что также является отражением иммуносупрессивного действия ТИК на лимфоциты, которые в норме продуцируют фибробластактивирующий фактор (FAF).

После лечения у пациентов с гипертрофическими рубцами отмечены сходные в качественном плане морфологические изменения (табл. 2). Менее выраженными, по сравнению с келоидами, отмечали усиление пролиферативной активности эпителиоцитов базального слоя эпидермиса (в 6,2 раза, по сравнению с таковой до лечения). Обращал на себя внимание меньший прирост удельной площади лейкоцитарной инфильтрации сосочкового слоя дермы, чем у келоидов, хотя исходные значения показателя до лечения в 26,46 раз превышали таковой при келоидах. Также после лечения менее выраженными, чем при келоидах, было снижение численности фибробластов, контактирующих с волокнами матрикса (в 6,61 раза, по сравнению с таким до лечения), хотя исходная популяция таких клеток в гипертрофических рубцах в 2 раза превосходила таковую у пациентов с келоидами.

Таблица 2

Количественная характеристика очага фибротического поражения кожи при комбинированном лечении пациентов с гипертрофическими рубцами (n=23)

Показатели	До лечения, $M \pm m$	После лечения, $M \pm m$
Численность клеток с фигурами митоза в эпидермисе в 1 поле зрения	$0,24 \pm 0,03$	$1,49 \pm 0,05^{**}$
Удельная площадь лейкоцитарных инфильтратов	$3,44 \pm 0,72$	$8,79 \pm 3,12^*$
Соотношение численности лимфоцитов/макрофагов	1/1	1/5,5*
Удельная площадь основного аморфного вещества, %	$0,57 \pm 0,04$	$3,83 \pm 0,61^{**}$
Удельная площадь пучков коллагеновых волокон, %	$71,66 \pm 2,82$	$59,24 \pm 2,07^*$
Количество гемососудов сосочкового слоя дермы (в 1 поле зрения)	$2,0 \pm 0,50$	$4,03 \pm 0,27^*$
Количество фиброцитов в 1 поле зрения	$46,0 \pm 9,0$	$33,0 \pm 7,0$
Количество фибробластов, контактирующих с коллагеновыми волокнами в 1 поле зрения	$25,14 \pm 1,66$	$3,80 \pm 0,25^{**}$

Примечание: * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$ по сравнению с аналогичным показателем до лечения

Изучение механизмов взаимодействия, вовлеченных в реализацию лечебного эффекта микродермабразии и ТИК, важно для разработки эффективной терапии руб-

цов. Судя по результатам наших исследований, основной клинический эффект микродермабразии обусловлен индукцией репаративных процессов в эпидермисе,

которые сопровождаются параллельным увеличением секреции гидролитических ферментов (коллагеназы) эпителиоцитами для разрушения избытка коллагеновых волокон рубца. Данный эффект, вероятно, усиливается коллагенолитическим действием макрофагов, вовлеченных в воспалительно-репаративный процесс при повреждении эпидермиса и дермы путем микродермabrasии. Однако, достигнутый при этом эффект нельзя было бы сохранить при обычном течении воспаления в коже, поскольку кроме макрофагов в зону альтерации путем хоминга мигрируют лимфоциты для переключения макрофагальной стадии в фибробластическую (собственно репарацию). При этом однозначно прогнозировать модулирующий эффект лимфоцитов не представляется возможным, поскольку они продуцируют регуляторные молекулы, обладающие разнонаправленным эффектом: Т-клеточный фактор роста фибробластов (TCGP) и ингибиторный фактор роста фибробластов (ICF) и фибробластактивирующий фактор (FAF), коллагенпродуцирующий фактор (CPF) и В-клеточный ингибитор продукции коллагена (FIF), а также интерферон γ , тормозящий хемотаксис, пролиферацию ФБл и синтез коллагена [5,6]. ТИК блокирует продукцию интерферона, и, следовательно снимает цитотоксическое и ингибирующее на продукцию коллагена и фибронектина действие данного цитокина [4]. Однако, в условиях повышенной продукции коллагенолитических ферментов эпителием и макрофагами, очевидно, повышенной оказывается лишь продукция фибронектина. При наличии фибронектина, возможными становится формирование лимфоцит-фибробластических контактов, которые являются одним из механизмов регуляции митотической активности фибробластов [3]. При использовании предложенного нами протокола лечения, даже в условиях избытка фибронектина, такие контакты маловероятны в силу низкой удельной численности лимфоцитов в тканях, что подтверждает отсут-

ствие фибробластов с фигурами митозов в области «зон роста» келоидных рубцов. Последний факт является особенно значимым в плане предупреждения рецидивов келоидных рубцов. Тем не менее, наиболее важным с патогенетической точки зрения эффектом комбинации микродермabrasии и ТИК, можно считать ингибирующий эффект последнего на дифференцировку миофибробластов, что, несмотря на присутствие фибронектина, ограничивает рост рубцов. Считают, что благодаря микрофиламентам, миофибробласты обладают большой сократительной способностью, что приводит к сокращению рубца, а связь микрофиламентов с внеклеточным фибронектином, располагающимся на коллагеновых волокнах, способствуют избыточному отложению коллагеновых волокон в зоне рубцовых изменений. Для подтверждения данной гипотезы необходимо исследование экспрессии α -SMA – маркера миофибробластов [3,5].

Таким образом, использование ТИК позволяет изолированно нивелировать морфогенетические эффекты лимфоцитов, участвующих в воспалительно-репаративном процессе при микродермabrasии.

ВЫВОДЫ

1. Комбинированное использование микродермabrasии и ТИК у пациентов с гипертрофическими рубцами сопровождается репаративной регенерацией кожи рубцовой зоны, коллагенолитическим эффектом в виде уменьшения удельной площади пучков коллагеновых волокон, а также предупреждает дифференцировку миофибробластов в зоне рубца.

2. Морфологические исследования биоптатов рубцовых изменений кожи у пациентов с келоидными рубцами позволили выявить сходные структурные изменения в дерме рубцов, при этом положительный эффект комбинированного лечения заключается в ингибировании морфогенетических процессов в «зонах роста» путем нивелирования эффектов лимфоцитов.

REFERENCES

1. 1. Avtandilov G. G. Medicinska morfometrija. – M: Medicina, 1990. – 381 s.
2. 2. Belousov A.E. Rubec kak argument pri vibore sodержania estetičeskoj operacii // Plastich hirurģiya i kosmetologija. – 2011. – № 1. – С. 72 - 83.
3. 3. Berman B.? Valins W. Keloid and hypertrophic scar [Electronic resource]. – Electronic data. – Access mode: <http://misc.medscape.com/pi/android/medscapeapp/html/A1057599-business.html>.
4. 4. Gallant-Behm C. L., Olson ME, Hart DA. Cytokine and growth factor mRNA expression patterns associated with the hypercontracted, hyperpigmented healing phenotype of red duroc pigs: a model of abnormal human scar development? // J. Cutan. Med. Surg. – 2005. – Vol. 9, № 4. – P. 165 - 177.
5. 5. Harunari N., Zhu K. Q., Armendariz R. T. [et al.] Histology of the thick scar on the female, red Duroc pig: final similarities to human hypertrophic scar // Burns. – 2006. – Vol. 32, № 6. – P. 669 - 677.
6. 6. Lee J. Y., Yang C. C., Chao S. C. [et al.] Histopathological differential diagnosis of keloid and hypertrophic scar // Am. J. Dermatopathol. – 2004. – Vol. 26, № 5. – P. 379 - 384.

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия / Г. Г. Автандилов. – Москва: Медицина, 1990. – 381 с.
2. Белоусов А. Е. Рубец как аргумент при выборе содержания эстетической операции / А. Е. Белоусов // Пластич. хирургия и косметология. – 2011. – № 1. – С. 72 - 83.
3. Berman B. Keloid and hypertrophic scar [Electronic resource] / B. Berman, W. Valins. – Electronic data. – Access mode: <http://misc.medscape.com/pi/android/medscapeapp/html/A1057599-business.html>.
4. Gallant-Behm C. L. Cytokine and growth factor mRNA expression patterns associated with the hypercontracted, hyperpigmented healing phenotype of red duroc pigs: a model of abnormal human scar development? / C. L. Gallant-Behm, M. E. Olson, D. A. Hart // J. Cutan. Med. Surg. – 2005. – Vol. 9, № 4. – P. 165-177.
5. Histology of the thick scar on the female, red Duroc pig: final similarities to human hypertrophic scar / N. Harunari, K. Q. Zhu, R. T. Armendariz [et al.] // Burns. – 2006. – Vol. 32, № 6. – P. 669 - 677.
6. Histopathological differential diagnosis of keloid and hypertrophic scar / J. Y. Lee, C. C. Yang, S. C. Chao [et al.] // Am. J. Dermatopathol. – 2004. – Vol. 26, № 5. – P. 379 - 384.

**МОРФОЛОГІЧНІ
ОСОБЛИВОСТІ
РЕМОДЕЛЮВАННЯ
ПАТОЛОГІЧНИХ РУБЦІВ
ПРИ КОМПЛЕКСНОМУ
ЛІКУВАННІ ІЗ
ЗАСТОСУВАННЯМ
ІНГІБІТОРІВ
КАЛЬЦІНЕВРІНА**

**Проценко Т.В.,
Борзих Ю.О.,
Бондаренко Н.М.**

*Донецький національний медичний
університет ім. М. Горького*

Резюме. Метою нашого дослідження було підвищення ефективності лікування патологічних рубців. Під спостереженням знаходилися 40 пацієнтів у віці від 21 року до 35 років, у тому числі 17 (42,5 %) пацієнтів із келоїдними рубцями, 23 (57,5 %) хворих з гіпертрофічними рубцями. Лікування проводилося поєднаним методом шляхом мікродермабразії і нанесення топічного інгібітору кальціневрїна. Проведено морфологічне дослідження до і після лікування патологічних рубців. Поєднане вживання методу мікродермабразії і ТІК дозволило полішити терапевтичний і естетичний результат при келоїдних і гіпертрофічних рубцях.

Ключові слова: патологічні рубці, лікування, морфологічні зміни, інгібітори кальціневрїна.

Сведения об авторах:

Проценко Татьяна Витальевна – доктор мед. наук, профессор, зав.кафедрой дерматовенерологии и косметологии Донецкого национального медицинского университета им. М. Горького, e-mail: protsenko2005@yandex.ua

Борзых Юлия Александровна – аспирант кафедры дерматовенерологии и косметологии Донецкого национального медицинского университета им. М. Горького, тел. 0505240678

Бондаренко Надежда Николаевна – кандидат мед. наук, доцент кафедры гистологии Донецкого национального медицинского университета им. М. Горького ; тел. 0508708161

**MORPHOLOGICAL
FEATURES OF
PATHOLOGICAL
SCARS REMODELLING
AFTER COMPLEX
TREATMENT
WITH THE USE
CALCINEURIN
INHIBITORS**

**Protsenko T.V.,
Borzykh Yu.A.,
Bondarenko N.N.**

*Donetsk National Medical
University named after M. Gorky*

Abstract. The aim of the study was to increase a pathological scars treatment efficacy. There were 40 patients under investigation aged from 21 - 35 years old, including 17 (42,5 %) patients with keloids, 23 (57,5%) patients with hypertrophic scars. The treatment was a combination of microdermabrasion and the application of topical calcineurin inhibitor. A morphological investigation was carried out before and after the treatment of pathological scars. A combined use of microdermabrasion and TCI allowed to improve both therapeutic and esthetic results in case of keloids and hypertrophic scars.

Key words: pathological scars, treatment, morphological changes, calcineurin inhibitors.