

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

© Аветіков Д.С.
УДК [616.716+617.52]-003.92

ПОРІВНЯЛЬНА ІМУНОГІСТОХІМІЧНА ОЦІНКА ВАСКУЛЯРИЗАЦІЇ ІНТАКТНОЇ ШКІРИ ТА ПАТОЛОГІЧНИХ РУБЦІВ ГОЛОВИ ТА ШИЇ

Аветіков Д.С.

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

Робота посвящена изучению микроциркуляторного русла интактной кожи, келоидных и гипертрофических рубцов. Для определения количественных и качественных показателей васкуляризации рубцов при исследовании нами использовался VEGF - рост эндотелия сосудов (клоны VGI, Dako Cytomation). Установлено, что в областях между сосочковым и сетчатым слоем постоянно встречаются артериолы, в которых четко выражен эндотелиальный слой, клетки которого окрашены в темно-коричневый цвет. Вены имеют больший просвет, ровные контуры эндотелиоцитов. Средний мышечный слой не четко выражен, однако в периваскулярных тканях встречаются одиночные клетки из сильно выраженной экспрессией к VEGF. Как свидетельствуют проведенные нами исследования с иммунным маркером VEGF, в артериях слоя дермы келоидных рубцов наблюдается плазморагия. В условиях прогресса келоидного рубца в его основе, рядом с явлениями фибриноидного набухания коллагеновых волокон, отмечается плазморагия из сосудов. Именно благодаря фибриноидному набуханию и плазморагии в центральной зоне келоидного рубца отмечается гиалиноз соединительной ткани. Плазморагия и накопление белкового депозита в периваскулярном пространстве обуславливают угнетение местной гемодинамики, которая объясняет уменьшение наполнения тканей кислородом. Само снижение оксигенации и повышение проницаемости сосудистой стенки вызывает местную гемоциркуляторную гипоксию. Таким образом, учитывая полученные данные относительно иммунологических и гистологических особенностей фиброархитектоники келоидных и гипертрофических рубцов нами был обоснован выбор препаратов, которые имеют выраженную антиоксидантное, антигипоксантное и капилляростабилизирующее действие.

Ключевые слова: патологический рубец, интактная кожа, антигипоксанты, маркер VEGF, антиоксиданты.

Робота є фрагментом теми «Розробка і удосконалення методів діагностики, лікування, реабілітації і профілактики вроджених і набутих захворювань, дефектів і деформацій щелепно-лицевої ділянки», яка виконується на кафедрі пропедевтики хірургічної стоматології та щелепно-лицевої хірургії з пластичною та реконструктивною хірургією голови і шиї, номер державної реєстрації 0105V004081.

Гіповаскуляризація – характерна морфологічна ознака келоїдних та гіпертрофічних рубців. Доведено, що капіляри рубцевої тканини регресують, а їх ендотеліоцити трансформуються в фібробласти та інші клітинні диферони [1, 2, 6]. Дане клітинне перетворення пояснює збільшення клітинних елементів у тканині патологічних рубців [4, 7]. Внаслідок постійної регресії капілярів зменшується трофічне забезпечення тканин, що посилює гіпоксичний стан. У сполучній тканині патологічних рубців визначається в 2-3 рази менша кількість капілярів по відношенню з нормотрофічними рубцями. У субепідермальному шарі келоїдного рубця містяться 3-5 капілярів у полі зору, а в ростковому шарі одна судина на 1-2 поля зору [3].

Слід відмітити, що гіповаскуляризація та зменшення місцевої гемодинаміки є одними з основних етіологічних чинників виникнення місцевих киснево-дефіцитних станів [4, 5].

Метою дослідження було вивчення мікроциркуляторного русла інтактної шкіри та патологічних рубців.

Матеріали та методи дослідження

Матеріалом для дослідження слугували інцизійні біоптати інтактної шкіри, загальною кількістю 12 пацієнтів, які забиралися після місцево-пластичних оперативних втручань з приводу інволютивного та гравітаційного птозу. Біоптати патологічних рубців висікалися в пацієнтів, яким жоден із відомих способів консервативного лікування не проводився. Біоптатів келоїдних рубців – 17 зразків, гіпертрофічних – 29.

Для реалізації імуногістохімічного дослідження напівтонкі зрізи рубцевих тканин наносились на адгезивні предметні скельця «Superfrost plus», депарафінізувалися відповідно до прийнятих лімітів. У подальшому для відновлення порушеної антигенної структури через попередню фіксацію тканини в формалін проводили теплову індукцію епітопу. Останнє полягало в нагріванні скелець, що зануренні в цитратний буфер з рН 6.7, в автоклаві до температури +121 °С, протягом 8 хвилин. Інкубація зрізів мікропрепаратів із

первинними антитілами проводилася у вологих камерах при температурі +23-25 °С протягом 30 хвилин.

Для визначення кількісних та якісних показників васкуляризації рубцевозмінених тканин при імуногістохімічному дослідженні нами використовувався VEGF - росту ендотелію судин (клон VGI, Dako Cytomation).

Результати та їх обговорення

Згідно наукових тверджень наявність артеріовенозних анастомозів у шкірі обумовлена можливістю реагування на температурні подразники [3]. Тобто, завдяки нервовій регуляції у ділянках анастомозів регулюється кровонаповнення мікросудин, що знаходяться безпосередньо під епідермісом. Артеріовенозні анастомози шкіри постійно знаходяться в стані фізіологічної регенерації. Про це свідчать результати імуногістохімічного забарвлення VEGF.

Встановлено, що при імуногістохімічному забарвленні у ділянках між сосочковим та сітчастим шаром постійно зустрічаються артеріоли, в яких чітко виражений ендотеліальний шар, клітини якого забарвлені в темно-коричневий колір. Венили мають більший просвіт, рівні контури ендотеліоцитів. Середній м'язовий шар не чітко виражений, однак у периваскулярних тканинах зустрічаються поодинокі клітини з сильно вираженою експресією до VEGF (рис. 1).

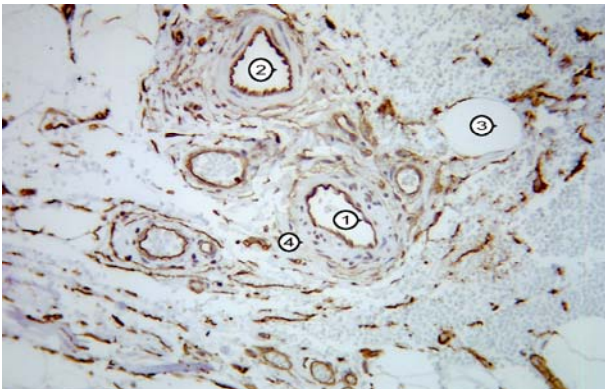


Рис. 1. Артеріо-венозний комплекс у сітчастому шарі дерми. Імуногістохімічне забарвлення з використанням маркера VEGF : Об.: x 40: Ок.: x 10: 1 – ендотелій судин; 2 – артеріола; 3 – венула; 4 – вихід клітинних елементів із судинного русла.

Саме наявність великої кількості судин та їх постійна фізіологічна регенерація забезпечує збагачення тканин киснем та підтримує гомеостаз не пошкодженої шкіри.

Як свідчать проведені нами імуногістохімічні дослідження з імунним маркером VEGF, в артеріях дермального шару келоїдних рубців спостерігається плазморагія.

Артеріоли мають внутрішній ендотеліальний шар забарвлений у коричневий колір. Середній циркулярний гладком'язовий шар не експресує даний імунний маркер. Зовнішній шар артеріол має слабку експресію VEGF (рис. 2).

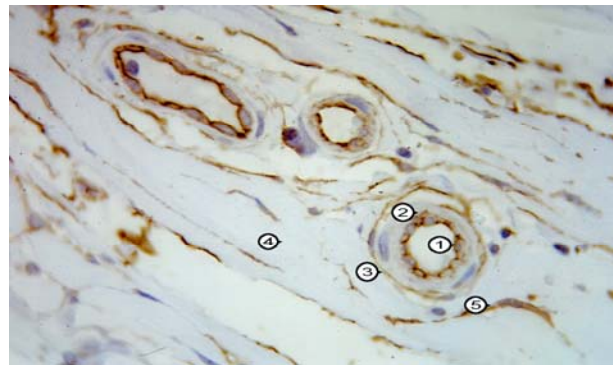


Рис. 2. Плазморагія з судин. Імуногістохімічне забарвлення з використанням маркера VEGF : Об.: x 100: Ок.: x 10: 1 – ендотеліальний (внутрішній) шар артеріол; 2 – середній шар артеріолярної стінки; 3 – зовнішній шар артеріолярної стінки; 4 – білковий депозит; 5 – ядра фіброцитів.

Між окремими артеріями та венами розміщуються світлі гомогенні структури білкового депозиту, серед якого знаходяться поодинокі витягнуті ядра фіброblastів.

Отже, в умовах прогресування келоїдного рубця в його основі, поряд із явищами фібриноїдного набухання колагенових волокон, відмічається плазморагія з судин. Саме завдяки фібриноїдному набуханню та плазморагії з судин у центральній зоні келоїдного рубця відмічається гіаліноз сполучної тканини.

Таким чином, плазморагія та накопичення білкового депозиту в периваскулярному просторі обумовлюють пригнічення місцевої гемодинаміки, що пояснює зменшення постачання кисню до тканин. Саме зниження оксигенації та підвищення проникності судинної стінки викликає місцеву гемоциркуляторну гіпоксію.

Не менш важливу роль у процесі утворення гіпертрофічного рубця мають особливості його васкуляризації (рис. 3).

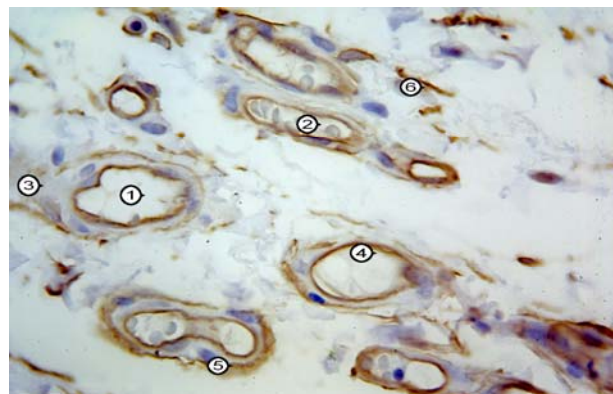


Рис. 3. Особливості васкуляризації гіпертрофічного рубця. Імуногістохімічне забарвлення з використанням маркера VEGF : Об.: x100: Ок.: x 10: 1 – венула; 2 – артеріола; 3 – периваскулярне просочування; 4 – ендотелій; 5 – адвенциція; 6 – ядра фіброцитів.

Встановлено, що при використанні імуногістохімічного маркера VEGF у зонах септ спостерігається виникнення судинних бруньок. Останні представлені моно або дихотомічним розділенням артеріол, які мають чітко виражений експресований у коричневий колір ендотелій, а також менш виражену ступінь експресії адвенциції.

Отже, з огляду на те, що VEGF являє собою васкулярний ендотеліальний фактор росту судин, можна певною мірою стверджувати, що трофіка гіпертрофічного рубця здійснюється за рахунок проліферації судинних компонентів. Саме постійний ріст мікросудин сприяє, на відміну від келоїду, в гіпертрофічному рубці ліквідації процесів фібриноїдного набухання та гіалінозу.

Висновок

Таким чином, враховуючи отримані дані щодо імуногістохімічних особливостей фіброархітекtonіки келоїдних та гіпертрофічних рубців нами було обґрунтовано вибір препаратів, що мають виражену антиоксидантну, антигіпоксанту та капіляростабілізуючу дію.

В подальших дослідженнях планується дати імуногістологічну характеристику для диференційованої діагностики патологічних рубців, що локалізовані в ділянках голови та шиї.

Summary

COMPARATIVE IMMUNOHISTOCHEMICAL ESTIMATION OF VASCULARIZATION OF INTACT SKIN AND PATHOLOGICAL SCARS OF HEAD AND NECK

D.S. Avetkov

Key words: pathological scar, intact skin, antihypoxants, marker of VEGF, antioxidants.

Work is sanctified to the study of microvasculature of intact skin, pathological scars. For determination of quantitative and high-quality indexes of vascularization of scars at research we were use VEGF is a height of endothelia of vessels (clonals of VGI, Dako Cytomation). It is set that in areas between a papillary and reticulated layer constantly there are arteries, an endothelial layer the mews of which are painted in an umber color is clearly shown in which. Veins have a greater road clearance, even contours of endotheliocytes. A middle muscular layer is not clearly expressed, however in tissues near vessels there are single mews from by the strongly expressed expression to VEGF. As the researches conducted by us testify with the immune marker of VEGF, there is plasmorogy in the arteries of layer of derma of pathological scars. In the conditions of progress of pathological scar in his basis, next to the phenomena of the fibrinoid swelling of collagen fibres, plasmorogy is marked from vessels. Exactly due to the fibrinoid swelling and plasmorogy the hyalinosis of connecting tissue registers in the central area of pathological scar. Plasmorogy and accumulation of albuminous deposit in space near vessels stipulate oppressing of local hemodynamics which explains diminishing of filling with of tissues oxygen. The self decline of оксигенации and increase of permeability of vascular wall cause a local hypoxia. Thus, taking into account finding in relation to the immunological and histological features of structure of pathological scars the choice of preparations which have expressed антиоксидантное action was reasonable by us.

Higher State Educational Establishment of Ukraine "Ukrainian Medical Stomatological Academy", Poltava

Література

1. Аветіков Д.С. Гістохімічні особливості будови та формування келоїдних рубців голови та шиї людини / Д.С. Аветіков, С.О. Ставицький // Вісник проблем біології і медицини. – 2012. – №1. – С. 271-273.
2. Аветіков Д.С. Патоморфологічне обґрунтування лікування молодих келоїдних рубців препаратом «Флостерон» / Д.С. Аветіков, С.О. Ставицький // Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2009. – Т.9 – № 3(27). – С. 59-61.
3. Озерская О.С. Рубцы кожи и их дерматологическая коррекция / О.С. Озерская // СПб, Искусство России, 2007. – 224с.
4. Hypertrophic scars and keloids: immunophenotypic features and silicone sheets to prevent recurrences / L. Borgognoni, L. Martini, C. Chiarugi [et al] // Annals of Burns and Fire. – 2000. - Vol. 8 (3). – P.164-169.
5. Болховитинова Л.А. Келоидные рубцы / Л.А. Болховитинова, М.Н. Павлова // М., Медицина, 1977. – 134с.
6. Келоидные рубцы у детей / В.В. Шафранов, Е.Н. Борхунова, А.В.Таганов, [и др.] // Издательский Дом «Династия», Москва, 2006 – 112с.
7. Белоусов А.Е. Рубцы и их коррекция / А.Е. Белоусов // СПб, Командор-SPB, 2005. – 128с.

Матеріал надійшов до редакції 17.04.2012 р.