

## МЕЖКЛЕТОЧНЫЕ И КЛЕТОЧНО-МАТРИКСНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПРИ ЗАЖИВЛЕНИИ РАН (ЛЕКЦИЯ)

М. В. Мнихович<sup>1, 2</sup>, Н. В. Еремин<sup>1</sup>, Л. В. Фомина<sup>3</sup>, В. Г. Мигляс<sup>4</sup>  
<sup>1</sup>ФГБУ “Научно-исследовательский институт морфологии человека РАМН”,  
г. Москва, Россия

<sup>2</sup>ГБОУ ВПО “Российский национальный исследовательский медицинский университет  
им. Н. И. Пирогова” Минздрава России, г. Москва, Россия

<sup>3</sup>Винницкий национальный медицинский университет им. Н. И. Пирогова,  
г. Винница, Украина

<sup>4</sup>Ужгородской национальной университет, г. Ужгород, Украина

В образовательном модуле представлен обзор молекулярных механизмов межклеточных и клеточно-матриксных взаимодействий при заживлении ран.

*Ключевые слова:* раны, регенерация, клеточно-матриксные взаимодействия.

© M. V. Mnikhovich, N. V. Yeremin, L. V. Fomina, V. G. Miglyas, 2013

Intercellular and Cell-matrix Interactions in Wound Healing (lecture)

The educational module provides an overview of the molecular mechanisms of intercellular and cell-matrix interactions in wound healing.

*Keywords:* wounds, regeneration, cell-matrix interactions.

Клеточно-матриксные взаимодействия и механизмы, участвующие в развитии заживления раны, в настоящий момент изучены недостаточно полно. Исследование экспрессии цитокинов и факторов роста, задействованных в регуляции воспалительной реакции, их влияние на формирование внеклеточного матрикса и закрытие раневого дефекта составляют основу для понимания механизмов репарации в длительно незаживающих ранах.

Важность изучения проблемы регенерации ран обусловлена высокой частотой встречаемости: больные с длительно незаживающими ранами составляют около 10% от общего числа пациентов общехирургических стационаров в России, при этом на протяжении последних десятилетий сохраняется тенденция к увеличению числа больных этой категории [2, 3, 6, 13, 21, 23]. Кроме того, некоторые возрастные заболевания, в частности сахарный диабет I и II типов, способствуют значительному замедлению регенеративных процессов и могут сопровождаться развитием длительно незаживающих ран. Также, исследования в данной области имеют большую практическую значимость, так как создают основу для разработки новых, более эффективных методов лечения [1, 4, 11, 14, 27, 35].

Межклеточные и клеточно-матриксные взаимодействия, происходящие в области раны, формируют достаточно сложный каскад взаимосвязанных событий, включающий коагуляцию, воспалительную реакцию, синтез и накопление компонентов внеклеточного матрикса, неоваскуляризацию, контракцию, ремоделирование внеклеточного матрикса и реэпителизацию [7, 9, 10, 12, 20, 35, 24, 51]. Непосредственно после альтерации, сопровождающейся разрушением эпителиального покрова, внеклеточного матрикса и эндотелия кровеносных сосудов в области раны, запускается процесс свертывания крови. Формирующийся кровяной сгусток, помимо гемостатической функции, выполняет роль своеобразного провизионального внеклеточного матрикса, обеспечивающего миграцию клеток в область повреждения. Первые нейтрофилы появляются в ране уже через несколько минут после повреждения, однако их количество становится максимальным через 24–48 ч, после чего оно постепенно уменьшается, однако даже на поздних стадиях заживления ран нейтрофилы в незначительном количестве входят в состав сохраняющегося воспалительного инфильтрата. Лейкоциты, мигрирующие в данной фазе воспалительно-репаративной реакции в область повреж-

дения, активируют систему комплемента, взаимодействуют с калликреин-кининовой системой, системами свертывания и фибринолиза, фактором Хагемана, производными арахидоновой кислоты. В области повреждения под влиянием протеолитических ферментов нейтрофилов происходит частичный лизис свертка крови, бактериальной флоры, инородных тел, тканевого детрита [7, 9, 12, 13, 15, 40, 61, 63].

Дегрануляция тромбоцитов приводит к высвобождению ТФР $\beta$  — одного из основных регуляторов репаративных процессов, а также ТцФР. Местное выделение ТцФР усиливает пролиферацию мезенхимальных клеток, в частности фибробластов [6, 8, 20, 22, 39]. TGF $\beta$  вызывает усиление экспрессии гена рецепторов ТФР $\beta$  в клетках-мишенях и влияет на продукцию ими других цитокинов ростовых факторов (ТцФР, ИЛ-1, ФНО $\alpha$ , ФРФ-2, ФРФ-7 и ЭФР/ТФР $\alpha$ ) [25, 33, 37, 56]. Кроме того, ТФР $\beta$  является мощным хемоаттрактантом для моноцитов, макрофагов, которые инфильтрируют зону повреждения и на более поздних этапах раневого заживления и становятся основным источником как провоспалительных цитокинов, так и фиброгенных факторов роста [57, 60].

Смена состава воспалительного инфильтрата связана также и с изменением спектра адгезивных молекул, представленных на поверхности эндотелиальных клеток. Комплексное действие провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ФНО $\alpha$ , ИФН $\gamma$ ) обуславливает начало экспрессии на поверхности эндотелиальных клеток адгезивной молекулы VCAM-1, соответствующей лиганду на моноцитах — VLA-4 (молекула семейства  $\beta$ -интегринов), и исчезновение E-селектина [5, 16, 18, 21]. Появление в зоне повреждения хемоаттрактантов MCP-1 и MIP-1 $\alpha$  с одновременной экспрессией VCAM-1 и VLA-4 способствует смене клеточной популяции в воспалительном инфильтрате.

Одновременно с началом накопления в воспалительном инфильтрате моноцитов/макрофагов в зоне повреждения появляются лимфоциты, но при отсутствии выраженной инфицированности раны или других антигенных стимулов роль лимфоцитов при неспецифическом повреждении и воспалении не столь важна для начала репаративной регенерации,

как роль мононуклеарных фагоцитов [3, 7, 9, 30].

Взаимодействие моноцитов/макрофагов с другими клеточными популяциями и межклеточным матриксом реализуется благодаря большому количеству (более 40) секретлируемых ими медиаторов. С помощью интегриновых рецепторов ( $\beta$ 1-интегрины) макрофаги связываются с компонентами внеклеточного матрикса, что обуславливает активацию фагоцитоза, а также стимулирует синтез активированными макрофагами ФНО $\alpha$  — одного из основных факторов воспаления, и КСФ-1, необходимого для поддержания постоянного количества клеток в зоне повреждения. Для активации репаративных процессов мононуклеарные лейкоциты синтезируют ТцФР, ТФР $\beta$ , ИЛ-1, ЭФР/ТФР $\alpha$  и ФРФ-2 [45, 47, 51, 57].

Инфильтрация зоны повреждения моноцитами/макрофагами приводит к дополнительной продукции ТФР $\beta$ , миграции и пролиферации фибробластов и соответственно к выраженному накоплению компонентов внеклеточного матрикса. Одновременно ТФР $\beta$  блокирует процесс дегградации ВКМ путем снижения синтеза протеиназ и увеличения уровня ингибиторов протеиназ [60, 61]. Однако существует и обратная сторона биологических эффектов ТФР $\beta$  индукция накопления компонентов внеклеточного матрикса в зоне повреждения из адаптивной реакции может перерасти в патологическую, приводя к развитию фиброза и рубца [19, 20, 35] (рис. 1).

ВКМ представляет собой супрамолекулярный комплекс, образующий внеклеточное окружение, которое играет ключевую роль как в органогенезе, эмбриогенезе, посттравматическом заживлении, так и в канцерогенезе, опухолевой инвазии и хоминге метастатических опухолевых клеток. На долю ВКМ приходится значительная часть объема любой ткани. Он состоит из структурных фибриллярных белков и интерстициального (межуточного) матрикса. Фибриллярные структурные белки представлены коллагеном разных типов и эластином. Интерстициальный матрикс, образованный адгезивными гликопротеидами, заключенными в гель из протеогликанов и гликозаминогликанов, обеспечивает тургор мягких тканей и ригидность архитекто-

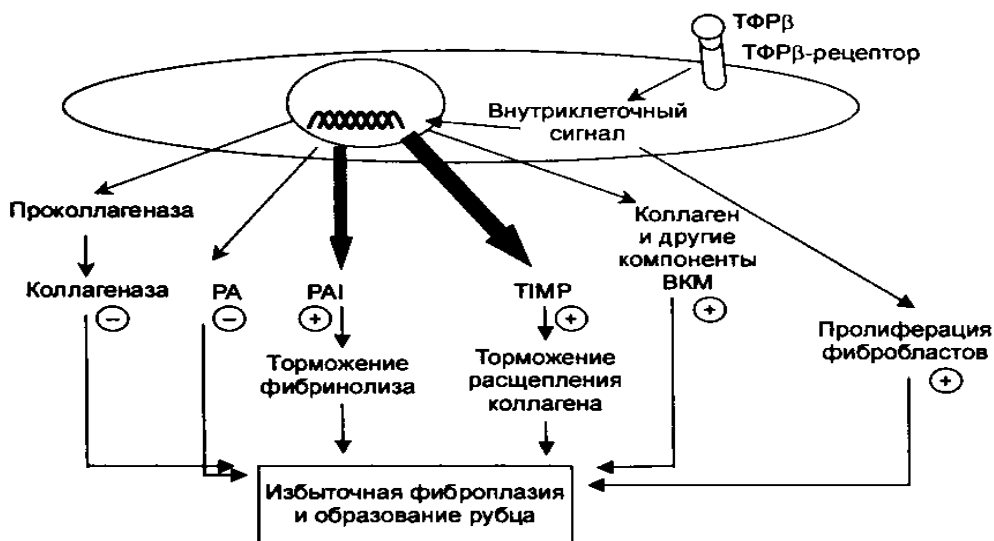


Рис. 1. Морфогенетические механизмы формирования рубца (по Yang L., 1999; Tran T., 2008 с изменениями).

ники ткани. В частности, к интерстициальному матриксу относят базальные мембраны (БМ), окружающие эпителиальные, эндотелиальные и гладкомышечные структуры. Помимо ограничительного значения, БМ играют важную роль в качестве субстрата, способствующего адгезии, миграции и пролиферации клеток, а также непосредственно влияющего на клеточную форму, расположение и некоторые функции [9, 10, 18].

Взаимодействие различных клеток с фибробластами приводит к их миграции и ускоренной пролиферации, дифференцировке, синтезу и секреции коллагена и других компонентов матрикса. Коллаген и эластин — основные структурные компоненты ВКМ. Все типы коллагена составлены из тройной спирали, имеющей три полипептидные  $\alpha$ -цепи, в которых содержатся повторяющиеся последовательности  $gly-x-y$ . Мономеры всех типов коллагена имеют на N- и C-концах неколлагеновые домены. В настоящее время насчитывается 19 различных коллагенов, являющихся одним из основных компонентов ВКМ [17].

С учетом супрамолекулярной организации и размера молекул коллагены можно разделить на следующие группы: фибриллярные (типы I, II, III, V и XI), формирующие фибриллы и обеспечивающие прочность на растяжение таким тканям, как кожа, кости и связки; коллагены, образующие сеть (IV тип, формирующий опорную сеть базальных мембран); нитевидные фибриллы (VI тип, ас-

социирующийся с другими типами коллагена при формировании гетерогенных волокон в большинстве тканей); коллагены с короткими цепями (VIII тип, обнаруживаемый в роговице); коллагены с длинными цепями (VII тип, прикрепляющий базальную мембрану к строме наподобие якоря); фибриллассоциированные коллагены с прерывающейся тройной спиралевидной нитью (типы IX, X, XII), находящиеся на поверхности больших фибрилл и обеспечивающие связь с другими компонентами внеклеточного матрикса в хрящах, связках [22, 24, 30].

Интерстициальные коллагены представляют основной компонент всей соединительной ткани в заживающих ранах, а также в рубцах. Интерстициальные коллагены (I, III типов) связывают и таким образом, в сборке БМ; взаимодействуют с фибронектином при формировании фибриллярной основы ВКМ. Имеются данные о том, что во время репаративной стадии воспалительного процесса в легких увеличивается количество коллагена III типа. Возросший синтез фибробластами коллагена I, III типов и его избыточное отложение в комплексе с фибронектином — основа для развития фиброза многих органов [20, 48, 51].

Молекулы коллагена IV, XV, XVIII типов обеспечивают нерастворимость и механическую стабильность базальных мембран (БМ), образуя их опорную сеть. Вновь образуемая строма, называемая грануляционной тканью, начинает запол-

нять раневое пространство; по времени начало данного процесса совпадает с 4–5 сутками после повреждения.

В грануляционной ткани активно протекает процесс неоваскуляризации.

Неоваскуляризация — сложный комплексный процесс, тесно связанный с ремоделированием внеклеточного матрикса в области раневого дефекта и митогенной активацией эндотелия клеточным окружением [34, 46]. Больше всего данных о регуляции ангиогенеза ФРФ-1 и -2. В дальнейшем была доказана ангиогенная активность и других молекул (ТФРβ, ангиогенин, ангиотропин, ангиопэтин-1, соединительнотканый фактор роста и т. д.) [31, 46]. Основными источниками этих факторов являются мононуклеарные фагоциты, эндотелиальные и эпителиальные клетки. ФРФ-2 необходим для запуска репаративной регенерации в первые 3–4 дня после повреждения, тогда как ФРГ, VEGF и CTGF задействованы в основном в поддержании роста сосудов и регуляции образования грануляционной ткани, которая формируется на 4–7 сутки [52, 53]. Кроме того, в процессе неоваскуляризации раневого дефекта принимают участие различные рецепторы внеклеточного матрикса и эндотелия к провизиональному матриксу. Пролиферирующие эндотелиальные клетки, формирующие новые микрососуды, экспрессируют на поверхности фибронектиновые рецепторы. При этом расположенный периваскулярно фибронектин играет роль своеобразной направляющей для растущих кровеносных сосудов. Синтез и активация протеиназ также необходимы для нормального протекания процессов ангиогенеза.

Анализ синтеза компонентов внеклеточного матрикса в ответ на действие фиброгенных цитокинов сфокусирован в основном на коллагенах I и III типов — доминирующих элементах соединительной ткани, появляющихся в очаге повреждения. При изучении синтеза компонентов соединительной ткани *in vitro* установлено, что микроокружение вызывает качественные и количественные изменения синтеза коллагенов, в частности влияет на соотношение между I и III типами в ту или иную сторону (в том числе за счет изменения спектра синтезируемых субстратспецифичных протеиназ и их ингибиторов). Медиаторы эффекторных клеток (макрофаги, тромбоциты, лимфо-

циты), так же как и межклеточные контакты, участвуют в индукции синтеза коллагенов [3, 8, 10, 14].

Кератиноциты, прилегающие к области повреждения, также оказывают влияние на ход процесса раневого заживления. Синтезируемые ими различные изоформы ТФРβ, а также ТцФР регулируют действие на пролиферацию фибробластов, их миграцию в область повреждения и продукцию ими компонентов ВКМ. Пролиферация кератиноцитов в свою очередь регулируется ИПРФ-I, ЭФР и ФРФ-7. Изменения в клетках эпидермиса и дермы, окружающих рану, можно обнаружить уже через несколько часов после повреждения: в них наблюдают ретракцию внутриклеточных тонофиламентов, разрыв большинства межклеточных десмосомальных контактов, обеспечивающих механическое соединение клеток (рис. 2).

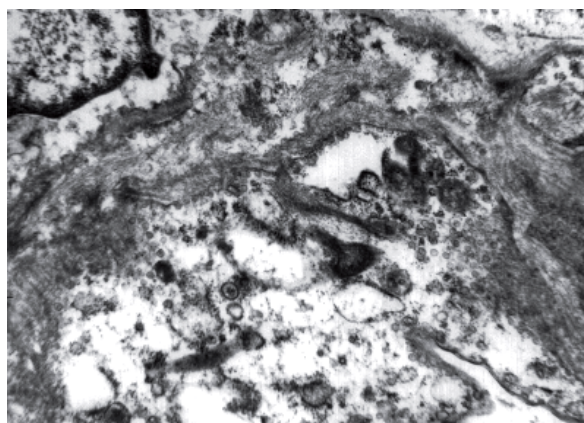


Рис. 2. Разрыв межклеточных десмосомальных контактов и ослабление межклеточных контактов и контактов клеток с базальной мембраной, формирование периферических цитоплазматических актиновых филаментов в ране в первые часы повреждения. Электронная микрофотография.

Ослабление межклеточных контактов и контактов клеток с базальной мембраной, формирование периферических цитоплазматических актиновых филаментов делают возможным движение эпителиальных клеток в сторону поврежденных тканей. Этому также способствует потеря на поверхности эпидермальных клеток интегриновых рецепторов, которые обеспечивают взаимодействие с различными компонентами внеклеточного матрикса (фибронектином, витронектином и др.), заполняющими вместе с фибриновыми сгустками раневое пространство (провизиональный матрикс).

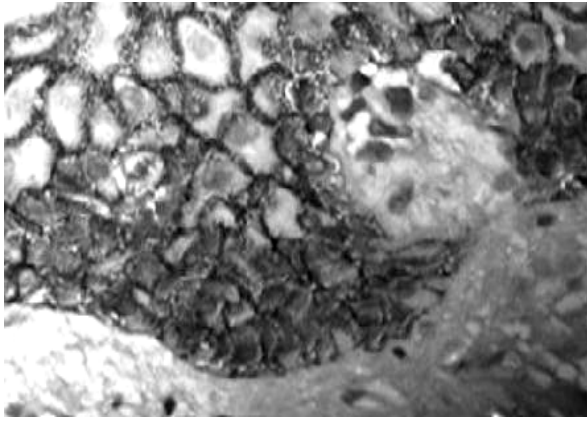


Рис. 3. Выраженная экспрессия Ki 67 в краях раны.

Через 1–2 дня после повреждения эпителиальные клетки, расположенные на краю раны, начинают активно пролиферировать и мигрировать (рис. 3).

Причины данного процесса на сегодняшний день до конца не выявлены, хотя предполагается, что отсутствие плотных контактов между клетками, наличие свободного края области раны, свободной от эпителиального покрова, могут стимулировать пролиферацию и миграцию эпидермальных клеток при реэпителизации. Большое влияние оказывают ростовые факторы, в высокой концентрации содержащиеся в области повреждения (ЭФР/ТФР $\alpha$ , ФНО $\alpha$ , ФРГ, ТцФР, ИПФР-1), а также повышенная экспрессия рецепторов к ним. По мере продвижения процесса реэпителизации заново формируется базальная мембрана. Эпителиальные клетки, восстановившие обычный фенотип, закрепляются на вновь образованной базальной мембране и формируют нормальные структурные связи с ней и подлежащей дермой [16, 24, 43].

В результате комплексного взаимодействия различных клеток, компонентов внеклеточного матрикса и медиаторов начинается контракция раны. В течение 2 недели раневого заживления фибробласты приобретают фенотип миофибробластов (рис. 4), появление которых свидетельствует о формировании полноценной соединительной ткани и начале контракции раны.

Контракция регулируется в основном балансом ТФР $\beta$ -1, -2 и -3, а также ТцФР, при помощи которых регулируются прикрепление фибробластов к внеклеточному матриксу посредством интегринных рецепторов и создание связей между отдельными молекулами коллагена.

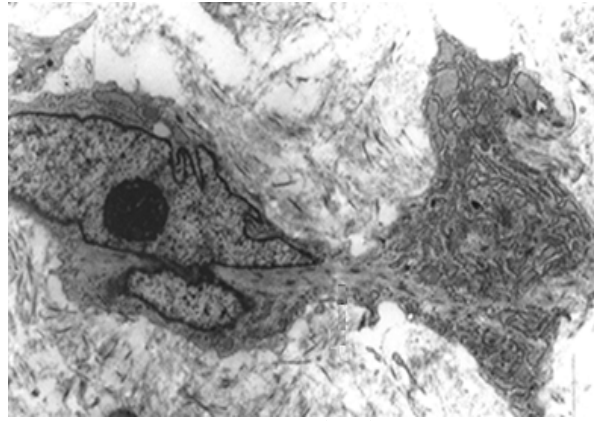


Рис. 4. Типичные миофибробласты в процессе формирования соединительной ткани при заживлении ран.

Ремоделирование внеклеточного матрикса играет ключевую роль в процессе перехода от грануляционной ткани к рубцовой [43, 50, 51]. В обеспечении данного процесса большое значение имеет плазминоген/плазминовая система [52]. Сериновые и металлопротеиназы играют важную роль на данном этапе, поскольку они активны при нейтральном значении pH и секретируются клетками непосредственно *in situ*.

В течение первых 3 недель раневого заживления ремоделирование матрикса происходит наиболее активно, что и обеспечивает быстрое закрытие раневого дефекта. В последующем периоде обмен компонентов внеклеточного матрикса снижается, молекулы коллагена формируют супрамолекулярные комплексы, призванные обеспечить достаточную прочность новообразованной ткани. Однако было установлено, что новообразованная ткань чаще всего не достигает коэффициента прочности, характерного для неповрежденной ткани.

Кроме описанного выше процесса нормального заживления ран, можно выделить 2 основных варианта патологического заживления — раны, заживающие с избыточным накоплением соединительной ткани и формированием рубца, а также длительно не заживающие раны.

Раны, заживающие с избыточной фиброплазией, хорошо изучены. Одной из основных причин, приводящих к образованию рубца, является избыточная продукция фиброгенных цитокинов, в первую очередь ТФР $\beta$  [55]. К другим причинам, способствующим избыточной фиброплазии, относят недостаточность ферментных систем, ответственных за де-

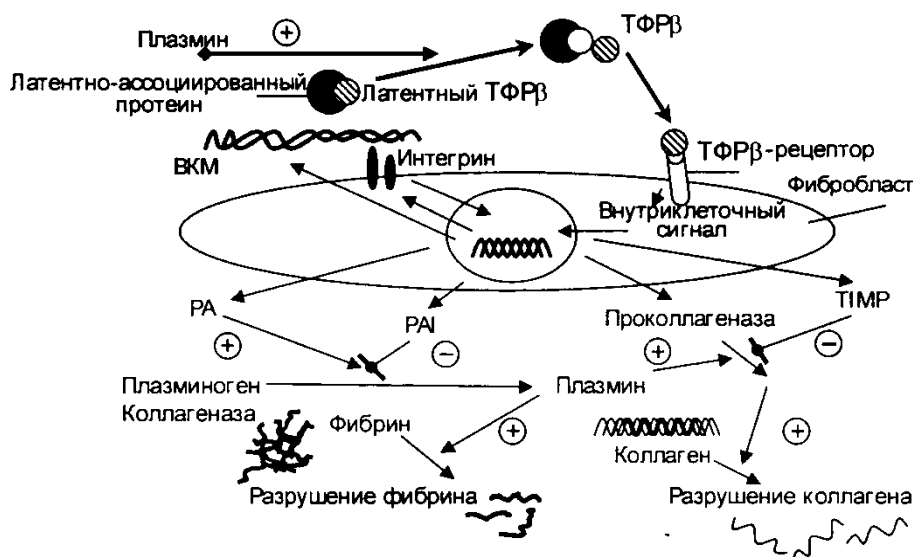


Рис. 5 Регуляция продукции внеклеточного матрикса фибробластами (по Brewk K., 2000).

градацию ВКМ, в частности плазминоген-плазминовой, металлопротеиназ; избыточное действие TIMPs [42]; усиленную пролиферацию фибробластов и повышение продукции ими компонентов ВКМ (рис. 5).

Нарушения в ходе предшествовавшей воспалительной реакции и связанные с ними изменения спектра выделяемых цитокинов также могут приводить к избыточной фиброплазии. На стадии трансформации грануляционной ткани в зрелую соединительную ткань фибробласты подвергаются апоптозу. Нарушение нормальной экспрессии продуктов генов — регуляторов апоптоза (*bcl-2*, *p53*, *bcl-x*) может способствовать нарушению раневого заживления и развитию келоида. Другим вариантом нарушения нормального заживления является появление длительно не заживающих ран [59,65].

В основе механизмов развития длительно не заживающих ран лежат нарушение межклеточных и клеточно-матриксных взаимодействий, а также изменения в системах, регулирующих метаболизм внеклеточного матрикса.

В зоне нарушения заживления ран изменяется состав клеток инфильтрата. Одним из хемокинов, регулирующих миграцию мононуклеарных фагоцитов в очаг воспаления, является MIP-1. Две известные высокомолекулярные изоформы: MIP-1 $\alpha$  и MIP-1 $\beta$  — оказывают неодинаковый эффект, а в некоторых случаях могут работать как антагонисты, при этом MIP-1 $\alpha$  проявляет себя как более активный

провоспалительный хемокин [11, 18, 33, 41]. Нарушение экспрессии MIP-1 $\alpha$  и -1 $\beta$ , а также MCP-1 может быть одной из причин изменения хода воспалительной реакции и приводить к возникновению длительно не заживающих ран [21, 23, 30]. Снижение или отсутствие экспрессии MIF-фактора, ингибирующего миграцию моноцитов, макрофагов и СХС-хемокинов, регулирующих процессы ангиогенеза и реэпителизации, также может приводить к нарушению заживления ран [15, 35, 37, 56]. Мононуклеарные фагоциты наряду с резидентными клетками являются основным источником как провоспалительных агентов, так и большого числа цитокинов и факторов роста, активно участвующих в регуляции репаративных процессов. Часто изменение уровня экспрессии этих факторов служит одной из причин нарушения заживления ран. Снижение уровня экспрессии TGF $\beta$  и его рецепторов способствует замедлению репаративных процессов. При этом снижается не только синтез компонентов внеклеточного матрикса, регулируемый TGF $\beta$ , но и нарушается синтез  $\alpha$ SMA и соответственно трансформация фибробластов в миофибробласты, что в итоге приводит к отсутствию контракции раневого дефекта [37–39, 49].

Снижение экспрессии TGF $\beta$ , ростового фактора, играющего ведущую роль в регуляции воспалительно-репаративной реакции, вызывает замедление раневого заживления. Параллельно происходит снижение экспрессии рецепторов к TGF $\beta$

на клетках-мишенях, что было продемонстрировано как в экспериментальных, так и в клинико-морфологических исследованиях.

ФРФ-2 необходим для нормального хода воспалительно-репаративной реакции. У мышей с выключенным геном ФРФ-2 зафиксировано значительное замедление темпов заживления кожных ран, при этом не происходило компенсации дефицита ФРФ-2 за счет других факторов, относящихся к семейству ФРФ.

Еще одной причиной, приводящей к нарушению действия цитокинов и факторов роста, может быть не снижение или отсутствие их экспрессии, а повышенная утилизация при сохранении нормальных или даже повышенных уровней синтеза, что было продемонстрировано на примере усиления протеолиза VEGF в длительно не заживающих ранах [47, 49, 52].

Регуляция ВКМ осуществляется большим количеством протеолитических ферментов, относящихся к разным семействам, в частности сериновых и металлопротеиназ, а также специфических ингибиторов их активности.

При исследовании уровня экспрессии uPA, PAI-1 и MMP-9 в нормально заживающих послеоперационных ранах и трофических язвах, развившихся на фоне варикозной болезни, было выявлено значительное (примерно в 5 раз) повышение уровня экспрессии активных форм uPA и PAI-1 в трофических язвах [47, 52]. Одновременно отмечено повышение экспрессии MMP-9, количество которой вдвое превышало таковое в нормально заживающих ранах.

MMPs, являясь эндопептидазами, проявляющими специфическую активность к большинству молекул внеклеточного матрикса, помимо непосредственного участия в процессе ремоделирования ВКМ, обеспечивают миграцию клеток, в том числе реэпителизацию в ходе заживления кожных ран [28, 56]. Регуляция экспрессии MMPs достаточно сложна и осуществляется на нескольких уровнях: на этапе транскрипции, при помощи промоторов (AP-1/AP-2, PEA-3) и ингибиторов; на посттранскрипционном этапе происходит активация MMPs, в которой принимают участие как плазминоген/плазминовая система, так и собственно матриксные металлопротеиназы (в том числе мембраноассоциированные формы

— MT-MMPs). Кроме того, на функциональную активность MMPs оказывают влияние многие цитокины и факторы роста (ИЛ-1,-6,-18, ФНО $\alpha$ , TФР $\beta$ , ЭФР и др.), адгезивные молекулы (интегрины и катгерины), некоторые компоненты ВКМ [21, 33].

Учитывая сложность организации данной системы и большое число факторов, вовлеченных в ее регуляцию, вполне естествен тот факт, что при нарушении нормального течения репаративных процессов обнаруживаются значительные изменения в функционировании MMPs и TIMPs [28, 36].

В результате сравнения экспрессии MMP-1, -3, -10, -13 и TIMP-1 и -3 в трофических язвах и нормально заживающих послеоперационных ранах значительных различий в уровне экспрессии MMPs в обоих случаях выявлено не было, однако при нарушении заживления основным источником металлопротеиназ в ране были фибробласты и макрофаги, локализованные в периваскулярной зоне, в то время как в обычных ранах синтез MMPs осуществлялся преимущественно в эпидермисе. Кроме того, было зафиксировано снижение экспрессии TIMP-1 во всех слоях раны и в зоне дерматоэпидермального контакта на краю раны [48, 49].

Повышенная активность желатиназ (MMP-2 и MMP-9) приводит к угнетению роста кератиноцитов, нарушению формирования базальной мембраны, что также затрудняет реэпителизацию раневой поверхности.

Характерной чертой, отличающей длительно не заживающие раны от обычных ран, являются специфические изменения в составе ВКМ как в зоне раневого дефекта, так и в прилегающих областях. Нарушения межклеточных и клеточно-матриксных взаимодействий, дисрегуляция систем, ответственных за ремоделирование матрикса, способствуют увеличению количества фибронектина, накоплению тенасцина, снижению содержания уровня в ВКМ интерстициальных коллагенов, влияют на соотношение протеогликанов. Похожие изменения ВКМ наблюдаются и при нормально протекающей репарации, однако при обычном раневом заживлении они имеют транзиторный характер.

При развитии длительно не заживающей раны происходит повышенное

накопление тенасцина во всех слоях раны, при этом, проявляя антиадгезивные свойства, тенасцин препятствует ремоделированию ВКМ, формированию базальной мембраны, клеточной миграции и адгезии к субстрату. Одной из причин накопления тенасцина в ране является недостаточная активность сериновых протеиназ, в норме обеспечивающих его деградацию [43, 45, 49]. Кроме того, синтез тенасцина регулируется действием ТФР $\alpha$ , ФРФ-2 и ИЛ-1, уровень экспрессии которых также меняется при нарушении репарации [62, 65].

Похожие изменения вызывает нарушение синтеза и функции тромбоспондина, который, являясь эндогенным регулятором ангиогенеза и обеспечивая клеточную миграцию, необходим для нормального процесса репарации. Снижение или повышение уровня экспрессии тромбоспондина приводит к нарушению организации и ремоделирования ВКМ и замедлению реэпителизации [59, 61, 64].

При нарушении репарации характерные изменения происходят со стороны внутриклеточных микрофиламентов и поверхностных адгезивных молекул. Нарушение реэпителизации сопровождается изменением спектра цитокератинов, экспрессируемых эпителиальными клетками (появляющиеся СК16 и СК18 не характерны для нормального эпидермиса). Уменьшение содержания  $\alpha$ SMA в миофибробластах вызывает снижение контракции раны. Изменение спектра адгезивных молекул, экспрессируемых на клеточной поверхности и обеспечивающих контакты с микроокружением, также может влиять на ход воспалительно-репаративной реакции за счет снижения миграции клеток воспалительного инфильтрата в зону повреждения, нарушения процессов ангиогенеза в ходе формирования грануляционной ткани, ослабления межклеточных и клеточно-матриксных контактов в более поздние периоды заживления раны.

#### Список литературы

1. Амбросимова О. С. Профилактика развития некрозов у больных сахарным диабетом II типа после малых операций на стопе: дисс. ... к.м.н. М., 2005. 150 с.
2. Берченко Г. Н. Морфологические аспекты заживления осложненных ран: дисс. ... д.м.н. М., 1997. 345 с.
3. Берченко Г. Н. Роль макрофагов в процессе заживления ран // Теоретические вопросы травматологии и ортопедии. М., 1990. С. 19–32.
4. Блатун Л. А. Местное медикаментозное лечение ран. Проблемы и новые возможности их решения // Consilium medicum. Хирургия. 2007. № 1. Прил. № 1. С. 9–16.
5. Вялов С. Л., Пиенинов К. П., Куиндз П. и др. Современные представления о регуляции процесса заживления ран // Анн. пластич. реконструкт. и эстетич. хирургии. 1999. № 1. С. 49–56.
6. Гавриленко А. В., Павлова О. В., Вахратьян П. Е. Использование фибробластов и кератиноцитов в комплексном лечении венозных трофических язв // Хирургия. Журн. им. Н. И. Пирогова. 2008. № 10. С. 25–28.
7. Давыдовский И. В. Морфология раневого процесса и основные закономерности его развития // Труды конф. по раневой инфекции. М.: Медгиз, 1946. С. 5–21.
8. Иванов А. А., Федоров Д. Н., Васильев А. В. и др. Роль EGF-стимулированного эпидермиса в регуляции заживления ран // Арх. патол. 2002. № 1. С. 11–14.
9. Кауфман О. Я., Шехтер А. Б. Макрофаги // Воспаление; под ред. В. В. Серова, В. С. Паукова. М.: Медицина, 1995. С. 115–136.
10. Лифшиц Р. У., Звягинцева Т. В. Межклеточные взаимодействия при заживлении экспериментальных кожных ран // Физиол. журнал. 1997. Т. 43. С. 78–82.
11. Погодина М. А., Абалмасов К. Г., Шехтер А. Б. Экспериментальное обоснование плазмодинамической терапии длительно незаживающих ран экзогенным оксидом азота // Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии. 2007. № 2. С. 89–95.
12. Пономарева Т. В., Меркушев Г. Н., Иванов Е. В. и др. Особенности внутриклеточной регенерации облученных кератиноцитов // Архив анат., гистол. и эмбриол. 1985. Т. 88. С. 66–71.
13. Толстых М. П., Луцевич О. Э. и др. Теоретические и практические аспекты заживления ран. М.: Дипак, 2007. 96 с.
14. Толстых М. П., Дербенев В. А., Бехер Ю. В. и др. Стимуляция заживления и профилактика нагноений послеоперационных ран. М.: Дипак, 2007. 96 с.
15. Шехтер А. Б., Серов В. В. Воспаление и регенерация // Воспаление; под ред. В. В. Серова, В. С. Паукова. М.: Медицина, 1995. С. 200–218.
16. Федоров Д. Н. Морфологическая и иммуногистохимическая характеристика репаративных процессов в длительно незаживающих ранах // Фундаментальные науки и прогресс клинической медицины: матер. II Российской конф. молод. ученых России



- с междунар. участ. 24–28 апреля 2001 г., Москва, М., 2001. Т. II. С. 56.
17. *Abd-El-Aleem S. A., Ferguson M. W., Appelton I., Ireland F. W.* Expression of NOS isoforms and arginase in normal human skin and chronic venous leg ulcers // *J. Pathol.* 2000. V. 191, № 4. P. 434–442.
  18. *A biomarker* that identifies senescent human cells in culture and in aging skin in vivo / G. P. Dimri [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005. Vol. 92, N 20. P. 9363–9367.
  19. Acute downregulation of connexin 43 at wound sites leads to a reduced inflammatory response, enhanced keratinocyte proliferation and wound fibroblast migration/ R. Mori [et al.] // *Journal of Cell Science.* 2006. Vol. 119. P. 5193–5203.
  20. *Altered* intercellular communication in lung fibroblast cultures from patients with idiopathic pulmonary fibrosis/ A. Trovato-Salinaro [et al.] // *Respiratory Research.* 2006. Vol. 7. P. 122–131.
  21. *Abnormal* connexin expression underlies delayed wound healing in diabetic skin / C. M. Wang [et al.] // *Diabetes.* 2007. Vol. 56. P. 2809–2817.
  22. *Beele H., Thierens H., Verhasselt B., de Ridder L.* Effects of serotonin and ketanserin on the functional morphology of chick down feather bulbi in vitro // *Experientia.* 2010. V. 46. P. 1057–1060.
  23. *Bulgrin J. P., Shabani M., Charrovarthy D., Smith D. J.* Nitric oxide is suppressed in steroid impaired and diabetic wounds // *Wounds.* 1995. V. 7. P. 48–57.
  24. *Schultz G. S., Ladwig G., Wysocki A.* Extracellular matrix: review of its role in acute and chronic wounds [Electronic resource]. 2005. Mode of access: <http://www.worldwidewounds.com/2005/august/>
  25. *Slavin J.* The role of cytokines in wound healing // *J. Pathol.* 1996. Vol. 178, N 1. P. 5–10.
  26. Gosain A., DiPietro L. A. Aging and wound healing // *World Journal of Surgery.* 2004. Vol. 28, N 3. P. 321–326.
  27. *Jude E. B.* Role of neuropathy and plasma nitric oxide in recurrent neuropathic and neuroischemic diabetic foot ulcers // *Wound Repair Regen.* 2001. Vol. 9. P. 353–359.
  28. *Ratios* of activated matrix metalloproteinase-9 to tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in wound fluids are inversely correlated with healing of pressure ulcers / G. P. Ladwig [et al.] // *Wound Repair Regen.* 2002. Vol. 10, N 1. P. 26–37.
  29. *Harding K. G., Morris H. L., Patel G. K.* Healing chronic wounds // *BMJ.* 2002. 324. P. 160–163.
  30. *Hartmann A. G. P.* Методическое руководство по лечению ран; под ред. А. Г. Р. Hartmann. М.: Пауль Хартманн, 2000. 106 с.
  31. *Ignarro L. J., Buga G. M., Wood K. S. et al.* Endothelium derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007. V. 84. P. 9265–9269.
  32. *Lawrence C. M., Matthews J. N., Cox N. H.* The effect of ketanserin on healing of fresh surgical wounds // *Br. J. Dermatol.* 2005. V. 132. P. 580–586.
  33. *Lundberg C., Gerdin B.* The role of histamine and serotonin in the inflammatory reaction in an experimental model of open wounds in the rat // *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.* 1984. V. 18. P. 175–180.
  34. *Tonnesen M. G., Feng X., Clark R. A.* Angiogenesis in wound healing // *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc.* 2000. Vol. 5, N 1. P. 40–06.
  35. *Enoch S., Price P.* Cellular, molecular and biochemical differences in the pathophysiology of healing between acute wounds, chronic wounds and wounds in the aged // *World Wide Wounds* [Electronic resource]. 2004. Mode of access: <http://www.worldwidewounds.com/2004/august/Enoch/>
  36. *Gibson D. J., Schulftz G.* Chronic wound diagnostic for matrix metalloproteinase // *Woundhealing Southern Africa.* 2009. Vol. 2, N 2. P. 68–70.
  37. *Moore K., Ruge F., Harding K. G.* T-lymphocytes and the lack of activated macrophages in wound margin biopsies from chronic leg ulcers // *Br. J. Dermatol.* 1997. Vol. 137, N 2. P. 188–194.
  38. *Changes* in cellular motility and cytoskeletal actin in fibroblasts from patients with chronic venous insufficiency and in neonatal fibroblasts in the presence of chronic wound fluid / J. D. Raffetto [et al.] // *J. Vasc. Surg.* 2001. Vol. 33, N 6. P. 1233–1241.
  39. *Schaffer M. R., Efron P. A., Thornton F. J., et al.* Nitric oxide, an autocrine regulator of wound fibroblast synthetic function // *J. Immunol.* 1997. V. 158, № 5. P. 2375–2381.
  40. *Shleiffenbaum B.* Regulation and selectivity of leukocyte emigration // *J. Lab. Clin. Med.* 2006. Vol. 127. P. 151–168.
  41. *Schultz G. S., Mast B. A.* Molecular analysis of the environment of healing and chronic wounds: cytokines, proteases and growth factors // *Wounds.* 2008. Vol. 10. Suppl. F. P. 1F–9F.
  42. *Cook H., et al.* Defective extracellular matrix reorganization by chronic wound fibroblasts is associated with alterations in TIMP-1, TIMP-2, and MMP-2 activity // *J. Invest. Dermatol.* 2000. Vol. 115, N 2. P. 225–233.
  43. *Connexin* levels regulate keratinocyte differentiation in epidermis / S.

- Langlois [et al.] // J. biological chemistry. 2007. Vol. 282, N 41. P. 30171–30180.
44. *Connexins 26, 30, and 43: differences among spontaneous, chronic, and accelerated human wound healing* / J. M. Brandner [et al.] // J. Invest. Dermatol. 2004. Vol. 122. P. 1310–1320.
  45. *Protease inhibitors protect growth factor activity in chronic wounds* / M. Wlaschek [et al.] // Br. J. Dermatol. 1997. Vol. 137, N 4. P. 646.
  46. *Expression and proteolysis of vascular endothelial growth factor is increased in chronic wounds* / G. Lauer [et al.] // J. Invest. Dermatol. 2000. Vol. 115, N 1. P. 12–18.
  47. *Sequential changes in histologic pattern and extracellular matrix deposition during the healing of chronic venous ulcers* / S. E. Herrick [et al.] // Am. J. Pathol. 1992. Vol. 141, N 5. P. 1085–1095.
  48. *Grinnell F., Zhu M. Fibronectin degradation in chronic wounds depends on the relative levels of elastase, alpha1-proteinase inhibitor, and alpha2-macroglobulin* // J. Invest. Dermatol. 2006. Vol. 106, N 2. P. 335–341.
  49. *Trengove N. J., Bielefeldt–Ohmann H., Stacey M. C. Mitogenic activity and cytokine levels in non-healing and healing chronic leg ulcers* // Wound Repair Regen. 2000. Vol. 8, N 1. P. 13–25.
  50. *The proliferative capacity of neonatal skin fibroblasts reduced after exposure to venous ulcer wound fluid: A potential mechanism for senescence in venous ulcers* / M. V. Mendez [et al.] // J. Vasc. Surg. 1999. Vol. 30, N 4. P. 734–743.
  51. *Differences in cellular infiltrate and extracellular matrix of chronic diabetic and venous ulcers versus acute wounds* / M. A. Loots // J. Invest. Dermatol. 2008. Vol. 111, N 5. P. 850–857.
  52. *Proliferative capacity of venous ulcer wound fibroblasts in the presence of platelet – derived growth factor* / R. Vasquez [et al.] // Vasc. Endovascular Surg. 2004. Vol. 38, N 4. P. 355–360.
  53. *Faraci F. M., Heistad D. D. Endothelium-derived relaxing factor inhibits constrictor responses of large cerebral arteries to serotonin* // J. Cereb. Blood Flow Metab. 2002. V. 12. P. 500–506.
  54. *Fedorov D., Ivanov A., Ivashkin A., et al. The features of reparation of chronic cutaneous wounds* // Virchows Arch. 2001. Vol. 439, N 3. P. 368.
  55. *Fibroblasts cultured from distal lower extremities in patients with venous reflux display cellular characteristics of senescence* / M. V. Mendez [et al.] // J. Vasc. Surg. 1998. Vol. 28, N 6. P. 1040–1050.
  56. *Franks C. R., Palmer P. A. Future prospects for Interleukin-2 therapy* // The Role of Interleukin-2 in the treatment of cancer patients ; Wagstaff J. (ed.). 1995. P. 169–185.
  57. *Causes and effects of chronic inflammation in venous leg ulcers* / M. S. Agren [et al.] // Acta Derm. Venereol. Suppl. (Stockh). 2000. Vol. 210. P. 3–17.
  58. *Telgenhoff D., Shroot B. Cellular senescence mechanisms in chronic wound healing* // Cell Death and Differentiation. 2005. N 12. P. 695–698.
  59. *Gilchrist B. A. In vitro assessment of keratinocyte aging* // J. Invest. Dermatol. 1983. Vol. 81. Suppl. 1. P. 184–189.
  60. *Salim A. S. The role of oxygen-derived free radicals in the management of venous (varicose) ulceration: a new approach* // World J. Surg. 1991. Vol. 15, N 2. P. 264–269.
  61. *Howlader M. H., Smith P. D. Increased plasma total nitric oxide among patients with severe chronic venous disease* // Int. Angiol. 2002. Vol. 21, N 2. P. 180–186.
  62. *Richard G. Connexins: a connection with the skin* / G. Richard // Exp. Dermatol. 2000. Vol. 9. P. 77–96.
  63. *Mesèe G., Richard G., White T. W. Gap Junctions: basic structure and function* // Journal of Investigative Dermatology. 2007. Vol. 127. P. 2516–2524.
  64. *Wei C. J., Xu X., Lo C. W. Connexins and cell signaling in development and disease* // Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 2004. Vol. 20. P. 811–838.
  65. *Wetzler C., Kampfer H., Frank S. Keratinocyte-derived chemotactic cytokines: expressional modulation by nitric oxide in vitro and during cutaneous wound repair in vivo* // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2000. V. 274, N 3. P. 689–696.

#### Информация об авторах

**Мнихович Максим Валерьевич** – к.м.н., ведущий научный сотрудник Центральной патолого-анатомической лаборатории ФГБУ “Научно-исследовательского института морфологии человека РАМН”, доцент кафедры патологической анатомии № 2 ГБОУ ВПО “Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова” Минздрава России. E-mail: mnichmaxim@yandex.ru

**Фомина Людмила Васильевна** – д.м.н., профессор кафедры нормальной анатомии Винницкого национального медицинского университета им. Н. И. Пирогова, г. Винница, Украина. E-mail: admission@vsmu.vinnica.ua

**Мигляс Владимир Георгиевич** – к.м.н., доцент, зав. курсом патологической анатомии при кафедре нормальной физиологии и патофизиологии медицинского факультета Ужгородского национального университета, г. Ужгород, Украина. E-mail: MegicVG@mail.ru

Поступила в редакцию 30.04.2013 г.