

## КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КЕЛОИДНЫХ РУБЦОВ ГОЛОВЫ И ШЕИ.

Е.А. Коган<sup>1</sup>, В.В. Андреева<sup>2</sup>, И.В. Решетов<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Институт “Клинической Морфологии и Цифровой патологии” ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

<sup>2</sup> Отделение челюстно-лицевой хирургии ГБУЗ МО МОНИКИ им.М.Ф.Владимирского, Москва, Россия

<sup>3</sup> Институт кластерной онкологии. Кафедра онкологии, радиотерапии и пластической хирургии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

ВВА: [viktoriaa@yandex.ru](mailto:viktoriaa@yandex.ru)

## CLINICAL - MORPHOLOGICAL AND PATHOGENETIC KELOID SCARS PARTICULARITIES OF THE HEAD AND NECK.

E.A. Kogan<sup>1</sup>, V.V. Andreeva<sup>2</sup>, I.V. Reshetov<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Institute of Clinical Morphology and Digital Pathology FGAOU in the First MG MU named after THEM. Sechenova, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Branch of the maxillofacial surgery of the GBUZ MOKIKI named after M.F. Vladimirovsky, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Institute of Cluster Oncology. The Department of Oncology, Radio Therapy and Plastic Surgery of FGAOU in the First MG MU named after THEM. Sechenova, Moscow, Russia

VVA: [viktoriaa@yandex.ru](mailto:viktoriaa@yandex.ru)

**Аннотация:** Целью исследования явилось изучение клинико-морфологических и патогенетических особенностей келоидных рубцов (КР) головы и шеи. Материалы и методы: проведено открытое контролируемое проспективное одноцентровое исследование 110 пациентов с биопсией рубцовой ткани. Для иммуногистохимических исследований (ИГХ) в качестве первичных антител использовали мышиные моноклональные антитела к коллагену I типа (клон 3G3, Santa Cruz, разведение 1:100), коллагену III типа (клон B-4, Santa Cruz, разведение 1:50), коллагену IV типа (клон COL-94, Santa Cruz, разведение 1:50), MMP-1 (клон 3B6, Santa Cruz, разведение 1:100), SMA (клон 1A4, Dako Agilent, разведение 1:100) и TGFβ (клон 3C11, Santa Cruz, разведение 1:100). Установлены различия рубцовых деформаций КР от их степени зрелости по накоплению коллагенов, выраженности остеокластической и миофибробластической реакций, а также неоангиогенеза. Патогенетической особенностью КР является образование труднодеградируемой рубцовой ткани с большим содержанием коллагена I типа и неэффективной остеокластической реакцией. Выявленные клинико-морфологические и патогенетические особенности зрелых и незрелых КР в области головы и шеи должны определять способы их лечения.

**Ключевые слова:** келоидные рубцы, голова и шея, иммуногистохимия, коллаген, TGF-, MMP1, SMA, ангиогенез, остеокласты, миофибробласты

DOI: [10.25792/HN.2022.10.2.S1.50-54](https://doi.org/10.25792/HN.2022.10.2.S1.50-54)

**Для цитирования:** Коган Е.А., Андреева В.В., Решетов И.В. Клинико-морфологические и патогенетические особенности келоидных рубцов

головы и шеи. Head and neck. Russian Journal. 2022; 10 (2, Прил.1): 50-54

**Abstract:** The aim of the study was to study clinical - morphological and pathogenetic keloid scars (KS) particularities of the head and neck. Materials and methods: an open controlled prospective single-center study of 110 patients with scar tissue biopsy was conducted. For immunohistochemical studies (IHC), mouse monoclonal antibodies to type I collagen (clone 3G3, Santa Cruz, dilution 1:100), type III collagen (clone B-4, Santa Cruz, dilution 1:50), type IV collagen (clone COL-94, Santa Cruz) were used as primary antibodies, breeding 1:50), MMP-1 (clone 3B6, Santa Cruz, breeding 1:100), SMA (clone 1A4, Dako Agilent, breeding 1:100) and TGFβ (clone 3C11, Santa Cruz, breeding 1:100). The differences of scar deformities of the KS from their degree of maturity in the accumulation of collagens, the severity of osteoclastic and myofibroblastic reactions, as well as neoangiogenesis were established. The pathogenetic feature of KS is the formation of difficult-to-degrade scar tissue with a high content of type 1 collagen and an ineffective osteoclastic reaction. The revealed clinical, morphological and pathogenetic features of mature and immature KS in the head and neck should determine the methods of their treatment.

**Keywords:** keloid scar deformities, head and neck, immunohistochemistry, collagens, TGF-, MMP1, SMA, angiogenesis, osteoclasts, miofibroblasts

**For citation:** Kogan E.A., Andreeva V.V., Reshetov I.V. Clinical-morphological and pathogenetic keloid scars particularities of the head and neck. Head and neck. Russian Journal. 2022; 10 (2, Suppl. 1): 50-54

**Введение.** Пластическая хирургия накопила большой опыт в диагностике и лечении келоидных рубцовых деформаций кожи с использованием

современных методик. Это заставляет по-новому переосмыслить их патогенетические и клинимо-морфологические особенности [1-5]. При этом, особый интерес вызывают келоидные рубцы в области головы и шеи, как из-за эстетического дискомфорта, так и нарушенной функции органа, вызывая деформацию мягких тканей, что может провоцировать развитие психологических травм, снижение качества жизни, порождая чувство неуверенности, неполноценности, уменьшая трудовые и духовные возможности человека, что может приводить к развитию интеркуррентных заболеваний психосоматического происхождения [6].

Обсуждается роль миофибробластов в формировании рубцовой ткани, которые в результате хронического воспаления при постоянном механическом стрессе в ткани гиперактивизируются, что также может приводить к нарушениям нормального процесса репарации [7]. Остеокластоподобные элементы в келоидных рубцах освещены в литературе в меньшей степени, при этом раскрыта их роль в процессах сформированной и не сформированной рубцовой ткани [8]. Определена не до конца роль трансформирующего фактора роста (TGF $\beta$ ), который регулирует пролиферацию, дифференцировку, апоптоз, адгезию и миграцию различных клеток, и играет важную роль в склеротических изменениях при формировании келоидных рубцов [9,10].

Анализ доступных работ показал, что отсутствие комплексных морфологических исследований рубцовой патологии келоидных рубцов кожи делает невозможным определить четкий алгоритм действий практического врача, разработки новых подходов к решению различных аспектов в лечении и профилактике рубцов кожи остаются неоднозначными [11].

**Материалы и методы.** Целью исследования явился клинимо-морфологический анализ особенностей келоидных рубцов кожи в области головы и шеи с учетом их молекулярно-биологических и структурных особенностей, а также степени зрелости рубцовой ткани.

Дизайн исследования – открытое контролируемое проспективное одноцентровое исследование 110 пациентов с келоидными рубцами в области головы и шеи. Среди них женщин 71 (64,5%), мужчин 39 (35,5%) (рис.1).

Длительность заболевания составляла от 1 месяца до 2 лет. Рубцы имели площадь 1—8 см<sup>2</sup> и локализовались: в области ушной раковины в 19 %; в области носа, параорбитальной области и области верхней и нижней губы в 13,6 %; в области шеи в 11,8% случаях.

При клиническом обследовании проводили общее клинимо-лабораторное и инструментальное

обследование и оценивали общее состояние пациента.

**Критерии соответствия:** Критериями включения в исследование являлось диагностированный келоидный рубец, возраст 18-70 лет. Критерии исключения: другие хирургические патологии, возраст моложе 18 и старше 70 лет. Диагноз рубцового поражения устанавливался на основании анамнеза заболевания, клинических проявлений (визуальный осмотр и пальпация), биопсии рубца с последующим патоморфологическим и иммуногистохимическим исследованиями.

**Морфологические методы:**

**Гистологический метод.** Материал для проведения гистологического и ИГХ исследования, фиксировался в 10% забуференном формалине. Фиксация, проводка, заливка в парафин и окрашивание серийных срезов толщиной 4 мкм по гематоксилину и эозину Ван-Гизону выполнялись по стандартным протоколам.

**Оценка гистологических изменений** для выраженности склероза с грубыми коллагеновыми волокнами, гиалиноза, воспалительной реакции, неопластического ангиогенеза, а также степени отграничения рубцовой ткани осуществлялась в баллах по степени выраженности от 2 до 6 баллов: низкая – 2 балла, умеренная – 4, высокая – 6 баллов.

Количество остеокластов и миофибробластических элементов рассчитывалась в процентах на 300 клеток рубцовой ткани.

**Иммуногистохимический метод (ИГХ).** Для ИГХ исследования изготавливались серийные парафиновые срезы толщиной 4 мкм, расположенные на стеклах, покрытых полилизинным слоем (Menzel Glaser Polylysine, Германия). Реакции проводились в соответствии с международными рекомендациями [12].

В качестве первичных антител использовали мышинные моноклональные антитела к коллагену I типа (клон 3G3, Santa Cruz, разведение 1:100), коллагену III типа (клон B-4, Santa Cruz, разведение 1:50), коллагену IV типа (клон COL-94, Santa Cruz, разведение 1:50), MMP-1 (клон 3B6, Santa Cruz, разведение 1:100), SMA (клон 1A4, Dako Agilent, разведение 1:100) и TGF $\beta$  (клон 3C11, Santa Cruz, разведение 1:100). Ставили положительные и отрицательные контроли. В качестве отрицательных контролей брали образцы исследуемых срезов, которые подвергались стандартной процедуре ИГХ исследования, но без инкубации с первичными антителами. Положительный контроль для каждого антитела отбирали в соответствии с рекомендациями производителя антител.

**Оценка результатов иммуногистохимических реакций** для всех изученных маркеров оценивалась в

баллах по степени выраженности от 2 до 6 баллов: низкая – 2 балла, умеренная – 4, высокая – 6 баллов. При этом для оценки коллагенов учитывалась относительная занимаемая ими площадь в препаратах:  $S \leq 10\%$  - 2 балла;  $S \leq 40\%$  - 4 балла;  $S \geq 40\%$  - 6 баллов.

*Статистический анализ.* Статистическую обработку результатов проводили в программах STATISTICA 8 и GraphPad Prism 8. Различия при значении p-value менее 0,05 считали статистически значимыми.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Клинический анализ материала показал, что количество женщин в 1,8 раз превышало пациентов мужского пола. Пациенты обращались с рубцами в большинстве случаев в течение первого года. Это говорит о высокой мотивации пациентов данной группы, т.к. в данном исследовании участвуют пациенты с локализацией в области лица. Обращает внимание разное расположение рубцов. Основным расположением келоидных рубцов приходится на область ушной раковины (7,3%), что соответствует данным литературы [11].

*Гистологическое исследование КР.* При гистологическом исследовании келоидный рубец, как правило, четко отграничен от сохранной ткани (рис.2а). Структура келоидного рубца отличается наличием грубых, хаотично расположенных коллагеновых волокон и толстых, лентовидных и колбообразных гиалиновых структур (рис.2б), окрашивающихся пикрофуксином по Ван Гизону в красный цвет. Многослойный плоский эпителий эпидермиса в зоне рубца атрофирован, а в ряде случаев имеет акантогические тяжи вглубь подлежащей рубцовой ткани. Среди масс коллагеновых отложений нередко обнаруживаются многоядерные гигантские клетки типа остеокластов.

На основании анализа данных морфологического исследования в нашем материале среди пациентов с келоидными рубцами зрелые были у 59 пациентов (53,6%), незрелые у 51 пациента (46,4%). Поэтому сравнение зрелых и незрелых келоидных рубцов позволило установить нам ряд морфологических особенностей келоидных рубцов в зависимости от степени их зрелости (табл.1). Так, в зрелых келоидных рубцах практически не обнаруживаются воспалительные изменения, миофибробласты и сосуды капиллярного типа (рис. 2с). Напротив, в незрелых келоидных рубцах выявляются более выраженные воспалительные инфильтраты, пучки миофибробластов, неоангиогенез с формированием сосудов капиллярного типа (табл.1), менее выражена остеокластическая реакция. В ряде случаев зона отграничения нечеткая. Описанные различия отражают стадийность репаративных процессов в келоидных рубцах.

*Иммуногистохимическая характеристика келоидных рубцов.* При иммуногистохимическом исследовании в келоидных рубцах обнаружено накопление коллагенов. При сравнении относительных площадей, занимаемых коллагенами, в зрелых рубцах преобладал коллаген 1 типа, над коллагеном 3 и 4 типов, отсутствовала эластика (табл.2). Соотношение коллагена 1 к коллагену 3 составляло 6:1,3 (табл.2) (рис.3а,б) и коллагена 1 к коллагену 4 равнялось 6:0,7. Кроме того, выявлены единичные  $\alpha$ -SMA положительные миофибробласты, низкий уровень MMP1 в остеокластах (рис.3с), не определялась экспрессия TGF- $\beta$ .

В незрелых келоидах коллагены 1 и 3 типа присутствовали в соотношении 1,9 за счет относительного увеличения коллагена 3 типа, а K1\K4=6:2. Эластика также отсутствовала. Более 40%  $\alpha$ -SMA положительных миофибробластов среди клеток инфильтрата, высокая продукция MMP1 макрофагами и остеокластами, низкий уровень продукции TGF- $\beta$  макрофагами и миофибробластами (рис.3д), (табл. 2).

Таким образом, незрелые келоидные рубцы отличаются от зрелых более выраженным относительным накоплением коллагена 3 типа, активностью MMP1 в макрофагах и миофибробластических элементах, достоверно большим количеством  $\alpha$ -SMA - положительных миофибробластических элементов. Это отражает незавершенность в них процессов репарации.

Нами установлено, что в незрелых келоидных рубцах имеются стереотипные процессы, отражающие активность процессов репарации в виде неоангиогенеза, миофибробластических фокусов, воспалительных инфильтратов, относительного большего накопления коллагена 3 типа.

При данном исследовании в незрелых келоидных рубцах были повышены миофибробласты,  $\alpha$ -SMA+, ангиогенез, воспаление клеток. Это свидетельствует о наличии активизации процессов формирования рубца.

Были выявлены диагностически значимые отличия между зрелыми (сформированными) и незрелыми (несформированными) келоидными рубцами, что отражает особенности процессов репарации при их образовании.

Сравнительный клинико-морфологический анализ КР по нашим данным и данным литературы позволяет нам выдвинуть гипотезу об их патогенетических особенностях (рис.4).

**Заключение.** Келоидные рубцы имеют клинико-морфологические и патогенетические особенности. Патогенез келоидных рубцов связан с активацией миофибробластов в ходе репарации раны, с продукцией ими труднодеградируемого

гиалинизированного коллагена, со значительным преобладанием коллагенов 1 типа. В результате формируется труднодеградируемая рубцовая ткань, о чем свидетельствует развитие остеокластической реакции, с продукцией ими MMP 1 типа, что оказывается не эффективным в зрелых келоидных рубцах, о чем свидетельствует сохранение келоидного рубца. Не эффективная попытка разрушения рубцовой ткани остеокластами.

Описанные различия зрелых и незрелых келоидных рубцов отражает стадийность репаративных процессов в этих рубцах.

На основании представленных исследований можно сказать, что такая детальная патоморфологическая диагностика келоидных рубцовых деформаций на ранних этапах их формирования крайне важна для более точного планирования лечения данной патологии. При исследовании с помощью ИГХ и мы можем точно сказать на какой стадии формирования находится рубцовая ткань и с вероятностью 99,9% определить верную тактику лечения.

Таким образом, проведение гистологического и иммуногистохимического исследований рубцовой ткани у келоидных рубцов позволяет увидеть целостную картину выявленной патологии и подобрать соответствующее лечение, что имеет большое практическое значение в прикладной медицине.



Рисунок 1. Пациенты с келоидными рубцами в области головы и шеи.

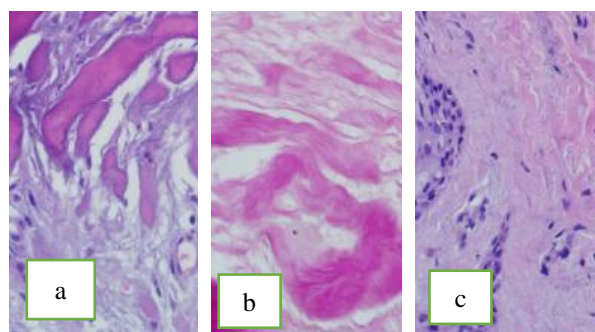


Рисунок 2. Гистологическая картина зрелого келоидного рубца с грубым труднодеградируемым коллагеном (a, b) и незрелого келоидного рубца с миофибробластами и сосудами (c).

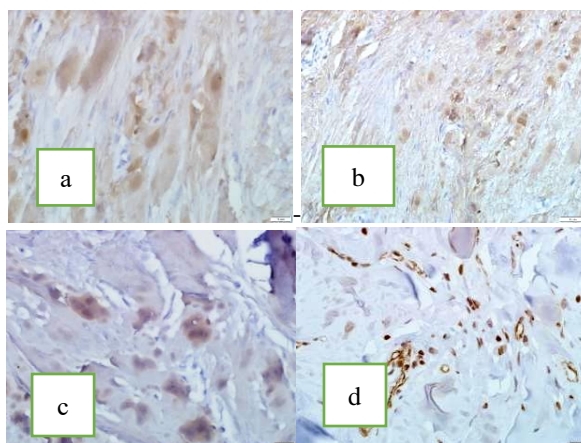


Рисунок. 3. Иммуногистохимическая картина келоидных рубцов (Иммунопероксидазная реакция). Условные обозначения: коллаген I типа (a), коллаген III типа (b), MMP1 в остеокластических элементах (c); незрелые келоидные рубцы α-SMA в миофибробластическом фокусе (d).

Таблица 1. Морфологическая характеристика келоидных рубцов (M+m)

	Группа коллагенов	Гиалин	Грациоза	Воспаление	Остеокласты	МФБ	Ангиогенез
КР больше года (зрелые)	6,0±0,0	6,0 ± 0,0	6,0± 0,0	1,0± 0,6	5,5 ±0,5	0,0 ± 0,0	0,0± 0,0
КР меньше года (незрелые)	6,0±0,0	6,0 ± 0,0	4,3± 0,7	4,9±0,4	4,0 ±0,0	5,4 ± 0,4	4,9± 0,4

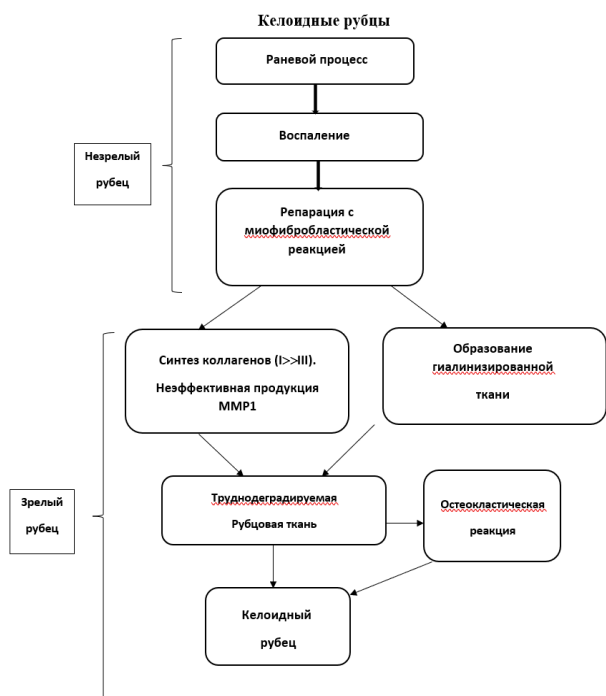


Рисунок 4. Гипотеза патогенеза келоидных рубцов

Таблица 2. Келоидные рубцы ИГХ (M+-m)

Тип рубца	Коллаген 1	Коллаген 3	Коллаген 4	Эластика	MMPI	SM A	TGFb
Келоиды больше года (зрелые)	6,0±0,0	1,3±0,3	0,7±0,3	0,0±0,0	0,7±0,7	0,3±0,3	0,0±0,0
Келоиды больше года (незрелые)	6,0±0,0	3,1±0,6	2,0±0,0	0,0±0,0	6,0±0,0	5,7±0,3	2,0±0,0

Конфликты интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Ляховецкий Б.И., Глазкова Л.К., Перетолчина Т.Ф. Кожные признаки недифференцированной дисплазии соединительной ткани. Современные проблемы дерматовенерологии, иммунологии и врачебной косметологии. 2012; 1 (20): 30–35.
2. Шишкина В.В., Атякшин Д.А. Тучные клетки и фибриллогенез коллагена в условиях невесомости. Журнал анатомии и гистопатологии. 2019; 8 (3): 79–88.
3. Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease. 10th Edition - Vinay Kumar, Abul Abbas, Jon Aster 2019; 1392p
4. Мишина Е.С., Затолокина М.А., Сергеева С.Ю. Изучение факторов динамического

структурирования коллагеновых волокон в эксперименте. Морфология. 2019; 11 (2): 199.

5. Омеляненко Н.П., Слуцкий Л.И. Соединительная ткань (гистофизиология и биохимия). М.: Известия, 2009; 1: 380.

6. Мишина Е.С., Затолокина М.А., Мнихович М.В., Харченко В.В. Морфофункциональные особенности соединительнотканного рубца на коже у повторнородящих женщин после оперативного родоразрешения. Вестник РГМУ. 2021; 1: 43-47

7. Ковалёва Л.Н. Клинико-морфологические параллели у пациентов с рубцовой патологией кожи. Дерматовенерология. Косметология. Сексопатология 2016; 1-4: 108-117.

8. Dorfmueller M. Psychological management and after-care of severely burned patients. Unfallchirurg. 1995; 98: 213–217.

9. W.Liu, D. R. Wang and Y. L. Cao TGF-b: A Fibrotic Factor in Wound Scarring and a Potential Target for Anti-Scarring Gene Therapy, 2004; 4 (1) : 123 – 136.

10. Transforming growth factor beta (TGF-β) isoforms in wound healing and fibrosis Michael K. Lichtman MD, Marta Otero-Vinas PhD, Vincent Falanga MD, FACP First published, 2015; 3: 187-196.

11. Озерская О.С. Рубцы кожи и их дерматокосметологическая коррекция, 2007; 1: 248

12. Кумар Г.Л., Рудбек Л. Иммуногистохимические методы. DAKO, М., 2011; 224.