

## ЗРЕЛЫЕ И НЕЗРЕЛЫЕ ГИПЕРТРОФИЧЕСКИЕ РУБЦЫ ГОЛОВЫ И ШЕИ: КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ, ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА.

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)

## MATURE AND IMMATURE HYPERTROPHIC SCARS IN THE HEAD AND NECK AREA: CLINICAL, MORPHOLOGICAL, PATHOGENETIC CHARACTERISTICS.

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 зрелых и незрелых гипертрофических рубцов (ГР) головы и шеи. **Материалы и методы:** проведено открытое контролируемое проспективное одноцентровое исследование 176 пациентов с биопсией рубцовой ткани. Для иммуногистохимических исследований (ИГХ) 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 TGFβ (клон 3C11, Santa Cruz, разведение 1:100). В работе продемонстрированы отличительные клинические, морфологические и иммуногистохимические характеристики, особенности патогенеза зрелых и незрелых гипертрофических рубцов области головы и шеи. Выявлены отличия зрелых и незрелых ГР по накоплению коллагенов, миофибробластических элементов- α-SMA, TGF-β, MMP1 макрофагов. В незрелых ГР отмечалась более высокая экспрессия TGF-β и выраженная воспалительная реакция с активным неоангиогенезом. Установлено влияние TGF-β на формирование ГР. Проведенное исследование позволяет увидеть целостную картину выявленной патологии и подобрать соответствующее лечение пациентам с ГР.

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

DOI: [10.25792/HN.2022.10.2.S1.53-57](https://doi.org/10.25792/HN.2022.10.2.S1.53-57)

**Для цитирования:** Коган Е.А., Андреева В.В., Решетов И.В. Зрелые и незрелые гипертрофические рубцы головы и шеи: клинико-морфологическая, патогенетическая характеристика. Head and neck. Russian Journal. 2022; 10 (2, Прил. 2): 53-57.

**Abstract:** The aim of the article was to study the clinical, morphological and pathogenetic features of mature and immature hypertrophic scars (HS) of the head and neck. Materials and methods: an open controlled prospective single-center study of 176 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 study demonstrates distinctive clinical, morphological and immunohistochemical characteristics, features of the pathogenesis of mature and immature hypertrophic scars of the head and neck. Differences between mature and immature HS in the accumulation of collagens, myofibroblastic elements, α-SMA, TGF-β, MMP1 macrophages were revealed. In immature HS, there was a high expression of TGF-β, a more pronounced inflammatory reaction with active neoangiogenesis. The effect of TGF-β on the formation of HR has been established. The conducted study allows us to see a complete picture of the revealed pathology and to choose the appropriate treatment for patients with GR. **Keywords:** Hypertrophic scar deformities, head and neck, immunohistochemistry of collagens, TGF-, MMP1, SMA, angiogenesis, myofibroblast

**For citation: Kogan E.A., Andreeva V.V., Reshetov I.V. Mature and immature hypertrophic scars in the head and neck area: clinical, morphological, pathogenetic characteristics. Head and neck. Russian Journal. 2022; 10 (2, Suppl. 2): 53-57 (In Russian).**

**Введение.** По данным ВОЗ, только после травм и хирургических вмешательств более чем у 100 млн. пациентов остаются рубцы разной площади и локализации [1-2]. При этом, особый интерес вызывают гипертрофические рубцы (ГР) в области головы и шеи, которые приводят не только к эстетической неудовлетворенности внешним видом, но и нарушению функции органов. Современные возможности пластической хирургии позволяют восстановить ряд эстетических и функциональных нарушений. Применение современных методик диагностики с установлением механизмов патогенеза может служить основой для пересмотра традиционно сложившихся методов лечения [3,4].

Таким образом, в диагностике завершенности процесса формирования ГР мягких тканей большую роль играют молекулярно-биологические и структурные маркеры рубцовой ткани, которые могут быть отслежены с помощью гистологических и иммуногистохимических методов. Только благодаря клиничко-морфологическому анализу с оценкой гистологических и иммуногистохимических значений можно подобрать корректное лечение на разных сроках формирования рубцовой ткани ГР.

**Материалы и методы.** Целью исследования явилось изучение клиничко-морфологических и патогенетических особенностей зрелых и незрелых ГР головы и шеи.

**Пациенты.** Дизайн исследования – открытое контролируемое проспективное одноцентровое исследование 176 пациентов женского (114 (64,7%)) и мужского пола (62 пациента (35,2%)) с ГР поражениями головы и шеи (рис.1).

Длительность заболевания составляла от 1 месяца до 2 лет. Рубцы имели площадь 1–12 см<sup>2</sup>. Распределение локализации очага у пациентов с ГР в области головы и шеи представлены в таблице №1. **Критерии соответствия:** Критериями включения в исследование являлось диагностированный ГР, 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 ИГХ исследованиями.

## 2.2. Морфологические методы:

**Гистологический метод.** Биопсии фиксировались в 10% забуференном формалине и обрабатывались по стандартным протоколам с окраской парафиновых

срезов толщиной 4 мкм гематоксилином и эозином и по Ван Гизону [5].

**Оценка гистологических изменений:** выраженности склероза, гиалиноза, воспалительной реакции, неоангиогенеза, а также степени отграничения рубцовой ткани осуществлялась полуколичественно от 2 до 6 баллов: низкая – 2 балла, умеренная – 4, высокая – 6 баллов. Количество 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 [6]. В качестве первичных использовались 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 TGFβ (клон 3C11, Santa Cruz, разведение 1:100). В качестве системы детекции применялась универсальная полимерная система Histofine® Simple Stain MAX PO (MULTI) (Nichirei, Япония). Ставили положительные и отрицательные контроли.

**Результаты ИГХ реакций** оценивались в баллах (от 2 до 6) по выраженности экспрессии или площади распространения для коллагенов (S ≤ 10% - 2 балла; S ≤ 40% - 4 балла; S ≥ 40% - 6 баллов).

**Статистический анализ.** Результаты исследования были статистически обработаны (программа STATISTICA 8 и GraphPad Prism 8). Статистически значимыми различия считали при значении p-value менее 0,05.

**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. Так локализация ГР в большинстве случаев приходится на область верхней/нижней губы и угла рта (15,9%), шеи (14,2%), параорбитальной и околоушной области (13,1%), что соответствует данным литературы [7].

**Гистологическое исследование гипертрофических рубцов.** При микроскопическом исследовании ГР установлено, что особенностью их структуры является массивное образование соединительной ткани с вихревой и кольцевидной укладкой, нередко – с формированием узлов, выступающее над поверхностью кожи. ГР не отграничены от сохранной соединительной ткани и распространяются вокруг сосудов, придатков кожи, очагов жировой ткани. Часто

встречаются очаговые воспалительные лимфомакрофагальные инфильтраты, пучки миофибробластов и сосуды капиллярного типа (Рис.2, табл.2).

При ИГХ и гистологическом исследованиях среди пациентов с ГР зрелые были у 108 пациентов (61,4%), незрелые у 68 пациентов (38,6%).

Незрелые ГР, существовавшие меньше года отличались более выраженной воспалительной реакцией, большим количеством миофибробластов и сосудов капиллярного типа (Рис.2с, табл. 2).

*ИГХ характеристика ГР* также зависела от степени зрелости (таб.3). В зрелых ГР преобладал коллаген 1 типа. Эластика сохранялась. Экспрессия MMP1 не определялась. Определялись более 40%  $\alpha$ -SMA положительные миофибробласты среди клеток инфильтрата, отсутствие продукции MMP1 макрофагами и умеренный уровень продукции TGF- $\beta$  макрофагами и миофибробластами (рис. 3е,ф).

В незрелых ГР преобладание коллагена 1 было не столь выражено и составляло K1/K3= 6:3,1 (рис.3б), а K1/K4=6:2 (рис.3а,д). Эластика сохранялась (рис.3с). Более 40%  $\alpha$ -SMA положительные миофибробласты среди клеток инфильтрата, высокая продукция MMP1 макрофагами и остеокластами, низкий уровень продукции TGF- $\beta$  макрофагами и миофибробластами (рис. 3 д,е,ф).

**Заключение.** При проведении данного исследования нами были выявлены диагностически значимые отличия между зрелыми и незрелыми ГР, что отражает особенности процессов неполной репарации тканей при их образовании.

Отличительной чертой ГР является инфильтрирующий характер распространения рубцовой ткани с обрастанием предсуществующих структур (сосуды, придатки кожи), соотношением коллагена 1 и 3 типа равным 1,6 в зрелых, а в незрелых равного 1 за счет значительного содержания в них коллагена 3 типа, а также сохранением эластических волокон и миофибробластов не только на стадии созревании рубцовой ткани, но и в зрелых рубцах.

В формировании ГР участвует TGF- $\beta$ , а также MMP1, которая продуцируется только на стадии незрелости макрофагами. Описанные характеристики ГР указывают на особенности патогенетических механизмов в формировании рубцовых деформаций.

Проведенное исследование показало, что в формировании ГР активное участие принимает TGF- $\beta$ , стимулирующий процессы склероза. Незрелые ГР отличаются от зрелых более выраженным накоплением коллагена 3 типа и активностью MMP1 в макрофагах. При этом, миофибробластические элементы  $\alpha$ -SMA<sup>+</sup> обнаруживаются практически в одинаковом количестве как в незрелых, так и в зрелых рубцах, что может свидетельствовать о персистенции процессов репарации в зрелых ГР.

Морфологические и ИГХ отличия ГР отражают генетические и эпигенетические особенности, а также реактивность макроорганизма, определяющие характер репаративных процессов в тканях, а кроме того во многом связаны с локализацией раневого процесса, характером и силой действия повреждающего фактора.

При исследовании ГР было обнаружено, что длительное заживление раны обусловлено гиперактивацией воспалительных процессов, ведущей к неполной репарации [8-10]. Установлены большие различия в дермальной сосудистой сети рубцовой ткани на разных стадиях развития по сравнению со здоровой кожей. В раннюю фазу заживления в стадии формирования гипертрофического рубца суммарная площадь поперечного сечения сосудов сосочкового слоя увеличивается за счет расширения просвета сосудов, а не их увеличения [11,12]. Обсуждается 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 кожных рубцов [13,14]. Изучены механизмы формирования рубцовой ткани миофибробластами, которые в результате хронического воспаления при постоянном механическом стрессе в ткани гиперактивизируются, что также может приводить к нарушениям нормального процесса репарации. Сравнительный клинико-морфологический анализ ГР по нашим данным и данным литературы позволяет нам выдвинуть гипотезу их патогенеза (рис.4).

Раневой процесс с воспалительной реакцией приводит к активации миофибробластов, продуцирующих TGF- $\beta$ . При развитии склеротических изменений накапливаются коллагены с незначительным преобладанием коллагена 1 типа над 3 типом. Неэффективность продукции MMP1 макрофагами заканчивается формированием ГР.



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

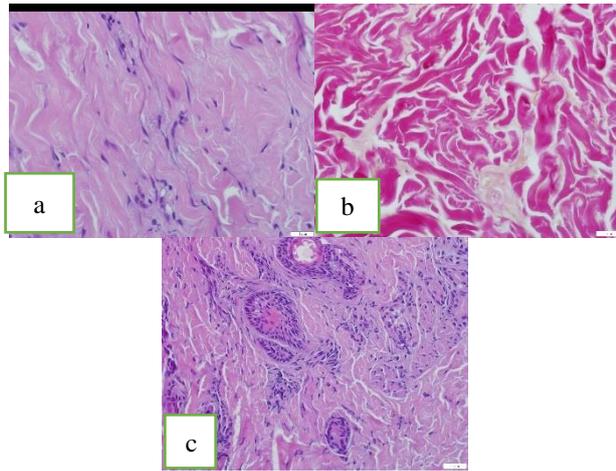


Рисунок 2. Гистологическая картина зрелых ГР. Окраска гематоксилин эозином (а, с), пикрофусцином по Ван Гизону (в). Условные обозначения: а, в, - грубые коллагеновые волокна в зрелом ГР; с – воспалительная инфильтрация, неоангиогенез и миофибробласты в незрелом ГР.

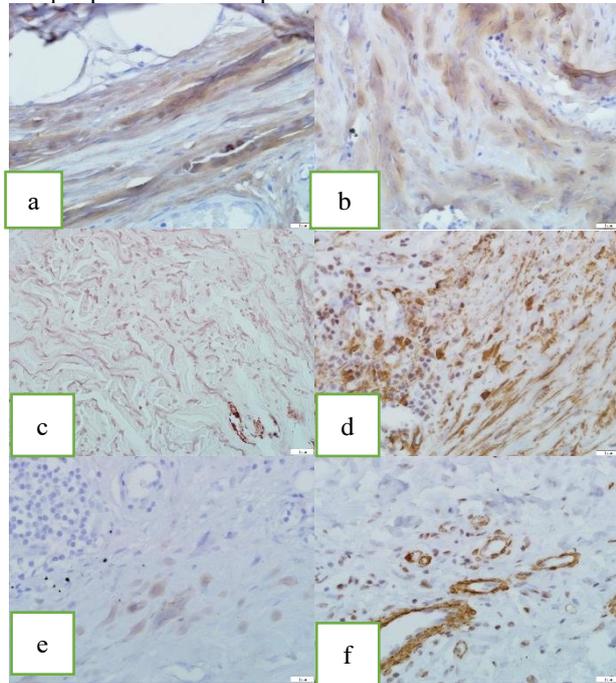


Рисунок 3. Иммуногистохимическая картина ГР (Иммунопероксидазная реакция). Условные обозначения: а – коллаген I типа в зрелом ГР; б – коллаген III типа в зрелом ГР; с – эластические волокна в зрелом ГР; d – α-SMA в миофибробластическом фокусе в зрелом ГР, е – α-SMA в миофибробластическом фокусе в незрелом ГР, f – TGF-β в эндотелии сосудов и макрофагах незрелого ГР.

Гипертрофические рубцы

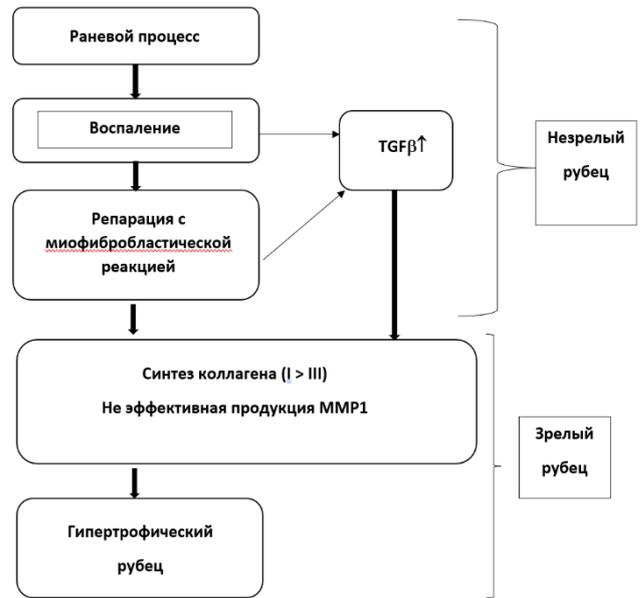


Рисунок 4. Гипотеза патогенеза гипертрофических рубцов.

Таблица 1. Локализация очагов поражения у пациентов с ГР

№	Локализация рубца	Гипертрофический рубец (кол-во/%)
1	Ушная раковина (мочка)	17 (9,6)
2	Нос (крыло, спинка, колумелла носа)	13 (7,4)
3	Щечно-скуловая область	20 (11,4)
4	Шея	25 (14,2)
5	Параорбитальная область	23 (13,1)
6	Область верхней/нижней губы, угла рта	28 (15,9)
7	Лобная область	20 (11,4)
8	Волосистая часть головы	2 (1,1)
9	Околоушная область	23 (13,1)
10	Подбородочная область	5 (2,8)
	<b>ВСЕГО:</b>	<b>176</b>

Таблица 2. Морфологическая характеристика гипертрофических рубцов (M+-m)

Тип рубца	Группа коллагенов	Гиалин	Граница	Воспаление	Остеокласты	МФБ	Ангиогенез
-----------	-------------------	--------	---------	------------	-------------	-----	------------

ГР больше года	4,0±0,0	0,1±0,1	0,0±0,0	2,7±0,2	0,0±0,0	5,6±0,2	2,4±0,2
ГР меньше года	4,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	4,7±7,0	0,0±0,0	6,0±0,0	6,0±0,0

Таблица 3. Гипертрофические рубцы. ИГХ (M+-m)

Тип рубца	K1	K3	K4	Эластика	ММР1	α-SMA	TGFβ
ГР больше года	6,0±0,0	3,6±0,4	2,0±0,0	2,0±0,0	0,0±0,0	6,0±0,0	4,0±0,0
ГР меньше года	6,0±0,0	6,0±0,0	2,0±0,0	2,0±0,0	2,7±0,7	6,0±0,0	6,0±0,0

**Заключение.** Зрелые и незрелые ГР имеют отличающиеся патогенез, морфологические, иммуногистохимические характеристики. Патогенез ГР отличается продукцией TGF-β макрофагами и миофибробластами, участвующими в регуляции репаративных процессов в ходе заживления раны, и развитием склеротических изменений с накоплением коллагенов, с гораздо преобладанием коллагена I типа над 3 типом. Неэффективность продукции MMP1 макрофагами заканчивается формированием гипертрофического рубца.

Результаты комплексного исследования клинкоморфологического и ИГХ особенностей исследования рубцовой ткани позволяют точно верифицировать тип рубца, его стадию развития и степень зрелости. Кроме того, выраженность воспалительной реакции и ангиогенеза, а также особенности накопления коллагена, эластики, матриксной металлопротеиназы, TGF-β в рубцовой ткани может быть положено в основу разработки новых методов патогенетической терапии.

Конфликты интересов: авторы не объявляют заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Озерская О.С. Рубцы кожи и их дерматокосметологическая коррекция, 2007; 1: 248
2. Dorfmueller M. Psychological management and after-care of severely burned patients. Unfallchirurg. 1995; 98:213–217.
3. Филиппова О.В., Афоничев К.А., Красногорский И.Н., Вашетко Р.В. Клинико-морфологические особенности сосудистого русла гипертрофической рубцовой ткани в разные сроки ее формирования. 2017; 5 (3): 25-35
4. Клинико-морфологические параллели у пациентов с рубцовой патологией кожи Ковалёва Л. Н. Дерматовенерология. Косметология. Сексопатология. 2016; 1(4): 218.
5. Мавликеев М.О., Архипова С.С., Чернова О.Н., Титова А.А., Певнер Г.О., Шафтуллина А.К., Киясов

А.П. Краткий курс гистологической техники. Учебно-методическое пособие под научной редакцией Р.В. Деева, Казанский Университет, 2020; 2: 107

6. Кумар Г.Л., Рудбек Л. Иммуногистохимические методы. ДАКО, М., 2011; 224.

7. 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.

8. Фетисов С. О., Алексеева Н. Т., Никитюк Д. Б., Сереженко Н. П., Атякшин Д. А. Моделирование как метод оценки специфических морфофункциональных паттернов при регенерации. Журнал анатомии и гистопатологии. 2015; 4 (4): 49–55.

9. Духанин А. С., Малкин П. А., Шимановский Н. Л. Внутриклеточный рН как ранний дифференциальный маркер глюкокортикоидиндуцированного апоптоза фибробластов кожи. Вестник российского государственного медицинского университета. 2013; 1: 54–57.

10. Мишина Е. С., Затолокина М. А., Сергеева С. Ю. Изучение факторов динамического структурирования коллагеновых волокон в эксперименте. Морфология. 2019; 11 (2): 199.

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

12. Gangemi EN, Carnino R, Stella M. Videocapillaroscopy in postburn scars: in vivo analysis of the microcirculation. Burns. 2010; 36 (6):799-805.

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

14. 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.