

Частное учреждение образовательная организация высшего образования  
«Медицинский университет «Реавиз»

*На правах рукописи*

**ШТЫРКОВА**

**Екатерина Васильевна**

**МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА  
РЕГЕНЕРАТИВНОГО ГИСТОГЕНЕЗА КОЖИ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ  
БИОДЕГРАДИРУЕМЫХ МОНОФИЛАМЕНТНЫХ НИТЕЙ**

1.5.22. Клеточная биология (медицинские науки)

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:  
д-р мед. наук, профессор Масляков В.В.

Саратов – 2021

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	3
Глава 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	13
1.1 Общие сведения о коже и ее возрастных изменениях .....	13
1.2 Некоторые аспекты регенеративного гистогенеза в нормальной коже.....	15
1.3 Регенеративный гистогенез в возрастной коже .....	27
1.4 Регенеративный гистогенез в колотой ране .....	30
1.5 Классификация нитей для имплантации, виды материалов.....	34
1.6 Применение полидиоксанона и поли-L-лактида в медицинской практике .....	36
Глава 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	41
2.1 Описание конструкции для процедуры имплантации .....	44
Глава 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	46
3.1 Результаты морфологического исследования препаратов контрольной группы .....	46
3.2 Результаты морфологического исследования при применении полидиоксанона.....	48
3.3 Результаты морфологического исследования при применении поли-L-лактида.....	64
3.4 Сравнение реакции тканей на имплантаты обоих видов.....	77
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	90
ВЫВОДЫ .....	100
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	101
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	102
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	103

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность исследования

Регенеративный гистогенез – это неотъемлемое условие существования организмов на всех уровнях организации. Без этого процесса невозможно существование жизни на земле, т.к. все структуры организмов постоянно подвергается повреждениям со стороны внешней или внутренней среды. Даже в контексте медицинских вмешательств, целью которых является восстановление физиологических функций организма, процесс регенеративного гистогенеза является одним из ключевых механизмов, на поддержание и активацию которого направлены различные типы воздействий. Регенеративный гистогенез сопровождает все до одного инвазивные медицинские вмешательства, и от адекватности его протекания напрямую зависит конечный результат таких вмешательств.

Процессы регенеративного гистогенеза являются ключевыми в контексте эстетической медицины, так как большое количество терапевтических манипуляций в данном направлении имеет целью инициацию и стимуляцию регенеративных процессов в покровных тканях [21]. Потому, необходимым как с научной, так и с практической точки зрения представляется изучение особенностей регенеративных процессов, исходя из специфики проведения той или иной манипуляции.

На сегодняшний день высокой популярностью среди врачей и пациентов эстетического профиля пользуется методика субдермальной имплантации гладких монофиламентных нитей из синтетических биodeградируемых материалов – полидиоксанона и поли-L-молочной кислоты. Считается, что активация таким образом процессов регенеративного гистогенеза способствует улучшению эстетических характеристик кожного лоскута [122, 171]. В самом деле, после помещения нити в ткани, вокруг нее будут наблюдаться процессы регенеративного гистогенеза – это клеточная реакция, новообразование волокнистых компонентов соединительной ткани и неоангиогенез. Эффективность и безопасность данной методики обуслов-

лена, в первую очередь, особенностями протекания выше названных процессов вокруг имплантата.

Патологические отклонения в процессах регенеративного гистогенеза могут приводить к избыточному фиброзу тканей, окружающих имплантированную нить и вызвать видимую деформацию покровных тканей в зоне введения. Подобный эстетический дефект будет весьма сложно поддаваться коррекции. Следует также отметить, что в случае данного вида инвазивных вмешательств, процесс регенеративного гистогенеза тканей протекает в особых условиях, как-то:

- минимальное нарушение целостности эпидермиса – только в месте прокола иглой-проводником;
- глубокое проникновение травмирующего агента в дерму и гиподерму;
- присутствие в ране импланта из биodeградируемого синтетического материала.

В самом деле, при стандартной процедуре имплантации монофиламентных нитей происходит минимальная травматизация эпидермиса, и введение иглы-проводника осуществляется на границе дермы и гиподермы (субдермально), а длина проводника, как и самой нити, составляет несколько сантиметров. При этом на процессы регенеративного гистогенеза будет влиять дополнительный, немаловажный фактор – присутствие в ране импланта из биodeградируемого материала. Соответственно, регенерация будет сопровождаться резорбцией материала самой нити, образованием промежуточных и конечных продуктов биodeградации. Эти продукты не могут не оказывать влияния на протекание регенеративных процессов в окружающих тканях.

Исходя из выше сказанного, мы имеем необходимость детального изучения регенеративного гистогенеза в тканях, окружающих имплантированную нить, для более точного понимания происходящих в них процессов, и, таким образом, более точного прогнозирования результатов процедуры и протекания реабилитационного постпроцедурного периода. Также представляется важным установить возможные отличительные особенности регенеративного процесса в тканях, в зависимости от материала имплантированных нитей. Полученная информация будет по-



лезна для практикующих специалистов эстетической медицины с целью разработки и уточнения имеющихся на сегодняшний день практических рекомендаций к данной методике.

### **Степень разработанности проблемы**

На сегодняшний день активно изучаются особенности тканевой реакции на биodeградируемые импланты из различных материалов и их сплавов [24, 60, 67, 69, 84]. Детализируется, путем применения специфических методов окрашивания тканей, информация об изменениях, происходящих в каждом из слоев кожного лоскута – эпидермисе, дерме и гиподерме [77, 148, 165, 194]. Учитывая длительную, более нескольких месяцев, биodeградацию имплантированных нитей в тканях, важным аспектом является изучение протекания процессов регенеративного гистогенеза вокруг имплантированной нити во времени [130, 169, 174]. В ряде статей [7, 95, 113, 141, 181] установлена безопасность и эффективность методики субдермальной имплантации монофиламентных нитей из биodeградируемых синтетических материалов для применения с целью коррекции некоторых эстетических недостатков кожного лоскута. Также безопасность доказывается длительным использованием полидиоксанона и поли-L-лактида в общей хирургической практике, ортопедии, травматологии и фармакологии [43, 54, 56, 140, 175]. В целом, раздел нитевой имплантологии в сфере эстетической медицины сегодня является активно разрабатываемым направлением.

### **Цель исследования**

Изучить закономерности регенеративного гистогенеза покровных тканей после имплантации монофиламентных биodeградируемых нитей на основе полидиоксанона и поли-L-молочной кислоты.

### **Задачи исследования**

1. Провести морфологический анализ структуры регенеративного гистиона, его выраженность и морфометрическую оценку динамики изменений соотношения

основных популяций клеток на 21-й и 90-й день после субдермальной имплантации монофиламентных нитей полидиоксанона и поли-L-молочной кислоты.

2. Изучить особенности структурной организации волокнистого компонента соединительной ткани на основе морфометрической оценки коллагеновых и эластических волокон в составе регенерата после субдермальной имплантации биodeградируемых нитей полидиоксанона и поли-L-молочной кислоты.

3. Выполнить иммуногистохимическую оценку ангиогенеза на различных сроках регенеративных процессов после имплантации монофиламентных биodeградируемых нитей *in vivo* по экспрессии (CD31 и Factor VIII – связанный антиген) маркеров эндотелиальных клеток.

4. Выявить различия в выраженности и клеточном составе регенеративного гистиона в тканях вокруг нитей из материала полидиоксанона и нитей из поли-L-молочной кислоты. Сравнить изменения волокнистого компонента и их структуру, а также выраженность стимуляции неоангиогенеза при имплантации нитей из данных материалов между собой.

### **Научная новизна**

Новыми являются данные о гистологических изменениях дермы и гиподермы при субдермальной имплантации гладких монофиламентных нитей из полидиоксанона и поли-L-молочной кислоты, в динамике – на 21-й и 90-й день после имплантации. Произведен количественный подсчет и идентификация клеток регенеративного гистиона вокруг нитей из материала полидиоксанона и вокруг нитей из полимолочной кислоты, на 21-й и 90-й день эксперимента. На каждом сроке сравнивалась между собой выраженность клеточной реакции вокруг нитей из исследуемых материалов. Выявлены различия в клеточном составе регенеративного гистиона вокруг нитей на всех сроках эксперимента. Выраженность клеточной реакции, оценивавшаяся в количестве клеток регенеративного гистиона в 1 мм<sup>2</sup> ткани, также имела различия на раннем сроке эксперимента (21-й день), однако выравнивалась на 90-й день. Также представлены новые сведения о приросте коллагеновых и эластических волокон вокруг имплантированных нитей,

полученные с помощью специфического метода окрашивания по Маллори. Установлен достоверный прирост количества коллагеновых и эластических волокон в тканях вокруг имплантированных нитей на всех этапах эксперимента (21-й и 90-й день), по сравнению с контрольными образцами тканей кожного лоскута. При этом наблюдался более значимый прирост эластических волокон, по сравнению с коллагеновыми. Впервые исследовалось влияние субдермальной имплантации нитей из полидиоксанона и поли-L-молочной кислоты на неоангиогенез в окружающих тканях. Исследование впервые проведено с применением метода иммуногистохимического окрашивания срезов тканей специфическими маркерами неоангиогенеза CD31 и Factor VIII. Установлен статистически достоверный прирост количества микрососудов вокруг имплантированных нитей в сравнении с препаратами группы контроля. Прирост количества сосудов отмечался в течение всего времени эксперимента, от 21-го к 90-му дню, и был более выражен в группе препаратов, содержащих нити из материала полидиоксанона, по сравнению с препаратами, содержащими нити из поли-L-молочной кислоты.

### **Практическая и теоретическая значимость**

Результаты исследования позволяют расширить и детализировать современные знания о морфологических изменениях в гиподерме и надлежащей дерме кожи при имплантации биodeградируемых монофиламентных нитей из материалов полидиоксанон и поли-L-молочная кислота. Также данная работа призвана внести сравнительную характеристику в указанные морфологические данные, что должно помочь практикующим врачам сделать выбор в пользу того или иного материала как в случае отдельно взятого пациента, так и в общей практике данного направления эстетических процедур.

### **Методология и методы исследования**

Методологической основой диссертационного исследования явился комплексный анализ и системный подход в изучении исследуемой темы. Для изучения морфологических изменений использовались следующие методы:

- Обзор теоретической информации по изучаемой теме – поиск и анализ имеющейся научной литературы из отечественных и зарубежных источников.

- Морфологический метод – представлял собой забор образцов тканей, фиксацию их в забуференном растворе формалина, после чего препараты подвергали классической ступенчатой гистологической обработке с заливкой в парафин, окраской гематоксилином и эозином. Толщина срезов составляла 5 мкм. Для выявления коллагеновых и эластических волокон использовалось трихромное окрашивание по Маллори.

- Морфометрическое исследование – проводилось с использованием системы компьютерного анализа микроскопических изображений, состоящей из микроскопа Leica DM400B, цифровой камеры Leica DFC420 C, персонального компьютера на базе Windows 7 и программного обеспечения компьютерного анализа изображения Leica Qwin Standart V.3.1.0.

В каждом случае анализировались 20 полей зрения при увеличении  $\times 200$ . Поле зрения при увеличении  $\times 200$  составляет около  $1,76 \text{ мм}^2$ . Отдельно оценивали параметры в зоне вокруг нитей, пограничной зоне и дерме кожи.

Для оценки выраженности прироста волокнистого компонента в тканях вокруг имплантированных нитей, рассчитывали относительную площадь, занимаемую соединительнотканными волокнами в препаратах, окрашенных по методу Маллори. Относительная площадь оценивалась как отношение площади выделенных полей, занимаемых соединительнотканными волокнами на экране при компьютерной морфометрии к общей площади изучаемых полей зрения.

Для оценки выраженности клеточной реакции изучали 20 полей зрения при большом увеличении ( $\times 400$ ), определяли количество и относительную долю следующих клеток: лимфоциты, плазмоциты, нейтрофилы, макрофаги. Для количественной оценки неоангиогенеза и плотности васкуляризации сосудов определяли среднее количество капилляров в  $1 \text{ мм}^2$ .

- Иммуногистохимический метод. Выполняли окрашивание образцов забранных тканей на срезах с парафиновых блоков, используя авидин-биотиновый пероксидазный метод с антителами к CD31 (DAKO) и Factor VIII (DAKO), по-

средством автоматизированного окрашивания на Ventana Benchmark. Отдельно докрашивались ядра гематоксилином Майера. Данный метод позволяет с высокой степенью чувствительности визуализировать эндотелий сосудов.

Для объективизации исследования использовали количественный метод оценки плотности сосудов с применением метода компьютерной морфометрии.

- Статистический метод. Статистическую обработку данных выполняли при помощи программного пакета Microsoft Excel 2010. Анализ распределения данных был проведен при помощи критерия Шапиро – Уилка, анализ показал ненормальное распределение полученных данных во всех группах. Для описания данных группы рассчитывали медиану (Me), 25<sup>й</sup> и 75<sup>й</sup> квартили (q25, q75), минимум и максимум (min, max). Исходя из этого, для определения достоверности отличий в группах был использован непараметрический критерий Крускала – Уоллиса, который является непараметрической альтернативой межгрупповому дисперсионному анализу. Он используется для сравнения трех или более выборок, и проверяет нулевые гипотезы, согласно которым различные выборки были взяты из одного и того же распределения. После чего рассчитывали U-критерий Манна – Уитни для каждого показателя отдельно. В исследовании было представлено более двух групп, поэтому для критерия Манна – Уитни применяли поправку Бонферрони. Одномоментно в исследовании сравниваются три группы, поэтому различия считали достоверными при критическом уровне значимости  $(p) \leq 0,017$ .

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Субдермальная имплантация нитей из материала полидиоксанона вызывает умеренную клеточную реакцию в окружающих тканях, при этом в составе клеток регенеративного гистона преобладают макрофаги. Процедура стимулирует неоангиогенез и способствует приросту волокнистого компонента в окружающих тканях, включая зону вокруг нитей, пограничную зону и подлежащую дерму кожи.

2. Имплантация нитей из поли-L-молочной кислоты вызывает слабую клеточную реакцию в тканях, при этом регенеративный гистион имеет преимущественно лимфо-плазмочитарный характер. В тканях зоны вокруг нитей, погра-

ничной зоны и надлежащей дерме кожи происходит прирост волокнистого компонента соединительной ткани, а также активируется процесс неоангиогенеза.

3. Отсутствует разница в выраженности клеточной реакции между исследуемыми видами нитей, однако имеются различия в клеточном составе регенеративного гистиона в тканях вокруг нитей из полидиоксанона и поли-L-молочной кислоты. Отсутствует существенная качественная и количественная разница в приросте соединительнотканых волокон между исследуемыми видами нитей на 21-й и на 90-й день эксперимента. Выраженность процесса неоангиогенеза также одинакова между препаратами, содержащими нити из различных материалов.

### **Соответствие паспорту специальности**

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 1.5.22. Клеточная биология, цитология, гистология. Методы и результаты проведенного исследования соответствуют пунктам:

1. Изучение закономерностей цито- и гистогенеза, строения и функции клеток и тканей.

2. Изучение закономерностей дифференцировки клеток и тканей, их физиологической регенерации и регуляции этих процессов, а также дифференцировки и жизнедеятельности недифференцированных клеток.

3. Исследование адаптации тканевых элементов к действию различных биологических, физических, химических и других факторов.

### **Степень достоверности и апробация результатов исследования**

Достоверность результатов проведенного исследования достигнута путем корректного подбора объектов экспериментального исследования и формированием адекватного объема выборки подопытных животных. Распределение животных по группам производилось в режиме стратифицированной рандомизации. Объективизация морфометрического анализа достигнута путем использования системы компьютерного анализа микроскопических препаратов. Также достовер-

ность полученных результатов подтверждается использованием корректной статистической обработки с применением прикладного программного обеспечения.

### **Апробация результатов работы**

Результаты работы доложены и обсуждены на IV, V и VI межвузовских конференциях молодых ученых с международным участием (г. Самара, 2015, 2016, 2017 г.), межрегиональной научно-практической конференция молодых ученых и специалистов «Гигиена, экология и риски здоровью в современных условиях» (г. Саратов, 2017), научно-практической конференции с международным участием «Сложная пластическая хирургия лица и тела – 2019» (Санкт-Петербург, 2019), совместной конференции кафедр клинической медицины, хирургических болезней и медико-биологических дисциплин частного учреждения образовательной организации высшего образования «Медицинский университет «Реавиз».

### **Личный вклад автора**

Автором самостоятельно собран и проведен аналитический обзор отечественных и зарубежных публикаций по исследуемой теме, разработан дизайн исследования, статистический инструментарий, проведены экспериментальные исследования. Диссертант самостоятельно сформулировал цель исследования, научные задачи, положения, выносимые на защиту. Статистическая обработка полученных результатов проводилась с личным участием автора. Им же осуществлен анализ, интерпретация собранных материалов, сформулированы выводы и практические рекомендации.

### **Внедрение результатов исследования**

Результаты научного исследования внедрены в практику работы ГАУЗ «Энгельсская городская клиническая больница № 1» г. Энгельса, Военный госпиталь № 428 Министерства обороны Российской Федерации г. Саратова. Результаты исследований используются при чтении лекций и проведении практических занятий

на кафедре патологии и морфологии у обучающихся лечебного факультета ЧУ ОО ВО «Медицинский университет «Реавиз».

### **Публикации**

По материалам диссертации опубликовано 6 работ, из них: 4 – статьи в журналах, входящих в Перечень, утверждённый ВАК при Минобрнауки России; 2 – тезисы в сборниках научных конференций.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалов и методов исследования, главы, в которых изложены результаты собственного исследования, заключения и списка литературы. Диссертация изложена на 123 страницах машинописного текста, содержит 13 таблиц и 41 рисунок. Список литературы содержит 197 источников российской и зарубежной литературы, из них отечественных – 117, зарубежных – 80.



## Глава 1

### ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

#### 1.1 Общие сведения о коже и ее возрастных изменениях

Кожа является самым большим органом человеческого организма, выполняющая роль посредника в связи внутренних систем органов с внешней средой, воспринимающей, проводящей и дозирующей сигналы от внешних раздражителей, выполняя наряду с этим защитную (предохраняя внутренние органы от травм, ультрафиолетового облучения, проникновения микроорганизмов, потери и проникновения воды), иммунную (место антиген-зависимой дифференцировки иммунных клеток), выделительную (выделение воды и продуктов обмена через пот), дыхательную (способна поглощать кислород и выделять углекислый газ), терморегуляторную (за счет излучения тепла и испарения пота), эндокринную (синтез витамина D и некоторых гормонов) функции, а так же участие в водно-солевом обмене [11, 23, 57, 75].

Как орган, отграничивающий нестабильную внешнюю среду от внутренней среды организма, кожа подвергается большому количеству разнообразных воздействий: физических, химических, биологических факторов окружающей среды, служа первичным и самым надёжным барьером на пути нежелательных воздействий. Это первичный барьер, формирующий внутренний гомеостаз организма [39, 94, 104, 114]. По этой же причине первичные возрастные изменения, происходящие в организме, отражаются именно на качестве кожи.

Выделяют два основных типа старения кожи – хронологическое старение и фотостарение. Каждый из них имеет свои клинико-морфологические особенности. Не подвергавшаяся длительному воздействию УФ-облучения возрастная кожа характеризуется истончением, снижением эластичности и упругости, бледностью, наличием тонких поверхностных морщин [2, 8, 10]. При фотостарении, ко-

торое зачастую наблюдается еще до появления признаков хронологического старения, кожа утолщается, грубеет за счёт гиперкератоза, становится сухой; формируются глубокие морщины, появляются сосудистые звездочки и пигментные пятна [129]. В отличие от генетически детерминированного хронологического старения, фотостарение напрямую зависит от степени воздействия УФО и генетически определяется только степенью пигментации кожи [51, 58, 89, 92].

В настоящее время набирает популярность концепция как можно более длительного сохранения активности и молодого внешнего вида, неизменным условием которого является хорошее качество кожного покрова, присущее молодым людям. В связи с этим разработан и внедрен в практику широкий спектр инвазивных эстетических процедур, призванных добиться сохранения, продления либо возвращения качеств кожного покрова, свойственных молодым людям. К ним относят ровный, «здоровый» цвет кожи (обусловлен равномерностью распределения пигмента и адекватным кровоснабжением), упругость (способность восстанавливать форму после сжатия и давления), эластичность (способность кожного лоскута оказывать сопротивление растяжению), мягкость на ощупь (это качество обусловлено адекватной гидратацией) и гладкость (определяется балансом процессов пролиферации и десквамации эпидермиса).

Названные характеристики определяются разными слоями кожного покрова, которые, однако, существуют в тесной функциональной взаиморегуляции [97].

В современном обществе, в связи с увеличением средней продолжительности активной жизни, уделяется большое внимание проблеме возрастных изменений в организме. И, как следствие, внешним проявлений этих изменений – ухудшению качества кожных покровов в виде снижения тургора кожи, изменению цвета на более тусклый оттенок с возрастом, появлению морщин и изменению овала лица в связи с действием гравитации, обуславливающей процессы птоза мягких тканей. Подобные метаморфозы отрицательно влияют на психологическое состояние, снижают субъективную самооценку и, таким образом, негативно отражаются на качестве жизни человека. В попытках объяснить происходящие с течением времени изменения в организме, выдвигалось множество теорий, сообраз-

но уровню изученности физиологических и химико-биологических процессов человеческого организма на тот или иной период времени. Каждая из выдвигаемых теорий ставила во главу процесса тот или иной механизм повреждения клеток в течении жизни организма, либо воздействие генов на процесс онтогенеза клетки. Но по сей день многие механизмы возрастных изменений человеческого организма остаются полностью не выясненными [112, 146, 153].

## **1.2 Некоторые аспекты регенеративного гистогенеза в нормальной коже**

Как известно, процессы регенерации происходят во всех тканях постоянно, и включают физиологическую регенерацию и регенеративный гистогенез после воздействия повреждающего фактора, или репарацию тканей [15]. Регенерация осуществляется на различных уровнях – клеточном и тканевом, в зависимости от генетически детерминированного типа регенерации заданного типа тканей. Для кожи характерна регенерация на клеточном уровне, при которой замена изношенных или поврежденных клеточных элементов осуществляется за счет пролиферации камбиальных клеток [23, 110]. В эпидермисе это кератиноциты базального слоя, которые относятся к типу унипотентных стволовых клеток [96]. В дермальном слое это адвентициальные клетки микрососудов, и мезенхимальные мультипотентные стволовые клетки, циркулирующие в общем кровотоке, из которых пополняется пул наиболее важных в структурном отношении клеток – фибробластов [32, 102]. В гиподерме регенеративные процессы включают пролиферацию адипоцитов в сочетании с замещением дефекта фиброзной тканью [27].

В процессе репаративной регенерации кожи участвует множество клеточных дифферонов. Клеточный дифферон (гистогенетический ряд) определяется как совокупность клеток определенной гистологической детерминации, находящихся на разных стадиях дифференцировки [5]. То есть, ключевой характеристикой клеток, относящихся к одному дифферону, является единство происхождения – они

являются продуктом дифференцировки одного типа камбиальных клеток. В процессе регенеративного гистогенеза участвует множество клеточных дифферонов, как гематогенного, так и гистиогенного происхождения. При этом клетки тесно и многогранно взаимодействуют. Взаимодействие и ведущие роли сменяются с течением времени, обуславливая фазность течения данного процесса. Данные взаимодействия обуславливают появление такой функциональной структуры как гистион. Гистион – это динамично взаимодействующая клеточная кооперация, состав которой изменяется в зависимости от фазы регенеративного процесса. То есть, гистион представляет собой функциональную единицу – надтканевой комплекс, включающий как клетки различных дифферонов, так и различные компоненты межклеточного вещества, сосуды и элементы нервной ткани [31].

Фазы процесса репаративной регенерации не имеют четко отграниченных во времени переходов из одной в другую, однако с течением времени от момента нанесения повреждения выявляется устойчивое преобладание тех или иных клеточных процессов. В связи с чем, процесс репаративной регенерации принято разделять на фазы: I – воспалительная, II – пролиферация (регенерация) и III – реорганизация соединительнотканного репаративного матрикса [82]. Качественный и количественный состав гистиона фазы регенерации меняется с течением фаз регенеративного процесса. В фазе воспаления ведущая роль принадлежит нейтрофильным лейкоцитам, которые активно мигрируют в ткани паравульнарной области под действием хемоаттрактантов [4, 22]. Нейтрофилы являются активно фагоцитирующими клетками, а также выделяют в окружающие ткани множество цитотоксических факторов, как например активные метаболиты кислорода, азота, цитокины и антицитокины [33]. Основная роль этих молекул состоит в нейтрализации патогенных возбудителей, проникших в ткани при повреждении. Однако, помимо флогогенных и цитотоксических продуктов, нейтрофилы также продуцируют факторы, стимулирующие пролиферативную фазу репаративного процесса [34]. После выполнения своих функций в зоне репаративных процессов, нейтрофилы погибают путем апоптоза с образованием апоптотических телец. Вместе с нейтрофилами, быстро нарастает количество лимфоцитов и макрофагов. Причем,

последние через 48–96 ч начинают превалировать среди общего скопления клеток, обуславливая переход процесса в фазу пролиферации, или регенерации [4, 52, 87]. Примечательно, что одним из первых шагов в таком переходе является фагоцитоз макрофагами оставшихся от нейтрофилов апоптотических телец. При нарушении этого процесса наблюдается замедление перехода репаративного процесса в стадию пролиферации [197]. Существует мнение, что лимфоциты индуцируют внутриклеточные регенераторные процессы, а макрофаги, в свою очередь, запускают репарацию окружающих тканей на клеточном уровне [108]. Однако, в других работах [38] описана способность макрофагов влиять как на клеточные, так и на внутриклеточные процессы регенерации. Ключевая роль на этапе пролиферации принадлежит именно макрофагам. Это основные фагоцитирующие клетки соединительной ткани, и это их ведущая, но не единственная функция. Макрофаги обладают выраженным регулирующим влиянием на большинство клеточных дифферонов, входящих в состав регенеративного гистиона. Помимо фагоцитоза, они синтезируют широкий спектр цитокинов, регулирующих скорость пролиферации и характер дифференцировки клеток [86, 161]. Макрофаги являются основными источниками VEGF на ранней стадии репарации, который является мощным индуктором ангиогенеза [128]. При этом, на более поздних стадиях репарации функцию синтеза VEGF берут на себя эпителиальные клетки [159]. Также они продуцируют IL-10, один из основных противовоспалительных цитокинов, и антагонист рецепторов IL-1 (IL-1Ra), который является ингибитором провоспалительного действия интерлейкинов IL-1 $\alpha$  и IL-1 $\beta$  [139]. Продуцируемые макрофагами цитокины TGF- $\beta$  и EGF демонстрируют сложное влияние на процесс регенерации тканей [192]. Присутствие среди мембранных белков рецепторов ко всем классам иммуноглобулинов (CD16, CD23, CD32, CD64 и др.) обуславливает участие макрофагов в иммунных реакциях. Наличие у них корецепторов CD80 и CD86 подтверждает их антигенпрезентирующие свойства [76].

Лимфоциты – это гетерогенная популяция клеток белого кровяного ростка. В ней выделяют три крупные популяции Т-, В-лимфоцитов и NK-клеток, а также ряд менее многочисленных субпопуляций. Все субпопуляции имеют различия по

выполняемым функциям. Три крупные популяции также имеют неоднородный характер за счет экспрессии клетками на мембране различных рецепторов – кластеров дифференцировки и различных белковых транскрипционных факторов [105]. Для В-лимфоцитов характерна экспрессия специфического мембранного маркера CD19, по которому в основном и проводится идентификация клеток данной популяции. Менее специфическими являются маркеры CD20, CD5 и CD27, характерные для отдельных субпопуляций В-лимфоцитов [106]. Линию Т-клеток характеризует, в первую очередь, наличие мембранного Т-клеточного рецептора (T-cell receptor, TcR) и различных комбинаций антигенов CD8, CD4, CD3 и CD45. Различия в комбинациях мембранных антигенов обусловлены разностью выполняемых функций в данных субпопуляциях [106, 172]. Для идентификации NK-клеток используют комбинацию маркеров CD16 и CD56 [196]. Первично лимфоциты определялись как иммунокомпетентные клетки, обеспечивающие антигенную защиту. Однако, позднее стало известно, что, помимо этой функции, лимфоциты оказывают разностороннее влияние на процессы тканевой регенерации. Влияние на регенерацию обусловлено способностью синтезировать различные факторы роста [97]. Т-лимфоциты, секретируя TNF-альфа и гамма-IFN, тормозят синтез коллагена фибробластами и стимулируют продукцию матриксных металлопротеиназ [116]. Некоторые субпопуляции Т-лимфоцитов, представляющие из себя так называемый ангиогенный фенотип Т-клеток CD3(+) CD31(+) CXCR4(+), способны к активному синтезу фактора роста сосудов VEGF и, соответственно, стимуляции ангиогенеза [131]. При этом, между иммунной и регуляторной функцией Т-лимфоцитов существует реципроктное взаимодействие – то есть, активация иммунных функций приводит к снижению морфогенетических влияний Т-лимфоцитов на регенераторные процессы [109].

Тучные клетки (тканевые базофилы, мастоциты, лаброциты) – встречаются во всех органах и тканях, располагаясь вокруг кровеносных и лимфатических сосудов, и имеют тесную связь с концевыми волокнами вегетативной нервной системы [85, 144]. Являются мощными регуляторами регенеративного гистогенеза [3, 176]. Цитоплазма тучных клеток заполнена гранулами, которые при окраши-

вании анилиновыми красителями дают феномен метакромазии – их окраска отличается от цвета самого красителя. Метахроматические гранулы содержат богатый набор медиаторов воспаления: биогенные амины, продукты цикла арахидоновой кислоты, хемоаттрактанты (факторы хемотаксиса нейтрофилов и эозинофилов), цитокины (IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, TNF- $\alpha$ ) и хемокины, факторы роста [99, 162, 189]. При воздействии повреждающего фактора на ткани происходит дегрануляция тучных клеток – высвобождение в межклеточное пространство содержимого метахроматических гранул. Выделяющиеся медиаторы воздействуют на ткани в зоне регенерации: гистамин обуславливает повышение проницаемости сосудистой стенки и миграцию лейкоцитов, модулирует их реакцию на ранних этапах [15, 44, 76]. Позднее, в фазе пролиферации, медиаторы тучных клеток усиливают миграцию фибробластов и пролиферацию эндотелиоцитов в зоне репарации [189]. На стадии реорганизации рубца на первый план выходит взаимодействие тучных клеток с фибробластами [168]. Повышенная плотность тучных клеток, пролонгированная их дегрануляция способна приводить к фибротическим изменениям в зоне регенераторных процессов [55, 99, 124].

Фибробласты – основной клеточный дифферон соединительной ткани, осуществляющий в норме физиологическую регенерацию основных компонентов ее межклеточного матрикса: гликозаминогликанов, коллагеновых и эластических волокон [5]. Соединительнотканым слоем кожи является дерма, соответственно, наибольшая концентрация фибробластов наблюдается именно там [23]. Фибробласты высокочувствительны к биомеханическим характеристиками окружающего межклеточного матрикса. Они способны детектировать подобные изменения – это свойство называется механочувствительность – и преобразовывать эти изменения во внутри- и межклеточные сигналы – свойство механотрансдукции [48, 143, 155]. При воздействии на кожу повреждающего фактора фибробласты активно мигрируют в зону регенерации под действием сигнальных молекул, выделяемых макрофагами, тучными клетками и эндотелиоцитами [55, 188]. При этом, они также оказывают регулирующее влияние на названные типы клеток, обуславливая взаимную регуляцию всех клеточных процессов в зоне репарации [93, 103]. Син-

тетическая деятельность фибробластов выходит на первый план в фазе пролиферации и далее в фазе организации рубца. При этом, миграция и последующая синтетическая деятельность в зоне репарации характерна для так называемых «репаративных фибробластов». Репаративные фибробласты – это разновидность клеток фибробластического дифферона, активно синтезирующая компоненты межклеточного матрикса и участвующая в его построении в условиях репарации [76]. Ультраструктурной их особенностью является преобладание среди органоидов гранулярной эндоплазматической сети, которая может занимать до 90 % объема цитоплазмы [103, 137]. Репаративные фибробласты, как и дифференцированные органоспецифические фибробласты, развиваются из коммитированных клеток-предшественников, из мультипотентных стволовых клеток, циркулирующих в общем кровотоке, а также образуются в процессе эпителиально-мезенхимального перехода [20, 32, 102]. Репаративные фибробласты располагаются на новообразованных коллагеновых волокнах, активно продуцируя аморфные и волокнистые компоненты межклеточного матрикса. Высокая активность синтетических процессов обуславливает цитоморфологические особенности данных клеток: резко расширенные цистерны гладкого ЭПР, заполненные продуктами синтеза, занимают большую часть цитоплазмы, и в некоторых участках цитолеммы клетки наблюдается ее слияние с мембраной цистерн ЭПР с выходом его содержимого в межклеточный матрикс [76]. Качественной характеристикой синтетической активности репаративных фибробластов является преобладание синтеза коллагена 3-го типа и отсутствие органоспецифичности в создаваемой репаративной соединительнотканной основе [5, 15]. Большинство репаративных фибробластов по завершении процесса регенерации подвергается апоптозу. Меньшая часть – дифференцируется в фиброциты, основной функцией которых является поддержание стабильности межклеточного матрикса [114, 134]. На стадии реорганизации, в деятельности фибробластов на первый план выходит продукция коллагеназы и матриксных металлопротеиназ, частично разрушающих новообразованный соединительнотканый матрикс и препятствующих, тем самым, избыточному фиброзу с образованием гипертрофических и келоидных рубцов [117].



Миофибробласты – это специализированный тип фибробластов, участвующих, наряду с репаративными фибробластами, в синтезе коллагена, а также в контракции краев и стенок раневого дефекта [48, 166]. Морфологически контрактная функция обусловлена наличием в этих клетках сократительного аппарата в виде волокон альфа-гладкомышечного актина ( $\alpha$ -SMA) в цитоскелете [155]. Такие волокна пронизывают цитоплазму клетки, оканчиваясь на ее мембране в фибронексусах – это специальный адгезивный комплекс трансмембранных белков для связывания внутриклеточного актина с фибронектином на поверхности коллагеновых фибрилл в экстрацеллюлярном матриксе [143]. Это обеспечивает осуществление механотрансдукции, так что сила, возникающая при сокращении гладкомышечных волокон, передается в окружающий межклеточный матрикс. При этом внеклеточные механические сигналы могут быть преобразованы во внутриклеточные [155]. В процессе контракции тканевого дефекта миофибробласты могут образовывать многоклеточные сократительные единицы за счет образования щелевидных контактов [186]. Ключевыми факторами, индуцирующими дифференцировку миофибробластов, являются механическое напряжение тканей в месте протекания репаративных процессов и продукция клетками регенеративного гистона фактора роста TGF-beta1 [170]. Эти факторы обуславливают дифференцировку репаративных фибробластов в миофибробласты, через стадию протомиофибробласта – клетки фибробластического дифферона, содержащей так называемые «стресс-фибриллы», состоящие из бета- и гамма-актина [164]. После завершения процесса контракции фибробласты подвергаются апоптозу.

Нарушение процессов дифференцировки и апоптоза миофибробластов является одной из причин формирования таких дефектов репаративного процесса как келоидные и гипертрофические рубцы [147].

Коллаген – основной фибриллярный белок межклеточного матрикса соединительной ткани. Является одним из самых важных компонентов репаративного гистогенеза. Коллаген синтезируется фибробластами как в условиях физиологической регенерации, так и при репаративных процессах.

Для химической структуры полипептидной молекулы коллагена характерны регулярно повторяющиеся трипептидные последовательности «Gly-Xxx-Ууу», где первая позиция всегда занята остатком аминокислоты глицина, в положении Xxx чаще всего находится остаток пролина, а Ууу может быть представлен остатком любой аминокислоты, чаще это гидроксипролин. Особенностью является полное отсутствие остатков триптофана в составе коллагенового полипептида. Для вторичной структуры коллагеновой полипептидной цепи характерна конформация левовращающей альфа-спирали, на каждый виток которой приходится по три аминокислотных остатка. Три альфа-цепи, в свою очередь, образуют правозакрученную суперспираль макромолекулы тропоколлагена. Это возможно благодаря прочным водородным связям, возникающими между амино- и карбоксильными группами первичных альфа-цепей [37]. Такое трехспиральное строение макромолекулы характерно для всех типов коллагеновых белков, потому получило название специфического «коллагенового» (COL) домена [125]. В дальнейшем происходит агрегация молекул тропоколлагена с образованием фибриллярных или нефибриллярных структур. Характерной чертой коллагеновых фибрилл является поперечная исчерченность, выявляемая при электронной микроскопии. Данная особенность обусловлена спецификой аминокислотного состава и особенностями трехмерной укладки коллагеновых молекул при формировании фибрилл [76].

Таким образом, семейство коллагеновых белков является весьма гетерогенным, и подразделяется по структурному признаку на фибриллярные и нефибриллярные коллагены [38]. По различиям в аминокислотном составе полипептидных цепей коллагеновые белки образуют различные типы, коих на сегодняшний день насчитывается 28. В межклеточном матриксе дермы кожи преобладают коллагены 1-го и 3-го типов, соотношение которых в норме составляет примерно 4:1 в пользу 1-го типа [76]. Эти типы коллагенов имеют фибриллярную структуру. По строению коллаген 3-го типа представляет собой гомотример, то есть его макромолекула состоит из трех идентичных по аминокислотному составу альфа-спиралей и имеет молекулярную формулу  $[\alpha 1(\text{III})]_3$ . Коллаген 1-го типа является

гетеротримером, состоящим из двух альфа-1 спиралей и одной спирали альфа-2, молекулярная формула  $[\alpha 1(I)]_2\alpha 2(I)$ . При этом каждый тип альфа-спирали является продуктом экспрессии отдельного гена [15, 76].

Синтез полипептида-предшественника альфа-спирали коллагена происходит на рибосомах гранулярной эндоплазматической сети (ЭПС) фибробласта. Продуктом синтеза является препро-альфа-цепь. С проникновением в цистерны ЭПС от N-конца спирали отщепляется сигнальный пептид, в результате чего образуется про-альфа-цепь. В дальнейшем, по мере продвижения по цистернам ЭПС, про-альфа-цепь подвергается процессам гидроксилирования (преобразования остатков пролина в гидроксипролин и лизина в гидроксилизин) и спирализации с объединением трех цепей в тройную спираль проколлагена. Синтезированная макромолекула проколлагена перемещается из цистерн ЭПС в полости пластинчатого комплекса Гольджи, откуда секретируется в межклеточный матрикс. В межклеточном матриксе происходит отщепление терминальных пропептидов под действием содержащихся там протеолитических ферментов с образованием макромолекулы тропоколлагена. И, наконец, тропоколлагеновые молекулы вовлекаются в процесс фибриллогенеза – спонтанно протекающий процесс формирования системы поперечных связей между ними, конечным продуктом которого являются новообразованные коллагеновые фибриллы [125].

В процессе репаративного гистогенеза основной объем производства коллагена берут на себя репаративные фибробласты, продуктом секреции которых является коллаген 3-го типа. Потому, в составе репаративного соединительнотканного матрикса на ранних стадиях преобладает коллаген 3-го типа, который позднее замещается коллагеном 1-го типа. Синтезируемый в процессе репаративной регенерации соединительнотканый коллагеновый матрикс восстанавливает прочность ткани в месте повреждения, заменяя собой временный непрочный фибрин-фибронектиновый матрикс [65].

Эластин – фибриллярный белок межклеточного матрикса соединительной ткани, продуцируемый фибробластами. Его основным свойством является упругость – способность подвергаться значительному растяжению с последующим

возвращением в исходное состояние, без потери свойств и остаточной деформации [76]. Это возвращение не требует дополнительных затрат энергии [186]. Эластические волокна, в состав которых входит белок эластин при экстрацеллюлярной сборке, придают дерме кожи свойство обратимой деформации при растяжении.

Для химической структуры эластина характерно, как и для коллагена, высокое содержание остатков глицина (около 33 %) и пролина (более 10 %). Особенностью является преобладание в составе полипептидной цепи остатков гидрофобных аминокислот (более 40 %). Макромолекула эластина имеет доменное строение и состоит из гидрофобных доменов, коих преобладающее количество, и повторяющихся через определенные интервалы гидрофильных доменов. Гидрофобные домены обеспечивают эластину его основные упруго-эластические свойства. Гидрофильные же участки полипептидной цепи имеют жесткую пространственную структуру за счет межмолекулярных поперечных связей и играют роль «ограничителей подвижности», предотвращающих чрезмерное растяжение молекулы и ее чрезмерную релаксацию с потерей упорядоченной трехмерной структуры [195].

Синтез полипептидной цепи-предшественника тропоэластина происходит также на рибосомах гранулярной эндоплазматической сети фибробластов. Далее также подвергается посттрансляционным изменениям в виде гидроксилирования пролина и лизина и секреции в экстрацеллюлярный матрикс. В отличие от коллагена, тропоэластин не подвергается значимому воздействию протеолитических ферментов в межклеточном матриксе. «Созревание» волокон тропоэластина заключается в преобразовании системы межмолекулярных поперечных связей с дальнейшей сборкой трехмерной организованной структуры эластического волокна [138]. Эластические волокна, определяемые при электронной микроскопии, тоньше коллагеновых фибрилл и не имеют поперечной исчерченности. Они имеют в составе фибриллярный и аморфный компоненты. Фибриллярный компонент представлен фибриллиновыми (эластическими) микрофибриллами, а аморфный – белком эластином. При сборке эластического волокна фибриллярный компонент

предшествует аморфному, определяя форму и направление будущего эластического волокна. В зависимости от соотношения эластических микрофибрилл и аморфного вещества выделяют четыре разновидности эластических волокон: 1) зрелые эластические волокна, 2) окситалановые волокна, 3) элауниновые волокна [76]. Окситалановые волокна содержат в составе только фибриллярный компонент, они, как правило, присутствуют в местах постоянного воздействия механических нагрузок (периодонт, сухожилия, стенки сосудов). Данный вид волокон считается незрелым эластическим волокном. Элауниновые волокна являются промежуточной формой между окситалановыми и зрелыми эластическими волокнами. Они содержат как фибриллярный, так и аморфный компонент, в примерно одинаковом соотношении. Эластические волокна в тканях широко анастомозируют между собой, образуя обширные сетевидные структуры и мембраны [136].

В процессе репаративного гистогенеза наблюдается, наряду с неоколлагеногенезом, также процесс неозластиногенеза, однако, при формировании рубцов эластические волокна имеют измененную структуру, отличную от нативного эластического волокна интактной кожи [135, 142].

Матриксные металлопротеиназы (ММП) – это присутствующие в матриксе белки, обладающие протеолитической эндопептидазной активностью, т.е. способные расщеплять внутренние пептидные связи в полипептидных макромолекулах. Под действием матриксных металлопротеиназ осуществляется катаболизм компонентов межклеточного матрикса – коллагеновых, эластических волокон, протеогликанов и многих других соединений [63, 64]. Всего на сегодняшний день описано около 30 типов матриксных металлопротеиназ, различных по строению и субстратам воздействия. Общей особенностью строения для всех принадлежащих к этому семейству ферментов является наличие атома цинка в их активном центре. Атом цинка фиксирован в каталитическом домене одинаковым для всех ММП аминокислотным мотивом, содержащим три остатка гистидина, выступающих в роли такого фиксатора [161]. В зависимости от субстратной специфичности, ММП подразделяются на 6 семейств: коллагеназы, стромелизины, матрили-

зины, желатиназы, мембраносвязанные и неклассифицируемые [64]. Матриксные металлопротеиназы в коже секретируются как резидентными клетками соединительной ткани – фибробластами, эпителиальными клетками, эндотелиоцитами и тканевыми макрофагами; так и клетками гематогенного происхождения – нейтрофилами, моноцитами и лимфоцитами [166]. Характерной особенностью также является секреция металлопротеиназ в неактивной форме. Преобращают они свои свойства только после активации, которая заключается в отщеплении ингибиторного пропептида тканевыми ферментами (сериновые протеазы, урокиназа, триптаза тучных клеток и т.д.) [64].

Процессы резорбции компонентов соединительнотканного матрикса имеют место как при физиологической, так и при репаративной регенерации. При нормальной жизнедеятельности тканей процессы анаболизма и катаболизма компонентов экстрацеллюлярного матрикса находятся в динамическом равновесии. При репаративной регенерации за счет выделения цитокинов, которые оказывают индуцирующее влияние на экспрессию и активацию ММП, их активность повышается. Матриксные металлопротеиназы разных типов имеют различные точки приложения на всех этапах репаративного гистогенеза. ММП-3,9 участвуют в процессе ангиогенеза, запуская миграцию эндотелиоцитов путем расщепления участка базальной мембраны сосуда [63]. ММП-1,3,9,10 участвуют в миграции эпителиальных клеток и реэпителизации тканевого дефекта [76]. Избыточная активность ММП-2 отрицательно коррелирует с количеством фибробластов и капилляров [166]. Помимо катаболизма компонентов межклеточного матрикса, в функции матриксных металлопротеиназ при репаративных процессах входят: высвобождение факторов роста из клеточных мембран и компонентов межклеточного матрикса, инактивация рецепторов к факторам роста на поверхности клеточных мембран, образование молекул клеточной адгезии и активация других ферментов [64].

В коже как целостном органе процессы регенеративного гистогенеза всегда представляют собой комплекс межтканевых взаимодействий между клетками и межклеточным веществом всех трех слоев кожи – эпидермиса, дермы и гиподермы, также с вовлечением компонентов нервной, сосудистой, иммунной и эндо-

кринной систем. Например, воздействие норадреналина снижает содержание клеточных элементов в зоне репарации, в то время как обработка ацетилхолином – повышает выраженность клеточной реакции и неоангиогенез [26]. Таким образом, только слаженная работа всех механизмов регуляции способна привести к адекватному и своевременному процессу регенерационного гистогенеза.

### **1.3 Регенеративный гистогенез в возрастной коже**

Возрастные гистологические изменения затрагивают все слои кожи и подлежащих тканей, и заключаются в постепенном снижении процессов физиологической регенерации. В возрасте старше 30 лет снижается скорость деления базальных клеток эпидермиса, замедляется процесс отторжения роговых чешуек [16, 88, 90]. Ослабляется дермо-эпидермальный контакт [134]. Количество активно функционирующих фибробластов и доля пролиферирующих (PCNA+) фибробластов в дермальном слое резко снижается [167]. Уменьшение их количества считается результатом избыточной активности тучных клеток, затрудняющей способность ткани к ремоделированию [99]. Снижается способность фибробластов к механотрансдукции, их цитоскелет становится более жестким, замедляя миграцию к месту разворачивания регенеративного процесса. Миофибробласты экспрессируют меньше  $\alpha$ -гладкомышечного актина ( $\alpha$ -SMA), отчего медленнее происходит контракция краев раны [132]. Претерпевает изменения межклеточное вещество дермы – уменьшается количество эластических волокон, коллагеновые волокна утолщаются, изменяется их структура. Нарастает образование поперечных сшивок между коллагеновыми волокнами, нарушающее их своевременную утилизацию и упорядоченность расположения [41, 72]. Процессы структурно-молекулярных изменений волокнистых структур межклеточного матрикса приводят к дезорганизации фибриллярного каркаса и, таким образом, нарушению его биомеханических свойств, что влечет за собой затруднение миграции клеток во время регенеративных процессов [185]. Фагоцитарная способность макрофагов,

как участников регенераторных процессов, снижается с возрастом, а в эпидермисе снижается количество основных антигенпрезентирующих клеток – клеток Лангерганса [153]. Повышение активности матриксных металлопротеиназ при снижении выработки их ингибиторов приводит к фрагментации интактных волокон коллагена, снижая таким образом механическое натяжение фибробластов [153, 185]. Это приводит к дополнительному снижению продукции коллагена, так как явление «механического натяжения фибробластов», возникающее в результате взаимодействия их интегриновых рецепторов со зрелыми коллагеновыми волокнами, является необходимым регуляторным механизмом активации синтеза компонентов межклеточного матрикса [132]. Таким образом, нарушение клеточно-матриксных взаимодействий вносит свой вклад в возрастные изменения ткани, наряду с клеточным старением. Уменьшается количество гликозаминогликанов основного вещества [178]. Особое значение придается снижению синтеза сигнальных молекул, что приводит к нарушению эпидермально-дермальных взаимодействий [134, 149]. Морфологические изменения в микроциркуляторном русле кожи с возрастом выражаются не только в его равномерном обеднении, но и в перераспределении капилляров [35, 50, 78, 115]. Так, в молодом возрасте (до 21 года) сосуды в дермальном слое кожи распределены равномерно между папиллярным и сетчатым слоями дермы. Начиная с 21 года начинает преобладать количество сосудистых элементов под эпидермисом, и в возрастной группе старше 40 лет практически все сосуды дермы располагаются под эпидермисом. В сетчатом слое они единичны и большого диаметра [81, 120, 126].

Подкожно-жировая клетчатка с возрастом подвергается неодинаковым изменениям – в области лица жировые пакеты претерпевают атрофию, в то время как висцеральный жир с возрастом накапливается [58]. На гистологической картине атрофические изменения проявляется в виде уменьшения размеров адипоцитов и уменьшении количества перицеллюлярных волокнистых структур [153].

Процессы репаративной регенерации с возрастом также претерпевают изменения, которые имеют разнонаправленный характер. Происходит замедление пролиферации клеток эндотелия, снижение продукции ими оксида азота ( $\text{NO}^-$ ), в



связи с чем уменьшается капиллярная проницаемость. Как в общем, так и в месте развития репаративных процессов [182]. При этом, как изучено на моделях мышей старого и пожилого возраста, замедляется миграция из кровеносного русла макрофагов, лейкоцитов, Т- и В-лимфоцитов [184]. Однако, нейтрофильные лейкоциты при этом демонстрируют возрастное увеличение секреции и ответа на многие цитокины. Также, несмотря на замедленность миграции, конечный уровень Т-лимфоцитов в скоплениях клеток регенеративного гистиона оказывается выше у старых животных [145]. С возрастом также отмечается выраженное снижение процента фагоцитарных макрофагов среди клеток регенеративного гистиона. При этом страдает не только количественный показатель, но и функциональная активность клеток. А именно: снижение фагоцитарной активности макрофагов в процессе репаративной регенерации и уменьшение продукции ими факторов роста [133]. Так как макрофаги являются значимым регулятором фазы пролиферации, снижение их количества и функциональной активности обуславливает снижение образования грануляционной ткани, снижение синтеза коллагена репаративными фибробластами, уменьшение числа репаративных фибробластов и миофибробластов, а также замедление процессов неоангиогенеза [121]. Замедление неоангиогенеза при репаративных процессах в возрастной коже вызвано, помимо уменьшения синтеза индукторов ангиогенеза макрофагами и фибробластами, еще и замедлением пролиферации эндотелиоцитов из-за снижения их реакции на гипоксию в паравульнарной зоне [119, 145].

Тучные клетки, как одни из основных регуляторов репаративного процесса, с возрастом увеличиваются в количестве в тканях кожи и слизистых, но при этом снижается их функциональная активность и чувствительность к межклеточным сигнальным молекулам [19, 99]. Тучные клетки имеют тесную топографическую и функциональную взаимосвязь с фибробластами. Как в дерме, так и в других соединительнотканых элементах организма [137, 168]. Фибробласты возрастной кожи также демонстрируют сниженную миграционную активность в зону репарации [60, 184]. Также возрастное снижение продукции коллагена этими клетками при физиологической регенерации распространяется и на процесс репаративной

регенерации: в зоне протекания репаративных процессов в возрастной коже образуется менее структурированный коллаген, и на выработку его уходит больше времени, чем в молодой коже [121, 123].

#### **1.4 Регенеративный гистогенез в колотой ране**

Имплантация монофиламентных биodeградируемых нитей относится к категории малоинвазивных вмешательств. Но все же манипуляция подразумевает нарушение целостности кожи и поверхностного субдермального слоя подкожно-жировой клетчатки при проколе иглой, то есть – формирование раны.

Рана – это любое повреждение, сопровождающееся нарушением целостности покровных тканей (кожи и слизистых) [70].

Рана, нанесенная медицинской иглой, относится к категории колотых ран. Ее морфологическими особенностями является значительная глубина при небольшом повреждении покровных тканей.

В зависимости от наличия или отсутствия выходного отверстия, колотые раны могут быть сквозными и слепыми. По критерию наличия или отсутствия микробной контаминации колотые раны подразделяются на инфицированные и асептические [52]. В контексте данной работы будут рассматриваться морфологические процессы в асептической слепой колотой ране, так как данные характеристики соответствуют проколу кожи стерильной иглой, выполненному с соблюдением правил асептики и антисептики.

Раневой процесс – комплекс гистофизиологических реакций организма, развивающихся в ране. Смысл этих реакций состоит в восстановлении целостности ткани и органа [1, 70]. Исходя из сущности понятия регенеративного гистогенеза, процессы которого направлены на восстановление гистологической целостности и нормализации функций тканей организма, можно сказать, что раневой процесс является частным случаем фундаментального процесса регенеративного гистогенеза. Вне зависимости от механизма образования раны, гистологические измене-

ния при раневом процессе происходят по единым законам развития репаративного гистогенеза и имеют фазность течения [65, 187]. То есть, в ходе раневого процесса также выделяются фазы воспаления, пролиферации и реорганизации. Четкого деления во времени данные фазы не имеют, и процессы, характерные для стадии пролиферации, наблюдаются уже с первых часов после воздействия на ткани. Однако по мере развития раневого процесса во времени, начинают преобладать тканевые реакции, характерные для одной из фаз. Это позволяет обозначить условный временной диапазон длительности каждой фазы.

На продолжительность каждой фазы процесса регенерации раны влияет множество факторов, среди которых основными являются: масштаб повреждения тканей, наличие или отсутствие микробной контаминации и регенерационные возможности макроорганизма [42, 46]. Рассматриваемая в контексте данной работы асептическая колотая рана подразумевает минимальное альтеративное воздействие на ткани и отсутствие микробной контаминации [49].

Фаза воспаления развивается с момента воздействия на ткани повреждающего агента. Длительность ее составляет порядка 2–4 суток, а сущность заключается в отграничении зоны повреждения и элиминации нежизнеспособных тканей. Повреждение сосудов активирует систему свертывания крови и рефлекторную вазоконстрикцию, которая через несколько часов сменяется вазодилатацией и пропотеванием плазмы крови через стенку сосуда в паравульнарные ткани. Параллельно с сосудистыми реакциями начинается миграция полиморфноядерных лейкоцитов, среди которых преобладают нейтрофилы. Количество их нарастает, достигая максимума ко вторым суткам, и сохраняется как преобладающий компонент клеточной реакции в течение 3–4 суток. С 5–6-х суток количество нейтрофилов в регенеративном гистионе начинает прогрессивно снижаться. В асептической ране нейтрофилы присутствуют в сравнительно небольшом количестве, основной их функцией при этом является лизис клеток, подвергшихся повреждению и инициация каскада регенеративных реакций в окружающих тканях [42]. По мере реализации своих функций нейтрофилы распадаются и подвергаются фагоцитозу макрофагами [6].

Моноциты начинают мигрировать в паравульнарную зону в первые 12 часов [65, 70]. Непосредственно на месте они подвергаются дифференцировке в макрофаги и в последующем гигантские многоядерные клетки. Максимального количества в составе регенеративного гистиона макрофаги достигают к 3-му дню, а после 6–7 суток их количество начинает убывать. Они удаляют большую часть нежизнеспособных тканей, обеспечивая полноценное и своевременное протекание дальнейших репаративных процессов [152, 183].

Лимфоциты мигрируют одновременно с моноцитами и достигают пика концентрации с 12 до 24-х часов после воздействия повреждающего агента [87]. Они обеспечивают иммунный контроль за репаративным процессом. Повторное нарастание концентрации лимфоцитов наблюдается в третьей фазе раневого процесса, при перестройке соединительнотканного матрикса [65, 70, 158].

Тучные клетки в первые сутки подвергаются массовой дегрануляции и последующему апоптозу, в связи с чем количество их в паравульнарных тканях снижается [74, 100]. Впоследствии их количество нарастает к 5–7-му дню [18]. Функция тканевых базофилов меняется в зависимости от этапа раневого процесса. Если в первые сутки это в основном индукция вазодилатации и повышения проницаемости сосудов за счет выделения вазоактивных веществ, то на более поздних сроках это активация неоангиогенеза, привлечение фибробластов в зону регенерации, а также регуляция процессов реорганизации образованного ими соединительнотканного матрикса за счет воздействия на фермент коллагеназу [44].

Начиная с 4–5 суток, в тканях начинают преобладать процессы пролиферации клеток и синтеза компонентов межклеточного матрикса. Несмотря на то, что начинаются такие процессы гораздо раньше, в полной мере они разворачиваются лишь после реализации своих элиминационных функций фагоцитарными клетками – нейтрофилами и макрофагами. Длительность пролиферативной фазы от 5-х до 21-х суток. Во время неё происходит новообразование соединительнотканного матрикса в месте тканевого дефекта [4, 65, 145]. На первый план выходит пролиферативная и синтетическая функция тканевых фибробластов и клеток эндотелия. Однако, как уже было сказано выше, лимфоциты, макрофаги и тучные клетки не

покидают зону репаративной регенерации, осуществляя регуляторную функцию в последующих пролиферативно-синтетических процессах.

Клетки эндотелия обладают высокой регенерационной способностью. Их пролиферация отмечается с первых суток, однако быстрый прирост количества капилляров отмечается на 2–3-и сутки, и нарастает до 7-го дня [1]. Исходя из данных литературы [12, 17, 83, 91], существует три источника новообразования эндотелиальных клеток в зоне регенерации тканей. Первый – за счет пролиферации и миграции зрелых эндотелиоцитов из предсуществующей капиллярной сети, второй – путем миграции из кровеносного русла и дифференцировки гемотогенных клеток-предшественников эндотелиоцитов, так называемых эндотелиальных прогениторных клеток (endotelial progenitor cells – EPC), и третий – из недифференцированных мезенхимальных клеток окружающей ткани. Быстро формирующаяся сеть сосудов необходима для доставки большого количества кислорода для активно синтезирующих клеток в зоне регенерации [156, 158].

Фибробласты начинают пролиферацию и дифференцировку в паравульнарных тканях на 2-е сутки, количественного максимума достигая на 5–7-й день репаративного процесса. Основными источниками дифференцировки фибробластов, как ранее говорилось, служат тканевые клетки-предшественники, мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки, циркулирующие в общем кровотоке, и базальные кератиноциты, трансформирующиеся в репаративные фибробласты в результате эпителиально-мезенхимального перехода. В связи с тем, что при проколе кожи иглой происходит минимальная травматизация эпидермиса, справедливо предположить, что вклад эпителиально-мезенхимального перехода в дифференцировку репаративных фибробластов в данном случае будет пренебрежительно мал. Синтетическая деятельность фибробластов приводит к накоплению в зоне тканевого дефекта волокон коллагена, эластина и гликозоаминогликанов, и, таким образом, закрытию раневого канала.

Неосинтез волокнистых компонентов межклеточного матрикса начинается с 5-х суток, нарастая по темпу до 7–10-го дня. Затем интенсивность синтеза ослабевает [1]. Начинается третья фаза раневого процесса – реорганизации соединитель-

нотканного репаративного матрикса. Она заключается в придании большей прочности и лучшей структурированности новообразованным соединительнотканным волокнам в месте заполнения раневого дефекта [42, 70]. В этот период, начиная с 12–14-х суток, происходит запустевание части микрососудов в зоне репарации, часть клеточных элементов подвергается апоптозу. Возрастает активность матриксных металлопротеиназ, расщепляющих коллагеновые волокна [64, 136]. Процесс коллагенолиза необходим, так как в период активного синтеза коллагеновые волокна укладываются беспорядочно, в разных направлениях, формируя плотный, трудно деформируемый матрикс. Частичный лизис коллагеновых волокон приводит к их более упорядоченной организации и формированию тонкого, нежного рубца.

### **1.5 Классификация нитей для имплантации, виды материалов**

На сегодняшний день методики нитевого омоложения мягких тканей лица включают в себя огромное разнообразие материалов, конфигураций нитей и рекомендаций по техникам введения. Существует несколько классификаций нитей, основанных на различных признаках.

Одним из признаков, служащих критерием классификации нитей для эстетических манипуляций служит способность их к биодegradации (рассасываемость). Биодegradируемый материал определяется как материал, который разрушается и элиминируется в естественных условиях организма, без следов его выведения [53, 54].

По рассасываемости (способности к биодegradации) нити подразделяют:

- на нерассасывающиеся (небиодegradируемые);
- частично рассасывающиеся;
- полностью рассасывающиеся (биодegradируемые) [28, 29, 36].

Небиodeградируемые нити изготавливаются в основном из инертных металлов (золото, платина), либо нерассасывающихся синтетических шовных материалов (полипропилен, силикон, полиамид). Частично биodeградируемые нити, как правило, состоят из нерассасывающейся лигатуры и биodeградируемых частей (конусы из поликапролактона на полипропиленовых нитях). Полностью рассасывающиеся нити состоят из различного вида синтетических шовных материалов (полидиоксанон, полигликолид, полимолочная кислота и т.д.), имеющих различные сроки биodeградации. К сегодняшнему дню регистрацию в МЗ РФ для применения в целях эстетической коррекции возрастных изменений кожи лица прошли нити из полидиоксанона и полимолочной кислоты.

По преобладающему эстетическому эффекту нити подразделяются:

- на лифтинговые – осуществляют перемещение и фиксацию тканей по выбранному вектору;
- на армирующие – осуществляют фиксацию мягких тканей, без их перемещения;
- на биостимулирующие – стимулируют регенераторные процессы в тканях, усиливая синтез коллагена, эластина и других компонентов межклеточного матрикса [7, 28, 29].

В данной работе речь пойдёт исключительно о биостимулирующих нитях, выше названная классификация приведена в целях обзора.

Биостимулирующие нити также имеют множество конфигураций, такие как:

- спиральные;
- пружинки;
- косички;
- линейные мононити.

Все вышеперечисленные подтипы биостимулирующих нитей активируют процессы репаративной регенерации в тканях кожного лоскута при имплантации в поверхностные слои подкожно-жировой клетчатки и создают каркас из новообразованного коллагена [25, 30, 45, 47], так как в тканях, окружающих имплантированную нить, происходят процессы регенеративного гистогенеза. Туда мигрируют

фибробласты, активированные факторами роста и цитокинами [60, 74]. Таким образом, данная процедура предупреждает возрастные изменения мягких тканей лица. Конструкция для процедуры имплантации состоит из инъекционной иглы-проводника и нити, половина которой помещена в полость иглы, а вторая половина находится снаружи и зафиксирована держателем (из пенопласта, резины, полистирола и т.д., в зависимости от производителя [68]). Игла-проводник вводится параллельно поверхности кожи, на всю длину. После установки нити в ткань, на обратном ходе иглы, нить отделяется от проводника, оставаясь в тканях. Уровень постановки таких нитей – глубокие слои дермы, либо субдермально, так как именно при данном уровне имплантации достигается наилучший эффект стимуляции новообразования коллагена [135, 181]. В зависимости от площади проблемной зоны, устанавливается различное количество нитей. В среднем от 30 до 60 за одну процедуру. Нити имплантируются на расстоянии 1–2 мм, параллельно друг другу, либо по различным схемам установки [122, 169, 171, 192].

К возможным осложнениям относятся инфекционно-воспалительные процессы в месте имплантации, боль в зоне воздействия, длительный отёк, гематомы, аллергические реакции. Это осложнения, характерные для любой инвазивной процедуры. К специфическим осложнениям относятся избыточный фиброз, контурация нити, втяжение, травматизация нервных стволов и протоков слюнных желёз [45, 46, 95, 111, 113].

## **1.6 Применение полидиоксанона и поли-L-лактида в медицинской практике**

Полидиоксанон – синтетический шовный материал, получаемый путем каталитической полимеризации парадиксана, гетероциклического соединения с эмпирической формулой  $C_4H_6O_3$  [9, 53, 79, 80].

На территории Российской Федерации практически нет производства полидиоксанона ввиду определенных сложностей методики получения. Сложностью



является получение олигомера, n-диоксанона, нужной степени чистоты и достаточным выходом, а также сложность синтеза полимера с достаточной степенью полимеризации [154, 157, 160]. Полидиоксанон имеет монофиламентную структуру и период полной деградации в тканях 180–240 дней [165, 174, 194], однако, срок зависит и от диаметра волокна [118]. Резорбция полидиоксаноновой нити начинается с потери прочности на растяжение с последующей потерей массы. Нить сохраняет приблизительно 70 % своей прочности в течение четырёх недель после имплантации в ткани, и около 50 % прочности в течение шести недель [130, 140]. Биodeградация полидиоксаноновой нити происходит путём гидролиза, без активации ферментативных литических систем окружающей ткани. В процессе гидролиза происходит образование мономеров 2-гидроксиэтоксиксусной кислоты, в дальнейшем абсорбируемых и полностью разрушаемых организмом до углекислого газа и воды [13, 24, 150]. Отсутствие вовлеченности ферментативных систем окружающих тканей в процесс резорбции материала, образование нетоксичных промежуточных продуктов гидролиза, метаболизируемых в конечном счете до легко элиминируемых углекислого газа и воды, обуславливает минимальную реакцию окружающей ткани на имплантацию данного материала [9, 74, 192]. По результатам исследования [173], в рамках которого сравнивались пять видов шовных материалов (полидиоксанон, полиамид, полипропилен, металлические клипсы, и полиглактин), использующихся для сшивания кожи, именно полидиоксанон характеризовался наименьшими проявлениями раздражающего действия.

Как хирургический шовный материал, полидиоксанон используется в хирургии более 30 лет, широко применяется в детской хирургии, в гастроэнтерологии, в пластической хирургии и т.д. [14, 67, 71, 175]. Также он применяется в тканевой инженерии [141] и для изготовления раскрывающихся стентов [44]. Полидиоксанон имеет высокий профиль безопасности, не вызывая в месте имплантации грубого фиброза [61, 62, 69, 107].

Поли-L-лактид используется с 80-х годов прошлого века, в различных областях медицины. В травматологии и ортопедии поли-L-лактид используется для

изготовления винтов и фиксирующих пластин для лечения переломов, в фармакологии для изготовления систем контролируемой доставки лекарственных средств, а также в абдоминальной хирургии и трансплантологии в качестве шовного материала и при изготовлении абдоминальных сеток [84, 179, 181]. Субстратом для синтеза данного полимера служит L-молочная кислота, которая является естественным продуктом обмена организма. В тканях PLLA подвергается биodeградации путем гидролиза до мономеров L-молочной кислоты, с последующим включением в цикл Кребса и расщеплением до углекислого газа и воды. По причине отсутствия в PLLA пептидных цепей, она не вызывает реакций иммунизации. Следует отметить, что в клеточный метаболизм может включаться только L-форма молочной кислоты (левовращающий энантиомер). D-форма (правовращающий энантиомер) может метаболизироваться только некоторыми видами бактерий, но никак не клетками человеческого организма. Потому, в отношении применения в качестве биodeградируемых имплантов, предпочтителен именно поли-L-лактид, по сравнению с поли-D,L-лактидом.

Нить из поли-L-лактида также имеет монофиламентную структуру, однако обладает более высокой прочностью на разрыв и низкой эластичностью (высокий модуль упругости), в сравнении с такой же по диаметру нитью из полидиоксанона [13]. Срок биodeградации нити из поли-L-лактида сравнительно долгий – от 18 до 24 мес., в зависимости от диаметра. Процесс биodeградации начинается с уменьшения молекулярной массы полимера, однако механические характеристики не имеют значимых изменений в срок более первых 16 недель [21, 141, 191].

Оба типа нитей отвечают всем требованиям, предъявляемым к шовному материалу [42, 118, 179]:

- биосовместимость – отсутствие токсического, аллергенного, канцерогенного и тератогенного воздействия на организм;
- атравматичность – отсутствие «пилящего» эффекта;
- афитильность – способность нити не впитывать в себя содержимое окружающих тканей, таким образом, не способствуя развитию воспалительного процесса;

- апирогенность – не оказывает провоспалительного эффекта;
- эластичность, гибкость нитей;
- прочность;
- возможность постепенной биodeградации;
- стерильность;
- технологичность крупносерийного изготовления, относительно невысокая себестоимость [35, 180].

Имплантация нитей из полидиоксанона и поли-L-молочной кислоты в кожные покровы является одной из достаточно удобных и простых в исполнении процедур, занимающую отдельную нишу в малоинвазивных методах коррекции начальных возрастных изменений. Как достаточно «молодая» антивозрастная методика, имплантация гладких нитей вызывает множественные дискуссии в кругах профессионалов. Однако, бесспорным является факт недостаточной изученности гистологических изменений тканей при субдермальной имплантации монофилamentных нитей из синтетических биodeградирующих материалов полидиоксанона и поли-L-молочной кислоты. Существует сравнительно малое количество публикаций, в которых проведено детальное изучение клеточной реакции на имплантированную нить, а также влияние данной процедуры на новообразование волокнистого компонента окружающей соединительной ткани – дермы кожи и подкожно-жировой клетчатки, с количественной характеристикой прироста волокон. Также недостаточно данных о влиянии процедуры субдермальной имплантации нитей из данных видов материалов на микроциркуляторное русло окружающих тканей.

Использование стандартного гистологического исследования для определения количества сосудов на срезе ткани является эффективным, но недостаточно специфичным методом. Более полную и достоверную информацию может дать использование доступной ныне методики иммуногистохимического окрашивания срезов на маркеры ангиогенеза, а также использование специфического окрашивания для идентификации коллагеновых и эластиновых волокон соединительной ткани для идентификации прироста волокнистого компонента в окружающей дерме и гиподерме.

В дополнение к выше перечисленным малоизученным аспектам влияния подкожной имплантации нитей из полидиоксанона и поли-L-молочной кислоты на окружающие ткани, можно сказать что практически отсутствуют публикации со сравнительной оценкой гистологических изменений при имплантации нитей из этих двух видов материалов, то есть, имеется ли разница в клеточном составе регенеративного гистиона в тканях вокруг нитей из полидиоксанона и полимолочной кислоты; имеется ли разница в приросте волокнистого компонента в окружающих тканях и влиянии на ангиогенез.

## Глава 2

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальное исследование проведено на 120 неинбредных белых крысах-самках 6-месячного возраста. Данная модель является адекватной, так как сравнительно молодой возраст подопытных животных обусловлен рекомендациями к применению методики имплантации монофиламентных биорезорбируемых нитей у пациентов эстетического профиля. По рекомендациям, коррекции данным методом могут подвергаться лишь начальные возрастные изменения кожи лица и тела [33, 47]. При значимых возрастных изменениях и присутствующем при этом избытке кожного лоскута имплантация биостимулирующих монофиламентных биodeградируемых нитей из полидиоксанона или из поли-L-лактида, не может являться методом выбора. Потому как, не смотря на декларируемый эффект стимуляции коллагено- и эластиногенеза, который предполагает уплотнение кожного лоскута, имплантация данного вида нитей не способна привести к значимому сокращению избытка кожного лоскута у возрастных пациентов.

При этом необходимо имплантировать не менее трех-четырех нитей, так как в клинической практике имплантируется большое количество данных материалов на большие участки кожи у людей (живот, бёдра, лицо). Место имплантации (кожа поверхности спины, в стороне от позвоночного столба) выбрана по причине наименьшей подверженности деформации и повреждениям при жизнедеятельности подопытных животных, в отличие от кожи живота и конечностей.

Проведенное исследование направлено на сравнительную оценку состава и выраженности клеточной реакции на имплантацию нитей из полидиоксанона и поли-L-лактида, а также влияния данной процедуры на неоангиогенез и волокнистые компоненты дермы и подлежащего слоя подкожно-жировой клетчатки.

Эксперимент на животных выполняли в соответствии с правилами Европейской конвенции защиты позвоночных животных, которые используются в экспериментальных и других научных целях. Соблюдение основных биоэтических

норм при проведении исследования подтверждены заключением этического комитета Медицинского университета «Реавиз» г. Самара.

Методом случайной выборки было сформировано 6 групп по 20 крыс в каждой. Группам под номером 1 и 2 имплантированы монофиламентные нити из материала полидиоксанона, группам 3 и 4 имплантированы нити той же конфигурации из поли-L-молочной кислоты. Группы под номером 5 и 6 не подвергались выше описанным манипуляциям и выступали в качестве контроля.

Процедура имплантации осуществлялась под легким эфирным наркозом. Для этого на боковой поверхности туловища животного, справа от позвоночника и на 2 см выше хвоста, была сбрита шерсть. С соблюдением правил асептики и антисептики под кожу животного, субдермально, имплантировано по 4 нити из полидиоксанона или поли-L-молочной кислоты соответственно. Нити имплантированы параллельно друг другу, на расстоянии 1–1,5 мм.

Животные содержались в условиях вивария.

На 21-й день после имплантации гуманно забиты, путем декапитации, крысы из групп 1, 3 и 5.

На 90-й день после имплантации таким же образом забиты крысы из групп 2, 4 и 6.

Причиной выбора в качестве контрольной точки 21-е сутки после имплантации послужил тот факт, что к этому времени полностью завершается воспалительная фаза раневого процесса и фаза регенерации также стремится к завершению. Таким образом, большинство регенеративных процессов, свойственных любой колотой ране, к 21-м суткам уже реализуются и может быть оценено влияние имплантированной нити на окружающие ткани. 90-е сутки выбраны контрольной точкой по причине того, что к этому времени уже активно происходят процессы резорбции материалов, из которого изготовлены нити. Однако, еще не происходит мелкой фрагментации полидиоксанона и его полного рассасывания. Так как период полной биодеградации полидиоксаноновой нити составляет от 180 дней, то при выборе более поздних сроков в качестве контроля существовала вероятность биодеградации большей части полидиоксаноновой нити, что создало бы трудности с

качественной и количественной оценкой регенеративного гистиона вокруг имплантата. Нити из поли-L-лактида обладают более длительными сроками биodeградации, потому, несомненно, нуждаются в дальнейшем подробном изучении на более поздних сроках, которые могут быть осуществлены в рамках других работ.

У крыс из опытных групп забраны лоскуты кожи с подкожно-жировой клетчаткой, размерами 1,5×1,5 см, в местах имплантации нитей. Также были забраны такого же размера лоскуты кожи у животных из групп контроля.

Из образцов тканей изготавливались гистологические препараты по общепринятой схеме, с окрашиванием гематоксилином и эозином. Данные препараты подвергались анализу с целью изучения выраженности клеточной реакции и состава регенеративного гистиона в опытных образцах.

Для оценки степени неоангиогенеза использовался иммуногистохимический метод. Препараты опытных и контрольных групп окрашивались авидин-биотиновым пероксидазным методом антителами к CD31(DAKO) и Factor VIII (DAKO). Данные иммуногистохимические маркёры являются весьма специфичными для выявления эндотелиальных клеток.

CD31 (PECAM-1, platelet/endothelial cell adhesion molecule-1) – это мембранный гликопротеид, член суперсемейства иммуноглобулинов, представляющий собой одноцепочечную трансмембранную молекулу межклеточной адгезии эндотелиальных клеток. Молекулярная масса 130 кДа. Экспрессируется эндотелиоцитами, гранулоцитами и тромбоцитами. Играет важную роль в процессе миграции лейкоцитов в очаг воспаления. Является маркером эндотелиальных клеток при иммуногистохимическом исследовании, окрашивая их в коричневый цвет. Также окрашивает моноциты, мегакариоциты и плазматические клетки [68, 130].

Factor VIII (фактор Виллебранда) – представляет собой гликопротеин, который опосредует адгезию тромбоцитов к субэндотелию на участках сосудистого повреждения. Синтезируется в эндотелиальных клетках и мегакариоцитах как внутриклеточный протеин. В цитоплазме эндотелиальных клеток накапливается в гранулах – тельцах Weibel-Palade. Антитела к Factor VIII окрашивают эндотелиоциты, мегакариоциты и, в меньшей степени, тромбоциты в коричневый цвет [96, 119].

Метод трихромного окрашивания по Маллори был использован для оценки изменений волокнистых элементов в тканях. Данный метод основан на различном сродстве соединительнотканых волокон к кислым (пикриновая кислота) и основным (фуксин) красителям. В результате коллагеновые волокна окрашиваются в синий, эластические – в различные оттенки розового, эритроциты – желтые.

Полученные препараты подвергались морфометрическому анализу с последующей статистической обработкой результатов.

## **2.1 Описание конструкции для процедуры имплантации**

Конструкция для процедуры имплантации представляет из себя полую иглу-носитель с режущим концом, в полость которой предустановлена монофиламентная нить, свободный отрезок нити выведен через кончик иглы и зафиксирован держателем из поролона. Внешний вид конструкции для процедуры имплантации монофиламентных нитей представлен на рисунке 1.



Рисунок 1 – Внешний вид конструкции для процедуры имплантации монофиламентных нитей



Процедура имплантации нитей подопытным животным представлена на рисунке 2.



Рисунок 2 – Имплантация монофиламентных биорезорбируемых нитей подопытным животным

Параметры использованных конструкций представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Параметры использованных конструкций

Материал	Длина иглы, мм	Длина нити, мм	Диаметр иглы (G)	Толщина нити (USP)	Производитель
PLLA	38	45	27	6-0	Россия
ПДО	38	50	29	6-0	Корея

### Глава 3

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 3.1 Результаты морфологического исследования препаратов контрольной группы

В препаратах обеих контрольных групп наблюдалась гистологическая картина интактной кожи. При стандартной окраске гематоксилином и эозином хорошо визуализировался эпидермис, с определяемой дифференцировкой на слои, структура кератиноцитов без изменения. Дерма представлена клетками фибробластического дифферона и структурированными коллагеновыми волокнами, которые распределены в разных областях и расположены близко друг к другу. Гиподерма не изменена, представлена сгруппированными адипоцитами и пучками соединительнотканых волокон между ними. Контуров жировых клеток отчетливы. Также визуализируются мышечные волокна с хорошо определяемой поперечной исчерченностью. Придатки кожи не изменены. Скопления клеток гематогенного и гистиогенного происхождения в межклеточном пространстве дермы и гиподермы не обнаруживаются (рисунок 3, 4).

При анализе препаратов контрольной группы, окрашенных по методу Маллори, наблюдается преобладание коллагеновых волокон в дермальном слое. Эластические волокна визуализируются в составе стенок микрососудов а также располагаются диффузно в межклеточном веществе дермы. В межклеточном веществе эластиновые волокна представлены в гораздо меньшем количестве по сравнению с волокнами коллагена, что закономерно для нормального строения интактной кожи (рисунок 9, 22).

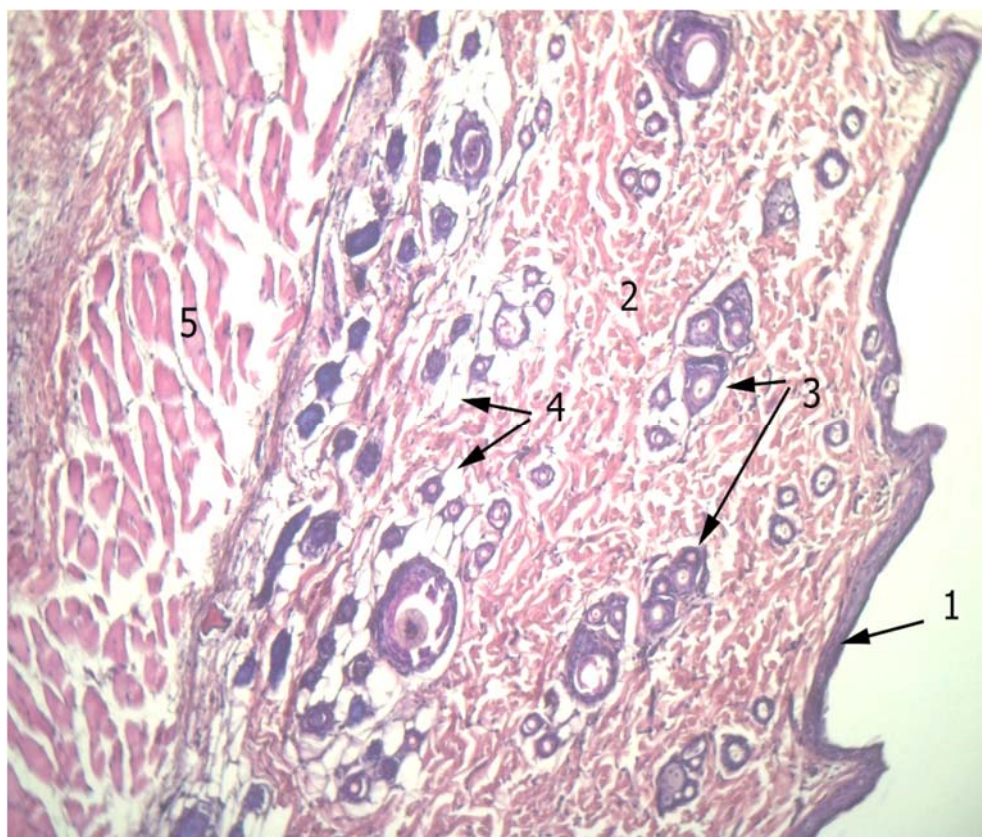


Рисунок 3 – Дерма, гиподерма и мышечные волокна в препаратах контрольной группы (окр. гематоксилин-эозин, ув. 120): 1 – эпидермис; 2 – дерма; 3 – волосяные фолликулы; 4 – адипоциты; 5 – поперечнополосатые мышечные волокна

Иммуногистохимическое окрашивание маркерами эндотелиальных клеток CD31 и Factor VIII выявило равномерную капилляризацию дермы и гиподермы контрольных препаратов. Отсутствовали скопления тонкостенных капилляров, характерные для процессов репаративного гистогенеза (рисунок 12, 13).

Для лучшей наглядности при сравнении с исследуемыми группами, микрофотографии препаратов контрольных групп, окрашенные по методу Маллори и иммуногистохимическими маркёрами, приведены ниже по тексту.

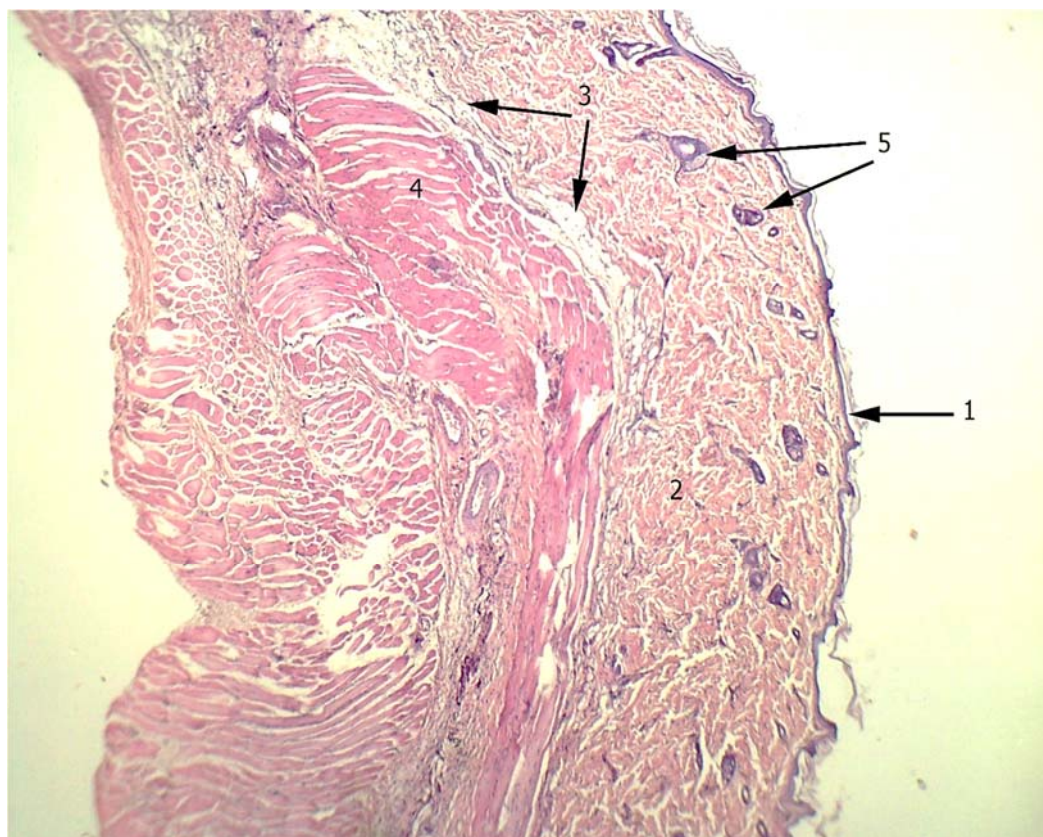


Рисунок 4 – Дерма, гиподерма и мышечные волокна, препарат группы контроля (окр. гематоксилин-эозин, ув. 50): 1 – эпидермис; 2 – дерма; 3 – адипоциты; 4 – мышечный слой; 5 – волосяные фолликулы

### 3.2 Результаты морфологического исследования при применении полидиоксанона

В исследуемой группе гистологических препаратов, полученных от животных, умерщвленных на 21-е сутки после начала эксперимента, была выявлена умеренная клеточная реакция вокруг имплантированной нити из полидиоксанона. Визуализировались клетки гематогенного происхождения с окрашенными гематоксилином округлыми ядрами и окрашенные эозином соединительнотканые волокна (рисунок 5).



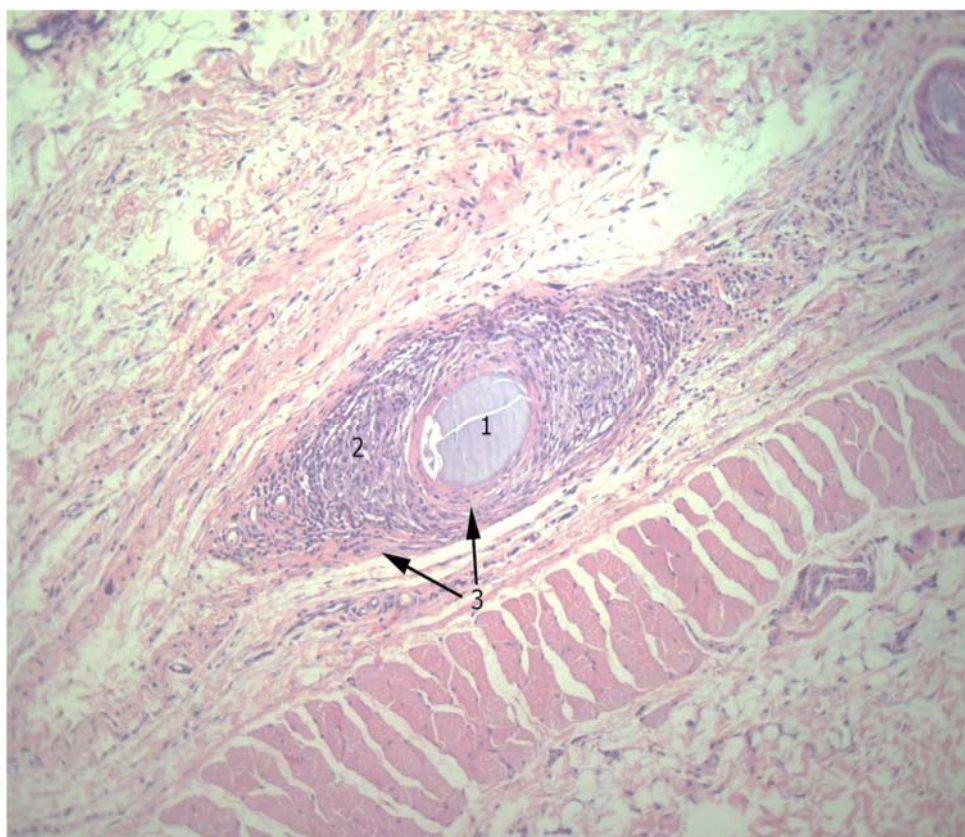


Рисунок 5 – Имплантированная нить из материала полидиоксанона в гиподерме на 21-й день эксперимента (окр. гематоксилин-эозин, ув. 120х):

1 – имплантированная нить из ПДО; 2 – умеренная клеточная реакция вокруг нити; 3 – соединительнотканые волокна

Клеточная реакция представлена сформированными очаговыми скоплениями клеток, с преимущественным преобладанием лимфоцитов и макрофагов, с примесью плазмочитов и единичными гигантскими многоядерными клетками типа инородных тел вокруг введенных нитей. В поверхностных слоях обнаруживаются очаги слабого отека дермы. Перивазальные скопления клеток представлены преимущественно лимфоцитами и плазмочитами на фоне начинающегося коллагено- и неоангиогенеза. Наблюдается незначительное количество клеток фибробластического ряда.

При микроскопическом исследовании опытных препаратов кожи с подкожно-жировой клетчаткой и поверхностным слоем мышечной ткани крыс на 21-е сутки после введения нитей, вокруг них наблюдается немногочисленные скопления клеток регенеративного гистиона, представленные в основном лимфоцитами и макрофага-

ми, с примесью моноцитов и единичных нейтрофилов. В составе также присутствуют единичные гигантские многоядерные клетки типа инородных тел. Данный регенеративный гистион ограничен участками вокруг нитей. Также в этих участках визуализируются фибробласты в виде веретеновидных клеток с вытянутыми ядрами, окруженные неосинтезированными волокнами коллагена. В пограничной зоне выявляются признаки слабого отека ткани и присутствуют в небольшом количестве клетки регенеративного гистиона, также представленные в основном лимфоцитами и макрофагами. При этом полностью отсутствуют нейтрофилы. Присутствует большое количество новообразованных капилляров. В пограничных участках наблюдается узкая зона плотной неоформленной соединительной ткани со слабо выраженным коллагеногенезом. Клетки фибробластического ряда незначительно преобладают над нежными тонкими волокнами коллагена (рисунок 6, 7).

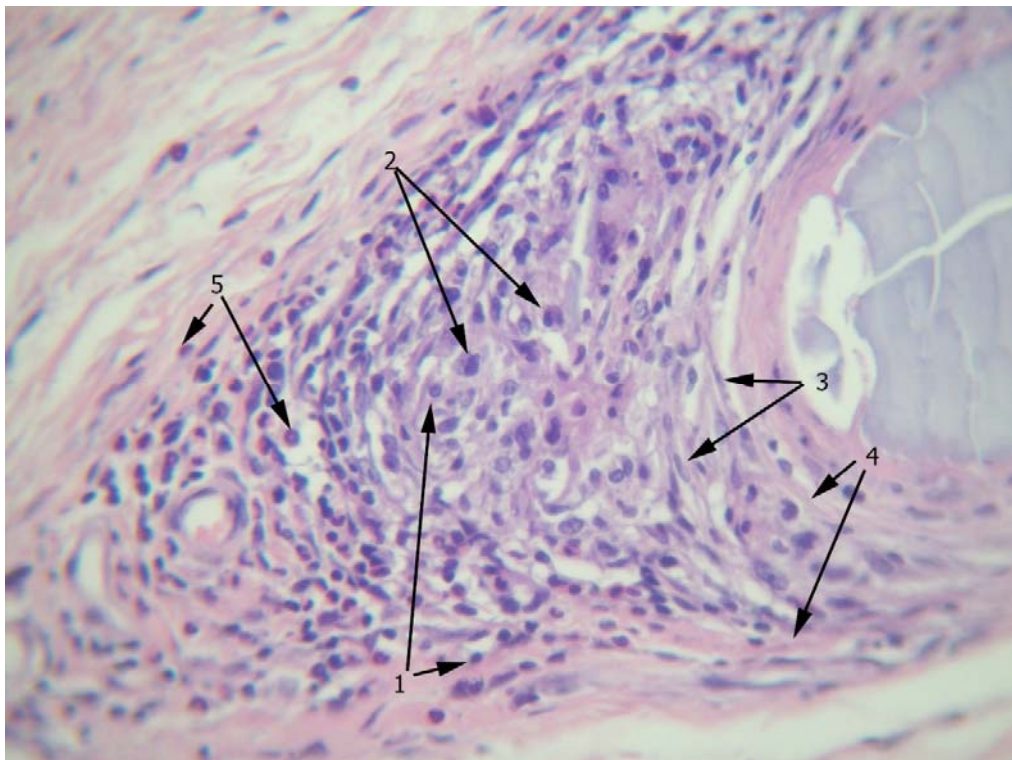


Рисунок 6 – Клетки регенеративного гистиона, представленные в основном лимфоцитами и макрофагами, с единичными гигантскими многоядерными клетками вокруг нитей из полидиоксанона на 21-е сутки эксперимента (окр. гематоксилин-эозин, ув. 450х): 1 – лимфоциты; 2 – макрофаги; 3 – фибробласты; 4 – новообразованные волокна коллагена; 5 – плазмоциты

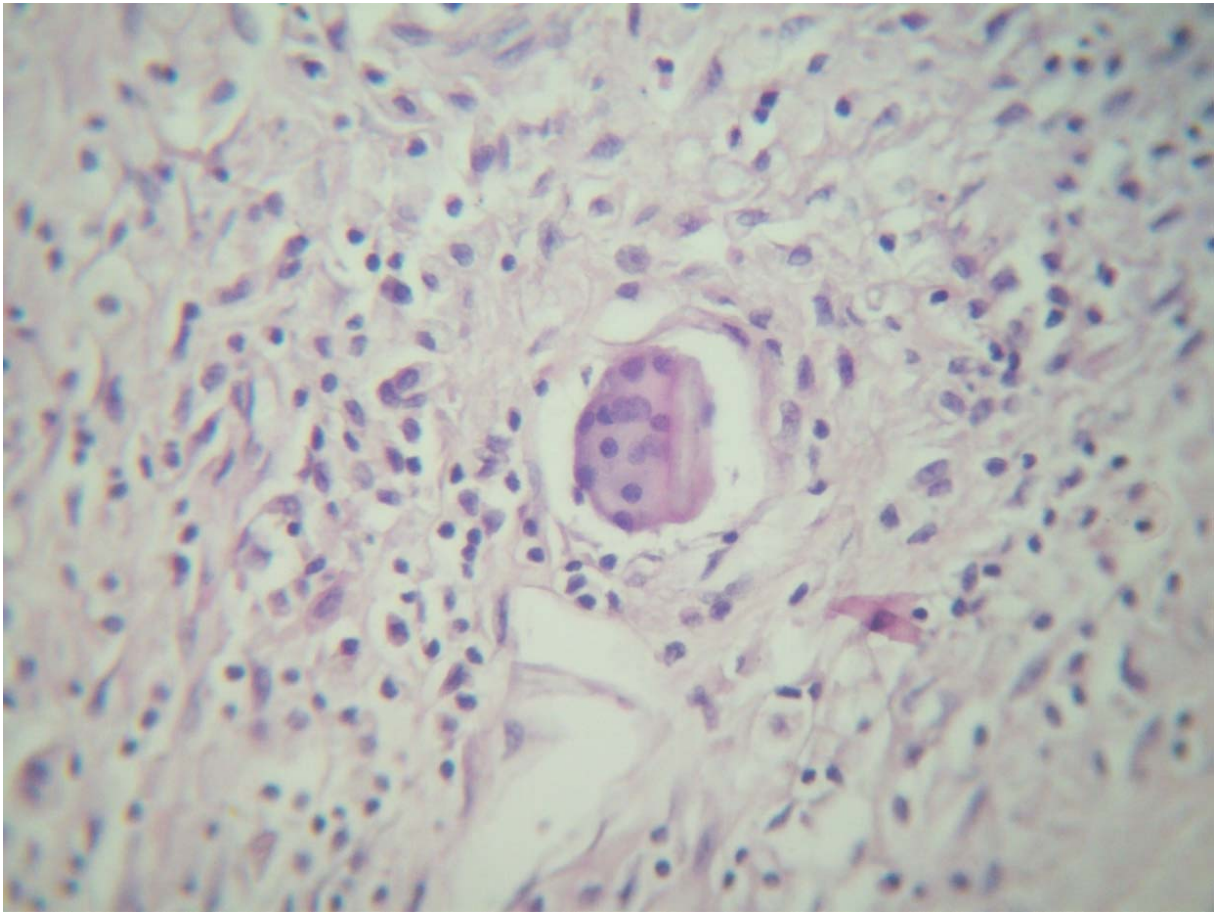


Рисунок 7 – Гигантская многоядерная клетка инородных тел в составе регенеративного гистиона вокруг нити из полидиоксанона на 21-е сутки эксперимента (окр. гематоксилин-эозин, ув. 470х)

В опытной группе гистологических препаратов, полученных от животных на 90-е сутки после введения нитей ПДО, в пограничной зоне выявлено формирование множественных капилляров. В пограничных участках перивазально обнаруживаются единичные плазмоциты, макрофаги. В зоне вокруг нитей выявляется крайне слабая продуктивная реакция с уменьшением количества лимфоцитов и многоядерных клеток, снижением общего числа и плотности клеток, на фоне образования волокон коллагена, концентрически окружающих нити, и мелких новообразованных сосудов, вовлеченных в регенеративный процесс вокруг нитей (рисунок 8).



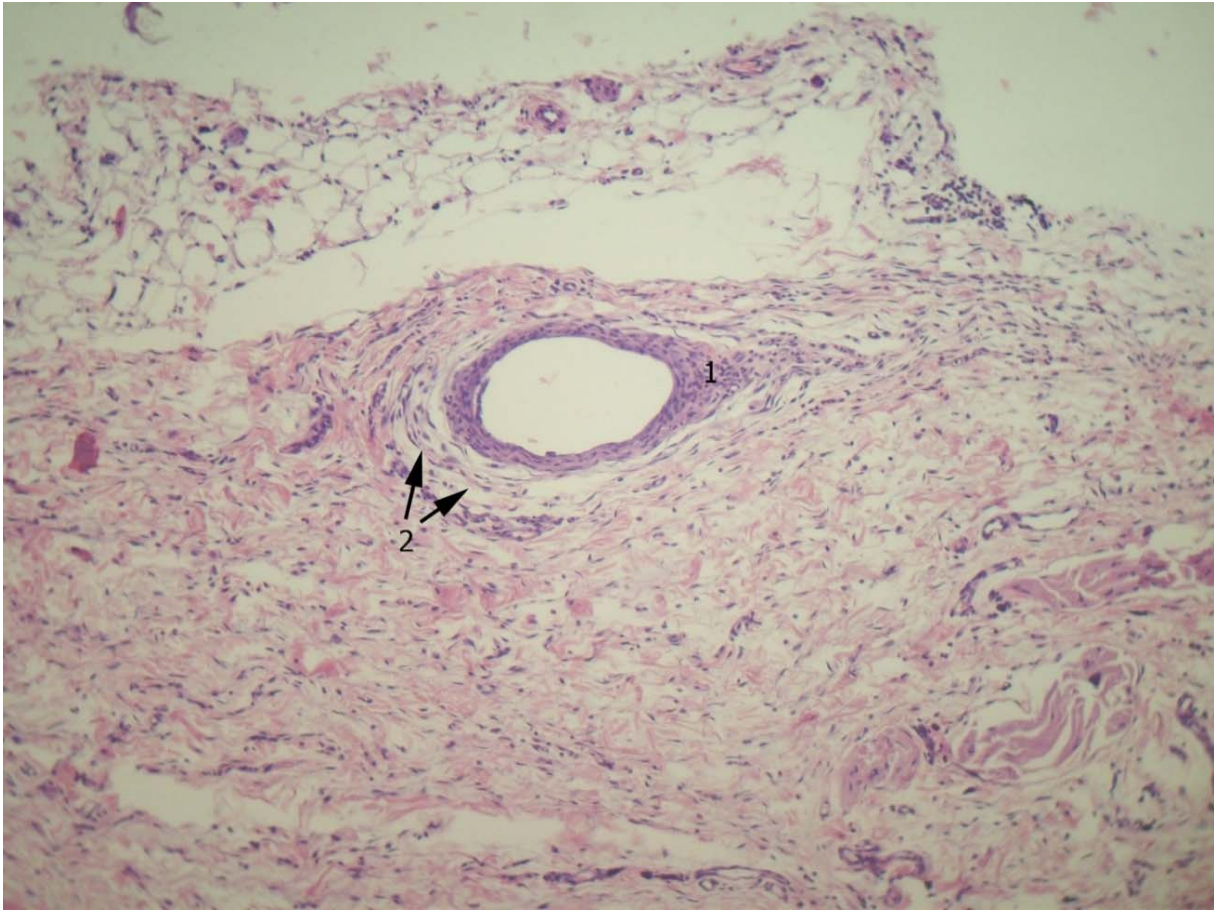


Рисунок 8 – Нить из материала полидиоксанона в гиподерме на 90-й день эксперимента (окр. гематоксилин-эозин, увел. 120х): 1 – слабая клеточная реакция вокруг имплантированной нити; 2 – concentрические волокна коллагена

При этом непосредственно нити отграничены слоем макрофагов и фибробластов, а далее следуют concentрические структуры соединительнотканых волокон, чередующихся со слоями макрофагов и фибробластов. По периферии – слабо выраженное скопление клеток лимфоцитарного дифферона и макрофагов (рисунок 9).



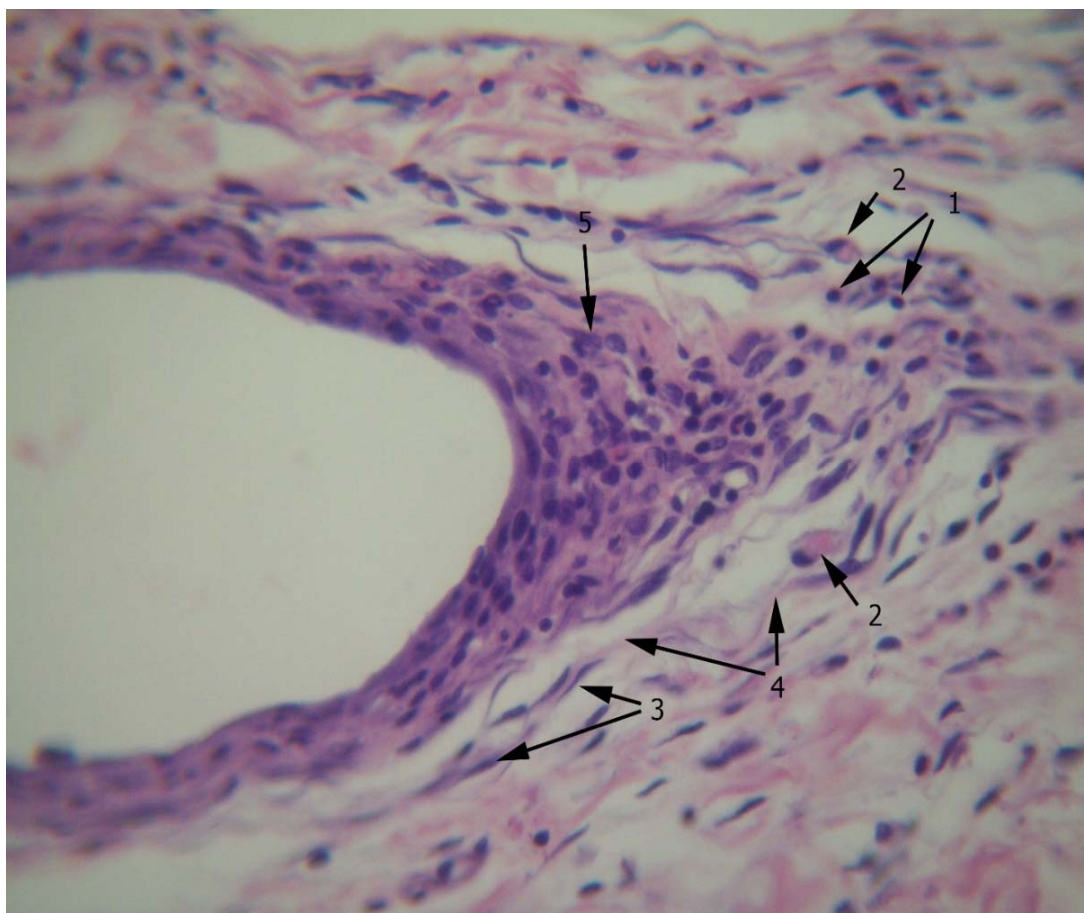


Рисунок 9 – Уменьшение площади скопления клеток регенеративного гистиона вокруг имплантированной нити из материала полидиоксанона на 90-й день. Слои макрофагов и фибробластов, чередующиеся с concentрическими волокнами коллагена (окр. гематоксилин-эозин, увел. 120х): 1 – лимфоциты; 2 – макрофаги; 3 – фибробласты; 4 – concentрические волокна коллагена; 5 – плазмоциты

Измерение количества клеток регенеративного гистиона, его качественного состава, а также динамика в течение эксперимента представлена в таблице 2.

Таблица 2 – Динамика изменения количественного и качественного состава регенеративного гистиона в зоне вокруг нитей ПДО у экспериментальных животных, Me (q25-q75) {min-max}

Показатель		Группа			Значение p	
		Контроль	21 сутки	90 сутки	сравнение контроль 21 сутки	сравнение контроль 90 сутки
Количество клеток регенеративного гистиона, мм <sup>2</sup>		0	156 (117–195) {93–218}	41 (30–51) {24–57}	0,011	0,010
Относительная доля клеточных элементов, %	Лимфоциты	0	9 (6–11) {5–12}	29 (21–36) {17–40}	0,012	0,011
	Плазмоциты	0	38 (28–47) {22–53}	22 (16–27) {13–30}	0,012	0,012
	Нейтрофилы	0	6 (4–7) {3–8}	0	0,013	0,916
	Макрофаги	0	47 (35–59) {28–65}	49 (36–61) {29–68}	0,012	0,013
	Гигантские клетки	0	8 (6–10) {4–11}	7 (5–9) {4–9}	0,834	0,403

Примечание. Использовали U-критерий Манна – Уитни, учитывая поправку Бонферони различия считали достоверными при  $p \leq 0,017$ .

Изменение выраженности клеточной реакции в течение времени эксперимента наглядно прослеживается на графике (рисунок 10).

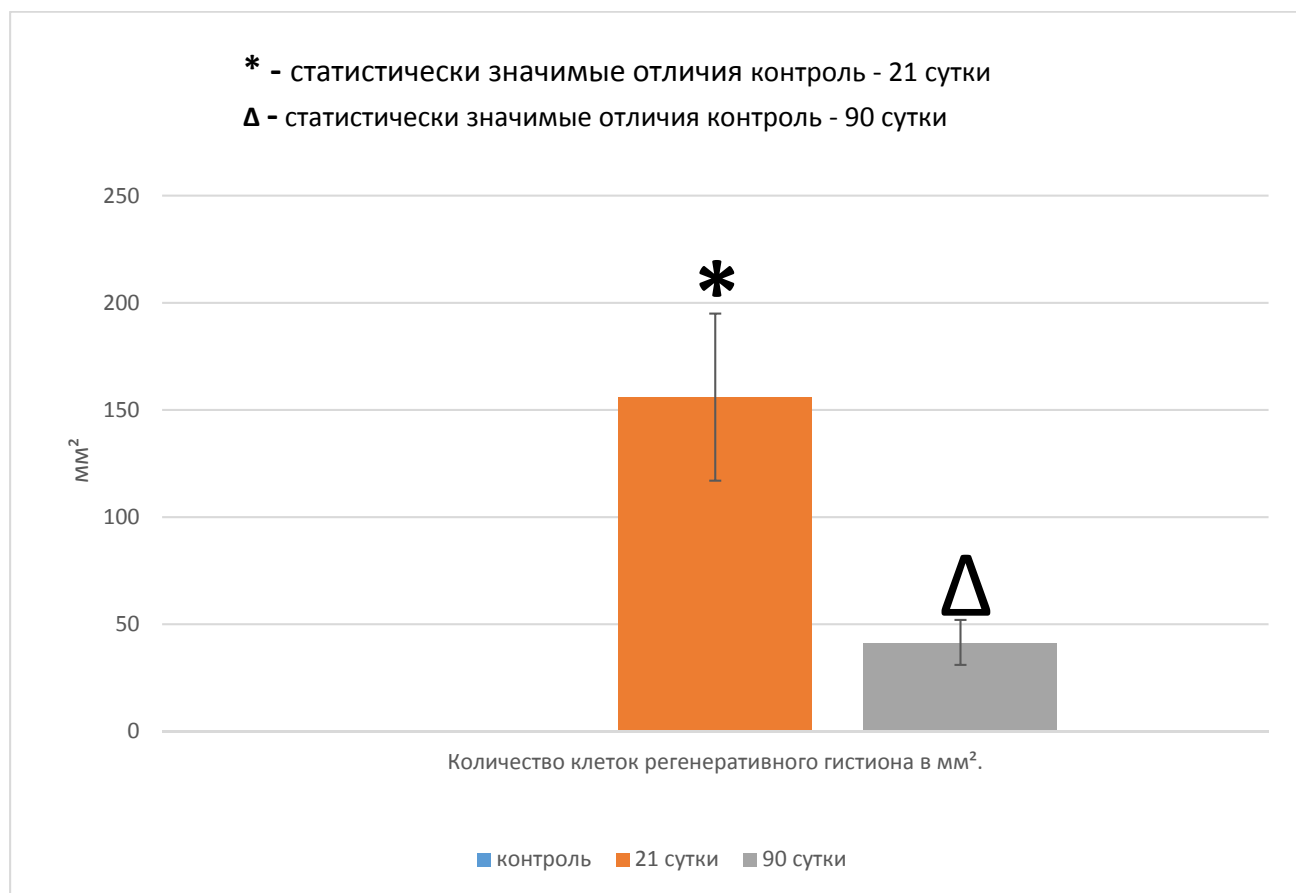


Рисунок 10 – Динамика изменения выраженности клеточной реакции в зоне вокруг введенных нитей из ПДО у экспериментальных животных

При оценке результатов окрашивания по Маллори выявлено увеличение относительной площади соединительной ткани в экспериментальной группе препаратов крыс по сравнению с препаратами контрольной группы. Полученные результаты гистологического исследования представлены на рисунках 11 и 12. Динамика изменений в тканях дермы и подлежащих тканях в зоне введения нитей из полидиоксанона (ПДО) у экспериментальных животных отражена в таблице 3.

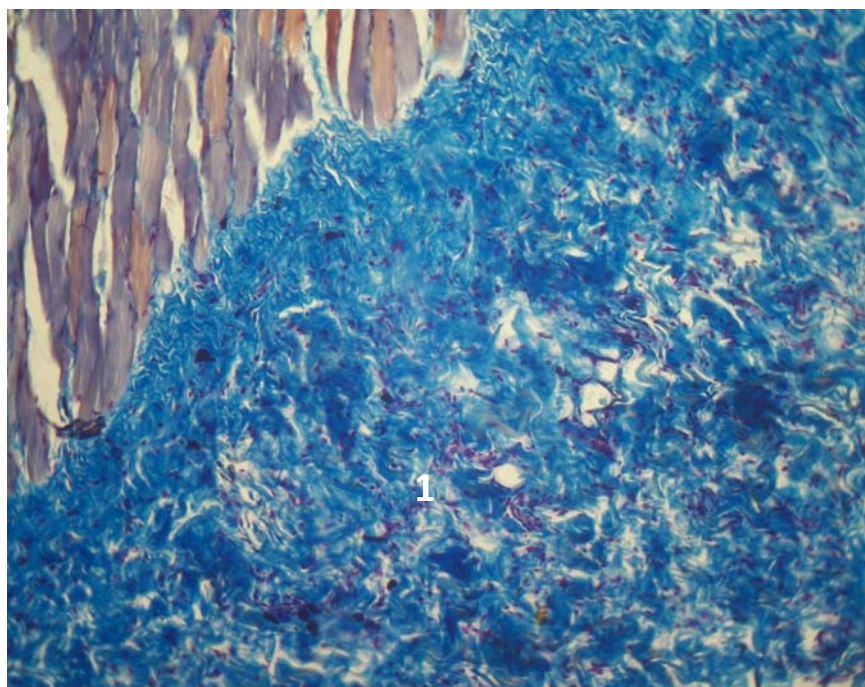


Рисунок 11 – Участок дермы контрольной группы. Количественное преобладание волокон коллагена (синий цвет) над волокнами эластина (красный цвет) (окр. по Маллори, увел. 120х): 1 – дерма;  
2 – поперечнополосатые мышечные волокна

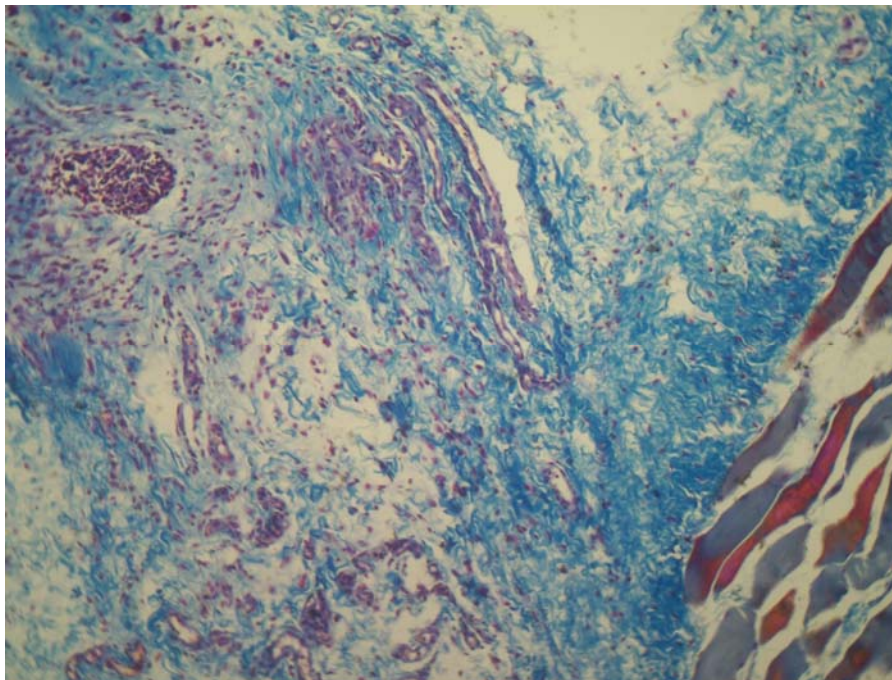


Рисунок 12 – Участок дермы над имплантированной нитью из полидиоксанона на 90-й день эксперимента. Увеличение доли эластических волокон (красный цвет) по отношению к коллагеновым (синий цвет) в дермальном слое (окр. по Маллори, увел. 120х)

Как видно из данных таблицы 3, а также рисунков 11 и 12, гистологическую картину можно охарактеризовать следующими изменениями: нарастает удельная площадь не только коллагеновых, но и эластических волокон. Нарастание относительной площади соединительнотканых волокон достигает статистической значимости к 21-му дню эксперимента. С течением времени эксперимента наблюдается тенденция к дальнейшему увеличению площади соединительнотканых волокон.

Таблица 3 – Динамика изменений в тканях дермы и подлежащих тканях в зоне введения нитей из полидиоксанона (ПДО) у экспериментальных животных, Me (q25-q75) {min-max}

Показатель		Группа			Значение p	
		Контроль	21 сутки	90 сутки	сравнение контроль 21 сутки	сравнение контроль 90 сутки
Площадь эластических волокон, %		6 (5,69–6,39) {4,5–7,5}	22 (20,85–23,43) {16,5–27,5}	36 (34,11–38,34) {27–45}	0,012	0,012
Площадь коллагеновых волокон, %		94 (93,61–94,32) {92,5–95,5}	78 (76,57–79,16) {72,5–83,5}	64 (61,66–65,89) {55–73}	0,012	0,012
Относительная площадь тканей	Мышечной	16 (15,16–17,04) {12–18}	16 (14,29–18,1) {11,2–19,4}	16 (15,46–16,84) {11,8–17,9}	0,916	0,347
	Соединительной	70 (64,5–74,34) {61,96–77,5}	76 (74,75–78,09) {72,36–82,6}	81,09 (79–87) {75,96–92,5}	0,016	0,012
	Жировой	14 (10,5–17,5) {10,5–21}	9 (6,75–10,25) {5,4–12,6}	5 (3,75–6,25) {3–7}	0,014	0,012

Примечание. Использовали U-критерий Манна – Уитни, учитывая поправку Бонферони различия считали достоверными при  $p \leq 0,017$ .



В целом в участках вокруг нитей наблюдается узкая зона плотной неоформленной волокнистой соединительной ткани с умеренно выраженным коллагеногенезом. В пограничных участках наблюдаются соединительнотканые волокна и расположенные между ними фибробласты (рисунок 13).

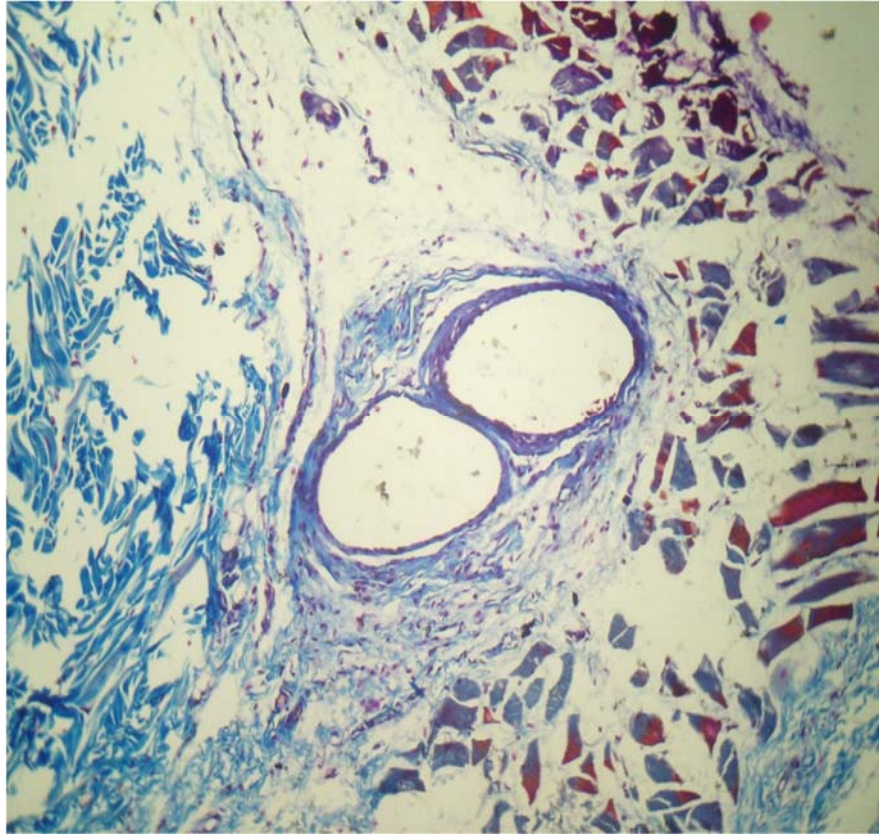


Рисунок 13 – Неоколлагеногенез и неоэластиногенез вокруг имплантированных нитей из материала полидиоксанона (окр. по Маллори, увел. 120х)

При оценке ангиогенеза, сначала производилось иммуногистохимическое окрашивание антителами к CD31 и к Factor VIII контрольных препаратов с подсчетом количества капилляров в интактных тканях – дерме и гиподерме, полученные препараты представлены на рисунках 14 и 15.

Далее, при окрашивании препаратов исследуемых групп, выявлено увеличение плотности капилляров перифокально в участках вокруг нитей, а также в дерме кожи, и в строме мышечной ткани между контрольной и обеими исследуемыми группами, что наглядно представлено в таблице 4.

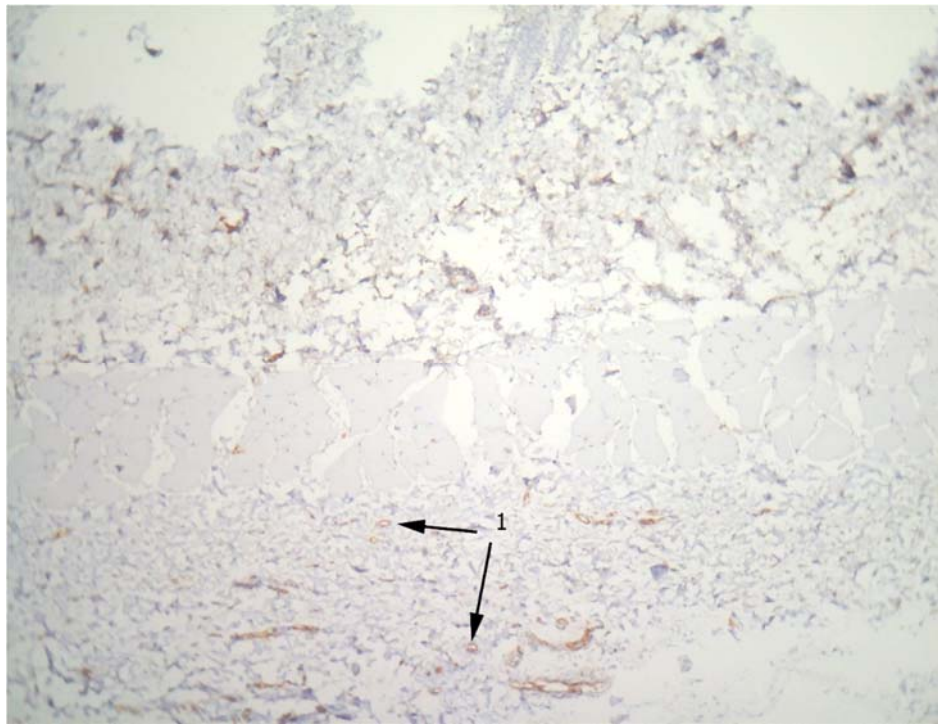


Рисунок 14 – Плотность распределения капилляров в гиподерме контрольной группы (окр. Factor VIII, увел. 200): 1 – капилляры

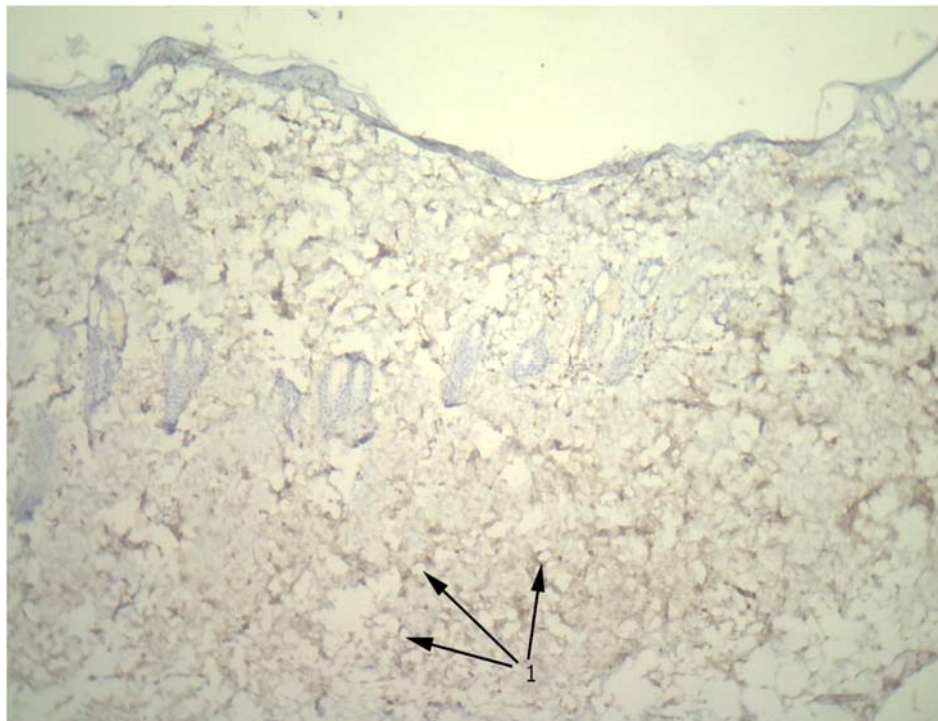


Рисунок 15 – Плотность распределения капилляров в гиподерме контрольной группы (окр. CD31, увел. 200): 1 – капилляры

Таблица 4 – Динамика изменений сосудистой плотности в зоне вокруг введенных нитей из ПДО, в пограничной зоне и в тканях дермы у экспериментальных животных, в препаратах, окрашенных антителами к CD31 и Factor VIII, Me (q25-q75) {min-max}

Зона		Группа			Значение p	
		Контроль	21 сутки	90 сутки	сравнение контроль 21 сутки	сравнение контроль 90 сутки
Сосудистая плотность (среднее значение в мм <sup>2</sup> )	Вокруг нитей	–	49,4 (37,05–61,75) {29,64–69,16}	54,6 (40,95–68,25) {32,76–76,44}	–	–
	Пограничная зона	22,12 (16,59–27,65) {16,59–33,18}	39,3 (29,48–49,13) {23,58–55,02}	43,7 (32,78–54,63) {26,22–61,18}	0,012	0,013
	Дерма	34,08 (25,56–42,6) {25,56–51,12}	48,5 (32,78–54,63) {26,22–61,18}	52,5 (39,38–65,63) {31,5–73,5}	0,013	0,013

Примечание. Использовали U-критерий Манна – Уитни, учитывая поправку Бонферони различия считали достоверными при  $p \leq 0,017$ .

Увеличение плотности микрососудов статистически значимо как в отношении группы контроля, так и при сравнении показателей исследуемых групп между собой. То есть, наблюдается достоверное нарастание плотности капилляров на единицу площади исследуемых тканей от 21-го к 90-му дню.

На представленной микрофотографии (рисунок 16) гистологического препарата кожи и подкожно-жировой клетчатки животного из исследуемой группы на 21-е сутки проиллюстрирован прирост количества капилляров в тканях вокруг имплантированных нитей.



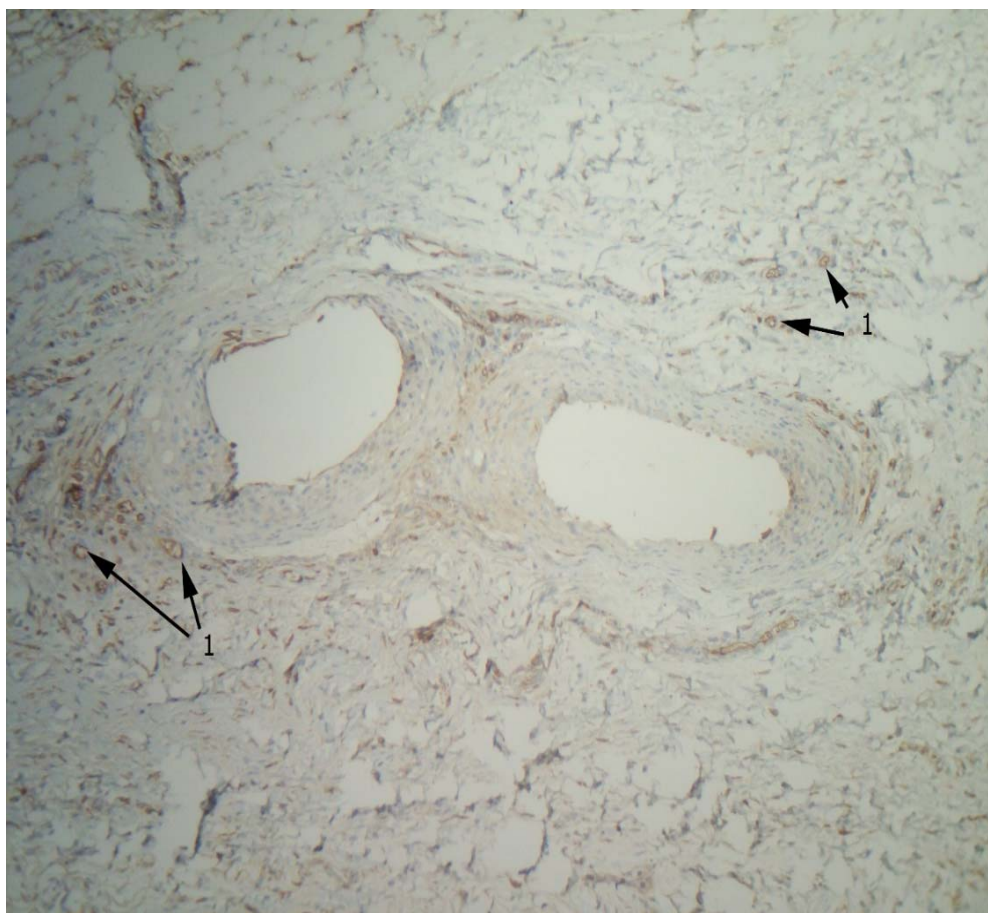


Рисунок 16 – Новообразованные капилляры вокруг нити из материала полидиоксанона на 21-й день после имплантации (окр. Factor VIII, увел.120х): 1 – новообразованные капилляры

При микроскопическом исследовании на 21-е сутки в пограничной зоне была выявлена неравномерная пролиферация эндотелиальных клеток, формирующих единичные зрелые капилляры. В пограничных участках наблюдается узкая прослойка плотной неоформленной соединительной ткани со слабо выраженным коллагеногенезом (рисунок 17).

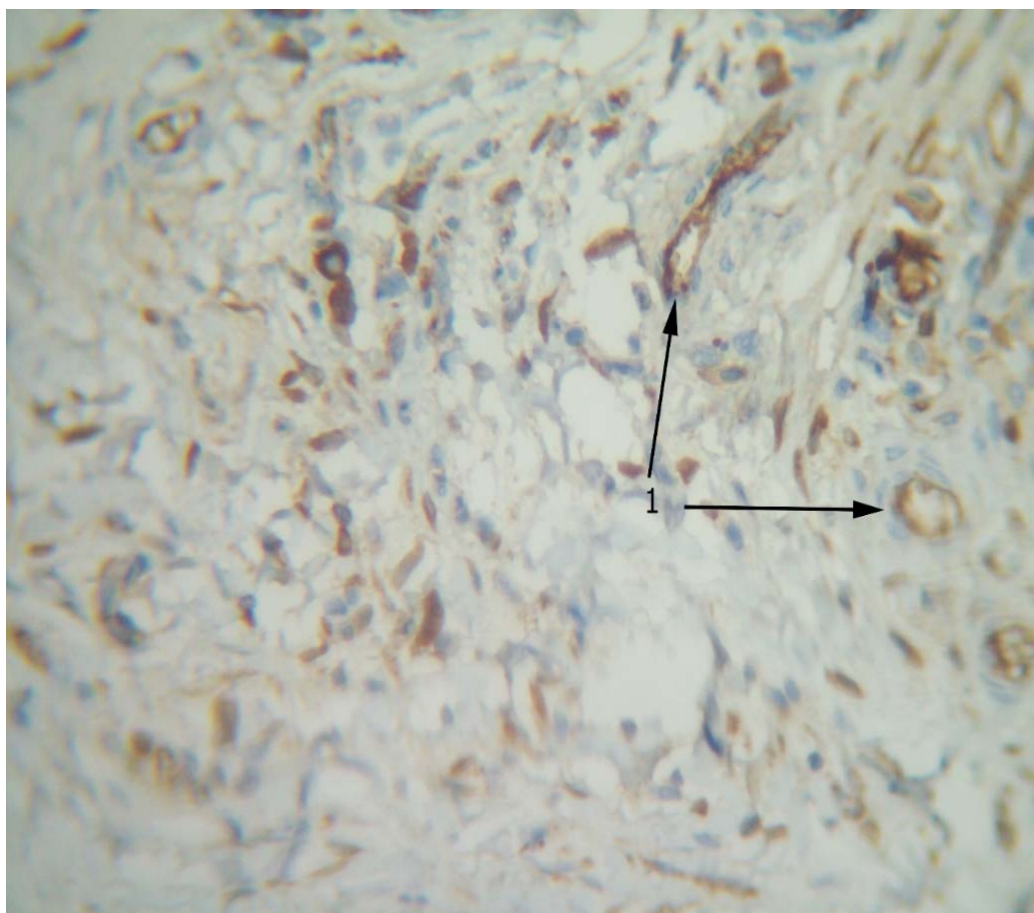


Рисунок 17 – Проплиферация эндотелиальных клеток (коричневый) в зоне вокруг имплантированной нити из материала полидиоксанона на 21-й день эксперимента (окр. Factor VIII, увел. 450х):

1 – новообразованные капилляры в зоне вокруг нитей

При исследовании опытной группы препаратов от крыс на 90-е сутки, в зоне вокруг нитей и пограничной зоне сохраняется тенденция к увеличению сосудистой плотности (рисунок 18).

Одновременно с этим в исследуемых препаратах выявляются участки неокapиллярогенеза с новообразованными тонкостенными капиллярами (рисунок 19). Структурно окрашиваются дифференцированные соединительнотканые волокна в зоне вокруг нитей.

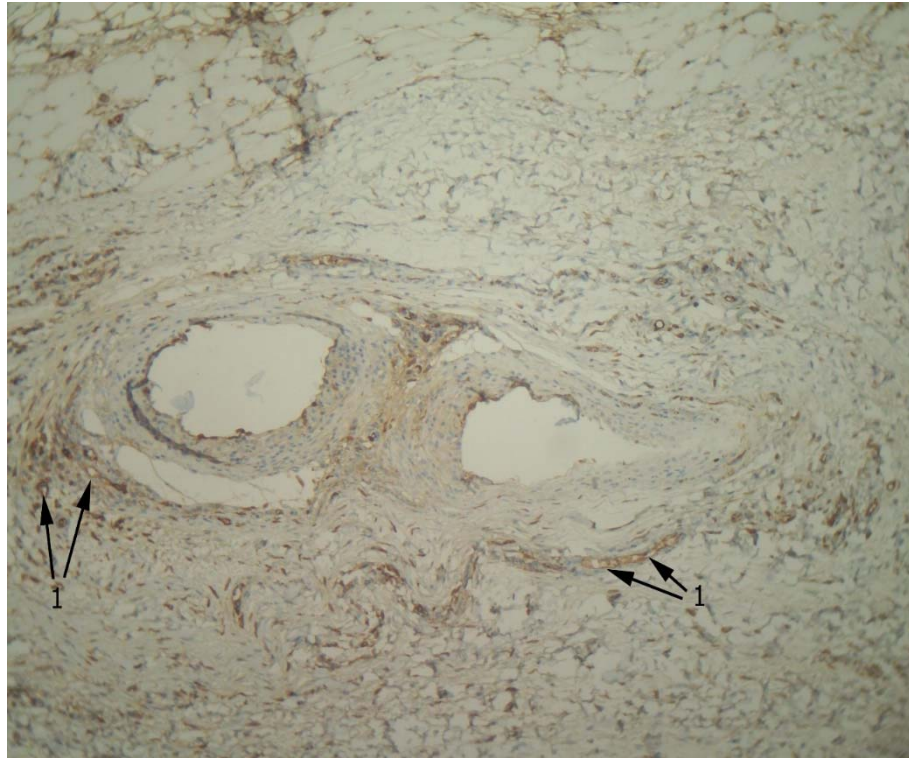


Рисунок 18 – Увеличение сосудистой плотности вокруг имплантированной нити из полидиоксанона на 90-й день эксперимента (окр. CD 31, увел. 120х)

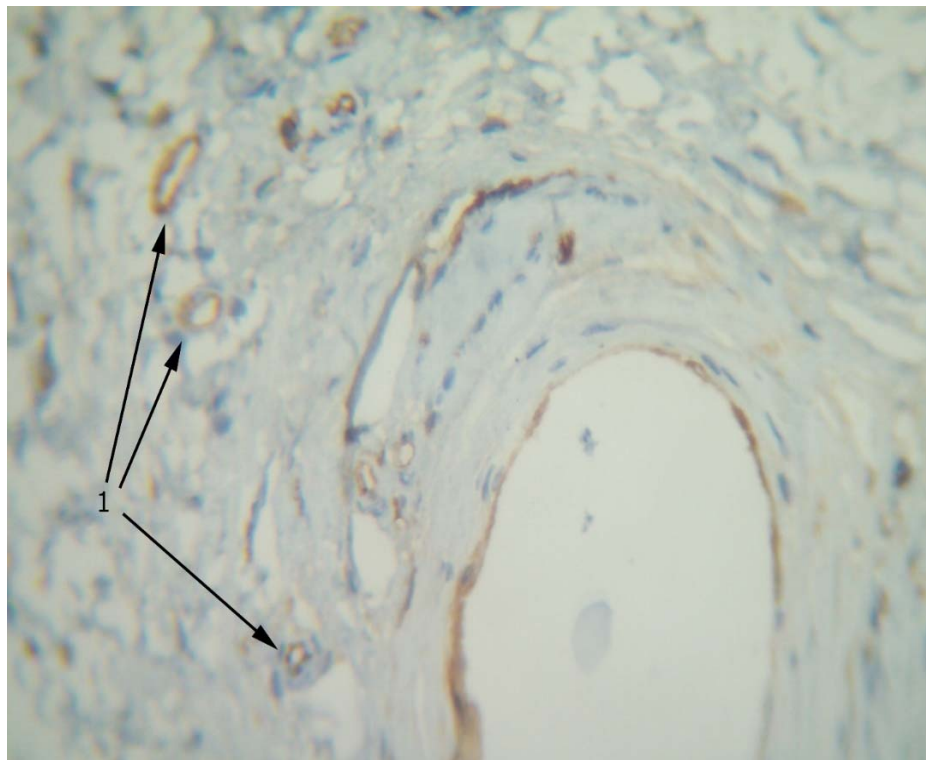


Рисунок 19 – Участки неокapиллярогенеза вокруг имплантированных нитей из полидиоксанона на 90-й день эксперимента (окр. CD 31, увел. 450х): 1 – капилляры



### 3.3 Результаты морфологического исследования при применении поли-L-лактида

В исследуемой группе гистологических препаратов, полученных от животных 3-й группы (PLLA), умерщвленных на 21-е сутки после начала эксперимента, были выявлены минимальные пролиферативные изменения, с формированием слабо выраженных очагов скопления клеток регенеративного гистиона (рисунок 20). Скопления клеток имели преимущественно лимфо-плазмочитарный характер, с примесью макрофагов вокруг введенных нитей. В поверхностных слоях обнаруживаются очаги слабого отека дермы. Скопления клеток представлены преимущественно лимфоцитами на фоне новообразованного волокнистого компонента соединительной ткани и неоангиогенеза. Наблюдается незначительное количество клеток фибробластического ряда.

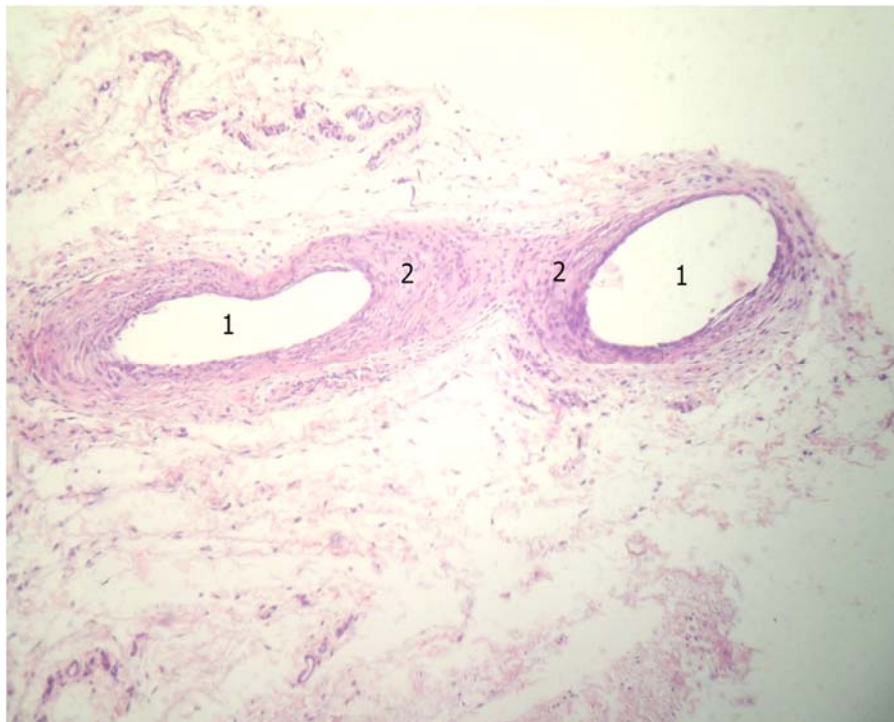


Рисунок 20 – Нить из поли-L-молочной кислоты в гиподерме  
на 21-й день после имплантации (окр. Гематоксилин-эозин, увел. 120х):

- 1 – просвет ткани, содержащий имплантированную нить;
- 2 – скопления клеток регенеративного гистиона

При микроскопическом исследовании опытной группы препаратов кожи с подкожно-жировой клетчаткой у крыс на 21-е сутки после введения нитей, наблюдаются немногочисленные скопления клеток, состоящие в основном из клеток лимфоцитарного дифферона и плазмоцитов, с примесью единичных нейтрофилов и макрофагов. Клеточная реакция минимально выражена и ограничена участками вокруг нитей. В тканях пограничной зоны выявляются немногочисленные группы клеток регенеративного гистиона, преимущественно лимфоцитов, и большое количество новообразованных капилляров. Нейтрофилы в тканях пограничной зоны отсутствуют. Также в пограничных участках наблюдается узкая зона соединительной ткани со слабо выраженным коллагеногенезом.

Коллагеновые волокна хорошо дифференцированы, волокнистый компонент преобладает над клеточным (клетки фибробластического ряда) (рисунок 21).

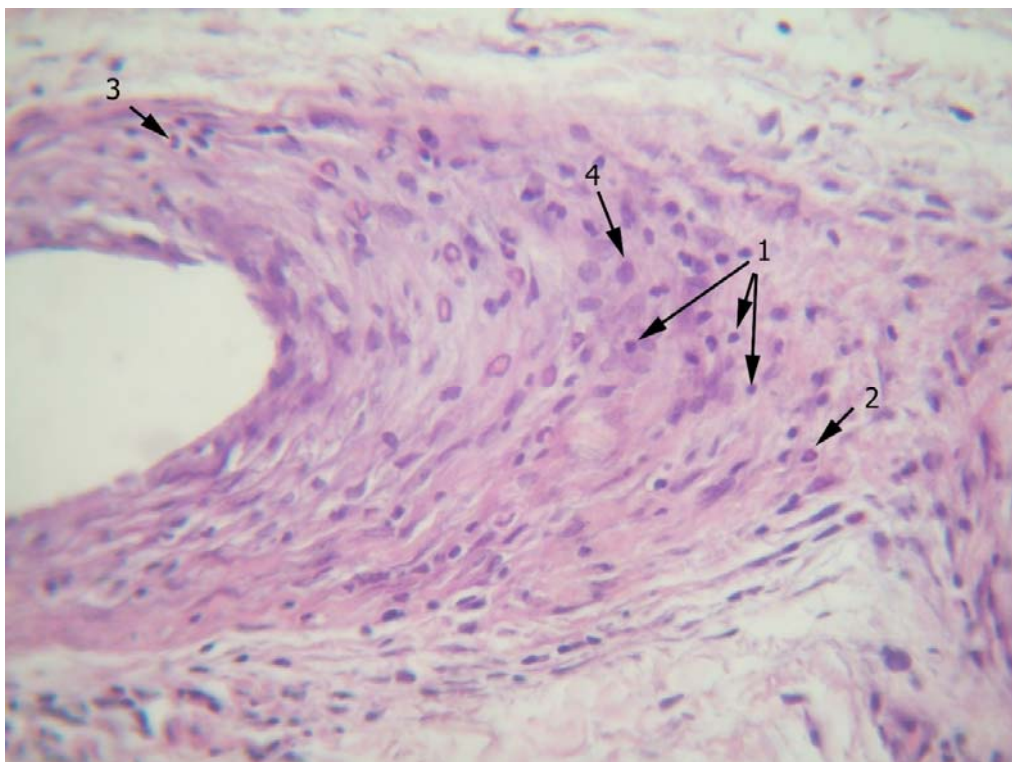


Рисунок 21 – Клеточная реакция лимфо-плазмоцитарного характера с примесью макрофагов вокруг нитей из поли-L-молочной кислоты на 21-й день после имплантации (окр. гематоксилин-эозин, увел. 450х): 1 – лимфоциты; 2 – плазмоциты; 3 – единичные нейтрофилы; 4 – макрофаги

В гистологических препаратах опытной группы, полученных от животных на 90-е сутки после введения нитей, в пограничной зоне выявлена пролиферация фибробластов и эндотелиальных клеток, формирующих множественные капилляры (рисунок 22).

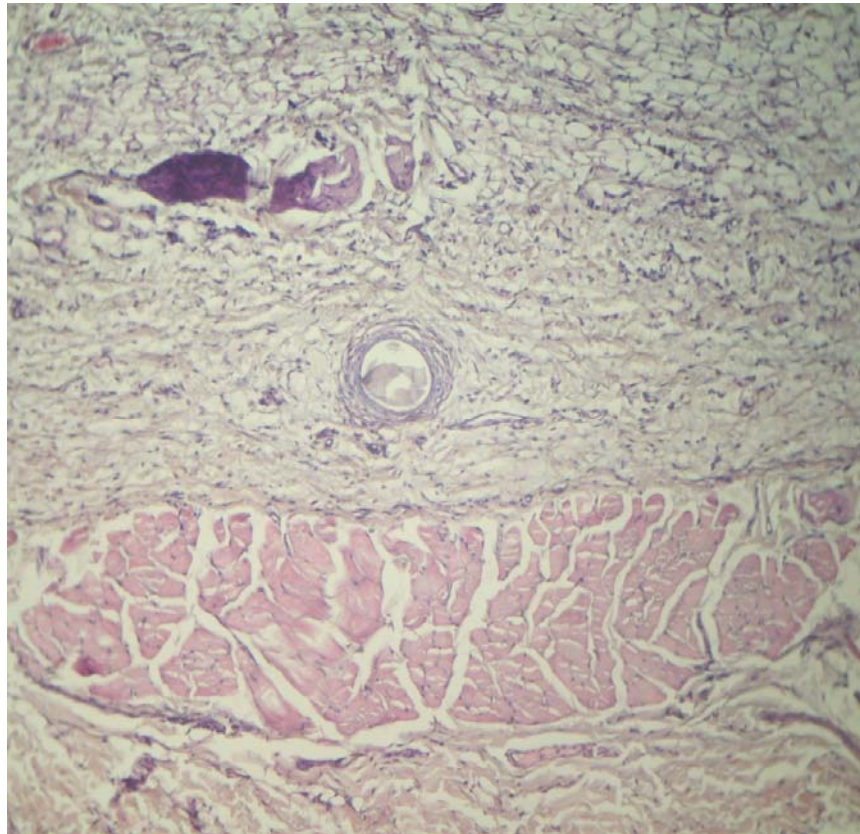


Рисунок 22 – Нить из материала поли-L-молочная кислота в гиподерме на 90-й день после имплантации (окр. гематоксилин-эозин, увел. 120х)

При микроскопическом исследовании в пограничных участках обнаруживаются лимфоциты и единичные макрофаги. В зоне вокруг нитей выявляется крайне слабая клеточная реакция, в количестве не более 40 клеток на  $1 \text{ мм}^2$ , с преобладанием лимфоцитов и плазмочитов с единичными макрофагами и нейтрофилами, при этом эозинофилы в инфильтрате не встречались (рисунок 23).



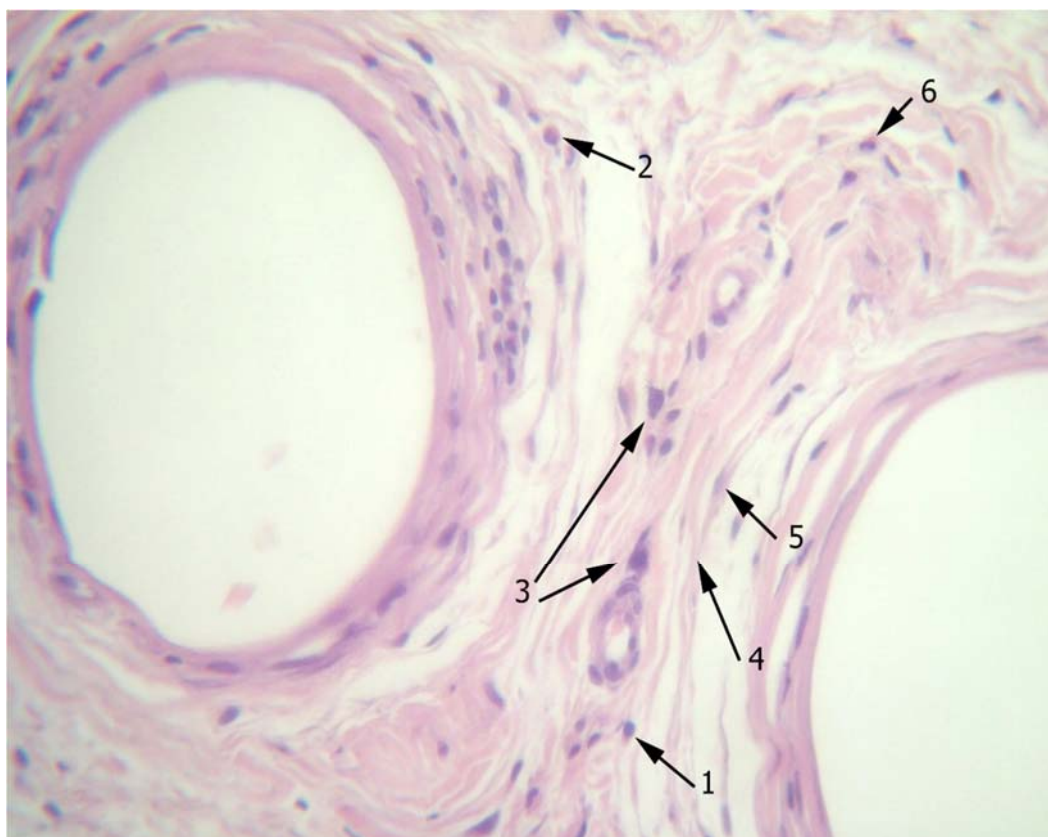


Рисунок 23 – Немногочисленное скопление клеток регенеративного гистиона, преимущественно лимфо-плазмоцитарного характера, вокруг нитей из поли-L-молочной кислоты на 90-й день после имплантации (окр. гематоксилин-эозин, увел. 450х): 1 – лимфоциты; 2 – плазмоцит; 3 – макрофаги; 4 – волокна коллагена; 5 – фибробласт

В целом клеточная реакция, сформировавшаяся вокруг имплантированных нитей, слабо выражена и имеет отчетливую тенденцию к уменьшению в течение эксперимента, от 21-го к 90-му дню. Характеристика клеток регенеративного гистиона, а также динамика их количественного изменения представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Динамика изменения состава регенеративного гистиона в зоне вокруг введенных нитей из поли-Л-молочной кислоты (PLLA) у экспериментальных животных, Me (q25-q75) {min-max}

Показатель		Группа			Значение p	
		Кон-троль	21 сутки	90 сутки	сравнение контроль 21 сутки	сравнение контроль 90 сутки
Количество клеток регенеративного гистиона, мм <sup>2</sup>		0	75 (56,25–93,75) {45–105}	36 (27–45) {21,6–50,4}	0,011	0,010
Относительная доля клеточных элементов, %	Лимфоциты	0	53 (39,75–66,25) {31,8–74,2}	68 (51–85) {40,8–95,2}	0,012	0,011
	Плазмоциты	0	30 (22,5–37,5) {18–42}	18 (13,5–22,5) {10,8–25,2}	0,012	0,012
	Нейтрофилы	0	13 (9,75–16,25) {7,8–18,2}	9 (6,75–11,25) {5,4–12,6}	0,013	0,916
	Макрофаги	0	4 (3–5) {2,4–5,6}	5 (3,75–6,25) {3–7}	0,012	0,013

Примечание. Использовали U-критерий Манна – Уитни, учитывая поправку Бонферони различия считали достоверными при  $p \leq 0,017$ .

Наглядно оценить динамику количественного изменения регенеративного гистиона можно глядя на график (рисунок 24).



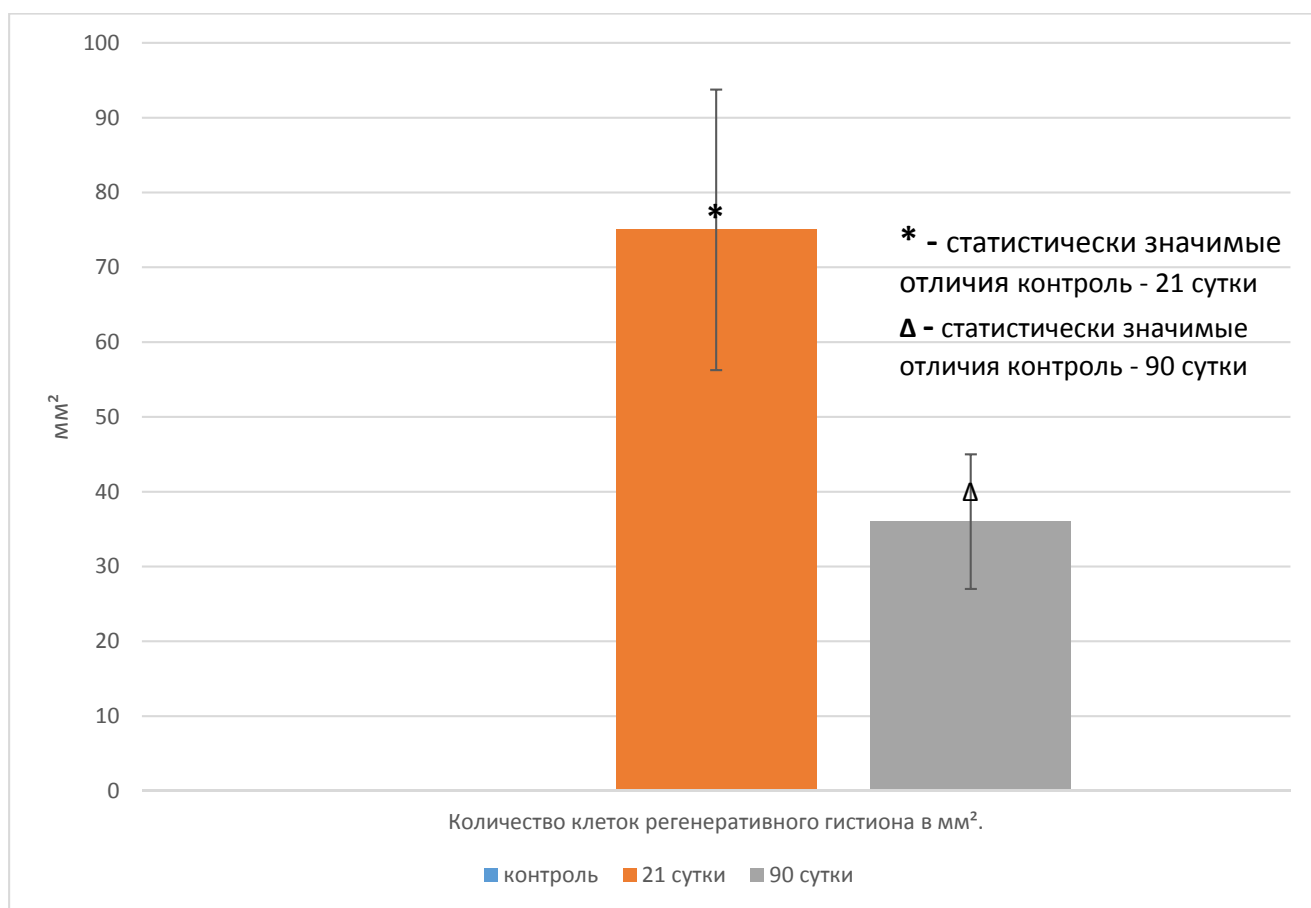


Рисунок 24 – Динамика изменения выраженности клеточной реакции в зоне вокруг введенных нитей из поли-L-молочной кислоты (PLLA) у экспериментальных животных

При оценке результатов окрашивания по Маллори в 3 и 4-й группе крыс, также выявлено реактивное увеличение относительной площади соединительной ткани в препаратах экспериментальной группы по сравнению с препаратами контрольной группы. Нарастала удельная площадь не только коллагеновых, но и эластических волокон. Прирост количества коллагеновых и эластических волокон наблюдался в течение всего времени эксперимента (таблица 6).

Таблица 6 – Динамика изменений в тканях дермы и подлежащих тканях в зоне введения нитей из поли-L-молочной кислоты (PLLA) у экспериментальных животных, Me (q25-q75) {min-max}

Показатель		Группа			Значение p	
		Контроль	21 сутки	90 сутки	сравнение контроль 21 сутки	сравнение контроль 90 сутки
Площадь эластических волокон, %		6 (5,69–6,39) {4,5–7,5}	15 (14,21–15,98) {11,25–18,75}	26 (24,64–27,69) {19,5–32,5}	0,012	0,013
Площадь коллагеновых волокон, %		94 (93,61–94,32) {92,5–95,5}	85 (84,03–85,79) {81,25–88,75}	74 (72,31–75,37) {67,5–80,5}	0,012	0,013
Относительная площадь тканей	Мышечной	16 (15,16–17,04) {12–18}	16 (14,29–18,1) {11,2–19,4}	16 (15,46–16,84) {11,8–17,9}	0,814	0,916
	Соединительной	70 (64,5–74,34) {61,96–77,5}	73 (68,25–76,59) {67,56–81,4}	80 (77,36–81,84) {77–85,6}	0,531	0,016
	Жировой	14 (10,5–17,5) {10,5–21}	11 (8,25–13,75) {6,6–15,4}	4 (3–5) {2,4–5,6}	0,296	0,012

Примечание. Использовали U-критерий Манна – Уитни, учитывая поправку Бонферони различия считали достоверными при  $p \leq 0,017$ .

В контрольной группе препаратов дермы и гиподермы при окрашивании по методу Маллори наблюдается отчетливое преобладание коллагеновых волокон в составе волокнистого компонента межклеточного вещества (рисунок 25).

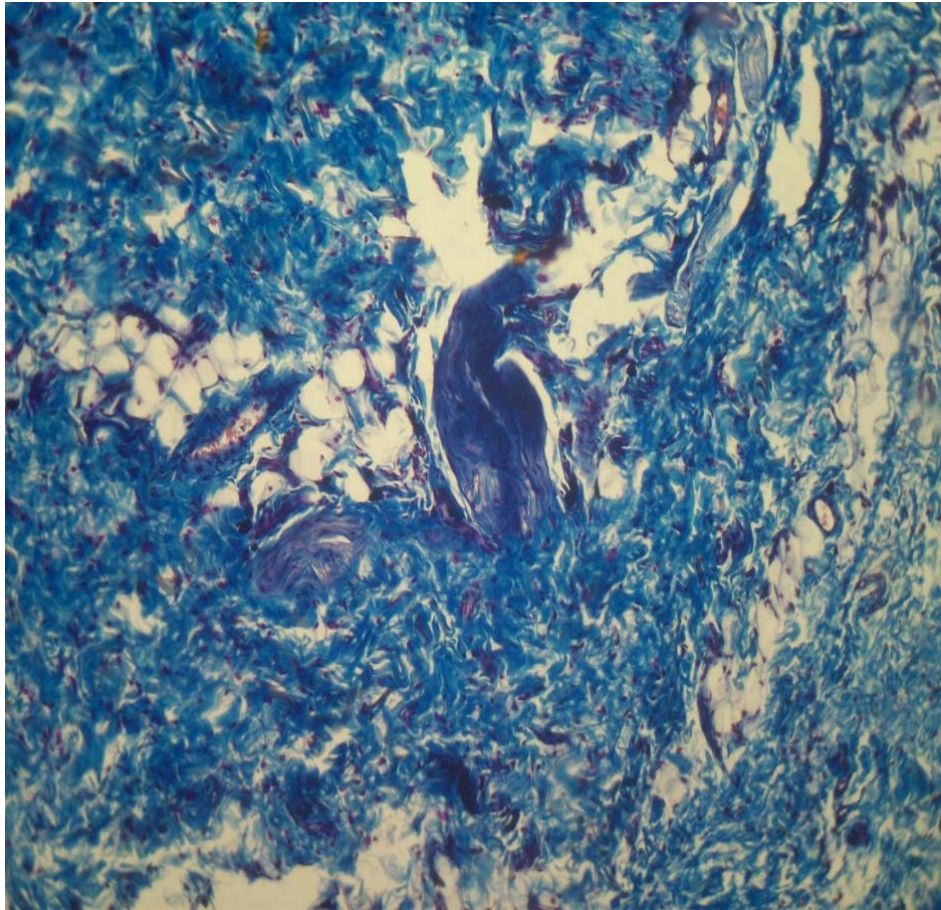


Рисунок 25 – Контрольная группа препаратов. Преобладание коллагеновых волокон (синий) по сравнению с эластическими (красный) в дерме кожи (окр. по Маллори, увел.120х)

В группе исследуемых препаратов на 21-й день эксперимента в зоне вокруг нитей наблюдается узкая прослойка плотной волокнистой неоформленной соединительной ткани с умеренно выраженным неоколлагеногенезом. В пограничных участках идентифицируются зрелые фибробласты и новообразованная соединительная ткань (рисунок 26).

На 90-й день исследования наблюдается дальнейший прирост объема соединительнотканых волокон вокруг нитей и в пограничной зоне (рисунок 27).

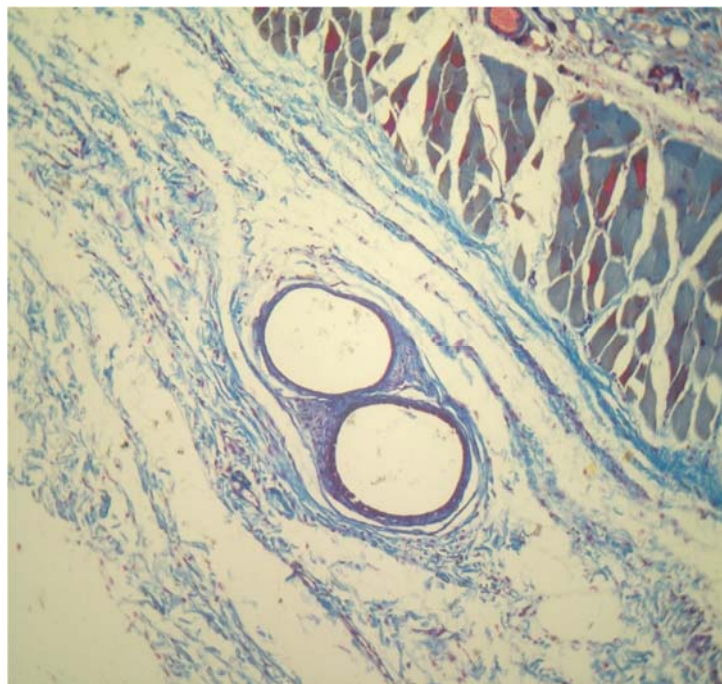


Рисунок 26 – Нить из поли-L-молочной кислоты в гиподерме на 21-й день после имплантации (окр. по Маллори, увел. 120х)

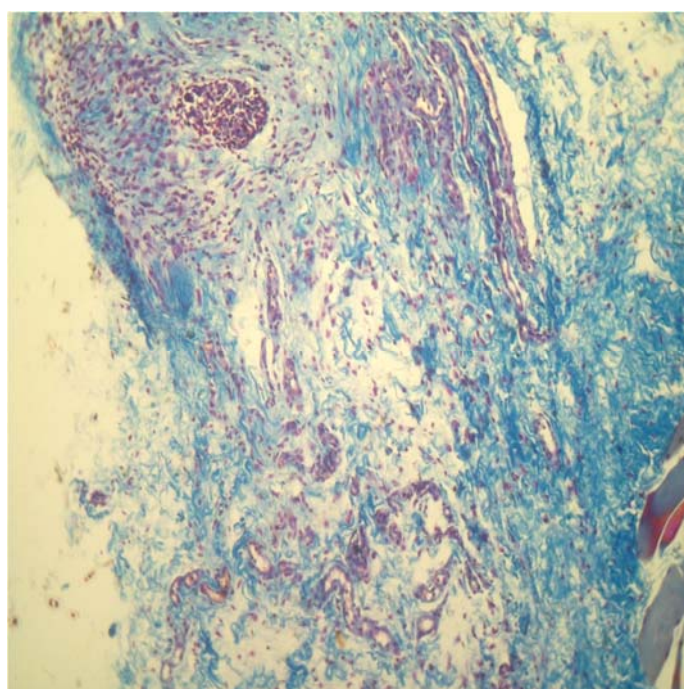


Рисунок 27 – Неоколлагеногенез и неоэластиногенез в дерме кожи над имплантированной нитью из поли-L-молочной кислоты на 90-е сутки эксперимента. Коллагеновые волокна окрашены в синий, эластические – в красный цвет. (окр. по Маллори, увел. 120х)

При оценке ангиогенеза в зоне введения нитей и пограничной зоне, а также подлежащей дерме кожи, с последующей компьютерной морфометрией с количественным определением капиллярогенеза, выявлены отличия между контрольной и обеими экспериментальными группами (таблица 7).

Таблица 7 – Динамика изменений сосудистой плотности в зоне вокруг введенных нитей из PLLA, в пограничной зоне и в тканях дермы у экспериментальных животных, в препаратах, окрашенных антителами к CD31 и Factor VIII, Me (q25-q75) {min-max}

Зона		Группа			Значение p	
		Контроль	21 сутки	90 суток	сравнение контроль 21 сутки	сравнение контроль 90 суток
Сосудистая плотность (среднее значение в мм <sup>2</sup> )	Вокруг нитей	–	36,73 (27,55–45,91) {22,04–51,42}	38,31 (28,73–47,89) {22,99–53,63}	–	–
	Пограничная зона	22,12 (16,59–27,65) {16,59–33,18}	31,65 (23,74–39,56) {18,99–44,31}	35,42 (26,57–44,28) {21,25–49,59}	0,013	0,011
	Дерма	34,08 (25,56–42,6) {25,56–51,12}	38,15 (28,61–47,69) {22,89–53,41}	42,2 (31,65–52,75) {25,32–59,08}	0,014	0,010

Примечание. Использовали U-критерий Манна – Уитни, учитывая поправку Бонферони различия считали достоверными при  $p \leq 0,017$ .

Исходя из данных таблицы 7, прирост количества новообразованных микрососудов достигает статистически значимых величин уже к 21-му дню эксперимента, и далее достоверно увеличивается к 90-му дню.



В гистологических препаратах опытной группы с нитями из поли-L-молочной кислоты, полученных от животных на 21-е сутки, в пограничной зоне вокруг имплантированных нитей было выявлено большее количество капилляров, в том числе новообразованных, чем в дерме и гиподерме контрольной группы препаратов (рисунок 28).

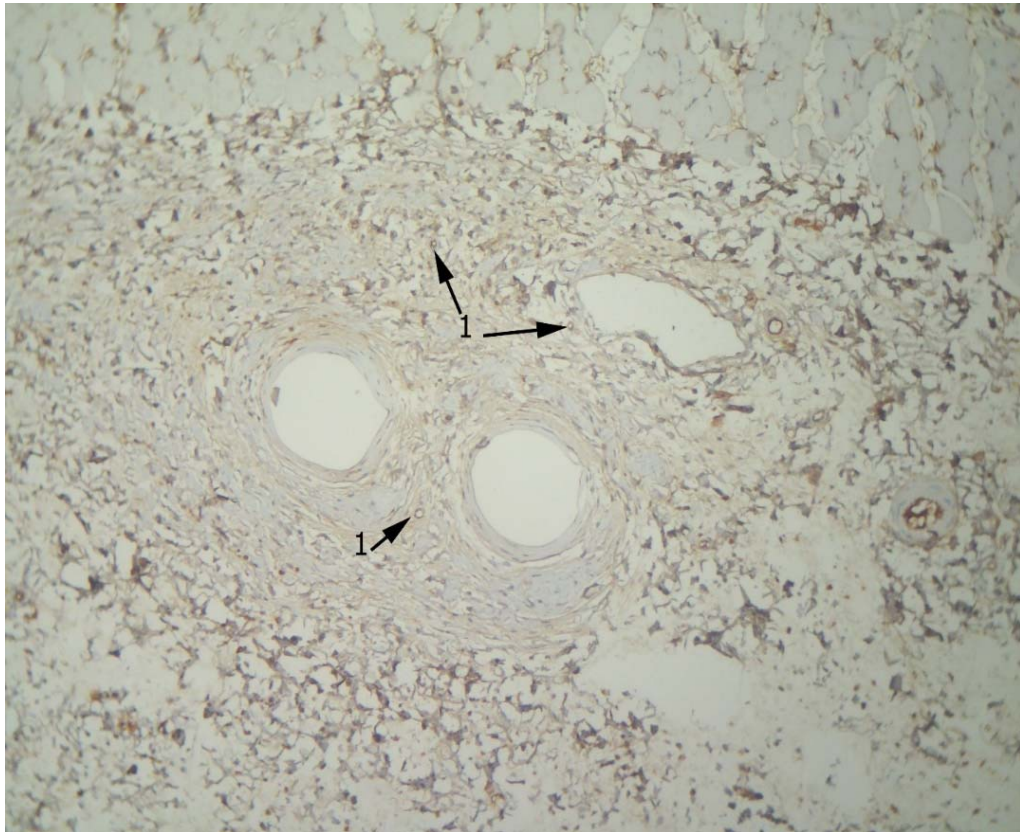


Рисунок 28 – Увеличение плотности капилляров (коричневый цвет) вокруг имплантированной нити из поли-L-молочной кислоты на 21-й день после имплантации (окр. CD31, увел. 120х): 1 – капилляры

Вокруг нитей отмечалась неравномерная пролиферация эндотелиальных клеток, формирующих единичные зрелые капилляры, а также узкая зона плотной неоформленной соединительной ткани с преобладанием волокнистого компонента над клеточным (рисунок 29).

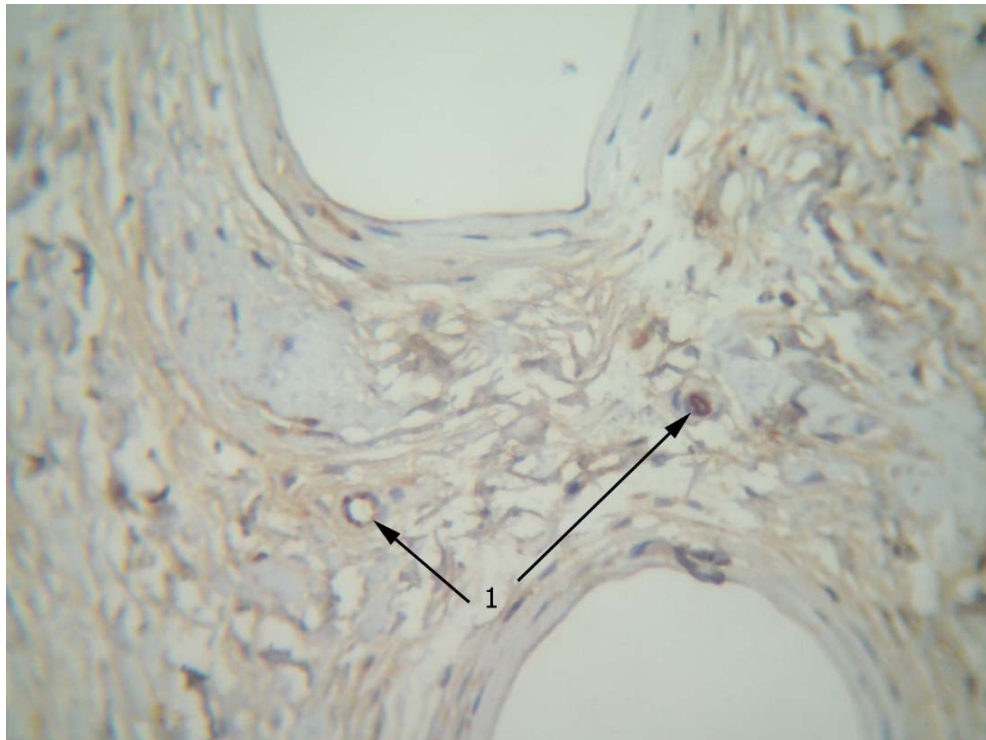


Рисунок 29 – Новообразованные капилляры вокруг нитей из поли-L-молочной кислоты на 21-й день после имплантации (окр. CD31, увел. 450х): 1 – капилляры

При исследовании опытной группы препаратов, полученных от крыс на 90-е сутки, отмечалось дальнейшее незначительное, но статистически достоверное увеличение сосудистой плотности всех трех изучаемых локализаций (вокруг нитей, в пограничной зоне и дерме). На окрашенных срезах тканей выявлены зоны пролиферации фибробластических клеток с дифференцировкой в фибробласты, наблюдаются участки неокapиллярогенеза. Соединительнотканые волокна структурно окрашены и дифференцированы (рисунок 30).

Отчетливо выявляются новообразованные тонкостенные сосуды в пограничной зоне, стенка которых образована одним слоем клеток эндотелиоцитов (рисунок 31).

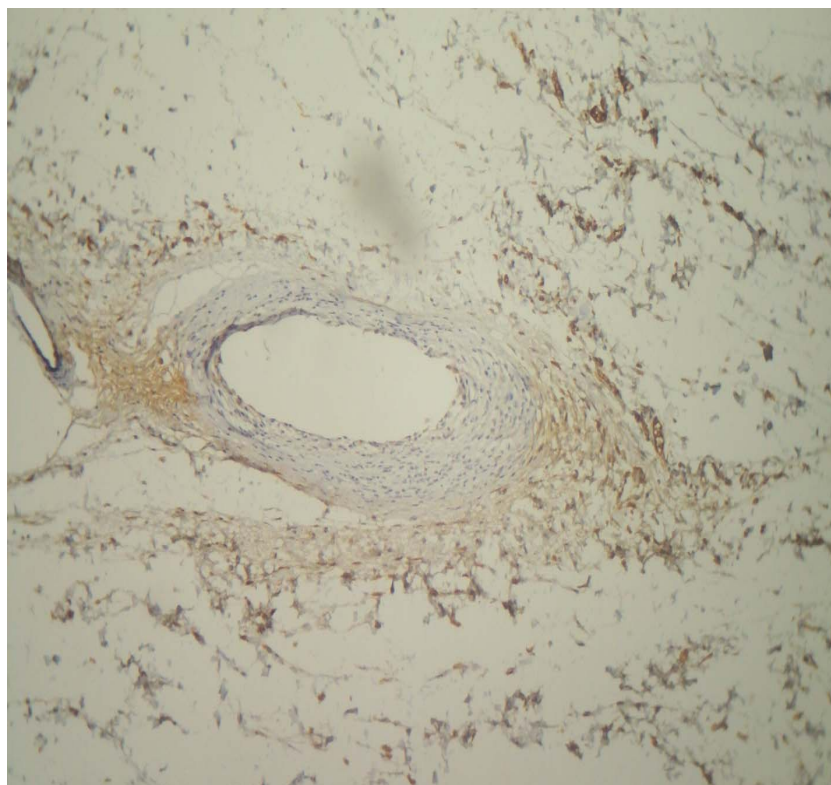


Рисунок 30 – Увеличение плотности микрососудов (коричневый) вокруг нити из поли-L-молочной кислоты на 90-й день после имплантации (окр. Factor VIII, увел. 120х)

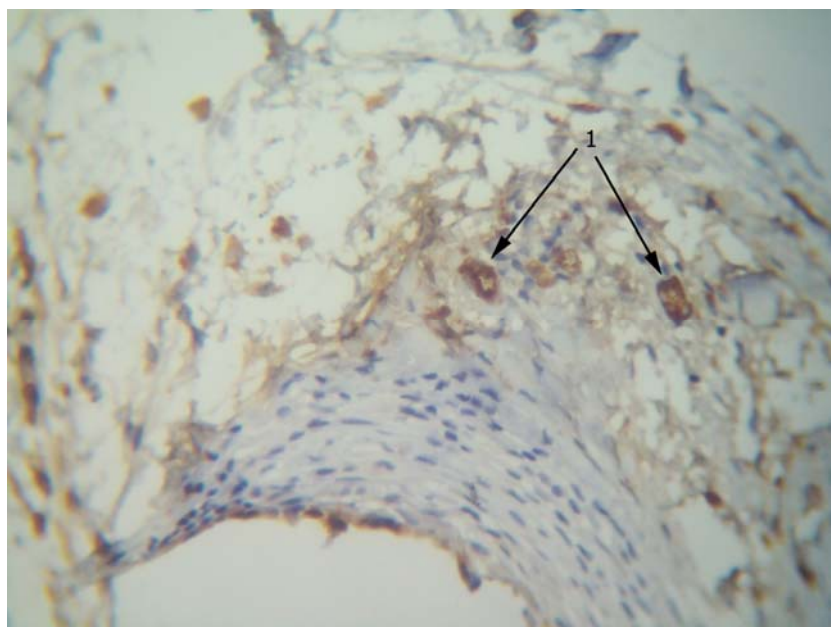


Рисунок 31 – Новообразованные сосуды в ткани вокруг имплантированной нити из Поли-L-молочной кислоты на 90-й день после имплантации (окр. Factor VIII, увел. 450х): 1 – капилляры



Таким образом, при иммуногистохимическом окрашивании с антителами к CD31 и к Factor VIII исследуемых препаратов, содержащих нити из поли-L-молочной кислоты, выявлено статистически достоверное увеличение плотности капилляров перифокально в участках вокруг нитей, а также в подлежащей дерме кожи по сравнению с окрашенными таким же методом препаратами контрольной группы.

### **3.4 Сравнение реакции тканей на имплантаты обоих видов**

Наиболее наглядным способом сравнения изменений вокруг имплантированных нитей из разных материалов, а в данном исследовании, как уже говорилось, это материалы полидиоксанон и поли-L-молочная кислота, очевидно, будет являться сопоставление данных всех вышеприведенных таблиц со статистической оценкой достоверности выявленных различий. Для большей наглядности, некоторые элементы таблиц будут проиллюстрированы графиками.

Итак, рассмотрим выраженность и состав клеточной реакции вокруг имплантированных нитей на разных сроках после имплантации (таблицы 8, 9).

Исходя из данных таблицы 8, можно сделать заключение, что отсутствует статистически значимое различие в выраженности клеточной реакции тканей на имплантированные нити разных видов на 21-й день эксперимента. Можно говорить о некоторой тенденции в сторону количественного преобладания скопления клеток регенеративного гистиона вокруг нитей из полидиоксанона. Но, с учетом использованных нами статистических критериев, различие не переходит планку статистической достоверности, потому мы можем говорить только о возможной тенденции. При этом выявляется достоверная разница в клеточном составе регенеративных гистионов. В тканях, окружающих имплантированные нити из полидиоксанона, в составе регенеративного гистиона преобладают макрофаги и встречаются единичные гигантские многоядерные клетки. Состав регенеративного гистиона вокруг нитей из поли-L-молочной кислоты носит лимфо-плазмоцитарный характер.

Таблица 8 – Сравнение состава регенеративного гистиона в зоне вокруг введенных нитей из поли-L-молочной кислоты (PLLA) и полидиоксанона (ПДО) у экспериментальных животных на 21-й день, Me (q25-q75) {min-max}

Показатель		Группа			Значение p сравнение ПДО-PLLA
		Контроль	ПДО	PLLA	
Количество клеток регенеративного гистиона, мм <sup>2</sup>		0	156 (117–195) {93–218}	75 (56,25–93,75) {45–105}	0,037
Относительная доля клеточных элементов, %	Лимфоциты	0	9 (6–11) {5–12}	53 (39,75–66,25) {31,8–74,2}	0,012
	Плазмоциты	0	38 (28–47) {22–53}	30 (22,5–37,5) {18–42}	0,296
	Нейтрофилы	0	6 (4–7) {3–8}	13 (9,75–16,25) {7,8–18,2}	0,022
	Макрофаги	0	47 (35–59) {28–65}	4 (3–5) {2,4–5,6}	0,012
	Гигантские клетки	0	8 (6–10) {4–11}	0	0,012

Примечание. Использовали U-критерий Манна – Уитни, учитывая поправку Бонферони различия считали достоверными при  $p \leq 0,017$ .

Далее, переходя к анализу показателей качественного и количественного состава регенеративного гистиона на 90-й день эксперимента, мы опираемся на данные таблицы 9.

Таблица 9 – Сравнение состава регенеративного гистиона в зоне вокруг введенных нитей из поли-L-молочной кислоты (PLLA) и полидиоксанона (ПДО) у экспериментальных животных на 90-й день, Me (q25-q75) {min-max}

Показатель		Группа			Значение p сравнение ПДО-PLLA
		Контроль	ПДО	PLLA	
Количество клеток регенеративного гистиона, мм <sup>2</sup>		0	41 (30–51) {24–57}	36 (27–45) {21,6–50,4}	0,432
Относительная доля клеточных элементов, %	Лимфоциты	0	29 (21–36) {17–40}	68 (51–85) {40,8–95,2}	0,011
	Плазмоциты	0	22 (16–27) {13–30}	18 (13,5–22,5) {10,8–25,2}	0,531
	Нейтрофилы	0	0	9 (6,75–11,25) {5,4–12,6}	0,012
	Макрофаги	0	49 (36–61) {29–68}	5 (3,75–6,25) {3–7}	0,015
	Гигантские клетки	0	7 (5–9) {4–9}	0	0,013

Примечание. Использовали U-критерий Манна – Уитни, учитывая поправку Бонферони различия считали достоверными при  $p \leq 0,017$ .

Согласно таблице 9, на 90-й день после имплантации нитей сохраняется такая же тенденция – отсутствует статистически значимая разница в выраженности клеточной реакции, при сохранении достоверной разницу ее состава. Вокруг ни-

тей из полидиоксанона преобладают макрофаги и присутствуют гигантские многоядерные клетки по типу инородных тел, в то время как вокруг нитей из поли-L-лактида сохраняется лимфо-плазмоцитарный характер регенеративного гистиона. Разница в качественном составе регенеративного гистиона вокруг разных видов нитей с течением времени эксперимента, может быть наглядно продемонстрирована на серии гистограмм (рисунок 32).

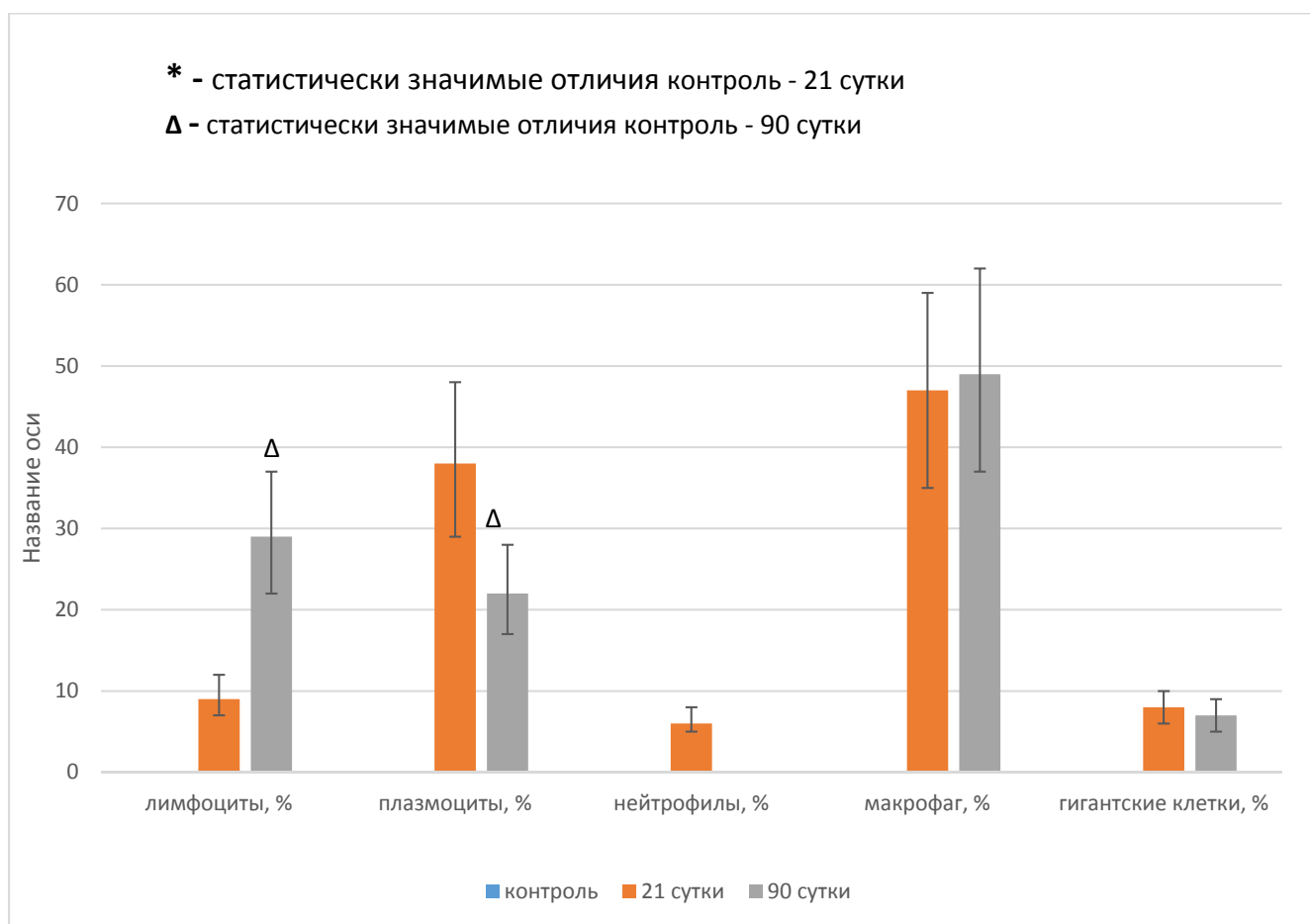


Рисунок 32 – Динамика изменения количественного и качественного состава регенеративного гистиона в зоне вокруг нитей PDO у экспериментальных животных

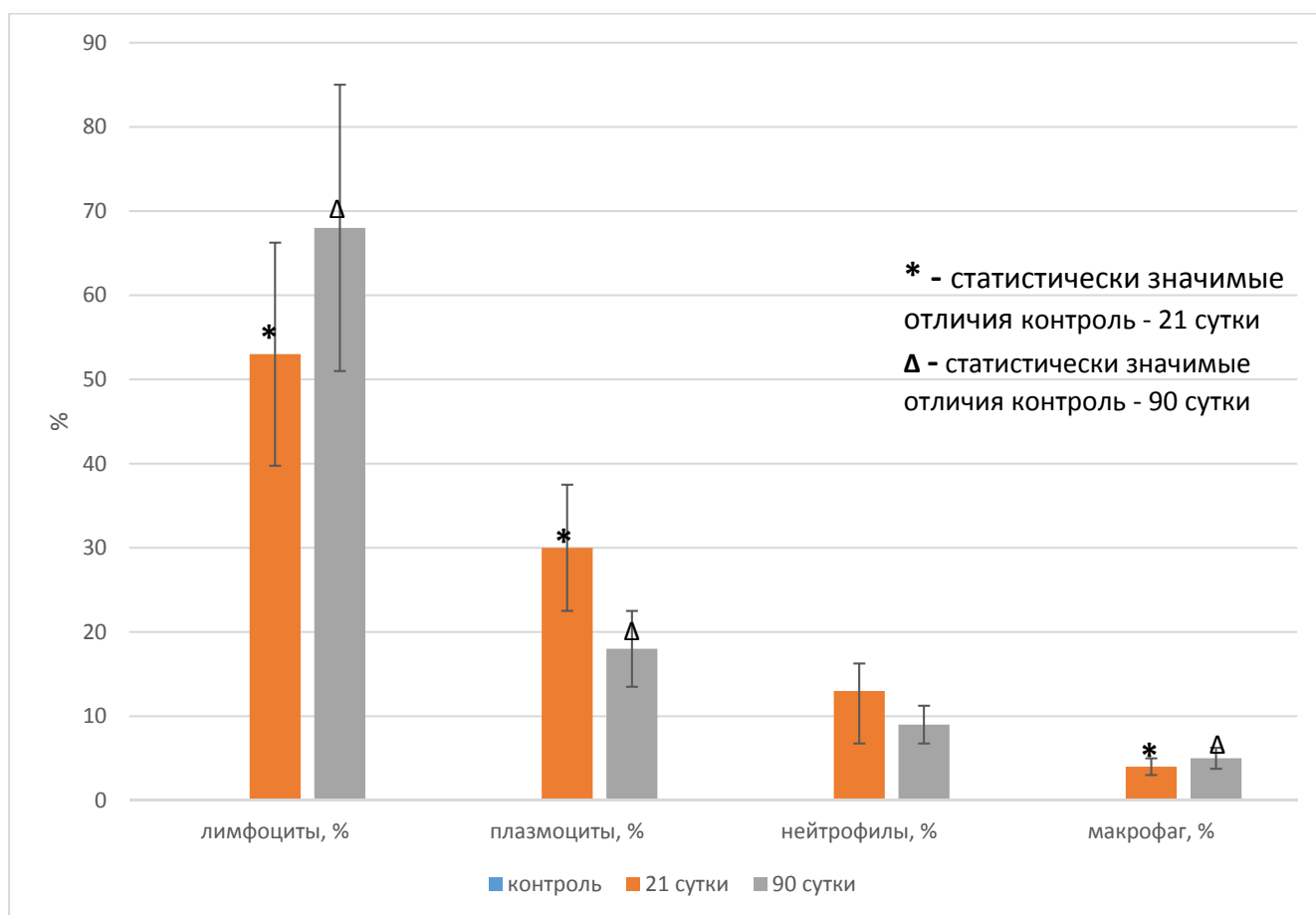


Рисунок 33 – Динамика изменения состава регенеративного гистиона в зоне вокруг введенных нитей из поли-Л-молочной кислоты (PLLA) у экспериментальных животных

Далее, при сравнении результатов окрашивания по Маллори, целью которого было выявление прироста коллагеновых и эластических волокон в исследуемой группе препаратов, также выявляются некоторые отличия (таблица 10).

Таблица 10 – Сравнение выраженности изменений в тканях дермы и подлежащих тканях в зоне введения нитей из поли-L-молочной кислоты (PLLA) и полидиоксана (ПДО) у экспериментальных животных на 21-й день эксперимента, Me (q25-q75) {min-max}

Показатель		Группа			Значение р сравнение ПДО-PLLA
		Контроль	ПДО	PLLA	
Площадь эластических волокон, %		6 (5,69–6,39) {4,5–7,5}	22 (20,85–23,43) {16,5–27,5}	15 (14,21–15,98) {11,25–18,75}	0,022
Площадь коллагеновых волокон, %		94 (93,61–94,32) {92,5–95,5}	78 (76,57–79,16) {72,5–83,5}	85 (84,03–85,79) {81,25–88,75}	0,012
Относительная площадь тканей	Мышечной	16 (15,16–17,04) {12–18}	16 (14,29 –18,1) {11,2–19,4}	16 (14,29 –18,1) {11,2–19,4}	0,917
	Соедини- тельной	70 (64,5–74,34) {61,96–77,5}	76 (74,75–78,09) {72,36–82,6}	73 (68,25–76,59) {67,56–81,4}	0,531
	Жировой	14 (10,5–17,5) {10,5–21}	9 (6,75–10,25) {5,4–12,6}	11 (8,25–13,75) {6,6–15,4}	0,531

Примечание. Использовали U-критерий Манна – Уитни, учитывая поправку Бонферони различия считали достоверными при  $p \leq 0,017$ .

Исходя из данных таблицы 10, на 21-е сутки после начала эксперимента, в препаратах экспериментальной группы, содержащих нити из поли-L-лактида, наблюдается статистически достоверный большой прирост коллагеновых волокон, чем в экспериментальных препаратах с нитями из полидиоксана. При этом прирост эластических волокон между имплантатами из обоих видов материалов не

имеет достоверной разницы. Изменения удельной площади соединительнотканых волокон в экспериментальных препаратах, содержащих разные виды нитей, не имеют достоверной разницы между собой. Далее, к 90-му дню эксперимента, динамика изменений между группами исследуемых препаратов выравнивается (таблица 11).

Таблица 11 – Сравнение выраженности изменений в тканях дермы и подлежащих тканях в зоне введения нитей из материалов PLLA и ПДО у экспериментальных животных на 90-й день эксперимента, Me (q25-q75) {min-max}

Показатель		Группа			Значение р сравнение ПДО-PLLA
		Контроль	ПДО	PLLA	
Площадь эластических волокон, %		6 (5,69–6,39) {4,5–7,5}	36 (34,11–38,34) {27–45}	26 (24,64–27,69) {19,5–32,5}	0,037
Площадь коллагеновых волокон, %		94 (93,61–94,32) {92,5–95,5}	64 (61,66–65,89) {55–73}	74 (72,31–75,37) {67,5–80,5}	0,022
Относительная площадь тканей	Мышечной	16 (15,16–17,04) {12–18}	16 (15,46–16,84) {11,8–17,9}	16 (15,46–16,84) {11,8–17,9}	0,347
	Соединительной	70 (64,5–74,34) {61,96–77,5}	81,09 (79–87) {75,96– 92,5}	80 (77,36–81,84) {77–85,6}	0,676
	Жировой	14 (10,5–17,5) {10,5–21}	5 (3,75–6,25) {3–7}	4 (3–5) {2,4–5,6}	0,403

Примечание. Использовали U-критерий Манна – Уитни, учитывая поправку Бонферони различия считали достоверными при  $p \leq 0,017$ .

Исходя из данных таблицы 11, можно сделать заключение, что на 90-й день эксперимента не отмечается статистически значимой разницы в приросте волокнистого компонента соединительной ткани в обоих видах экспериментальных групп препаратов, при сравнении друг с другом. Также отсутствует достоверная разница в соотношении коллагеновых и эластических волокон в обеих группах экспериментальных препаратов.

Динамику изменения соотношения коллагеновых и эластических волокон между препаратами исследуемых групп с течением времени эксперимента, можно наглядно представить на серии графиков (рисунок 34).

Принимая во внимание использованные жесткие критерии статистических расчетов, можно говорить о некоторой тенденции к преобладанию количества коллагеновых волокон вокруг нитей из поли-L-лактида. Не превышающей, однако, порога статистической значимости в конечной точке эксперимента. Снижение доли коллагеновых волокон, прослеживаемое на рисунке 34, не должно вводить в заблуждение при оценке результатов, так как в количественном аспекте происходил прирост коллагеновых волокон в препаратах опытных групп, по сравнению с группой контроля. А снижение процентного соотношения по сравнению с эластическими волокнами обусловлено с более выраженным количественным приростом последних.

Изменение сосудистой плотности оценивалось по иммуногистохимическому методу окрашивания с антителами к CD31 и Factor VIII. Производилось сравнение между исследуемыми препаратами, содержащими разные типы нитей, а также с контрольной группой препаратов (таблица 12, 13).

При оценке выраженности сосудистой реакции на имплантацию нитей из заданных материалов на 21-й день эксперимента, исходя из данных таблицы 12, отсутствует достоверная разница в выраженности процесса неоангиогенеза вокруг нитей из полидиоксанона, в сравнении с нитями из поли-L-молочной кислоты. Различий не наблюдается во всех исследуемых зонах – вокруг нитей, пограничной зоне и подлежащей дерме кожи.



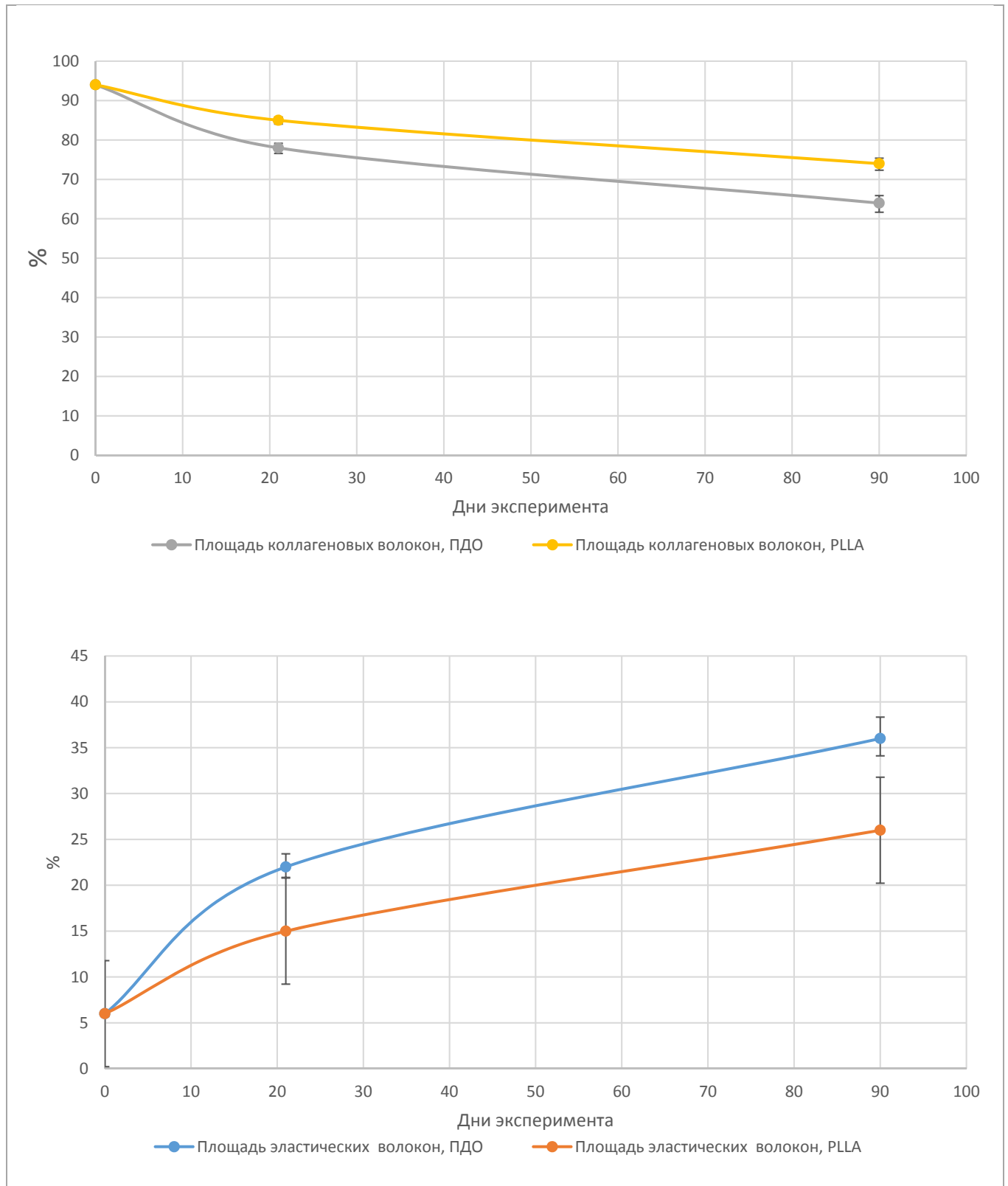


Рисунок 34 – Сравнение выраженности изменений в тканях дермы и подлежащих тканях в зоне введения нитей из материалов PLLA и PDO у экспериментальных животных

Таблица 12 – Сравнительная оценка изменений сосудистой плотности в зоне вокруг введенных нитей из ПДО и PLLA, в пограничной зоне и в тканях дермы у экспериментальных животных, в препаратах, окрашенных антителами к CD31 и Factor VIII на 21-й день, Me (q25-q75) {min-max}

Зона		Группа			Значение p сравнение ПДО-PLLA
		Контроль	ПДО	PLLA	
Сосудистая плотность (среднее значение в мм <sup>2</sup> )	Вокруг нитей	–	49,4 (37,05–61,75) {29,64–69,16}	36,73 (27,55–45,91) {22,04–51,42}	0,210
	Погранич- ная зона	22,12 (16,59–27,65) {16,59–33,18}	39,3 (29,48–49,13) {23,58–55,02}	31,65 (23,74–39,56) {18,99–44,31}	0,531
	Дерма	34,08 (25,56–42,6) {25,56–51,12}	48,5 (32,78–54,63) {26,22–61,18}	38,15 (28,61–47,69) {22,89–53,41}	0,531

Примечание. Использовали U-критерий Манна – Уитни, учитывая поправку Бонферони различия считали достоверными при  $p \leq 0,017$ .

Далее, как представлено в таблице 13, на 90-й день эксперимента также отсутствует разница в выраженности неоангиогенеза между исследуемыми группами препаратов.

Таблица 13 – Сравнительная оценка изменений сосудистой плотности в зоне вокруг введенных нитей из ПДО и PLLA, в пограничной зоне и в тканях дермы у экспериментальных животных, в препаратах, окрашенных антителами к CD31 и Factor VIII на 90-й день, Me (q25-q75) {min-max}

Зона		Группа			Значение p сравнение ПДО-PLLA
		Контроль	ПДО	PLLA	
Сосудистая плотность (среднее значение в мм <sup>2</sup> )	Вокруг нитей	–	54,6 (40,95–68,25) {32,76–76,44}	38,31 (28,73–47,89) {22,99–53,63}	0,144
	Погра- ничная зона	22,12 (16,59–27,65) {16,59–33,18}	43,7 (32,78–54,63) {26,22–61,18}	35,42 (26,57–44,28) {21,25–49,59}	0,531
	Дерма	34,08 (25,56–42,6) {25,56–51,12}	52,5 (39,38–65,63) {31,5–73,5}	42,2 (31,65–52,75) {25,32–59,08}	0,531

Примечание. Использовали U-критерий Манна – Уитни, учитывая поправку Бонферони различия считали достоверными при  $p \leq 0,017$ .

При статистических подсчетах отсутствует какая-либо четкая тенденция к большей выраженности процесса ангиогенеза вокруг того или иного вида нитей. Однако, при построении графиков по полученным средним значениям сосудистой плотности на мм<sup>2</sup>, отмечается возможность тенденции к преобладанию количества микрососудов вокруг нитей из материала полидиоксанона. Данное предположение может быть проиллюстрировано серией графиков (рисунок 35).

Таким образом, не смотря на разность клеточного состава регенеративного гистиона вокруг нитей из изучаемых видов материалов, статистически достоверных различий в количественном приросте микрососудов и площади соединительнотканых волокон между препаратами, содержащими нити из разных видов материалов, не отмечено.

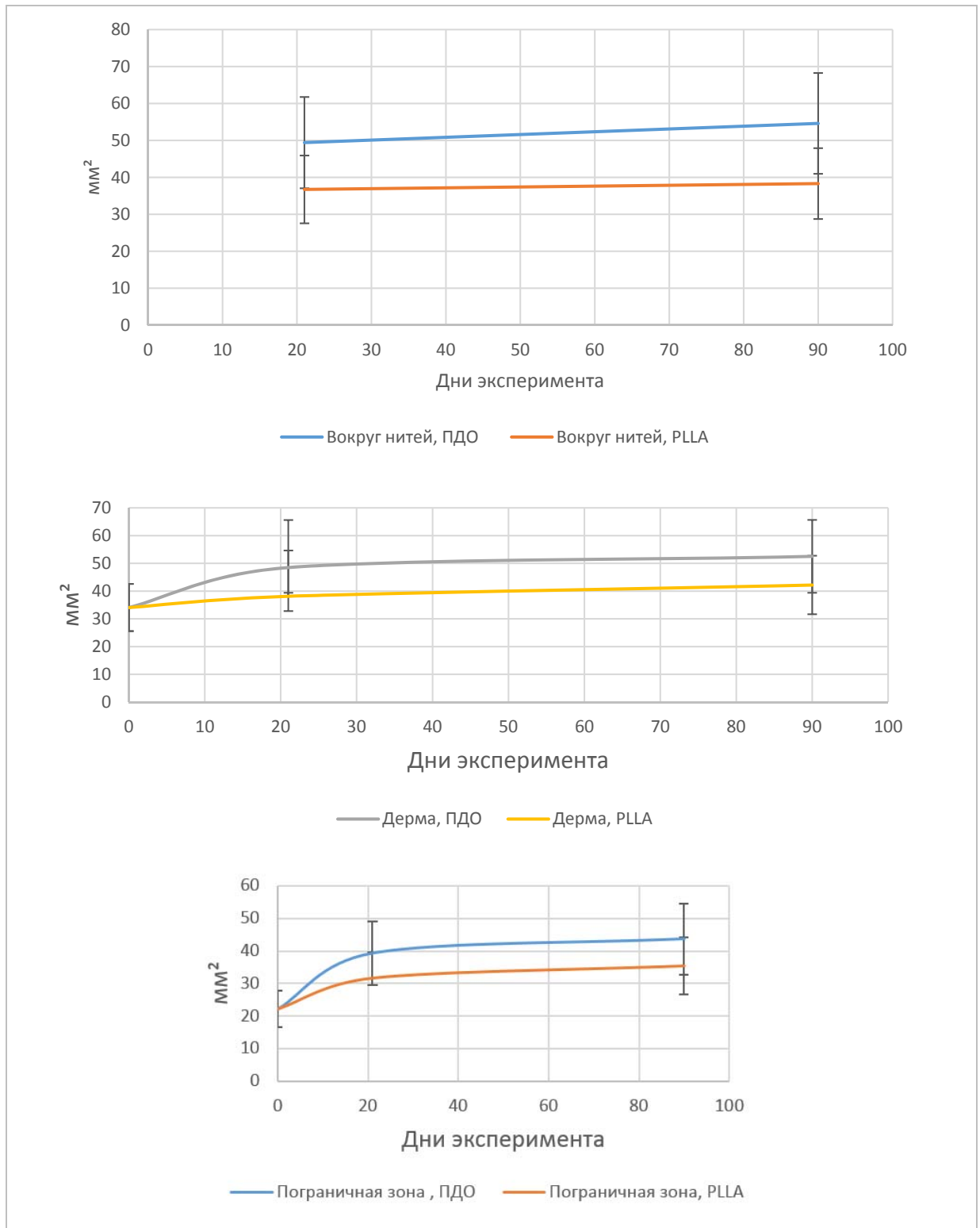


Рисунок 35 – Сравнительна оценка изменений сосудистой плотности в зоне вокруг введенных нитей из PDO и PLLA, в пограничной зоне и в тканях дермы у экспериментальных животных, в препаратах, окрашенных антителами к CD31 и Factor VIII

## Резюме

Таким образом, в ходе проведенного эксперимента, установлено, что вокруг нитей из полидиоксанона присутствует умеренно выраженная клеточная реакция, с четкой тенденцией к уменьшению от 21 к 90-му дню. Клеточная реакция тканей вокруг нитей из поли-L-молочной кислоты характеризуется как «слабая», также с тенденцией к уменьшению выраженности. Скопление клеток вокруг нитей из полидиоксанона отличается по качественному составу от такового вокруг нитей из поли-L-молочной кислоты. При этом отсутствует статистически значимое различие в количественной выраженности клеточной реакции между разными нитями как на 21-й, так и на 90-й день эксперимента.

При имплантации нитей из обоих видов материалов происходит статистически значимая, в сравнении с контролем, стимуляция выработки волокнистого компонента межклеточного вещества. При этом разница не имеет статистической значимости при сравнении выраженности неоколлагеногенеза и неозластиногенеза вокруг нитей из ПДО с этими же процессами вокруг нитей из PLLA.

При морфометрическом анализе результатов иммуногистохимического окрашивания препаратов маркерами неоангиогенеза CD31 и Factor VIII, установлено, что неоангиогенез активизируется вокруг обоих видов нитей, в сравнении с препаратами контроля. Однако, при сравнении исследуемых групп препаратов между собой, разница не имеет статистической значимости, как на 21-й, так и на 90-й день эксперимента.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование показало, что присутствует разница состава клеточной реакции вокруг имплантированных нитей из полидиоксанона и из поли-L-молочной кислоты. Количественно клеточная реакция вокруг имплантированных нитей из полидиоксанона характеризуется как «умеренная», с отчетливой тенденцией к уменьшению. В составе преобладают макрофаги, встречаются единичные гигантские многоядерные клетки типа инородных тел. Клеточная реакция вокруг нитей из поли-L-молочной кислоты характеризуется как «слабая», также с тенденцией к снижению выраженности в течение времени эксперимента. В составе регенеративного гистиона преобладают лимфоциты и плазмоциты.

Неяркая выраженность клеточной реакции на оба вида имплантированных нитей подтверждает отличную совместимость полидиоксанона и поли-L-молочной кислоты с тканями организма и отсутствие провоспалительного действия данных материалов на ткани. Отсутствие в числе клеток регенеративного гистиона эозинофилов, выявленное во всех опытных группах препаратов, позволяет сделать вывод об отсутствии аллергической реакции на имплантированные нити. Этот факт является неоспоримым плюсом данной методики, учитывая растущие показатели аллергизации населения крупных городов.

При сравнении показателей количества клеток регенеративного гистиона на 1 мм<sup>2</sup> становится ясно, что отсутствует статистически значимая разница между выраженностью клеточной реакции на нити из полидиоксанона, по сравнению с нитями из поли-L-молочной кислоты. Различия не имеют четкой статистической значимости как на 21-й, так и на 90-й день эксперимента. Однако, принимая во внимание использование в статистических подсчетах поправки Бонферрони, уже-сточающей критерии достоверности различий, можно говорить о присутствии тенденции к преобладанию выраженности клеточной реакции тканей вокруг нитей из полидиоксанона на 21-й день. На 90-й день разница между исследуемыми группами имеет еще менее выраженные различия.

Количественные изменения регенеративного гистиона с течением времени эксперимента можно представить наглядно в виде графика (рисунок 36).

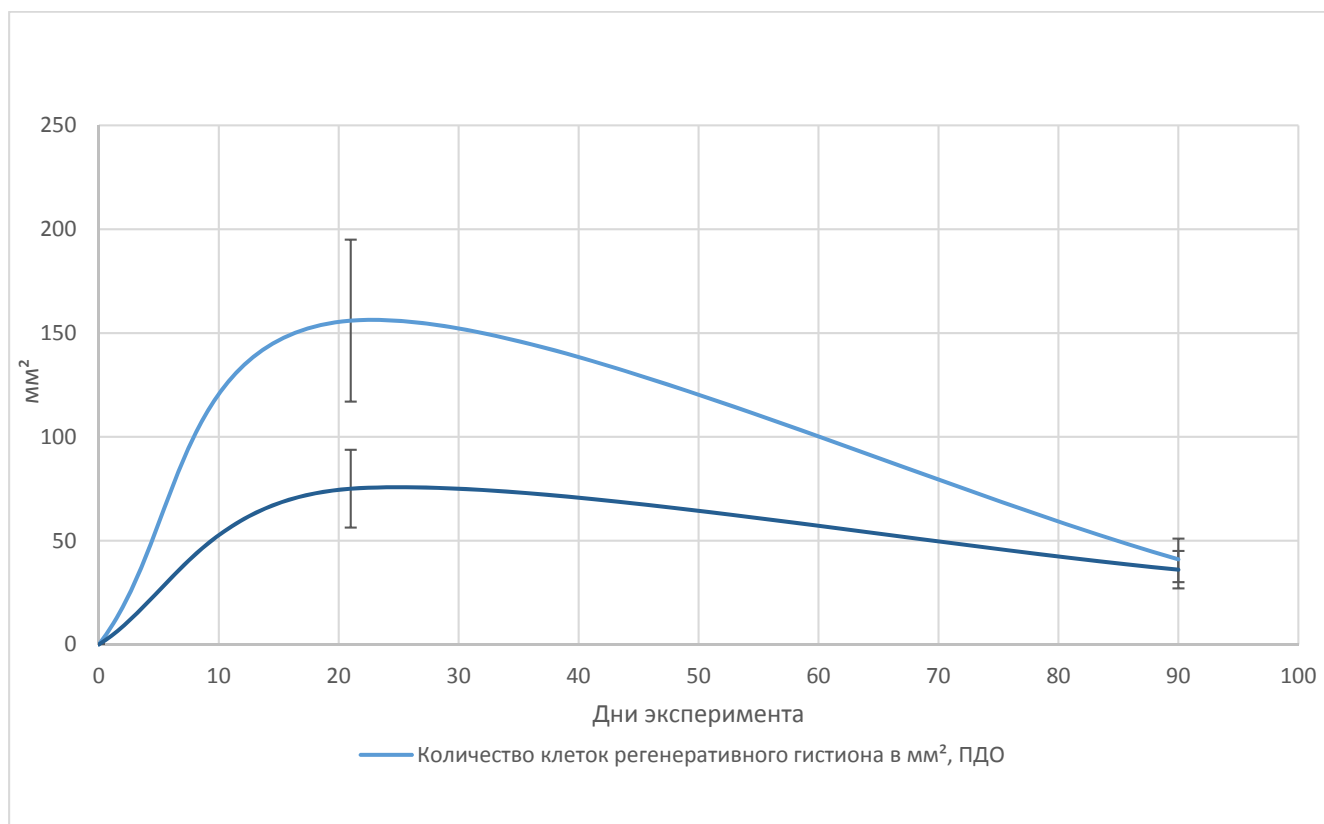


Рисунок 36 – Сравнение количественного изменения регенеративного гистиона в зоне вокруг введенных нитей из поли-L-молочной кислоты (PLLA) и полидиоксанона (PDO) у экспериментальных животных

Таким образом, при сравнении количественной выраженности регенеративного гистиона вокруг имплантированных нитей, можно сделать вывод об одинаково низком раздражающем влиянии материалов полидиоксанон и поли-L-молочная кислота на окружающие ткани. Также, учитывая, что не происходит развития дистрофических изменений окружающих тканей, а с течением эксперимента выявляется устойчивая тенденция к уменьшению выраженности клеточной реакции, в рамках данной методики это влияние можно рассматривать как стимуляцию регенеративных процессов.

В составе клеток регенеративного гистиона вокруг нитей из полидиоксана в большем количестве присутствуют макрофаги, а также наблюдаются единичные гигантские многоядерные клетки, в то время как вокруг нитей из поли-L-лактида клеточная реакция имеет преимущественно лимфоплазмочитарный состав, с небольшим количеством макрофагов. Данное различие, скорее всего, обусловлено более быстрым процессом резорбции нити из материала полидиоксана и ее фрагментацией в ходе данного процесса [192]. Потому в ткани вокруг резорбирующейся нити мигрируют и накапливаются там макрофаги, как основные клетки, фагоцитирующие инородные вещества. Этим же объясняется присутствие в составе указанного регенеративного гистиона гигантских многоядерных клеток инородных тел, которые также имеют макрофагальное происхождение.

Фагоцитоз – ведущая, но не единственная функция макрофагов. Они обладают выраженным регулирующим влиянием на большинство клеточных дифферонов, входящих в состав регенеративного гистиона. Помимо фагоцитоза, они синтезируют широкий спектр цитокинов, регулирующих скорость пролиферации и характер дифференцировки клеток [86, 161]. А также являются основными источниками VEGF, продукция которого обуславливает выраженность реакции ангиогенеза [128]. Продуцируемые макрофагами цитокины TGF- $\beta$  и EGF также влияют на процессы регенерации тканей.

Биодеградация нити из поли-L-лактида происходит гораздо медленнее, и первоначально имеет поверхностный механизм резорбции, который подразумевает резорбцию полимера во внешнем слое, диффузно доступном для окружающей биологической среды, с длительным сохранением целостности нити, без ее фрагментации с образованием мелких частиц [16]. Возможно, по причине отсутствия раздражающего действия множества мелких фрагментов имплантата на ткани, макрофаги в составе клеточной реакции вокруг нитей из поли-L-лактида выявляются в небольшом количестве как на 21-й, так и на 90-й день эксперимента. Также разностью механизмов резорбции материалов может объясняться тенденция к большему количеству клеток регенеративного гистиона на единицу площади исследуемых тканей при имплантации нитей из материала полидиоксана. Однако,



количественная разность клеточной реакции не достигает статистической значимости, что позволяет не учитывать ее влияние на клинический результат при использовании монофиламентных нитей из данных материалов в практике.

Большое количество макрофагов и наличие гигантских многоядерных клеток вокруг нитей из полидиоксанона не является благоприятным, так как при такой гистологической картине имеется возможность перехода регенеративного процесса в гранулематозную реакцию, характеризующуюся продуктивным воспалением с формированием гранулемы инородного тела. Однако, относительно короткие сроки биodeградации нити из полидиаксонона (180–260 дней) по сравнению с нитью из поли-L-лактида (от 18 до 24 месяцев) [127, 130, 179], а также значимое снижение выраженности клеточной реакции в течение времени эксперимента, позволяют сделать такое предположение маловероятным.

Преобладание лимфоцитов в составе регенеративного гистиона вокруг нити из поли-L-лактида обусловлено, как уже предполагалось, поверхностным механизмом ее резорбции. Ранее лимфоциты определялись как иммунокомпетентные клетки, обеспечивающие антигенную защиту. Однако, помимо этой функции, лимфоциты оказывают влияние на процессы тканевой регенерации за счет способности синтезировать различные факторы роста [97]. Т-лимфоциты секретируют TNF-альфа и гамма-IFN, что тормозит синтез коллагена фибробластами. Также лимфоциты стимулируют продукцию матриксных металлопротеиназ [116]. Некоторые субпопуляции Т-лимфоцитов способны к активному синтезу фактора роста сосудов VEGF и, соответственно, стимуляции ангиогенеза [131]. При этом, между иммунной и регуляторной функцией Т-лимфоцитов существует реципроктное взаимодействие – то есть, активация иммунных функций приводит к снижению морфогенетических влияний Т-лимфоцитов на регенераторные процессы [109].

При анализе данных, полученных при морфометрическом исследовании препаратов, окрашенных по методу Маллори, регистрируется хорошо выраженное стимулирующее действие имплантации нитей на образование волокнистых компонентов соединительной ткани, в сравнении с препаратами группы контроля. Прирост регистрируется во всех исследуемых группах, вне зависимости от вида

материала. То есть, нарастание удельной площади соединительной ткани происходило в течение всего времени эксперимента, в исследуемых группах препаратов, содержащих нити как из материала полидиоксанона, так и из поли-L-молочной кислоты. Данную тенденцию можно проиллюстрировать графиком (рисунок 37).

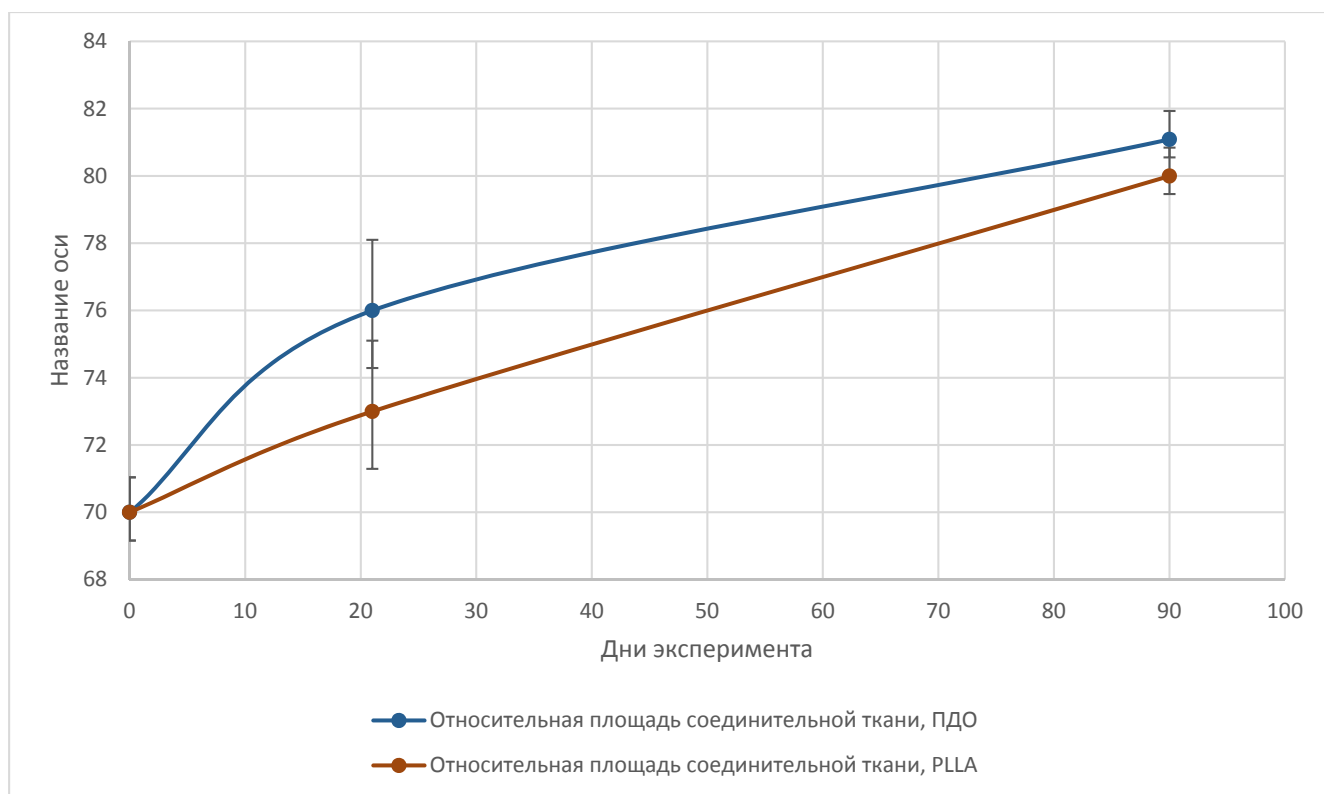


Рисунок 37 – Сравнение выраженности изменений в тканях дермы и подлежащих тканях в зоне введения нитей из материалов PLLA и PDO у экспериментальных животных

Регистрировался значимый прирост площади не только коллагеновых, но и эластических волокон, во всех исследуемых группах по сравнению с группой контроля. Это является прогностически благоприятным признаком т.к. присутствие эластических волокон вокруг имплантированных нитей делает сформированный ими подкожный каркас более нежным и эластичным, без формирования грубого фиброза и деформаций поверхности кожи и контуров лица, и тела.

При сравнительном статистическом анализе результатов качественного и количественного прироста волокнистого компонента соединительной ткани вокруг нитей можно предположить, что нити из поли-L-лактида вызывают образование более плотного каркаса, чем нити из полидиоксанона, так как среди новообразованных волокон в зоне вокруг нити из поли-L-молочной кислоты значительно преобладает коллаген, причем в большем процентном соотношении к эластину, чем вокруг нитей из полидиоксанона.

Наличие этой разницы может быть проиллюстрировано серией графиков (рисунок 38, 39).

Как известно, фибриллярный белок коллаген обеспечивает прочностные характеристики ткани, потому неоколлагеногенез, вызываемый в гиподерме и подлежащей дерме кожи при имплантации нитей, способствует укреплению кожного лоскута и, таким образом, коррекции и профилактике процессов возрастного птоза тканей лица, и образованию избыточного кожного лоскута [10].

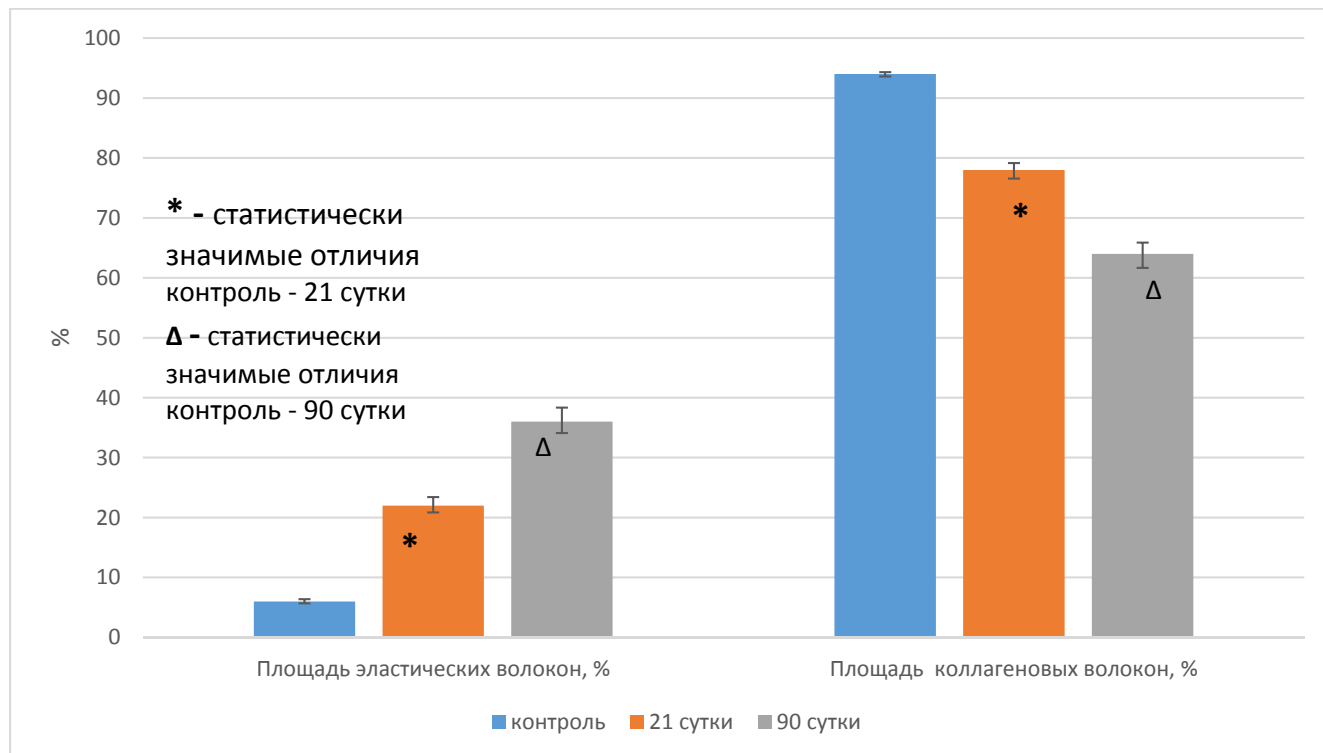


Рисунок 38 – Динамика изменений в тканях дермы и подлежащих тканях в зоне введения нитей из полидиоксанона (ПДО) у экспериментальных животных

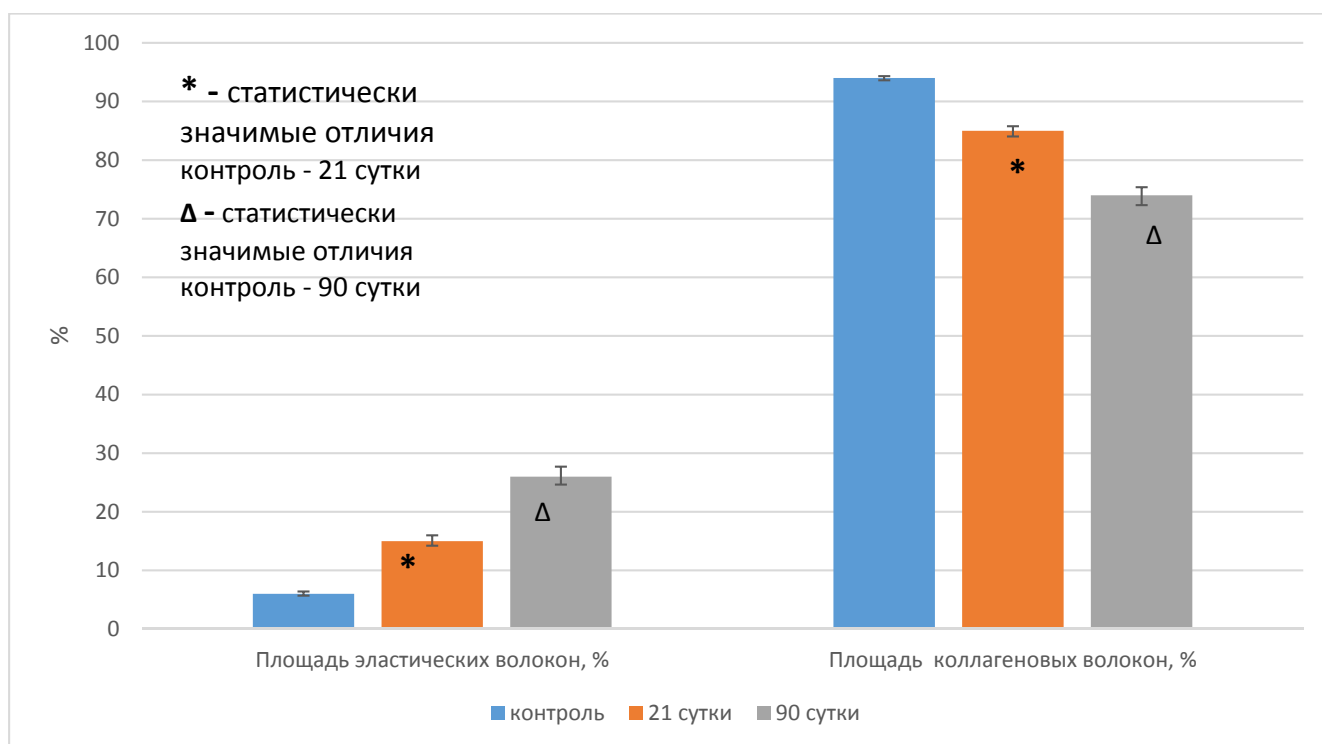


Рисунок 39 – Динамика изменений в тканях дермы и подлежащих тканях в зоне введения нитей из поли-L-молочной кислоты (PLLA) у экспериментальных животных

Эластические волокна обуславливают упругость дермы – это способность подвергаться значительному растяжению с последующим возвращением в исходное состояние, без потери свойств и остаточной деформации [76]. Прирост их количества под влиянием имплантированных нитей будет обуславливать благоприятный клинический результат при практическом применении методики субдермальной имплантации нитей из исследуемых материалов. Положительные изменения эстетических характеристик кожного лоскута – его упругости и эластичности – обусловлены количественным приростом именно пула эластических волокон межклеточного вещества в зоне вокруг нитей и надлежащей дерме кожи.

Различия между группами исследуемых препаратов, содержащих нити из полидиоксанона или поли-L-лактида, в общем приросте волокнистого компонента в окружающих тканях незначительны. Так, сравнение удельного прироста соединительнотканых волокон между контрольными препаратами, содержащими разные

виды нитей, не выявило значимых различий как на 21-й, так и на 90-й день. Однако, тенденция к преобладанию коллагеновых волокон вокруг имплантированных нитей из поли-L-лактида сохраняется в течение всего времени эксперимента.

При окраске методами иммуногистохимии, антителами к CD31 (DAKO) и Factor VIII (DAKO), выявлен неоангиогенез, обуславливающий прирост количества микрососудов вокруг нитей из обоих исследуемых материалов относительно препаратов контроля. Такое заключение позволил сделать тот факт, что в препаратах исследуемых групп как с нитями из материала полидиоксанона, так и из поли-L-лактида, количество капилляров на единицу площади ( $\text{мм}^2$ ) в окружающих тканях нарастало в течение всего времени эксперимента, по сравнению с контрольной группой препаратов.

Наглядно полученные результаты можно представить на графиках (рисунок 40, 41).

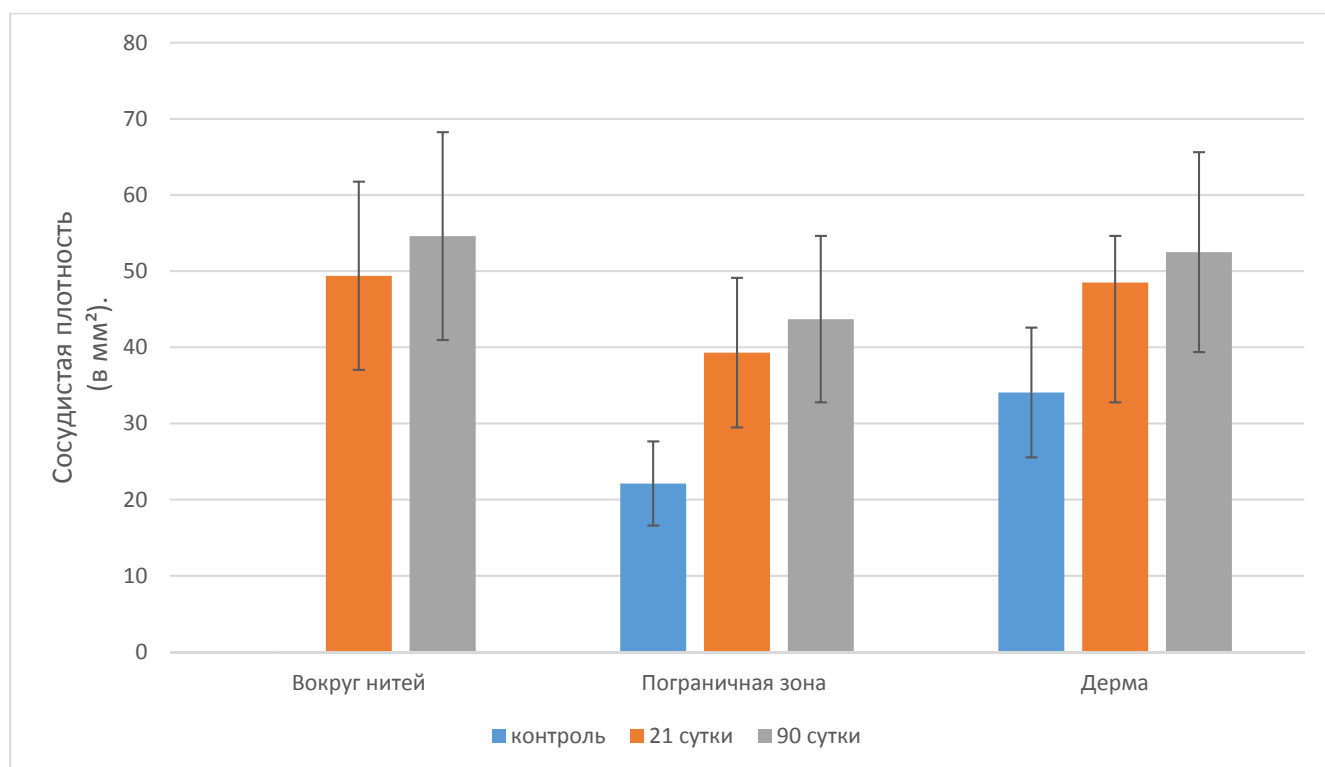


Рисунок 40 – Динамика изменений сосудистой плотности в зоне вокруг введенных нитей из ПДО, в пограничной зоне и в тканях дермы у экспериментальных животных, в препаратах, окрашенных антителами к CD31 и Factor VIII

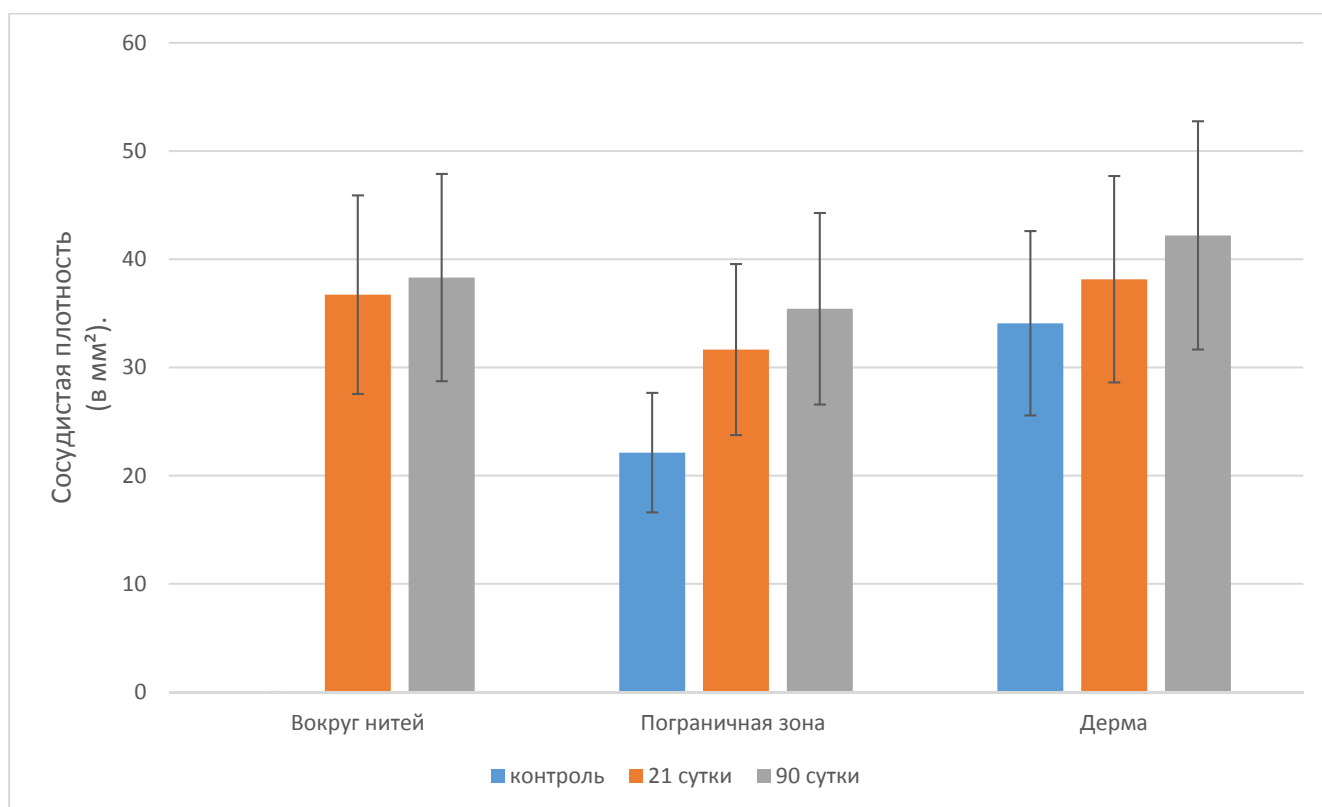


Рисунок 41 – Динамика изменений сосудистой плотности в зоне вокруг введенных нитей из PLLA, в пограничной зоне и в тканях дермы у экспериментальных животных, в препаратах, окрашенных антителами к CD31 и Factor VIII

Сравнение же исследуемых групп препаратов между собой не выявило достоверных различий в приросте количества микрососудов. Различий не наблюдалось ни в одной из трех исследуемых зон в препаратах – вокруг нитей, пограничной зоне и надлежащей дерме кожи. На графиках отмечалась некоторая тенденция к преобладанию количества микрососудов вокруг нитей из материала полидиоксанона, что может быть обусловлено преобладанием макрофагов в составе регенеративного гистиона. Как ранее отмечалось, макрофаги являются мощными продуцентами VEGF в составе регенеративного гистиона. VEGF – это сигнальный белок, фактор роста эндотелия сосудов, потенцирующий миграцию и пролиферацию эндотелиальных клеток в зону разворачивания регенераторного процесса [17]. Соответственно, относительное преобладание макрофагов в составе регенеративного гистиона вокруг полидиоксаноновых

нитей может обуславливать наблюдаемую тенденцию. Однако, при отсутствии статистически достоверной разницы в выраженности клеточных реакций, выраженность неоангиогенеза также не достигает достоверной разницы. Таким образом, не смотря на разность клеточного состава регенеративного гистиона вокруг нитей из изучаемых видов материалов, достоверных различий в иных измеряемых параметрах не наблюдалось.

## ВЫВОДЫ

1. Клеточная реакция вокруг обоих видов нитей характеризуется как «умеренная» – вокруг нитей из полидиоксанона, и «слабая» – вокруг нитей из поли-L-лактида. В клеточном составе регенеративного гистиона вокруг нитей из материала полидиоксанона преобладают макрофаги и присутствуют единичные гигантские многоядерные клетки инородных тел. Вокруг нитей из поли-L-молочной кислоты скопление клеток имеет лимфо-плазмоцитарный характер, с единичными макрофагами. В обоих случаях выраженность клеточной реакции снижается в течение времени эксперимента, при этом качественный состав регенеративного гистиона остается неизменным.

2. Субдермальная имплантация нитей из обоих видов материалов стимулирует новообразование и значимый прирост волокнистого компонента в окружающей соединительной ткани, включая зону вокруг нитей, пограничную зону и надлежащую дерму кожи. Регистрируется прирост как коллагеновых, так и эластических волокон в течение всего времени эксперимента.

3. Имплантация нитей из обоих видов материалов стимулирует неоангиогенез в окружающих тканях и надлежащей дерме кожи. Разница является статистически достоверной, по сравнению с препаратами группы контроля, и имеет тенденцию к увеличению в течение всего времени эксперимента.

4. Присутствует разность клеточного состава регенеративного гистиона вокруг нитей из полидиоксанона и нитей из поли-L-лактида. Предположительно, она обусловлена более интенсивным процессом резорбции полидиоксанона в тканях организма. Общий количественный прирост соединительнотканых волокон при сравнении опытных групп препаратов между собой не имеет достоверной разницы как на 21-й, так и на 90-й день эксперимента. При этом препаратах, содержащих нити из поли-L-лактида, сравнительно более выражен прирост коллагеновых волокон, в сравнении с препаратами, содержащими нити из полидиоксанона. Подобная тенденция сохраняется в течение всего времени эксперимента. Процесс неоангиогенеза не имеет значимых различий между исследуемыми группами препаратов, ни на одном из регистрируемых сроков.



## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

- Монофиламентные биodeградируемые нити на основе полидиоксанона и поли-L-молочной кислоты являются безопасными при субдермальной имплантации *in vivo*, поскольку не вызывают дегенеративные изменения в тканях, не способствуют формированию фиброзной капсулы и жировых инфильтратов.

- Возможна имплантация монофиламентных биodeградируемых нитей на расстоянии, не превышающем 1–2 мм друг от друга, поскольку клеточная и тканевая реакция на их присутствие не приводит к эффекту сморщивания за счет активного формирования соединительной ткани с преобладанием волокнистого компонента.

- Результаты постмаркетинговой экспериментальной оценки показали, что монофиламентные биodeградируемые нити на основе полидиоксанона и поли-L-молочной кислоты могут применяться для армирования мягких тканей, при этом, исходя из особенностей клеточной реакции окружающих тканей, применение нитей из поли-L-лактида, по сравнению с нитями из полидиоксанона, будет иметь меньшую вероятность развития гранулемы инородного тела вокруг имплантированной нити и, в дальнейшем, формирования избыточного фиброза. Соответственно, применение нитей из поли-L-лактида будет являться более предпочтительным в клинической практике.

- Предложенная экспериментальная модель является адекватной и реализуемой в условиях постмаркетинговой оценки безопасности и эффективности нитей для армирования кожи.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ПДО – полидиоксанон

УФО – ультрафиолетовое облучение

CD31 – cluster of differentiation 31, кластер дифференцировки 31

IL-1 – интерлейкин 1

IL-2 – интерлейкин 2

IL-3 – интерлейкин 3

IL-4 – интерлейкин 4

IL-5 – интерлейкин 5

IL-6 – интерлейкин 6

PLLA – poly-L-lactic acid, поли-L-молочная кислота

TNF- $\alpha$  – tumor necrosis factor alfa; фактор некроза опухолей альфа

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

- 1 Абаев, Ю.К. Раны и раневая инфекция [Текст] / Ю.К. Абаев. – М.: Феникс, 2006. – 428 с.
- 2 Аламанкин, Д.С. Изучение патоморфологических процессов старения кожи мужчин с помощью лазерной конфокальной микроскопии [Текст] / Д.С. Аламанкин, Н.А. Плотникова, С.Ю. Негодина // Национальная ассоциация ученых. – 2015. – № 9. – Т. 2 (14). – С. 104–107.
- 3 Алексеева, Н.Т. К вопросу о роли тучных клеток в процессе заживления ран [Текст] / Н.Т. Алексеева, А.А. Глухов // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2011. – Т. 4. – № 4. – С. 864–870.
- 4 Алексеева, Н.Т. Морфологическая характеристика регенераторных процессов в мягких тканях при использовании различных методов регионального воздействия [Текст] / Н.Т. Алексеева, А.А. Глухов, А.П. Остроушко // Морфология. – 2010. – Т. 137. – № 4. – С. 15.
- 5 Алексеева, Н.Т. Роль клеток фибробластического дифферона в процессе заживления ран [Текст] / Н.Т. Алексеева, А.А. Глухов, А.П. Остроушко // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2012. – Т. 5. – № 3. – С. 601–608.
- 6 Анализ воспалительного процесса в параметрах функции нейтрофилов [Текст] / А.В. Пасечник [и др.] // Вестник РУДН. Серия: медицина. – 2001. – № 3. – С. 33–36.
- 7 Анатомическое обоснование нитевых подтяжек верхней трети лица [Текст] / С.В. Прокудин [и др.] // Вестник Эстетической Медицины. – 2013. – Т. 12. – № 4. – С. 20–26.
- 8 Аравийская, Е.Р. Возрастные изменения в дерме: новые сведения и пути коррекции с помощью средств ежедневного ухода [Текст] / Е.Р. Аравийская // Русский медицинский журнал. – 2008. – Т. 16. – № 8. – С. 574–575.

- 9 Ахмедова, А.И. Влияние катализаторов на синтез п-диоксанона [Текст] / А.И. Ахмедова // Вестник Казанского технологического университета. – 2016. – Т. 19. – № 18. – С. 27–29.
- 10 Ахтямов, С.Н. Клинико-морфологические особенности старения кожи [Текст] / С.Н. Ахтямов, А.А. Кягова // Вестник дерматологии и венерологии. – 2005. – № 4. – С. 60–64.
- 11 Белова, О.В. Иммунологическая функция кожи и нейроиммунокожная система [Текст] / О.В. Белова, В.Я. Арион // Аллергология и иммунология. – 2006. – № 4. – С. 492–497.
- 12 Березин, А.Е. Постнатальные эндотелиальные прогениторные клетки как биологические маркеры неоангиогенеза и реэндотелизации [Текст] // А.Е. Березин, А.А. Кремзер // Сердце и сосуды. – 2013. – № 2. – С. 92–97.
- 13 Бессонова, В.А. Сложные полиэфиры: полилактид и поликапролактон [Текст] / В.А. Бессонова // Современные научные исследования и инновации. – 2017. – № 1 (69). – С. 34–36.
- 14 Биodeградируемые материалы и методы тканевой инженерии в хирургии желчных протоков [Текст] / Т.Г. Дюжева [и др.] // Анналы хирургической гепатологии. – 2012. – № 1. – Т. 17. – С. 94–99.
- 15 Быков, В.Л. Цитология и общая гистология [Текст] / В.Л. Быков. – СПб.: Сотис, 2007. – 254 с.
- 16 Вавилова, А.А. Гликационный стресс и старение кожи [Текст] / А.А. Вавилова, Е.И. Губанова, В.В. Гладько // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2017. – Т. 20. – № 4. – С. 243–248.
- 17 Варданян, А.М. VEGF – индуцированный ангиогенез при экспериментальном инфаркте миокарда [Текст] / А.М. Варданян, А.Б. Семерджян, М.Г. Сусанян // Морфология. – 2008. – Т. 133. – № 2. – С. 24b.
- 18 Влияние тучных клеток на репаративную регенерацию тканей с разной степенью иммунологической привилегированности [Текст] / Ю.С. Храмцова [и др.] // Цитология. – 2016. – Т. 58. – № 5. – С. 356–363.

- 19 Возрастные изменения числа тучных клеток и эозинофилов в коже человека. [Текст] / В.В. Петров [и др.] // Онтогенез. – 2013. – Т. 44. – № 3. – С. 179–185.
- 20 Волков, К.С. Роль эпителиально-мезенхимального перехода в патогенезе заживления кожных ран [Текст] / К.С. Волков, С.Б. Крамар // Морфология. – 2015. – Т. 9. – № 2. – С. 7–10.
- 21 Воспаление как составная часть инъекционных косметологических манипуляций [Текст] / Я.А. Юцковская [и др.] // Косметика и медицина. – 2015. – № 3. – С. 76–80.
- 22 Восстановление соединительной ткани в результате трансплантации на раны экспериментальных животных дермального эквивалента на основе фибрина [Текст] / Н.М. Юдинцева [и др.] // Цитология. – 2010. – Т. 9. – № 52. – С. 724–728.
- 23 Гелашвили, П.П. Кожа человека (анатомия, гистология, гистопатология) [Текст] / П.А. Гелашвили, А.А. Супильников, В.А. Плохова. – Самара : Медицинский институт «Реавиз», 2013. – 168 с.
- 24 Гистоморфологические изменения на границе живая ткань-полимер в ответ на имплантацию рассасывающихся алифатических полиэфиров [Текст] / Д.В. Нестеров [и др.] ; под общ. ред. М.А. Садового, Е.В. Мамоновой // Цивьяновские чтения : сборник материалов IX научно-практической конференции с международным участием. – Новосибирск: Сибирское университетское изд-во, 2016. – Том II. – С. 303.
- 25 Головатая, И.В. Нитевые технологии: взаимодействие биорезорбируемых нитей с мягкими тканями [Текст] / И.В. Головатая, А.А. Неробеев, Е.В. Радион // Kosmetik International. – 2015. – № 3. – С. 100–106.
- 26 Грабовой, А.Н. Содержание фибробластов, макрофагов, гранулоцитов и лимфоцитов в соединительнотканном регенерате кожи при заживлении ран в условиях воздействия норадреналина, ацетилхолина, пропранолола и атропина [Текст] / А.Н. Грабовой // Морфология. – 1999. – Т. 116. – № 4. – С. 41–45.

- 27 Григорян, Б.А. Регенерационный гистогенез жировой ткани [Текст] / Б.А. Григорян // Вопросы морфологии XXI века : сборник научных трудов, посвященный 80-летию со дня рождения Алексея Андреевича Клишова; Санкт-Петербург. гос. мед. акад. – СПб. : ДЕАН, 2010. – Выпуск 2. – С. 101–104.
- 28 Груздев, Д.А. Классификация нитей для тредлифтинга как фактор оптимизации выбора метода нитевой коррекции [Текст] / Д.А. Груздев, А.А. Кодяков // Kosmetik International. – 2015. – № 1. – С. 115–119.
- 29 Груздев, Д.А. Новый подход к классификации нитей для омоложения кожи лица и шеи [Текст] / Д.А. Груздев, А.А. Кодяков, П.Г. Фёдоров // Вестник новых медицинских технологий. – 2014. – Т. 21. – № 2. – С. 104–109.
- 30 Груздев, Д.А. Новый подход к классификации нитей, применяемых для омоложения лица и шеи [Текст] / Д.А. Груздев, А.А. Кодяков, П.Г. Фёдоров // Вестник эстетической медицины. – 2014. – Т. 13. – № 2. – С. 8–13.
- 31 Данилов, Р.К. Раневой процесс: гистогенетические основы [Текст] / Р.К. Данилов. – СПб.: ВМедА, 2008. – 379 с.
- 32 Дермальные фибробласты для лечения дефектов кожи [Текст] / В.Л. Зорин [и др.] // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2009. – Т. 4. – № 4. – С. 26–40.
- 33 Долгушин, И.И. Нейтрофилы и гомеостаз [Текст] / И.И. Долгушин, О.В. Бухарин. – Екатеринбург : Уральское отделение РАН, 2001. – 277 с.
- 34 Долгушин, И.И. Секреторные функции нейтрофилов [Текст] / И.И. Долгушин, А.Ю. Савочкина // Аллергология и иммунология. – 2015. – № 2. – Т. 16. – С. 209–212.
- 35 Дубовик, А.А. Кровоснабжение кожи пожилых людей [Текст] / А.А. Дубовик // Косметические средства. – 2016. – № 4. – С. 4–9.
- 36 Евсеев, М.А. Хирургический шов: эволюция нити и иглы (лекция) [Текст] / М.А. Евсеев // Хирургическая практика. – 2012. – № 4. – С. 32–36.
- 37 Иванова, В.П. Современный взгляд на строение и эволюцию коллагенов. I. Фибриллярные коллагены [Текст] / В.П. Иванова, А.И. Кравченко // Жур-

- нал эволюционной биохимии и физиологии. – 2012. – Т. 48. – № 2. – С. 118–128.
- 38 Иванова, В.П. Современный взгляд на строение и эволюцию коллагенов. II. Коллагены, ассоциированные с фибриллами [Текст] / В.П. Иванова, А.И. Кривченко // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2014. – Т. 50. – № 4. – С. 245–254.
  - 39 Иммунологическая функция кожи в свете новых данных [Текст] / О.В. Белова [и др.] // Российский иммунологический журнал. – 2015. – Т. 9. – № 2 (18). – С. 155–163.
  - 40 Казакова, И.А. Механизмы влияния макрофагов на репаративную регенерацию [Текст] : дис. ... канд. мед. наук: 03.03.01 / Казакова Ирина Александровна. – Екатеринбург, 2014. – 168 с.
  - 41 Капулер, О.М. Метаболизм коллагеновых волокон на фоне возрастных изменений [Текст] / О.М. Капулер, Б.Н. Сельская, А.Г. Галеева // Врач. – 2015. – № 8. – С. 64–69.
  - 42 Клеточно-матриксные и межклеточные взаимодействия при заживлении ран [Текст] / М.В. Мнихович [и др.] // Biomedical and biosocial anthropology. – 2013. – № 21. – С. 250–258.
  - 43 Климашевич, А.В. Современные методы внутрипросветного лечения и профилактика послеожоговых рубцовых стриктур пищевода [Текст] / А.В. Климашевич, В.И. Никольский // Ульяновский медико-биологический журнал. – 2014. – № 2. – С. 18–26.
  - 44 Клименко, Н.А. Механизмы модулирующего влияния тучных клеток на лейкоцитарную реакцию при воспалении [Текст] / Н.А. Клименко, Г.Ю. Пышнов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1993. – № 1. – С. 29–30.
  - 45 Кодяков А.А. К вопросу о долговечности эффекта процедур нитевого омоложения [Текст] / А.А. Кодяков, П.Г. Федоров // Инъекционные методы в косметологии. – 2016. – № 3. – С. 66–70.

- 46 Кодяков, А.А. Инфекционно-воспалительные осложнения нитевого лифтинга [Текст] / А.А. Кодяков // Kosmetik international. – 2015. – № 3. – С. 107–112.
- 47 Кодяков, А.А. Тенденции эстетической медицины и нитевые методы омоложения [Текст] / А.А. Кодяков, П.Г. Федоров // Инъекционные методы в косметологии. – 2017. – № 1. – С. 4–10.
- 48 Контракtilьная способность фибробластов различного происхождения в модели живого эквивалента дермы [Текст] / Е.В. Швецова [и др.] // Известия Российской академии наук. Серия биологическая. – 2008. – № 2. – С. 169–173.
- 49 Кривенчук, В.А. Сравнение репаративных процессов при закрытии асептических ран некоторыми видами узловых швов в эксперименте [Электронный ресурс] / В.А. Кривенчук, З.А. Дундаров, С.Л. Зыблев // Современные технологии в хирургической практике : сб. материалов Респ. науч.-практ. конф., [28 апр. 2017 г., г. Гродно] / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, УО «Гродн. гос. мед. ун-т» ; редкол.: В. А. Снежицкий [и др.]. – Гродно, 2017. – С. 111–114.
- 50 Кровеносные сосуды в дерме человека в процессе старения [Текст] / А.Г. Гунин [и др.] // Успехи геронтологии. – 2014. – Т. 27. – № 1. – С. 54–61.
- 51 Кубанов, А.А. Фотостарение кожи: механизмы развития, особенности клинических проявлений [Текст] / А.А. Кубанов, М.Б. Жилова, А.А. Кубанова // Вестник дерматологии и венерологии. – 2014. – № 5. – С. 53–59.
- 52 Кузин, М.И. Раны и раневая инфекция [Текст] / М.И. Кузин, Б.М. Костюченко. – М.: Медицина. 1981. – 688 с.
- 53 Кузнецов, В.А. Синтез циклических сложных эфиров и биоабсорбируемых полимеров на их основе [Текст] : дис. ... канд. хим. наук: 20.00.03 / Кузнецов Василий Алексеевич. – Екатеринбург, 2014. – 156 с.
- 54 Кулаков, А.А. Биодegradируемые полимерные материалы медицинского назначения (основные направления исследований и перспективы их развития) [Текст] / А.А. Кулаков, А.С. Григорьян // Стоматология. – 2014. – № 2. – С. 63–66.



- 55 Кутукова, Н.А. Тучные клетки: роль в воспалении, восстановлении тканей и развитии фиброза [Текст] / Н.А. Кутукова, П.Г. Назаров // Цитокины и воспаление. – 2014. – Т. 13. – № 4. – С. 11–20.
- 56 Легонькова, О.А. Линейные полиэферы в современной медицине [Текст] / О.А. Легонькова, Л.Ю. Асанова // Высокотехнологичная медицина. – 2017. – Т. 4. – № 1. – С. 16–31.
- 57 Ломакина, Е.А. Роль нарушений барьерной функции кожи в патогенезе некоторых дерматозов [Текст] / Е.А. Ломакина // Современные проблемы дерматологии, иммунологии и врачебной косметологии. – 2009. – Т. 2. – № 2. – С. 87–91.
- 58 Мантурова, Н.Е. Старение кожи: механизмы формирования и структурные изменения [Текст] / Н.Е. Мантурова, Р.В. Городилов, А.В. Кононов // Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии. – 2010. – № 1. – С. 88–92.
- 59 Маркеры ангиогенеза при опухолевом росте [Текст] / Н.А. Нефедова [и др.] // Архив патологии. – 2016. – № 2. – С. 55–62.
- 60 Мартынов, Г.А. Биоразрушение материалов в коже [Текст] / Г.А. Мартынов, И.Г. Белялова // Фундаментальные научные исследования: теоретические и практические аспекты: материалы III Международной научно-практической конференции. – Кемерово: ООО «Западно-сибирский научный центр», 2017. – Том II. – С. 688.
- 61 Мартынов, Г.А. Полидеаксонон как образование фиброза кожи [Текст] / Г.А. Мартынов // Интеграция современных научных исследований в развитие общества: материалы II Международной научно-практической конференции. – Кемерово: ООО «Западно-сибирский научный центр» 2017. – Том II. – С. 344.
- 62 Мартынов, Г.А. Синтетические материалы как стимуляторы неоколлагеногенеза [Текст] / Г.А. Мартынов, А.Ю. Коваленко // Интеграция современных научных исследований в развитие общества : материалы III Международной

- научно-практической конференции. – Кемерово: ООО «Западно-сибирский научный центр», 2017. – 490 с.
- 63 Матриксные металлопротеиназы их взаимосвязь с системой цитокинов, диагностический и прогностический потенциал [Текст] / Е.В. Маркелова [и др.] // Иммунопатология. – 2016. – № 2. – С. 11–22.
  - 64 Матриксные металлопротеиназы, их роль в физиологических и патологических процессах (обзор) [Текст] / Л.Н. Рогова [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. – 2011. – Т. 18. – № 2. – С. 86–89.
  - 65 Миронов, В.И Раневой процесс: современные аспекты патогенеза [Текст] / В.И. Миронов, И.И. Гилева // Сибирский медицинский журнал. – 2009. – № 6. – С. 20–25.
  - 66 Миронов, В.М. Рентгеноваскулярная имплантация биорастворимого сосудистого каркаса (стента) в коронарные артерии (первый опыт) [Текст] / В.М. Миронов, А.Н. Самко, Е.В. Меркулов // Российский электронный журнал. – 2013. – № 3. – Т. 3. – С. 71–75.
  - 67 Могильная, Г.М. Динамика морфологического статуса дермы в ответ на введение кристаллов гидроксиапатита [Текст] / Г.М. Могильная, Е.В. Фомичева // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 6. – С. 710.
  - 68 Моисеева, Е.В. Нитевой лифтинг: pro & contra [Текст] / Е.В. Моисеева // Косметолог. – 2014. – № 1. – С. 20–25.
  - 69 Морфологическая реакция кожи на субдермальное введение монофиламентных нитей из полидиоксанона [Текст] / Е.В. Штыркова [и др.] // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2018. – № 2 (21). – С. 139–144.
  - 70 Морфологические и физиологические аспекты течения раневого процесса (литературный обзор) [Текст] / А.А. Супильников [и др.] // Вестник медицинского института «Реавиз». – 2016. – № 3. – С. 144–150.
  - 71 Морфологические изменения кожи в ответ на субдермальное введение монофиламентных нитей из полидиоксанона [Текст] / Е.В. Штыркова [и др.] // Вестник медицинского института «РЕАВИЗ». – 2019. – № 3 (39). – С. 145–153.

- 72 Морфофункциональная характеристика дермы кожи и ее изменения при старении (обзор литературы) [Текст] / С.С. Целуйко [и др.] // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2016. – № 60. – С. 111–116.
- 73 Надеин, К.А. Тучные клетки как фактор развития воспалительных процессов в соединительной ткани [Текст] / К.А. Надеин // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2012. – Т. 10. – № 1.
- 74 Неробеев, А.И. Влияние имплантации резорбируемых нитей на мягкие ткани: результаты экспериментального исследования [Текст] / А.И. Неробеев, А.Б. Шехтер, И.В. Головатая // Вестник эстетической медицины. – 2014. – № 2. – Т. 13. – С. 14–21.
- 75 Новая косметология. Инъекционные методы в косметологии [Текст] / под ред. Е.И. Эрнандес. – М.: Косметика и Медицина, 2014. – 480 с.
- 76 Омеляненко, Н.П. Соединительная ткань (гистофизиология и биохимия) [Текст] : монография / Н.П. Омеляненко, Л.И. Слуцкий ; под ред. С.П. Миронова. – М.: Известия, 2009. – 380 с.
- 77 Оразов М.Р. Клеточные и молекулярные механизмы стимуляции кожи после имплантации нитей на основе полидиоксанона [Текст] / М.Р. Оразов, О.Н. Сулаева, Е.Ю. Старкова // Хирургическая практика. – 2017. – № 2. – С. 20–25.
- 78 Орасмяэ-Медер, Т. Особенности микроциркуляции в коже пожилых людей [Текст] / Т. Орасмяэ-Медер // Косметика и медицина. – 2016. – № 4. – С. 24–29.
- 79 Патент 2460643 Российской Федерации. МПК В29С 45/02, А61L31/06, В29D 99/00. Способ отливки 1,4-парадиоксанона / Ле Гофф Филипп (СН), Андрие Раймон (СН). Патентообладатель: Серебель-Инвест СА(СН). – № 2011103193; заявл. 30.06.2008; опубл. 10.09.2012, Бюл. № 25. – 5 с.
- 80 Перспективный шовный материал – полидиоксанон [Текст] / А.В. Лисин [и др.] // Евразийский союз ученых. – 2015. – № 6 (15). – С. 9–21.
- 81 Петров, В.В. Клетки и кровеносные сосуды дермы человека в онтогенезе [Текст] : дис. ... канд. мед. наук: 03.03.04 / Петров Вадим Витальевич. – Казань, 2015. – 137 с.

- 82 Петрова, М.Б. Изучение регенерации тканей на биологических моделях и в клинике [Текст] / М.Б. Петрова, Г.В. Хомулло // Верхневолжский медицинский журнал. – 2011. – Т. 9. – № 4. – С. 45–48.
- 83 Повещенко, О.В. Эндотелиальные прогениторные клетки и неоваскулогенез [Текст] / О.В. Повещенко, А.Ф. Повещенко, В.И. Коненков // Успехи современной биологии. – 2012. – № 1. – Т. 132. – С. 69–76.
- 84 Полимеры для систем доставки лекарственных веществ пролонгированного действия (обзор). Полимеры и сополимеры молочной и гликолевой кислот [Текст] / С.А. Кедик [и др.] // Фармацевтическая технология. Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2013. – № 2 (3). – С. 18–35.
- 85 Происхождение тучных клеток: современное состояние проблемы [Текст] / В.В. Гусельникова [и др.] // Вопросы морфологии XXI века : сборник научных трудов. – СПб., 2010. – С. 108–115.
- 86 Сарбаева, Н.Н. Макрофаги: разнообразие фенотипов и функций, взаимодействие с чужеродными материалами [Текст] / Н.Н. Сарбаева, Ю.В. Пономарева, М.Н. Милякова // Гены и клетки. – 2016. – Т. 11. – № 1. – С. 9–17.
- 87 Сепиашвили, Р.И. Система иммунитета как регулятор тканевого гомеостаза (регенерация, репарация, ремоделирование) [Текст] / Р.И. Сепиашвили, Н.М. Бережная // Аллергология и иммунология. – 2015. – Т. 16. – № 1. – С. 127–137.
- 88 Скулачёв, В.П. Что такое «феноптоз» и как с ним бороться? (обзор) [Текст] / В.П. Скулачёв // Биохимия. – 2012. – Т. 77. – С. 827–846.
- 89 Смирнова, И.О. Фотостарение кожи – молекулярные маркеры эпидермиса и дермы [Текст] / И.О. Смирнова // Успехи геронтологии. – 2004. – Т. 15. – № 15. – С. 62–69.
- 90 Смирнова, И.О. Функциональная морфология старения кожи [Текст] / И.О. Смирнова // Успехи геронтологии. – 2004. – Т. 13. – С. 44–51.
- 91 Смолянинов, А.Б. Мезенхимальные стволовые клетки: перспективы применения в кардиологии [Текст] / А.Б. Смолянинов, Д.А. Иволгин, А.А. Айзенштадт // Кардиологический вестник. – 2013. – Т. 8 (20). – № 2. – С. 5–10.

- 92 Снарская, Е.С. Фотостарение кожи: современные аспекты [Текст] / Е.С. Снарская // Вестник дерматологии и венерологии. – 2011. – № 2. – С. 98–103.
- 93 Согомонян, А.В. Фибробласты – основные клетки дермы [Текст] / А.В. Согомонян // Экспериментальная и клиническая дерматокосметология. – 2008. – № 5. – С. 59–61.
- 94 Старкова, Е.Ю. Эстетическая коррекция периоральной зоны в концепции двойного армирования [Текст] / Е.Ю. Старкова, М.Р. Оразов // Инъекционные методы в косметологии. – 2015. – № 3. – С. 4–10.
- 95 Сурова, М.В. Комплексное армирование кожи лица с применением специальных хирургических нитей [Текст] : дис. ... канд. мед. наук: 14.00.27 / Сурова Маргарита Валерьевна. – М., 2005. – 137 с.
- 96 Терских, В.В. Апоптоз и дифференциация эпидермальных кератиноцитов [Текст] / В.В. Терских, А.В. Васильев // Онтогенез. – 2005. – Т. 36. – № 2. – С. 85–89.
- 97 Тишевская, Н.В. Т-лимфоциты и тканевые факторы роста [Текст] / Н.В. Тишевская, Н.М. Геворкян, Н.И. Козлова // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2015. – Т. 101. – № 8. – С. 865–884.
- 98 Трубицын, А.А. Объединенная теория старения [Текст] / А.А. Трубицын // Успехи геронтологии. – 2012. – № 4. – С. 563–581.
- 99 Тучные клетки и старение [Текст] / Н.А. Кутукова [и др.] // Успехи геронтологии. – 2016. – Т. 29. – № 4. – С. 586–593.
- 100 Тучные клетки как активный компонент процесса репарации ран [Текст] / М.В. Аралова [и др.] // Журнал анатомии и гистопатологии. – 2018. – Т. 7. – № 2. – С. 103–109.
- 101 Федорович, А.А. Эндотелий микрососудов как мишень терапевтического воздействия [Текст] / А.А. Федорович // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2013. – Т. 19. – № 4. – С. 27–38.
- 102 Фибробласты дермы: особенности цитогенеза, цитофизиологии и возможности клинического применения [Текст] / А.И. Зорина [и др.] // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2011. – Т. 6. – № 2. – С. 15–26.

- 103 Фибробласты и их роль в развитии соединительной ткани [Текст] / И.А. Шурьгина [и др.] // Сибирский медицинский журнал. – 2012. – № 3. – С. 8–12.
- 104 Фрайкин, Г.Я. Фотозащитная функция меланина в коже человека при УФ-облучении [Текст] / Г.Я. Фрайкин // Альманах мировой науки. – 2016. – № 8 (11). – С. 12–13.
- 105 Хаитов, Р.М. Иммунология. Норма и патология [Текст] : учебник / Р.М. Хаитов, Г.А. Игнатьева, И.Г. Сидорович. – 3-е изд. – М.: Медицина, 2010. – 752 с.
- 106 Хайдуков, С.В. Современные подходы к оценке клеточной составляющей иммунного статуса [Текст] / С.В. Хайдуков, Л.В. Байдун // Медицинский алфавит. – 2015. – Т. 2. – № 8. – С. 44–51.
- 107 Характеристика морфологических изменений кожи в ответ на субдермальное введение монофиламентных нитей из поли-L-молочной кислоты (PLLA) [Текст] / Е.В. Штыркова [и др.] // Пластическая хирургия и эстетическая медицина. – 2019. – № 2. – С. 21–26.
- 108 Храмцова, Ю.С. Морфогенетическая функция иммунокомпетентных клеток при репаративной регенерации тканей с разной восстановительной способностью [Текст] / Ю.С. Храмцова, О.С. Арташян, Б.Г. Юшков // Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – Том 15. – № 3. – Ч. 1 (59). – С. 372–375.
- 109 Храмцова, Ю.С. Роль иммунной системы в регуляции регенерации тканей с разной восстановительной способностью [Текст] : дис. ... канд. биол. наук: 03.00.13 / Храмцова Юлия Сергеевна. – Челябинск, 2005.
- 110 Целуйко, С.С. Регенерация тканей [Текст] / С.С. Целуйко, Н.П. Красавина, Д.А. Семенов. – Благовещенск: Амурская государственная медицинская академия, 2016. – 136 с.
- 111 Шарова, А.А. Осложнения после имплантации мезонитей [Текст] / А.А. Шарова // Kosmetik International. – 2013. – № 4. – С. 83–88.
- 112 Шарова, А.А. Термостарение кожи – новая концепция развития инволюционных изменений [Текст] / А.А. Шарова // Инъекционные методы в косметологии. – 2012 – № 1. – С. 96–99.

- 113 Шарова, А.А. Тредлифтинг гладкими нитями [Текст] / А.А. Шарова // Инъекционные методы в косметологии. – 2013. – № 2. – С. 3–13.
- 114 Штыркова, Е.В. Фибробласты дермы. Источники дифференцировки, пролиферативная активность и методы ее стимуляции [Текст] / Е.В. Штыркова // Вестник медицинского института «РЕАВИЗ». – 2017. – № 6 (30). – С. 42–49.
- 115 Юсова, Ж.Ю. Изменение микроциркуляторного русла и инволюционные изменения кожи [Текст] / Ж.Ю. Юсова, В.Н. Баранов, Н.Н. Потекаев // Эстетическая медицина. – 2010 – Т. 9. – № 4. – С. 423–428.
- 116 Юшков, Б.Г. Клетки иммунной системы и регуляция регенерации [Текст] / Б.Г. Юшков // Бюллетень сибирской медицины. – 2017. – Т. 16. – № 4. – С. 94–105.
- 117 Ярмолинская, М.И. Матриксные металлопротеиназы и ингибиторы: классификация, механизм действия [Текст] / М.И. Ярмолинская, А.С. Молотков, В.М. Денисова // Журнал акушерства и женских болезней. – 2012. – Т. 61. – № 1. – С. 113–125.
- 118 A randomised comparison of polydioxanone (PDS) and polypropylene (Prolene) for abdominal wound closure [Text] / A.E. Cameron [et al.] // Annals of The Royal College of Surgeons of England. – 1987. – Vol. 69 (3) – P. 113–115.
- 119 Age decreases endothelial progenitor cell recruitment through decreases in hypoxia-inducible factor 1-alpha stabilization during ischemia [Text] // E.I. Chang [et al.] // Circulation. – 2007. – Vol. 116. – P. 2818–2829.
- 120 Ageing and microvasculature [Text] / M.G. Scioli [et al.] // Vascular Cell. – 2014. – Vol. 6 (1). – P. 19.
- 121 Age-related alterations in the inflammatory response to dermal injury [Text] / M.E. Swift [et al.] // Journal of Investigative Dermatology. – 2001. – Vol. 117. – P. 1027–1035.
- 122 Alam, M. Non-surgical skin tightening and lifting [Text] / M. Alam, J.S. Dover. – Elsevier Health Sciences, 2008.
- 123 Ashcroft, G.H. Ageing and wound healing [Text] / G.H. Ashcroft, S.J. Mills, J.J. Ashworth // Biogerontology. – 2002. – Vol. 3. – № 6. – P. 337–345.

- 124 Bachelet, I. Co-culture of mast cells with fibroblasts [Text] / I. Bachelet, A. Munitz, F. Levi-Schaffer // *Mast Cells: Methods And Protocols*. – 2006. – Vol. 315. – P. 295–317.
- 125 Bella, J. Fibrillar collagens [Text] / J. Bella, D.J. Hulmes // *Sub-cellular biochemistry*. – 2017. – Vol. 82. – P. 457–490.
- 126 Bentov, I. The Effect of Aging on the Cutaneous Microvasculature [Text] / I. Bentov, M.J. Reed // *Microvascular research*. – 2015. – Vol. 100. – P. 25–31.
- 127 Biodegradable polydioxanone stents: a new option for therapy-resistant anastomotic strictures of the colon. [Text] / V. Janík [et al.] // *European Radiology*. – 2011. – Vol. 21 (9). – P. 1956–1961.
- 128 CCR2 recruits an inflammatory macrophage subpopulation critical for angiogenesis in tissue repair [Text] / S. Willenborg [et al.] // *Blood*. – 2012. – Vol. 120 (3). – P. 613–625.
- 129 Chung, J.H. Angiogenesis in skin aging and photoaging [Text] / J.H. Chung, H.C. Eun // *International Journal of Dermatology*. – 2007. – T. 34. – № 9. – P. 593–600.
- 130 Comparative study on biocompatibility and absorption times of three absorbable monofilament suture materials (Polydioxanone, Poliglecaprone 25, Glycomer 631) [Text] / G. Molea [et al.] // *British Journal of Plastic Surgery*. – 2000. – Vol. 53 (2). – P. 137–41.
- 131 Decreased collagen production in chronologically aged skin. Roles of age-dependent alteration in fibroblast function and defective mechanical stimulation [Text] / J. Varani [et al.] // *American Journal of Pathology*. – 2006. – Vol. 168(6). – P. 1861–1868.
- 132 Decreased proportion of peripheral blood vascular endothelial growth factor-expressing T and natural killer cells in preeclampsia [Text] / A. Molvarec [et al.] // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 2010. – Vol. 203 (6). – P. 567.e1.
- 133 Differential roles of macrophages in diverse phases of skin repair [Text] / T. Lucas [et al.] // *Journal of Immunology*. – 2010. – Vol. 184. – P. 3964–3977.



- 134 Effect of age and hypoxia on TGF-beta1 receptor expression and signal transduction in human dermal fibroblasts: impact on cell migration [Text] / J.E. Mogford [et al.] // Journal of Cellular Physiology. – 2002. – Vol. 190. – P. 259–265.
- 135 Effects of different suture materials on cartilage reshaping [Text] / C.A. Cagici [et al.] // Archives of Aesthetic Plastic Surgery. – 2008. – Vol. 10 (2). – P. 124–129.
- 136 Elastin: a representative ideal protein elastomer [Text] / D.W. Urri [et al.] // Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. – 2002. – Vol. 357. – № 1418. – P. 109–126.
- 137 Emedastine difumarate inhibits histamine-induced collagen synthesis in dermal fibroblasts [Text] / H. Murota [et al.] // Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology. – 2008. – Vol. 18. – № 4. – P. 245–452.
- 138 Exogenous growth factors enhance the expression of *cola1*, *cola3*, and Elastin in fibroblasts via activating MAPK signaling pathway [Text] / T. Shen [et al.] // Molecular and Cellular Biochemistry. – 2018. – Vol. 442 (1–2). – P. 203–210.
- 139 Exudate macrophages attenuate lung injury by the release of IL-1 receptor antagonist in gram-negative pneumonia [Text] / S. Herold [et al.] // American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. – 2011. – Vol. 183 (10). – P. 1380–1390.
- 140 Fabrication and characterization of hydrophilized polydioxanone scaffolds for tissue engineering applications [Text] / K.J. Cho [et al.] // Key engineering materials. – 2007. – Vol. 342–343. – P. 289–292.
- 141 Facial lifting with APTOS Threads [Text] / M.A. Sulamanidze [et al.] // International Journal of Cosmetic Surgery and Aesthetic Dermatology. – 2001. – Vol. 4. – P. 275–279.
- 142 Fibrillin-1 and elastin are differentially expressed in hypertrophic scars and keloids [Text] / T.P. Amadeu [et al.] // Wound Repair and Regeneration. – 2004. – Vol. 12. – P. 169–174.
- 143 Focal adhesion features during myofibroblastic differentiation are controlled by intracellular and extracellular factors [Text] / V. Dugina [et al.] // Journal of Cell Science. – 2001. – Vol. 114. – P. 3285–3296.

- 144 Forsythe, P. The parasympathetic nervous system as a regulator of mast cell function [Text] / P. Forsythe // *Methods in Molecular Biology*. – 2015. – Vol. 1220. – P. 141–154.
- 145 Gosain, A. Aging and wound healing [Text] / A. Gosain, L.A. DiPietro // *World Journal of Surgery*. – 2004 Mar. – Vol. 28(3). – P. 321–326.
- 146 Hayflick, L. The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains [Text] / L. Hayflick // *Experimental Cell Research*. – 1965. – Vol. 37. – P. 614–636.
- 147 Hypertrophic and keloid scars fail to progress from the CD34–/ $\alpha$ -SMA+ immature scar phenotype and show gradient differences in  $\alpha$ -SMA and P16 expression [Text] / G.C. Limandjaja [et al.] // *British Journal of Dermatology*. – 2019.
- 148 Implantation sites and fiber diameters affect the rate of degradation in absorbable polydioxanone fibers [Text] / S. Kimura [et al.] // *Arthroscopy*. – 2003. – Vol. 19 (1). – P. 68–74.
- 149 Interactions between fibroblasts and keratinocytes in morphogenesis of dermal epidermal junction in a model of reconstructed skin [Text] / C. Marionnet [et al.] // *Journal of Investigative Dermatology*. – 2006. – Vol. 126. – P. 971–979.
- 150 Investigation on the Cutaneous Change Induced by Face-Lifting Monodirectional Barbed Polydioxanone Thread [Text] / J. Kim [et al.] // *Dermatologic Surgery*. – 2017. – Vol. 43 (1). – P. 74–80.
- 151 Involvement of endothelial PECAM-1/CD31 in angiogenesis [Text] / H.M. DeLisser [et al.] // *American Journal of Pathology*. – 1997. – Vol. 151 (3). – P. 671–677.
- 152 Italiani, P. From Monocytes to M1/M2 Macrophages: Phenotypical vs. Functional Differentiation [Text] / P. Italiani, D. Boraschi // *Frontiers in Immunology*. – 2014. – Vol. 5. – P. 514.
- 153 Khavkin, J. Aging skin: histology, physiology and pathology [Text] / J. Khavkin, D.A. Ellis // *Facial Plastic Surgery Clinics of North America*. – 2011. – Vol. 19 (2). – P. 229–234.
- 154 Knoop, M. Maxon und PDS-Bewertung physikalischer und biologischer Eigenschaften monofiler, absorbierbarer Nahtmaterialien [Text] / M. Knoop, B. Lün-

- stedt, A. Thiede // *Langenbecks Archiv für Chirurgie*. – 1987. – Vol. 371 (1). – P. 13–28.
- 155 Li, B. Fibroblasts and myofibroblasts in wound healing: force generation and measurement [Text] / B. Li, J.H. Wang // *Journal of Tissue Viability*. – 2011. – Vol. 20 (4). – P. 108–120.
  - 156 Li, J. Angiogenesis in wound repair: Angiogenic growth factors and the extracellular matrix [Text] / J. Li, Y.-P. Zhang, R.S. Kirsner // *Microscopy Research and Technique*. – 2003. – Vol. 60. – P. 107–114.
  - 157 Lin, H.L. Hydrolytic degradation and morphologic study of poly-p-dioxanone [Text] / H.L. Lin, C.C. Chu, D. Grubb // *Journal of Biomedical Materials Research*. – 1993. – Vol. 27. – P. 153–166.
  - 158 Lingen, Mark W. Role of Leukocytes and Endothelial Cells in the Development of Angiogenesis in Inflammation and Wound Healing [Text] / Mark W. Lingen // *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. – 2001. – Vol. 125, № 1. – P. 67–71.
  - 159 Loss of vascular endothelial growth factor activity in murine epidermal keratinocytes delays wound healing and inhibits tumor formation [Text] / H. Rossiter [et al.] // *Cancer Research*. – 2004. – Vol. 64 (10). – P. 3508–3516.
  - 160 Lündstedt, B. Polydioxanon (PDS)-a new monofilar synthetic, absorbable suture material. Tensile strength studies in a controlled clinical trial on the large intestine of humans and physical parameters in in vitro tests [Text] / B. Lündstedt, A. Thiede // *Chirurg*. – 1983. – Vol. 54 (2). – P. 103–107.
  - 161 Macrophage matrix metalloproteinase-9 mediates epithelial-mesenchymal transition in vitro in murine renal tubular cells [Text] / T.K. Tan [et al.] // *American Journal of Pathology*. – 2010. – Vol. 176, № 3. – P. 1256–1270.
  - 162 Mast cell involvement in normal human skin wound healing: expression of monocyte chemoattractant protein-1 is correlated with recruitment of mast cell which synthesize interleukin-4 in vivo [Text] / A. Trautmann [et al.] // *Journal of Pathology*. – 2000. – Vol. 190. – P. 100–106.

- 163 Mc Grath, M.H. The spatial and temporal quantification of myofibroblasts [Text] / M.H. Mc Grath, S.A. Hundahl // Plastic and Reconstructive Surgery. – 1982. – Vol. 69. – № 6. – P. 975–985.
- 164 Mechanisms of pathological scarring: Role of myofibroblasts and current developments [Text] / V. Sarrazy [et al.] // Wound Repair and Regeneration. – 2010. – Vol. 19. – P. 10–15.
- 165 Metz, S.A. In vivo and in vitro degradation of monofilament absorbable sutures, PDS and Maxon [Text] / S.A. Metz, N. Chegini, B.J. Masterson // Biomaterials. – 1990. – Vol. 11 (1). – P. 41–45.
- 166 Michopoulou, A. How do epidermal matrix metalloproteinases support re-epithelialization during skin healing? [Text] / A. Michopoulou, P. Rousselle // Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology. – 2015. – Vol. 25; (Suppl. 1). – P. 33–42.
- 167 Molecular Mechanisms of Dermal Aging and Antiaging Approaches [Text] / J.W. Shin [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2019. – Vol. 20 (9). – P. 2126.
- 168 Montier, Y. Central role of IL-6 and MMP-1 for cross talk between human intestinal mast cells and human intestinal fibroblasts [Text] / Y. Montier, A. Lorentz, S. Krämer // Immunobiology. – 2012. – Vol. 217. – № 9. – P. 912–929.
- 169 Moulonguet, I. Histopathologic and ultrastructural features of gold thread implanted in the skin for facial rejuvenation [Text] / I. Moulonguet, E. Arnaud, F. Plantier // American Journal of Dermatopathology. – 2015. – Vol. 37 (10). – P. 773–777.
- 170 Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodeling [Text] / J.J. Tomasek [et al.] // Nature Reviews Molecular Cell Biology. – 2002. – Vol. 3 (5). – P. 349–363.
- 171 Novel polydioxanone multifilament scaffold device for tissue regeneration [Text] / H. Kim [et al.] // Dermatologic Surgery. – 2016. – Vol. 42 (1). – P. 63–67.
- 172 Pahar, B. Intestinal double-positive CD4+CD8+ T-cells are highly activated memory cells with an increased capacity to produce cytokines [Text] / B. Pahar,

- A.A. Lackner, R.S. Veazey // *European Journal of Immunology*. – 2006. – Vol. 36. – P. 583–592.
- 173 Parara, S.M. Significant differences in skin irritation by common suture materials assessed by a comparative computerized objective method [Text] / S.M. Parara, A. Manios, E. de Bree // *Plastic and Reconstructive Surgery*. – 2011. – Vol. 127 (3). – P. 1191–1198.
  - 174 Ping Ooi, C. The hydrolytic degradation of polydioxanone (PDSII) sutures. Part I: morphological aspects [Text] / C. Ping Ooi, R.E. Cameron // *Journal of Biomedical Materials Research*. – 2002. – Vol. 63. – № 3. – P. 280–290.
  - 175 Polydioxanone suture in the gastrointestinal tract [Text] / D.A. Gillatt [et al.] // *Annals of the Royal College of Surgeons of England*. – 1987. – Vol. 69 (2). – P. 54–56.
  - 176 Prussin, C. IgE, mast cell, basophils and eosinophils [Text] / C. Prussin, D.D. Metcalfe // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2003. – Vol. 111. – P. 486–494.
  - 177 Pusztaszeri, M.P. Immunohistochemical Expression of Endothelial Markers CD31, CD34, von Willebrand Factor, and Fli-1 in Normal Human Tissues [Text] / M.P. Pusztaszeri, W. Seelentag, F. Bosman // *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. – 2006. – Vol. 54 (4). – P. 385–395.
  - 178 Quan, T. Role of age-associated alterations of the dermal extracellular matrix microenvironment in human skin aging: a mini review [Text] // T. Quan, G.J. Fisher // *Gerontology*. – 2015. – Vol. 61 (5). – P. 427–34.
  - 179 Reed, A.M. Biodegradable polymers for use surgery – poly (glycolic)/polylactic acid) homeo and copolymers 2. In-vitro degradation [Text] / A.M. Reed, D.K. Gilding // *Polymer*. – 1981. – Vol. 22. – P. 494–504.
  - 180 Regula, C.G. Suture Products and Techniques: What to Use, Where, and Why [Text] / C.G. Regula, C. Yag-Howard // *Dermatologic Surgery*. – 2015. – Vol. 41 (10). – P. 187–200.
  - 181 Removal of facial soft tissue ptosis with special threads [Text] / A.M. Sulamanidze [et al.] // *Dermatologic Surgery*. – 2002. – Vol. 28 (5). – P. 367–371.

- 182 Rivard, A. Age-dependent impairment of angiogenesis [Text] / A. Rivard // *Circulation*. – 1999. – Vol. 99. – P. 111–120.
- 183 Rodero, M.P. Skin wound healing modulation by macrophages [Text] / M.P. Rodero, K. Khosrotehrani // *International journal of clinical and experimental pathology*. – 2010. – T. 3. – № 7. – C. 643.
- 184 Sgonc, R. Age-Related Aspects of Cutaneous Wound Healing: A Mini-Review [Text] / R. Sgonc, J. Gruber // *Gerontology*. – 2013. – Vol. 59. – P. 159–164.
- 185 Skin aging: molecular pathology, dermal remodelling and the imaging revolution [Text] / V.L. Newton [et al.] // *Giornale Italiano di Dermatologia e Venereologia*. – 2015. – Vol. 150 (6). – P. 665–674.
- 186 Smith, P. Role of myofibroblasts in normal and pathological periodontal wound healing [Text] / P. Smith // *Oral Diseases*. – 2018. – Vol. 24 (1–2). – P. 26–29.
- 187 Swift, M.E. Impaired wound repair and delayed angiogenesis in aged mice [Text] / M.E. Swift, H.K. Kleinman, L.A. DiPietro // *Laboratory Investigation*. – 1999. – Vol. 79. – P. 1479–1487.
- 188 The accelerating effect of histamine on the cutaneous wound-healing process through the action of basic fibroblast growth factor [Text] / Y. Numata [et al.] // *Journal of Investigative Dermatology*. – 2006. – Vol. 126. – № 6. – P. 1403–1409.
- 189 The mast cell: an active participant or an innocent bystander? [Text] / E. Crivellato [et al.] // *Histology and Histopathology*. – 2004. – Vol. 19. – P. 259–270.
- 190 The role of elastic fibers in scar formation and treatment [Text] / B.E. Cohen [et al.] // *Dermatologic Surgery*. – 2017. – Vol. 43. – P. 19–24.
- 191 Thread embedding acupuncture for musculoskeletal pain: a systematic review and meta-analysis protocol [Text] / Y. Cho [et al.] // *BMJ Open*. – 2018. – Vol. 8 (1). – P. 415–461.
- 192 Tissue reactions to cog structure and pure gold in lifting threads: a histological study in rats [Text] / M. Kurita [et al.] // *Aesthetic Surgery Journal*. – 2011. – Vol. 31 (3). – P. 347–351.
- 193 Tissue-specific contribution of macrophages to wound healing [Text] / C.M. Minutti [et al.] // *Seminars in Cell and Developmental Biology*. – 2017. – Vol. 61. – P. 3–11.

- 194 Vert, M. Bioresorbability and biocompatibility of aliphatic polyesters [Text] / M. Vert, M.S. Li, G. Spenlehauer // Journal of Materials Science. – 1992. – Vol. 3. – P. 432–446.
- 195 Wang, Y. Mechanical properties of arterial elastin with water loss [Text] / Y. Wang, J. Hahn, Y. Zhang // Journal of Biomechanics. – 2018. – Vol. 140 (4). – P. 0410121–0410128.
- 196 Whiteside, T.L. Role of human natural killer cells in health and disease [Text] / T.L. Whiteside, R.B. Herberman // Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology. – 1994. – Vol. 1. – № 2. – P. 125–133.
- 197 Wound healing defect of Vav3<sup>-/-</sup> mice due to impaired  $\beta$ 2-integrin-dependent macrophage phagocytosis of apoptotic neutrophils [Text] / A. Sindrilaru [et al.] // Blood. – 2009. – Vol. 113 (21). – P. 5266–5276.