

# АРХИТЕКТОНИКА КОЖИ ЧЕЛОВЕКА И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ДЛЯ ОЦЕНКИ ПРОЦЕССА РЕГЕНЕРАЦИИ

**А. П. Антонович**

*antonovicandrej87@gmail.com;*

*Научный руководитель — М. А. Капустин, заведующий учебной лабораторией*

Определение детектируемых параметров регенерации кожных покровов является необходимым для разработки и внедрения в практику методов экспресс оценки течения процесса ранозаживления. Целью работы является анализ возможности применения электромагнитного излучения для оценки регенерации ран. Описанный метод является перспективным и может быть использован для исследований в области тканевой инженерии, регенеративной медицины и дерматологии.

**Ключевые слова:** кожа; кератогиалин; клетки Лангерганса; Лангеровские линии; ранозаживление; коллаген; тирозин.

Кожа является крупнейшим органом человеческого тела и представляет собой не просто механический барьер, а является уникальной композитной конструкцией [1, 2]. В структуре эпидермиса дифференцируются 5 слоев – базальный, шиповатый, зернистый, блестящий и роговой. Клетки базального и шиповатого слоев являются наиболее активно пролиферирующими и обеспечивают обновление клеток вышележащих слоев. Также в этих слоях локализованы меланоциты. Зернистый слой эпидермиса представлен несколькими слоями уплощенных клеток, содержащих крупные гранулы кератогиалина, каждая из которых представляет собой композит 3 белков: профилагрина, лорикрина и трихогиалина [3]. При дифференцировке клеток зернистого слоя кератогиалин превращается в кератин. Молекула  $\alpha$ -кератина в нативной конформации представляет собой фибриллу, в то время как кератогиалин организован в виде гранул. В ходе процесса кератинизации, механизм которого слабо изучен, белки, входящие в состав зерен кератогиалина, декомпактизируются. При этом формируется две или три отдельные трихогиалиновые фибриллы, которые агрегируют, образуя протофибриллы, ассоциирующиеся в кератин. При этом роль матричного «клея», способствующего объединению фибрилл выполняет профилагрин, который дефосфорилируется в филагрин. Лорикрин способствует постепенному ороговению клеток [3].

Блестящий слой представлен 3-4 слоями плоских безъядерных клеток, содержащих много белка элейдина, обеспечивающего соответствующий оптический эффект. Самым верхним слоем является

роговой, представленный постоянно слущивающимися мертвыми клетками, содержащими зрелый  $\alpha$ -кератин. Дерма представляет собой двухслойную соединительнотканную структуру, в структуре которой выделяют сосочковый и сетчатый слои. Дерма без резкой границы переходит в подкожную жировую клетчатку или гиподерму.

Компоненты, обеспечивающие иммунные свойства кожи представлены клетками Лангерганса, клетками Гринштайна, Т-лимфоцитами и тучными клетками. Ведущую роль в формировании иммунных свойств кожи играют клетки Лангерганса, осуществляющие фагоцитоз антигенных частиц и передачу их внутриэпидермальным Т-хелперам, секрецию интерлейкинов 1 и 6, образование лизоцима и интерферона. Они также обеспечивают правильную послойную организацию кератиноцитов. Клетки Гринштайна осуществляют лизис поврежденных кератиноцитов, являются антигенпредставляющими клетками для Т-супрессоров [4].

Накопленные данные о белковых компонентах, макро и микроструктуре слоев кожи позволили разработать инновационные методы стимуляции и оценки протекающих в ней репарационных процессов. Особый интерес представляет метод оценки процесса ранозаживления с использованием комбинированных источников и детекторов УФ-излучения [6].

В качестве маркеров клеточной пролиферации могут выступать количество пепсин-гидролизумых поперечных связей в структуре коллагена и концентрация в клетках аминокислоты тирозина, позволяющие отслеживать процессы формирования и созревания грануляционной ткани и эпителизации соответственно. В спектрах поглощения и излучения тирозина пиковые значения приходятся на длины волн 295 и 340 нм. Пики поглощения и излучения электромагнитного излучения (ЭМИ) пепсин-гидролизумыми поперечными связями коллагена приходятся на 335 и 390 нм.

При разработке данного метода с использованием различных по питательности сред на основе DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) было выращено четыре образца человеческой кожи [6]. Два из образцов выращивали на обедненной питательными веществами среде, остальные – на полноценной. На каждый из образцов были нанесены раны, две из которых являлись сквозными, две – слепыми. Процесс ранозаживления для образцов на полноценной среде принимался за нормальное течение раневого процесса, а культивируемых на обедненной среде – за осложненное, при котором формируются частично незакрывающиеся раны [6]. Установка-детектор представляет собой комплекс источника света с системой из 7 фильтров, что позволяет сделать поток света

монохромным и направленным, и фотоаппарата со светопоглощающим фильтром [6].

При сравнении образцов кожи, выращенных на полноценной и обедненной средах было показано различие в интенсивности флуоресценции, на длинах волн поглощения/излучения 295/340 нм, обусловленных различиями в количестве синтезированного кератиноцитами тирозина. С 1 по 14 день течения процесса ранозаживления видимых изменений спектральных характеристик не наблюдалось ни для одного из образцов. У образцов, выращенных на обедненной среде флуоресценция практически не обнаруживалась. После 2-х недель течения раневого процесса интенсивность и распределение УФ-свечения на образцах в полноценной среде изменились. Интенсивность флуоресценции стала значительно выше по периферии раневого канала, что свидетельствовало о начале активной пролиферации кератиноцитов. Проведенный в ходе течения процесса эпителизации анализ интенсивности флуоресценции в различных участках раны показал, что наиболее активная пролиферация идет у краев раны, и в процессе миграции клеток к центру скорость деления постепенно снижается, что приводит к снижению интенсивности флуоресценции. При изучении образцов, выращиваемых на обедненной среде, были выявлены аналогичные изменения после 2-х недель течения раневого процесса, однако интенсивность протекающих процессов была значительно ниже [6].

Наличие в структуре пепсин-гидролизуемых поперечных связей обуславливает способность коллагена к флуоресценции на длине волны 390 нм после облучения ЭМИ с длиной волны 335 нм. При анализе динамики ранозаживления также было показано различие по данному показателю для образцов с обедненной и полноценной питательными средами. Согласно полученным данным, интенсивность флуоресценции на образцах с полноценной средой начала изменяться после 8-го дня течения процесса ранозаживления. Возрастание флуоресценции в области раневого канала связано с активным формированием грануляционной ткани [7]. Характерно, что с течением времени наблюдалось снижение интенсивности флуоресценции для данных образцов, что обусловлено образованием поперечных сшивок в процессе созревания грануляционной ткани. Данные результаты достоверно отражают зависимость интенсивности флуоресценции коллагена от степени его сшитости поперечными связями. Изменения спектральных характеристик образцов, выращенных в условиях полноценной среды, как и в первом случае были значительно более выраженными по сравнению с образцами, выращенных в модельных условиях частично незакрывающихся ран [6].

Обнаруженные изменения в спектральных свойствах ран коррелируют с морфологическими особенностями раневого ложа образцов кожи, выращенных на полноценной и обедненной среде. Так, в случае образцов, испытывающих трофический дефицит, наблюдаются значительно большие линейные размеры нерегенерировавшей области, чем для образцов, выращенных на полноценной среде. Диаметр и глубина ран на образцах с нормальным течением раневого процесса достоверно уменьшался [6].

Следует отметить, что для образцов с нанесенными сквозными повреждениями изменения спектральных характеристик отмечались значительно позднее, чем для образцов с нанесенными слепыми ранами. Это обусловлено тем, что на модели слепой раны формирование грануляционной ткани наступает значительно раньше, а в случае сквозных повреждений процесс формирования грануляционной ткани затягивается, так как требуется восстановление дермы.

Описанный метод оценки течения раневого процесса является перспективным и заслуживает большого внимания, поскольку является неинвазивным, бесконтактным, объективным и может быть использован для исследований в области тканевой инженерии, регенеративной медицины и дерматологии.

### Библиографические ссылки

1. *Kanitakis, J. Structure of normal human skin/ J. Kanitakis // Eur. J. Dermatology. – 2002. Vol.12, № 5. P. 1 -12.*
2. *Igarashi, T., Nishino, K., Nayar. S. K. The Appearance of Human Skin/ T. Igarashi, K. Nishino, S. K. Nayar // Foundations and Trends. 2007. Vol. 11, № 6. P. 1-66.*
3. *Nguyen, H. T., Mitsuaki O., Hara E. S. Type XVIII Collagen Modulates Keratohyalin Granule Formation and Keratinization in Oral Mucosa // Int. J. Mol. Sci. 2019. Vol. 20. P. 1 - 14.*
4. *Clayton, K., Vallejo, A. F., Davies, J. Langerhans Cells – programmed by the Epidermis / K. Clayton, A. F. Vallejo, J. Davies // Frontiers in Immunology. 2017. Vol. 8, № 16. P. 1 - 14.*
5. *Abdallah, F., Mijouin, L., Pichon, C. Skin Immune Landscape: Inside and Outside the Organism / F. Abdallah, L. Mijouin, C. Pichon, // Hindawi. 2017. № 1. P. 1 - 17.*
6. *Wang, Y., Gutierrez-Herrera, E., Ortega-Martinez, A. UV fluorescence excitation imaging of healing of wound in skin: evaluation of wound closure in organ culture model / Y. Wang, E. Gutierrez-Herrera, A. Ortega-Martinez // Lasers in Surgery and Medicine. 2016. Vol. 48, № 2. P. 678–685.*
7. *Антонович, А.П., Капустин, М.А. Физиолого-биохимические и молекулярные механизмы ранозаживления / А.П. Антонович, М.А. Капустин // Материалы 79-й научной конференции студентов и аспирантов Белорусского государственного университета. 2022. Ч.1. С. 22–27.*