

УДК 616.5-003.93

## РЕГЕНЕРАТИВНЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ КОЖИ

Сухова Д.С., Большакова О.В.

Медицинская академия им. С.И. Георгиевского (структурное подразделение) ФГАОУ  
ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», Симферополь

Проблема регенерации эпителия является актуальной на сегодняшний день. Были изучены и проанализированы новейшие исследования в данной области за последние годы. Рассмотрена регенерация кожи без последующего образования соединительнотканного рубца, вызванная функционированием миофибробластов. Отмечено несколько закономерностей, которые участвуют в процессе при котором не образуется рубцовой ткани на месте повреждения. Установлено, что жировые клетки непосредственно связаны с волосными фолликулами, а именно, при появлении фолликула увеличивается число адипоцитов. Именно благодаря появлению волос на поврежденной ткани обеспечивается ее регенерация. Вместе с этим рассматривалась регенерация волосного фолликула. Для подтверждения теории ученые использовали технологию Cell-in-a-box, а также перепрограммированные iPS-клетки. Вклад в этот раздел внесли ученые университета биологии развития RIKEN, отдела Пластической и эстетической хирургии экспериментального центра южного медицинского университета, лаборатории развития и регенеративной биологии Пликуса. Регенерация ткани обусловлена ее перепрограммированием, которое вызывает сначала появление волосных фолликулов, а они, в свою очередь, отвечают за регенерацию жировой ткани. Тканевая нанотранфекция позволяет в клетки кожи вводить генетический код, который изменяет их на другие типы клеток, необходимые для излечения.

Ключевые слова: морфология, миофибробласты, адипоциты, регенерация, iPS-клетки

## THE REGENERATIVE ABILITIES OF THE SKIN

Sukhova D. S., Bolshakova O. V.

Medical academy named after S.I. Georgievsky (structural unit), Crimean Federal University  
named after V.I. Vernadsky, Simferopol

The problem of epithelial regeneration is actual today. The latest research in this field has been studied and analyzed in recent years. Regeneration of the epithelium without subsequent formation of connective tissue scar, caused by the functioning of myofibroblasts, is considered. Several regularities have been noted that are involved in the process in which scar tissue is not formed at the site of injury. It has been established that fat cells are directly related to hair follicles, namely, when the follicle appears, the number of adipocytes increases. It is thanks to the appearance of hair on the damaged tissue that it is regenerated. Together with this, the regeneration of the hair follicle was considered. To confirm the theory, scientists used the technology Cell-in-a-box, as well as reprogrammed iPS-cells. Contributions to this section were made by scientists from the University of Developmental Biology RIKEN, the Department of Plastic and Aesthetic Surgery of the Experimental Center of the Southern Medical University, the Laboratory of Development and Regenerative Biology of Plykus. The

regeneration of the tissue is due to its reprogramming, which first causes the appearance of hair follicles, and they, in turn, are responsible for the regeneration of adipose tissue. Tissue nanotransfection allows the skin cells to enter a genetic code that changes them to other types of cells necessary for healing.

**Key words:** morphology, myofibroblasts, adipocytes, regeneration, iPS cells

Несмотря на достижения молекулярной биологии, возможности лабораторного синтеза факторов роста клеток, современного уровня развития тканевой инженерии, проблема восстановления утраченного кожного покрова при повреждениях различной этиологии до сих пор по-прежнему актуальна [1-3]. После тяжелых ранений и операций на теле остается чаще всего некрасивый и огромный шрам. Регенерация органов становится многообещающим выбором для многих пациентов, однако многие подробности о механизмах восстановления остаются неизвестными.

Цель работы: провести анализ современных исследований в сфере открытий и решений проблем регенерации кожи.

Миофибробласты рыхлой волокнистой соединительной ткани являются превалирующим типом клеток, который присутствует в грануляционной ткани стягивающихся ран, а также находятся в некоторых развивающихся или нормальных взрослых тканях. Было выявлено, что миофибробласты можно превратить в жировые клетки, перепрограммируя их. Предполагаемая функция миофибробластов заключается в изменении натяжения ткани, а жировые клетки или адипоциты находятся в коже до тех пор, пока не образуется рубцовая ткань. Логично предположить, что каким-то образом необходимо заменить миофибробласты адипоцитами, чтобы не произошло образование рубца. Рубцовая ткань отличается от эпителия отсутствием волосяных фолликулов. Ученые пришли к выводу, что волосяные фолликулы и адипоциты связаны, и если восстановить волосяные фолликулы, они индуцируют увеличение жировых клеток в ответ на сигналы от фолликула. Как регенеративные образования, волосяные фолликулы предлагают хорошую модель для изучения механизмов, связанных с регенеративной медициной. В соответствующих исследованиях основное внимание уделялось донорским клеткам, и нет данных, связанных с влиянием факторов хозяина на реконструкцию волосяного фолликула [5].

Для начала, рассмотрим восстановление волосяных фолликулов при помощи изоляции трансплантированных клеток, проверив влияние факторов клетки-хозяина, то есть понять будет ли возможно развитие волосяного фолликула без клеток хозяина. Ученые отдела Пластической и эстетической хирургии Экспериментального центра Южного медицинского университета (Китай) провели целое исследование, посвященное образованию волосяного фолликула. Для эксперимента использовали шестнадцать новорожденных

мышей, меченных красным флуоресцентным белком и двадцать четыре взрослых мыши с зеленым флуоресцентным белком. Все эксперименты над животными были проведены по согласованию с Комитетом по уходу и использованию животных Южного медицинского университета. Затем последовала подготовка клеток для трансплантации. Эпидермис и дерму разделили путем инкубации в течение ночи при температуре в 4 градуса по Цельсию. Потом кожу три раза промыли фосфатно-буферным физиологическим раствором, окончательно отделяя дерму от эпидермиса. Из каждой части получили «фарш» путем измельчения дермы и эпидермиса [8].

Технология Cell-in-a-Box позволила инкапсулировать клетки в защитный, полупроницаемый шарик на основе целлюлозы. Небольшие поры в бусинах позволяют проходить обмену питательных веществ, но клетки внутри бусинок сохраняются. Бусины способны выдерживать до 6 месяцев в имплантате, иммунного ответа хозяина нет. Эти характеристики позволяют встроенным клеткам расти в течение более длительного времени, чем традиционная двумерная клеточная культура. Эта технология была выбрана, как метод исследования и анализа взаимодействия между средами-хозяина и трансплантированными клетками. Капсулы, содержащие дермальные клетки с зеленым флуоресцентным белком, которые получили от новорожденных мышат с красным флуоресцентным белком, были подкожно пересажены мышам без шерсти. Пустые капсулы пересадили как контрольную группу. Каждая группа состояла из 6 мышей, которым в целом было пересажено по 10 капсул. Клетки смесей с красным флуоресцентным белком вводили под поверхностный слой подкожных тканей мышам с зеленым флуоресцентным белком. Никаких побочных эффектов не наблюдалось после трансплантации капсулы. Это указывает на то, что трансплантированные клетки могли принимать все питание от хозяина, но при этом были изолированы от клеток-хозяев. Рана зажила без осложнений. Ученые пришли к выводу, что если инкапсулированные клетки получают достаточное количество питательных веществ от хозяина, то они могут образовывать зрелые фолликулы волос при изоляции от клеток-хозяев [4].

Волосные фолликулы представляют собой весьма информативную модель для изучения механизмов в области регенерации. Различные исследования подтвердили, что волосные фолликулы могут быть восстановлены путем пересадки соответствующих клеток, но механизм этого процесса не совсем ясен. Хорошо известно лишь то, что микроокружение играет важную роль в клеточной пролиферации и дифференцировке (рис. 1). Микросреда обычно состоит из следующих групп: клетки (лейкоциты, фибробласты и адипоциты), факторы роста (трансформирующий фактор роста, фактор роста эндотелия сосудов и фактор

роста фибробластов), внеклеточный матрикс (ламинин, фибронектин, протеогликан), и сигнальные молекулы (например, костный морфогенетический белок).

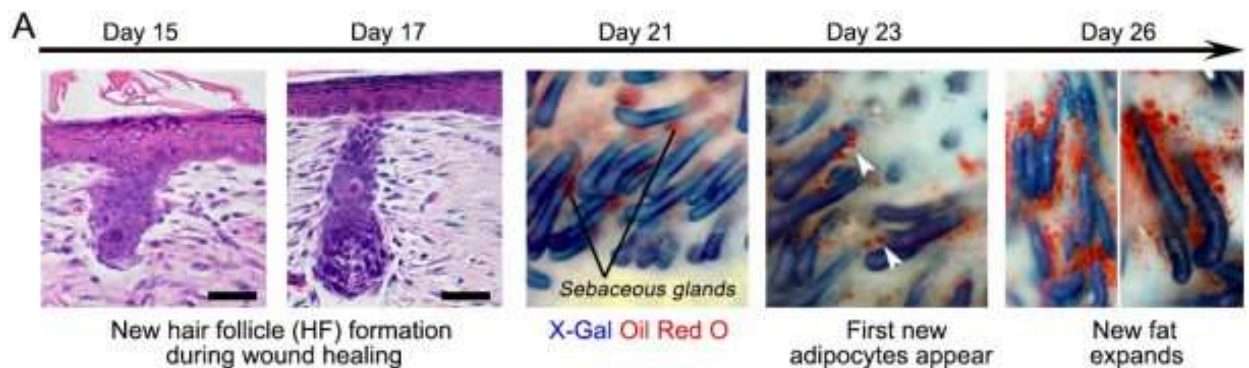


Рис. 1. Восстановление волосяных фолликулов и появление новых адипоцитов.

Ученые из Центра биологии развития RIKEN (Япония) успешно смогли создать ткань кожи, которая содержит волосяные фолликулы и сальные железы. Затем эту кожу имплантировали живым мышам, ткани образовывали связи с другими системами органов, такими как нервы и мышцы. Ученые использовали стволовые клетки для создания слоев кожи. Техническим термином для стволовых клеток, которые они использовали, являются перепрограммированные iPS-клетки. Команда доктора Цудзи взяла клетки из десен мышей и использовала химические вещества, чтобы превратить их в iPS-клетки. Затем они культивировали клетки, трансплантировав их на мышей, где они превращались в функционирующую ткань кожи. Как только клетки кожи дифференцировались, их пересаживали на разных мышей, где они начали естественным образом расти с фолликулами и железами и развивали связи с нервами и мышцами. Таким образом, биоинженерная кожа способна расти так же естественно, как и нормальная кожа без трансплантации [7].

До сих пор искусственное развитие кожи было затруднено тем фактом, что на коже не хватало волосяных фолликулов и экзокринных желез, которые играют важную роль в регуляции. Мы все ближе приближаемся к мечте о возможности воссоздания реальных органов в лаборатории для трансплантации, а также считаем, что ткань, выращенная этим методом, может быть использована в качестве альтернативы тестированию на животных химических веществ.

После того как стал понятен принцип регенерации волосяного фолликула возвратимся к начальной теме. Данное открытие было сделано при совместной работе ученых из Медицинской школы Перельмана в университете Пенсильвании и Лабораторией развития и регенеративной биологии Пликуса в Калифорнийском университете в Ирвине. Кристиан Ф. Герреро-Хуарес тесно сотрудничавший с проектом, комментировал открытие: «Как правило,

миофибробласты, первичный тип клеток, обнаруженный в ранах, считались неспособными стать другими типами клеток. Однако наша команда обнаружила, что миофибробласты ран могут эффективно и стабильно превращаться в новые различные типы клеток, в частности новые адипоциты, необходимыми для здоровой кожи. В нашем исследовании установлено, что раны с волосными фолликулами имеют факторы, которые могут перепрограммировать миофибробласты в адипоциты».

Раневым заживлением можно манипулировать, поэтому оно приводит к регенерации кожи, а не к образованию рубцов. Цель состоит в том, чтобы регенерировать волосные фолликулы раньше. Как только это произойдет, жир будет регенерировать в ответ на сигналы, исходящие от этих фолликулов (рис. 2). Исследование также показало, что волосы и адипоциты могут развиваться отдельно, но зависимо. Сначала формируются волосные фолликулы. Регенерирующим волосным фолликулом образуются дополнительные факторы, которые служат для преобразования окружающих миофибробластов в жировые клетки, чтобы избежать образование шрама. Жировая ткань не образуется при отсутствии новых волос, но когда происходит восстановление волосных фолликулов, новые клетки нельзя отличить от ранее существовавших жировых клеток. Исследователи определили, что костный морфогенетический белок инструктирует миофибробласты стать жировыми клетками [6, 9].



Рис. 2. Влияние волосных фолликулов на преобразование адипоцитов.

Ученые разработали устройство, которое способно переключать функцию клетки только лишь одним касанием. Эта технология больше известна как тканевая нанотрансфекция, позволяющая в клетки кожи вводить генетический код, который изменяет их на другие типы клеток, необходимые для излечения. Перепрограммирование занимает несколько секунд: нужно коснуться чипом определенного места, а затем удалить его. В серии лабораторных тестов исследователи применили чип к конечностям мышей, которые практически не кровоснабжались из-за поврежденных сосудов. Исследователи перепрограммировали клетки кожи, чтобы они стали сосудистыми клетками. Через неделю начали появляться первые трансформации. Ко второй неделе образованы активные кровеносные сосуды, а к третьей неделе конечности мышей были спасены, при этом другой формы лечения не проводили [10].

Разница технологий заключается в том, как доставляется ДНК в клетки. Чип, нагруженный определенным генетическим кодом или определенными белками, помещается на кожу, а при помощи небольшого электрического тока создаются каналы в ткани. ДНК или РНК вводятся в полученные каналы и начинают перепрограммировать клетки. Этот метод эффективно работает до 98% не только на коже, но и на любом типе ткани. Ученые смогли вырастить клетки мозга на поверхности кожи мыши, собрать их, а потом перенести их в поврежденный мозг мыши. Всего через несколько недель после инсульта мозговая функция была восстановлена.

**Заключение.** Таким образом, регенерация эпителия без последующего образования соединительнотканного рубца вызвана функционированием миофибробластов. Регенерация ткани обусловлена ее перепрограммированием, которое вызывает сначала появление волосяных фолликулов, а они, в свою очередь, отвечают за регенерацию жировой ткани. Благодаря появлению волос на поврежденной ткани обеспечивается ее регенерация.

Список литературы:

1. Алексеева Н.Т., Никитюк Д.Б., Ключкова С.В. Аналитическая морфология репаративной регенерации в коже под действием различных региональных факторов // Журнал анатомии и гистопатологии. – 2015. – Т. 4, № 1. – С. 26-37.
2. Еськова А.Ю., Большакова О.В., Голубинская Е.П., Бессалова Е.Ю., Фомочкина И.И. Регенерация ожогов кожи в условиях местной терапии микробной трансклутаминой со вспомогательной субстанцией авторской фитوماзи // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. – 2017. – Т. 7, № 4. – С. 20-28.
3. Asakawa K, Toyoshima KE, Ishibashi N, Tobe H, Iwadate A, Kanayama T, et al. Hair organ regeneration via the bioengineered hair follicular unit transplantation. *Sci Rep.* 2012;2: 424.

4. Bolton EM, Bradley JA. Avoiding immunological rejection in regenerative medicine. *Regen Med.* 2015;10: 287–304.
5. Huang C, Du Y, Nabzdyk CS, Ogawa R, Koyama T, Orgill D, et al. Regeneration of hair and other skin appendages: A microenvironment-centric view. *Wound Repair Regen.* 2016;24: 759–766.
6. Mao AS, Mooney DJ. Regenerative medicine: current therapies and future directions. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015;112: 14452–14459.
7. Su YS, Miao Y, Jiang JD, Liu H, Hu J, Hu ZQ. A simple and rapid model for hair-follicle regeneration in the nude mouse. *Clin Exp Dermatol.* 2015;40: 653–658.
8. Toyoshima KE, Asakawa K, Ishibashi N, Toki H, Ogawa M, Hasegawa T, et al. Fully functional hair follicle regeneration through the rearrangement of stem cells and their niches. *Nat Commun.* 2012;3:784.
9. Wang X, Tredget EE, Wu Y. Dynamic signals for hair follicle development and regeneration. *Stem Cells Dev.* 2012;21(1):7–18.
10. Xiao S, Hu Z, Jiang J, Miao Y, Feng C. Neonatal murine skin-derived cells transplanted using a mini-chamber model produce robust and normal hair. *J Tissue Eng Regen Med.* 2016;10: 286–293.