

© В. Л. Быков, И. В. Леонтьева, В. В. Кулаева, Е. А. Исеева, 2019  
УДК 616.311-001-003.9-018.73(048)

*В. Л. Быков, И. В. Леонтьева, В. В. Кулаева, Е. А. Исеева*

## ТКАНЕВАЯ, КЛЕТОЧНАЯ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ ГЕМОСТАЗА И РЕЭПИТЕЛИЗАЦИИ ПРИ ЗАЖИВЛЕНИИ РАН СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА

Кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии (зав. — проф. В. Л. Быков), ФБГОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова»

В обзоре литературы систематизированы и проанализированы данные о тканевых, клеточных и молекулярных механизмах заживления ран слизистой оболочки полости рта (СОПР). Основное внимание уделено ключевым явлениям заживления ран — гемостазу и восстановлению целостности эпителиального барьера (реэпителизации). Хотя гемостаз, в первую очередь, направлен на прекращение кровотечения из поврежденных сосудов, формирующийся кровяной сгусток (в частности, входящие в его состав тромбоциты) играет важную роль в процессах регенерации тканей СОПР, обеспечивая привлечение в рану разнообразных клеток, создавая среду для их миграции и активируя их деятельность благодаря секвестрированным в матриксе факторам роста и цитокинам. Реэпителизация СОПР начинается с миграции эпителиальных клеток из краев раны в область тканевого дефекта уже в течение нескольких часов после повреждения ткани, продолжаясь в течение всех фаз заживления раны. В обзоре рассматриваются различные модели миграции эпителия и ее клеточные механизмы, гистологические и ультраструктурные преобразования эпителия в различные сроки до и после восстановления целостности его пласта. Описываются лежащие в основе реэпителизации непрерывные взаимодействия эпителиоцитов между собой, с другими клетками и матриксом с участием адгезивных соединений и сигнальных молекул. Рассматривается влияние микроорганизмов на эпителизацию раны и состояние неэпителиальных дендритных клеток в регенерирующем эпителии СОПР. Отмечены важнейшие проблемы заживления ран СОПР, нуждающиеся в детальном морфологическом анализе.

**Ключевые слова:** *слизистая оболочка полости рта, рана, регенерация, гемостаз, реэпителизация*

Характерной биологической особенностью слизистой оболочки полости рта (СОПР) является высокая скорость физиологической и репаративной регенерации ее тканей [1, 3, 20, 22, 40, 66, 98, 101], которая обеспечивает гомеостаз в нормальных условиях и сравнительно быстрое восстановление после повреждений. Это свойство неразрывно связано с условиями функционирования СОПР, которая постоянно подвергается воздействию разнообразных потенциально повреждающих факторов. Поэтому раскрытие биологических механизмов регенерации тканей СОПР важно не только для понимания их гистофизиологии, но и для разработки методов профилактики, диагностики и лечения ее заболеваний и повреждений. Эти знания также лежат в основе нового, быстро развивающегося направления — тканевой инженерии СОПР [1, 2, 45], нацеленной на получение и клиническое применение ее биологических эквивалентов.

Ранее нами подробно обсуждались процессы физиологической регенерации СОПР и ее восстановления после воздействия цитостатиков [4, 5]. Цель настоящего обзора — рассмотрение еще

одного важного аспекта регенерации СОПР — тканевых, клеточных и молекулярных механизмов заживления ее ран. Хотя СОПР структурно сходна с кожей, заживление ее ран протекает быстрее и без образования рубцов [52, 54, 56, 60, 70, 87, 101]. Поэтому раскрытие механизмов заживления ее ран может дать толчок к выбору оптимальной стратегии лечения ран и язв другой локализации. Вследствие очень большого объема разнообразных материалов, посвященных этой теме в современной литературе, в настоящем обзоре основное внимание уделено ключевым явлениям заживления ран СОПР — гемостазу и восстановлению целостности эпителиального барьера (реэпителизации).<sup>1</sup> Многообразные процессы регенерации собственной пластинки СОПР требуют самостоятельного подробного анализа.

<sup>1</sup> Уточнение терминологии: термин «реэпителизация» (т.е. повторная эпителизация) обоснован только в отношении СОПР для описания процесса восстановления утраченной ткани. Применительно к ране, исходно лишенной эпителия, более уместен термин «эпителизация». Между тем, в современной литературе эти термины нередко используются произвольно.

### Сведения об авторах:

Быков Владимир Лазаревич (e-mail: [vbykov@spmu.rssi.ru](mailto:vbykov@spmu.rssi.ru)), Леонтьева Ирина Валерьевна, Кулаева Виолетта Валерьевна, Исеева Елена Анатольевна, кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии, ФБГОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова», 197022, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, 6–8

### Общие закономерности репаративной регенерации тканей при заживлении ран слизистой оболочки полости рта

Раны СОПР различной глубины и протяженности возникают очень часто в результате ее случайного травмирования или создаются целенаправленно при проведении хирургических операций. Их заживление направлено на восстановление целостности СОПР и включает закономерную последовательности стадий (фаз), частично перекрывающихся в пространстве и во времени: 1) *гемостаз*, 2) *воспаление*, 3) *пролиферация и рост тканей* и 4) *ремоделирование (перестройка)/созревание тканей* [26, 35, 52, 54, 61, 70, 79, 82, 91, 97, 101]. В течение этого процесса происходят сложные координированные межтканевые и межклеточные взаимодействия с участием эпителиоцитов (ЭЦ), тромбоцитов (ТЦ), эндотелиальных клеток, лейкоцитов, макрофагов, дендритных антиген-представляющих клеток (АПК), тучных клеток и фибробластов. Они опосредуются разнообразными молекулярными механизмами и регулируются факторами роста (ФР), цитокинами (ЦК) и другими сигналами, исходящими из клеток и выделяемыми из межклеточного вещества [10, 12, 35, 102]. Клетки СОПР быстро реагируют на сигнальные молекулы резкими изменениями своей активности на генетическом уровне: в экспериментальных ранах твердого неба у человека уже через 1 сут после нанесения травмы изменялась экспрессия около 1000 генов (усиление в 2 раза и более или угнетение на 50 % и более), а через 3 и 7 сут сдвиги активности сохранялись примерно у половины этих генов [54].

Течение и исход заживления ран СОПР зависят от многих причин: их характера, объема, глубины и способа лечения; на них влияют многочисленные местные и системные патофизиологические и метаболические факторы. Особенно значимы различия между заживлением первичным натяжением чистых (неинфицированных) хирургических ран без существенной потери тканей при сближении и соединении швами их краев и заживлением вторичным натяжением случайных открытых ран с обширной потерей тканей и значительным микробным загрязнением. В последнем случае процесс идет длительно, с формированием временной незрелой замещающей (грануляционной) ткани, выраженной воспалительной реакцией, часто завершается образованием рубца [48, 72, 91, 98].

Заживление ран СОПР протекает в особых условиях, которые оказывают на процессы регенерации ее тканей неоднозначное влияние. С одной стороны, такая рана постоянно гидрати-

рована (что способствует эпителизации за счет более легкой миграции клеток, длительного воздействия протеиназ и ФР), к тому же она омывается слюной, содержащей высокие концентрации противомикробных веществ и ФР. С другой стороны — регенерацию тканей СОПР могут осложнять обильная комменсальная микрофлора и постоянное травмирование при пережевывании пищи [16, 35, 36, 70, 82, 90].

**Гемостаз** (свертывание крови) запускается практически одновременно с возникновением раны и, по определению, направлен на прекращение кровотечения из поврежденных сосудов. Однако формирующийся кровяной сгусток (в частности, входящие в его состав ТЦ) играет многообразную роль в процессах регенерации тканей СОПР, обеспечивая привлечение в рану разнообразных клеток, создание среды для их миграции и активацию их деятельности [6, 10, 12, 31, 33, 63] (см. ниже).

**Фаза воспаления** длится примерно 4–6 дней, достигая пика спустя 24–48 ч после нанесения раны. Ее биологическое значение состоит в защите от микробов и активации секреции ЦК и ФР. В этот период рану (фибриновый сгусток) заселяют клетки воспалительного инфильтрата, относящиеся к системе врожденного иммунитета — нейтрофилы, а за ними — моноциты/макрофаги. Они очищают ее от микроорганизмов и тканевого детрита, а также секретируют ряд ферментов, ЦК и ФР, привлекающих другие клетки, участвующие в процессах регенерации. С гибелью нейтрофилов и их поглощением макрофагами, усиленным выделением противовоспалительных ФР и ЦК воспаление стихает. Уже в первые часы после повреждения начинается эпителизация, которая в течение нескольких суток обеспечивает закрытие раны, восстанавливая функционирующий (хотя первоначально и неполноценный) эпителиальный барьер. Описанные процессы сопровождаются ранними проявлениями ангиогенеза [46, 52, 97, 101].

**Фаза пролиферации и роста тканей** включает пролиферативные процессы в эпителиальной, соединительной тканях и сосудистом компоненте. Она начинается до полного завершения воспалительных явлений — спустя 4–5 сут после нанесения травмы, достигает пика примерно на 10-е сутки и длится до нескольких (обычно 2–3) недель. Эту фазу характеризуют активный ангиогенез и миграция в рану пролиферирующих и синтетически активных фибробластов, а также превращение макрофагов из воспалительных (M1-клеток) в репаративные (M2-клетки). Кровяной сгусток преобразуется во временную малодифференцированную и обильно васкуляризованную грануляци-

онную ткань с многочисленными клетками, окруженными рыхлым и слабо организованным межклеточным веществом с преобладанием ретикулярных волокон, протеогликанов и гиалуроновой кислоты. Впоследствии она постепенно замещается более зрелой волокнистой соединительной тканью. Фибробласты в раневом ложе изменяют свой фенотип, трансформируясь в сократимые миофибробласты, которые синтезируют межклеточное вещество и прикрепляются к сети волокон. Стягивая их, они сближают края раны [35, 48, 97]. Для фазы пролиферации характерны также утолщение эпителиального пласта и дифференцировка его клеток [35, 46, 81, 101].

**Фаза ремоделирования (перестройки)/ созревания** заканчивается полным заживлением раны и является наиболее протяженной, хотя в ранах СОПР она обычно не так длительна, как в кожных ранах человека, где она может занимать до 1–2 лет. Ее именуют также фазой разрешения раневого процесса, поскольку она завершается восстановлением «нормальных» функции и строения СОПР, свойственных зрелым тканям (отсюда еще одно альтернативное наименование — фаза созревания). В течение этой фазы раневое ложе утрачивает значительную часть клеток и кровеносных сосудов, а его межклеточное вещество подвергается реорганизации и длительной (месяцы) перестройке [26, 35, 81, 98, 101].

#### **Немедленная реакция тканей на повреждение слизистой оболочки полости рта**

Травмирование СОПР вызывает локальное разрушение ее тканей с возникновением дефекта различной глубины, объема и протяженности, что сопровождается кровотечением из поврежденных сосудов. Нарушение тканевого гомеостаза мгновенно распознается системой врожденного иммунитета и вызывает ее реакцию. В травмированных и подвергнутых стрессу клетках по краям раны в течение нескольких минут активируются молекулярные пути «стресс-сигналов» (сигналов повреждения), что приводит к быстрым изменениям экспрессии генов, метаболизма и жизнеспособности клеток. Из клеток и межклеточного вещества происходит массивная утечка эндогенных молекул, включая ассоциированные с повреждением молекулярные паттерны (англ. Damage-Associated Molecular Patterns — DAMP), или алармины, которые служат эндогенными «сигналами опасности» — повреждения собственных клеток и тканей — маркером «измененного своего». К ним, в частности, относятся АТФ, ДНК, РНК, белки теплового шока, гистоны, транскрипци-

онные факторы, отдельные компоненты межклеточного вещества [19, 24, 73, 81]. Эти молекулы связываются образ-распознающими рецепторами (рецепторами опознавания паттернов, англ. Pattern-Recognition Receptors — PRR), среди которых преобладают толл-подобные рецепторы (TLR). DAMP играют роль активаторов и/или хемотаксических факторов по отношению к окружающим клеткам, привлекая, направляя и регулируя их деятельность в ранних стадиях раневого процесса [81].

Указанные явления могут происходить и в стерильных условиях, однако после разрушения эпителиального барьера вглубь ран с поверхности СОПР и из слюны попадают в значительном числе микроорганизмы многочисленной и разнообразной микробиоты полости рта — бактерий, грибов, вирусов (см. ниже). В ткани при этом поступают характерные молекулы, общие для многих микробов (компоненты микробных клеток и выделяемые ими продукты), которые именуются ассоциированными с патогенами молекулярными паттернами (англ. Pathogen-Associated Molecular Patterns — PAMP). Подобно DAMP, PAMP распознаются клетками СОПР различных типов посредством PRR. Наиболее важными рецепторами PAMP на поверхности клеток и в эндосомах являются TLR, в цитоплазме — NOD-подобные рецепторы (NLR). При связывании с PAMP эти рецепторы активируют нисходящие сигнальные каскады, усиливающие клеточное деление, выработку антимикробных веществ, про- и противовоспалительных ЦК и хемокинов (хемотаксических ЦК) [14, 19, 24].

В результате воздействия микробных продуктов или молекул — «сигналов опасности» в цитоплазме ряда клеток СОПР (лейкоцитов, макрофагов, дендритных АПК, ЭЦ) формируются крупные белковые комплексы — инфламмосомы, которые являются важным элементом врожденного иммунитета. В качестве посредников острой фазы воспаления они играют важную роль в реакциях иммунной системы на внедряющиеся микробы. При этом особое значение имеет их способность различать патогенные и непатогенные микроорганизмы, определяющая дальнейшее развитие состояния толерантности или сенсбилизации. Активация каспазы-1, входящей в состав инфламмосом, вызывает повреждение клетки и ее гибель посредством пироптоза — особого связанного с воспалением механизма гибели клеток (отличающейся от классических вариантов как апоптоза, так и некроза). Из гибнущей клетки выделяется ее содержимое, включая молекулы DAMP, которые играют роль сильных провоспалитель-

ных факторов. Они активируют выделение ЦК, усиливают миграцию клеток и вызывают гибель клеток, зараженных микробами [24, 34, 73].

**Биологическое значение гемостаза и образования тромба.** Развивающиеся немедленно вслед за повреждением тканей реакции включают: 1) собственно гемостаз — остановку кровотечения, ограничивающую обусловленную травмой кровопотерю; 2) формирование кровяного (фибринового) сгустка, который выполняет несколько важных функций: а) заполняет тканевый дефект; б) на время частично восстанавливает барьерные свойства СОПР; в) является матриксом, по поверхности и через толщу которого мигрируют клетки в ходе регенерации тканей при заживлении раны; г) служит резервуаром ФР, стимулирующих процессы регенерации.

Гемостаз осуществляется в течение ближайших минут после нанесения травмы. Поступление крови в рану прекращается вследствие спазмирования кровеносных сосудов вблизи и внутри раны. Эта немедленная реакция (первичный сосудистый ответ) вызвана эндотелинами, усиленно продуцируемыми эндотелиоцитами поврежденных сосудов. Ей способствуют также другие медиаторы — катехоламины, циркулирующие в крови (адреналин) и выделяющиеся симпатическими нервными окончаниями (норадреналин), а также простагландины из поврежденных клеток. Свертывание крови и активация ТЦ служат источниками дополнительных факторов вазоконстрикции: брадикинина, серотонина и тромбосана А<sub>2</sub> [6, 55, 91]. Одновременно происходит сдавление сосудов снаружи кровью, выделившейся через их поврежденную стенку. Однако рефлекторная вазоконстрикция способна лишь временно остановить кровотечение, которое возобновляется вследствие нарастания в ране гипоксии, гликолиза, распада белков и ацидоза, вызывающих расширение сосудов и повышение их проницаемости [70, 97]. Вазодилатация возникает примерно через 20 мин и опосредуется ее медиаторами — кининами, гистамином, простагландинами и лейкотриенами, приводя к развитию отека раны. Главным механизмом гемостаза служит формирование тромба, возникающего благодаря взаимодействию факторов, выделяемых поврежденным эндотелием, активированными ТЦ и содержащихся в плазме крови. Контакт ТЦ с компонентами межклеточного вещества, в первую очередь, коллагеном, служит сигналом к их активации, агрегации и индукции гемостатического каскада. ТЦ формируют тромб, в котором они погружены в сеть связанных между собой нитей фибрина и окружены

небольшим количеством фибронектина, витронектина и тромбоспондина плазмы [30, 63, 97].

Активированные ТЦ выделяют ряд факторов, включая накопленные в их гранулах, а также вновь синтезируемые. К ним относятся: производные арахидоновой кислоты, АДФ, ферменты, ЦК, хемокины, ФР — тромбоцитарный, тромбоцитарный фактор-4 (ТФ4), трансформирующие (ТФР- $\alpha$ , ТФР- $\beta$ ), эпидермальный (ЭФР), гепатоцитов (ФРГ), инсулиноподобный ФР-1, фибробластов (ФРФ), а также факторы свертывания крови, их ингибиторы, фибринолитические факторы и их ингибиторы, адгезивные белки, ряд молекул, связанных с регуляцией апоптоза [6, 30, 33, 63, 102]. Накапливая и связывая ФР, сгусток становится резервуаром, способным к их последующему длительному выделению, которое стимулирует различные этапы регенерации [10, 11, 33, 102].

Серотонин, выделяемый ТЦ, способствует их дальнейшей активации и агрегации, повышает и снижает сосудистый тонус, привлекает нейтрофилы, влияет на экспрессию селектинов на эндотелиоцитах, секрецию ЦК макрофагами, а также активность и пролиферацию Т-лимфоцитов [77]. Эйкозаноиды и другие продукты метаболизма арахидоновой кислоты (простагландины, тромбоксан, лейкотриены) выделяются в рану при повреждении мембран клеток разных типов. Они обладают многообразным свойством, вызывая вазодилатацию, вазоконстрикцию, повышение сосудистой проницаемости, хемотаксис и адгезию лейкоцитов и, в целом, усиливая воспалительную реакцию [48, 97, 102]. Помимо ФР, выделяемых ТЦ, на клетки в окружности раны воздействуют сывороточные факторы — интерлейкины (ИЛ), колониестимулирующие факторы (КСФ), ФНО- $\alpha$ , интерферон- $\gamma$  (ИФН- $\gamma$ ). Медиаторы воспаления в совокупности выполняют ряд важных функций: увеличивают проницаемость стенки мелких сосудов, способствуют переносу в рану различных молекул и миграции в нее многочисленных клеток, стимулируют их деление, дифференцировку, функциональную активность и межклеточные взаимодействия.

Фибриновый сгусток заполняет и закрывает собой дефект тканей, обеспечивая частичное и временное восстановление (если не целостности, то непрерывности) поврежденного участка СОПР. Поскольку интактная СОПР представляет собой высокоэффективный защитный барьер [1, 3, 22, 40, 52, 66, 71], формирование сгустка можно рассматривать как начальную реакцию, направленную на воссоздание ее барьерных свойств. Эта функция сгустка имеет большое значение, поскольку регенерация тканей СОПР

протекает в условиях их непрерывного взаимодействия с многочисленными микроорганизмами, населяющими полость рта. Согласно современным данным, в полости рта человека выявляются до 700–1000 различных видов бактерий, около 100 видов грибов и многочисленные виды вирусов, включая онкогенные. Их общее количество в полости рта составляет порядка 10–20 млрд (по некоторым данным, до 50–100 млрд), а концентрация в слюне — от 10 млн до 1 млрд/мл [3, 44, 47]. Микроорганизмы непрерывно взаимодействуют друг с другом в пределах полимикробных сообществ — биопленок, а также с клетками макроорганизма, которые они превышают численно и в особенности резко по совокупному объему своего генома (микробиома). Разрушение эпителиального барьера СОПР при наличии столь многочисленной и разнообразной микробиоты может стать причиной серьезных осложнений — как местных, так и системных, вплоть до попадания микробов в кровотоки и их быстрой диссеминации по организму. Показано, что уже менее чем через 1 мин бактерии из поврежденного участка СОПР достигают сердца, легких и периферических капилляров [44].

Проникновению микробных клеток вглубь раны и распространению по ней препятствуют структура и физико-химический состав фибринового сгустка, а также его нарастающая инфильтрация лейкоцитами. На поверхности сгустка обнаружена плотная фибриновая биопленка, предотвращающая попадание бактерий в его глубину [59]. ТЦ в сгустке распознают патогенные микроорганизмы с помощью различных рецепторов (TLR, CD14 и Fc), усиливая выделение антимикробных белков (дефензин hBD-1, катионные белки РМР1 и РМР2), ЦК и хемокинов, которые не только сами уничтожают микробы, но и привлекают в рану клетки воспалительного инфильтрата (нейтрофилы, макрофаги и лимфоциты) [6, 31, 33]. ТЦ также участвуют в защите от микробов путем активации классического пути комплемента [6, 43]. Отмеченные выше свойства ТЦ показывают, что их роль в раневом процессе выходит далеко за пределы гемостаза, а сами ТЦ следует относить к системе врожденного иммунитета.

#### **Эпителизация раны слизистой оболочки полости рта**

**Общие сведения.** Восстановление целостности эпителиального покрова СОПР с восполнением тканевого дефекта (реэпителизация) — один из ведущих (а по мнению некоторых авторов [90] — самый главный) процессов в заживлении

ее ран, который традиционно считается важнейшим клиническим критерием его успешного завершения. Эпителизация является продолжительным и сложным процессом, включающим последовательность явлений от наиболее ранних — скольжения и смыкания слоя регенерирующего эпителия над поверхностью раны до поздних, когда в результате пролиферации и дифференцировки ЭЦ происходит восстановление гистологически и функционально полноценного эпителиального пласта — с нормализацией его толщины, строения, проницаемости и барьерных свойств [21, 36, 46, 48, 52, 84]. Иногда термином «эпителизация раны» обозначают лишь собственно смыкание краев эпителия, что представляется методически неоправданным, поскольку при этом нарушается логическая непрерывность и связь явлений — ранние процессы регенерации ткани произвольно отрываются от последующих, не менее значимых биологически и более продолжительных по времени. Таким образом, реэпителизация СОПР охватывает весь период заживления ее ран: она начинается в фазу воспаления, особенно активно протекает в фазу пролиферации, продолжается и завершается в фазу ремоделирования/созревания. При этом ЭЦ принимают участие в заживлении ран как непосредственно (в ходе эпителизации), так и косвенно (благодаря секреции ЦК, ФР и ферментов).

ЭЦ начинают мигрировать в область тканевого дефекта уже в течение первых нескольких (максимально — 24) часов после повреждения СОПР. Их функция заключается в скорейшем закрытии оголенной поверхности временного матрикса — тромба (в дальнейшем грануляционной и волокнистой соединительной ткани) и восстановлении целостности тканевого барьера. В ране СОПР основным источником мигрирующих ЭЦ является покровный эпителий в области ее краев. Этим она существенно отличается от раны кожи, где мигрирующие ЭЦ происходят не только из края раны, но также из придатков — волосяных фолликулов и потовых желез, содержащих стволовые клетки. Однако и в СОПР также вероятно частичное участие в регенерации стволовых клеток, локализованных в протоках малых слюнных желез (там, где они имеются).

**Морфологические механизмы эпителизации раны.** Активация ЭЦ краев раны, определяющая приобретение ими подвижности, развивается в течение нескольких часов после травмы под влиянием многочисленных сигналов разной природы, исходящих из раны — механических (потеря контактного торможения на краях раны — эффект «свободного края», меняющиеся напря-

жения в области десмосом и полудесмосом [29, 85]) и биологических (множественные тканевые факторы, ЦК и ФР). Биологические сигналы включают аутокринные, секретируемые самими поврежденными и активированными ЭЦ, и паракринные, выделяемые иммунными клетками, ТЦ, фибробластами, а также сгустком крови [12, 29, 35, 46, 102]. Маркерами активации ЭЦ служит экспрессия ряда кератинов (К6, К16 и К17), которые отличают их от неповрежденных ЭЦ в покое [29].

В основе движения ЭЦ лежит сокращение внутриклеточных актомиозиновых комплексов, которые связаны с вновь образующимися адгезивными соединениями. Эта сборка/разборка сети актиновых микрофиламентов в сочетании с перестройкой интегриновых рецепторов может обуславливать задержку длительностью в несколько часов, которая предшествует началу миграции эпителия. Базальные клетки у края раны СОПР увеличиваются в размерах, распластаются по поверхности матрикса, утрачивают свою апикально-базальную полярность и начинают мигрировать от края раны в сторону ее центра. Они менее дифференцированы, чем базальные клетки неповрежденного эпителия, содержат меньшее количество органелл (за исключением более развитых лизосом) [7–9, 79]. Мигрирующие ЭЦ теряют десмосомы, удерживавшие их латеральные поверхности, и полудесмосомы, прикреплявшие их к базальной мембране, образуя по мере движения аналогичные новые более примитивно организованные и непрочные контакты [8, 35, 46, 79]. Сопутствующие изменения щелевых контактов нарушают дифференцировку ЭЦ; плотные соединения между ними отсутствуют или единичны [8].

Между тем, сохранение межклеточных соединений критически важно для способности эпителия к «коллективной миграции» — перемещения в качестве единого пласта с координированными движениями отдельных клеток. Феномен коллективной миграции обеспечивает сохранение общей структуры ткани при ее перестройке; возможность мигрирующим клеткам влиять друг на друга, регулировать свое пространственное распределение и форму тканевой структуры, осуществлять коллективные реакции на различные влияния [75, 96]. Нарушение этого механизма резко снижает скорость движения эпителия [96].

Мигрирующие ЭЦ начинают направленное движение от края раны к центру путем формирования динамически удлиняющихся выростов (псевдоподий) на ведущем (лидирующем) краю клетки с последующим подтягиванием ее тела.

Выделяют два типа псевдоподий: широкие и плоские пластинчатые ламеллоподии, содержащие ветвящуюся сеть актиновых микрофиламентов, и отходящие от них узкие цилиндрические (пальцевидные) филоподии с плотными радиальными пучками микрофиламентов. Филоподии способны быстро появляться и исчезать — они подобны щупальцам, которыми клетка исследует окружающее ее пространство [92]. В их плазмолемме расположены различные виды рецепторов и молекулы адгезии (интегрины и кадгеринины), образующие новые фокальные соединения при погружении в богатый фибронектином временный матрикс [11]. Средняя скорость миграции ЭЦ в ране достигает 1,5 мкм/мин (90 мкм/ч) [13], однако приводятся и более низкие цифры.

Перестройка цитоскелета в мигрирующих ЭЦ регулируется семейством мелких ГТФаз (Rho, Rac, Cdc42) [65]. Она включает перераспределение микротрубочек, микрофиламентов и промежуточных филаментов, в особенности в периферической (кортикальной) цитоплазме. Интересно, что в области раневого края в ЭЦ супрабазального слоя появляются цитокератины, свойственные в норме клеткам базального слоя, а экспрессия цитокератинов, специфических для дифференцирующихся клеток, угнетается [8, 9, 68, 89, 100]. При движении эпителиального пласта его веретеновидные краевые (ведущие) клетки выстраиваются вдоль границы с тканевым дефектом, формируя маргинальные тангенциально ориентированные пучки актиновых филаментов. Края этих пучков связаны с комплексом E-кадгерин/ $\beta$ -катенин, который образует межклеточные адгезивные соединения. При этом по окружности раны формируется сократимое кольцо, стягивающее ее края в виде «шнурка кошелька». Таким образом, закрытие раны осуществляется двумя самостоятельными механизмами, в которых участвуют различные сократимые клетки — ЭЦ и (обычно позднее) миофибробласты [29, 65, 89, 100].

Клинические наблюдения, подтвержденные экспериментальными (в том числе гистологическими) данными, показали, что в ранах СОПР эпителизация протекает быстрее, чем в кожных ранах [78, 79, 82, 87, 101]. Частично эти различия связывают с более благоприятными условиями регенерации эпителия в полости рта (влажность, температура, наличие в слюне многочисленных ФР) [16, 64, 90, 101, 102], однако, возможно, они определяются «внутренними» свойствами ЭЦ, включающими скорость перемещения и организацию цитоскелета [27, 78, 94]. Указанные особенности найдены и на генетическом уровне:

транскриптомы эпителия СОПР и кожи различаются активностью экспрессии около 14 000 генов, причем для некоторых из них (в том числе связанных с пролиферацией и миграцией) различия достигают 10–50-кратной величины [94].

Движение ЭЦ в ходе заживления ран описывается несколькими моделями, из которых, однако, ни одна не дает полного объяснения всем наблюдаемым явлениям [90]. Главным предметом дискуссии остается вопрос о том, какие клетки эпителия являются ведущими (лидирующими) в ходе миграции его «языка» в ране. Согласно модели «прыгающей лягушки» (англ. leap-frogging model), или движения перекатами, пролиферирующие супрабазальные ЭЦ, удаленные от края раны, преобразуются в новые ведущие клетки, перекатываясь («перепрыгивая») через лидирующие (ведущие) базальные клетки в сторону дна раны. Достигнув его, они перепрограммируются, подвергаясь активации, снижают выраженность десмосомных контактов и, вытягиваясь, уплощаясь и распластываясь по матриксу, приобретают фенотип базальных клеток [68, 90].

В соответствии с моделью скольжения активные базальные клетки мигрируют по раневому ложу и тянут за собой оставшийся эпителий, связанный с ними интегринами и десмосомами. При этом поверхностные слои пассивно смещаются латерально поверх базального [51]. Модель коллективной и непрерывной миграции базальных и супрабазальных ЭЦ основана на представлении об их движении в виде концентрического потока, окружающего рану. Некоторые модели объединяют несколько механизмов, например, скольжение базальных клеток и перекатывание супрабазальных [95].

Процесс эпителизации связан с пролиферацией ЭЦ, однако мигрирующие клетки обычно не делятся до тех пор, пока не будет восстановлена целостность эпителиального пласта. Это обусловлено снижением в них содержания циклинов G<sub>1</sub>/S-фаз и усилением экспрессии ингибиторов циклинзависимой киназы [11, 101]. Между тем, уже через несколько часов после начала миграции эпителия (спустя 48–72 ч с момента нанесения раны) происходит резкое увеличение пролиферативной активности в базальных (иногда и в парабазальных) ЭЦ, дистальнее краев раны. Этот эффект дает пул добавочных клеток, которые замещают ЭЦ, утраченные при повреждении, а также пополняют клеточную популяцию продвигающихся эпителиальных краев [12, 21, 36, 85, 91, 102].

Центростремительное движение пластов эпителия продолжается до тех пор, пока их ведущие

клетки не входят в соприкосновение друг с другом, останавливаясь, вероятно, в результате контактного торможения. В зоне соприкосновения происходит разрушение актиновых микрофиламентов в фило- и ламеллоподиях, которые замещаются межклеточными адгезивными соединениями, что приводит к окончательному закрытию раны [8, 29, 55, 65]. У человека смыкание краев эпителия происходит чаще всего в течение 96–120 ч после нанесения раны, но иногда, даже в благоприятных условиях, требует большего времени. Так, в небольшой стандартной ране твердого неба человека эпителиальные «языки» сливаются лишь спустя 7 сут [35, 53]. Однако при сближении краев хирургической раны швами восстановление сплошного эпителиального пласта может происходить уже в течение первых 48 ч [84].

Мигрирующие тяжи ЭЦ, смыкаясь, первоначально покрывают рану в виде монослоя, в дальнейшем начинает восстанавливаться многослойная структура эпителиального пласта как за счет продолжающейся миграции и наслоения ЭЦ, так и в результате их нарастающей пролиферации, которая распространяется по всей поверхности раны. Делящиеся клетки, ранее имевшиеся только вблизи краев бывшей раны, на 2–3-й неделе становятся многочисленными и в ее середине. Сигналами для деления этих ЭЦ служат ФР, которые выделяются фибробластами, макрофагами собственной пластинки, а также самими ЭЦ (паракринный и аутокринный механизмы соответственно) [36, 42, 55, 85]. В клетках базального слоя постепенно происходит восстановление нормальной ультраструктуры с нарастанием содержания и перераспределением органелл. При этом изменяется форма ЭЦ, начиная с базального слоя, клетки которого из уплощенных и вытянутых превращаются в кубические и столбчатые. В дальнейшем дифференцировка клеток в течение нескольких суток распространяется на вышележащие слои, однако полной нормализации их ультраструктуры в эти сроки не наступает [7, 9, 55].

В течение фаз пролиферации и ремоделирования в заживающей ране толщина эпителиального пласта увеличивается, возрастает количество его слоев, которые становятся все более дифференцированными, нормализуются их пропорции, восстанавливаются межклеточные соединения и рельеф в области границы с собственной пластинкой. В ороговевающих эпителиях усиливаются процессы кератинизации механизмами орто- и паракератоза. Важным признаком успешной эпителизации раны является воссоздание базальной мембраны эпителия, которое начи-

нается после прекращения миграции клеток путем очагового отложения ламинина, коллагенов IV и VII типов и гепарансульфат-содержащих протеогликанов. Процесс распространяется от краев бывшей раны к ее центру и завершается не ранее 3–4 нед. Одновременно ЭЦ начинают восстанавливать свою связь с базальной мембраной посредством полудесмосом [35, 42, 52, 53, 101].

Сроки полной эпителизации варьируют в широких пределах в зависимости от размеров имевшейся раны и условий регенерации, при этом клиническое заживление ран СОПР всегда опережает гистологическое [42]. Сообщается, что через 28 сут после нанесения стандартной резаной раны твердого неба у человека она клинически почти незаметна; через 60 сут эпителий гистологически сравним с нормальной неповрежденной тканью. Полная регенерация тканей в области раны отмечена через 6 мес [35].

**Молекулярно-биологические механизмы эпителизации раны** лежат в основе регуляции всех этапов регенерации поврежденной ткани. Ниже кратко отмечены важнейшие из них.

**Адгезивные связи ЭЦ** обеспечиваются, главным образом, интегринами — трансмембранными рецепторами, которые связывают их друг с другом и компонентами матрикса. В неповрежденной СОПР  $\beta 1$ -интегрины экспрессируются на латеральных поверхностях ЭЦ, а  $\beta 4$ -интегрины прикрепляют клетки базального слоя к ламинину базальной мембраны. Начало эпителизации раны связано с разрушением связей ЭЦ, их отделением от базальной мембраны и миграцией по раневому ложу (кровяному сгустку), состоящему преимущественно из фибрина, фибронектина, тенасцина и витронектина — молекул, с которыми ЭЦ ранее не контактировали [21, 32, 53]. Движение клеток по ведущему краю эпителиального пласта обеспечивается экспрессией ряда новых интегринов, связывающихся с этими молекулами, и релокализацией ранее имевшихся интегриновых рецепторов [21, 29, 32, 35, 36, 46, 53, 91, 101].

**Факторы роста и цитокины** в физиологических условиях участвуют в поддержании нормальных механизмов тканевого гомеостаза. Почти сразу после ранения они активно включаются в регуляцию регенерации эпителия, влияя на нее как прямо, так и опосредованно через другие клетки, присутствующие в ране или привлекаемые в нее из крови и окружающих тканей [80]. В самые ранние сроки раневого процесса активации ЭЦ в области края раны способствуют ИЛ-1, ФНО- $\alpha$ , ТФР- $\alpha$ , ТФР- $\beta$  и ИФН- $\gamma$ . Активированные ЭЦ продуцируют аутокрин-

ные сигналы, направленные к соседним однотипным клеткам, а также паракринные, активирующие клетки других типов — фибробласты, макрофаги, дендритные АПК, эндотелиоциты, лейкоциты и меланоциты. К дополнительным молекулам, продуцируемым активированными ЭЦ, относятся ИЛ-3, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-15, ИЛ-18, ИЛ-20, КСФ-Г, КСФ-ГМ и КСФ-М, а также ряд хемокинов [29, 102]. Эти молекулы влияют на процессы пролиферации, миграции, дифференцировки эпителия, адгезии и привлечение других клеток, их выживание, старение и гибель, обладают про- и противовоспалительными свойствами. Из факторов, контролирующих миграцию и пролиферацию ЭЦ, наиболее значимы молекулы семейства ЭФР, ТФР- $\alpha$ , TGF- $\beta$  и ФРК [57, 64]. С самым изученным из них — ЭФР — связывают более быструю эпителизацию ран полости рта по сравнению с таковой кожных ран [64, 80, 87, 102]. Концентрации ЭФР в слюне в 10 раз выше, чем в плазме крови [93], и еще более нарастают сразу же после повреждения СОПР [67]. Однако ЭЦ СОПР превосходят клетки эпидермиса по своей пролиферативной активности и при культивировании *in vitro* в одинаковых условиях [18, 27]. Регенерацию эпителия СОПР контролируют несколько ЦК и ФР, вырабатываемых фибробластами (ФРК/ФРФ-7, ЭФР и КСФ-ГМ) [80] и макрофагами (ЭФР и ТФР- $\alpha$ ) [85].

**Ферменты**, в первую очередь, плазмин и ряд металлопротеиназ матрикса (МПП), секретируемые ЭЦ на краю раны, дают им возможность отделиться от базальной мембраны, ослабить или разомкнуть десмосомы, перемещаться, разрушая временный раневой матрикс (фибриновый сгусток), а в дальнейшем — матрикс сменяющих его грануляционной и рыхлой волокнистой соединительной ткани. Фокальная активация МПП и плазмина создает путь для миграции ЭЦ, который зависит от взаимодействия интегринов, ингибиторов и активаторов ферментов. Выработка ферментов активированными ЭЦ усиливается под влиянием ИЛ-1 $\beta$ , ТФР- $\beta 1$  и ФНО- $\alpha$  [76]. Помимо ЭЦ, в синтезе и секреции протеолитических ферментов в ране участвуют и клетки других типов [32, 35, 46, 53, 72, 94]. Выделяющиеся в ране ферменты влияют на заживление ран еще одним путем — они способствуют высвобождению из матрикса и активации связанных с ним ФР [52].

**Влияние микроорганизмов на эпителизацию раны** связано с активностью как живых микробных клеток, так и компонентов их стенок, микробных секреторных факторов, токсинов, метаболитов, антигенов. В физиологических условиях эпителий СОПР играет роль



не только механического, но и биологического (иммунного) барьера, способного распознавать микробы и их продукты, сдерживать их развитие и предупреждать их внедрение путем выработки широкого спектра антимикробных молекул: оксида азота (NO),  $\beta$ -дефензинов, кальпротектина, кателицидина LL-37, адренomedуллина, липидов [3, 22, 37, 81–83, 99].

При нанесении травмы и разрушении эпителиального барьера микробы попадают вглубь раны и влияют на эпителизацию «изнутри», одновременно воздействуя на нее «снаружи», со стороны полости рта. Действие микробов зависит от их видовой принадлежности: одни из них задерживают, другие — ускоряют эпителизацию, третьи — не оказывают на нее влияния. Однако в отличие от экспериментальных исследований на ткани СОПР *in vivo* воздействуют не отдельные виды микробов, а их динамичные гетерогенные сообщества — биопленки. Существенное значение имеет плотность микробной популяции в конкретном участке СОПР. Небольшое количество микроорганизмов в поврежденной ткани ускоряет заживление ран, а их обилие — замедляет его. Нарушение эпителизации ран СОПР, обусловленное микробами, в последние годы связывают с недавно открытым феноменом коллективной регуляции экспрессии генов бактерий в биопленках — кворумным восприятием (англ. Quorum Sensing) [25]. Последнее определяет координированное поведение популяции микроорганизмов (наделяя их подобием генетического «коллективного разума»), повышая резистентность, способность к колонизации и преодолению защитных механизмов макроорганизма.

Многочисленными исследованиями выявлены разнообразные патогенетические механизмы влияния микробов на эпителизацию. Внедряясь в ЭЦ, бактерии в одних случаях разрушают их, в других — могут длительно персистировать и даже размножаться в их цитоплазме [47, 49, 50, 58]. Они вызывают (а в некоторых случаях — угнетают) апоптоз ЭЦ, нарушают их пролиферацию и миграцию [14]. Активация ЭЦ микробными продуктами, опосредованная TLR, вызывает усиленную выработку провоспалительных медиаторов и антимикробных пептидов [12, 37, 81–83, 102].

**Неэпителиальные дендритные клетки в регенерирующем эпителии СОПР** подвергаются выраженным изменениям, которые требуют оценки с учетом их важных функций и тесных взаимоотношений с ЭЦ. Между тем, имеющиеся данные фрагментарны и недостаточны для обоснованных заключений. Отмечено, что эпителий СОПР в области имевшихся хирургиче-

ских ран десны клинически длительно (в течение 2–8 лет) лишен пигментации, однако описаны случаи спонтанной репигментации спустя 3–7 лет после операций [69]. Имеются также сообщения о нарастающей пигментации исходно непигментированного эпителия в области оперированной десны [38]. На экспериментальной модели раны твердого неба у хомячков показано, что регенерировавший эпителий не содержит меланоцитов, клеток Лангерганса и Меркеля в течение, по меньшей мере, 3 нед с момента ее нанесения [42]. Близкие результаты получены при изучении кожных ран: при их заживлении у взрослого человека регенерации меланоцитов не происходит, поэтому рубцы лишены пигментации [26]. Получены данные о том, что у человека после пересадки кожи меланоциты все же мигрируют в эксплантаты, однако этот процесс существенно отстает от миграции в них ЭЦ [62].

Сведения о клетках Лангерганса при заживлении ран СОПР еще более отрывочны. В опытах с пересадкой участка СОПР у мышей эти клетки в трансплантате в 1-ю неделю почти полностью исчезали, а в дальнейшем в течение 2–16-й недели их количество возрастало в результате миграции клеток реципиента и пролиферации донорских клеток [74]. Участие клеток Лангерганса в заживлении ран несколько более подробно изучено на кожных ранах. Установлено, что травма кожи вызывает выраженный отток этих клеток из эпидермиса, создавая нишу, которая позднее повторно заселяется двумя сменяющимися волнами клеток Лангерганса, различающихся продолжительностью жизни и экспрессией маркеров [23]. Миграции клеток Лангерганса из эпидермиса способствуют лиганды, выделяемые поврежденными кератиноцитами, а также провоспалительные ЦК (ИЛ-1, КСФ-ГМ, ФНО). Повторное заселение эпидермиса клетками Лангерганса оканчивается на поздних стадиях заживления раны — в фазе ремоделирования [23, 41].

Клетки Меркеля СОПР, по одним данным, не обнаруживаются в эпителии в течение 7 сут–3 мес после травмы [42, 86], по другим — вновь появляются в нем через 10 сут в виде единичных незрелых элементов, в дальнейшем увеличиваясь численно и созревая [88].

**Межтканевые и межклеточные взаимодействия**, лежащие в основе процесса реэпителизации СОПР, традиционно сфокусированы на взаимоотношениях ЭЦ с фибробластами. По своему механизму они являются двойными паракринными, поскольку ЭЦ влияют на синтез коллагена, пролиферацию и миграцию фибробластов, стимулируют выработку ими ФР, которые,

в свою очередь, усиливают миграцию, адгезию, пролиферацию ЭЦ и секрецию биологически активных молекул. Сигналами, которыми обмениваются эти клетки, являются ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-8, ФНО- $\alpha$ , ТФР- $\alpha$ , ТФР- $\beta$ , ФРФ-7/ФРК, ЭФР и КСФ-ГМ [17, 28, 101, 102].

Взаимодействия клеток осуществляются посредством растворимых медиаторов, которые связываются со специфическими рецепторами, однако недавно открыт ранее неизвестный путь переноса информации от ЭЦ СОПР к фибробластам с помощью внеклеточных микровезикул (МВ). Обнаружено, что от поверхности ЭЦ отделяются покрытыми мембраной МВ диаметром 100–1000 нм, которые содержат более 2000 различных белковых молекул, а также ДНК, иРНК и микроРНК. Сливаясь с фибробластами, МВ влияют на экспрессию их генов, связанных с заживлением ран (выработка и разрушение матрикса, миграция, сократимость, рецепция сигнальных молекул, воспаление), путем изменения экспрессии МПМ,  $\alpha$ -гладкомышечного актина, ИЛ-6, ИЛ-8, рецепторов ТФР- $\beta$  [15, 39]. Интересно, что содержимое МВ и активность их выработки динамично меняются в зависимости от стадии эпителизации и характера окружения, усиливаясь под влиянием бактериальной биопленки [15].

### Заключение

Анализ литературы, посвященной ряду ключевых вопросов заживления ран СОПР, указывает на быстрое накопление новой информации, которая может послужить основой для трансляции этих знаний в клиническую практику. Ведущим достижением исследований последних десятилетий явилось раскрытие ряда молекулярных и генетических механизмов, регулирующих различные этапы заживления ран, тогда как морфологические исследования достигли менее впечатляющих результатов. Ряд важных вопросов нуждаются в детальном морфологическом анализе: состояние ЭЦ после повреждения, трехмерная организация и перестройки их пласта, пролиферация, дифференцировка, метаболизм и ультраструктура ЭЦ в ходе эпителизации, структурно-функциональные основы межклеточных и межтканевых отношений, морфологические корреляты действия регуляторных сигналов с учетом вновь открытых способов их передачи. Получение этой информации, вероятно, позволит более тесно связать структурные признаки клеток и тканей с активностью регуляторных механизмов и экспрессией молекулярно-биологических факторов, ближе подойти к пониманию раневого процесса и способ-

ствовать разработке средств оптимизации заживления ран СОПР.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Быков В.Л. Функциональная морфология эпителиального барьера слизистой оболочки полости рта // *Стоматология*. 1997. Т. 76, № 3. С. 12–17 [Bykov V.L. The functional morphology of the epithelial barrier of the oral mucosa // *Stomatologiya*. 1997. Vol. 76, № 3. P. 12–17. In Russ.].
2. Быков В.Л. Тканевая инженерия слизистой оболочки полости рта // *Морфология*. 2010. Т. 137, вып. 1, С. 62–70 [Bykov V.L. Tissue engineering of the oral mucosa // *Morfologiya*. 2010. Vol. 137, № 1. P. 62–70. In Russ.].
3. Быков В.Л. Гистология и эмбриональное развитие органов полости рта человека. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014 [Bykov V.L. *Histology and Embryonic Development of the Organs of Human Oral Cavity*. M.: GEOTAR-Media, 2014. In Russ.].
4. Быков В.Л., Леонтьева И.В. Повреждение и репаративная регенерация эпителия слизистой оболочки полости рта при воздействии цитостатиков (тканевые, клеточные и молекулярные механизмы) // *Морфология*. 2011. Т. 139, вып. 2, С. 7–17 [Bykov V.L., Leont'eva I.V. Injury and reparative regeneration of the oral mucosal epithelium after cytostatic drugs administration (tissue, cell and molecular mechanisms) // *Morfologiya*. 2011. Vol. 139, № 2. P. 7–17. In Russ.].
5. Быков В.Л., Леонтьева И.В. Тканевые и клеточные взаимодействия в слизистой оболочке полости рта при введении цитостатиков // *Морфология*. 2011. Т. 138, вып. 3. С. 7–18 [Bykov V.L., Leont'eva I.V. Tissue and cell interactions in the oral mucosa after cytostatic drugs administration // *Morfologiya*. 2011. Vol. 138, № 3. P. 7–18. In Russ.].
6. Серебряная Н.Б., Шанин С.Н., Фомичева Е.Е., Якуцeni П.П. Тромбоциты как активаторы и регуляторы воспалительных и иммунных реакций. Часть 1. Основные характеристики тромбоцитов как воспалительных клеток // *Мед. иммунол.* 2018. Т. 20, № 6. С. 785–796 [Serebryanaya N.B., Shanin S.N., Fomicheva E.E., Yakutseni P.P. Blood platelets as activators and regulators of inflammatory and immune reactions. Part 1. Basic characteristics of platelets as inflammatory cells // *Meditsinskaya immunologiya*. 2018. Vol. 20, № 6. P. 785–796. In Russ.].
7. Andersen L. Quantitative analysis of epithelial changes during wound healing in palatal mucosa of guinea pigs // *Cell Tiss. Res.* 1978. Vol. 193, № 2. P. 231–246.
8. Andersen L. Cell junctions in squamous epithelium during wound healing in palatal mucosa of guinea pigs // *Scand. J. Dent. Res.* 1980. Vol. 88, № 4. P. 328–339.
9. Andersen L. Ultrastructure of squamous epithelium during wound healing in palatal mucosa of guinea pigs // *Scand. J. Dent. Res.* 1980. Vol. 88, № 5. P. 418–429.
10. Appleton I. Wound repair: the role of cytokines and vasoactive mediators // *J. R. Soc. Med.* 1994. Vol. 87, № 9. P. 500–502.
11. Bartkova J., Gron B., Dabelsteen E., Bartek J. Cell-cycle regulatory proteins in human wound healing // *Arch. Oral Biol.* 2003. Vol. 48. P. 125–132.
12. Behm B., Babilas P., Landthaler M., Schreml S. Cytokines, chemokines and growth factors in wound healing // *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 2012. Vol. 26. P. 812–820.

13. Ben Amar M., Wu M. Re-epithelialization: advancing epithelium frontier during wound healing // *J. R. Soc. Interface*. 2014. Vol. 11. P. 2013–1038.
14. Bhattacharya R., Xu F., Dong G., Li Tian C., Ponugoti B., Graves D.T. Effect of bacteria on the wound healing behavior of oral epithelial cells // *PLoS One*. 2014. Vol. 9, № 2. Article e89475.
15. Bi J., Koivisto L., Owen G., Huang P., Wang Z., Shen Y., Bi L. et al. Epithelial microvesicles promote an inflammatory phenotype in fibroblasts // *J. Dent. Res.* 2016. Vol. 95, № 6. P. 680–688.
16. Brand H.S., Veerman E.C.I. Saliva and wound healing // *Chin. J. Dent. Res.* 2013. Vol. 16, № 1. P. 7–12.
17. Brazil J.C., Quiros M., Nusrat A., Parkos C.A. Innate immune cell–epithelial crosstalk during wound // *J. Clin. Invest.* 2019. Vol. 129, № 8. P. 2983–2993.
18. Cabunac J., Stanković S.T., Milosavljević Z., Tanasković I., Kanjevac T. Comparative analysis of proliferative activity of oral and epidermal keratinocytes under the influence of epidermal growth factor // *Mediterr. J. Biosci.* 2016. Vol. 1, № 4. P. 169–173.
19. Chen G.Y., Nuñez G. Sterile inflammation: sensing and reacting to damage // *Nat. Rev. Immunol.* 2010. Vol. 10, № 12. P. 826–837.
20. Chiego D.J. *Essentials of Oral Histology and Embryology: A Clinical Approach*. 5<sup>th</sup> edition. St. Louis: Elsevier Inc., 2019.
21. Clark R.A. Overview and General Considerations. In: *The Molecular and Cellular Biology of Wound Repair* / Ed. by Clark R.A. F. New York: Plenum Press, 1996. P. 3–50.
22. Dawson D.V., Drake D.R., Hill J.R., Brogden K.A., Fischer C.L., Wertz P.W. Organization, barrier function and antimicrobial lipids of the oral mucosa // *Int. J. Cosmet. Sci.* 2013. Vol. 35, № 3. P. 220–223.
23. Deckers J., Hammad H., Hosten E. Langerhans cells: sensing the environment in health and disease // *Front. Immunol.* 2018. Vol. 9. P. 93.
24. Denk S., Perl M., Huber-Lang M. Damage- and pathogen-associated molecular patterns and alarmins: keys to sepsis? // *Eur. Surg. Res.* 2012. Vol. 48. P. 171–179.
25. De Ryck T., Vanlancker E., Grootaert C., Roman B. I., De Coen L.M., Vandenberghe I. et al. Microbial inhibition of oral epithelial wound recovery: potential role for quorum sensing molecules? // *AMB Express*. 2015. Vol. 5. Article № 27.
26. Des Jardins-Park H.E., Mascharak S., Chinta M.S., Wan D.C., Longaker M.T. The spectrum of scarring in craniofacial wound repair // *Front. Physiol.* 2019. Vol. 10. P. 322.
27. Drukała J., Zarzecka J., Gojniczek K., Waligórska A., Zapala J., Korohoda W. Comparison of proliferation and motile activity between human keratinocytes isolated from skin and oral mucosa // *Folia Biol. (Krakow)*. 2005. Vol. 53, № 1–2. P. 21–28.
28. Eslami A., Gallant-Behm C.L., Hart D.A., Wiebe C., Honardoust D., Gardner H. et al. Expression of integrin alpha v beta 6 and TGF-beta in scarless vs scar-forming wound healing // *J. Histochem. Cytochem.* 2009. Vol. 57, № 6. P. 543–557.
29. Freedberg I.M., Tomic-Canic M., Komine M., Blumenberg M. Keratins and the keratinocyte activation cycle // *J. Invest. Dermatol.* 2001. Vol. 116. P. 633–640.
30. Gale A.J. Current understanding of hemostasis // *Toxicol. Pathol.* 2011. Vol. 39, № 1. P. 273–280.
31. Gawaz M., Vogel S. Platelets in tissue repair: control of apoptosis and interactions with regenerative cells // *Blood*. 2013. Vol. 122. P. 2550–2554.
32. Garlick J.A., Parks W.C., Welgus H.G., Taichman L.B. Re-epithelialization of human oral keratinocytes in vitro // *J. Dent. Res.* 1996. Vol. 75, № 3. P. 912–918.
33. Golebiewska E.M., Poole A.W. Platelet secretion: From haemostasis to wound healing and beyond // *Blood Rev.* 2015. Vol. 29, № 3. P. 153–162.
34. Guo H., Callaway J.B., Ting J.P. Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics // *Nat. Med.* 2015. Vol. 21. P. 677–687.
35. Hakkinen L., Koivisto L., Heino J., Larjava H. Cell and Molecular Biology of Wound Healing. In: *Stem Cell Biology and Tissue Engineering in Dental Sciences* / Ed. by Vishwakarma A., Sharpe P., Shi S., Ramalingam M. Amsterdam, Boston, Heidelberg, London, New York et al.: Elsevier – Academic Press, 2015. P. 669–690.
36. Hakkinen L., Uitto V.J., Larjava H. Cell biology of gingival wound healing // *Periodontology*. 2000. 2000. Vol. 24. P. 127–152.
37. Hans M., Hans V.M. Epithelial antimicrobial peptides: guardian of the oral cavity // *Int. J. Peptides*. 2014. Vol. 2014. Article № 370297.
38. Holtzclaw D., Toscano N.J., Tal H. Spontaneous pigmentation of non-pigmented palatal tissue after periodontal surgery // *J. Periodontol.* 2010. Vol. 81, № 1. P. 172–176.
39. Huang P., Bi J., Owen G.R., Chen W., Rokka A., Koivisto L. et al. Keratinocyte microvesicles regulate the expression of multiple genes in dermal fibroblasts // *J. Invest. Dermatol.* 2015. Vol. 135, № 12. P. 3051–3059.
40. *Human Oral Mucosa: Development, Structure, and Function* / Ed. by Squier C.A., Brogden K.A. Oxford: John Wiley & Sons Ltd., 2011.
41. Juhasz I., Simon M.Jr., Herlyn M., Hunyadi J. Repopulation of Langerhans cells during wound healing in an experimental human skin. SCID mouse model // *Immunol. Lett.* 1996. Vol. 52, № 2–3. P. 125–128.
42. Kagami A., Matsuzaka K., Kokubun K., Inoue T. Regeneration of keratinocytes, Langerhans cells, Merkel cells and melanocytes after removal of the palatal mucosa in the early healing period // *J. Jap. Soc. Oral Mucous Membrane*. 2010. Vol. 16, № 1. P. 1.
43. Kapur R., Zufferey A., Boilard E., Semple J.W. Nouvelle cuisine: platelets served with inflammation // *J. Immunol.* 2015. Vol. 194. P. 5579–5587.
44. Kilian M. Systemic Disease: Manifestations of Oral Bacteria In: *Dental Microbiology* / Ed. by McGhee J.R., Michalek S.M., Cassell G.H. Philadelphia, Pa: Harpers & Row, 1982. P. 832–838.
45. Kinikoglu B., Damour O., Hasirci V. Tissue engineering of oral mucosa: a shared concept with skin // *J. Artif. Organs*. 2015. Vol. 18, № 1. P. 8–19.
46. Koivisto L., Häkkinen L., Larjava H. Re-epithelialization of wounds // *Endodont. Top.* 2012. Vol. 24. P. 59–93.
47. Krishnan K., Chen T., Paster B.J. A practical guide to the oral microbiome and its relation to health and disease // *Oral Dis.* 2017. Vol. 23, № 3. P. 276–286.
48. Kumar V., Abbas A.K., Aster J.C. Inflammation and Repair. In: *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease* / Ed. by

- Kumar V., Abbas A.K., Aster J.C. 9<sup>th</sup> edition. Philadelphia, Pa: Elsevier Saunders, 2015. P. 69–112.
49. Laheij A.M.G.A., deSoet J.J., Veerman E.C.I., Bolscher J.G.M., van Loveren C. The influence of oral bacteria on epithelial cell migration in vitro // *Mediators Inflamm.* 2013. Vol. 2013/ Article 154532.
  50. Lamont R.J., Jenkinson H.F. Life below the gum line: pathogenic mechanisms of *Porphyromonas gingivalis* // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 1998. Vol. 62, № 4. P. 1244–1263.
  51. Laplante A.F., Germain L., Auger F.A., Moulin V. Mechanisms of wound reepithelialization: Hints from a tissue-engineered reconstructed skin to long-standing questions // *FASEB J.* 2001. Vol. 5, № 13. P. 2377–2389.
  52. Larjava H. Oral Wound Healing: An Overview. In: *Oral Wound Healing: Cell Biology and Clinical Management* / Ed by Larjava H. Chichester, West Sussex: John Wiley & Sons Inc., 2012. P. 1–10.
  53. Larjava H., Salo T., Haapasalmi K., Kramer R.H., Heino J. Expression of integrins and basement membrane components by wound keratinocytes // *J. Clin. Invest.* 1993. Vol. 92. P. 1425–1435.
  54. Larjava H., Wiebe C., Gallant-Behm C., Hart D.A., Heino J., Häkkinen L. Exploring scarless healing of oral soft tissues // *J. Can. Dent. Assoc.* 2011. Vol. 77. P. b18.
  55. Lawrence W.T. Wound Healing Biology and its Application to Wound Management. In: *Physiologic Basis of Surgery* / Ed. by O'Leary J.P., Capota L.R. 2nd edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1996. P. 118–113.
  56. Leavitt T., Hu M.S., Marshall C.D., Barnes L.A., Lorenz H.P., Longaker M.T. Scarless wound healing: finding the right cells and signals // *Cell Tiss. Res.* 2016. Vol. 365. P. 483–493.
  57. Li Y., Fan J., Chen M., Li W., Woodley D.T. Transforming growth factor- $\alpha$ : a major human serum factor that promotes human keratinocyte migration // *J. Invest. Dermatol.* 2006. Vol. 126, № 9. P. 2096–2105.
  58. Loryman C., Mansbridge J. Inhibition of keratinocyte migration by lipopolysaccharide // *Wound Repair Regen.* 2008. Vol. 16. P. 45–51.
  59. Macrae F.L., Duval C., Papareddy P., Baker S.R., Yuldasheva N., Kearney K.J. et al. A fibrin biofilm covers blood clots and protects from microbial invasion // *Clin. Invest.* 2018. Vol. 128, № 8. P. 3356–3368.
  60. Mak K., Manji A., Gallant-Behm C., Wiebe C., Hart D.A., Larjava H. et al. Scarless healing of oral mucosa is characterized by faster resolution of inflammation and control of myofibroblast action compared to skin wounds in the red Duroc pig model // *J. Dermatol. Sci.* 2009. Vol. 56, № 3. P. 168–180.
  61. Martin P. Wound healing — aiming for perfect skin regeneration // *Science.* 1997. Vol. 276, № 5309. P. 75–81.
  62. Monsuur H.N., Boink M.A., Weijers E.M., Roffel S., Breetveld M., Gefen A. et al. Methods to study differences in cell mobility during skin wound healing in vitro // *J. Biomech.* 2016. Vol. 49, № 8. P. 1381–1387.
  63. Nurden A.T. The biology of the platelet with special reference to inflammation, wound healing and immunity // *Front Biosci. (Landmark Ed).* 2018. Vol. 23. P. 726–751.
  64. Ohshima M., Sato M., Ishikawa M., Maeno M., Otsuka K. Physiologic levels of epidermal growth factor in saliva stimulate cell migration of an oral epithelial cell line, HO-1-N-1 // *Eur. J. Oral Sci.* 2002. Vol. 110, № 2. P. 130–136.
  65. Omelchenko T., Vasiliev J.M., Gelfand I.M., Feder H.H., Bonder E.M. Rho-dependent formation of epithelial «leader» cells during wound healing // *PNAS.* 2003. Vol. 100, № 19. P. 10788–10793.
  66. Oral Mucous Membrane. In: *Orban's Oral Histology & Embryology* / Ed. by Kumar G.S. 15th edition. New Dehli: Elsevier, 2019. P. 191–234.
  67. Oxford G.E., Jonsson R., Olofsson J., Zelles T., Humphreys-Beher M.G. Elevated levels of human salivary epidermal growth factor after oral and juxtaoral surgery // *J. Oral Maxillofac. Surg.* 1999. Vol. 57, № 2. P. 154–158.
  68. Paladini R.D., Takahashi K., Bravo N.S., Coulombe P.A. Onset of re-epithelialization after skin injury correlates with a reorganization of keratin filaments in wound edge keratinocytes: defining a potential role for keratin 16 // *J. Cell Biol.* 1996. Vol. 132, № 3. P. 381–397.
  69. Perlmutter S., Tal H. Repigmentation of the gingiva following surgical injury // *J. Periodontol.* 1986. Vol. 57, № 1. P. 48–50.
  70. Politis C., Schoenaers J., Jacobs R., Agbaje J.O. Wound healing problems in the mouth // *Front. Physiol.* 2016. Vol. 7. Article № 507.
  71. Presland R.B., Jurevic R.J. Making sense of the epithelial barrier: what molecular biology and genetics tell us about the functions of oral mucosal and epidermal tissues // *J. Dent. Educ.* 2002. Vol. 66. P. 564–574.
  72. Reinke J.M., Sorg H. Wound repair and regeneration // *Eur. Surg. Res.* 2012. Vol. 49, № 1. P. 35–43.
  73. Rider P., Voronov E., Dinarello C.A., Apte R.N., Cohen I. Alarmins: Feel the stress // *J. Immunol.* 2017. Vol. 198, № 4. P. 1395–1402.
  74. Rittman B.R., Mackenzie I.C., Rittman G.A. Replacement of Langerhans cells in murine palate // *J. Oral. Pathol. Med.* 1989. Vol. 18, № 5. P. 279–281.
  75. Rørth P. Collective cell migration // *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 2009. Vol. 25. P. 407–429.
  76. Salo T., Makela M., Kylmaniemi M., Autio-Harmainen H., Larjava H. Expression of matrix metalloproteinase-2 and -9 during early human wound healing // *Lab. Invest.* 1994. Vol. 70, № 2. P. 176–182.
  77. Schoenichen C., Bode C., Duerschmied D. Role of platelet serotonin in innate immune cell recruitment // *Front. Biosci. (Landmark Ed).* 2019. Vol. 24. P. 514–526.
  78. Schrementi M.E., Ferreira A.M., Zender C., DiPietro L.A. Site-specific production of TGF- $\beta$  in oral mucosal and cutaneous wounds // *Wound Repair Regen.* 2008. Vol. 16. P. 80–86.
  79. Sciubba J.J., Waterhouse J.P., Meyer J. A fine structural comparison of the healing of incisional wounds of mucosa and skin // *J. Oral. Pathol.* 1978. Vol. 7, № 4. P. 214–227.
  80. Seeger M.A., Paller A.S. The roles of growth factors in keratinocyte migration // *Adv. Wound Care (New Rochelle).* 2015. Vol. 4, № 4. P. 213–224.
  81. Shaw T.J., Martin P. Wound repair at a glance // *J. Cell Sci.* 2009. Vol. 122. P. 3209–3213.
  82. Smith P., Martinez C. Wound Healing in the Oral Mucosa. In: *Oral Mucosa in Health and Disease: A Concise Handbook* / Ed. by Bergmeier L.A. Cham (Switzerland): Springer Int. Publ. AG, 2018. P. 77–91.
  83. Sorensen O.E., Cowland J.B., Theilgaard-Mönch K., Liu L., Ganz T., Borregaard N. Wound healing and expression of anti-

- microbial peptides/polypeptides in human keratinocytes, a consequence of common growth factors // *J. Immunol.* 2003. Vol. 170. P. 5583–5589.
84. Stenn K.S., Depalma L. Re-epithelialization. In: *The Molecular and Cellular Biology of Wound Repair* / Ed. by Hensen P.M. Clark R.A.F., New York: Plenum, 1988. P. 321–335.
85. Stocum D.L. Repair of Skin by Fibrosis. In: *Regenerative Biology and Medicine*. 2<sup>nd</sup> edit., London: Acad. Press — Elsevier Inc., 2012. P. 20–42.
86. Suzuki Y., Matsuzaka K., Ishizaki K., Tazaki M., Sato T., Inoue T. Characterization of the peri-implant epithelium in hamster palatine mucosa: behavior of Merkel cells and nerve endings // *Biomed Res.* 2005. Vol. 26, № 6. P. 257–269.
87. Szpaderska A.M., Zuckerman J.D., DiPietro L.A. Differential injury responses in oral mucosal and cutaneous wounds // *J. Dent. Res.* 2003. Vol. 82, № 8. P. 621–626.
88. Tachibana T., Ishizaki K. Merkel cell development in the wound healing in the labial mucosa of adult rabbits // *Arch. Histol. Jpn.* 1981. Vol. 44, № 2. P. 151–165.
89. Takaichi S., Muramatsu T., Lee J.-M., Jung H.-S., Shinozaki N., Katakura A., Yamane G. Re-epithelialization of the buccal mucosa after alkaline chemical injury // *Acta Histochem. Cytochem.* 2014. Vol. 47, № 5. P. 195–201.
90. Tan S.T., Dosan R. Lessons from epithelialization: the reason behind moist wound environment // *Open Dermatol. J.* 2019. Vol. 13, № 1. P. 34–40.
91. Teller P., White T.K. The physiology of wound healing: injury through maturation // *Surg. Clin. N. Am.* 2009. Vol. 89. P. 599–610.
92. Trepat X., Chen Z., Jacobson K. Cell migration // *Compr. Physiol.* 2012. Vol. 2, № 4. P. 2369–2392.
93. Tuomela T., Viinikka L., Perheentupa J. Effects of estradiol and progesterone on epidermal growth factor concentration in plasma, bile, urine, submandibular gland and kidney of the mouse // *Horm. Res.* 1989. Vol. 31, № 3. P. 143–147.
94. Turabelidze A., Guo S., Chung A.Y., Chen L., Dai Y. et al. Intrinsic differences between oral and skin keratinocytes // *PLoS One.* 2014. Vol. 9, № 9. Article № 101480.
95. Usui M.L., Underwood R.A., Mansbridge J.N., Muffley L.A., Carter W.G., Olerud J.E. Morphological evidence for the role of suprabasal keratinocytes in wound reepithelialization // *Wound Repair Regen.* 2005. Vol. 13, № 5. P. 468–479.
96. Vedula S.R.K., Leong M.C., Lai T. L., Hersen P., Kabla A.J., Lim C.T., Ladoux B. Emerging modes of collective cell migration induced by geometrical constraints // *PNAS.* 2012. Vol. 109, № 32. P. 12974–12979.
97. Velnar T., Bailey T., Smrkolj V. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms // *J. Int. Med. Res.* 2009. Vol. 37, № 5. P. 1528–1542.
98. Wang P.H., Huang B.S., Horng H.C., Yeh C.C., Chen Y.J. Wound healing // *J. Chin. Med. Assoc.* 2018. Vol. 81, № 2. P. 94–101.
99. Wang S.S., Tang Y.L., Pang X., Zheng M., Tang Y.J., Liang X.H. The maintenance of an oral epithelial barrier // *Life Sci.* 2019. Vol. 227. P. 129–136.
100. Watanabe S., Osumi M., Ohnishi T., Ichikawa E., Takahashi H. Changes in cytokeratin expression in epidermal keratinocytes during wound healing // *Histochem. Cell Biol.* 1995. Vol. 103, № 6. P. 425–433.
101. Wehrhan F., Schultze-Mosgau S., Schliephake H. Salient Features of the Oral Mucosa. In: *Essential Tissue Healing of the Face and Neck* / Ed. by Hom D.B., Hebda P.A., Gosain A.K., Friedman C.D. Shelton (CT): People's Medical Publishing House. BC Decker Inc., 2009. P. 83–99.
102. Werner S., Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines // *Physiol. Rev.* 2003. Vol. 83. P. 835–887.

### TISSUE, CELLULAR AND MOLECULAR BIOLOGY OF HEMOSTASIS AND REEPITHELIZATION IN THE HEALING WOUNDS OF THE ORAL MUCOSA

V. L. Bykov, I. V. Leontiyeva, V. V. Kulayeva, Ye. A. Iseyeva

This literature review contains the systematized analysis of the current knowledge regarding tissue, cellular and molecular mechanisms of wound healing of the oral mucosa (OM). The main attention is focused on the key phenomena of wound healing — hemostasis and restoration of the integrity of the epithelial barrier (reepithelization). Although hemostasis is primarily aimed at stopping bleeding from damaged vessels, the forming blood clot (in particular, the platelets that constitute it) plays an important role in the regeneration of the OM tissues, ensuring the recruitment of various cells into the wound, creating an environment for their migration and activating their functions due to growth factors and cytokines sequestered in the matrix. OM reepithelization begins with the migration of epithelial cells from the wound edges into the tissue defect area within a few hours after tissue damage, and continues throughout all phases of wound healing. The review considers different models of epithelial migration and its cellular mechanisms, histological and ultrastructural transformations of the epithelium at different time intervals before and after the restoration of the integrity of its layer. The continuous interactions of the epithelial cells between themselves, with other cells and the matrix with the participation of adhesive compounds and signaling molecules underlying reepithelization are described. The influence of microorganisms on wound epithelialization and the state of non-epithelial dendritic cells in the regenerating epithelium of OM are considered. The most important problems of OM wound healing requiring detailed morphological analysis are noted.

**Key words:** *oral mucosa, wound, regeneration, hemostasis, reepithelization*

Department of Histology, Embryology and Cytology, I. P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University, 6–8 L. Tolstoy St, 197022 St. Petersburg