

Механизмы ранозаживления у крыс со стрептозотоциновым сахарным диабетом

© Е.В. Иванов¹, С.А. Гаврилова¹, М.П. Морозова¹, Е.М. Клочихина¹, А.К. Ердяков¹, А.М. Горбачева^{1*}, З.Н. Джемиллова², Е.В. Артемова², Г.Р. Галстян², В.Б. Кошелев¹

¹ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва, Россия;

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России, Москва, Россия

Обоснование. Нарушение ранозаживления и формирование диабетической стопы, тяжелого инвалидизирующего осложнения сахарного диабета, сопровождается поражением нервной системы и/или ишемией.

Цель исследования — изучение влияния нарушений периферической иннервации на регуляцию репарации тканей в стрептозотоциновой модели сахарного диабета у крыс.

Материал и методы. Исследование выполняли на 70 самцах белых беспородных крыс. Животным наносили рану через 42 дня после моделирования сахарного диабета инъекцией стрептозотцина (группа СД; для снижения смертности эта группа получила инсулин Левемир в дозе 2 Ед/кг в физиологическом растворе подкожно) либо после инъекции цитратного буфера (группа ЦБ). Забор проб кожи проводили на 8, 16 и 24-е сутки после моделирования раны. У всех животных оценивали болевую чувствительность. Полученные фрагменты кожи фиксировали, дегидратировали и заливали парафином по стандартной методике. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, для иммуногистохимического окрашивания использовали антитела, специфичные к Ki-67, α_1 -, β_1 - и β_2 -адренорецепторам. В качестве дополнительной группы контроля использовали интактных животных.

Результаты. В группе СД время отдергивания хвоста у крыс на 56-е сутки увеличивалось по сравнению с группой контроля ($p=0,017$). В группе ЦБ прослеживалась тенденция к более быстрому заживлению раны, чем у животных с СД, хотя из-за большого разброса данных у крыс группы СД различия не достигали статистической значимости ($p=0,64$). Интенсивность окрашивания на Ki-67 в группе СД была ниже ($p=0,045$). В отдаленных от раны участках кожи крыс группы ЦБ наблюдалось снижение плотности β_2 -адренорецепторов.

Заключение. Полученные данные не позволяют связать изменения иннервации с нарушением процесса репарации тканей у крыс со стрептозотоциновым диабетом.

Ключевые слова: периферическая нейропатия, стрептозотоциновый сахарный диабет, репарация тканей, нервная регуляция, кератиноциты.

Wound healing mechanisms in rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus

© Evgeniy V. Ivanov¹, Svetlana A. Gavrilova¹, Maria P. Morozova¹, Ekaterina M. Klochihina¹, Aleksey K. Erdyakov¹, Anna M. Gorbacheva^{1*}, Zera N. Dzhemilova², Ekaterina V. Artemova², Gagik R. Galstyan², Vladimir B. Koshelev¹

¹Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia;

²Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia

Background. Wound healing disorders and formation of diabetic foot, a severe disabling complication of diabetes mellitus, are accompanied by nervous system impairment and/or ischemia.

Objective — the study was aimed at assessing the effect of peripheral innervation disorders on the regulation of tissue repair in the streptozotocin-induced rat model of diabetes mellitus.

Material and methods. The study was carried out in male white outbred rats ($n=70$). The animals were wounded 42 days after induction of diabetes by injecting streptozotocin (diabetes group; this group received insulin Levemir at a dose of 2 units/kg in saline subcutaneously to reduce mortality), or after injection of citrate buffer (CB group). Skin samples were taken on day 8, 16, and 24 after wound modeling. Pain sensitivity was assessed in all animals. The resulting skin fragments were fixed, dehydrated, and embedded in paraffin according to standard procedures. Sections were stained with hematoxylin and eosin, antibodies specific for Ki-67, α_1 , β_1 , and β_2 -adrenoreceptors were used for immunohistochemical staining. Intact animals were used as an additional control group.

Results. Tail withdrawal time measured on day 56 was higher in DM group rats as compared to the control group ($p=0.017$). CB group demonstrated a tendency towards more rapid wounds healing than diabetic animals, although the difference was not statistically significant due to wide scatter of data in the DM group ($p=0.64$). The intensity of staining for Ki67 was lower in the DM group ($p=0.045$). Reduced density of β_2 -adrenoreceptors was observed at the areas remote from the wound in CB group rats.

Conclusion The results show no correlation between altered innervation and impaired tissue repair in rats with streptozotocin-induced diabetes.

Keywords: peripheral neuropathy, streptozotocin-induced diabetes, tissue repair, nervous regulation, keratinocytes.

На сегодняшний день более 460 млн людей во всем мире страдают сахарным диабетом; по прогнозам Международной федерации диабета к 2040-му году число больных возрастет до 642 млн [1].

Сахарный диабет сопровождается развитием осложнений, в том числе синдромом диабетической стопы (СДС), одним из ведущих клинических симптомов которого является персистенция язвенного

дефекта на коже нижних конечностей [2]. Развиваясь на фоне нейропатии, ишемии и постоянного травмирования, дополненных метаболическими сдвигами, индуцированными гипергликемией, такие язвенные дефекты плохо поддаются лечению, повышают риск ампутаций, инвалидизации и смерти пациентов [3]. Описанная ситуация обуславливает актуальность изучения патогенетических аспектов фор-

мирования хронических ран при сахарном диабете и потенциальных способов их лечения.

В настоящее время уделяется особое внимание влиянию нервной системы на ключевые механизмы ранозаживления, особенно на пролиферацию и миграцию кератиноцитов — основных клеток кожного покрова человека [4].

Сложность изучения механизмов ранозаживления при сахарном диабете связана, во-первых, с наличием в коже собственной не-нейрональной катехоламинергической системы [5] и, во-вторых, с тем, что реакция кератиноцитов зависит от внутриклеточной системы посредников [6—9]. В экспериментах на клеточных культурах доказана роль β_2 -адренорецепторов (β_2 АР) в регуляции жизненного цикла кератиноцитов. Эти рецепторы представляют собой трансмембранные белки, связанные с G-белками, которые в большом количестве экспрессируются недифференцированными кератиноцитами кожи человека. От того, какая α -субъединица G-белка экспрессируется клеткой (G α s или G α i), зависит повышение или снижение внутриклеточного уровня цАМФ. Стимуляция β_2 АР способствует усилению гальванотаксиса, миграции, пролиферации и дифференцировки кератиноцитов. Наличие и влияние других подтипов адренорецепторов менее изучены. Данные, полученные на клетках, не учитывают регуляторных влияний организмов, изменений скорости метаболизма медиаторов, плотности нервных окончаний, выраженности нейропатии при сахарном диабете.

Показано, что у кератиноцитов, выращенных в условиях повышенного содержания глюкозы в среде, нарушены пролиферация и миграция (снижена экспрессия интегрин α_3 , фактора роста кератиноцитов). Такие клетки формируют неполноценные щелевые контакты, в них усиливается окислительный стресс, повышается уровень апоптоза. В окружающих кератиноциты тканях при сахарном диабете нарушен ангиогенез, избыточно продуцируются матриксные металлопротеиназы, высоки риски инфицирования [10—12]. Все это способствует формированию хронической незаживающей раны. Однако комплексных исследований, посвященных влиянию нейропатии на ранозаживление при сахарном диабете, нами не обнаружено.

Цель исследования — изучение развития нейропатии как возможного механизма нарушения ранозаживления в стрептозотоциновой модели сахарного диабета у крыс.

Материал и методы

Исследование выполняли на 70 самцах белых беспородных крыс массой 350 ± 25 г. Животных содержали в условиях вивария с регулируемым световым режимом (12 ч день, 12 ч ночь) со свободным доступом к воде и пище. Крыс рандомизировали в группы по массе тела и вариативности ритма сердца.

Сахарный диабет моделировали однократной внутривенной (в/в) инъекцией стрептозотоцина в дозе 65 мг/кг в холодном 0,1 М цитратном буфере (рН=4,5, t=+4 °C) [3]. На 3-и сутки оценивали уровень глюкозы в крови. Животные с уровнем глюкозы ниже 15 мМ/мл из эксперимента исключались. День верификации сахарного диабета считали первым днем его развития (группа СД). Далее, в течение всего эксперимента, 1 раз в день в первой половине дня животные этой группы получали поддерживающую инъекцию инсулина детемира (препарат Левемир) в дозе 2 Ед/кг в физиологическом растворе подкожно. Дозу инсулина подбирали предварительно таким образом, чтобы в течение 1 сут сохранялась значительная гипергликемия.

В качестве контроля исследовали крыс, получивших однократную в/в инъекцию холодного 0,1 М цитратного буфера (рН=4,5, t=+4 °C) в пропорциональном объеме (группа ЦБ, контроль). Инъекцию стрептозотоцина или цитратного буфера проводили во второй половине дня, в период наименьшей активности животных. Дополнительно исследовали интактных (группа ИК) животных.

Уровень глюкозы в крови крыс оценивали еженедельно (глюкометр iCheck).

Болевую чувствительность (период между моментом погружения кончика хвоста животного на 2 см в воду температурой 55 °C и временем отдергивания хвоста) измеряли еженедельно.

На 42-е сутки наркотизированным хлоралгидратом крысам групп СД и ЦБ ниже левой лопатки наносили круглую рану диаметром 2 см (иссечение ножницами). После нескольких операций из-за вызываемой хлоргидратом смерти животных его заменили на диэтиловый эфир. Оценку площади раневой поверхности проводили сразу после нанесения раны и далее каждые 3-и сутки в программе Universal Desktop Ruler. Забор проб кожи проводили на 8, 16 и 24-е сутки после моделирования раны. Забор ткани кожи у животных группы ИК проводили на 4-м месяце жизни. В каждый срок забор кожи осуществляли у 10 животных каждой группы.

Полученные фрагменты кожи фиксировали, дегидратировали и заливали парафином по стандартной методике. Образцы нарезали таким образом, чтобы в микропрепарат попадали участки раневого дефекта и окружающей его неповрежденной кожи. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином по стандартной методике. Для иммуногистохимического окрашивания на Ki-67, α_1 -, β_1 - и β_2 -АР использовали первичные антитела кролика (Abcam), вторичные антитела, конъюгированные с пероксидазой хрена (козел против кролика, Abcam), и систему визуализации DAB. Препараты изучали с помощью светового микроскопа Zeiss Imager A1 Axio («Zeiss», Германия), фотографии получали с помощью программы AxioVision 3,5 («Zeiss», Германия). Относительную плотность окрашивания

измеряли в программе ImagePro и сравнивали с отрицательным контролем (образцы, окрашенные без первичных антител).

Условия проведения

Эксперимент проводили на базе кафедры физиологии и общей патологии факультета фундаментальной медицины (ФФМ) Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова.

Этическая экспертиза

При работе с экспериментальными животными руководствовались приказом Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации №708н от 23.08.10 «Об утверждении правил лабораторной практики». На проведение экспериментов было получено разрешение комиссии ФФМ МГУ им. М.В. Ломоносова по биоэтике.

Статистический анализ

Статистическую обработку данных проводили в пакетах программ Statistica 10.0 и IBM SPSS Statistics 23.0. Для оценки выживаемости применяли модель Кокса, допускающую частичную неполноту данных [2]. Для оценки динамики ранозаживления и изменения болевой чувствительности использовали функцию дисперсионного анализа повторных измерений (repeated measures ANOVA) [2]. Для сравнения плотностей экспрессии различных белков использовали многофакторный дисперсионный анализ с построением смешанной линейной модели (метод наименьшей значимой разницы по Фишеру). Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Общее состояние животных

Однократная инъекция стрептозоцина приводила к развитию сахарного диабета у крыс на 3-и сутки: уровень глюкозы в крови в 4–7 раз превышал исходный (6,2 мМ) и оставался повышенным на протяжении всего эксперимента. Для увеличения выживаемости животным с диабетом ежедневно вводили инсулин. За весь срок эксперимента погибли 3 крысы из 70. Исходная масса крыс составляла в группе СД 367 ± 55 г, в группе ЦБ 372 ± 73 г, в группе ИК 360 ± 84 г. Потеря массы тела у животных группы СД, несмотря на поддерживающую инсулинотерапию, постепенно увеличивалась и к концу эксперимента составила 25%. Животные группы ЦБ, напротив, к концу опыта прибавили в массе в среднем 20% ($p < 0,01$).

Динамика болевой чувствительности

Для оценки развития нейропатии проводили тест с отдергиванием хвоста. У животных групп ЦБ и ИК время отдергивания хвоста, опущенного в воду тем-

пературы 55°C , было практически одинаковым и составляло в среднем $1,7 \pm 0,3$ с. После моделирования СД, начиная с 7-х суток, это время постепенно нарастало и к 56-м суткам составило $2,9 \pm 0,4$ с ($p = 0,017$).

Динамика ранозаживления

Скорость ранозаживления у крыс групп СД и ЦБ практически не различалась ($p = 0,672$). Однако это могло быть связано с большим разбросом размеров раны в группе СД (рис. 1). В группе ЦБ в отличие от СД у всех крыс рана зажила к 24-м суткам.

Морфологический и иммуногистохимический анализы заживления раны

У интактных крыс в срезах кожи, окрашенных гематоксилином и эозином, визуализирован нормальной толщины эпидермис с четко выраженными базальными, шиповатым и зернистым слоями (рис. 2, а на цв. вклейке).

На 8-е сутки после нанесения раны большая часть раневой поверхности была закрыта грануляционной тканью, интенсивно инфильтрированной клетками воспаления: нейтрофилами, макрофагами и лимфоцитами (см. рис. 2, б на цв. вклейке). Грануляционную ткань покрывал слой некротических масс. Регенерирующий край эпидермиса часто был утолщен.

На 16-е сутки наблюдались затухание воспалительного процесса и исчезновение признаков острого повреждения. Большая часть ран была покрыта грануляционной тканью, эпидермис у края раны был значительно утолщен (см. рис. 2, в на цв. вклейке). Под формирующимся эпидермисом образовались фиброзная ткань, рубец. У некоторых крыс группы ЦБ, но не СД, реэпителизация раны завершилась к 16-м суткам.

На 24-е сутки после моделирования раны формировался грубоволокнистый рубец, покрытый тонким слоем эпидермиса (см. рис. 2, г на цв. вклейке). У ряда крыс группы СД и в этот срок полной регенерации кожи не происходило.

Имуногистохимическое окрашивание

Общий вид препаратов, окрашенных методом иммуногистохимии, представлен на рис. 3 (на цв. вклейке).

Кератиноциты кожи крыс группы ИК в значительной степени экспрессировали Ki-67, маркер клеточной пролиферации, что соответствует высокой регенеративной активности эпидермиса. Нанесение раны крысам группы ЦБ на ранних сроках незначимо влияло на регенеративную активность. На 24-е сутки заживления, когда у всех крыс в этой группе уже завершилась реэпителизация, экспрессия маркера Ki-67 как в крае раны, так и в относительно отдаленных участках кожи значимо уменьшилась по сравнению с предыдущими временными точками у интактных животных и крыс группы СД (рис. 4).

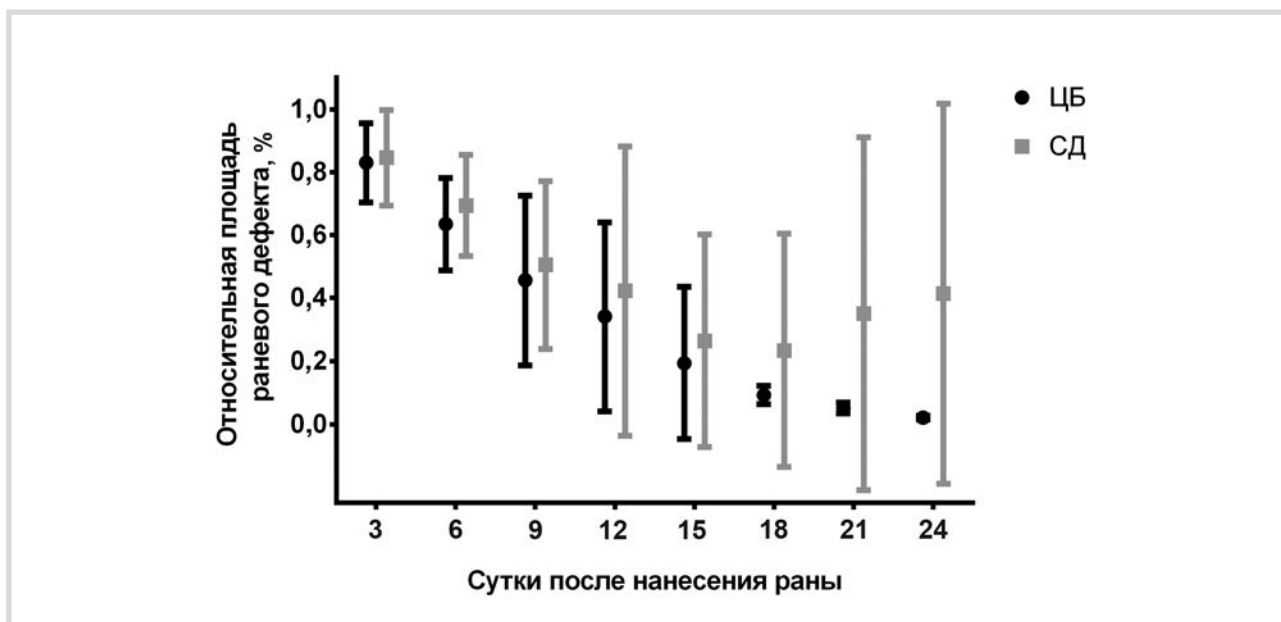


Рис. 1. Динамика ранозаживления у крыс разных групп ($M \pm m$).

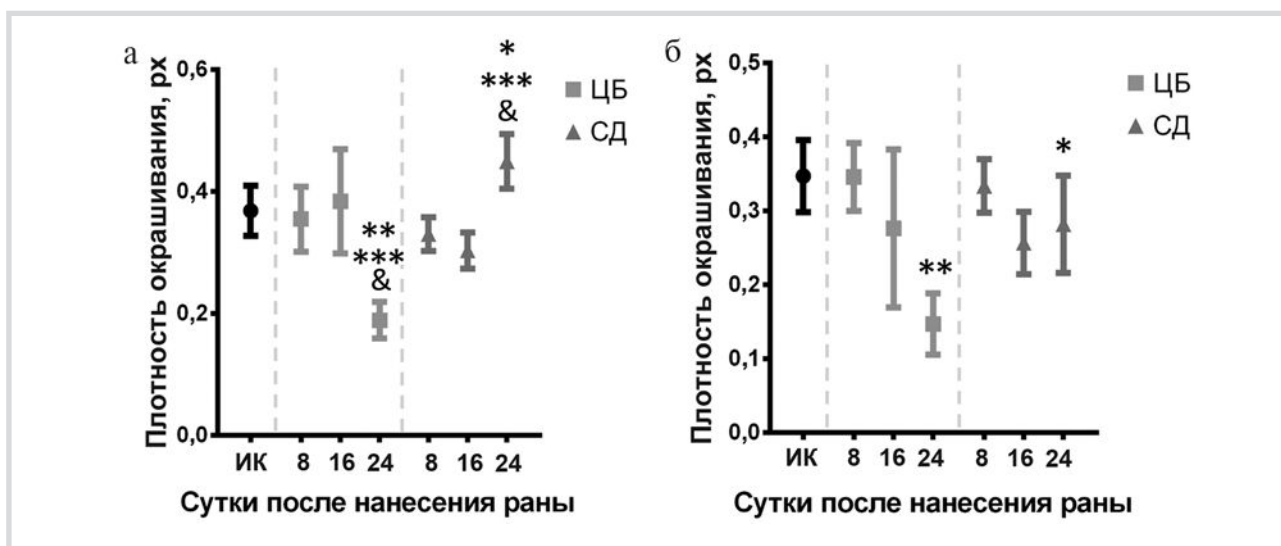


Рис. 4. Плотность окрашивания на маркер Ki-67 ($M \pm m$): а — в отдаленных участках кожи, б — в крае раны.

* — $p < 0,05$ по сравнению с группой ЦБ, ** — $p < 0,05$ по сравнению с группой ИК, *** — $p < 0,05$ по сравнению с 8-ми сутками внутри группы, & — $p < 0,05$ по сравнению с 16-ми сутками внутри группы.

В группе СД как на 8-е, так и на 16-е сутки в обеих локализациях экспрессия Ki-67 значимо не изменилась, но на 24-е сутки в области края раны увеличилась по сравнению с группой ИК ($p=0,036$), ЦБ ($p=0,041$) и предыдущей временной точкой ($p=0,028$).

В большинстве временных точек как в группе СД, так и в группе ЦБ экспрессия Ki-67 значимо не различалась в крае раны и на некотором отдалении от него. Лишь на 24-е сутки в группе СД в крае раны окрашивание на Ki-67 оказалось интенсивнее, чем в отдаленном участке эпидермиса (рис. 5).

Таким образом, в группе СД экспрессия маркера пролиферации увеличилась в крае раны на 24-е сутки после ее нанесения ($p=0,04$), что свидетельствует об усилении регенеративных процессов, в то время как в группе ЦБ экспрессия маркера на 24-е сутки значимо уменьшилась на фоне завершившейся к этому моменту реэпителизации раны ($p=0,031$).

Ни в одной группе, включая ИК, мы не обнаружили окрашивания эпидермиса на β_1 - и α_1 -АР, что может свидетельствовать об отсутствии их экспрессии кератиноцитами крыс. С другой стороны,

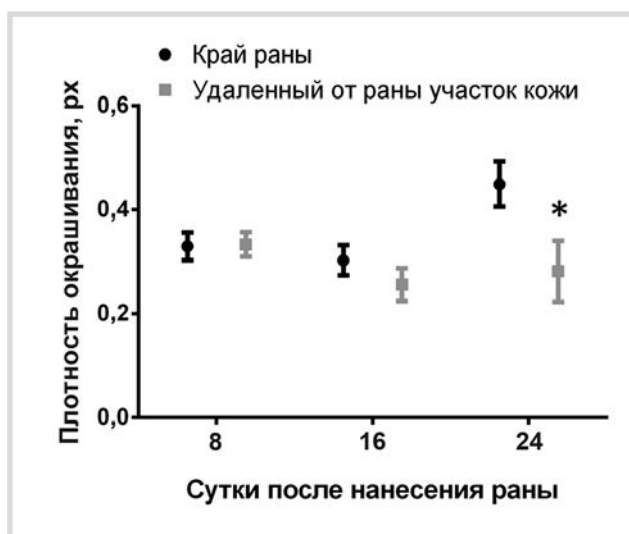


Рис. 5. Сравнение плотности окрашивания на Ki-67 в крае раны и отдаленном участке эпидермиса на 8, 16 и 24-е сутки в группе СД ($M \pm m$); * — $p < 0,05$ по сравнению с краем раны.

β_2 -адренорецепторы в значительной степени экспрессировались кератиноцитами животных всех групп, включая ИК. Следует отметить преимущественно базальное расположение положительно окрашенных клеток в эпидермисе (см. рис. 2, б на цв. вклейке).

На 8-е и 16-е сутки экспрессия β_2 -АР не различалась между группами и участками кожи. На 24-е сутки их экспрессия уменьшилась в группе ЦБ в отдаленных участках кожи ($p = 0,046$) (рис. 6).

Обсуждение

Нейропатия является одним из возможных механизмов нарушения ранозаживления в стрептозотоциновой модели сахарного диабета у крыс.

Результаты теста болевой чувствительности показали, что у крыс группы СД на исследуемых сроках ранозаживления развивается периферическая нейропатия, затрагивающая чувствительные нервные окончания [11, 12]. Морфологические изменения кожи животных и иммуногистохимические данные согласуются с развитием нейропатии, что позволяет говорить о взаимосвязи этих изменений.

Хотя скорость заживления раны, нанесенной на 42-е сутки развития гипергликемии, статистически не различалась у животных контрольной (ЦБ) и диабетической (СД) групп, но у всех крыс группы ЦБ с течением времени рана уменьшилась, снижался внутригрупповой разброс, и к 24-м суткам после нанесения раны у всех крыс этой группы имело место полное заживление. В группе СД были выявлены животные с более высокой и более низкой скоростью ранозаживления, но ни у одной крысы этой группы к 24-м суткам рана не закрылась полностью. Это повысило внутригрупповой разброс, что и препятство-

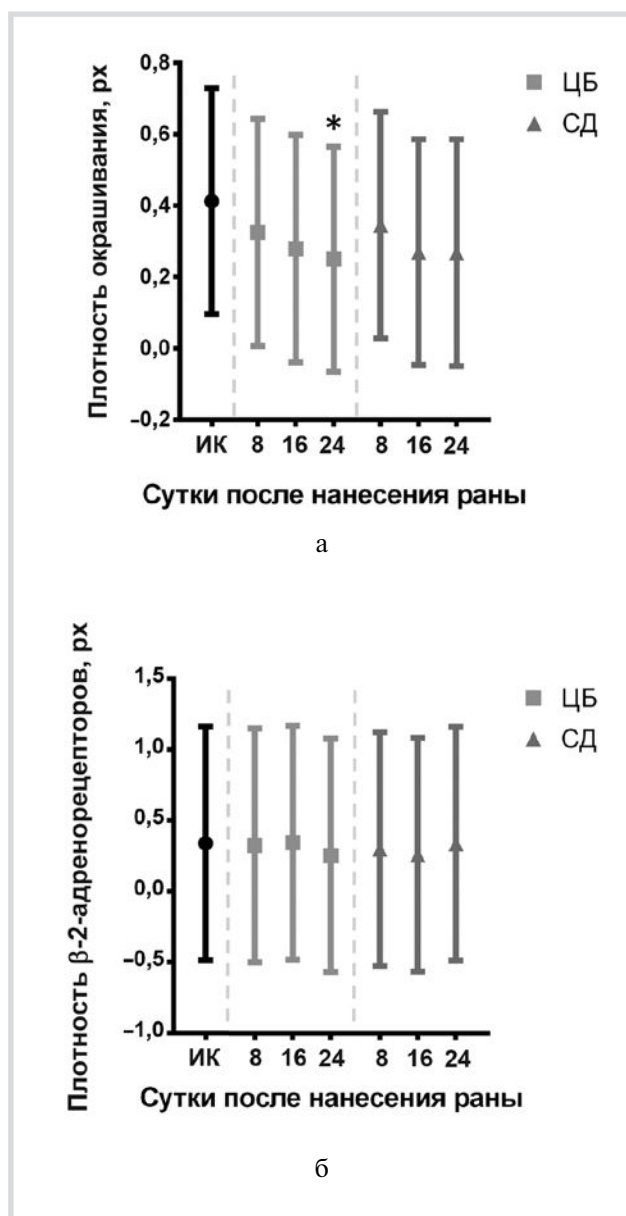


Рис. 6. Интенсивность экспрессии β_2 -АР в разных участках кожи крыс с СД на разных сроках ранозаживления.

а — отдаленный от раны участок кожи; б — край раны. * — $p < 0,05$ по сравнению с группой ИК, согласно многофакторному дисперсионному анализу.

вало выявлению различий между группами ЦБ и СД. Разная скорость ранозаживления у крыс с СД может быть вызвана разным уровнем гипергликемии, которая зависит от чувствительности β -клеток поджелудочной железы к стрептозотоцину.

При исследовании гистологических образцов на светооптическом уровне картина острой раны у крыс постепенно сменялась картиной ранозаживления вторичным натяжением: уменьшалась лейкоцитарная инфильтрация, формировался конус ранозаживления, прорастали новые сосуды, раневой дефект заполнялся соединительной тканью. В группе ЦБ на

24-е сутки после нанесения раны (56-е сутки эксперимента) репарация раны завершилась, в группе СД наблюдалось замедление развития всех этапов заживления; к концу эксперимента у большей части животных этой группы рана не закрылась.

Окрашивание на Ki-67 выявило высокий уровень пролиферативной активности в коже интактных крыс. Формирование раны не изменило уровень пролиферации в группе ЦБ ни в отдаленном от края раны участке кожи, ни в крае раны. На месте раны снизился общий уровень пролиферации при полном ее заживлении. Интересно, что у животных группы СД к 24-м суткам после моделирования раны в краю раны на фоне незажившего дефекта экспрессия Ki-67 возросла. Результат свидетельствует о том, что репарация кожи у здоровых крыс происходит за счет избыточного изменения пролиферативной активности различных подтипов кератиноцитов, когда рана закрывается, под тонким слоем эпидермиса продолжают процессы восстановления здорового кожного покрова в нижних слоях кожи. На этом фоне снижается экспрессия Ki-67 кератиноцитов. У животных с СД, скорее всего, нарушается процесс активации популяции кератиноцитов, участвующих в ранозаживлении, поэтому базовой пролиферативной активности не хватает для успешного устранения дефекта кожи, и к 24-м суткам после нанесения раны наблюдается увеличение уровня Ki-67.

Мы не выявили какой-либо связи между сахарным диабетом, стадиями ранозаживления и плотностью адренорецепторов в эпидермисе кожи крыс. Плотность окрашивания β_2 -АР в кератиноцитах значимо не различалась между группами. Снижение экспрессии рецепторов в удаленной от раны коже крыс в группе ЦБ пока не имеет объяснения. В целом можно прийти к заключению, что плотность β_2 -АР у крыс с сахарным диабетом не меняется в процессе ранозаживления. Тем не менее для формирования определенных выводов о наличии или отсутствии изменений периферической иннервации в процессе ранозаживления у крыс с сахарным диабетом требуется более подробное изучение данного вопроса, включающее оценку состояния других компонентов симпатической и парасимпатической нервной системы в коже.

Заключение

Проведенное исследование позволило получить новую информацию о ранозаживлении в модели стрептозотоцинового диабета у крыс. На фоне поддерживающей инсулинотерапии в предложенном протоколе у крыс развивался сахарный диабет, не обуславливающий смерть животных в течение 56 сут.

При этом постепенно снижалась болевая чувствительность, что особенно ярко проявилось к 56-м суткам эксперимента. Результаты морфологического исследования указывают на ухудшение реэпителизации раны у крыс группы СД. В крайней точке исследования у них увеличилась пролиферативная активность кератиноцитов края раны, тогда как в группе ЦБ к этому моменту закончилась эпителизация, и пролиферативная активность, напротив, снизилась. Плотность β_2 -АР у крыс не меняется ни при сахарном диабете, ни в процессе ранозаживления.

Изучение плотности иннервации в коже края ран, концентрации метаболитов нейромедиаторов, а также расширение спектра исследуемых нейрональных и не-нейрональных систем регуляции ранозаживления позволят сформировать комплексное представление о процессах, протекающих в хронической диабетической ране, найти новые потенциальные мишени для терапии и в конечном счете улучшить качество оказываемой помощи пациентам с СДС.

Дополнительная информация

Дополнительные материалы к статье:

Рис. 2. Морфология кожи крыс при окраске гематоксилином и эозином.
Доступен на цветной вклейке и в сети Интернет:
<https://doi.org/10.14341/probl9691-3197>



Рис. 3. Примеры иммуногистохимического окрашивания. ДАБ.
Доступен на цветной вклейке и в сети Интернет:
<https://doi.org/10.14341/probl9691-3198>



Источник финансирования. Работа поддержана Российским научным фондом (грант РНФ №16-15-10365).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов:

Гистологическая обработка образцов ткани, иммуногистохимическое окрашивание, анализ полученных данных, их статистическая обработка, поиск и анализ информации в международных базах данных, написание текста публикации — Иванов Е.В.; подготовка и ведение экспериментов на животных, поиск и анализ информации в международных базах данных, написание текста публикации — Горбачева А.М.; поиск и анализ информации в международных базах данных, написание текста публикации, редактирование текста публикации — Гаврилова С.А.

Подготовка и ведение экспериментов на животных, оценка иммуногистохимического окрашивания образцов на срезах — Морозова М.П.; подготовка и ведение экспериментов на животных — Ключихина Е.М.; поиск и анализ информации в международных базах данных, написание текста публикации, редактирование текста публикации — Ердяков А.К., Артемова Е.В.

Редактирование текста публикации — Галстян Г.Р., Кошелев В.Б.

Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

ЛИТЕРАТУРА | REFERENCES

1. Токмакова А.Ю., Страхова Г.Ю., Арбузова М.И. Особенности хронических ран у больных сахарным диабетом и пути их коррекции. // *Эндокринная хирургия*. — 2007. — Т. 1. — № 1. — С. 38–42. [Tokmakova AYu, Strakhova GYu, Arbuзова MI. Osobennosti khronicheskikh ran u bol'nykh sakharnym diabetom i puti ikh korreksii. *Endocrine Surgery*. 2007;1(1):38-42. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/2306-3513-2007-1-38-42>
2. Garwood CS, Steinberg JS, Kim PJ. Bioengineered alternative tissues in diabetic wound healing. *Clin Podiatr Med Surg*. 2015; 32(1):121-133. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cpm.2014.09.004>
3. Demidova-Rice TN, Hamblin MR, Herman IM. Acute and impaired wound healing: pathophysiology and current methods for drug delivery, part 1: normal and chronic wounds: biology, causes, and approaches to care. *Adv Skin Wound Care*. 2012;25(7):304-314. doi: <https://doi.org/10.1097/01.asw.0000416006.55218.d0>
4. Roosterman D, Goerge T, Schneider SW, et al. Neuronal control of skin function: the skin as a neuroimmunoendocrine organ. *Physiol Rev*. 2006;86(4):1309-1379. doi: <https://doi.org/10.1152/physrev.00026.2005>
5. Grando SA, Pittelkow MR, Schallreuter KU. Adrenergic and cholinergic control in the biology of epidermis: physiological and clinical significance. *J Invest Dermatol*. 2006;126(9):1948-1965. doi: <https://doi.org/10.1038/sj.jid.5700151>
6. Grando SA, Kist DA, Qi M, Dahl MV. Human Keratinocytes Synthesize, Secrete, And Degrade Acetylcholine. *J Invest Dermatol*. 1993;101(1):32-36. doi: <http://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12358588.7>
7. Inoue R, Yoshihisa Y, Tojo Y, et al. Localization of serine racemase and its role in the skin. *J Invest Dermatol*. 2014;134(6):1618-1626. doi: <https://doi.org/10.1038/jid.2014.22>
8. Pullar CE, Manabat-Hidalgo CG, Bolaji RS, Isseroff RR. Beta-Adrenergic receptor modulation of wound repair. *Pharmacol Res*. 2008;58(2):158-164. doi: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2008.07.012>
9. Ramaekers G, Lamers J, Verhey F, et al. A comparative study of the effects of carbamazepine and the NMDA receptor antagonist remacemide on road tracking and car-following performance in actual traffic. *Psychopharmacology (Berl)*. 2002;159(2):203-210. doi: <https://doi.org/10.1007/s002130100898>
10. Biessels GJ, Bril V, Calcutt NA, et al. Phenotyping animal models of diabetic neuropathy: a consensus statement of the diabetic neuropathy study group of the EASD (Neurodiab). *J Peripher Nerv Syst*. 2014;19(2):77-87. doi: <https://doi.org/10.1111/jns5.12072>
11. Румянцев П.О., Саенко В.А., Румянцева У.В. и др. Статистические методы анализа в клинической практике. Часть 2. Анализ выживаемости и многомерная статистика. // *Проблемы эндокринологии*. — 2009. — № 55(6). — С. 48–56. [Rumyantsev PO, Saenko VA, Rumyantseva UV, et al. Statistical methods for the analyses in clinical practice. Part 2. Survival analysis and multivariate statistics. *Problems of Endocrinology*. 2009;55(6):48-56. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/probl200955648-56>
12. Yorek MA. Alternatives to the streptozotocin-diabetic rodent. *Int Rev Neurobiol*. 2016;127:89-112. doi: <https://doi.org/10.1016/bs.irm.2016.03.002>

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

*Горбачева Анна Максимовна [Anna M. Gorbacheva, MD]; адрес: 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11, [address: 11, Dm.Ul'yanova street, 117036 Moscow, Russia]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6581-4521>; eLibrary SPIN: 4568-4179; e-mail: ann.gorbachewa@yandex.ru
Иванов Евгений Викторович [Evgeniy V. Ivanov, MD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3382-4458>; eLibrary SPIN: 8191-5630; e-mail: ivanov101@gmail.com

Гаврилова Светлана Анатольевна, к.б.н., доцент [Svetlana A. Gavrilova, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8776-6062>; eLibrary SPIN: 9212-1137; e-mail: sgavrilova@mail.ru

Морозова Мария Павловна, к.б.н. [Maria P. Morozova, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7829-4753>; eLibrary SPIN: 2018-3418; e-mail: mormasha@gmail.com

Клочихина Екатерина Михайловна [Ekaterina M. Klochihina, MD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9485-3068>; eLibrary SPIN: 4202-2107; e-mail: klochikhinaem@gmail.com

Ердяков Алексей Константинович, к.б.н., [Aleksey K. Erdyakov, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2208-5733>; eLibrary SPIN: 3983-4010; e-mail: erdiakov@fbm.msu.ru

Джемилова Зера Нусредовна [Zera N. Dzhemilova, MD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1129-8995>; eLibrary SPIN: 4455-5667; e-mail: zera1987@mail.ru

Артемова Екатерина Викторовна [Ekaterina V. Artemova, MD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2232-4765>; eLibrary SPIN: 4649-0765; e-mail: profilaktika@bk.ru

Галстян Гагик Радикович, д.м.н., профессор [Gagik R. Galstyan, MD, PhD, professor]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6581-4521>; eLibrary SPIN: 9815-7509; e-mail: galstyangagik964@gmail.com

Кошелев Владимир Борисович, д.б.н. [Vladimir B. Koshelev, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0354-5607>; eLibrary SPIN: 2358-7046; e-mail: KoshelevVladimir1953@yandex.ru

ИНФОРМАЦИЯ

Рукопись получена: 28.05.2018. Одобрена к публикации: 17.08.2018.

КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Иванов Е.В., Гаврилова С.А., Морозова М.П., Клочихина Е.М., Ердяков А.К., Горбачева А.М., Джемилова З.Н., Артемова Е.В., Галстян Г.Р., Кошелев В.Б. Механизмы ранозаживления у крыс со стрептозоточиновым сахарным диабетом. // *Проблемы эндокринологии*. — 2018. — Т. 64. — № 5. — С.292-298. doi: <https://doi.org/10.14341/probl9691>

TO CITE THIS ARTICLE:

Ivanov EV, Gavrilova SA, Morozova MP, Klochihina EM, Erdiakov AK, Gorbacheva AM, Dzhemilova ZN, Artemova EV, Galstyan GR, Koshelev VB. Mechanisms of wound healing in rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Problems of Endocrinology*. 2018;64(5):292-298. doi: <https://doi.org/10.14341/probl9691>

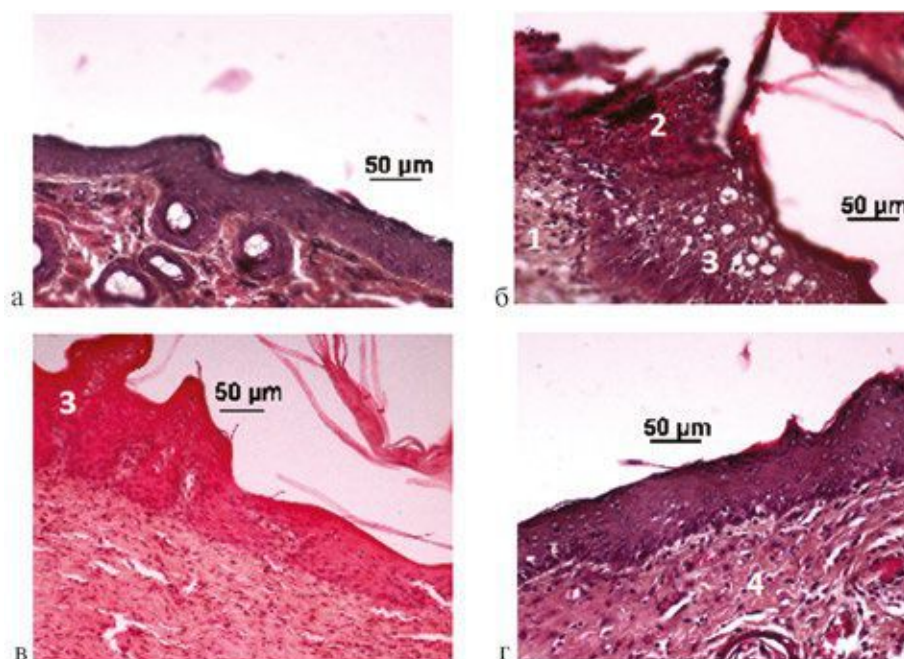


Рис. 2. Морфология кожи крыс при окраске гематоксилином и эозином.

а — типичная картина интактной кожи крысы; б — утолщенный край регенерирующего эпидермиса на 8-е сутки раны; в — утолщенный край регенерирующего эпидермиса на 16-е сутки раны; г — рубцовая ткань и восстановленный эпидермис в области раны на 24-е сутки.

1 — грануляционная ткань, 2 — некротические массы, 3 — край раны, 4 — фиброзная ткань.

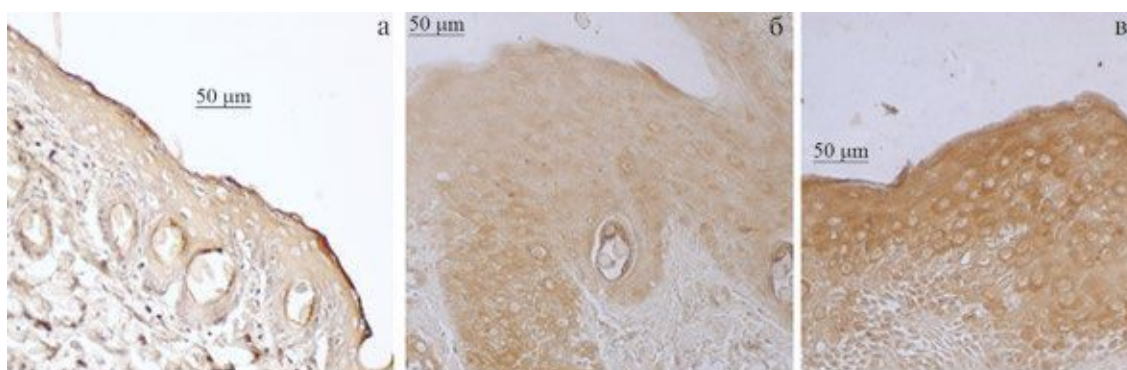


Рис. 3. Примеры иммуногистохимического окрашивания.

ДАБ: а — отрицательный контроль — неспецифически окрашивается только полоска рогового слоя эпидермиса, б — окрашивание на β_2 -адренорецепторы, край раны, окрашенные клетки расположены преимущественно в глубоких слоях, в — окрашивание на Ki-67, край раны.