

# МОДЕЛЬ ИШЕМИЗИРОВАННОЙ ДЛИТЕЛЬНО НЕЗАЖИВАЮЩЕЙ КОЖНОЙ РАНЫ: КЛЕТЧНАЯ ГИБЕЛЬ И МЕХАНИЗМЫ РАНОЗАЖИВЛЕНИЯ

DOI: 10.17691/stm2018.10.4.08

УДК 616.5–001.4–039.22

Поступила 19.02.2018 г.

© **Е.И. Моргун**, аспирант<sup>1</sup>; младший научный сотрудник лаборатории клеточной биологии<sup>2</sup>; младший научный сотрудник отдела регенеративной медицины НИИ трансляционной медицины<sup>3</sup>;  
**О.С. Роговая**, к.б.н., научный сотрудник лаборатории клеточной биологии<sup>2</sup>; научный сотрудник отдела регенеративной медицины НИИ трансляционной медицины<sup>3</sup>;  
**Е.А. Воротеляк**, д.б.н., член-корреспондент РАН; зав. лабораторией клеточной биологии<sup>2</sup>; зав. отделом регенеративной медицины НИИ трансляционной медицины<sup>3</sup>; доцент кафедры клеточной биологии и гистологии<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Московский физико-технический институт (государственный университет), Институтский пер., 9, Долгопрудный, Московская область, 141701;

<sup>2</sup>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, ул. Вавилова, 26, Москва, 119334;

<sup>3</sup>Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, ул. Островитянова, 1, Москва, 117997;

<sup>4</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Ленинские горы, 1, Москва, 119991

**Цель исследования** — разработать модель ишемизированного кожного лоскута у лабораторных мышей с описанием процессов некроза и апоптоза в динамике и показать особенности регенерации длительно незаживающей кожной раны в условиях сформированного лоскута.

**Материалы и методы.** В исследовании было использовано 20 мышей линии BALB/c. На первом этапе эксперимента описан ишемизированный лоскут на 1, 2, 3 и 5-е сутки после его формирования методами гистологии, иммунофлюоресценции, морфометрии и TUNEL. На втором этапе на данном лоскуте была смоделирована длительно незаживающая рана и проведено сравнение ее патогенеза с острой раной методом гистологии.

**Результаты.** В сформированном лоскуте отмечались такие гистологические признаки ишемии, как кровенаполненность сосудов, микротромбы в сосудах, коагуляционный некроз, миграция воспалительных клеток, а также экстравазация, отек дермы и гиперпролиферация клеток эпителия. Максимум патологических изменений приходился на 3-и сутки после операционного вмешательства, а к 5-м суткам происходило частичное заживление раны. Морфометрическое исследование показало значительное увеличение количества кровенаполненных сосудов и тенденцию к уменьшению рядов эпителия в каждом лоскуте живых животных экспериментальной группы по сравнению с контролем. Обнаружены клетки в состоянии апоптоза на 1, 2, 3 и 5-е сутки существования лоскута. В некоторых участках наблюдались скопления таких клеток вокруг волосяных фолликулов. В контрольной группе апоптотических клеток не выявлено.

К моменту полной регенерации острых ран длительно незаживающие раны характеризовались отсутствием эпителизации и формирования зрелого рубца, что позволяет трактовать разницу в сроках раневого заживления как значительную.

**Заключение.** Ишемия вызывает серьезные патологические изменения в коже, а также приводит к отсрочке сроков заживления раны. Разработанная модель длительно незаживающей раны может быть использована для изучения механизмов ранозаживления и способов возможного влияния на них.

**Ключевые слова:** апоптоз; клеточная гибель; кожная рана; ишемия; длительно незаживающая кожная рана; регенерация раны.

**Как цитировать:** Morgun E.I., Rogovaya O.S., Vorotelyak E.A. Ischemic non-healing skin wound model: cell death and wound healing mechanisms. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2018; 10(4): 69–77, <https://doi.org/10.17691/stm2018.10.4.08>

English

## Ischemic Non-healing Skin Wound Model: Cell Death and Wound Healing Mechanisms

**E.I. Morgun**, PhD Student<sup>1</sup>; Junior Researcher, Cellular Biology Laboratory<sup>2</sup>; Junior Researcher, Regenerative Medicine Department, Research Institute of Translational Medicine<sup>3</sup>;

**Для контактов:** Моргун Елена Игоревна, e-mail: lady.morgun2016@yandex.ru

**O.S. Rogovaya**, PhD, Researcher, Cellular Biology Laboratory<sup>2</sup>; Researcher, Regenerative Medicine Department, Research Institute of Translational Medicine<sup>3</sup>;  
**E.A. Vorotelyak**, MD, DSc, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences; Head of Cellular Biology Laboratory<sup>2</sup>; Head of Regenerative Medicine Department, Research Institute of Translational Medicine<sup>3</sup>; Associate professor, Department of Cellular Biology and Histology<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Moscow Institute of Physics and Technology (State University), 9 Institutsky per., Dolgoprudny, Moscow region, 141701, Russia;

<sup>2</sup>N.K. Koltsov Institute of Developmental Biology of the Russian Academy of Sciences, 26 Vavilova St., Moscow, 119334, Russia;

<sup>3</sup>Pirogov Russian National Research Medical University, 1 Ostrovityaninov St., Moscow, 117997, Russia;

<sup>4</sup>Lomonosov Moscow State University, 1 Leninskiy Gory, Moscow, 119991, Russia

**The aim of the study** was to develop an ischemic skin flap model in laboratory mice with the description of necrotic and apoptotic processes in time course, and demonstrate the regenerative characteristics of non-healing skin wound under the conditions of a formed flap.

**Materials and Methods.** The study involved 20 BALB/c mice. The first experimental stage describes an ischemic flap on day 1, 2, 3, and 5 after flap formation using histology, immunofluorescence, morphometry, and TUNEL. At the second stage a non-healing wound was modeled on the flap, and its pathogenesis was histologically compared with an acute wound.

**Results.** A formed flap showed such histological ischemic features as blood filled vessels, micro blood clots in blood vessels, coagulation necrosis, migration of inflammatory cells, as well as extravasation, true skin edema and hyperproliferation of epithelial cells. Maximum pathological changes were found on the third postoperative day, and by day 5 the wound partially healed. Morphometry demonstrated a significant increase in blood filled vessels and the tendency for epithelial layer reduction in a skin flap of experimental animals compared to the control ones. Apoptotic cells were observed on days 1, 2, 3, and 5 of a formed flap. Some areas showed cell clusters around hair follicles. No apoptotic cells were revealed in control animals.

By the moment of complete regeneration of acute wounds, non-healing wounds exhibited no epithelialization and a formed mature cicatrix that enables to interpret the difference in wound healing as significant.

**Conclusion.** Ischemia causes major pathological skin changes, as well as results in delayed wound healing. A developed non-healing wound model can be used to study wound healing mechanisms and the ways to influence them.

**Key words:** apoptosis; cell death; skin wound; ischemia; non-healing skin wound; wound regeneration.

## Введение

Длительно незаживающая рана является распространенной гетерогенной патологией, зависит от этиологии, возраста раны и других факторов, влияющих на раневое заживление [1]. К факторам, благодаря которым рана приобретает статус длительно незаживающей, относятся плохое кровоснабжение, стабильно повышающееся артериальное давление, системные заболевания, возраст больного и повторившаяся травма [2]. Такие раны трудно поддаются консервативной терапии [3]. Отсутствие единого терапевтического подхода к их лечению является результатом недостаточного исследования механизмов регенерации в таких ранах [2, 4].

На данный момент не существует описания единой стандартизированной модели длительно незаживающей раны на лабораторном животном, адекватной человеческой ране, а модель *in vitro* не воспроизводит сложной структуры раневого ложа, в том числе ишемического [5]. Одним из известных способов моделирования патогенеза, характерного для длительно незаживающей раны, является нанесение полнослойного дефекта на ишемизированный кожный лоскут. Данный способ прост в исполнении, стандартизиру-

ем и позволяет смоделировать рану, адекватную патологии у человека. Вследствие этого целью работы явилось создание такого ишемизированного кожного лоскута на животных, на котором можно достоверно показать наличие признаков ишемии, при этом развитие некроза не будет стремительным и не приведет к полной гибели лоскута в течение нескольких суток [6]. Эта модель позволит изучать различные патологические процессы, протекающие в коже в условиях ишемии, в частности клеточную гибель, а также создать такую кожную рану, которую можно считать длительно незаживающей, т.е. процессы регенерации в ней будут протекать достоверно медленнее, чем в острой резанной ране такого же размера.

Известно, что в патогенезе длительно незаживающей раны большую роль играют процессы некроза и апоптоза [1, 6–8]. Коагуляционный некроз является одним из основных гистологических признаков ишемии в коже [9, 10] и, несмотря на все успехи современной медицины, остается одной из основных проблем в хирургии [6]. Апоптоз также является важным первичным механизмом клеточной гибели при повреждении (ишемия/реперфузия), его каскады индуцируются активными формами кислорода. В частности, установлена возможность влияния на факторы ASK-1 и NF-κB

в качестве мишени при терапевтическом воздействии на процесс апоптоза, что приводит к выживаемости клеток кожного лоскута [11].

Изучение процессов клеточной гибели может стать основой для новых подходов в области регенеративной медицины, в частности при поиске мишени для воздействия на процессы регенерации в длительно незаживающих ишемизированных кожных ранах.

**Цель исследования** — разработать модель ишемизированного кожного лоскута у лабораторных мышей с описанием процессов некроза и апоптоза в динамике и показать особенности регенерации длительно незаживающей кожной раны в условиях сформированного лоскута.

### Материалы и методы

Эксперименты проводили на 20 мышах линии BALB/c — самцах массой 18–20 г. Все манипуляции с животными выполняли под общим наркозом в соответствии с «Правилами для проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Россия, 2010) и «Международными рекомендациями (этический кодекс) по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (CIOMS и ICLAS, 2012), при этом неукоснительно соблюдались этические принципы, установленные Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, 2006). Работа одобрена Этическим комитетом Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН.

Для удаления шерсти в области операционного поля использовали крем для депиляции Veet (Франция).

Ишемизированный кожный лоскут моделировали следующим образом: мышам наносили полнослойные параллельные разрезы кожи, симметричные позвоночнику, длиной 30 мм, на расстоянии 10 мм друг от друга, причем необходимым условием являлось отсечение от полученного лоскута всех крупных сосудов. Таким образом получали частично изолированный лоскут кожи с нарушением кровоснабжения, на края которого в дальнейшем накладывали хирургические швы (рис. 1, а).

Полнослойную циркулярную рану диаметром

5–7 мм наносили по центру ишемизированного лоскута (рис. 1, б).

Острую рану без ишемии моделировали путем нанесения полнослойного циркулярного отверстия диаметром 5–7 мм на спине интактного животного в той же позиции, которая соответствовала середине ишемизированного лоскута (рис. 1, в).

В эксперименте по моделированию ишемизированного лоскута забор биоматериала у животных осуществляли на 1, 2, 3 и 5-е сутки, а в эксперименте по изучению раневого заживления — на 14-е сутки после оперативного вмешательства.

Изучение патологических процессов, протекающих в ишемизированном лоскуте и в области кожной раны, выполняли на гистологических препаратах. Некropsию фрагментов ишемизированного лоскута проводили из его центра, область раны извлекали целиком, после чего фиксировали биоматериал в 10% формалине (Biovitrum, Россия).

Гистологические препараты толщиной 6 мкм получали на микротоме Microm HM 430 (Thermo Scientific, Германия) и окрашивали их гематоксилином и эозином. Анализ и фотографирование препаратов выполняли при помощи микроскопа BZ-9000 (Keyence, Япония).

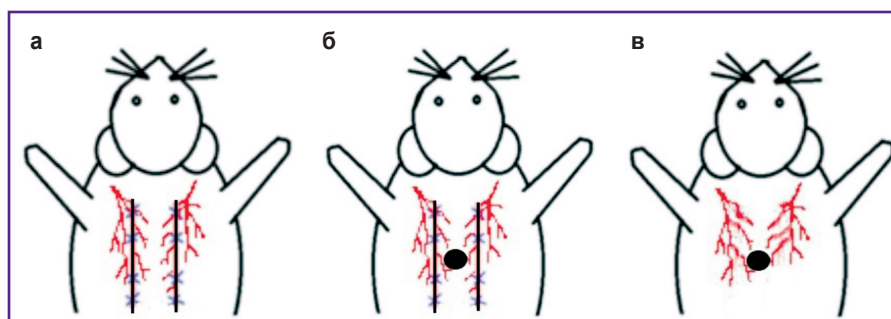
Криосрезы толщиной 10 мкм подготавливали по стандартной методике на криостате SM1900 (Leica Microsystems, Германия).

Апоптотические ядра выявляли путем детекции двунилевых разрывов ДНК методом TUNEL (Biotium, США).

Визуализацию сосудов проводили путем иммунофлуоресцентного окрашивания антителами к маркеру CD31 (ab28364).

Препараты анализировали на флуоресцентном микроскопе BZ-9000.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программ ImageJ и Origin. Количество нормальных и кровенаполненных сосудов в ишемизированном лоскуте подсчитывали в десяти полях зрения для каждого животного. Измерения толщины дермы и подсчет количества слоев эпителия в ишемизированном лоскуте выполняли в двух позициях — по центру лоскута и в краевой зоне на двух срезах образцов кожи. Поля зрения и срезы для морфометрического анализа выбирали случайно.



**Рис. 1.** Схематичное изображение разрезов и циркулярной раны на спине мыши:

а — в группе «ишемизированный лоскут»; б — в группе «длительно незаживающая рана»; в — в группе «острая рана»

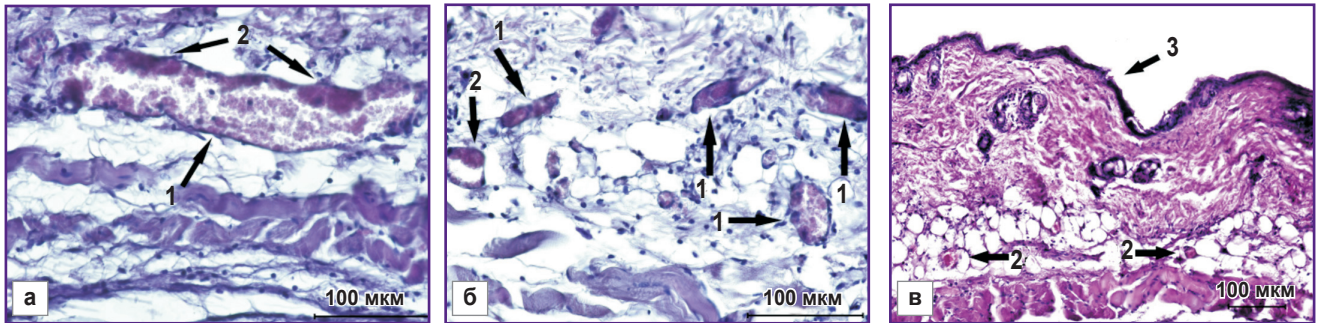


**Результаты и обсуждение**

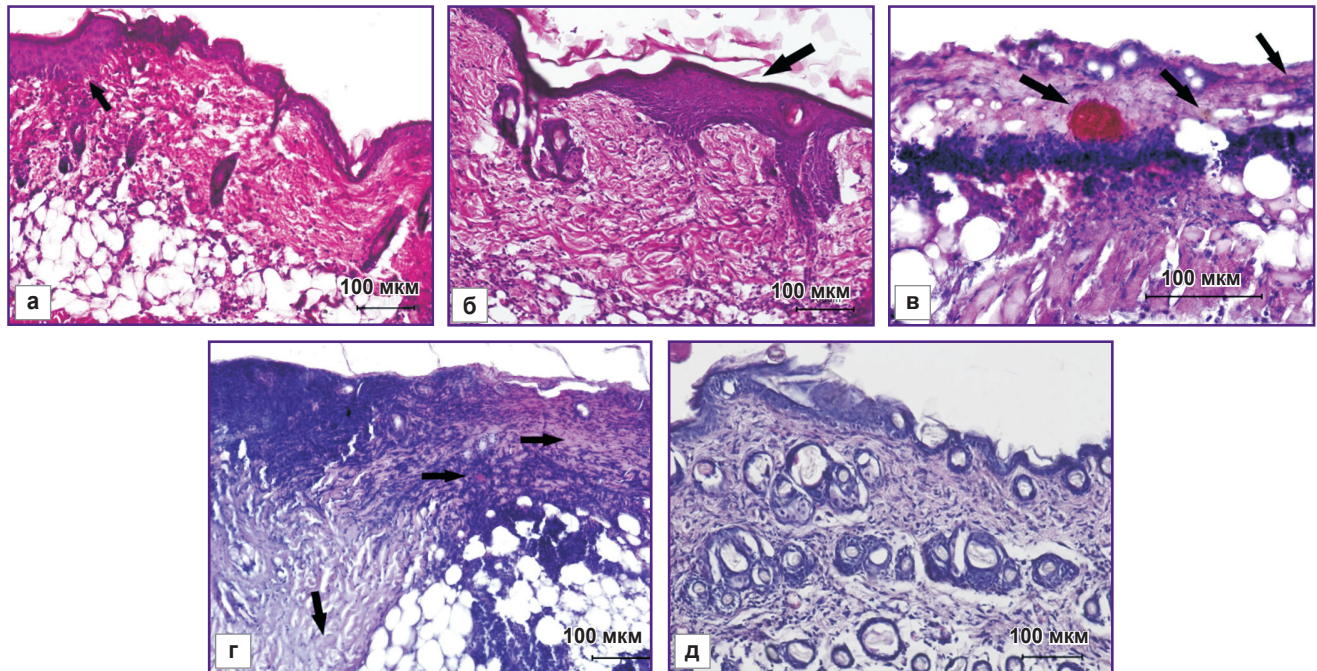
На первом этапе работы была разработана модель Н-образного ишемизированного кожного лоскута на мышах линии BALB/c. Всех животных разделили на две группы: экспериментальная с лоскутом — «ишемизированный лоскут» и контрольная — животные того же

пола и возраста без оперативного вмешательства, но депиляцию им проводили так же, как и животным из экспериментальной группы.

На втором этапе выполняли сравнительный анализ раневого процесса острой и ишемизированной раны (группы «острая рана» и «длительно незаживающая рана» соответственно).



**Рис. 2. Участок ишемизированного кожного лоскута мыши на 1-е сутки после формирования:**  
 а — кровенаполненный сосуд в продольном сечении: кровенаполненный сосуд (1), микротромбы в сосуде (2); парафиновый срез; окраска гематоксилином и эозином; х40; б — кровенаполненный сосуд в поперечном сечении: кровенаполненный сосуд (1), микротромбы в сосуде (2); парафиновый срез; окраска гематоксилином и эозином; х40; в — патологические изменения в дерме и эпидермисе: отек, микротромбы в сосудах, гибель клеток эпидермиса; микротромбы в сосудах (2), гибель клеток эпидермиса (3); парафиновые срезы; окраска гематоксилином и эозином; х20



**Рис. 3. Участок кожного лоскута мыши при ишемии и в норме:**  
 а — гиперпролиферация клеток эпидермиса на 2-е сутки после формирования ишемизированного лоскута, стрелкой указан участок гиперпролиферации кератиноцитов; парафиновый срез, окраска гематоксилином и эозином; х20; б — гиперпролиферация клеток эпидермиса на 5-е сутки после формирования ишемизированного лоскута; стрелкой указан участок гиперпролиферации кератиноцитов; парафиновый срез; окраска гематоксилином и эозином; х20; в — коагуляционный некроз на 2-е сутки после формирования ишемизированного лоскута; стрелками указаны участки коагуляционного некроза; парафиновый срез; окраска гематоксилином и эозином; х40; г — коагуляционный некроз на 5-е сутки после формирования ишемизированного лоскута, стрелками указаны участки коагуляционного некроза; парафиновый срез, окраска гематоксилином и эозином; х20; д — участок кожного лоскута мыши из группы «контроль»; парафиновый срез; окраска гематоксилином и эозином; х20

За состоянием животных из группы «ишемизированный лоскут» проводили визуальный контроль в течение 5 сут после операции. Выявлено изменение цвета ишемизированного лоскута, появление бурых постепенно увеличивающихся очагов некроза уже на 1-е сутки после операции.

Все дальнейшие исследования осуществляли на гистологических препаратах.

Через сутки после формирования ишемизированного лоскута наблюдали признаки ишемии, в частности микротромбы в просвете сосудов дермы (рис. 2, а, б).

Также были заметны дегенерация клеток эпидермиса и дермы, отек (рис. 2, в), кровенаполненность и экстравазация сосудов (см. рис. 2, а, б), участки инфильтрации воспалительными клетками.

В некоторых зонах лоскута были отмечены патологические изменения и лизис клеточных ядер, что говорит о начальных стадиях коагуляционного некроза.

На 2-е сутки после формирования лоскута наблюдали участки гиперпролиферации эпителия (рис. 3, а), а коагуляционный некроз и миграция воспалительных клеток приобрели более выраженный характер (рис. 3, в).

К 3-м суткам выраженность коагуляционного некроза была максимальной. Отмечено уменьшение количества слоев эпителия ишемизированного лоскута с 1-х по 3-и и увеличение — на 5-е сутки по сравнению с контролем (см. рис. 3, а, б, рис. 4, а, б). На 5-е сутки состояние кожного лоскута на гистологических препаратах было близко к нормальной коже, однако у некоторых животных наблюдали участки экстравазации сосудов, инфильтрации воспалительных клеток (рис. 5), гиперпролиферации эпителия, отека (см. рис. 3, б, рис. 4, в, г) и некроза (рис. 3, г).

Морфометрический анализ показал тенденцию к увеличению толщины кожного лоскута мышей как

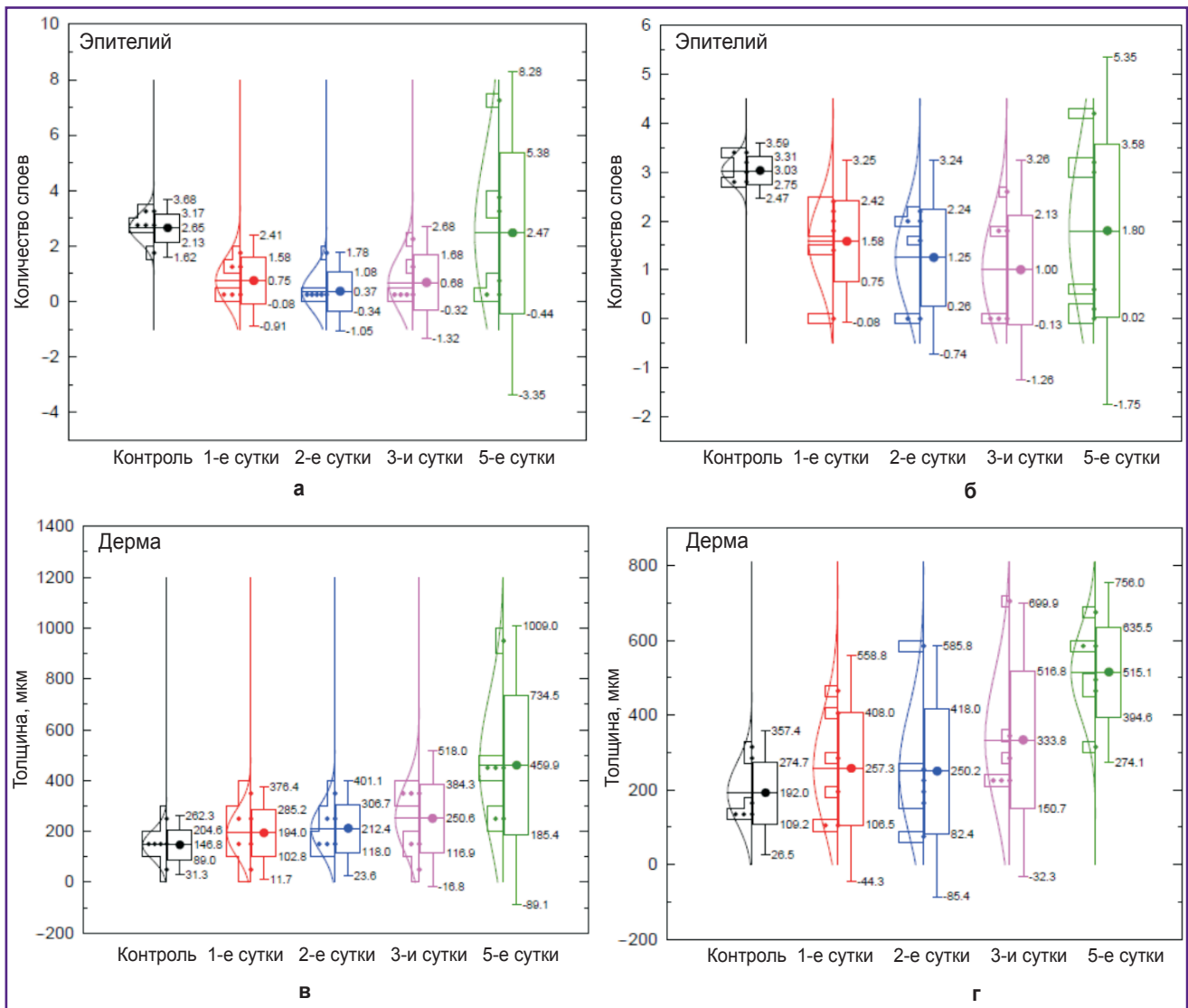


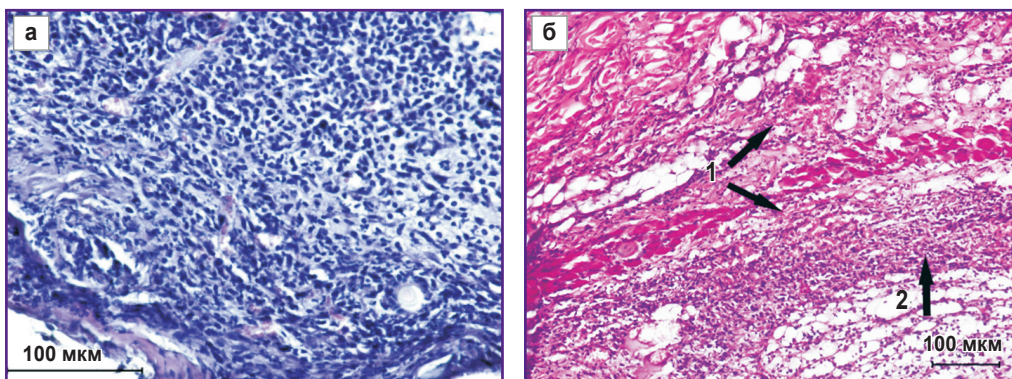
Рис. 4. Морфометрический анализ ишемизированного кожного лоскута на разных сроках после его формирования: количество слоев эпителия на краевом участке (а) и в центре (б); толщина дермы на краевом участке (в) и в центре (г)



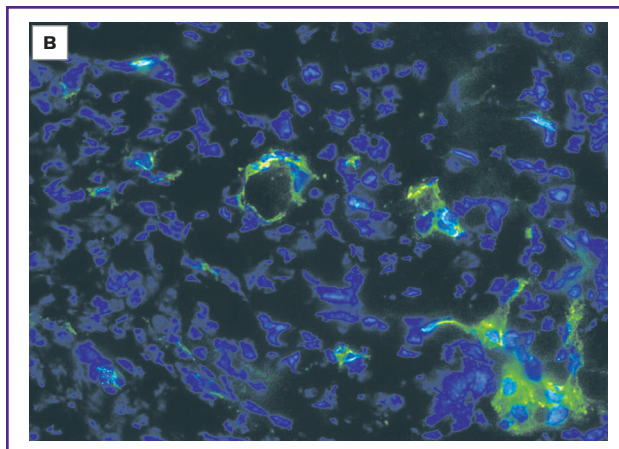
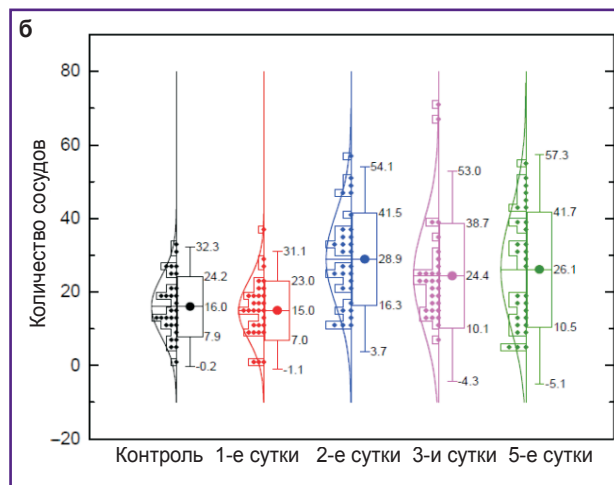
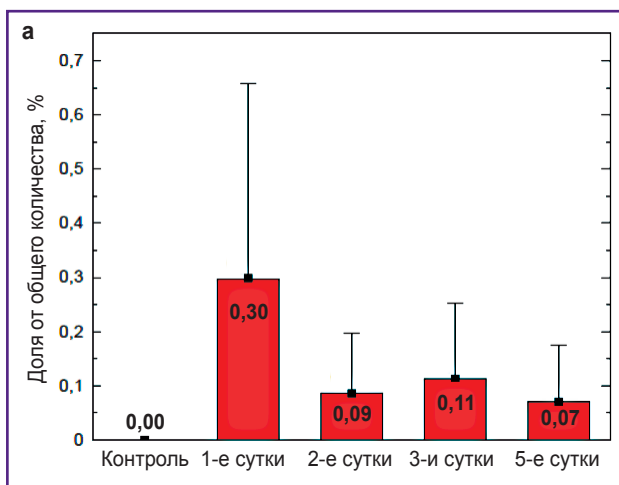
в его центре, так и по краям к 5-м суткам, что может быть связано с отечностью дермы (см. рис. 4, в, г). Увеличение количества слоев эпителия на 5-е сутки после операции связано с гиперпролиферацией клеток, что характерно для заживления ран в норме (см. рис. 3, б, рис. 4, а, б). Однако с учетом длительности данного процесса можно сделать вывод о патологическом характере регенерации.

На гистологических срезах кожи животных из группы «контроль» признаков деградации не обнаружено (рис. 3, д).

Доля кровенаполненных сосудов на гистологических срезах кожи животных экспериментальной группы, как вероятное следствие ишемии, значительно отличалась от контроля, причем в 1-е сутки после операции их было значительно больше, чем в последую-



**Рис. 5. Участок кожного лоскута мыши на 5-е сутки после формирования ишемизированного лоскута:** а — инфильтрация воспалительных клеток; парафиновый срез; окраска гематоксилином и эозином; х40; б — патологические изменения в кожном лоскуте: экстравазация сосудов (1), инфильтрация воспалительных клеток (2); парафиновый срез; окраска гематоксилином и эозином; х20



**Рис. 6. Количество кровенаполненных сосудов в ишемизированном кожном лоскуте:** а — доля от общего количества в поле зрения; б — среднее количество сосудов в поле зрения в ишемизированном кожном лоскуте; в — участок кожного лоскута мыши на 5-е сутки после операции; иммунофлюоресцентное выявление маркера эпителия сосудов CD31 (зеленое окрашивание), ядра окрашены DAPI (синий цвет); х40

ющие (рис. 6, а). Среднее количество сосудов в поле зрения у животных экспериментальных и контрольной групп не отличалось (рис. 6, б).

При исследовании на наличие апоптотических ядер в ишемизированном лоскуте выявлено, что клетки в состоянии апоптоза в эпидермисе и дерме у животных присутствуют на 1, 2, 3 и 5-е сутки существования лоскута. В некоторых участках наблюдали скопления таких клеток вокруг волосяных фолликулов. На микропрепаратах кожи мышей из группы «контроль» апоптотических клеток не обнаружено.

К патоморфологическим признакам ишемии в кожном лоскуте относят коагуляционный некроз, инфильтрацию воспалительных клеток, микротромбы в сосудах и их кровенаполненность [9–11]. Все эти патологические изменения мы наблюдали на гистологических срезах образцов кожи мышей из группы «ишемизированный лоскут», что свидетельствует о развитии ишемии в течение 1-х суток после проведения операции. Далее в течение кратких сроков в связи с достаточно быстрыми темпами регенерации у грызунов может происходить частичное восстановление лоскута за счет прорастания сосудов со стороны мышечной фасции. Однако значительность всех патоморфологических изменений в течение 1-х суток после формирования лоскута дает нам основания предполагать, что протекание раневых процессов в резаной ране, нанесенной на кожу ишемизированного лоскута, в том числе скорость регенерации, будет значительно отличаться от таковых в острой кожной ране у мышей.

На втором этапе проводили сравнительный анализ процессов регенерации в модели острой и ишемизированной раны. Наблюдение за состоянием ран мы осуществляли до 14-х суток после начала эксперимента, что можно считать отдаленными сроками существования данного дефекта для животных этого вида. При визуальном осмотре мышей из груп-

пы «острая рана» наблюдали нормальный процесс раневого заживления, проявляющийся в сокращении площади раны и ее эпителизации к 14-м суткам после операции (рис. 7, а). У животных из группы «длительно незаживающая рана» раны к этому сроку были покрыты крупным струпом (рис. 7, б).

Гистологическое исследование препаратов ран мышей из группы «острая рана» показало полное закрытие раны нормальным многослойным плоским ороговевающим эпителием, а также наличие в дерме сформировавшегося зрелого рубца, характеризующегося хорошо организованными коллагеновыми фибриллами и невысоким содержанием клеток и кровеносных сосудов в зоне раневого ложа у мышей (рис. 8, а). На некоторых препаратах отмечено наличие волосяных фолликулов в дерме, что свидетельствует о полном восстановлении структуры кожи (рис. 8, б, в).

У животных из группы «длительно незаживающая рана» в центре раны наблюдали обилие фибробластов в раневом ложе и отсутствие элементов меж-

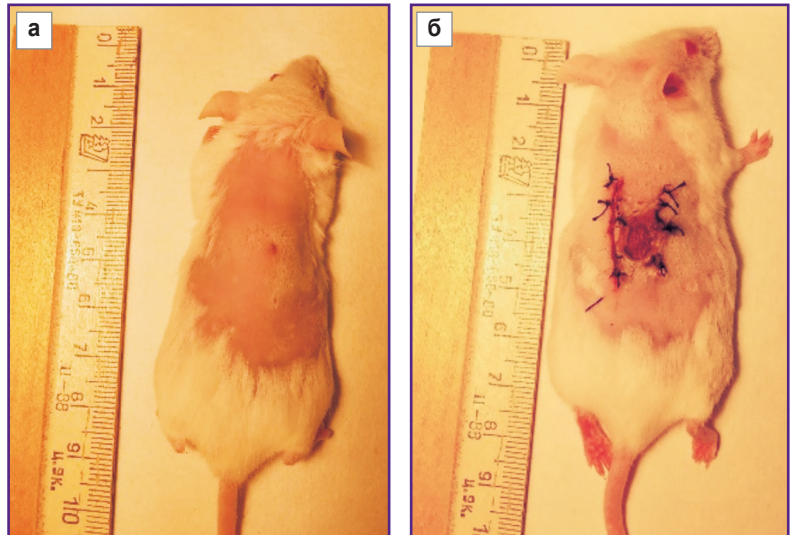


Рис. 7. Состояние раны мыши на 14-е сутки после хирургического вмешательства: а — из группы «острая рана»; б — из группы «длительно незаживающая рана»

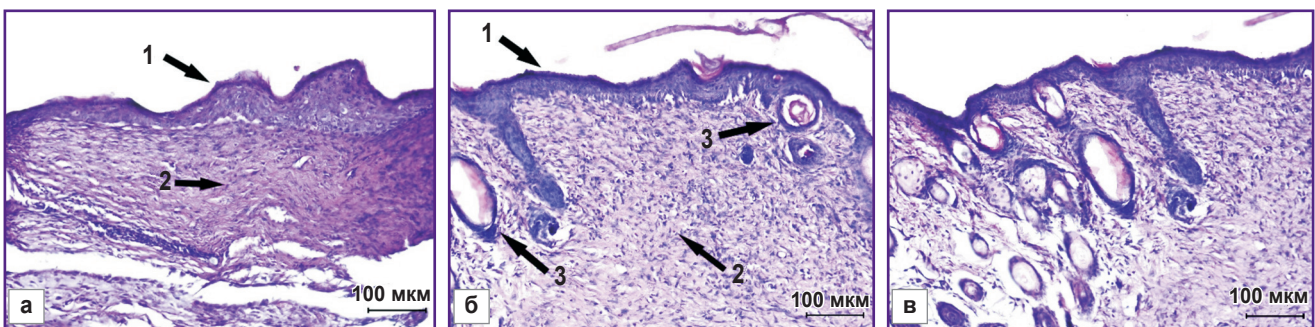
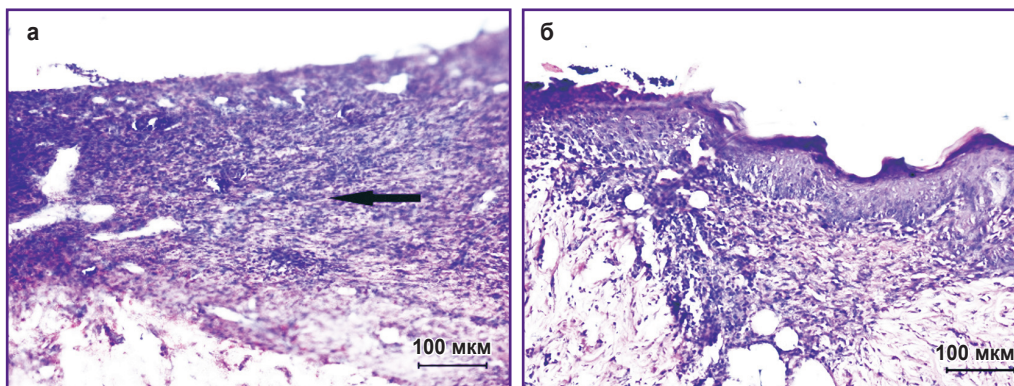


Рис. 8. Рана мыши из группы «острая рана» на 14-е сутки после хирургического вмешательства: а, б — середина раны; в — край раны; 1 — нормальная эпителизация; 2 — зрелый рубец; 3 — волосяные фолликулы в дерме; парафиновый срез; окраска гематоксилином и эозином; х20





**Рис. 9.** Рана мыши из группы «длительно незаживающая рана» на 14-е сутки после хирургического вмешательства: а — середина раны; б — край раны; стрелкой показано скопление фибробластов; парафиновый срез; окраска гематоксилином и эозином; x20

клеточного матрикса. Эпителий также отсутствовал (рис. 9, а). По краям раны наблюдали эпителизацию и формирование рубца (рис. 9, б).

Таким образом, раны у мышей из групп «длительно незаживающая рана» и «острая рана» находились на разных стадиях раневого заживления: II стадия — фаза реорганизации, образования и созревания грануляционной ткани и III стадия — фаза реорганизации рубца и эпителизации [12]. Если считать нормой для организма мыши полную регенерацию раны диаметром 5–7 мм на 14-е сутки, то раны мышей из группы «длительно незаживающая рана» на основании отсутствия эпителизации в качестве критерия заживления раны следует охарактеризовать как длительно незаживающие [13].

### Заключение

Предлагаемый способ нанесения ишемизированного лоскута заключается в полном отсечении от него всех крупных сосудов, что приближает разработанную модель к человеческой патологии. Сформированный лоскут имеет все гистологические маркеры ишемии, такие как некроз, микротромбы в сосудах, кровенаполненность сосудов и инфильтрация воспалительных клеток. Данные патологические изменения сохраняются до 5-х суток эксперимента, но при этом не происходит полного отмирания лоскута, что позволяет проводить наблюдения за раной на протяжении длительного времени. Такой способ получения ишемизированного лоскута легко воспроизводим, прост в исполнении. По совокупности признаков разработанную модель можно считать оптимальной моделью ишемизированного кожного лоскута.

Обнаружено, что к 14-м суткам после нанесения раны у мышей из групп «длительно незаживающая рана» и «острая рана» наблюдались разные стадии раневого заживления: длительно незаживающая рана характеризовалась отсутствием эпителизации и зрелого рубца, тогда как острая рана была полностью

эпителизована. Данная разница в сроках раневого заживления у мышей расценивается как существенная, следовательно, полученная длительно незаживающая рана может быть предложена в качестве модели для изучения механизмов ранозаживления длительно незаживающих ран и разработки способов возможного влияния на них.

Кроме того, в модели ишемизированного лоскута наблюдали клеточную гибель путем некроза и апоптоза. Коагуляционный некроз был максимально выражен на 3-и сутки, и его признаки сохранялись вплоть до 5-х суток после операции. Апоптотические клетки были выявлены на всех сроках эксперимента. Данные процессы могут стать важной мишенью для терапии биомедицинскими препаратами.

**Финансирование исследования.** Работа выполнена в рамках ПНИЭР по теме «Разработка технологии производства, хранения и применения биомедицинских клеточных продуктов для лечения ран» в соответствии с Соглашением о предоставлении субсидии с Минобрнауки России №14.610.21.0012. Уникальный идентификатор работ RFMEFI61017X0012.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Литература/References

1. Das S., Baker A. Biomaterials and nanotherapeutics for enhancing skin wound healing. *Front Bioeng Biotechnol* 2016; 4: 82, <https://doi.org/10.3389/fbioe.2016.00082>.
2. Zhou K., Ma Y., Brogan M.S. Chronic and non-healing wounds: the story of vascular endothelial growth factor. *Med Hypotheses* 2015; 85(4): 399–404, <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2015.06.017>.
3. Demidova-Rice T., Hamblin M., Herman I. Acute and impaired wound healing: pathophysiology and current methods for drug delivery, part 2: role of growth factors in normal and pathological wound healing: therapeutic potential and methods of delivery. *Adv Skin Wound Care* 2012; 25(8): 349–370, <https://doi.org/10.1097/01.asw.0000418541.31366.a3>.



4. Zhang Q., Chang Q., Cox R.A., Gong X., Gould L.J. Hyperbaric oxygen attenuates apoptosis and decreases inflammation in an ischemic wound model. *J Invest Dermatol* 2008; 128(8): 2102–2112, <https://doi.org/10.1038/jid.2008.53>.
5. Gould L., Leong M., Sonstein J., Wilson S. Optimization and validation of an ischemic wound model. *Wound Repair Regen* 2005; 13(6): 576–582, <https://doi.org/10.1111/j.1524-475x.2005.00080.x>.
6. Lee D., Hong H., Roh H., Lee W. The effect of polydeoxyribonucleotide on ischemic rat skin flap survival. *Ann Plast Surg* 2015; 75(1): 84–90, <https://doi.org/10.1097/sap.0000000000000053>.
7. Weinlich R., Oberst A., Beere H., Green D. Necroptosis in development, inflammation and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2016; 18(2): 127–136, <https://doi.org/10.1038/nrm.2016.149>.
8. Caccamo A., Branca C., Piras I.S., Ferreira E., Huentelman M.J., Liang W.S., Readhead B., Dudley J.T., Spangenberg E.E., Green K., Belfiore R. Necroptosis activation in Alzheimer's disease. *Nat Neurosci* 2017; 20(9): 1236–1246, <https://doi.org/10.1038/nn.4608>.
9. Tsai T.C., Tung Y.T., Kuo Y.H., Liao J.W., Tsai H.C., Chong K.Y., Chen H.L., Chen C.M. Anti-inflammatory effects of *Androdia camphorata*, a herbal medicine, in a mouse skin ischemia model. *J Ethnopharmacol* 2015; 159: 113–121, <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.11.015>.
10. *Atlas and synopsis of lever's histopathology of the skin*. Edited by Elder D.E., Elenitsas R., Rubin A.I., Iofredda M., Miller J., Miller O.F. Lippincott Williams & Wilkins; 2013.
11. Rah D., Min H., Kim Y., Cheon Y. Effect of platelet-rich plasma on ischemia-reperfusion injury in a skin flap mouse model. *Int J Med Sci* 2017; 14(9): 829–839, <https://doi.org/10.7150/ijms.19573>.
12. Раны и раневая инфекция. Под. ред. Кузина М.И., Костюченко Б.М. М: Медицина; 1990. *Rany i ranevaya infektsiya* [Wounds and wound infection]. Pod. red. Kuzina M.I., Kostyuchenok B.M. [Kuzin M.I., Kostyuchenok B.M. (editors)]. Moscow: Meditsina; 1990.
13. Moor A.N., Tummel E., Prather J.L., Jung M., Lopez J.J., Connors S., Gould L.J. Consequences of age on ischemic wound healing in rats: altered antioxidant activity and delayed wound closure. *Age* 2014; 36(2): 733–748, <https://doi.org/10.1007/s11357-014-9617-4>.