

Е. Ю. ШАПОВАЛОВА, Т. А. БОЙКО, Ю. Г. БАРАНОВСКИЙ, С. А. ВАСИЛЕНКО

СОДЕРЖАНИЕ ТУЧНЫХ КЛЕТОК В СТРУКТУРАХ ИШЕМИЗИРОВАННОЙ МОДЕЛЬНОЙ РАНЫ НА 12 СУТКИ ПОСЛЕ СТИМУЛЯЦИИ РЕГЕНЕРАТОРНОГО ПОТЕНЦИАЛА АУТО- И ГЕТЕРОФИБРОБЛАСТАМИ И ДЕРМАЛЬНЫМ ЭКВИВАЛЕНТОМ

ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского Министерства образования и науки Российской Федерации, бул. Ленина 5/7, г. Симферополь, Россия, 295051

АННОТАЦИЯ

Присутствие в регенерате тучных клеток, как традиционных клеток регенеративного каскада, после трансплантации ауто- и гетерофибробластов, а также тканевых конструкций на базе этих клеток остается мало изученным.

Цель. Изучить морфологическое строение, коллагенообразование, ангиогенез и содержание тучных клеток в биоптатах новообразованного эпидермиса и дермы на 12-е сутки их восстановления в модельной ишемизированной ране после введения ауто- и гетерофибробластов, а также после трансплантации дермального эквивалента с гетерофибробластами.

Материалы и методы. Исследование выполнено на 28 белых половозрелых мышах линии С57/В1 в возрасте до 1 года. Вокруг и в дно хирургической модельной кожной раны в лопаточной области вводили 0,4 мл взвеси фибробластов и дермальный эквивалент в ростовой среде DMEM F12 (Lonza) в количестве 1,33 млн клеток. Рубец заливали в парафин, окрашивали гематоксилином и эозином, по Вейгерту-Ван-Гизону, набором для окрашивания тучных клеток фирмы «Биовитрум».

Результаты. На 12-й день заживления модельной ишемизированной раны эпидермис достигает наибольшей толщины после введения аутофибробластов, а наибольшей выраженности дифференцировки после трансплантации в рану дермального эквивалента с гетерофибробластами. Ангиогенез также наиболее активен после введения аутофибробластов. Продукция коллагеновых волокон клетками фибробластического ряда грануляционной ткани, ангиогенез, а также содержание функционально активных тучных клеток свидетельствует о наиболее благоприятном воздействии на раневой процесс трансплантации в рану аутофибробластов.

Заключение. Воздействие дермального эквивалента с гетерофибробластами также весьма значительное и отличается от воздействия аутофибробластов всего на несколько процентов: площадь коллагеновых волокон – на 2%, индекс тучных клеток – на 5%, индекс дегрануляции тучных клеток – на 4%, что делает такие различия недо-стоверными.

Ключевые слова: раневой процесс, грануляционная ткань, клеточные технологии, дермальный эквивалент, тучные клетки, фибробласт

Для цитирования: Шаповалова Е.Ю., Бойко Т.А., Барановский Ю.Г., Василенко С.А. Содержание тучных клеток в структурах ишемизированной модельной раны на 12 сутки после стимуляции регенераторного потенциала ауто- и гетерофибробластами и дермальным эквивалентом. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2017; 24(5): 96-102. DOI: 10.25207 / 1608-6228-2017-24-5-96-102

For citation: Shapovalova Ye.Yu., Boyko T.A., Baranovskiy Yu.G., Vasilenko S.A. Mast cells content in the structures of the ischemic model wound on the 12th day of regenerative potential stimulation by auto- and heterofibroblasts and dermal equivalent. *Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik*. 2017; 24(5); 96-102. (In Russ., English abstract). DOI: 10.25207 / 1608-6228-2017-24-5-96-102

YE. YU. SHAPOVALOVA, T. A. BOYKO, YU. G. BARANOVSKIY, S. A. VASILENKO

MAST CELLS CONTENT IN THE STRUCTURES OF THE ISCHEMIC MODEL WOUND ON THE 12TH DAY OF REGENERATIVE POTENTIAL STIMULATION BY AUTO- AND HETEROFIBROBLASTS AND DERMAL EQUIVALENT

V.I. Vernadsky Crimean Federal University of the Ministry of Science and Education of the Russian Federation, Lenina bul., 5/7, Simferopol, Russia, 295006

ABSTRACT

Mast cell is a traditional cell for wound healing, but their content in the wound after transplantation of auto- and heterofibroblasts and dermal equivalent on the basis of these cells remains poorly studied.

Aim. To study the morphological structure, collagen formation, angiogenesis and content of mast cells in biopsy materials of the newly formed epidermis and dermis on the 12th day of their recovery in a model ischemic wound after administration of auto- and heterofibroblasts and after transplantation of dermal equivalent with heterofibroblasts.

Materials and methods. The study was performed on 28 white mature mice of the C57 / B1 line aged up to 1 year. 0.4 ml of suspension with 1.33 million fibroblasts in growth medium DMEM F12 (Lonza) and in dermal equivalent were administered around and into the bottom of skin surgical model wound in the scapular region. The scar was embedded in paraffin and stained with hematoxylin and eosin, according to Weigert-Van Gieson, and kit for mast cells staining (Biovitrum).

Results. On the 12th day epidermis is thicker after introduction of autofibroblasts, but it is more differentiated after transplantation of dermal equivalent with heterofibroblasts. Angiogenesis is also most active after the administration of autofibroblasts. Fibroblasts production of collagen fibers in granulation tissue, angiogenesis and the content of functionally active mast cells indicates the most favorable influence of autofibroblasts transplantation on the wound healing.

Conclusion. The effect of dermal equivalent with heterofibroblasts differs from exposure autofibroblasts by several percent: the area of collagen fibers – by 2%, the area of blood vessels – by 5%, the index of degranulation of mast cells – by 4%.

Keywords: wound process, granulation tissue, cell technologies, dermal equivalent, mast cells, fibroblast

На сегодняшний день большинство исследователей сходится во мнении, что заживление острых ран проходит последовательно три фазы раневого процесса: воспаления, пролиферации с развитием грануляционной ткани и дифференцировки или фиброзированию и сопровождается сложным каскадом клеточных и клеточно-матриксных взаимодействий [1, 2, 3]. В хронической ране фаза воспаления затягивается и одновременно могут присутствовать признаки всех трех фаз раневого процесса [4, 5]. Особое место в регенерации занимают тучные клетки, которые являются регуляторами сосудистых реакций в зоне травмы, иммунологических, защитных, репаративных и воспалительных процессов [6]. На современном этапе развития медицины предпринимаются попытки стимулировать регенераторный потенциал при хронических ранах кожных покровов с помощью тканевых технологий путем как введения в рану функционально активных фибробластов или мезенхимных стволовых клеток, так и тканеинженерных конструкций [7, 8, 9]. В этом случае мало исследованными и не вполне ясными остаются вопросы присутствия в регенерате традиционных клеток регенеративного каскада, таких как тучные клетки. Дерма кожи относительно богата крупными тучными клетками, в гранулах которых содержится большое количество гепарина [10]. Происхождение тучных клеток дискутабельно, в литературе имеются сведения о дифференцировке тканевых базофилов из фибробластов, из базофилов крови, из отдельной гемопоэтической клетки в составе красного костного мозга, из ретикулоцитов и лимфоцитов [11]. Только экспериментальный подход с использованием модельной раны у лабораторных животных позволяет адекватно оценить клеточные взаимодействия, которые разворачиваются в разные сроки регенераторного гистогенеза после трансплантации ауто- и гетерофибробластов, а также тканевых конструкций на базе этих клеток.

Цель исследования: изучить морфологическое строение, коллагенообразование, ангиогенез и содержание тучных клеток в биоптатах новообразованного эпидермиса и дермы на 12-е сутки их восстановления в модельной ишемизированной ране после введения ауто- и гетерофибробластов, а также после трансплантации дермального эквивалента с гетерофибробластами.

Материалы и методы

Исследование выполнено на 28 белых половозрелых мышах линии C57/B1 в возрасте до 1 года, которые содержались в виварии Медицинской академии имени С.И. Георгиевского. Животные были разделены на контрольную группу в составе 7 особей и три экспериментальные группы по 7 особей в каждой. Эксперименты проводили со следованием всем принципам гуманности, содержащихся в директиве Европейского Сообщества (86/609/ЕС), и в соответствии с «Правилами выполнения работ с привлечением экспериментальных животных». Во всех группах операцию по моделированию кожной раны в лопаточной области производили после внутрибрюшинного введения 2,5% раствора авертина 0,3-0,4 мл. Кожу однотипно иссекали в виде круга диаметром 12 мм, к краям раны кожно-фасциальными узловыми швами фиксировалось силиконовое кольцо с наружным диаметром 12 мм атравматичным шовным материалом «Полипропилен» 5-0 для исключения возможности эпителизации раны и закрытия её мобильной кожей области спины [12]. Ишемизацию раны проводили путем наложения кисетного шва нитью «Полипропилен» 5-0 на расстоянии 1,0 см латеральнее наружного диаметра раны, что нарушает циркуляцию крови в системе около лопаточных артерий мыши. Артериальный анастомоз вокруг лопаток образован ветвью подмышечной артерии а. Circularis scapula и ветвью поперечной артерии шеи Ramus descendense, отходящей от подключичного Truncus thiorocervicales.

Из иссеченной кожи мышей выделяли фибробласты в условиях стерильного бокса с ламинарным потоком воздуха. Кусочки кожи после ферментативного удаления эпидермиса помещали в среду DMEM F12 (Lonza) и измельчены сосудистыми ножницами до размера 1-2 мм. Затем к кусочкам ткани добавляли равные объемы растворов коллагеназы I типа (200 ед/мл, Sigma) и диспазы (30 ед/мл) (Gibco). Полученную смесь инкубировали в течение 1 часа при 37° С и постоянном перемешивании. После фильтрации суспензии через фильтр диаметром 0,40мкм и центрифугирования в течение 7 мин. при 1000 об/мин, фибробласты ресуспендировали и культивировали в среде DMEM F12 (Lonza) с добавлением 10% телячьей сыворотки (HyClone) и 50 ед./мл пенициллина – стрептомицина (ПанЭко) в чашках Петри в инкубаторе при 37° и концентрации CO₂ – 5% до достижения 100% конфлюэнта. Для пересева клеток использовали 0,25% трипсин – 0,02% ЭДТА.

В первой и второй экспериментальных группах интраоперационно в дно раны и вокруг нее вводили 0,4 мл взвеси фибробластов 1-го или 2-го пассажа в ростовой среде DMEM F12 (Lonza) в количестве 1,33 млн клеток. В первой экспериментальной группе вводили гетерофибробласты, во второй – аутофибробласты. В третьей экспериментальной группе в рану трансплантировали дермальный эквивалент с гетерофибробластами, приготовленный на основе коллагена первого типа из крысиных хвостов. Стерильный 0,34М раствор NaOH объединяли с концентрированной (x10) питательной средой 199 в соотношении 1:1. Полученную смесь соединяли с охлажденным раствором коллагена, после чего добавляли суспензию фибробластов в питательной среде DMEM F12, содержащей 10% эмбриональной сыворотки (HyClone). Полученную смесь инкубировали при 37° С в инкубаторе до полной полимеризации геля [8, 13].

На 12-й день после операции у мышей всех групп интраоперационно иссекали образовавшийся рубец и фиксировали 10% забуференным формалином для морфологического исследования. Материал заливали в парафин и окрашивали гематоксилином и эозином, а также по Вейгерту-Ван-Гизону для визуализации эластических и коллагеновых волокон. Морфологическое исследование гистологических препаратов проводили с помощью светооптического микроскопа OLIMPUS CX-31 с цифровой камерой OLIMPUS 35050Z. Присутствие тучных клеток определяли стандартным набором для выявления тучных клеток фирмы «Биовитрум», основанном на использовании толуидинового синего при pH 5,6. Индекс тучных клеток определяли путем подсчета количества клеток, окрашенных толуидиновым синим на 100 клеток грануляционной ткани с последующим вычислением показателя в процентах в среднем по

результатам изученных каждых 14-ти срезов биоптатов в контрольной и трех экспериментальных группах. Функциональную активность оценивали по индексу дегрануляции как отношению количества дегранулировавшихся клеток к общему их числу в процентах. Сравнения средней величины индекса тучных клеток и индекса их функциональной активности проводили в процентах по отношению к контрольной группе.

Толщину эпидермиса, количество микрососудов в срезах, площадь коллагеновых волокон и микрососудов в дерме биоптатов измеряли с помощью программы "ImageJ" при увеличении объекта 40 и окуляра 10 по 50 замеров в каждой группе. Полученные цифровые данные (выраженные в пикселях) были переведены в мкм при помощи деления пикселей на коэффициенты, специально для этого выведенные: объективы ×10 – 6379251, ×40 – 98911797. Статистическую обработку цифровых данных проводили с использованием лицензионного программного обеспечения MS Office Excel 2007, аналитического пакета приложения STATISTICA Enterprise (StatSoft Inc., США), с привлечением возможностей программы «STATGRAPH 5.1» («Microsoft», США). Сравнения средней толщины эпидермиса, площади, занимаемой коллагеновыми волокнами и сосудами грануляционной ткани, проводили в процентах по отношению к контрольной группе. Результаты статистической обработки сведены в таблице.

Результаты и обсуждение

У мышей контрольной группы самопроизвольное отпадение силиконового кольца было зафиксировано в среднем на 12,4±0,10 сутки после операции по созданию модельной раны. Под толстыми остатками струпа обнаруживалась полная эпителизация раны. На срезах рубца эпидермис представлен не полностью сформированным многослойным эпителием толщиной 51,73±0,12мкм (таблица). Имеется базальный слой и несколько рядов шиповатых клеток. Роговой слой очень тонкий и находится на начальных стадиях дифференцировки клеток (рис. 1А). Над эпидермисом видны остатки струпа, в котором клеточные элементы уже отсутствуют. Дерма рубца не образует сосочков вдающихся в эпидермис и граница между эпидермисом и дермой рыхлая и ровная. Под базальной мембраной заметен тонкий вал лейкоцитарной инфильтрации. Весь кожный дефект заполнен развивающейся грануляционной тканью, в которой встречаются тканевого и гематогенного происхождения клетки. Сосочковый и сетчатый слои дермы не разграничиваются и образованы равномерно локализованными коллагеновыми волокнами, между которыми присутствуют клетки, преимущественно функционально активные фибробласты. Индекс тучных клеток составляет 26,15±0,10 при индексе дегрануляции 27,18±0,12 (таблица). Индекс дегрануляции

Изменение площади сосудов, коллагеновых волокон, индекса тучных клеток и индекса дегрануляции тучных клеток в биоптатах мышей контрольной и экспериментальных групп

Change in the area of vessels, collagen fibers, mast cell index and mast cell degranulation index in biopsies of mice of control and experimental groups

Грануляционная ткань дермы	Изменение толщины эпидермиса по отношению к контролю в %*	Изменение площади сосудов по отношению к контролю в %*	Изменение площади коллагеновых волокон по отношению к контролю в %*	Индекс тучных клеток	Изменение индекса тучных клеток по отношению к контролю в %*	Индекс дегрануляции	Изменение индекса дегрануляции по отношению к контролю в %*
Контрольная группа	0	0	0	26,15±0,10	0	27,18±0,12	0
Первая экспериментальная группа	+15,86	+15,86	+11,16	22,43±0,11	-14,23	29,24±0,11	+7,05
Вторая экспериментальная группа	+51,42	+39,88	+27,13	19,66±0,10	-24,82	35,08±0,10	+22,52
Третья экспериментальная группа	+43,57	+33,00	+23,47	20,27±0,12	-22,49	33,41±0,11	+18,56

Примечание: * – знак «-» означает снижение показателя по отношению к контролю, знак «+» означает повышение показателя по отношению к контролю.

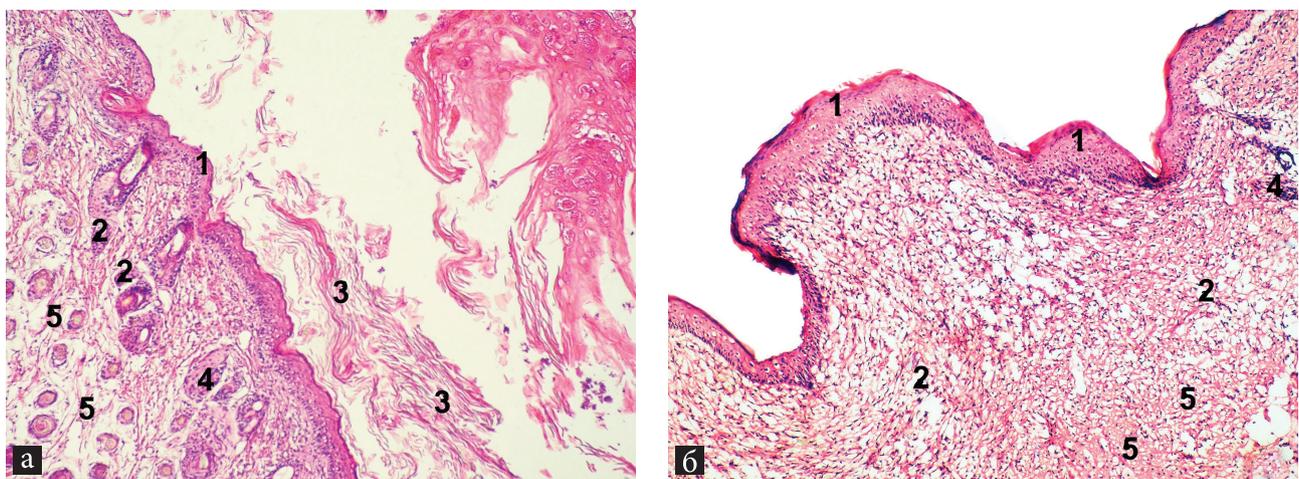


Рис. 1. Биоптаты кожи мыши. А – контрольная группа; Б – первая экспериментальная группа. 1 – эпидермис; 2 – кровеносный сосуд; 3 – струп; 4 – лейкоцитарная инфильтрация; 5 – коллагеновые волокна. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение: ок. 10 об. 10.

Fig. 1. Mice skin biopsies. A – control group; B – the first experimental group. 1 – epidermis; 2 – blood vessel; 3 – scab; 4 – leukocyte infiltration; 5 – collagen fibers. Staining with hematoxylin and eosin. Magnification: approx. 10 vol. 10.

свидетельствует о функциональной активности тучных клеток, секреции гепарина и других биологически активных веществ, оказывающих стимулирующем влиянии на фибробласты и усилении ими коллагенообразования, а также модули-

рующем воздействии на клетки воспалительного ряда [6, 14]. Коллагеновые волокна занимают в среднем 29,70±0,16 от площади дермы. Эластические волокна отсутствуют. Немногочисленные кровеносные капилляры и вены расширены и

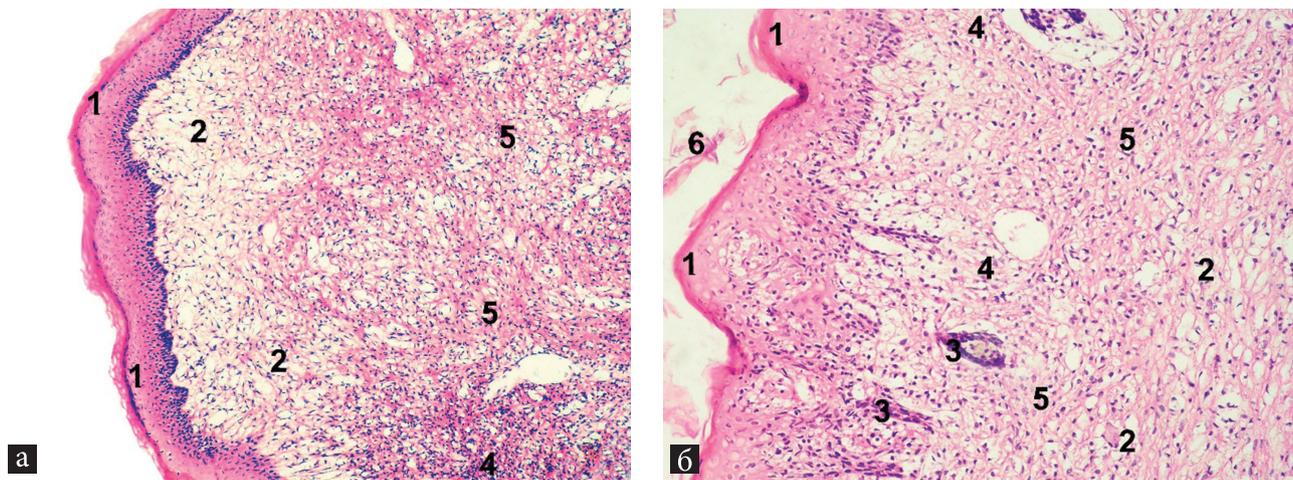


Рис. 2. Биоптаты кожи мыши. А – вторая экспериментальная группа; Б – третья экспериментальная группа. 1 – эпидермис; 2 – кровеносный сосуд; 3 – волосяной фолликул; 4 – фибробласты; 5 – коллагеновые волокна; 6 – струп. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение рис.2А ок. 10 об. 10. Увеличение рис.2Б ок. 10 об. 20.

Fig. 2. Mice skin biopsies. А – the second experimental group; Б – the third experimental group. 1 – epidermis; 2 – blood vessel; 3 – hair follicle; 4 – fibroblasts; 5 – collagen fibers; 6 – scab. Staining with hematoxylin and eosin. Magnification in Fig. 2A approx. 10 vol. 10. Magnification in pic.2B approx. 10 vol. 20.

их площадь составляет в среднем $0,69 \pm 0,02$. Вокруг них просматривается слабая лейкоцитарная инфильтрация.

У мышей первой экспериментальной группы эпителизация раны и отпадение силиконового кольца зафиксировано на один день раньше, чем в контроле, на $11,4 \pm 0,06$ сутки после операции и введения взвеси гетерофибробластов на ростовой среде ДМЕМ F12. Струп полностью отделился. Толщина эпидермиса на $15,86\%$ больше, чем в контроле, и составляет $61,48 \pm 0,14$ мкм (таблица). Эпидермис не полностью сформирован и состоит из мало дифференцированных трех слоев. Роговой слой просматривается на отдельных участках (рис. 2Б). Базальная мембрана ровная, лейкоцитарная инфильтрация отсутствует. Грануляционная ткань под эпидермисом представлена тонкими пучками неориентированных коллагеновых волокон, кровеносными сосудами и клеточными элементами. Индекс тучных клеток уменьшился на $14,23\%$ и составляет $22,43 \pm 0,11$. Вместе с тем функциональная активность тканевых базофилов увеличилась на $7,05\%$ (таблица). Коллагеновые волокна занимают в среднем $33,43 \pm 0,15\%$ от площади дермы, что на $11,16\%$ больше, чем в контрольной группе. Эластические волокна отсутствуют во всех участках дермы. Площадь кровеносных капилляров увеличилась на $15,86\%$ по сравнению с контролем и занимает $0,82 \pm 0,02\%$ от площади дермы.

У мышей второй экспериментальной группы на фоне введения взвеси аутофибробластов в ростовой среде ДМЕМ F12 эпителизация раны и отпадение силиконового кольца зафиксировано еще раньше, чем в контроле и первой экспериментальной группе, на $11,00 \pm 0,01$ день после операции. Течение регенераторного гистогенеза произошло более благоприятно. С поверх-

ности эпидермиса струп полностью отделился. Толщина эпидермиса на $51,42\%$ больше, чем в контрольной группе. Значительно продвинулась дифференцировка слоев эпидермиса. На поверхности заметен выраженный роговой слой (рис. 2А). Наметилось появление сосочкового слоя дермы в виде волнистой границы между базальной мембраной эпидермиса и подлежащей грануляционной тканью. Грануляционная ткань характеризуется усилением процессов ангиогенеза и коллагенообразования. Площадь, занятая коллагеновыми волокнами увеличилась на $27,13\%$ и составила $40,76 \pm 0,24\%$ от площади дермы, а сосудов – на $39,88\%$ и составила $1,73 \pm 0,01\%$ (таблица).

Лейкоцитарная инфильтрация отсутствует. Тучные клетки резко повысили выделение гранул ($22,52\%$), но уменьшились количественно ($24,82\%$), что является ярким подтверждением стихания воспаления, завершения воспалительной фазы раневого процесса и усиления коллагенообразования. Клеточные элементы фибробластического ряда представлены крупными вытянутыми слегка отростчатыми клетками, что свидетельствует об их функциональной активности. Эластические волокна отсутствуют во всех участках дермы.

У мышей третьей экспериментальной группы на 12-й день после трансплантации дермального эквивалента с гетерофибробластами рана покрыта тонким слоем бесструктурного струпа. Отпадение силиконового кольца фиксировалось на $12,20 \pm 0,11$ день после операции. Однако эпидермис выглядит значительно более дифференцированным, чем в предыдущих группах. Присутствуют и развиты все слои, кроме блестящего и зернистого. Толщина эпидермиса составляет $91,67 \pm 0,14$ мкм, что на $43,57\%$ больше контроля.

Эпидермис образует выросты в подлежащую грануляционную ткань, являющиеся закладкой волос и сосочкового слоя дермы (рис. 2Б). Ангиогенез и коллагенообразование активны. Площадь, занятая коллагеновыми волокнами увеличилась на 23,47% по сравнению с контролем и составила $38,81 \pm 0,12\%$ и от площади дермы, а сосудов – на 33,00% и составила $1,03 \pm 0,01\%$ (таблица). Тонкие неориентированные пучки коллагеновых волокон заполняют всю дерму рубца. Индекс тучных клеток составил $20,27 \pm 0,12$ и уменьшился на 22,49% по сравнению с контрольной группой. При этом индекс дегрануляции тучных клеток увеличился на 18,56% по отношению к контролю. Оба эти показателя не самые низкие из всех экспериментальных групп.

Заключение

Таким образом, на 12-й день заживления модельной ишемизированной раны эпидермис достигает наибольшей толщины после введения аутофибробластов, а наибольшей выраженности дифференцировки – после трансплантации в рану дермального эквивалента с гетерофибробластами. Ангиогенез также наиболее активен после введения аутофибробластов. Продукция коллагеновых волокон клетками фибробластического ряда грануляционной ткани, ангиогенез, а также содержание функционально активных тучных клеток свидетельствует о наиболее благоприятном воздействии на раневой процесс трансплантации в рану аутофибробластов. Вместе с тем, воздействие дермального эквивалента с гетерофибробластами также весьма значительное и отличается от воздействия аутофибробластов всего на несколько процентов: площадь коллагеновых волокон – на 2%, индекс тучных клеток – на 5%, индекс дегрануляции тучных клеток – на 4%, что делает такие различия недостоверными.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Глухов А.А., Аралова М.В. Патофизиология длительно незаживающих ран и современные методы стимуляции раневого процесса. *Новости хирургии*. 2015; 23(6): 673-679. [Gluhov A.A., Aralova M.V. Pathophysiology of long-term non-healing wounds and modern methods of stimulation of the wound process. *Novosti hirurgii*. 2015; 23(6): 673-79. (in Russ., English abstract)].
2. Алексеева Н.Т., Глухов А.А., Остроушко А.П. Роль клеток фибробластического дифферона в процессе заживления ран. *Вестник экспериментальной и клинической хирургии*. 2012; 5(3): 601-608. [Alekseeva N.T., Gluhov A.A., Ostroushko A.P. The role of fibroblast differon cells in the process of wound healing. *Vestnik jeksperimental'noj i klinicheskoy hirurgii*. 2012; 5(3): 601-8. (in Russ., English abstract)].
3. Данилов Р.К. *Раневой процесс: гистогенетические основы*. – СПб.: ВМедА им. С.М. Кирова, 2008. 380 с. [Danilov R.K. *Ranevoj process: gistogeneticheskie osnovy*. SPb.: WMEDA named after S.M. Kirov, 2008. 380 p. (in Russ.)].

4. Федоров Д.Н., Ивашкин А.Н., Васильев А.В. Морфологическая и иммуногистохимическая характеристика репаративных процессов в длительно незаживающих ранах. *Арх патол*. 2002; 1: 8-11. [Fedorov D.N., Ivashkin A.N., Vasil'ev A.V. Morfoloicheskaia i immunogistohimicheskaia harakteristika reparativnyh processov v dlitel'no nezazhivajushih ranah. *Arh patol*. 2002; 1: 8-11. (in Russ.)].

5. Одинцова И.А. Современные аспекты гистологического анализа раневого процесса. *Вопросы морфологии XXI века / под ред. И.А. Одинцовой, С.В. Костюкевича*. Вып. 4. СПб. 2015: 51-53. [Odintsova I.A. Sovremennye aspekty gistologicheskogo analiza ranevogo processa. *Questions of the morphology of the XXI century / Ed. I.A. Odintsova, S.V. Kostyukevich. Issue. 4. SPb., 2015: 51-53. (in Russ.)].*

6. Алексеева Н.Т., Клочкова С.В., Никитюк Д.Б. Морфологическая характеристика тучных клеток при регенерации кожи. *Оренбургский медицинский вестник*. 2016; 6(3): 13-16. [Alekseeva NT, Klochkova SV, Nikityuk DB. Morphological characteristics of mast cells during skin regeneration. *Orenburg Medical Bulletin*. 2016; 6(3): 13-16. (in Russ., English abstract)].

7. Мелешина А.В., Быстрова А.С., Роговая О.С. и др. Тканеинженерные конструкторы кожи и использование стволовых клеток для создания кожных эквивалентов (обзор). *Современные технологии в медицине*. 2017; 9(1): 198-218. DOI: 10.17691/stm2017.9.1.24. [Meleshina A.V., Bystrova A.S., Rogovaya O.S., Vorotelyak E.A., Vasiliev A.V., Zagaynova E.V. Tissue-engineered skin constructs and application of stem cells for creation of skin equivalents (review). *Sovremennye tehnologii v medicine*. 2017; 9(1): 198-218. (in Russ., English abstract). DOI: 10.17691/stm2017.9.1.24.].

8. Юдинцева Н.М., Самусенко И.А., Блинова М.И. и др. Дермальный эквивалент на основе фибрина и восстановление соединительной ткани в результате его трансплантации на раны экспериментальных животных. *Аутологичные стволовые клетки: экспериментальные исследования и перспективы клинического применения / под ред. В.А. Ткачука*. – М.: Литтерра, 2009: 209-221. [Judinceva N.M., Samusenko I.A., Blianova M.I., Pinaev G.P. Dermal'nyj jekivalent na osnove fibrina i vosstanovlenie soedinitel'noj tkani v rezul'tate ego transplantacii na rany jeksperimental'nyh zhivotnyh. *Autologichnye stvolovye kletki: jeksperimental'nye issledovanija i perspektivy klinicheskogo primenenija*. M.: Litterra. 2009: 209-221. (in Russ.)].

9. Шаповалова Е.Ю., Морозова М.Н., Барановский Ю.Г. и др. Сравнительная характеристика волокнистого состава рубца после введения ауто- и гетерофибробластов в рану у мышей. *Здоровье и образование в XXI веке*. 2017; 19(3): 100-104. [Shapovalova Ye. Yu., Morozova M.N., Baranovskiy Yu.G., Boyko T.A., Baranovskiy A.G. The comparative characteristic of scar fiber composition after implantation of auto- and heterofibroblasts into the wound for mice. *Zdorov'e i obrazovanie v XXI veke*. 2017; 19(3). 100-4. (in Russ., English abstract)].

10. Кандашевская М.В. Тучные клетки и гепарин – ключевые звенья в адаптивных и патологических процессах. *Вестник РАМН*. 2010; 6: 49-54. [Kandashevskaya M.V. Tuchnye kletki i geparin – ključevye zven'ja v adaptivnyh i patologicheskikh procesсах. *Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2010; 6: 49-54. (in Russ.)].

11. Гусельникова В.В., Пронина А.П., Назаров П.Г. и др. Происхождение тучных клеток: современное состояние проблемы. *Вопросы морфологии XXI века / Под ред. Р.К. Данило-*

ва, С.В. Костюкевича, И.А. Одинцовой. Вып. 2. СПб., 2010: 108-115. [Guselnikova VV, Pronina AP, Nazarov PG, Polevshchikov A.V. Proishozhdenie tuchnyh kletok: sovremennoe sostojanie problemy. Questions of the morphology of the XXI century / Ed. R.K. Danilova, S.V. Kostyukevich, I.A. Odintsovoy. Issue. 2. St. Petersburg, 2010: 108-115. (in Russ.)].

12. Барановский Ю.Г., Ильченко Ф.Н., Шаповалова Е.Ю. Способ моделирования трофической язвы у лабораторных мышей в опытной модели. Вестник неотложной и восстановительной хирургии. 2016; 1(2): 259-261. [Baranovskiy Yu.G., Ilchenko F.N., Shapovalova E. Yu. Method of modeling trophic ulcers in laboratory mice in the experimental model. Vestnik neotlozhnoj i vosstanovitel'noj hirurgii. 2016; 1(2): 259-61. (in Russ., English abstract)].

13. Андреев Д.Ю., Абрамова Н.В., Блинова М.И. и др. Эффективность кожной пластики и дермального эквивалента в лечении обширных язв голени смешанного генеза. Вестник хирургии им. И.И. Грекова. 2013; 172(1): 104-107. [Andreev D.Yu., Abramova N.V., Blinova M.I., Pinaev G.P. Эффективность кожной пластики и дермального эквивалента в лечении обширных язв голени смешанного генеза. Vestnik hirurgii im. I.I. Grekova. 2013; 172(1): 104-7. (in Russ.)].

14. Speirman K. Endogenous suppression of mast cell development and survival by IL-4 and IL-10. J. Leukos. Biol. 2009; 85(5): 826-836.

Поступила / Received 21.07.2017

Принята в печать / Accepted 30.08.2017

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflict of interest

Контактная информация: Шаповалова Елена Юрьевна; тел.: +7(978) 765-71-96; e-mail: Shapovalova_L@mail.ru; Россия, 295051, г. Симферополь, бул. Ленина 5/7.

Corresponding author: Elena Yu. Shapovalova; tel.: +7(978) 765-71-96; e-mail: Shapovalova_L@mail.ru; 5/7, Lenina bul, Simferipol, Russia, 295051.

Благодарности: Работа поддержана проектом «Сеть академической мобильности «РНИЭМ»» ФГАОУ ВО «КФУ имени В.И. Вернадского» и выполнена с использованием инфраструктуры ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» и ФГБУН «Институт цитологии РАН» (г. Санкт-Петербурга).

Acknowledgements: The work was supported by the project "Academic Mobility Network "Development of Research in the Field of Experimental Medicine"" of V.I. Vernadsky Crimean Federal University and was implemented using the infrastructure of Pavlov First Saint Petersburg State Medical University and Institute of Cytology RAS (St. Petersburg).