

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

МАКСИМОВА ОЛЕНА СЕРГІЇВНА


УДК 616.5-003.93:616.379-008.64:616.151-092.9(043)

ДИСЕРТАЦІЯ

**СТРУКТУРНІ ОСОБЛИВОСТІ РЕГЕНЕРАЦІЇ ШКІРИ ЗА УМОВ
ГШЕРГЛІКЕМІЇ У ВІКОВОМУ АСПЕКТІ**

222 – «Медицина»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії
Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

 Максимова О. С.

Науковий керівник:

Ткач Геннадій Федорович, доктор медичних наук, професор

Суми – 2022

АНОТАЦІЯ

Максимова О. С. Структурні особливості регенерації шкіри за умов гіперглікемії у віковому аспекті. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 – «Медицина». – Сумський державний університет, Суми, 2022.

Сумський державний університет, Суми, 2022.

Дисертаційна робота присвячена визначенню структурних особливостей регенерації шкіри за умов хронічної гіперглікемії у віковому аспекті, а також з'ясуванню можливості застосування збагаченої тромбоцитами плазми крові для корекції процесу регенерації шкіри щурів молодого, зрілого та старечого віку за умов впливу хронічної гіперглікемії.

Дослідження проведено на 270 білих лабораторних щурах – самцях віком від 4 до 22 місяців, які були поділені на три групи та підгрупи за різними віковими ознаками (молодого віку 4 – 6 місяців, зрілого віку – 7 – 9 місяців та старечого віку – 20 – 22 місяців). Першу групу склали щури із механічною травмою шкіри, які слугували контролем для коректного порівняння із експериментальними групами. Другу групу склали тварини, яким моделювали хронічну гіперглікемію та механічну травму шкіри. Тваринам третьої групи моделювали хронічну гіперглікемію, механічну травму шкіри та вводили збагачену тромбоцитами плазму.

Хронічну гіперглікемію у тварин моделювали наступним чином: протягом двох тижнів щури замість питної води вживали 10 % водний розчин фруктози. Після цього кожній тварині було одноразово виконане внутрішньоочеревинне введення стрептозотоцину на цитратному буфері (рН буфера – 4,5; доза стрептозотоцину – 40 мг/кг) (Sigma-Aldrich, USA) та нікотинової кислоти (1 мг/кг) (ФК «Здоров'я», Україна). Після 60 днів, для дослідження були відібрані щури, які протягом 3 днів поспіль мали рівень

глюкози у крові вище 12 ммоль/л. Травму моделювали усім тваринам шляхом вирізання клапотя шкіри у міжлопатковій ділянці спини діаметром 1,5 см з використанням трафарету з круглим отвором. У тварин першої та другої груп рана залишалася гоїтися під згустком крові. Щурам третьої групи вводили у краї ран аутологічну плазму збагачену тромбоцитами. Вивчення морфологічних особливостей регенерації шкіри проводили на 7-му, 14-ту та 21-шу добу після нанесення травми. Для цього використовували мікроскопічний, ультрамікроскопічний, морфометричний, планіметричний та статистичний методи. Світлову мікроскопію проводили з використанням мікроскопу Olympus BH-2 (Японія). Ультрамікроскопічне дослідження виконували за допомогою трансмісійного електронного мікроскопа JEM-1230 (фірма JEOL, Японія). Морфометричний та планіметричний аналіз здійснювали за допомогою мікросітки, мікролінійки та з використанням обчислювальної програми «Digimizer». Вимірювали товщину епідермісу (мкм); товщину дерми (мкм); площу рани (мм²). Швидкість загоєння ран шкіри розраховували за формулою: $V = S_0/S_1 * t$ (мм²/добу), S_0 – площа рани при попередньому вимірі (мм²); S_1 – площа рани при даному вимірі (мм²); t – кількість днів між першим та наступним вимірюванням (доба). Статистичне опрацювання числових даних проводили за допомогою пакету програм SPSS (версія 17.0, США) та Microsoft Excel 2016.

Травма шкіри запускає активацію механізмів, які направлені на відновлення втраченої тканини. У тварин молодого віку контрольної групи спостерігається більш швидке загоєння рани на ранніх термінах регенерації, що обумовлено віковим аспектом та морфологічними особливостями, а саме: наявністю у регенераті шкіри телоцитів та найбільшою щільністю судин серед усіх тварин ($11,27 \pm 1,81$)% на 7-му добу дослідження та ($30,95 \pm 1,704$)% у кінці експерименту). На пізніх термінах регенерації у тварин молодого та зрілого віку епітелізація ранової поверхні відбулась майже повністю (площа рани становила ($0,77 \pm 0,11$) мм² у тварин прогресивного та ($1,42 \pm 0,20$) мм² у тварин стабільного віку). Для тварин старечого віку була характерна не повна

епітелізація рани, порушення процесів кератинізації та реорганізації сполучної тканини дерми у сосочковий та сітчастий шари, що обумовлено віковими особливостями ранового загоєння.

Хронічна гіперглікемія призводить до сповільнення процесів проліферації та ремоделювання кератиноцитів, що збільшує тривалість загоєння ранових дефектів у тварин усіх вікових груп. Площа рани у тварин молодого віку у кінці експерименту зменшилась на 68,68% ($p < 0,001$), а у зрілих тварин – на 70,63% ($p < 0,001$) від початкової завданої площі ранового дефекту. У тварин старечого віку із хронічною гіперглікемією регенерація шкіри відбулась найгірше, площа рани зменшилася у кінці дослідження лише на 52,004% ($p < 0,001$) відповідно площі завданої рани.

Хронічна гіперглікемія чинить негативний вплив на процеси кератинізації епідермісу, ремоделювання новоутвореної дерми та утворення волосяного апарату шкіри у щурів усіх вікових груп. Порушується формування базальної мембрани та диференціація кератиноцитів. Затримується елімінація запального інфільтрата у регенератах.

Внаслідок пригнічення ангиогенезу у тварин усіх вікових груп відзначена низька щільність судин мікроциркуляторного русла. У щурів молодого віку на 7-му та 14-ту добу дослідження щільність судин не відрізнялася від показників щурів зрілого віку ($p = 0,4329$) та ($p = 0,5545$). У кінці експерименту щільність судин у регенератах шкіри щурів прогресивного віку була меншою на 36,28% ($p < 0,001$) відповідно контролю, а у щурів стабільного віку менше на 45,36% ($p < 0,001$). У щурів старечого віку із хронічною гіперглікемією на 21-шу добу регенерації щільність судин була на 49,08% ($p < 0,0224$) менше контрольного показника.

Ін'єкції збагаченої тромбоцитами плазми призводять до частково нівелювання негативного впливу хронічної гіперглікемії на регенерацію шкіри, що проявлялося інтенсивнішому новоутворенню кровоносних судин та прискоренню загоєння ран у тварин усіх вікових групах. Як результат, краще відбувалися процеси проліферації, диференціювання кератиноцитів та

ремоделювання дерми. Найбільш ефективним було застосування збагаченої тромбоцитами плазми у щурів молодого та зрілого віку, про, що свідчило зменшення ранових поверхонь (площа рани у щурів молодого віку зменшилась на 93,78% ($p < 0,001$) на останньому терміні дослідження, а у щурів зрілого віку на 89,74% ($p < 0,001$) відповідно площі завданої рани). У щурів старечого віку введення збагаченої тромбоцитами плазми призвело до зменшення ранової поверхні на 80,78% ($p = 0,179$) відповідно початкового розміру дефекта.

Наукова новизна. На значній кількості експериментального матеріалу, сучасними методами морфологічного та імуногістохімічного аналізів доповнені знання щодо особливостей регенерації шкіри після нанесення механічної травми за умов впливу хронічної гіперглікемії у віковому аспекті.

Встановлено, що хронічна гіперглікемія призводить до сповільнення процесів проліферації та диференціювання кератиноцитів, порушення утворення базальної мембрани епідермісу, що збільшує тривалість загоєння ранових дефектів у тварин усіх вікових груп. Затримується формування волосяного апарату шкіри та ремоделювання сполучної тканини дерми на її сосочковий та сітчастий шари. Сповільнюється елімінація запального інфільтрата у регенератах шкіри.

За допомогою використання імуногістохімічного аналізу зі застосуванням моноклонального антитіла CD34⁺ було визначено, що за умов хронічної гіперглікемії відбувається пригнічення ангиогенезу у тварин усіх вікових груп.

Вивчено, що ін'єкції збагаченої тромбоцитами плазми призводять до частково нівелювання негативного впливу хронічної гіперглікемії на регенерацію шкіри, що проявлялося в інтенсивнішому новоутворенню кровоносних судин та прискоренню загоєння ран в усіх вікових групах тварин. Краще відбувалися процеси проліферації, диференціювання кератиноцитів та ремоделювання дерми. Найбільш ефективним було застосування збагаченої

тромбоцитами плазми у щурів молодого та зрілого віку, що достовірно призвело до зменшення ранових поверхонь.

Практичне значення. Виконане дослідження дало можливість експериментально доповнити та поглибити знання, щодо особливостей регенерації шкіри після нанесення механічної травми у щурів молодого, зрілого та старечого віку за умов впливу хронічної гіперглікемії та при застосуванні аутологічної збагаченої тромбоцитами плазми для нівелювання негативного впливу хронічної гіперглікемії на регенераторний процес. Отримані дані дають підставу для подальшого вивчення можливості використання аутологічної збагаченої тромбоцитами плазми для покращення процесів регенерації шкіри після нанесення механічної травми в осіб різного віку із порушеним вуглеводним обміном.

Ключові слова: щури, регенерація, шкіра, гіперглікемія, збагачена тромбоцитами плазма.

Список публікацій здобувача

1. Maksymova OS, German SM, Moskalenko PO, Yasenok VO, Gortynska OM, Hortynskiy KM, Tkach GF. Features of skin wounds healing under chronic hyperglycemia and improvement of their treatment methods. *Wiadomości Lekarskie*. 2021;74(5):1174-1179. doi: 10.36740/WLek202105124. (обліковується наукометричною базою Scopus) *(здобувач провела моделювання хронічної гіперглікемії, механічної травми, мофрологічний аналіз, статистично обробила та проаналізувала матеріал, підготувала статтю до друку)*.
2. Максимова ОС. Загоєння ран шкіри щурів старечого віку за умов хронічної гіперглікемії та при застосуванні збагаченої тромбоцитами плазми. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2021;6(30):44-50. doi:10.26693/jmbs06.02.044.

3. Максимова ОС, Муравський ДВ, Ткач ГФ. Структурні особливості репаративної регенерації шкіри щурів зрілого віку за умов хронічної гіперглікемії. Український журнал медицини, біології та спорту. 2020;5(28):72-78. doi: 10.26693/jmbs05.06.072. *(здобувач провела моделювання хронічної гіперглікемії, механічної травми, статистично обробила та проаналізувала матеріал, підготувала статтю до друку).*
4. Максимова ОС, Ткач ГФ. Гістологічна та планіметрична характеристика регенерації шкіри щурів молодого віку за умов хронічної гіперглікемії. Вісник проблем біології і медицини. 2020;4(158):276-281. doi:10.29254/2077-4214-2020-4-158-276-281. *(здобувач провела моделювання хронічної гіперглікемії, механічної травми, статистично обробила та проаналізувала матеріал, підготувала статтю до друку).*
5. Ілляшенко ВЮ, Ткач ГФ, Максимова ОС, Ткаченко АС, Дудченко ЄС, Муравський ДВ, Дейнеко ОС. Препарувальний лоток для фіксації дрібних лабораторних тварин. Патент на корисну модель № 145726. МПК 2021.01. № u 2020 05430; заявл. 2020-08-21; опубл. 2020-12-28, Бюл. № 24. *(здобувач провела аналіз результатів та оформила патент).*
6. Максимова ОС, Ткач ГФ. Планіметричний аналіз ранового процесу шкіри у щурів молодого віку за умов хронічної гіперглікемії та при застосуванні PRP – терапії. International scientific and practical conference «Today's problems in medicine, pharmacy and dentistry», Arad – 2020. – P. 114-116. *(здобувач провела планіметричний аналіз, опрацювала результати, сформулювала висновки)*
7. Максимова ОС, Ткач ГФ. Структурні особливості репаративної регенерації шкіри за умов хронічної гіперглікемії організму. Наукова-практична конференція «Актуальні питання сучасної морфології» присвячена 100-річчю з дня народження професора Олександра Гавриловича Яхниці та 65-річчю з дня народження професора Миколи Анатолійовича Волошина, м. Запоріжжя, 3-4 жовтня 2020 року. С. 73-74. *(здобувач провела експеримент, опрацювала результати, сформулювала висновки)*

8. Maksymova OS, Tkach GF. Microscopic features of reparative skin regeneration under chronic hyperglycemia. «International Scientific Conference of Students, Postgraduates and Young Scientists «Biomedical Perspectives II», Sumy, October 20-22, 2020. – P. 25. (здобувач провела мікроскопічний аналіз, опрацювала результати, сформулювала висновки)
9. Максимова О. Особливості ранового процесу шкіри у щурів старечого віку за умов хронічної гіперглікемії. XXV Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених, м. Тернопіль, 12-14 квітня 2021. С. 320.
10. Максимова ОС, Ткач ГФ. Ультрамiкроскопiчний аналіз регенерату шкіри у щурів старечого віку за умов хронічної гіперглікемії та при застосуванні збагаченої тромбоцитами плазми. Міжнародна наукова конференція, присвячена 100-річчю з часу заснування кафедри анатомії, гістології і патоморфології тварин ім. акад. В. Г. Касьяненка Національного університету біоресурсів і природокористування України, Київ, 23–24 вересня 2021 року. – К., 2021. – С. 41-42. (здобувач провела ультрамiкроскопiчний аналіз, опрацювала результати, сформулювала висновки)

ANNOTATION

Maksymova O. S. Structural features of skin regeneration under conditions of hyperglycemia in the age-related aspect. – Manuscript.

Thesis for a doctor of philosophy degree by speciality 222 – «Medicine». – Sumy State University, Sumy, 2022.

Sumy State University, Sumy, 2022.

The thesis is devoted to determining the structural features of skin regeneration under conditions of hyperglycemia in the age-related aspect, as well as to elucidation of the possibility of using platelet-rich blood plasma to correct the skin regeneration of young, mature and elderly rats under chronic hyperglycemia.

The study was performed on 270 white laboratory rats – 4 – 22-months-old males which were divided into three groups and subgroups according to different age characteristics (young rats – 4 – 6 months, mature rats – 7 – 9 months and elderly rats – 20 – 22 months). The first group consisted of rats with mechanical skin trauma which served as a control for correct comparison with the experimental groups. The second group consisted of animals which were subjected to simulation of the chronic hyperglycemia and modeling of the mechanical skin trauma. The animals from the third group were subjected to simulation of chronic hyperglycemia, the modeling of the mechanical skin trauma and injected with the platelet-rich plasma.

The chronic hyperglycemia in animals was modeled as follows: the rats have been consumed 10% aqueous solution of fructose instead of drinking water for two weeks. After that, each animal was administered a single intraperitoneal injection of streptozotocin reconstituted in citrate buffer (buffer pH 4.5 – dose of streptozotocin 40 mg/kg) (Sigma-Aldrich, USA) and nicotinic acid (1 mg/kg). On the 60th day, rats that have had a blood glucose level above 12 mmol/l for 3 consecutive days were selected for the study. The wound was made in all animals by cutting a piece of skin with a diameter of 1.5 cm in the interscapular area of the back using a stencil with a circular hole. In animals of the first and second groups, the wound was left to heal under the blood clot. Autologous platelet-rich plasma was injected into the wound edges of rats from the third group. The study of morphological features of skin regeneration was performed on the 7th, 14th and 21st day after trauma. Microscopic, ultramicroscopic, morphometric, planimetric and statistical methods were used for this purpose. Light microscopy was performed using an Olympus BH-2 microscope (Japan). Ultramicroscopic examination was performed using a transmission electron microscope JEM-1230 (JEOL, Japan). Morphometric and planimetric analysis was performed using a microgrid, a microrule and using software «Digimizer». The thickness of the epidermis (μm); the thickness of the dermis (μm); wound area (mm^2) were measured. The wound healing rate in skin was calculated by the formula: $V = S_0/S_1 * t$ (mm^2/day), S_0 – the wound area at the previous measurement (mm^2); S_1 – the wound area at a given measurement (mm^2); t – the number of days between

the first and the next measurement (day). Statistical numerical data processing was performed using the software package SPSS-17 (version 17.0, USA) and Microsoft Excel 2016.

The skin injury triggers the activation of mechanisms that are aimed at the recovery of lost tissue. In young animals of the control group there is a faster healing of the wound at the early stages of regeneration due to the age aspect and morphological features, namely: the presence of telocytes in the skin regenerate and the highest vascular density among all animals (11.27 ± 1.81) % on the 7th day of the study and (30.95 ± 1.704) % at the end of the experiment). At the late stages of regeneration, the epithelialization of the wound surface was almost complete in young and mature animals (wound area was (0.77 ± 0.11) mm² in the animals of the regressive age and (1.42 ± 0.20) mm² in the animals of stable ages). Elderly animals were characterized by the incomplete epithelialization of the wound, the disruption of keratinization and the reorganization of the dermis connective tissue into papillary and reticular layers due to the age characteristics of wound healing.

The chronic hyperglycemia leads to a slowdown in the proliferation and remodeling of keratinocytes that increases the duration of healing of wound defects in animals of all ages. The wound area decreased by 68.68% ($p < 0.001$) in young animals at the end of the experiment and decreased by 70.63% ($p < 0.001$) of the initial area of the wound defect in mature animals. In elderly animals with chronic hyperglycemia, the skin regeneration was the worst, the wound area decreased by only 52.004% ($p < 0.001$) according to the area of the wound at the end of the study.

The chronic hyperglycemia has a negative effect on the processes of keratinization of the epidermis, remodeling of the newly formed dermis and the formation of the hair apparatus of the skin in rats of all ages. The formation of the basement membrane and the differentiation of keratinocytes are disturbed. The elimination of inflammatory infiltrate in regenerates is delayed.

Due to the inhibition of angiogenesis in animals of all ages there is a low density of vessels of the microcirculatory tract. In young rats on the 7th and 14th day of the study, the vascular density did not differ from that of adult rats ($p = 0.4329$)

and ($p = 0.5545$). At the end of the experiment, the vascular density was lower by 36.28% ($p < 0.001$) in the skin regenerates of progressive rats according to the control, and the vascular density was lower by 45.36% ($p < 0.001$) in rats of stable age. In elderly rats with chronic hyperglycemia on the 21st day of regeneration, the vascular density was by 49.08% ($p < 0.0224$) less than the control value.

The injections of platelet-enriched plasma partially offset the negative effects of chronic hyperglycemia on skin regeneration, which was manifested by more intense vascular neoplasms and accelerated wound healing in animals of all ages. As a result, the processes of proliferation, keratinocyte differentiation and dermal remodeling were better. The most effective was the use of platelet-enriched plasma in young and adult rats, as evidenced by a decrease in wound surfaces (the wound area decreased by 93.78% ($p < 0.001$) in young rats at the last study period, and the wound area decreased by 89.74% ($p < 0.001$) in the adult rats according to the area of the wound). In senile rats, the injection of platelet-enriched plasma reduced the wound surface by 80.78% ($p = 0.179$) according to the initial size of the defect.

Scientific novelty. Knowledge of the peculiarities of skin regeneration after mechanical trauma under the influence of chronic hyperglycemia in the age aspect has been supplemented on the basis of a significant amount of experimental material, modern methods of morphological and immunohistochemical analyzes.

It is established that chronic hyperglycemia leads to slowing down the processes of proliferation and differentiation of keratinocytes, violation of the formation of the basement membrane of the epidermis, which increases the duration of healing of wound defects in animals of all ages. The formation of the hair apparatus of the skin and the remodeling of the connective tissue of the dermis on its papillary and reticular layers is delayed. Elimination of inflammatory infiltrate in skin regenerates is slowed down.

Using immunohistochemical analysis using CD34⁺ monoclonal antibody, it was determined that in conditions of chronic hyperglycemia, the angiogenesis is inhibited in animals of all ages.

It has been studied that platelet-enriched plasma injections partially offset the negative effects of chronic hyperglycemia on skin regeneration, which manifested itself in more intense neoplasms of blood vessels and accelerated wound healing in all age groups of animals. Proliferation, keratinocyte differentiation and dermal remodeling were better. The most effective was the use of platelet-enriched plasma in young and adult rats, which significantly reduced the wound surfaces.

Practical meaning. The study has provided an opportunity to experimentally supplement and deepen knowledge about the features of skin regeneration after mechanical trauma in young, mature and senile rats under conditions of chronic hyperglycemia and the use of autologous platelet-enriched plasma to reduce the negative impact of chronic hyperglycemia on the regeneration. The obtained data provide a basis for further study of the possibility of using autologous platelet-enriched plasma to improve skin regeneration processes after mechanical injury in people of different ages with impaired carbohydrate metabolism.

Key words: rats, regeneration, skin, hyperglycemia, platelet-enriched plasma.

ЗМІСТ

	С.
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	14
ВСТУП	15
Розділ 1 Огляд літератури	21
1.1 Фізіологічна та репаративна регенерація шкіри в нормі та за умов хронічної гіперглікемії організму	21
1.2 Регенераційна терапія PRP – технологій: експериментальне обґрунтування	35
Розділ 2 Матеріали та методи дослідження	45
2.1 Загальна характеристика експериментальної моделі	45
2.2 Методи дослідження	48
Розділ 3 Результати власних досліджень	51
3.1 Структурні особливості репаративної регенерації шкіри у щурів молодого, зрілого та старечого віку контрольних груп	51
3.2 Структурні особливості регенерації шкіри у щурів молодого, зрілого та старечого віку із хронічною гіперглікемією	70
3.3 Структурні особливості регенерації шкіри у щурів молодого, зрілого та старечого віку за умов хронічної гіперглікемії та при застосуванні збагаченої тромбоцитами плазми	90
Розділ 4 Аналіз та узагальнення результатів власних досліджень	112
ВИСНОВКИ	138
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	140
ДОДАТКИ	170

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ЦД	– цукровий діабет
АДФ	– аденозиндифосфат
PDGF	– тромбоцитарний фактор росту
TGF- β	– трансформуючий фактор росту β
FGF/ФРФ	– основний фактор росту фібробластів
EGF	– епідермальний фактор росту
IGF	– інсуліноподібний фактор росту
VEGF	– фактор росту судинного ендотелію
KGF/ФРК	– фактор росту кератиноцитів
CTGF	– фактор росту сполучної тканини
ІІ	– інтерлейкін
TNF- α /ФНП- α	– фактор некрозу пухлини α
НВ-EGF	– гепарин-зв'язуючий EGF-подібний фактор росту
ЕСМ	– позаклітинний матрикс
GM-CSF	– гранулоцитарно-макрофагальний колонієстимулюючий фактор
MMP/ MMPs	– матриксна металопротеїназа
GLUT1	– глюкозний транспортер тип 1
ДНК	– дезоксирибонуклеїнова кислота
ІПФР	– інсуліноподібний фактор росту
PRP	– збагачена тромбоцитами плазма
ФРСТ	– фактор росту сполучної тканини

ВСТУП

ЦД є одним із поширених захворювань у світі, що цілком обґрунтовано трактується як неінфекційна пандемія. ЦД вже давно віднесли до трійки захворювань, що найчастіше призводять до інвалідизації населення й смерті. Встановлено, що кожного року у світі від ЦД помирає близько 4,6 млн. осіб. Щорічні витрати охорони здоров'я на надання допомоги хворим ЦД складають близько 465 млрд доларів [1-3].

За даними IDF (International Diabetes Federation), на сьогодні у світі налічується більше 425 млн. людей, хворих на ЦД, а до 2035 року експерти прогнозують збільшення цієї цифри до 592 млн. Крім цього, ще у 280 млн. виявлено порушення вуглеводного обміну. При цьому не враховують тих пацієнтів, які не знають про наявність у них гіперглікемії, а їх число вважається у 3 – 4 рази перевищує число тих, кому діагноз вже встановлений [4-9].

В Україні, за даними центру медичної статистики МОЗ, налічується близько 1,3 млн хворих на ЦД [10-13].

ЦД часто ускладнює перебіг інших захворювань, збільшує ризик розвитку кардіоміопатії, нефропатії, ретинопатії, дерматопатії та ангіопатії периферичних судин [1, 14-16].

Крім того, порушення вуглеводного обміну все частіше спостерігається у дітей та людей молодого віку, що пов'язано із збільшенням вживання фастфудів, незбалансованим харчуванням, збільшення кількості вживання лікарських засобів, стресів, гіподинамічного способу життя. ЦД 1 типу одне з найпоширеніших хронічних захворювань дитячого віку, із частотою випадків 1 на 350 дітей віком до 18 років. Останнім часом захворюваність зростає, особливо серед дітей < 5 років. ЦД 2 типу, колись рідкісне захворювання у дітей, яке зустрічається все частіше, паралельно зі зростанням дитячого ожиріння. Він, як правило, проявляється після статевого дозрівання з високою частотою між 15 і 19 роками [5, 8, 9].

Ще однією проблемою на сьогодні за показниками здоров'я ВООЗ є збільшення травматизму та його ускладнень. Рани становлять істотну частку хірургічної патології, є серйозною медичною проблемою в усьому світі. У порівнянні з минулими роками травматизм та насильство постійно збільшуються в Європейському регіоні, ставлячи під загрозу економічний та соціальний розвиток [17-20].

Тривало існуючі ранові та виразкові дефекти вимагають тривалого використання регенеруючих, протизапальних, антибактеріальних, знеболювальних препаратів та неодноразових хірургічних втручань [21-23].

Відновлювальне лікування ран є одним із актуальних медичних та соціальних проблем науки та практики, значення якого ще більш зростає зі збільшенням кількості стихійних лих, виробничих та побутових травм, воєнних конфліктів, ростом загальної захворюваності, зниження економічного рівня життя [24].

Не зважаючи на те, що сьогодні існує низка досліджень, які розкривають закономірності процесів регенерації шкіри за умов впливу різних чинників, багато особливостей про механізми регенерації шкіри саме за умов хронічної гіперглікемії залишаються невідомими [25-31].

Крім того, останніми роками існує потреба у доступних та ефективних методах лікування ран [25]. Результати кількох нещодавніх досліджень показали ефективність застосування збагаченої тромбоцитами плазми для лікування виразок у хворих із синдромом діабетичної стопи [94, 185]. При цьому, сьогодні існують поодинокі роботи, які на мікро- та ультраскопічному рівнях розкривають вплив збагаченої тромбоцитами плазми на процес регенерації шкіри за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії [26, 27].

У зв'язку з вищевикладеним, існує потреба у більш детальному вивченні регенерації шкіри на мікро- та ультраструктурному рівнях за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії та при застосуванні збагаченої тромбоцитами плазми у віковому аспекті, що доповнить та поглибить знання про закономірності цього процесу.

Зв'язок роботи з науковими програмами планами, темами

Дисертаційна робота виконана згідно з планом наукових досліджень Сумського державного університету МОН України і є складовою частиною науково-дослідної теми кафедри морфології Сумського державного університету МОН України «Морфофункціональні аспекти порушення гомеостазу організму» (номер державної реєстрації 0118U006611).

Мета – визначення морфологічних особливостей регенерації шкіри у щурів молодого, зрілого та старечого віку із хронічною гіперглікемією, а також з'ясування можливості застосування збагаченої тромбоцитами плазми для корекції регенерації шкіри щурів різного віку за умов впливу хронічної гіперглікемії.

Завдання дослідження

1. Визначити мікро-, ультраструктурні, імуногістохімічні, морфометричні та планіметричні особливості регенерації шкіри контрольних тварин молодого, зрілого та старечого віку для подальшого проведення порівняльного аналізу отриманих даних.

2. Вивчити морфологічні характеристики регенерації шкіри щурів прогресивного, стабільного та регресивного віку за умов впливу хронічної гіперглікемії.

3. Дослідити морфометричні та планіметричні особливості регенерату шкіри щурів молодого, зрілого та старечого віку за умов впливу хронічної гіперглікемії.

4. Вивчити можливість корекції негативного впливу хронічної гіперглікемії на регенерацію шкіри щурів молодого, зрілого та старечого віку збагаченою тромбоцитами плазмою.

Об'єкт дослідження – регенерація шкіри щурів молодого, зрілого та старечого віку за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії.

Предмет дослідження – морфологічні особливості перебігу регенерації шкіри за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії.

Методи дослідження: мікроскопічний, ультрамікроскопічний, морфометричний, планіметричний, імуногістохімічний, статистичний.

Наукова новизна отриманих результатів

На значній кількості експериментального матеріалу, сучасними методами морфологічного та імуногістохімічного аналізів доповнені знання щодо особливостей регенерації шкіри після нанесення механічної травми за умов впливу хронічної гіперглікемії у віковому аспекті.

Встановлено, що хронічна гіперглікемія призводить до сповільнення процесів проліферації та диференціювання кератиноцитів, порушення утворення базальної мембрани епідермісу, що збільшує тривалість загоєння ранових дефектів у тварин усіх вікових груп. Затримується формування волосяного апарату шкіри та ремоделювання сполучної тканини дерми на її сосочковий та сітчастий шари. Сповільнюється елімінація запального інфільтрата у регенератах шкіри.

За допомогою використання імуногістохімічного аналізу зі застосуванням моноклонального антитіла CD34⁺ було визначено, що за умов хронічної гіперглікемії відбувається пригнічення ангиогенезу у тварин усіх вікових груп.

Вивчено, що ін'єкції збагаченої тромбоцитами плазми призводять до частково нівелювання негативного впливу хронічної гіперглікемії на регенерацію шкіри, що проявлялося в інтенсивнішому новоутворенню кровоносних судин та прискоренню загоєння ран в усіх вікових групах тварин. Краще відбувалися процеси проліферації, диференціювання кератиноцитів та ремоделювання дерми. Найбільш ефективним було застосування збагаченої тромбоцитами плазми у щурів молодого та зрілого віку, що достовірно призвело до зменшення ранових поверхонь.

Практичне значення одержаних результатів

Виконане дослідження дало можливість експериментально доповнити та поглибити знання, щодо особливостей регенерації шкіри після нанесення механічної травми у щурів молодого, зрілого та старечого віку за умов впливу хронічної гіперглікемії та при застосуванні аутологічної збагаченої тромбоцитами

плазми для нівелювання негативного впливу хронічної гіперглікемії на регенераторний процес. Отримані дані дають підставу для подальшого вивчення можливості використання аутологічної збагаченої тромбоцитами плазми для покращення процесів регенерації шкіри після нанесення механічної травми в осіб різного віку із порушеним вуглеводним обміном.

Одержані результати дослідження впроваджено у навчальний та науковий процес морфологічних кафедр: кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії Запорізького державного медичного університету; кафедри клінічної анатомії та оперативної хірургії Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова МОЗ України; кафедри нормальної та патологічної клінічної анатомії Одеського національного медичного університету; кафедри анатомії людини, клінічної анатомії та оперативної хірургії Дніпровського державного медичного університету; кафедри патологічної анатомії з секційним курсом Полтавського державного медичного університету; кафедри анатомії, клінічної анатомії та оперативної хірургії Буковинського державного медичного університету МОЗ України; кафедри оперативної хірургії з топографічною анатомією Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Особистий внесок дисертанта

Дисертантом проведений інформаційний пошук та аналіз даних літератури, власноруч виконані всі етапи експериментального дослідження, реалізоване мікро- та ультраструктурне, імуногістохімічне дослідження, морфометричне, планіметричне, статистичне опрацювання та аналіз одержаних результатів, самостійно проведене узагальнення результатів дослідження, підготовлені праці до друку та сформульовані висновки з дисертації.

Апробація результатів дисертації

Основні результати дисертації представлені та обговорені на науково-практичній конференції «Актуальні питання сучасної морфології» присвяченій

100-річчю з дня народження професора О. Г. Яхниці та 65-річчю з дня народження професора М. А. Волошина, (м. Запоріжжя, 2020), на міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні проблеми медицини, фармації та стоматології», (м. Арад, 2020), на міжнародній науковій конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Біомедичні перспективи II», (Суми, 2020), на XXV міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених, (м. Тернопіль, 2021), на міжнародній науковій конференції, присвяченій 100-річчю з часу заснування кафедри анатомії, гістології і патоморфології тварин ім. акад. В. Г. Касьяненка Національного університету біоресурсів і природокористування України, (м. Київ, 2021).

Публікації

Основний зміст дисертаційної роботи викладений у 10 наукових працях, з яких 3 статей у фахових наукових виданнях, рекомендованих МОН України, 1 стаття в журналі, що обліковується наукометричною базою Scopus, 1 патент на корисну модель України та 5 тез доповідей у матеріалах конференцій. Одна наукова праця опубліковано одноосібно.

Обсяг і структура дисертації

Дисертацію викладено українською мовою на 179 сторінках. Робота складається із анотації, вступу, огляду літератури, розділу матеріалів та методів дослідження, з підрозділів результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел, додатків. Список використаної літератури налічує 310 найменування (57 – кирилицею і 253 – латиницею). Робота ілюстрована 4 таблицями та 84 рисунками.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Регенерація шкіри у нормі та за умов хронічної гіперглікемії

Процеси регенерації відбуваються на всіх рівнях організації живої системи. Розрізняють внутрішньоклітинну, клітинну, тканинну та регенерацію на органному рівні, яка буває фізіологічна та репаративна [32-38]. Види репаративної регенерації бувають: повна (або реституція) – заміщення некротично зміненої тканини ідентичною тій, що загинула (епідерміс, епітелій слизових оболонок). Неповна (або субституція) – дефект заміщується сполучною тканиною з подальшим формуванням рубця [39].

Циклічність, фазність та стадійність загоєння ран викликала зацікавленість великої кількості дослідників. Класифікації ранового процесу були запропоновані морфологами (Н. Н. Анічковим 1951, І. В. Давидовським 1956, E. Peacock, W. Van Winkle 1970), патофізіологами (Д. Е. Альперн 1954, А. Д. Адо, І. Р. Петров 1957, Н. Н. Зайко 1996), та клініцистами (І. Г. Руфанов 1953, С. С. Гирголав 1956, М. Ф. Камаев 1970, В. І. Стручков 1975, М. І. Кузін 1977, R. Ross 1968, С. Понкіров 1977, A. Forrest 1994) [40-51].

С. С. Гирголав виділяв 3 фази ранового процесу: I фаза – підготовча, період запалення, протягом якого проходять складні біохімічні та патофізіологічні процеси, які є підготовчими для подальшого регенеративного процесу; морфологічні ознаки регенерації у цей період не визначаються; II фаза – регенерація, що закінчується заповненням порожнини рани новоутвореною тканиною; III фаза – формування рубця [45].

Класифікація R. Ross (1968) заснована на гістологічних, гістохімічних даних та результатах електронної мікроскопії: I фаза – запалення; II фаза – проліферація; III фаза – реорганізація та ремоделювання [51].

На даний час використовують класифікацію М. І. Кузіна: I фаза – запалення (1-ша – 5-та доба); II фаза – регенерації (6-а – 14-та доба); III фаза – фаза утворення й реорганізації рубця (з 15-ої доби від моменту травми) [46].

Нанесення рани супроводжується місцевими та загальними реакціями організму. Загальні реакції полягають у посиленні основного обміну та катаболізму під впливом симпатичної нервової системи та гормонів. Місцеві реакції спрямовані на загоєння рани та мають обумовлену закономірність. Класичний варіант загоєння гострої рани являє собою складний динамічний процес, що складається з чотирьох основних послідовних регульованих декількома факторами етапів: гемостаз, запалення, проліферація, ремоделювання [52-58].

Перший етап загоєння рани починається відразу після травмування. Гемостаз формує негайну реакцію на травму та функціонує для запобігання втрати крові у місці рани. Судинна травма запускає каскад реакцій, що закінчується коагуляцією (звуження судин, агрегацію та дегрануляцію тромбоцитів, утворення згустка фібрину). Згусток фібрину також функціонує як попередня матриця для початкової міграції запальних клітин до місця рани [59-65].

Тромбоцити є ранніми модуляторами процесу загоєння. Вони зазнають адгезії, агрегації та активації у результаті контакту з колагеном пошкоджених судин, що призводить до вивільнення з них АДФ та адгезії глікопротеїну, що у свою чергу підтримує подальшу агрегацію тромбоцитів. Ключовими глікопротеїнами, які вивільняються з α -гранул тромбоцитів, є фібриноген, фібронектин, вітронектин, тромбоспондин та фактор фон Віллебранда. Поверхня активованих тромбоцитів одночасно стає місцем активації протромбіну, що призводить до утворення активного тромбіну [66-69].

Згусток крові, що складається з фібрину, фібронектина, вітронектину, фактора фон Віллебранда та тромбоспондину, забезпечує попередню матрицю для клітинної міграції. Тромбоцити, що знаходяться у згустку, необхідні для гемостазу, а також для нормальної запальної реакції. При дегрануляції

тромбоцитів відбувається вивільнення вазоактивних речовин та факторів росту, у тому числі тромбоцитарного фактора росту (PDGF), трансформуючого фактора росту β (TGF- β), основного фактора росту фібробластів (bFGF), епідермального фактора росту (EGF), інсуліноподібного фактора росту (IGF), фактора росту судинного ендотелію (VEGF), фактора росту кератиноцитів (KGF), фактора росту сполучної тканини (CTGF) та ін. Ці білки ініціюють процес загоєння рани шляхом залучення та активації фібробластів, кератиноцитів, ендотеліальних клітин та макрофагів [64, 70-78].

Наступний етап відновлення у місці пошкодження – запалення, яке на ранній стадії починається з активації системи комплементу та класичного молекулярного каскаду, що приводить до інфільтрації рани поліморфноядерними лейкоцитами. Ці клітини мігрують у ділянку рани протягом 24 – 48 годин після травми за рахунок дії декількох агентів (білок системи комплементу C5a, тромбоцити, форміл-метіоніл пептидні продукти бактерій та TФР- β) [55, 79, 80].

Далі поліморфноядерні лейкоцити шляхом діapedезу з кровоносного русла потрапляють у навколишні тканини, де активно фагоцитують бактерії та продукти розпаду тканин, руйнуючи їх лізосомними ферментами, пероксидом та його радикалами [9, 39, 62, 81-83].

Запальні клітини, такі як нейтрофіли та моноцити, притягуються до місця пошкодження хемотаксичними факторами: тромбіном, продуктами розпаду фібрину, компонентами комплементу C5a, цитокінами, включаючи TGF- β та тромбоцитарним фактором росту (PDGF), які виділяються тромбоцитами. Нейтрофіли видаляють з рани бактерії та / або сторонні частинки, а за ними йдуть моноцити, які згодом диференціюються у макрофаги, які фагоцитують сторонні організми, частинки та некротизовані нейтрофіли, вони також виділяють TGF- β та інші цитокіни, стимулюючи тим самим рух фібробластів та епітеліальних клітин у рану [52, 54, 70, 83].

Ці клітини створюють першу лінію захисту шляхом фагоцитування та знищення бактерій за рахунок вироблення активних форм кисню та азоту.

Нейтрофіли посилюють запальну реакцію, виділяючи прозапальні цитокіни – ІЛ-1 та TNF- α . Після дво- або триденної присутності у рані нейтрофіли виснажуються та зазнають апоптозу [84-86]. Знищення бактеріального матеріала всередині клітин-фагоцитів може відбуватися тільки за допомоги кисню; саме тому достатнє постачання киснем ділянки рани має таке велике значення для захисту від інфекції [63].

На пізніх стадіях запалення (48 – 72 год) число поліморфноядерних лейкоцитів починає зменшуватися, у ділянку рани мігрують моноцити, які набувають макрофагального фенотипу. У пізній запальній фазі лімфоцити також інфільтрують ранове середовище, впливаючи на проліферацію фібробластів та біосинтез колагену [87].

Крім того, хемотаксичним та мітогенним фактором для моноцитів / макрофагів є тромбін. Приплив запальних клітин у ділянку травми починається у перший день після пошкодження тканини, тоді як через 48 годин вони стають домінуючими запальними клітинами у рані [79].

Макрофаги – беруть участь у фагоцитозі та процесі знищення бактерій або видалення некротизованих тканин, виділяючи матриксні металопротеїнази, наприклад, колагеназу або еластазу. Вони є основним джерелом цитокінів та факторів росту, що стимулюють проліферацію фібробластів та біосинтез колагену. Вивільняючи активатор плазміногену, клітини викликають видалення фібринової тканини. Крім того, макрофаги секретують TGF- β , PDGF, TGF- α , bFGF, HB-EGF, ІЛ-1 та ІЛ-6. Згадані медіатори не тільки контролюють запальний процес, але й модулюють епітелізацію, накопичення колагена та ангіогенез [80, 88-93].

Виснаження моноцитів та тканинних макрофагів викликає серйозні зміни у механізмі загоєння ран та призводять до недостатнього їх очищення, затримки проліферації фібробластів, неадекватного ангіогенезу та фіброзу. Через 72 год у рані з'являється останній тип клітин фази запалення – лімфоцити, які можуть бути залучені інтерлейкіном-1 та IgG. Вважають, що ІЛ-1 грає ключову роль у регуляції колагенази, вказуючи на те, що лімфоцит

залучений у ремоделювання колагену та позаклітинного матриксу. Припускають, що роль лімфоцитів значна при хронічному запаленні, проте до цих пір їх функція у загоєнні ран чітко не визначена [94, 95].

Відсутність нейтрофілів, а також зменшена кількість макрофагів у середовищі рани свідчить про те, що запальна фаза закінчується та починається фаза проліферації [66].

Під час третьої фази загоєння рани переважає проліферація клітин, спрямована на відновлення судинної системи та заповнення дефекта грануляційною тканиною. Після гемостаза та запальної фази, які тривають від 2-х до 3-х днів, процес відновлення пошкодженої тканини посилюється. За цей час кількість клітин у рані збільшується, що пов'язано з міграцією та проліферацією фібробластів та ендотеліальних клітин, а також кератиноцитів. Фібробласти – виділяють IGF-1, bFGF, TGF- β , PDGF та EGF. Ендотеліальні клітини синтезують VEGF, bFGF та PDGF, тоді як кератиноцити синтезують TGF- α , TGF- β та KDAF (аутокринний фактор, що походить від кератиноцитів). Згадані медіатори стимулюють та модулюють біосинтез екстрацелюлярний матрикс, епітелізацію та ангіогенез [96].

Ця фаза починається з формування фібринової матриці та фібронектину. Фібронектин відіграє важливу роль у клітинній адгезії. Фібронектиновий шар присутній на фібриновому нальоті свіжої рани, по якому відбувається міграція фібробластів та епітеліальних клітин у рані. Фібробласти з навколишніх тканин можуть мігрувати в утворений фібриновий згусток та використовувати його в якості тимчасової матриці. Вже виділені цитокіни та фактори росту стимулюють, регулюють міграцію та проліферацію клітин, відповідальних за утворення нових судин та тканин [63].

Тимчасовий матрикс, сформований переважно з фібрину та фібронектинової сітки, замінюється колагеновим матриксом, збагаченим протеогліканами, глікозаміногліканами та неколагеновими глікопротеїнами, що у подальшому призводить до відновлення структури та функції належної тканини [97].

Ключовими клітинами даної фази є фібробласти. Вони утворюються переважно з недиференційованих мезенхімальних клітин, що містяться у дермі, яка під впливом цитокінів та факторів росту, що виділяються з тромбоцитів, нейтрофілів та макрофагів, зазнають трансформації у фібробласти. Ці клітини мігрують до місця пошкодження протягом 48 – 72 годин з моменту появи пошкодження завдяки впливу хемотаксичних факторів та факторів росту PDGF, EGF, IGF-1 та TGF- β . У рані починається синтез компонентів ЕСМ та формування грануляційної тканини [98-101].

Наступний етап загоєння починається приблизно через 3-ти доби після виникнення рани, триває два тижні та характеризується заміщенням попередньої фібрин / фібронектинової матриці на новостворену грануляційну тканину. Фібробласти починають синтезувати внутрішньоклітинний матрикс, що складається з фібринозних елементів (колаген I та III типів, еластин, ламінін-1, нідоген) та глікозаміногліканів (хондроїтин сульфат, гіалуронова кислота та дерматансульфат), які утримують велику кількість води та натрію. Фібробласти виділяють цитокіни та фактори росту, які забезпечують аутокринний та паракринний ефекти. Забезпечення аутокринного ефекту фібробластами відбувається за рахунок секреції ряду ростових чинників, зокрема ФРСТ, синтез якого, у свою чергу, стимулює ТФР- β , який активізує хемотаксис фібробластів. ФРСТ надає стимулюючу дію на синтез колагену та проліферацію фібробластів [102-118].

Паракринний ефект забезпечується секрецією фібробластами ФРК, ЕФР, фактора росту колоній гранулоцитів-макрофагів (GM-CSF), ІЛ-6, фактора росту фібробластів-10 (FGF-10). Фібробласти виробляють цитокіни, що стимулюють кератиноцити до синтезу компонентів базальної мембрани: колагену IV та VII типів, ламініну-5, перлікана. У свою чергу, кератиноцити синтезують ІЛ-1, який стимулює фібробласти до синтезу ФРК, утворюючи, таким чином, струнку систему, взаємно стимулюючи позитивний зворотній зв'язок [119-123].

Ангіогенез стимулюється місцевими факторами мікросередовища, такими як низька напруга кисню, низький рН або висока концентрація молочної кислоти. Більше того, багато розчинних медіаторів, таких як bFGF, TGF- β , TNF- α , VEGF, ангіогенін та ангіотропін, що секретуються епітеліальними клітинами, фібробластами, ендотеліальними клітинами та макрофагами, демонструють сильну проангіогенну активність. Також було описано явище активації або інактивацію ангіогенезу через індукований гіпоксією фактор [54, 66, 79, 124-130].

Регуляція ангіогенезу, крім стимулюючих факторів, включає також фактори, що перешкоджають цьому процесу. Останніми є ангіостатин та тромбоспондин. Проангіогенну активність проявляють молекули гіалуронової кислоти з низькою молекулярною масою, тоді як ті, що мають велику молекулярну масу, мають протилежну активність [125, 131-133].

Формування нових кровоносних судин відбувається одночасно на всіх стадіях процесу загоєння. ТФР- β і ТФР, секретуються тромбоцитами під час фази гемостазу, залучають макрофаги, гранулоцити до стимулювання ангіогенеза. Макрофаги, зокрема, грають ключову роль в ангіогенезі, секретуючи фактор некрозу пухлини α (ФНП- α) та ФРФ-2. Капілярні паростки врастають у фібрин / фібронектин рановий згусток та за кілька днів організовують у грануляційній тканині розвинену мікроваскулярну мережу. Як тільки колаген накопичується у грануляційній тканині, щільність кровоносних судин зменшується. Порушення балансу у цьому динамічному процесі може призводити до уповільнення загоєння ран [128, 134-138].

Ангіогенез – ключова фаза процесу загоєння. Ендотеліальні клітини мігрують до тимчасового матриксу рани, після чого вони проліферують та згодом створюють сітку, що розгалужується у вигляді трубчастих структур. Міграція ендотеліальних клітин вимагає місцевої секреції матриксних металопротеїназ, що перетравлюють базальні мембрани та вивільняють фактори росту, секвестровані у позаклітинний матрикс. Коли тканина заміщується колагеновою матрицею, її вимоги та потреби щодо

надходження кисню та поживних речовин значно зменшуються. Ангіогенез припиняється, тоді як частина ендотеліоцитів капілярів піддається апоптозу [65, 66, 139-143, 150].

Таким чином, фаза проліферації пов'язана з активністю фібробластів, які за наявності новоутворених кровоносних судин проліферують та синтезують компоненти позаклітинного матриксу [145].

Процес епітелізації забезпечують кератиноцити, які, крім того, сприяють неоангіогенезу, експресуючи VEGF. Розростання капілярів забезпечує фібробласти киснем та живленням, стимулює ріст клітин та підтримує виробництво постійної матриці рани. Поступово зменшуються ексудація та набряк, грануляційна тканина з дна рани заповнює весь дефект [146-149].

Епітеліальні клітини, які приймають участь у закритті ранової поверхні, беруть початок як з країв рани, так і з епітеліальних придатків, таких як волосяні фолікули, потові залози або сальні залози [150, 151].

Епітелізація, включає відшарування клітин, їх міграцію у ділянку рани, проліферацію та диференціювання. Медіаторами, що стимулюють міграцію та проліферацію кератиноцитів, є фактори росту, такі як EGF, KGF та TGF- α . Властивості проліферації демонструють лише епітеліальні клітини, що лежать безпосередньо на базальній мембрані. Міграція клітин триває до того моменту, коли епітеліальні клітини з'єднуються та створюють рівномірний шар. TGF- β – єдиний фактор росту, який прискорює дозрівання шарів клітин епітелію. Значну роль у процесі відділення кератиноцитів від їх базальних мембран відіграють матричні металопротеїнази – MMP-2 (желатиназа-А) та MMP-9 (желатиназа-В), які розкладають колаген IV типу базальної мембрани та колаген VII типу, який створює якірні фібрили. MMP-1 (інтерстиціальна колагеназа) підтримує міграцію кератиноцитів мережею колагенів I та III типів, тоді як стромелізін-1 та стромелізін-2 підтримують міграцію цих клітин мережею фібронектину, ламінінів та глікозаміногліканів [152-155].

Окремий шар кератиноцитів починає мігрувати з країв рани вже у перші кілька годин після поранення, формуючи тонке покриття замість втраченого

епідермісу. Приблизно через 12 годин після травми шкіри відбувається підвищення мітотичної активності у базальних клітинах країв рани і навколо придатків шкіри під дією таких факторів росту, як ЕФР, ФРФ та ФРК. Ці клітини втрачають зв'язок з підлеглою дермою та хаотично пересуваються через тимчасовий матрикс. Процес проліферації кератиноцитів завершується шляхом контактного гальмування, після чого починається процес синтезу базальної мембрани. Подальше зростання та диференціювання епітеліальних клітин призводить до відновлення багатoshарового епідермісу. Швидкість покриття епідермісом збільшується, якщо рана не вимагає хірургічної обробки, чи немає пошкоджень базальної мембрани [156-158].

Епітелізація є клінічним симптомом загоєння рани; однак це не є ознакою закінчення процесу регенерації. Завершальною фазою згаданого процесу є реконструкція грануляційної тканини [159, 160].

Ремоделювання – остання фаза процесу загоєння рани. У своєму процесі ранова поверхня шкіри стискається. Ключовим явищем контрактури рани є фенотипова диференціація вже існуючих фібробластів на міофібробласти. Останні містять фібрили альфа-актинових (α -sma) мікрофіламентів, які надають клітинам властивість скорочуватися. У свою чергу, рецептори інтегрину $\alpha_1\beta_1$ та $\alpha_2\beta_1$ реагують із певними місцями на колагені та опосередковують процес скорочення грануляційної тканини. Згадана трансформація відбувається на другому тижні загоєння, саме тому міофібробласти стають найчисленнішими популяціями клітин грануляційної тканини [161-165].

Ремоделювання має тонку рівновагу між формуванням та деградацією тканин, контрольоване активністю протеолітичних ферментів, головним чином, матриксної металопротеїнази (MMPs) та їх природними тканинними інгібіторами. Чисельність макрофагів та фібробластів знижується шляхом апоптозу [166-169].

Таким чином, під час фази ремоделювання кількість фібробластів зменшується, а судинна щільність знижується. Початкова рубцева тканина, що

характеризується ніжними, випадково організованими колагеновими волокнами, типовими для фази проліферації, замінюється матрицею, яка нагадує дерму, в якій зрілі, зшиті колагенові волокна належного діаметра складають каркас новоутвореної тканини [170-173].

Також, у загоєнні ран важливу роль відіграють компоненти позаклітинного матрикса, зокрема глікозаміноглікани та протеоглікани, що створюють сприятливе біохімічне середовище для підтримки процесу регенерації [174, 175].

Рановий процес на фоні цукрового діабету має певні особливості, що характеризуються різко вираженими мікроциркуляторними розладами, наявністю мікротромбів, формуванням сладж-феноменів, дистрофічними та некротичними процесами, перевагаю запального процесу над репаративним, пригніченням клітинної проліферації, високим рівнем мікробної забрудненості тканини рани, зниження загальної та місцевої імунологічної реактивності [176].

На думку Yixiao Dong та його колег, загоєння рани, у осіб з підвищеним рівнем глюкози в крові, порушується на всіх фазах загоєння. Як правило, хронічна гіперглікемія призводить до аномального ангиогенезу, стійкого запалення, неадекватного утворення грануляційної тканини та зниження вмісту колагену та глікозаміногліканів [177, 178, 179].

Е. Ф. Ефімов та А. В. Хорошкевич у своїх дослідженнях з'ясували, що у регенератах шкіри пацієнтів, які страждають на ЦД є прояви паренхіматозного диспротеїнозу та жирової дистрофії, що відображає порушення тканинного метаболізму у даної категорії хворих та є фактором для виникнення ранових ускладнень. Ступінь вираженості дистрофічних змін підвищується зі збільшенням терміну захворювання. Перебіг ранового процесу у пацієнтів, які страждають на ЦД, характеризується пролонгуванням фази запалення та затримкою регенеративних процесів, відсутністю тенденції до зниження кількості нейтрофілів на 7 – 9 добу, одиничних фібробластів на 5-ту добу та

значного підвищення числа фібробластів на 9 – 11-у добу при цитологічному дослідженні ранових відбитків у динаміці [180].

Прошина А. В. вважає, що морфологічна картина діабетичних ангіопатій та нейропатій з мікроциркуляторною дисфункцією сприяють гіпоксії тканин рани, призводять до зниження клітинного та гуморального імунітету, порушують перебіг ранового процесу, подовжуючи терміни та фази загоєння ран. Автор висловлює думку, що цукровий діабет негативно впливає на перебіг ранового процесу, уповільнює загоєння ран, які набувають тривалий, рецидивуючий характер. Особливості ранового процесу обумовлені порушенням тканинного кровообігу в ділянках ураження, порушеннями всіх видів обміну в організмі, які призводять до розвитку ацидозу, гіпоксії та метаболічної інтоксикації, а також появи анаеробно-аеробної мікрофлори [181].

При ЦД підвищується рН шкіри, що спричиняє її сухість. Це спостереження спонукало австралійських вчених досліджувати вплив хронічної гіперглікемії на мікробіом шкіри і на процес її загоєння. Вони порівнювали мікрофлору шкіри пацієнтів із ЦД та здорових людей з особливою увагою до мікроорганізмів, які колонізували виразки нижніх кінцівок у фазу загоєння. У пацієнтів із ЦД було значно знижено мікробне різноманіття у порівнянні зі здоровими пацієнтами, що ще більше посилюється при рановому ураженні шкіри. На думку авторів, знижений рівень різноманітності мікробіоти шкіри може призвести до більш високої схильності до інфекцій. У даній теорії передбачається, що такі зміни у мікробіоті шкіри можуть стати фактором, що сприяє більш складному перебігу загоєння ран [182].

Natalia Spravchikov з колегами встановили, що за наявності високої концентрації глюкози у крові швидкість її транспорту у проліферуючих або диференціюючих кератиноцитах була знижена, тоді як при нормальному вмісті глюкози швидкість транспорту була збільшена. Це пов'язано зі вираженням GLUT1 та зі змінами константи спорідненості транспорту. Вплив

високого рівня глюкози був пов'язаний зі змінами клітинної морфології, а також зі зменшенням проліферації та посиленням Ca^{2+} -індукованої диференціації кератиноцитів. Крім того, за умов гіперглікемії знижується автофосфорилування індукованого лігандом рецептора IGF-I. Отже, при високому вмісті глюкози ефекти IGF-I на поглинання глюкози та проліферацію кератиноцитів були пригнічені. Результати дослідження свідчать, що гіперглікемія та порушення інсулінової сигналізації можуть безпосередньо брати участь у розвитку хронічних ускладнень діабету, погіршуючи використання глюкози шкірними кератиноцитами, а також впливати на проліферацію та диференціацію клітин шкіри [183].

Гіперглікемія спричинює негативний вплив на регенеративний потенціал шкірних покривів. Це пов'язано з ефектами кінцевих продуктів глікування, які індукують продукцію факторів запалення (ФНП- α , ІЛ-1) та порушують синтез колагену фібробластами. У результаті патогенного впливу ХГ відбувається значна кількість молекулярних та клітинних порушень, рана не проходить етапи загоєння, та зупиняється у більшості випадків на фазі запалення [184-186].

У хворих на ЦД завдяки порушеному балансу між ангіогенними стимуляторами та ангіогенними інгібіторами спостерігається дефіцит ангіогенезу у шкірі. Рівні циркуляції ангіогенних інгібіторів можуть стати біомаркерами для прогнозування ЦД або його прогресування. Недостатній ангіогенез сприяє погіршенню загоєння ран та виразок шкіри [187, 188].

За умов хронічної гіперглікемії має місце локальне зниження VEGF, внаслідок чого погіршується утворення судин і, як наслідок загоєння ран шкіри. В експериментальній роботі було показано, що при ЦД фібробласти експресують VEGF у 7 разів гірше, ніж фібробласти у здорових осіб; під впливом гіпоксії знижується експресія VEGF, що сприяє поганому загоєнню ран шкіри при ЦД і більш затяжному періоду одужання при ранових ушкодженнях [189, 190].

Гіперглікемія та пов'язані з нею розлади метаболізму порушують нормальний ангиогенез. Високий рівень глюкози знижує експресію рецепторів VEGF в ендотеліальних клітинах, пригнічує здатність цих клітин до спрямованої міграції та формування судиноподібних структур. Крім того, надлишок глюкози зменшує здатність мезенхімальних стромальних клітин стимулювати ангиогенез через паракринну активність. Показано, що вираженість порушень продукції VEGF, ендотеліальної NO-синтази і інтенсивності ангиогенезу залежить не тільки від рівня, а й від діапазону коливань глікемії. Важливу роль в порушенні ангиогенезу грають пізні продукти глікозилювання, що накопичуються в умовах гіперглікемії [191, 192, 193].

За умов хронічної гіперглікемії відбуваються зміни в імунній системі: зниження кількості лейкоцитів та лімфоцитів, порушення адгезії, хемотаксису, фагоцитозу нейтрофілами та макрофагами, редукція бактерицидної здатності, зниження апоптозу. Встановлено, що у пацієнтів із хронічною гіперглікемією має місце підвищення виділення прозапальних цитокінів (ФНП- α , ІЛ-6, ІЛ-8, активних форм кисню) та зниження секреції ендотеліального оксиду азоту, що сприяє вазоконстрикції. Зниження активності імунної системи підвищує ризик інфікування рани, при виникненні якого нейтрофіли та макрофаги у надлишку виділяють матриксну металопротеїназу та оксиданти [194-199].

A. Prakash et al. повідомили про зниження міцності ран у інсуліндефіцитних тварин. W. H. Goodson та T. K. Hunt виявили зменшення вмісту колагену в ранах у тварин із ЦД. E. R. Arguilla et al. W. H. Goodson та T. K. Hunt встановили, що у тварин із ЦД призначення інсуліну більше значення має на ранніх стадіях процесу ранового загоєння. Виявлення порушень у цій фазі у тварин з діабетом корелює з відомими даними про порушення функціональної активності лейкоцитів у хворих на ЦД. При цьому має місце зниження хемотаксису та фагоцитозу [200-203].

Підвищення рівня активних форм кисню та прозапальних цитокінів призводить до зростання концентрації MMP у рані, що приводить до

розщеплення та розпаду компонентів внутрішньоклітинного матриксу а, отже, припинення закриття рани. Крім того, ММР має здатність руйнувати фактори росту та цитокіни, необхідні для загоєння. У результаті недостатність продукції цитокінів у процесі загоєння призводить до хронізації ранового процесу, а надмірна продукція – до утворення гіпертрофічного рубця. Цитокіни, які тривало містяться у рановій рідині незагоюваної рани пригнічують ріст та сприяють морфологічним змінам нормальних фібробластів шкіри. Фібробласти хронічних ран у літературі описані як великі широкі полігональні клітини на відміну від компактних та веретеноподібних фібробластів гострих ран [204-208].

Дослідження свідчать, що розлади загоєння рани у період запальної фази, особливо елімінація макрофагів, описана S. Leibovich та R. Ross, є безпосередньою причиною подальшого порушення проліферації фібробластів та синтезу колагену. Незадовільний результат загоєння ран у пацієнтів з ЦД може бути пов'язаний з дефектом запальної відповіді. Дефіцит інсуліну впливає на колагеновий синтез. Інсулін стимулює синтез РНК та неколагенового білка фібробластами, при цьому тільки мінімально впливаючи на синтез колагену та ДНК [87, 209].

За умов хронічної гіперглікемії фібробласти можуть мати фенотип «старіючих» клітин, демонструючи низьку відповідь на ТФР- β та ТФР, міграційну та проліферативну здатність, а також схильність до апоптозу. Низька інтенсивність реепітелізації у тривало загоюючих ранах пов'язана зі зниженням швидкості міграції та проліферації кератиноцитів. На швидкість міграції кератиноцитів впливають багато факторів, до основних з яких відносять склад матриксу та активність цитокінів, що виділяються фібробластами та макрофагами у ранове середовище. При гострих ранах мігруючі кератиноцити експресують $\alpha 5$ та $\beta 1$ -інтегрин. У тривало загоюючих ранах його рівень знижений, кератиноцити не мають здатність мігрувати [210, 211].

У хронічних ранах показано зниження мітотичної активності у порівнянні з гострими ранами. Крім того, при впливі на рану навантаження у фазі ремоделювання, відбувається більш активна диференціація фібробластів у міофібробласти, які характеризуються зміненим синтезом фібронектина та глікозаміногліканів, підвищеним синтезом ТФР- β 1 , ТФР- β 2 , колагену I типу та рецептора ПФР-II / маноза 6-фосфата. Міофібробласти викликають переродження кератиноцитів, що сприяє склерозу тканин та утворенню грубих рубців, на місці яких у пацієнтів із ЦД у подальшому можуть виникати рецидиви виразок [212].

У зв'язку з тим, що хронічна гіперглікемія призводить до тривалої регенерації шкіри, існує потреба у створенні медичних методів, які доповнять базові підходи до лікування і в рамках комплексної медичної допомоги значно скоротять терміни загоєння ран шкіри та знизять ризик різноманітних ускладнень.

1.2 Регенераційна терапія PRP – технологій: експериментальне обґрунтування

Регенерація рани – комплексний та динамічний процес. У нормі він закінчується повною епітелізацією рани. Однак на регенерацію можуть впливати різні чинники – як з боку пацієнта (супутні захворювання), так і з боку рани (приєднання вторинної інфекції), що перешкоджають загоєнню. Це являє собою складну проблему для сучасної охорони здоров'я, оскільки далеко не завжди існуючі стандартні методики лікування виявляються ефективними, що обумовлює необхідність освоєння нових перспективних засобів та методів для лікування ран шкіри [213, 214].

В останні десятиліття тканнна інженерія та клітинна терапія займають все більш ширші позиції у клінічній медицині. Одним із яких є застосування біотехнологій для прискорення репаративної регенерації шкіри стало сучасним напрямком в реконструктивно-відновлювальній хірургії. У зв'язку з

цим в даний час інтерес у дослідників викликає можливість використання збагаченої тромбоцитами плазми при лікуванні хворих з пошкодженнями м'яких тканин [24, 216-222].

Нещодавно було вивчено морфологічну та молекулярну конфігурацію багатої тромбоцитами плазми: це мережа фібрину навколо тромбоцитів, яка підтримує регенеративний матрикс. Оскільки тромбоцитарний концентрат містить фактори росту, то має здатність стимулювати ангиогенез та збільшувати диференціювання фібробластів, прискорюючи процеси загоювання ран та зменшуючи ризик утворення рубця. Фактори росту тромбоцитів та епідермальний фактор (EGF) – головні чинники, що впливають на міграцію фібробластів, проліферацію та синтез колагену. За даними літератури, підвищена концентрація цих факторів прискорює загоєння рани в 2 – 3 рази [217, 223-229].

Наявність в тромбоцитарному гелі продуктів формування плазмового згустку та тромбоцитарних факторів росту, що забезпечують процеси загоєння та гемостазу, є підставою для її застосування. Тромбоцитарний концентрат містить не тільки фактори росту, але і адгезивні молекули та цитокіни, що стимулюють репараційні та анаболічні процеси у пошкоджених тканинах, а також володіють протизапальним ефектом [230-233].

Відомо, що з альфа гранул тромбоцитів вивільняються: тромбоцитарний фактор росту (PDGF), трансформуючий фактор росту (TGF- β), фактор росту епітелію (EGF) та фактор росту ендотелію судин (VEGF) [234-236].

Фактори росту відіграють важливу роль у складному процесі загоєння ран та регенерації тканин. Вони є сигнальними білками, які впливають на метаболізм інших клітин. Кожен з факторів росту надає більше одного ефекту на процес загоєння рани і діє, зв'язуючись із специфічними рецепторами на клітинних мембранах клітин-мішеней. Ці ефекти включають стимулювання хемотаксису (залучення клітин у рану), індукування клітинної міграції та проліферації та стимулювання клітин підвищувати вироблення білка. Фактори росту, окрім регулювання міграції та проліферації клітин, впливають на

реконструкцію позаклітинного матрикса та сприяють ангиогенезу, створюючи ідеальне середовище, яке сприяє процесу загоєння шкірних ран [237-239].

Відомо, що PDGF ініціює репарацію сполучної тканини, має потужну мітогенну та ангиогенну активність, а також регулює діяльність інших факторів росту. TGF- β регулює хемотаксис та літогенез, має здатність стимулювати депозицію колагенової матриці при загоєнні ран. EGF та VEGF володіють ангиогенною та мітогенною активністю у грануляційній тканині. Адгезивні молекули (фібрин, фібронектин та вітронектин), які входять до складу плазми збагаченої тромбоцитами необхідні для міграції, адгезії клітин та стимуляції синтезу колагену [240-244].

Крім того, EGF в основному секретується тромбоцитами, хоча макрофаги, фібробласти та мезенхімальні стовбурові клітини також можуть його вивільнити. З'ясовано, що більша концентрація згаданого фактору виявляється на початку процесу загоєння. Фактор росту епітелію відіграє життєво важливу роль у проліферації, диференціюванні, зростанні та міграції клітин епітелію та кератиноцитів. Вважається, що EGF є ефективним у стимулюванні епітелізації глибоких пошкоджень [210, 245].

FGF сприяє реепітелізації, ангиогенезу та формуванню грануляційної тканини. Крім того, фактор росту фібробластів, стимулює накопичення колагену та прискорює утворення грануляційної тканини. Дослідження на моделі діабетичної миші показали прискорене загоєння ран. Більш того, припускають, що FGF впливає позитивно на лікування гіпертрофічних рубців [246-248].

Необхідно відзначити, що фактори росту у складі тромбоцитарного гелю знаходяться в оптимальному співвідношенні, що відрізняє збагачену тромбоцитами плазму від рекомбінантних факторів росту. Утворення первинного тромбоцитарного згустку супроводжується активацією та дегрануляцією тромбоцитів, при цьому протягом години секретується близько 70% факторів росту з піком секреції у перші 10 хвилин [249, 250].

У своїх дослідженнях А. А. Глухов з'ясував, що загоєння рани на 14-ту добу при використанні тромбоцитарного концентрату здійснювалося з контракцією шарів дефекту, утворенням та дозріванням грануляційної тканини, її реорганізацією, закриттям дефекту епідермісом та формуванням рубця. Морфологічні відмінності в якісній характеристиці рубця дозволили оцінити дію збагаченої тромбоцитами плазми на перебіг регенерації. В окремих мікропрепаратах, забарвлених гематоксилін-еозином, відзначалася незавершена епітелізація рани, епідерміс був потовщений, наповзав на дефект тканини. При завершенні епітелізації рани в епідермісі диференціювалися всі шари. Збільшення товщини епідермісу обумовлювалося потовщенням шиповатого та зернистого шарів, при цьому рановий дефект мав клиноподібну форму. На периферії рубця у сосочковому та сітчастому шарах дерми спостерігалися численні розширені кровоносні судини з ознаками стазу. Навколо окремих судин зберігалися ознаки периваскулярного набряку [251].

У сітчастому шарі дерми зустрічалися ділянки великої клітинної інфільтрації, що свідчило про залишкові явища запальної реакції. Клітинний компонент на цьому рівні дерми був представлений фібробластами, тканинними базофілами, нерідко зустрічалися клітини макрофагального ряду. Колагенові волокна в зоні рубця потовщені, оточені фібробластами. В окремих препаратах визначався лімфоцитарний інфільтрат, що розділяє волокна [251].

Морфологічні зміни епідермісу виражалися у повному закритті дефекту – епітелізація завершилась із повною диференціацією шарів. Колагенові волокна у зоні рубця тонкі з поліморфним клітинним компонентом, розташованим між ними (переважали фібробласти і тканинні базофіли). Колагенові волокна заповнювали весь обсяг зони сформованого рубця. Сполучнотканинний каркас був більш зрілим. До 14-ї доби дослідження був сформований сосочковий шар дерми, що вказувало на завершення процесів загоєння. Клітинний склад сітчастого шару дерми без особливостей. По периферії рубця сформувалися зачатки волосяних фолікулів та сальних залоз [251].

Оскільки плазма збагачена тромбоцитами є похідним власної крові пацієнта, її використання не пов'язане з ризиком передачі інфекцій, таких, як ВІЛ або гепатит. Застосування тромбоцитарного концентрату не викликає гіперпластичних процесів, канцерогенезу або зростання пухлин, так як фактори росту впливають на рецептори, розташовані в клітинній мембрані, а не в ядрі клітини. Вторинні посередники чинників зростання ініціюють нормальну експресію генів, а не патологічну експресію, яка лежить в основі розвитку пухлин. Фактори зростання не є мутагенами та не блокують механізми зворотного зв'язку процесів репарації та регенерації тканин [217, 252, 253].

Регенераційна здатність PRP допомагає скоротити час відновлення ран та різних пошкоджень тканин. Відповідно до вищезазначеного твердження, Babaei et al. спостерігали формування здорової грануляційної тканини та раннє повне загоєння рани шкіри у 150 пацієнтів із діабетичною виразкою стопи після місцевого застосування PRP. Не загоєні виразки різної етіології лікували підшкірними аутологічними ін'єкціями PRP разом із місцевим застосуванням гелю PRP. Результати свідчали про безпеку та ефективність аутологічної PRP, значне зменшення розміру дефекту м'яких тканин у всіх пацієнтів, відсутність побічних ефектів, а також зменшення болю та запалення у місці пошкодження, завдяки пригніченню вивільнення цитокінів. Подібні позитивні результати були отримані при вторинних ранах м'яких тканин після місцевого застосування аутологічної PRP, де спостерігалася посилена неоваскуляризація та реепітелізація [254-257].

Після проведення багаточисленних досліджень було встановлено, що після місцевої обробки шкірних клаптів аутологічною плазмою спостерігаються кількісні поліпшення загоєння рани шкіри людини, що відображається зменшенням площі дефекту шкіри, обсягом та часом закриття рани [258-262].

Використовуючи експериментальні підходи дослідники вивчали вплив тромбоцитарного концентрату на властивості проліферації та міграції

мезенхімальних стовбурових клітин та фібробластів шкіри, демонструючи значну індукцію міграційної здатності та швидкості проліферації. Крім того, вони також продемонстрували прискорене загоєння ран шкіри після лікування PRP-перев'язками та швидшу неоваскуляризацію ураженої області у реальних клінічних пацієнтів [263, 264].

З'ясовано, що плазма збагачена тромбоцитами додатково чинить протимікробну активність. Більше того, є також певна кількість досліджень, які оцінювали клінічну користь тромбоцитарного гелю при старінні шкіри, що демонструє біорегенеративну дію, стимулюючи проліферацію фібробластів, посилюючи протизапальні фактори, ангіогенні фактори та білки, пов'язані з ремоделюванням позаклітинного матриксу. У дослідженні, де пацієнтів лікували абляційним дробовим лазером з діоксидом вуглецю, використання PRP показало зменшення еритеми та прискорення процесу загоєння [265, 266, 267].

Доведено, що при застосування збагаченої тромбоцитами плазми спостерігається більш високе відкладення колагену, прискорення дозрівання грануляційної тканини та зменшення утворення рубців завдяки добре організованим колагеновим волокнам порівняно з ранами, які лікували традиційними методиками. PRP стимулює колаген типу I, матриксну металопротеїназу та підвищує регулятори прогресування клітинного циклу для прискорення загоєння ран. Посилена організація шкірного колагену в ранах, оброблених аутологічною плазмою, може бути зумовлена збільшенням желатинази В, оскільки вона є основою для утворення колагенового волокна. Рани, оброблені тромбоцитарним гелем, показали високу швидкість регенерації, ніж контрольні групи, з посиленням ангіогенезу та утворенням грануляційної тканини, а також, прискоренням реепітелізації та диференціації епітелію. Отримані позитивні результати при лікуванні великих дефектів шкіри, використовуючи аутологічну плазму [268-272].

На думку Богдана В. Г. та співавторів, аутологічна збагачена тромбоцитами плазма стимулює синтез колагену культурою фібробластів

шкіри пацієнтів з трофічними виразками, що може бути експериментальним обґрунтуванням застосування тромбоцитарних концентратів в клінічній практиці. Використання збагаченої тромбоцитами плазми дозволяє активувати синтез сполучної тканини без зміни її структури і складу. У пацієнтів з трофічними виразками венозної етіології фібробласти шкіри зберігають здатність до колагеноутворення при стимулюючій дії біологічних ростових факторів [271].

Nicoletti G. з колегами виявили, що використання збагаченої тромбоцитами плазми дозволяє забезпечити сприятливу модуляцію проліферації клітин епітелію та фібробластів та відповідну протизапальну дію. Тромбоцитарний гель, також продемонстрував інгібуючий ефект на деструкцію колагену та на еластичні волокна, а також на сприятливу модуляцію реорганізації цих волокон [272].

Е. В. Липова та співавтори з'ясували, що через 24 годин після застосування методики використання аутологічної плазми, багатой тромбоцитами, в досліджуваних групах гістологічно була відзначена тенденція до організації структури тканини, поява базальних клітин, фібробластів, колагенових волокон, що свідчить про активізацію процесів регенерації тканини. На 5-й день структура тканини стала більш організованою, з'явилися стовпчики щільно упакованих базальних клітин. По краях рани відзначена кератинізація епідермісу. Збільшилася кількість фібробластів і пучків колагену. Почався ангиогенез. Таким чином, на 5-й день виникла чітка тенденція епітелізації. У групі в якій застосовували традиційні підходи лікування в перші 24 години не було відзначено ніяких змін, проте на 5-й день з'явилося деяке поліпшення у порівнянні з 1-м днем, проте ангиогенез був виражений набагато менше, ніж у контрольних групах, відмічалась менша кількість фібробластів, а також спостерігалася дезорганізація пучків колагена. У процесі лікування не було відмічено ніяких небажаних ефектів, аномального формування тканини, розвитку гіпертрофічних і келоїдних рубців, а також випадків вторинного інфікування рани [21].

При дослідженні ранових відбитків до лікування цитологічна картина відповідала некротичному або дегенеративно-запальному типу з вираженою запальною реакцією і явними ознаками незавершеного фагоцитоза у всіх випадках. На 5-ту добу лікування за допомогою збагаченої тромбоцитами плазми цитологічна картина у всіх випадках відповідала регенераторному типу I фази: кількість поліморфоядерних лейкоцитів $10 * 15$ в полі зору, частина лейкоцитів перебувала в стадії зернистого розпаду і виявлялися фрагменти ядер, кількість одноядерних клітин 3 – 5 в полі зору, клітини невеликих розмірів, округлої або овальної форми, цитоплазма добре забарвлюється, контури клітин чіткі, зустрічаються поодинокі гігантські багатоядерні і тучні клітини, проміжна речовина поверхневих шарів цитоплазми має дрібнозернистий вигляд [276].

На 9-ту добу після лікування за допомогою PRP-терапії цитологічна картина у 50% випадків відповідала регенеративному типу III фази: відсутні запальні явища, диференціювання клітинних елементів сполучної тканини досягає найбільш вираженого ступеня. Поліморфоядерних лейкоцитів дуже мало або ж їх зовсім немає; мало ядерних фрагментів і ядерної зернистості. Клітинні елементи представлені диференційованими клітинами сполучної тканини (профібробласти, фібробласти). У решти 50% цитологічна картина відповідає регенеративному типу II фази: число поліморфоядерних лейкоцитів 6 – 8 в полі зору, продукти клітинного розпаду у вигляді фрагментів ядер лейкоцитів продовжують виявлятися з великою постійністю. Одноядерні клітини зустрічаються поодинокі і групами по 5 – 6 і більше, частина з них по морфологічним ознакам наближається до фібробластів, інша частина до макрофагів. Виявляються ніжноволокністі структури проміжної речовини. На 15 добу дослідження у 59% хворих настала спонтанна епітелізація ран. У решти пацієнтів цитологічна картина ранових відбитків відповідала регенеративному типу III фази [276].

Згідно даних М. В. Аралова, на кінець першої доби після введення плазми у тварин всіх груп рани покриті сгусткам крові та ексудату. На 3-ю

добу набряку і гіперемії не спостерігалось у жодній групі. Загоєння проходило під тонкою плівкою струпа. На 5-у добу у всіх тварин рани гоїлися вторинним натягом, набряку та гіперемії не відзначалося, однак площа ран різко відрізнялася, так у контрольній групі вона була в 2 рази більше у порівнянні з основною групою. Максимальне скорочення площі ран відзначено в основній групі. На мікропрепаратах контрольної групи на 5-ту добу відзначено крайову епітелізацію, дно рани було представлено пухкою волокнистою сполучною тканиною, у товщі якої відзначалася помірно густа інфільтрація з мононуклеарних лейкоцитів, що може свідчити про відносно виражені запальні зміни у порожнині рани. Отримані дані експериментальних досліджень вказують на досить високу ефективність застосування збагаченої тромбоцитами плазми для стимуляції регенерації в хронічних ранах [274].

Використання аутоплазми ефективніше на 11,5% порівняно з застосуванням донорської плазми, а застосування донорської плазми на 25% прискорює регенерацію хронічних ран у порівнянні з відсутністю будь-якого впливу. Таким чином, прискорення регенерації в результаті застосування збагаченої тромбоцитами донорської і аутоплазми в порівнянні дає підставу використовувати збагачену тромбоцитами донорську плазму, призначену для трансфузії, як альтернативу збагаченої тромбоцитами аутоплазми [275].

Е. Н. Горбач з колегами з'ясували, що на 18-у добу після застосування ЗТП ділянка дефекту шкіри мала клиноподібну форму, колагенові волокна в області шкірного регенерату не мали певної орієнтації, розташовувалися хаотично. Щільність фібробластів в зоні дефекту була збільшена в порівнянні з прилеглими ділянками неушкодженої шкіри. У прикордонних із ділянкою рубця тканинах кількість зародкових форм клітин була більшою. В цей період в області дефекту формувалися зачатки волосяних фолікулів і сальних залоз [276].

На 28-у добу ділянка дефекту була покрита сформованим епідермісом. Іноді в прикордонних зонах спостерігалися акантози. Роговий шар в цей період мав незначну товщину. Базальний і шипуватий шари були потовщені за

рахунок збільшення в них клітинних рядів. В базальному шарі виявлявся мітотичний поділ епідермоцитів. Дефект заміщався щільною неоформленою волокнистою сполучною тканиною. Колагенові волокна в зоні дефекту були досить зрілі і утворювали пучки. Між деякими волокнами і їх пучками утворювалися тканинні проміжки (щілини), в які поступово проникали судини мікроциркуляторного русла. Клітинний склад був представлений в основному фібробластами різного ступеня диференційованості. У периваскулярних просторах спостерігалися поодинокі макрофаги. Еластичні волокна в прилеглих до рубця ділянках були нечисленні. У зоні дефекту вздовж судин спостерігалися їх незрілі форми. Найбільш зріла волокниста сполучна тканина формувалася в області дефекту через місяць після загоєння рани [276].

Таким чином, отримані результати показали, що застосування компонентів плазми крові володіє стимулюючим ефектом на процеси регенерації м'яких тканин, що полягає у скороченні термінів загоєння і поступовому відновленні органотипової будови втраченої тканини. Проте на сьогодні відсутній комплексний мікроскопічний, ультрамікроскопічний та імуногістохімічний аналіз процесу регенерації шкіри за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії у віковому аспекті та при застосуванні збагаченої тромбоцитами плазми, що дозволило б отримати та доповнити морфологічну картину перебігу репаративної регенерації шкіри за даних умов.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Загальна характеристика експериментальної моделі

Експериментальне дослідження проведено на 270 білих лабораторних щурах – самцях віком від 4 до 22 місяців.

Комісією з питань дотримання біоетики при проведенні експериментальних та клінічних досліджень Медичного інституту Сумського державного університету (протокол № 4/11 від 15 листопада 2021 р.) встановлено, що під час проведення дослідних робіт норми етики і моралі порушені не були, експеримент був виконаний відповідно чинних нормативних документів.

Перед початком експерименту усі тварини були оглянуті на предмет їх рухової активності та стану зовнішніх покривів. Після цього щури підлягали двотижневій карантинізації. Піддослідні тварини доглядалися в умовах віварію Медичного інституту Сумського державного університету відповідно до загальноприйнятих рекомендацій, вимог та положень щодо догляду за лабораторними тваринами («Правила проведення робіт з використанням експериментальних тварин», додаток 4, затверджений наказом Міністерства охорони здоров'я № 755 від 12 серпня 1997 р. «Про заходи щодо подальшого удосконалення організаційних форм роботи з використанням експериментальних тварин»; «Загальні етичні принципи експериментів на тваринах», ухвалені Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.); правила, затвержені комісією з питань біоетики Медичного інституту Сумського державного університету (протокол № 4 від 22 грудня 2009 р.; Хельсинська декларація Генеральної асамблеї Всесвітньої медичної асоціації (2000); положення «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985). Щури знаходились у кімнаті віварію за умов сталої температури (24 – 25°C), вологості (60 ± 5%) та за умов 12-годинного циклу зміни темряви та

освітлення. Щоденно тварини отримували питну воду та сухий гранульований корм зі збалансованим вмістом необхідних для повноцінної життєдіяльності інгредієнтів.

Відповідно до зазначеної мети й завдань ми використали три групи білих лабораторних щурів-самців (табл. 2.1). Тварин кожної групи було поділено на підгрупи за різними віковими ознаками (молодого віку 4 – 6 місяців, зрілого віку – 7 – 9 місяців та старечого віку – 20 – 22 місяців). Першу групу склали щури із механічною травмою шкіри, які слугували контролем для коректного порівняння із експериментальними групами. Другу групу склали тварини, яким моделювали хронічну гіперглікемію та механічну травму шкіри. Тваринам третьої групи моделювали хронічну гіперглікемію, механічну травму шкіри та вводили збагачену тромбоцитами плазму.

Хронічну гіперглікемію моделювали наступним чином: протягом двох тижнів щури замість питної води вживали 10% водний розчин фруктози. Після цього кожній тварині було одноразово виконане внутрішньоочеревинне введення стрептозотоцину на цитратному буфері (рН буфера – 4,5; доза стрептозотоцину – 40 мг/кг) (Sigma-Aldrich, USA) та нікотинової кислоти (1 мг/кг) (ФК «Здоров'я», Україна). Щурам контрольної групи була зроблена одноразова внутрішньоочеревинна ін'єкція стерильного цитратного буферу. У перший день, після введення стрептозотоцину, вживали 5% розчин глюкози (для попередження розвитку гіпоглікемічної коми внаслідок підвищення концентрації інсуліну у крові). Після цього тварин утримували у нормальних умовах віварію з нормальною дієтою (їжа і вода *ad libitum*) 60 днів.

Після 60 днів, для дослідження були відібрані щури, які протягом 3 днів поспіль мали рівень глюкози у крові вище 12 ммоль/л. Травму шкіри моделювали тваринам усіх груп. Перед операцією в асептичних умовах операційної тваринам внутрішньом'язово вводили спочатку ксилазин (3 мг/кг) (Алфасан (Нідерланди)), а через 5 хвилин – кетамін (8 мг/кг) (ПАТ «Фармак», Україна). Потім проводили гоління шкіри у міжлопатковій ділянці спини та обробляли її 3% спиртовим розчином йоду. Рану наносили шляхом вирізання

клапотя шкіри у міжлопатковій ділянці спини діаметром 1,5 см з використанням трафарету з круглим отвором. У тварин першої та другої груп рана залишалася гоїтися під згустком крові.

Таблиця 2.1

Розподіл тварин на групи та термінами дослідження

Контрольна група тварин з механічною травмою шкіри				
	Термін дослідження та кількість тварин			Разом
	7 доба	14 доба	21 доба	
Щури молодого віку	10	10	10	30
Щури зрілого віку	10	10	10	30
Щури старечого віку	10	10	10	30
Група тварин із хронічною гіперглікемією та механічною травмою шкіри				
	Термін дослідження та кількість тварин			Разом
	7 доба	14 доба	21 доба	
Щури молодого віку	10	10	10	30
Щури зрілого віку	10	10	10	30
Щури старечого віку	10	10	10	30
Група тварин із хронічною гіперглікемією, механічною травмою шкіри, яким вводили ЗТП				
	Термін дослідження та кількість тварин			Разом
	7 доба	14 доба	21 доба	
Щури молодого віку	10	10	10	30
Щури зрілого віку	10	10	10	30
Щури старечого віку	10	10	10	30
Загалом тварин				270

Щурам третьої групи вводили у краї ран плазму збагачену тромбоцитами [309]. Для цього у залежності від віку тварин збирали від 0,4 до 0,8 мл крові з бічної хвостової вени у вакуумні контейнери із розчином

цитрату натрію. Втрачений об'єм крові негайно відновлювали за допомогою стерильної сольової інфузії. Кров центрифугували протягом 20 хв зі швидкістю 2000 об / хв. Потім відбирали верхню фракцію та переносили в іншу пробірку. Отриманий матеріал центрифугували 15 хв. зі швидкістю 2000 об / хв. Вміст нижньої фракції (яка містила найбільшу кількість тромбоцитів) переносили у стерильну пробірку та активували 10% розчином хлориду кальцію [310]. Отриманий розчин вводили у краї рани. Кожна тварина отримувала власну (аутологічну) плазму.

Вивчення морфологічних та планіметричних особливостей регенерації шкіри проводили на 7-му, 14-ту та 21-шу добу після нанесення травми. Тварин із експерименту виводили по 10 осіб із групи у кожний термін шляхом передозування тіопенталового наркозу (4 мг/100 г маси тіла) (корпорація «Артеріум», Україна) використовуючи препаратувальний лоток для фіксації дрібних лабораторних тварин, на який отримано патент на корисну модель [281].

2.2 Методи дослідження

У даній роботі нами були використані наступні методи:

2.2.1 Гістологічне, планіметричне вивчення та морфометрія

З метою вивчення мікроскопічної будови відпрепаровані ділянки шкіри з візуальним дефектом фіксували у 10% розчині нейтрального формаліну. Зразки зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації та проводили заливку в парафін. З одержаних препаратів робили зрізи на санному мікротомі МС-2 з товщиною зрізів 4 – 6 мкм. Далі гістологічні зрізи фіксували на знежирені предметні скельця та висушували. Забарвлення проводили гематоксилін-еозином. Світлову мікроскопію проводили з використанням мікроскопу Olympus BH-2 (Японія) та цифрової камери Baumer / Optronic Тур: CX 05c. Морфометричний аналіз здійснювали з використанням обчислювальної програми «Digimizer» ((version 5.3.5)). Вимірювали наступні параметри: товщину епідермісу (мкм); товщину дерми (мкм).

Планіметричний аналіз рани здійснювали шляхом фотографування травмованої ділянки шкіри з мікролінійкою одразу після нанесення рани, на 7-му, 14-ту та 21-шу добу. Обчислювання площі ранової поверхні (мм^2) проводили з використанням універсальної обчислювальної програми «Digimizer» ((version 5.3.5)).

Швидкість загоєння ран шкіри розраховували за формулою: $V = S_0/S_1 * t$ ($\text{мм}^2/\text{добу}$), S_0 – площа рани при попередньому вимірі (мм^2); S_1 – площа рани при даному вимірі (мм^2); t – кількість днів між першим та наступним вимірюванням (доба).

2.2.2 Імуногістохімічне дослідження

Імуногістохімічне дослідження проводили із зразків попередньо фіксованих у парафін. Парафінові зрізи наносили на адгезивні предметні скельця, депарафінували та проводили регідратацію. Після цього проводили епітопне повернення антигенів та пригнічення ендогенної пероксидази. Проводили інкубацію зрізів з первинним моноклональним антитілом CD34⁺ (RM300, Thermo Fisher Scientific). Неспецифічні клітинні структури додатково забарвлювали гематоксилином Майєра. Для з'ясування щільності судин у регенераті шкіри підраховували кількість судин за мембранною/субмембранною реакцією ендотелію на всьому зрізі регенерату шкіри з використанням програми ImageJ2 1.53.

2.2.3 Ультрамiкроскопiчне дослідження

Для ультрамiкроскопiчного вивчення регенератiв шкіри вилученнi шматочки регенерату фiксували у 2,5% розчинi глутарового альдегiду на 0,2 М какодилатному буферi з рН = 7,2 за температури +4 °С. Після цього препарати промивали у цьому самому буферi та постфiксували в 1% розчинi OsO₄. Далi

шматочки біоптатів зневоднювали за допомогою серії спиртів висхідної концентрації (по 20 хвилин у 50, 70, 80, 90 та 100% розчинах). Заливали матеріал у капсули з готовою сумішшю смол епону та аралдиту (аралдит М – 20 мл, епон 812 – 25 мл, ущільнювач ДДСА – 60 мл, каталізатор ДМР-30 – 2% (6 крапель) та залишали на 1 добу за кімнатної температури повітря. Після цього препарати поміщали у термошафу за температури 60 °С для полімеризації. Використовуючи ультрамікротом УМТП-6м (Україна) готували напівтонкі (1 мкм) та ультратонкі (40 – 60 нм) зрізи. Фарбування напівтонких зрізів проводили метиленовим синім та у світловому мікроскопі вивчали препарати, а після цього прицільно заточували пірамідки перед ультрамікротомуванням. Ультратонкі зрізи встановлювали на мідні сітки та дворазово контрастували, спочатку впродовж 15 хвилин у 2% розчині уранілацетату, а вже потім упродовж 30 хвилин у розчині цитрату свинцю за Рейнольдсом. Ультрамікроскопічне дослідження здійснювали за допомогою трансмісійного електронного мікроскопу JEM-1230 (фірма JEOL, Японія) та досліджували ультраструктуру регенерата.

2.2.4 Статистичний аналіз

Статистичну обробку даних проводили із використанням пакету програм SPSS-17 (version 17.0, USA) та Microsoft Excel 2016. Дані представлені у вигляді середньої арифметичної (M) та середнього квадратичного відхилення (SD). Величини на нормальність розподілу перевіряли за допомогою критерію Колмогорова-Смірнова. Значення середніх значень між групами порівнювали методом однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA). Відмінність вважали достовірною, якщо значення P не перевищувало 0,05 ($P < 0,05$).

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1 Структурні особливості регенерації шкіри у щурів молодого, зрілого та старечого віку контрольних груп

На 7-му добу після нанесення травми на місці дефекту була утворена геморагічна кірочка. Під струпом на мікроскопічному рівні відзначалося розростання грануляційної тканини, яка була інфільтрована клітинами макрофагально-фагоцитарного ряду, нейтрофілами, поодинокими лімфоцитами та ліпоцитами. Спостерігалось утворення великої кількості повнокровних кровоносних судин різного діаметру. Чітко візуалізувались витягнутої форми фіброласти в оточені молодих клагенових волокон (рис. 3.1).

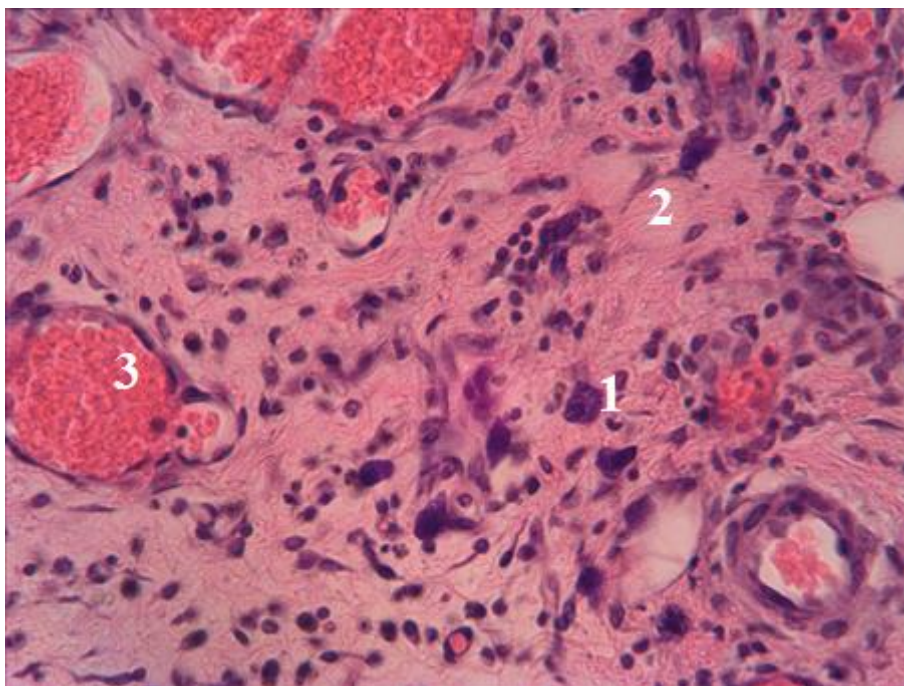


Рисунок 3.1 – Ділянка регенерата шкіри щура контрольної групи молодого віку на 7-му добу експерименту. 1 – нейтрофіл, 2 – фібробласт, 3 – просвіт судини. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. х 400

При електронно-мікроскопічному вивченні регенерату шкіри на 7-му добу експерименту у молодих щурів контрольної групи спостерігалася велика кількість макрофагів та поодинокі нейтрофіли. Нейтрофільні гранулоцити, переважно, мали округлу форму та сегментарне ядро, яке було заповнено гетерохроматином. Цитоплазма містила багаточисленні везикули та дрібні гранули високої електронної щільності. Поряд виявлялися дегенеративно змінені нейтрофіли у стадії розпаду, які містили залишки органел та ядер. Разом із фібробластами у новоутвореній тканині спостерігалися телоцити. Клітини мали витягнуту форму, довгі відростки, якими контактували із сусідніми клітинами. Виявлялися пучки групованих колагенових волокон (рис. 3.2).

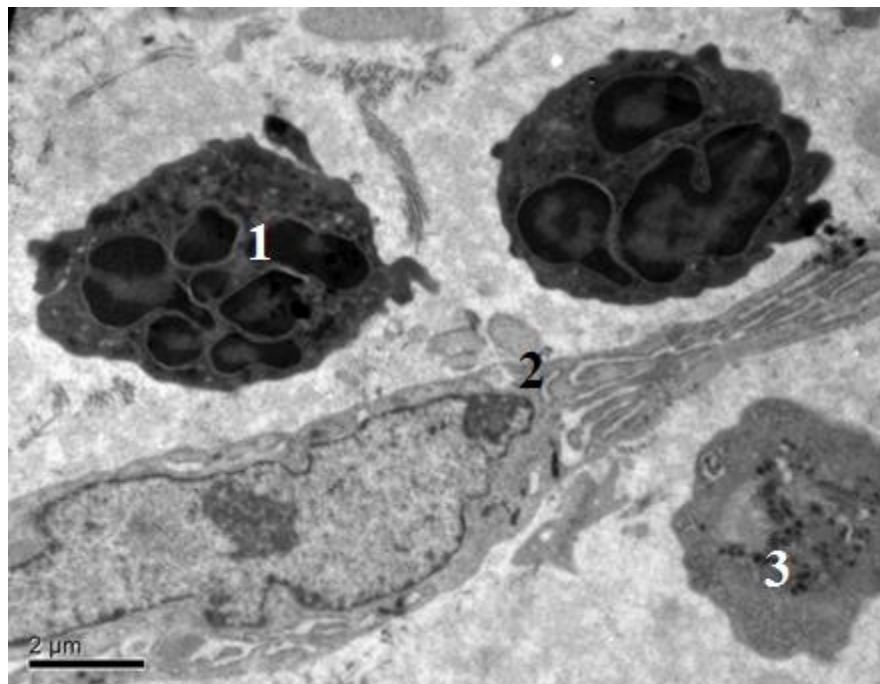


Рисунок 3.2 – Ділянка регенерата шкіри щура молодого віку контрольної групи на 7-му добу експерименту. 1 – нейтрофільний гранулоцит, 2 – телоцит, 3 – дегенеративно змінений нейтрофіл. Контрастування уранілацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом

Площа ранової поверхні на 7-му добу експерименту у щурів молодого віку склала $(72,77 \pm 10,24)$ мм², що в 2,31 рази менше вихідного показника. Швидкість заживлення рани становила $(13,63 \pm 2,45)$ мм²/добу.

При імуногістохімічному дослідженні щільність судин на 7-му добу після нанесення травми у щурів молодого віку контрольної групи склала $(11,27 \pm 1,81)\%$ від усієї площі зрізів (рис. 3.3).

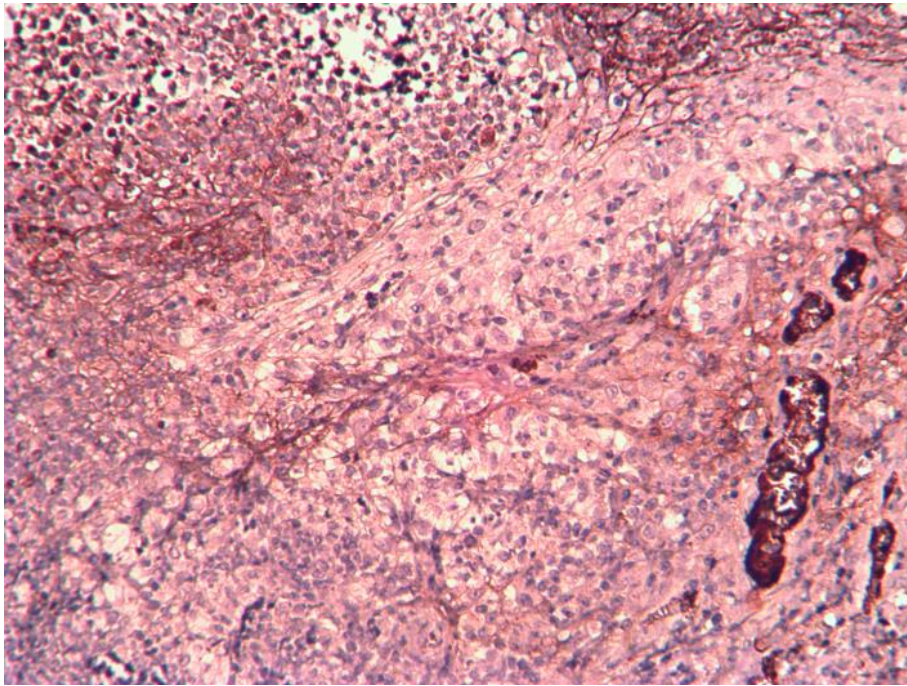


Рисунок 3.3 – Ділянка регенерата шкіри щура контрольної групи молодого віку на 7-му добу експерименту. Імуногістохімічне дослідження рецепторів судини до CD34⁺. Зб. х 400

На 14-ту добу дослідження рана шкіри була частково вистелена новим епітелієм. Товщина його була тонше, ніж інтактного епітелію. Клітини базального шару розміщувалися перпендикулярно базальної мембрани та були менших розмірів ніж у крайових нетравмованих ділянках шкіри. Ближче до центральної зони рани базальні клітини втрачали порядок розміщення, спостерігалися хаотичні, не чітко візуалізовані їх скупчення. Епітеліоцити шиповатого та зернистого шарів мали плоску форму, порівняно із клітинами інтактних сусідніх ділянок шкіри. Розміщувалися довгою віссю паралельно поверхні. Ядра клітин мали видовжену форму. Епітеліоцити зернистого шару містили зовсім невелику кількість гранул. Роговий шар представляв собою залишки ущільнених клітин, гранули ядерного та клітинного матеріалу. Товщина новоутвореного епітелію склала $(35,67 \pm 5,72)$ мкм. Формування дерми на ретикулярну та сітчасту частини на 14-ту добу дослідження не

відзначалося. Її товщина була $(204,91 \pm 10,21)$ мкм. Кількість кровоносних судин була значно меншою порівняно з попереднім терміном дослідження. Волосяних цибулин виявлено не було (рис. 3.4). Площа ранової поверхні на цьому терміні дослідження склала лише $(5,29 \pm 1,01)$ мм², при швидкості заживлення рани $(9,64 \pm 1,33)$ мм²/добу. При імуногістохімічному дослідженні щільність судин на 14-ту добу після нанесення травми у щурів молодого віку контрольної групи склала $(19,83 \pm 2,09)\%$ від усїєї площі зрізу (рис. 3.5).

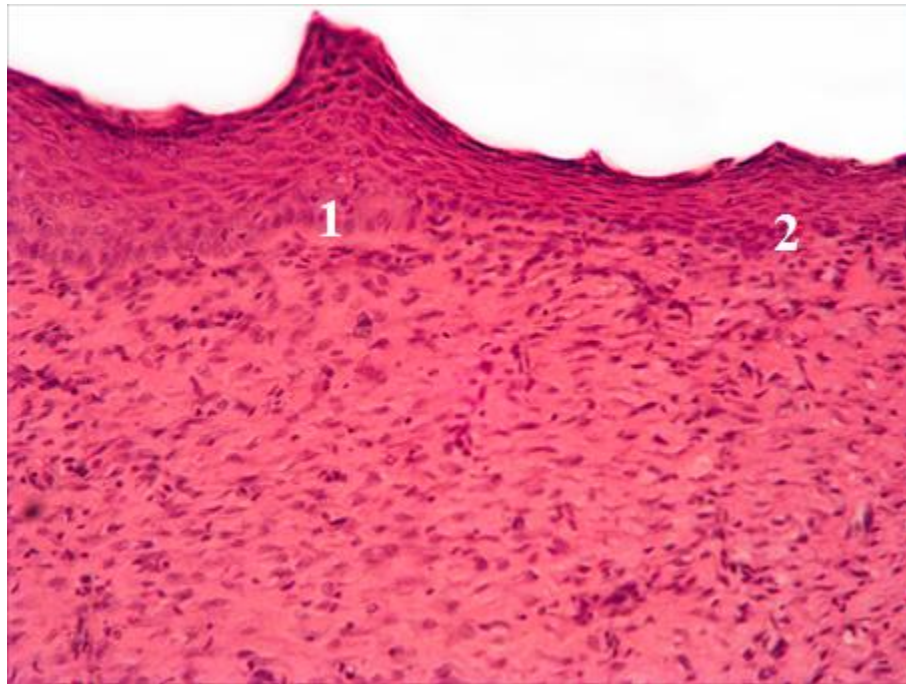


Рисунок 3.4 – Ділянка регенерата шкіри щура контрольної групи молодого віку на 14-ту добу експерименту. 1 – базаліоцити, 2 – скупчення базаліоцитів. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. x 200

На електронограммах регенерата шкіри у щурів молодого віку контрольної групи на 14-ту добу після нанесення рани Кератиноцити усіх шарів мали міцне сполучення між собою. У базальному шарі спостерігалися мітози на різних стадіях. У зернистому шарі відмічалися поодинокі епітеліальні клітини, які містили цілі ядра та зернисту цитоплазму. Так, зернисті кератиноцити не мали ядер, щільно прилягали один до одного, розташовуючись своєю довгою віссю паралельно поверхні шкіри. Зернистий шар містив малу кількість гранул кератогіаліну. Роговий шар був представлений тонкими смужками, які склалися із лусочок кератину (рис. 3.6).

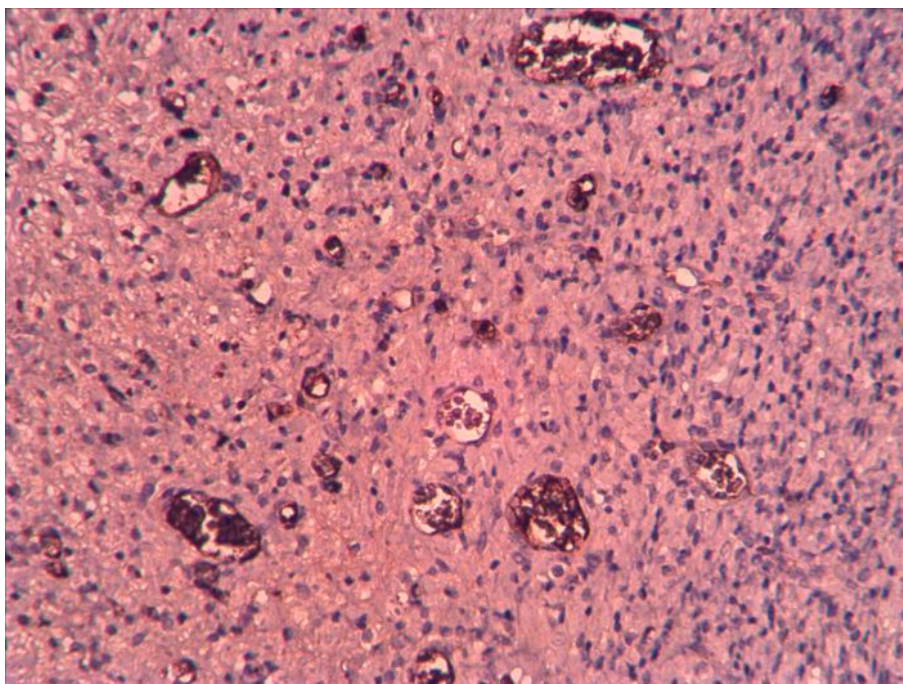


Рисунок 3.5 – Ділянка регнерата шкіри щура молодого віку контрольної групи на 14-ту добу експерименту. Імуногістохімічне дослідження рецепторів судини до CD34⁺. Зб. x 400

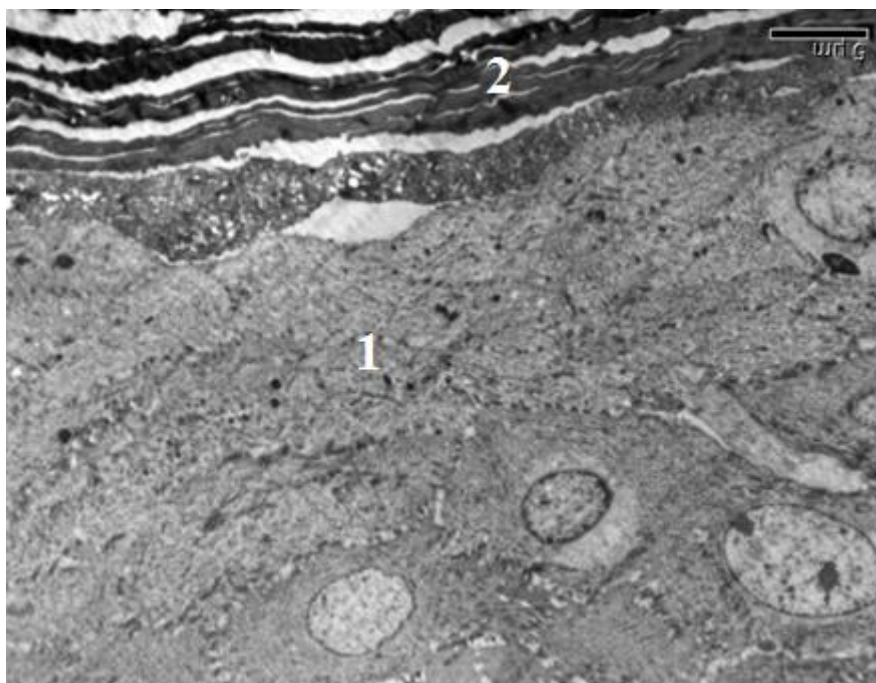


Рисунок 3.6 – Ділянка регенерата шкіри щура молодого віку контрольної групи на 14-ту добу експерименту. 1 – зернистий шар, 2 – роговий шар. Контрастування ураніацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом

На 21-шу добу експерименту рана майже повністю була вистелена новоутвореним епітелієм та дермою. При цьому клітини базального шару мали поліморфні розміри та форми. Фігури мітозу у базальному шарі добре було видно. Шипуватий шар складався із 4 – 5 рядів клітин. Між клітинами не завжди спостерігалися міцні контакти. Зернистий шар мав 1 – 2 ряди клітин з помірними по об'єму гранулами кератогіаліну. Роговий шар мав рівномірну товщину, майже не містив клітинних залишків. Разом з тим у новоутвореній шкірі локально спостерігався папіломатоз. У дермі більш детально став візуалізуватися сосочковий та сітчастий шари. Клітинний склад дерми окрім фібробластів, був представлений поодинокими макрофагами, клітинами Лангерганса та лімфоцитами. Також, вже на цьому терміні дослідження, спостерігалися волосяні цибулини в оточенні сальних залоз, які мали досить великі розміри та розвинуті часточки. Кровоносні судини добре спостерігалися. Артеріоли мали розвинені стінки (рис. 3.7).

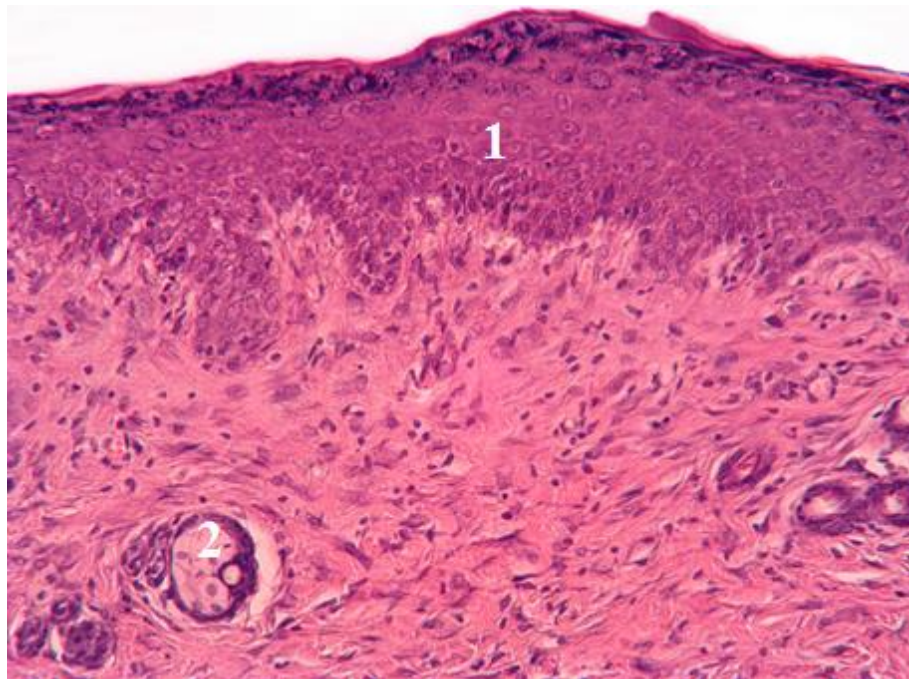


Рисунок 3.7 – Ділянка регенерату шкіри щура контрольної групи молодого віку на 21-шу добу експерименту. 1 – епідерміс, 2 – сальна залоза. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. х 200

Товщина епідермісу склала $(93,64 \pm 15,44)$ мкм, а товщина дерми була $(223,52 \pm 27,49)$ мкм. Площа ранової поверхні склала лише $(0,77 \pm 0,11)$ мм², при швидкості заживлення рани $(0,65 \pm 0,13)$ мм²/добу. Щільність судин мікроциркуляторного русла у тварин молодого віку контрольної групи на 21-шу добу дослідження була $(30,95 \pm 1,70)$ % від усієї площі зрізу (рис. 3.8).

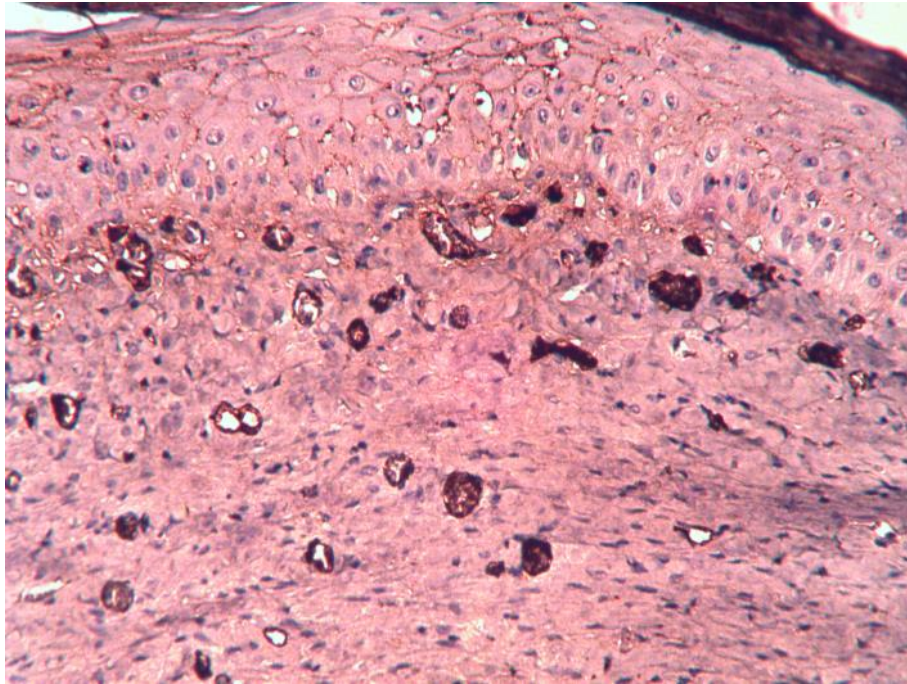


Рисунок 3.8 – Ділянка регенерата шкіри щура контрольної групи молодого віку на 21-шу добу експерименту. Імуногістохімічне дослідження рецепторів судини до CD34⁺. Зб. x 400

При ультрамікроскопічному дослідженні регенованої ділянки шкіри на 21-шу добу експерименту у епідермісі ми виявили базаліоцити, які щільно прилягали один до одного. Між собою клітини були сполучені десмосомами, які утворювалися за рахунок незначних вип'ячувань плазмолемми. При цьому виявлялися поодинокі ділянки де десмосоми були розірванні. Ядра клітин були заповненні еухроматином та займали більшу частину цитоплазми. Каріолема мала глибокі інвагінації. Крім того, базаліоцити містили добре виражені пучки тонофіламентів на периферії цитоплазми, які частково впліталися у десмосоми. Мітохондрії, цистерни ендоплазматичної сітки добре спостерігалися та знаходилися поблизу ядер клітин (рис. 3.9 та 3.10).

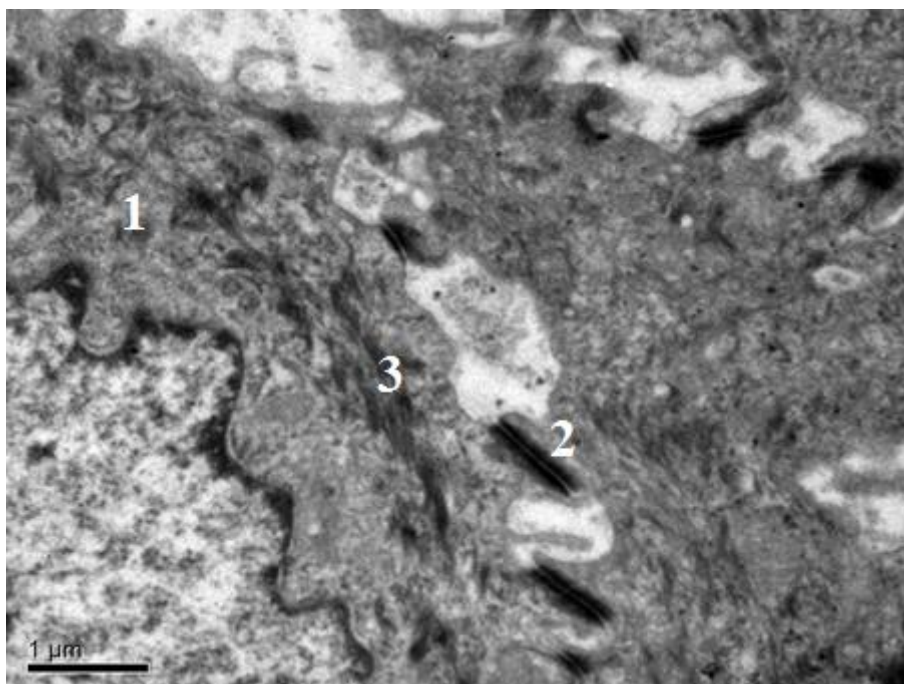


Рисунок 3.9 – Ділянка регенерату шкіри щура контрольної групи молодого віку на 21-шу добу експерименту. 1 – базаліоцит, 2 – десмосома, 3 – тонофіламенти. Контрастування уранілацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом

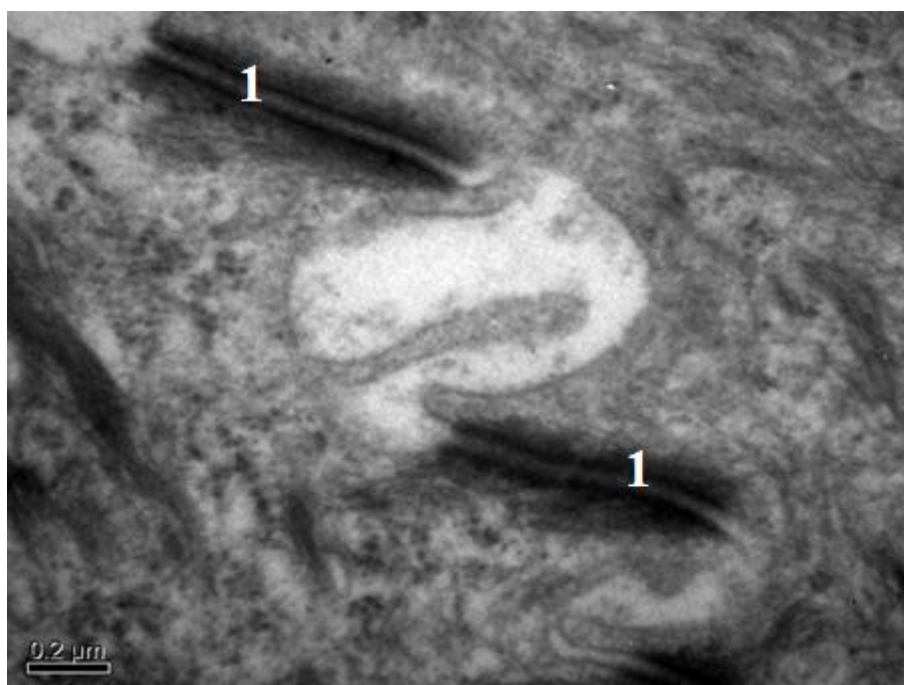


Рисунок 3.10 – Ділянка регенерату шкіри щура молодого віку контрольної групи на 21-шу добу експерименту. 1 – десмосома. Контрастування уранілацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом

У щурів зрілого віку контрольної групи на 7-му добу експерименту травмована ділянка шкіри була заповнена грануляційною тканиною з великою кількістю жирових клітин. Кровоносні судини мали неповноцінні стінки, спостерігалися крововиливи у крайових зонах регенерату. У товщі молодій грануляційній тканині виявлялися скупчення лімфоцитів, поодинокі макрофаги та нейтрофіли (рис. 3.11).

Площа ранової поверхні склала $(88,34 \pm 12,43)$ мм², а швидкість заживлення рани $(12,92 \pm 1,87)$ мм²/добу.

Щільність судин у регенераті шкіри тварин зрілого віку контрольної групи на 7-му добу дослідження склала $(10,98 \pm 0,89)$ % від усієї площі зрізу (рис. 3.12).

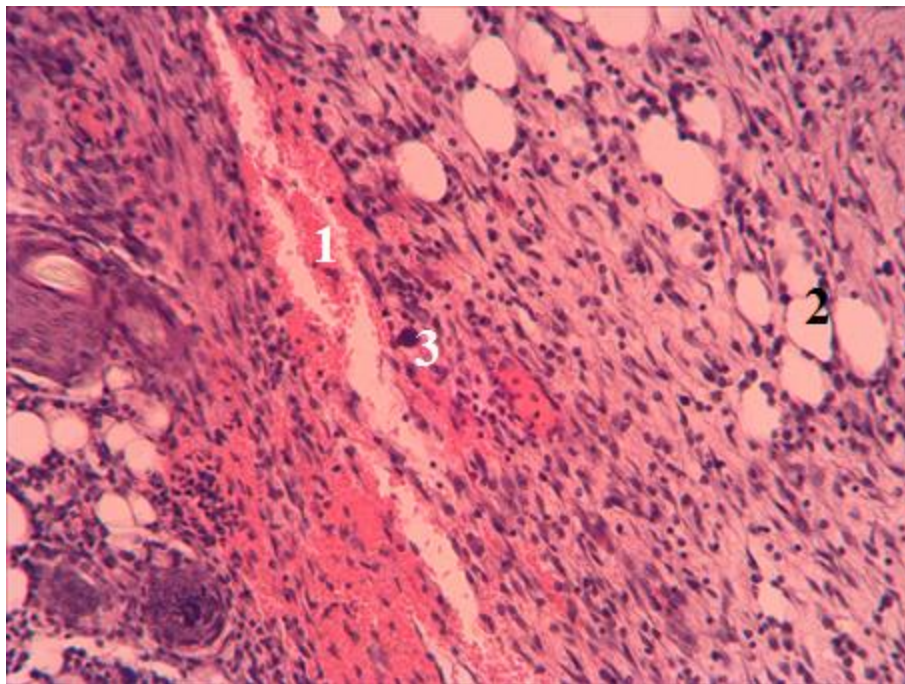


Рисунок 3.11 – Ділянка регенерату шкіри щура контрольної групи зрілого віку на 7-му добу експерименту. 1 – крововилив у крайовій зоні регенерата, 2 – ліпоцити, 3 – лімфоцит. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. х 200

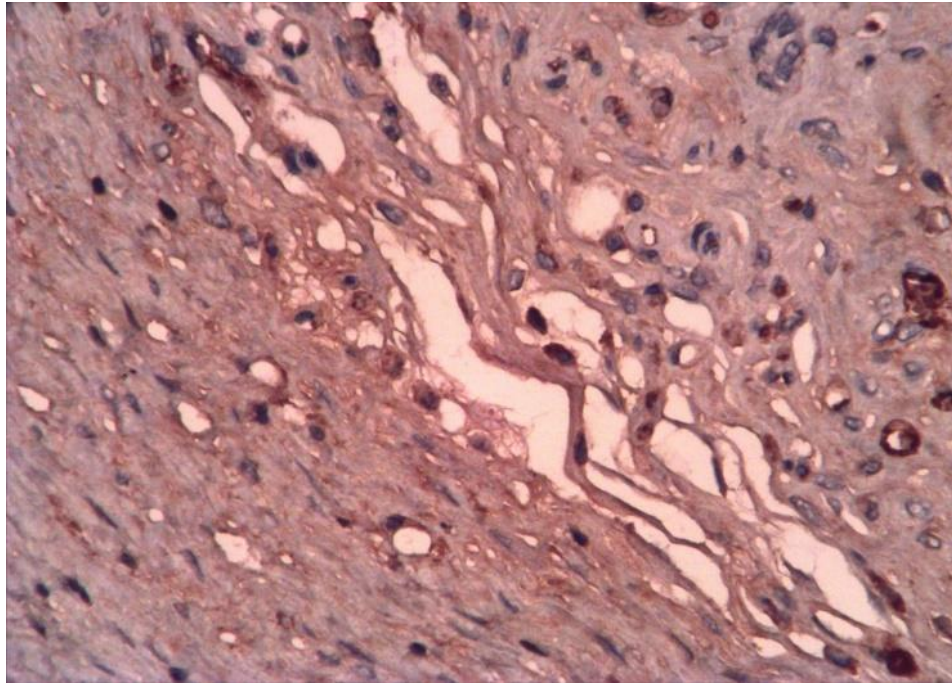


Рисунок 3.12 – Ділянка регенерату шкіри щура контрольної групи зрілого віку на 7-му добу експерименту. Імуногістохімічне дослідження рецепторів судини до CD34⁺. Зб. x 400

На 14-ту добу експерименту у ділянці рани спостерігалось більш повне проростання нового епідермісу. При чому у ньому добре диференціювалися всі шари, однак, вони мали свої особливості. Клітини базального шару були різних розмірів, мали витягнуту форму та місцями розміщувалися у два ряди. Добре спостерігалися міжклітинні проміжки. Спостерігалися клітини Лангерганса. Кератиноцити шипуватого шару не мали чіткого паралельного розташування, були великих розмірів. Цитоплазма клітин містила великі, прозорі ядра з одним, іноді двома ядерцями. Місцями між клітинами відмічалось порушення міжклітинних зв'язків, внаслідок чого виникали пустоти. Зернистий шар був представлений одним пластом клітин. Вони містили невелику кількість гранул та розміщувалися більш щільно, порівняно з клітинами шипуватого шару. Роговий шар, також, добре простежувався, але сполучення між корнеоцитами не було міцним (рис. 3.13).

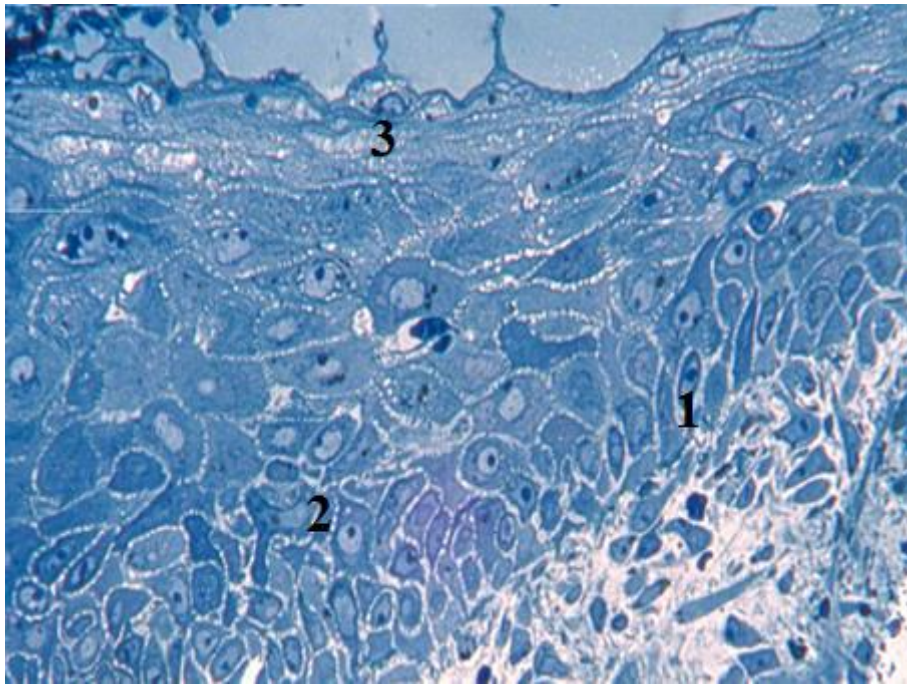


Рисунок 3.13 – Ділянка регенерату шкіри щура зрілого віку контрольної групи на 14-ту добу експерименту. 1 – базаліоцити, 2 – клітина Лангерганса, 3 – роговий шар. Забарвлення метиленовим синім. Зб. х 400

Товщина епідермісу на 14-ту добу експерименту у щурів зрілого віку склала $(41,21 \pm 8,73)$ мкм, а товщина дерми була $(332,95 \pm 51,56)$ мкм. Площа ранової поверхні становила лише $(21,54 \pm 2,45)$ мм², при швидкості заживлення рани $(9,54 \pm 1,43)$ мм²/добу.

При імуногістохімічному дослідженні щільність судин на 14-ту добу після нанесення травми у щурів зрілого віку контрольної групи склала $(17,45 \pm 1,39)\%$ від усієї площі зрізу.

На 21-шу добу дослідження місце дефекту майже повністю було вистелено повноцінною шкірою. Епідерміс мав товщину $(98,83 \pm 13,49)$ мкм, а дерма – $(435,32 \pm 52,73)$ мкм. У базальному шарі відмічалася велика кількість мітозів на різних стадіях. Клітини мали різні форми, розміри, а сполучення між ними було більш щільне ніж у попередньому терміні дослідження. Товщина шиповатого та зернистого шарів, також були більшими ніж на 14-ту добу дослідження. У шиповатому шарі клітини мали однакові розміри, овальну або круглу форму, світле ядро та велику за площею цитоплазму. Зернисті

кератиноцити містили велику кількість гранул кератогіаліну. При цьому клітини, які розміщувалися ближче до рогових корнеоцитів не мали ядер, їх кількість була меншою, ніж у нижніх шарах. Частина клітин була зруйнованою, а навколо них спостерігалися скупчення гранул кератину та клітинних залишків. Корнеоцити рогового шару були повністю заповненні гранулами кератину. Розривів між роговими чусочками не спостерігалось. У дермі формувалися сосочковий та сітчастий шари. Простежувалося утворення волосяного апарату та сальних залоз (рис. 3.14).

Площа ранової поверхні становила $(1,42 \pm 0,2)$ мм², а швидкість заживлення рани $(2,87 \pm 0,32)$ мм²/добу.

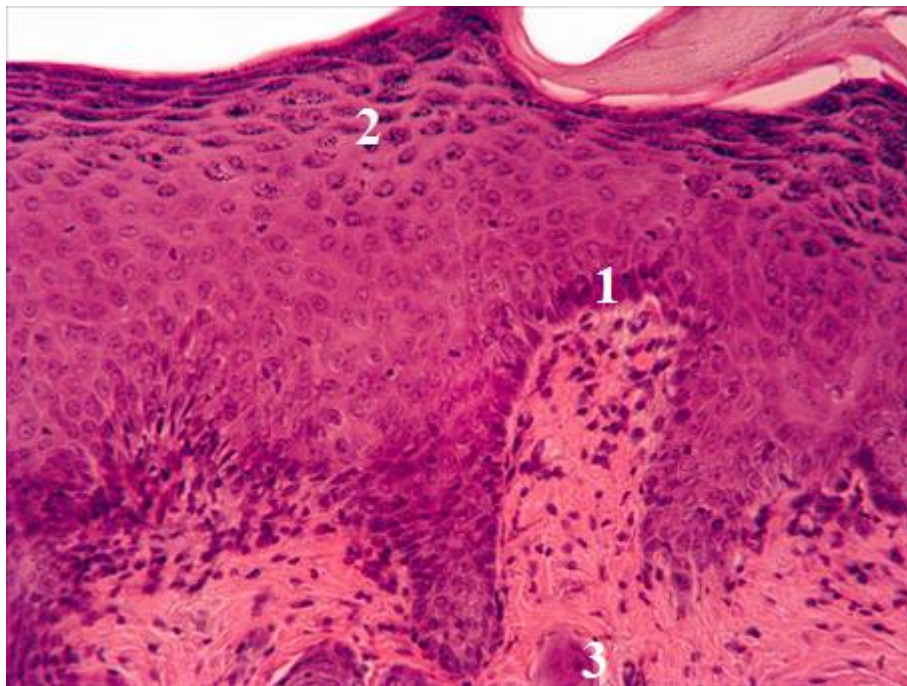


Рисунок 3.14 – Ділянка регенерату шкіри щура зрілого віку контрольної групи на 21-шу добу експерименту. 1 – базаліоцити, 2 – зернисті кератиноцити, 3 – сальна залоза. Забарвлення гематоксилін-еозином.

Зб. х 200

Імуногістохімічним дослідженням було виявлено, що щільність судин у регенераті шкіри тварин зрілого віку контрольної групи на 21-шу добу експерименту склала $(25,73 \pm 5,17)\%$ від усієї площі зрізу (рис. 3.15).

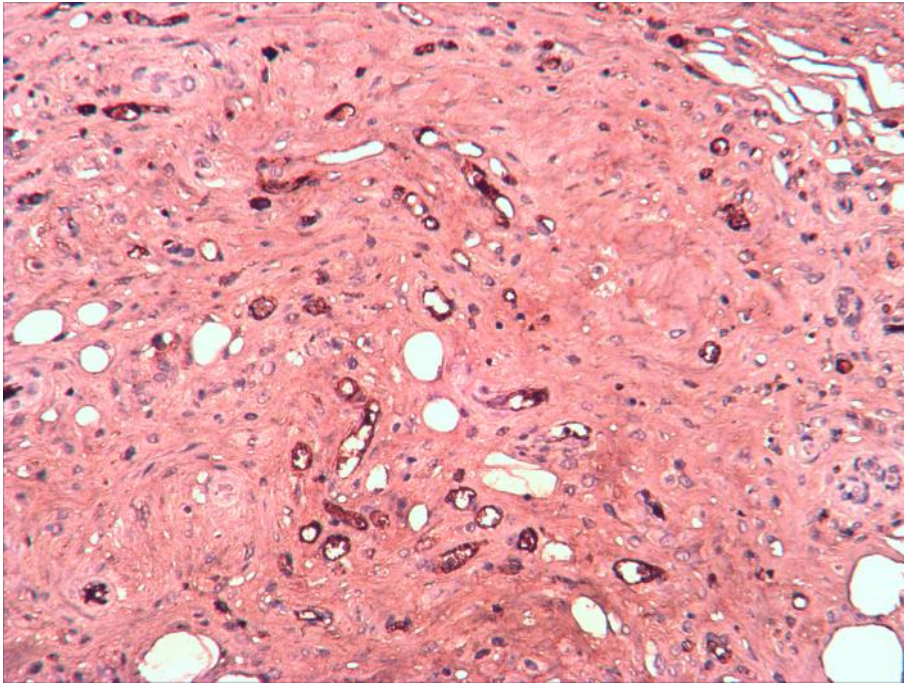


Рисунок 3.15 – Ділянка регенерату шкіри щура зрілого віку контрольної групи на 21-шу добу експерименту. Імуногістохімічне дослідження рецепторів судини до CD34⁺. Зб. x 400

На 7-му добу експерименту рана шкіри у щурів старечого віку контрольної групи була заповнена грануляційної тканиною, великою кількістю ліпоцитів. Спостерігалися ділянки запального інфільтрата розміщеного переважно навколо судин, які не мали повноцінних стінок. Разом з тим відмічалися сформовані судини із невеликими діаметрами та повнокровними просвітами (рис. 3.16).

При цьому, площа ранової поверхні склала $(110,22 \pm 15,51)$ мм², при швидкості заживлення рани $(8,75 \pm 2,91)$ мм²/добу.

Щільність судин у регенераті шкіри щурів старечого віку контрольної групи на 7-му добу після нанесення травми була $(5,27 \pm 0,603)\%$ від усієї площі зрізу (рис. 3.17).

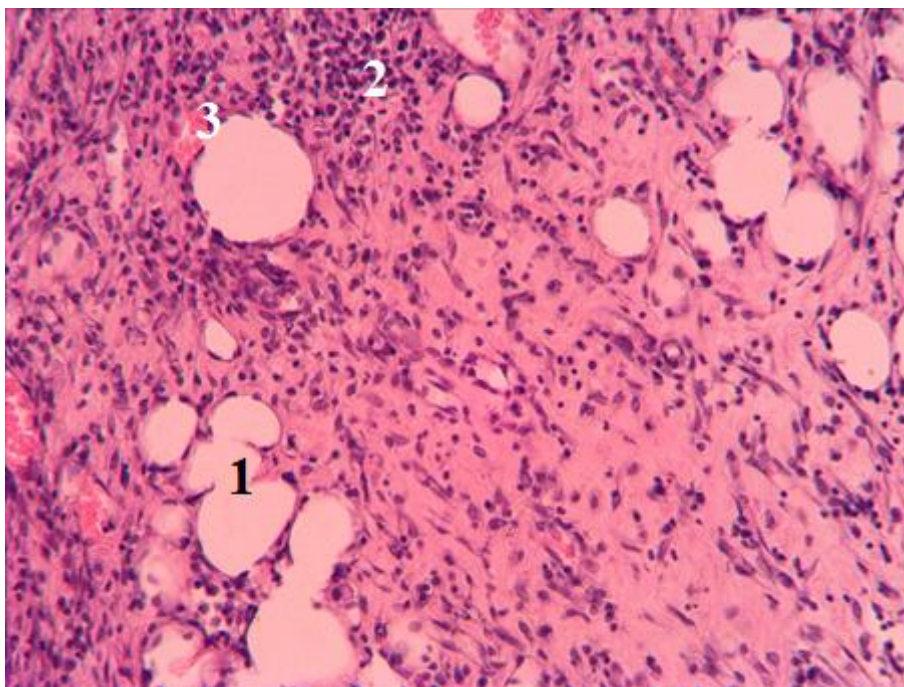


Рисунок 3.16 – Ділянка регенерата шкіри щура старечого віку контрольної групи на 7-му добу експерименту. 1 – ліпоцити, 2 – запальний інфільтрат, 3 – повнокровний просвіт судини. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. х 200

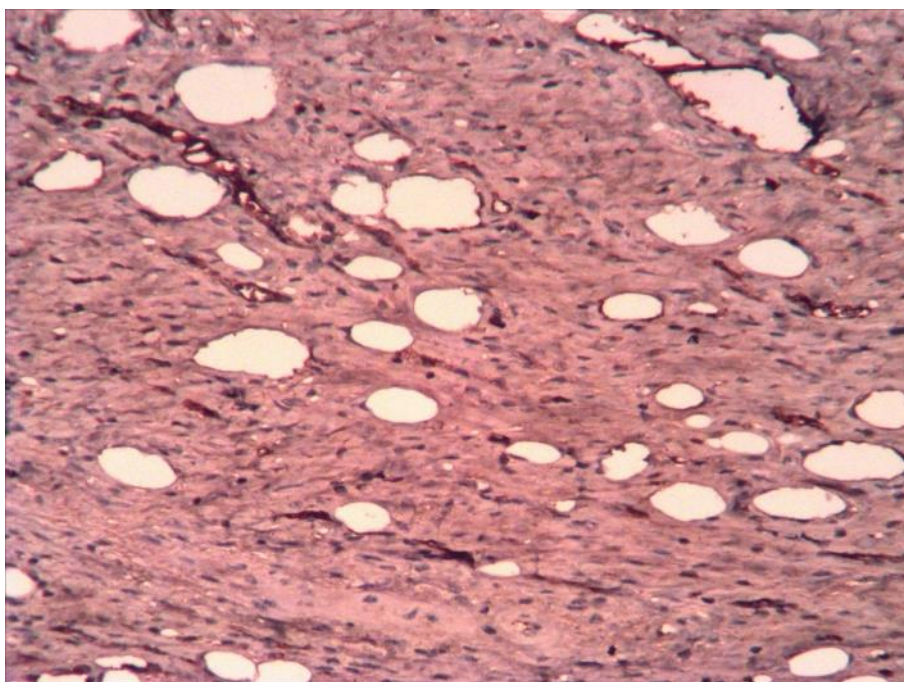


Рисунок 3.17 – Ділянка регенерата шкіри щура контрольної групи старечого віку на 7-му добу експерименту. Імуногістохімічне дослідження рецепторів судини до CD34⁺. Зб. х 400

На 14-ту добу експерименту у щурів старечого віку контрольної групи повного закриття рани шкіри новим епідермісом не відбулось. Сформований епідерміс був тонким товщиною ($34,96 \pm 6,89$) мкм. Базальний шар у центральній частині регенерата був утворений клітинами плоскої форми, малих розмірів розміщеними в один ряд. Ближче до країв рани базаліоцити мали більші розміри, округлі або овальні форми. Міжклітинні проміжки були широкими. Шипуватий шар у центральній ділянці регенерата був вистелений двома рядами клітин, здебільшого витягнутої форми та великих розмірів. При цьому формування повноцінного зернистого шара у центральній ділянці не спостерігалось, внаслідок чого і утворення корнеоцитів також не відбулось. Ближче до країв рани зернисті клітини простежувалися. Роговий шар був дуже тонким, у ньому відмічалися збережені клітини, залишки ядер та пустоти. Також, у щурів старечого віку на 14-ту добу після травми спостерігалися ділянки розривів між епідермісом та дермою, які були заповненні зруйнованими еритроцитами, нейтрофілами, лімфоцитами, великими макрофагами та тканинним детритом. Формування повноцінної дерми на цьому терміні дослідження не відбулося. Вона була представлена великою кількістю фібробластів, аморфним матриксом, тонкими та короткими пучками колагенових волокон. Товщина її була ($307,06 \pm 74,04$) мкм. Кількість капілярів була значно меншою порівняно із тваринами зрілого та молодого віку. Поодинокі зустрічалися просвіти артеріол, які були широкими, але малокровними (рис. 3.18).

Площа ранової поверхні становила ($51,47 \pm 7,39$) мм², а швидкість заживлення рани ($8,39 \pm 1,19$) мм²/добу. Щільність судин становила ($10,95 \pm 2,56$)% від усієї площі зрізу (рис. 3.19).



Рисунок 3.18 – Ділянка регенерата шкіри щура старечого віку контрольної групи на 14-ту добу експерименту. 1 – еритроцити, 2 – артеріола. Забарвлення метиленовим-синім. Зб. х 400

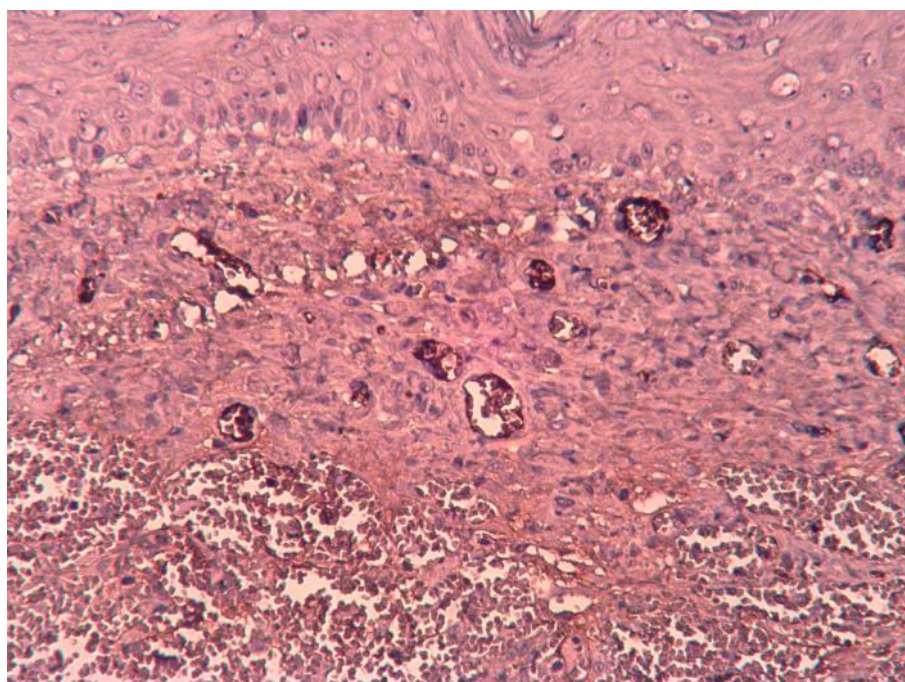


Рисунок 3.19 – Ділянка регенерата шкіри щура старечого віку контрольної групи на 14-ту добу експерименту. Імуногістохімічне дослідження рецепторів судини до CD34⁺. Зб. х 400

На 21-шу добу дослідження у щурів старечого віку рана не була повністю заповнена епідермісом. Клітини базального шару розміщувалися у один або два ряди, мали різні розміри та форми. Міцного сполучення між ними та нижче лежачою дермою не було. Крім того, відбувалось проростання епітелію у дермальний компонент. Шипуватий шар був утворений одним, двома рядами кератиноцитів. Вони мали великі ядра мали незначну площу цитоплазми. Місцями у шипуватих клітинах відзначалися скупчення гранул кератогіаліну під плазмолемою. Це свідчить, що відбувається порушення процесу кератинізації. Зернистий шар локально містив клітини заповненні оптично темними, великими зернами кератогіаліну. Ближче до рогового шару, який був дуже тонким, спостерігалось скупчення зерен кератогіаліну, залишків зруйнованих клітин. Роговий шар був представлений тонким шаром рогових лусочок, які в основному щільно прилягали одна до одної, однак локально були місця їх розрихлення. Дерма була представлена пучками колагенових волокон та аморфним матриксом. У її верхніх шарах спостерігалися клітини епітелію, поодинокі макрофаги. Кількість капілярів та інших судин мікроциркуляторного русла була меншою порівняно з тваринами молодого та зрілого віку (рис. 3.20).

Товщина епідермісу на 21-ту добу експерименту у щурів старечого віку склала $(87,68 \pm 6,37)$ мкм, а товщина дерми була $(357,19 \pm 45,96)$ мкм. Площа ранової поверхні залишалась розміром $(5,86 \pm 0,83)$ мм², при швидкості заживлення рани $(6,51 \pm 0,94)$ мм²/добу.

Імуногістохімічним дослідженням було виявлено, що щільність судин у регенераті шкіри тварин старечого віку контрольної групи на 21-шу добу експерименту склала $(18,54 \pm 2,61)\%$ від усієї площі зрізу (рис. 3.21).

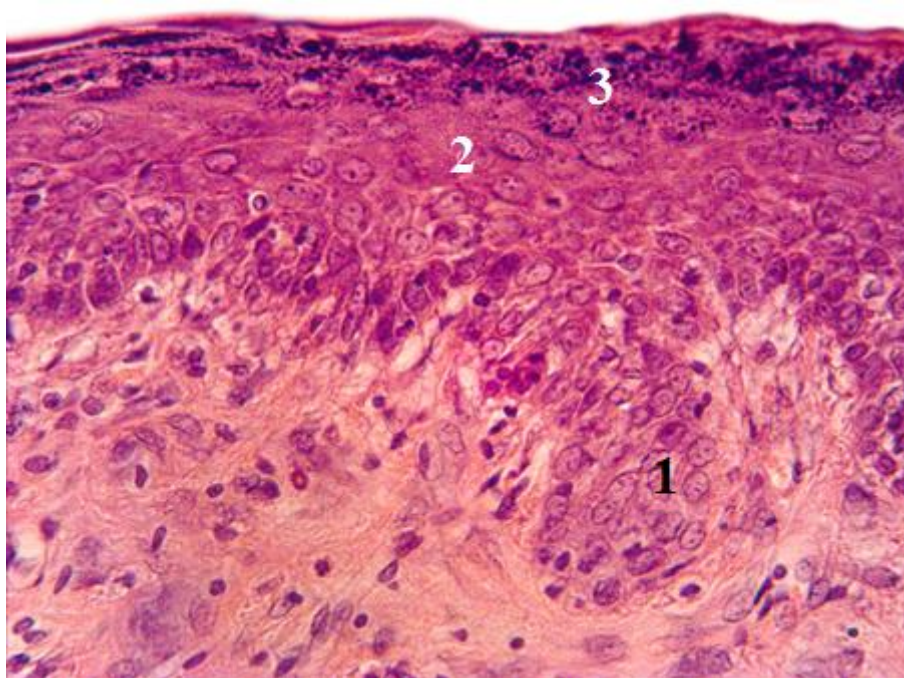


Рисунок 3.20 – Ділянка регенерата шкіри щура старечого віку контрольної групи на 21-шу добу експеримента. 1 – проростання епітелію у дерму, 2 – шар шипуватих клітин епідермісу, 3 – гранули кератогіаліну. Зabarвлення гематоксилін-еозином. Зб. х 400

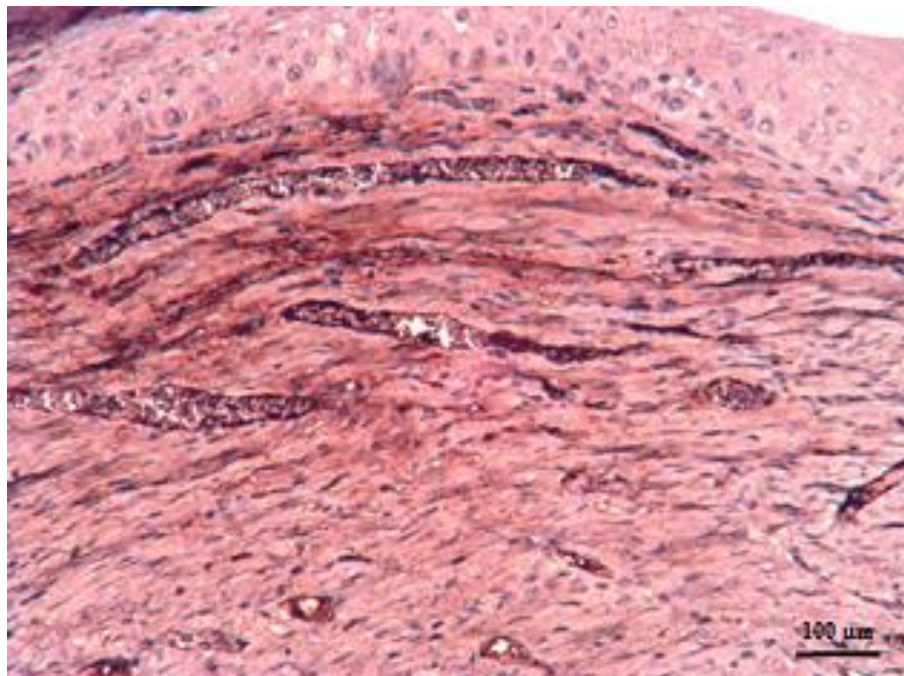


Рисунок 3.21 – Ділянка регенерата шкіри щура старечого віку контрольної групи на 21-шу добу дослідження. Імуногістохімічне дослідження рецепторів судини до CD34⁺. Зб. х 400

Отже, для тварин молодого віку на ранніх термінах дослідження було характерним наявність телоцитів разом із фібробластами в оточенні колагенових волокон, що сприяло більш швидкому зменшенню площі рани, порівняно із іншими тваринами. Для пізніх термінів регенерації для тварин молодого та зрілого віку було характерна епітелізація ранової поверхні, утворення сосочкового та сітчастого шарів дерми, початок формування волосяних фолікулів та сальних залоз, а також розвинена сітка судин мікроциркуляторного русла. Для тварин старечого віку була характерна не повна епітелізація рани, порушення процесів кератинізації, проростання клітин епідермісу у дерму. Також, встановлено, що для тварин регресивного віку без хронічної гіперглікемії реорганізації сполучної тканини дерми у сосочковий та сітчастий шари на пізніх термінах експерименту не було характерним. Швидкість загоєння ран у тварин молодого та зрілого віку без хронічної гіперглікемії була найбільшою на 7-му добу дослідження ($(13,63 \pm 2,45)$ мм²/добу у молодих та $(12,92 \pm 1,87)$ мм²/добу) зрілих щурів), та найменшою у кінці експерименту (для щурів молодого віку $(0,65 \pm 0,13)$ мм²/добу та $(2,87 \pm 0,32)$ мм²/добу для тварин зрілого віку). У щурів старечого віку на початкових термінах дослідження швидкість регенерації була найменшою серед усіх тварин ($(8,75 \pm 2,91)$ мм²/добу), а на 21-шу добу найбільшою ($(6,51 \pm 0,94)$ мм²/добу). При цьому, площа ранової поверхні у тварин прогресивного віку зазнала найбільшого зменшення на початку експерименту, у кінці дослідження площа рани зменшилася у щурів молодого та зрілого віку майже однаково.

Основні результати цього розділу опубліковані у працях [277-286].

3.2 Структурні особливості регенерації шкіри у щурів молодого, зрілого та старечого віку із хронічною гіперглікемією

На 7-му добу експерименту у щурів молодого віку із хронічною гіперглікемією на місці рани спостерігалася геморагічна кірочка. При мікроскопічному дослідженні біля крайових ділянок дефекту спостерігалася формування нового епідермісу. Однак, чіткого порядку у клітинних шарах у ньому не було. Крім того, у його товщі спостерігалися клітини макрофагально-лейкоцитарного ряду, залишки некротичного детриту, великі пустоти та розриви. У нижніх шарах регенерат був утворений великою кількістю фібробластів, колагеновими волокнами, спостерігалися скупчення лейкоцитів, макрофагів, лімфоцитів, зруйнованих еритроцитів, залишки клітинного та тканинного детриту. Крім того, виявлялися судини, просвіт яких був дуже широким, а стінки – неповноцінними (рис. 3.2.1).

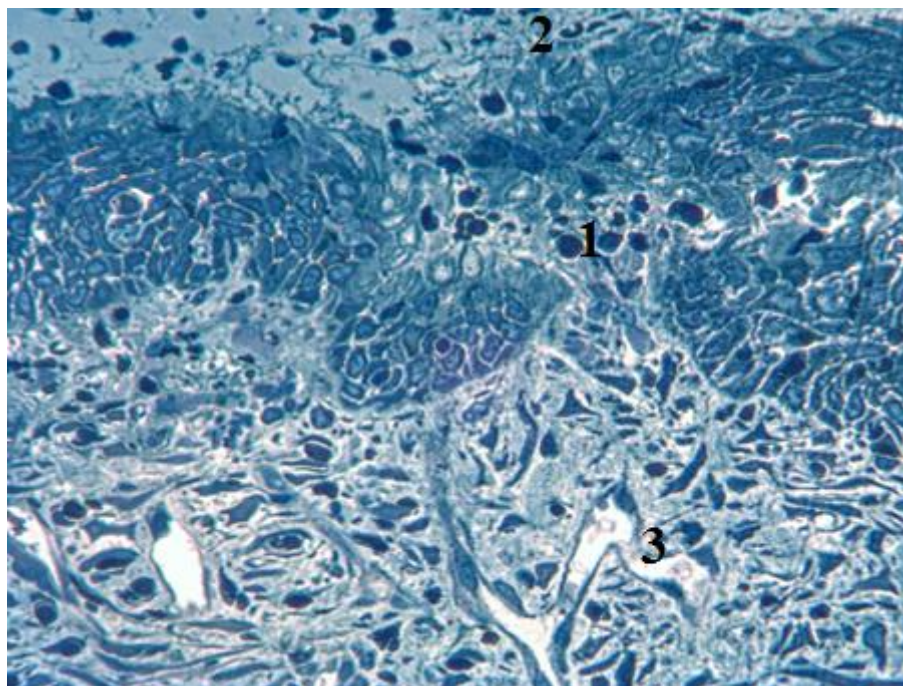


Рисунок 3.2.1 – Ділянка регенерата шкіри щура молодого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією на 7-му добу дослідження. 1 – макрофаги, 2 – геморагічна кірочка, 3 – просвіт судини. Забарвлення метиленовим-синім. Зб. х 400

Площа ранової поверхні на 7-му добу експерименту у щурів молодого віку із хронічною гіперглікемією склала $(134,81 \pm 29,33)$ мм². Швидкість регенерації рани становила $(3,75 \pm 0,87)$ мм²/добу. Щільність судин становила $(5,21 \pm 0,52)\%$ від усієї площі зрізу (рис. 3.2.2).

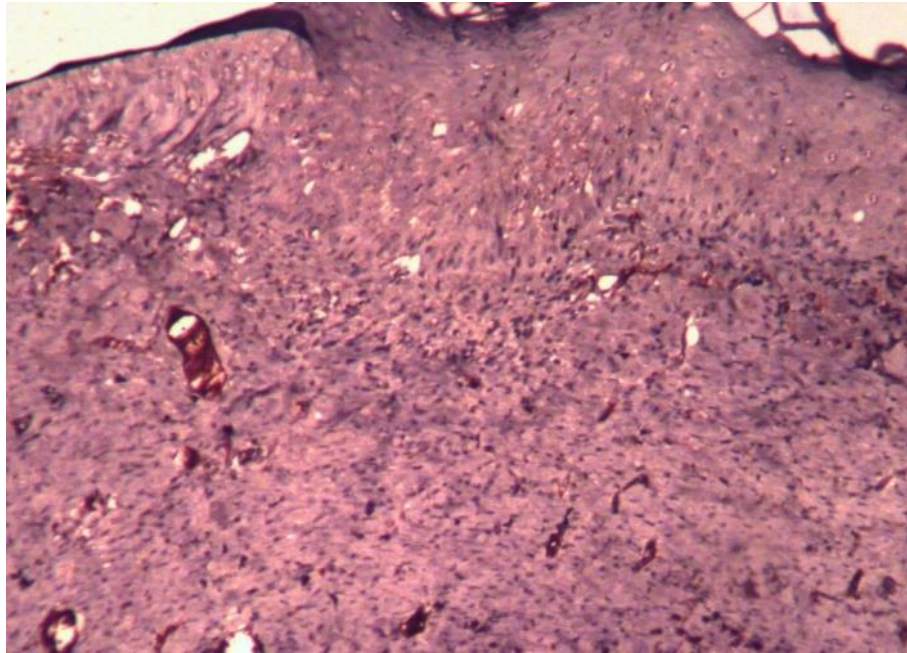


Рисунок 3.2.2 – Ділянка регенерата шкіри щура молодого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією на 7-му добу дослідження. Імуногістохімічне дослідження рецепторів судини до CD34⁺. Зб. х 400

На 14-ту добу дослідження у щурів молодого віку із хронічною гіперглікемією повністю формування повноцінної шкіри на місці дефекту не відбулося. Дерма містила тонкі тяжі сполучної тканини. Кількість кровоносних судин була меншою, порівняно зі контрольною групою тварин. Навколо деяких судин спостерігалася лейкоцитарно-лімфоцитарна інфільтрація. Крім того, між пучками колагенових волокон спостерігалось розростання жирової тканини (рис. 3.2.3).

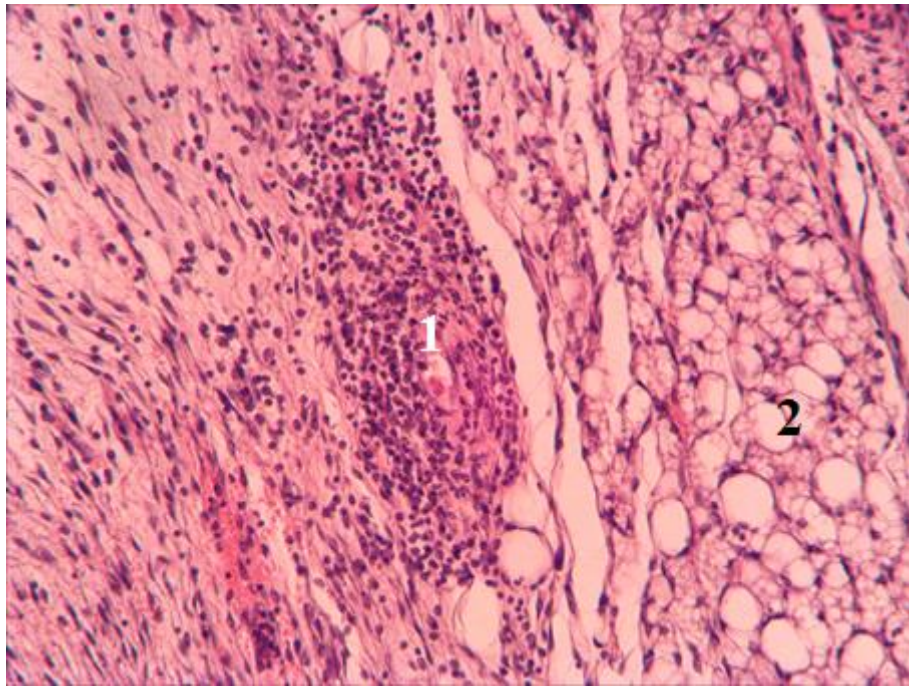


Рисунок 3.2.3 – Ділянка регенерата шкіри щура молодого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією на 14-ту добу дослідження. 1 – лейкоцитарно-макрофагальний інфільтрат, 2 – ліпоцити. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. х 200

Товщина епідермісу на 14-ту добу експерименту у щурів молодого віку із хронічною гіперглікемією склала $(20,85 \pm 3,75)$ мкм, а товщина дерми була $(116,63 \pm 12,54)$ мкм. Площа ранової поверхні була $(101,02 \pm 23,34)$ мм², при швидкості заживлення рани $(4,83 \pm 1,41)$ мм²/добу. При імуногістохімічному дослідженні щільність судин на 14-ту добу після нанесення травми склала $(11,45 \pm 1,53)\%$ від усієї площі зрізу.

На 21-шу добу ділянка дефекту була частково вистелена новим епітелієм. Він мав нерівномірну товщину. Базальний шар складався з двох шарів видовжених клітин. Відмічалися ділянки, де відбувалося скупчення базаліоцитів, які проростали у нижче лежачу сполучну тканину. Шипуваті кератиноцити щільно розміщувалися один біля одного. Вони мали меншу площу цитоплазми порівняно з клітинами тварин контрольної групи. Зернистий шар був утворений одним рядом клітин, які містили малу кількість

гранул кератогіаліну. Роговий шар був дуже тонким та містив залишки зруйнованих клітин. Дерма була утворена сполучною тканиною, яка мала різну щільність на всьому протязі. Безпосередньо під епітелієм спостерігалася щільне розміщення пучків колагенових волокон між якими відмічалася велика кількість судин мікроциркуляторного русла. Судини мали нормальні повнокровні просвіти. Однак у нижчих шарах сполучна тканина була більш пухкою, містила більше аморфного матриксу. Кровоносні судини мали розширені просвіти та були малокровними. Чіткого формування дерми на сосочковий та сітчастий шари не відбулося. Утворення волосяних фолікулів та сальних залоз, також не було виявлено (рис. 3.2.4).

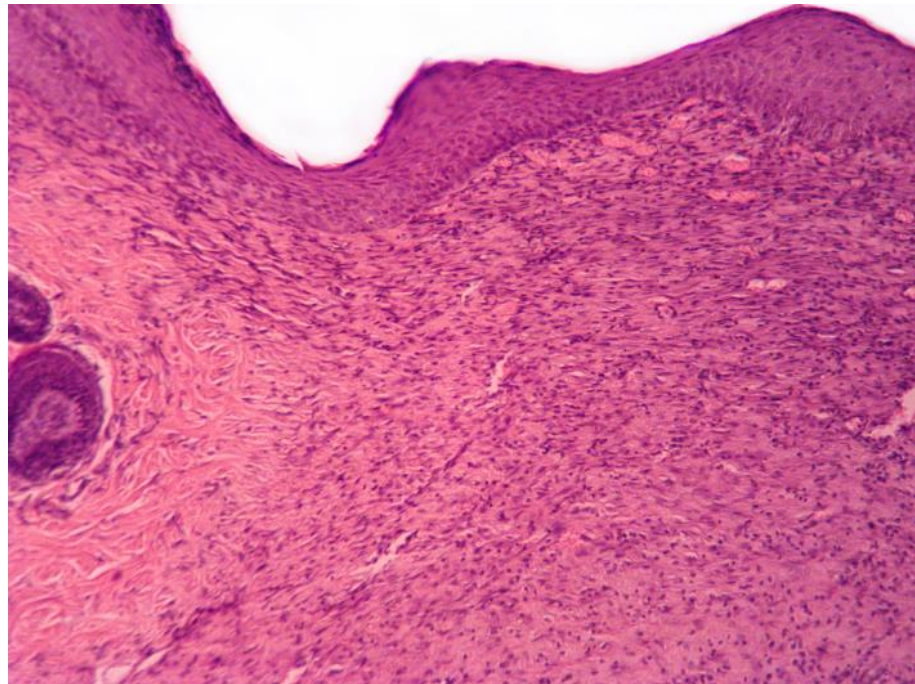


Рисунок 3.2.4 – Ділянка регенерата шкіри щура молодого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією на 21-ту добу дослідження. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. х 200

На 21-шу добу експерименту при ультрамікроскопічному дослідженні регенерата шкіри у щурів молодого віку із хронічною гіперглікемією формування повноцінної базальної мембрани ми не спостерігали. Базальні клітини були різних форм, розмірів та мали широкі міжклітинні проміжки.

Місцями міжклітинні сполучення були порушеними. Капіляри під епідермісом мали деформовані просвіти внаслідок значних вип'ячувань плазмалеми ендотеліоцитів у просвіт та тонкі стінки. Відзначалися розширенні міжендотеліальні пори. Фібробласти були малих розмірів, цитоплазма мала незначну кількість органел та об'єм. Колагенові волокна були різнонаправленого напрямку (рис. 3.2.5).

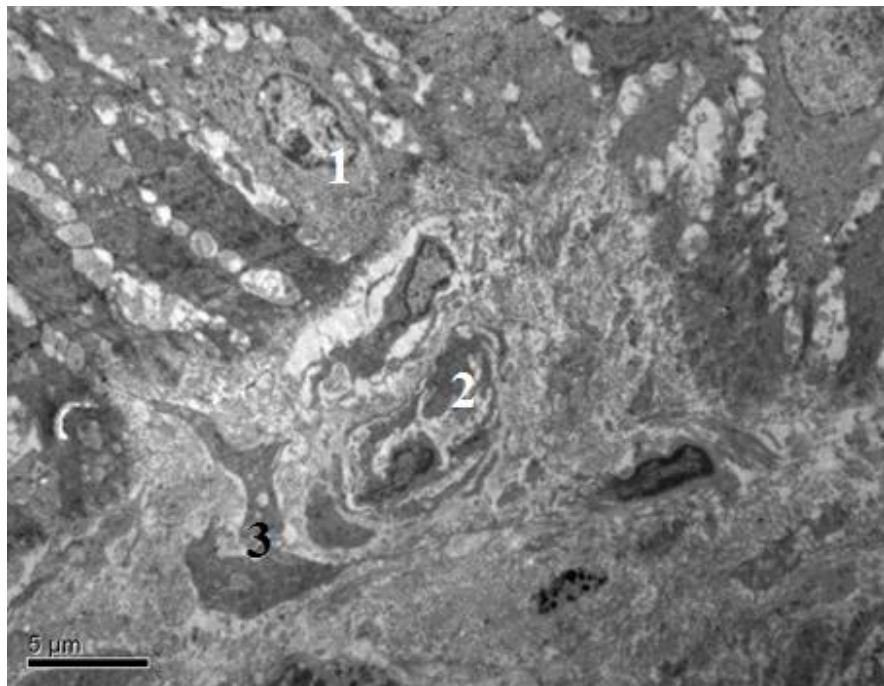


Рисунок 3.2.5 – Ділянка регенерата шкіри щура молодого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією на 21-ту добу дослідження. 1 – базаліоцити, 2 – капіляр, 3 – фібробласти. Контрастування уранілацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом

Товщина епідермісу на 21-шу добу експерименту у щурів молодого віку із хронічною гіперглікемією становила $(69,14 \pm 12,94)$ мкм, а товщина дерми була $(170,82 \pm 25,86)$ мкм. Площа ранової поверхні була $(50,43 \pm 12,85)$ мм², при швидкості заживлення рани $(7,23 \pm 2,33)$ мм²/добу. Щільність судин становила $(19,72 \pm 1,29)\%$ від усієї площі зрізу (рис. 3.2.6).

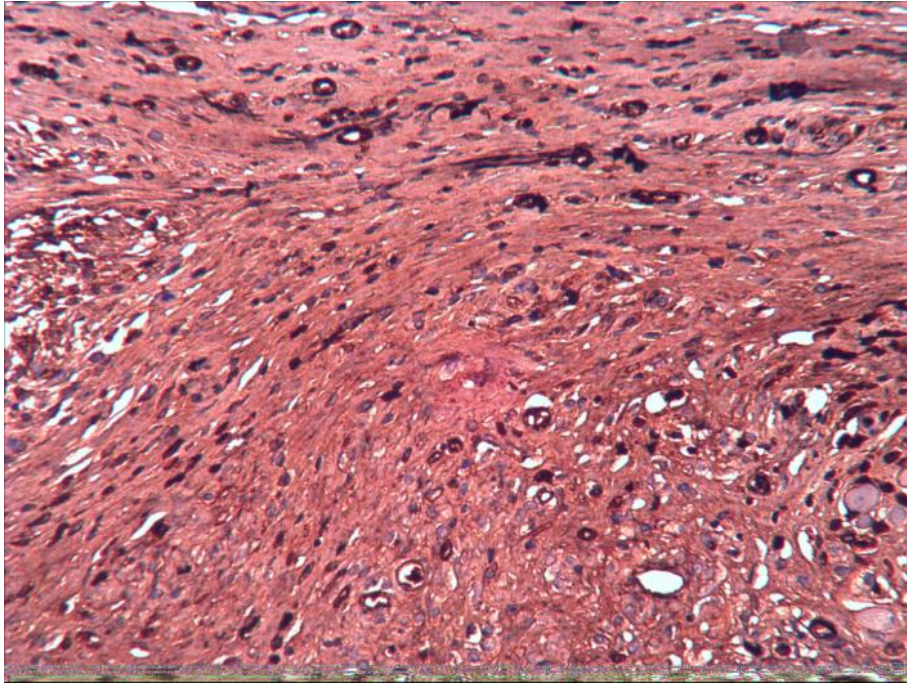


Рисунок 3.2.6 – Ділянка регенерата шкіри щура молодого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією на 21-ту добу дослідження. Імуногістохімічне дослідження рецепторів судини до CD34⁺. Зб. x 400

На 7-му добу експерименту у щурів зрілого віку із хронічною гіперглікемією місце травми було заповнено запальним інфільтратом та грануляційною тканиною. Спостерігалися лейкоцити, лімфоцити, макрофаги та залишки клітинного та тканинного детриту. Інтенсивність проростання кровоносними судинами була менша порівняно з контролем. При цьому, судини утворювали хаотичну мережу з усіх типів відразу. Щільність їх була набагато меншою, порівняно з контрольною групою. Вони були нестабільними, незрілими, не мали повноцінної базальної мембрани та перицитів, міжендотеліальні пори були значно збільшені. Крім того біля крайових ділянок дефекту під епідермісом спостерігалися значні крововиливи внаслідок неспроможності судинної стінки. Проростання нового епідермісу під струпом відбулось незначно. Базальні клітини ближче до цілісної шкіри мали однакові розміри та форму, щільно розміщувалися один біля одного. Ближче до центру дефекта базаліоцити були більших розмірів, мали велику

світлу цитоплазму. Місцями відзначалися ділянки руйнування контактів між клітинами. Також, у новоутвореному епідермісі базальна мембрана не була повноцінною. Повної диференціації кератиноцитів базального шару у шипуваті та зернисті клітини на 7-му добу експерименту не відбулося (рис. 3.2.7). Площа ранової поверхні на 7-му добу дослідження у щурів зрілого віку із хронічною гіперглікемією організму була $(131,84 \pm 19,11)$ мм², при швидкості заживлення рани $(3,12 \pm 0,82)$ мм²/добу. Щільність судин становила $(4,99 \pm 0,71)\%$ від усієї площі зрізу (рис. 3.2.8).

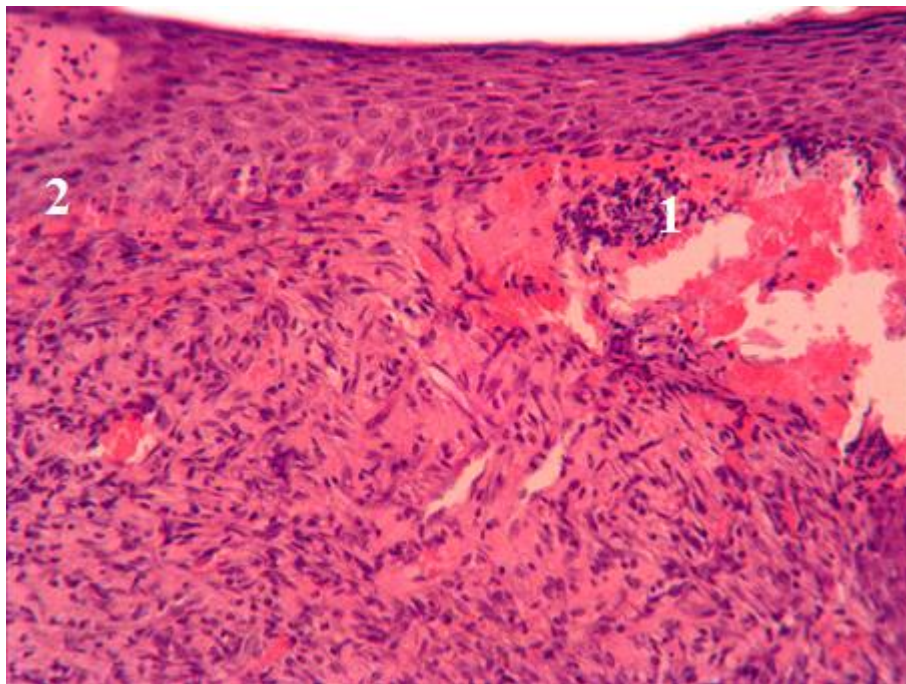


Рисунок 3.2.7 – Ділянка регенерата шкіри щура зрілого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією на 7-му добу дослідження. 1 – крововиливи, 2 – новий епідерміс. Забарвлення метиленовим-синім. Зб. х 400

На 14-ту добу експерименту у щурів зрілого віку із хронічною гіперглікемією заміщення місця дефекту епідермісом відбулось краще ніж у попередньому терміні дослідження. Але, клітини базального шару не мали міцного зчеплення, за рахунок чого утворювалися широкі міжклітинні проміжки та базаліоцити розміщувалися без певного порядку. Утворення повноцінної базальної мембрани не відбулось, внаслідок чого спостерігалось

проникнення базальних клітин у товщу нижче лежачої сполучної тканини. Крім того на межі між епідермісом та дермою спостерігалися капіляри із зруйнованими стінками та локальні крововиливи. У цих місцях базальний шар був порушений. Між клітинами шипуватого та зернистого шарів чіткої межі не прослідковувалося. Між шипуватими кератиноцитами спостерігалися нейтрофіли та залишки зруйнованих клітин. Зернистий шар був утворений малою кількістю зернистих клітин, які руйнуючись формували роговий шар (рис. 3.2.9).

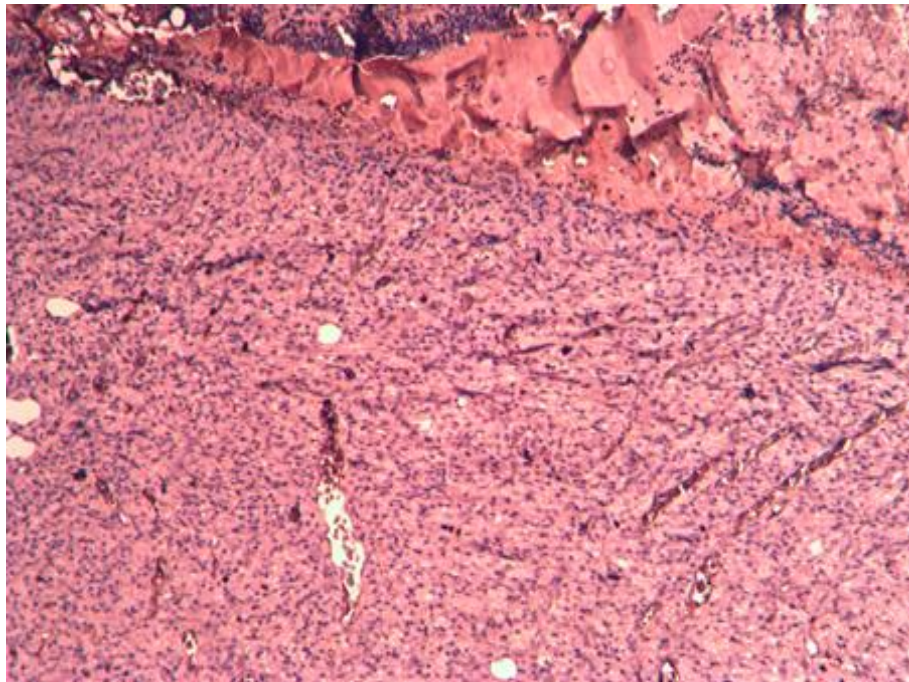


Рисунок 3.2.8 – Ділянка регенерата шкіри щура зрілого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією на 7-му добу дослідження. Імуногістохімічне дослідження рецепторів судини до CD34⁺. Зб. х 400

Товщина епідермісу на 14-ту добу експерименту у щурів зрілого віку із хронічною гіперглікемією становила ($18,39 \pm 3,77$) мкм, а товщина дерми була ($216,65 \pm 33,99$) мкм. Площа ранової поверхні була ($98,95 \pm 16,64$) мм², при швидкості заживлення рани ($4,69 \pm 1,43$) мм²/добу. Щільність судин становила ($10,87 \pm 2,62$)% від усієї площі зрізу (рис. 3.2.10).

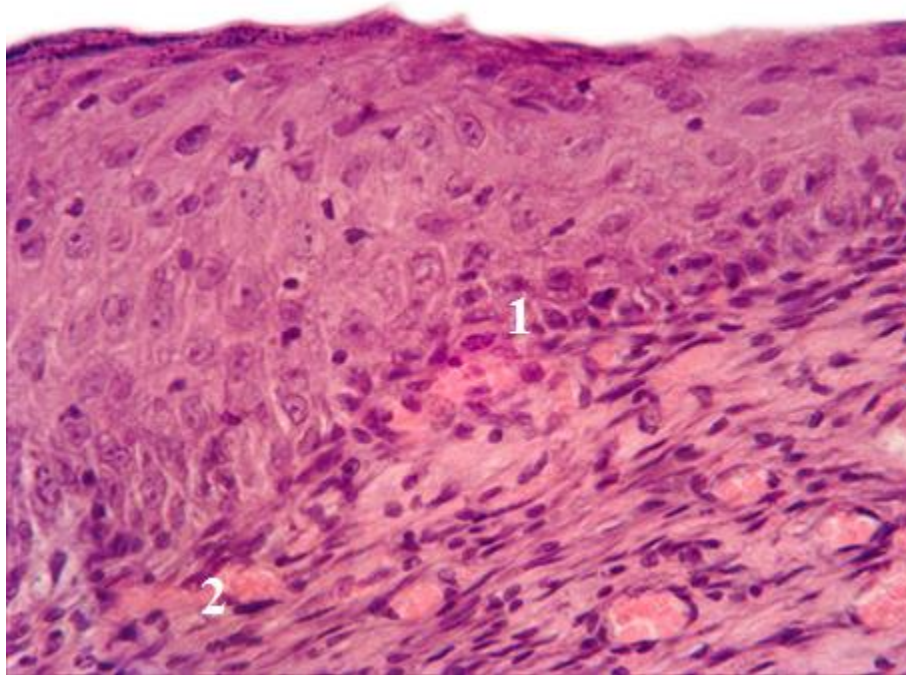


Рисунок 3.2.9 – Ділянка регенерата шкіри щура зрілого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією на 14-ту добу дослідження. 1 – базаліоцити, 2 – судини. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. х 400

При ультрамікроскопічному дослідженні регенерату шкіри у щурів зрілого віку із хронічною гіперглікемією організму на 14-ту добу експерименту базальні клітини епідермісу мали різні розміри форми. Міжклітинні контакти між ними частково були зруйнованими. Цитоплазма шипуватих кератиноцитів містила скупчення гранул глікогену, пучки тонких кератинових філаментів. Десмосоми між клітинами частково були зруйнованими. Частина клітин мала пікнотичні ядра та вакуолізовану цитоплазму. Клітини зернистого шару містили невелику кількість гранул кератогіаліну. У цитоплазмі клітин, також спостерігалися короткі пучки тонофіламентів. Частина десмосом була зруйнованою. Міжклітинні проміжки були роширеними, містили електроннощільні гранули та мембраноподібні структури. Роговий шар містив маси кератину та сформовані зерна кератогіаліну. Спостерігалися рогові клітини зі наявними пікнотичними ядрами та залишками органел. Між шипуватими кератиноцитами спостерігалися сегментоядерні нейтрофіли із електроннощільними гарнулами цитоплазми (рис. 3.2.11 та 3.2.12).

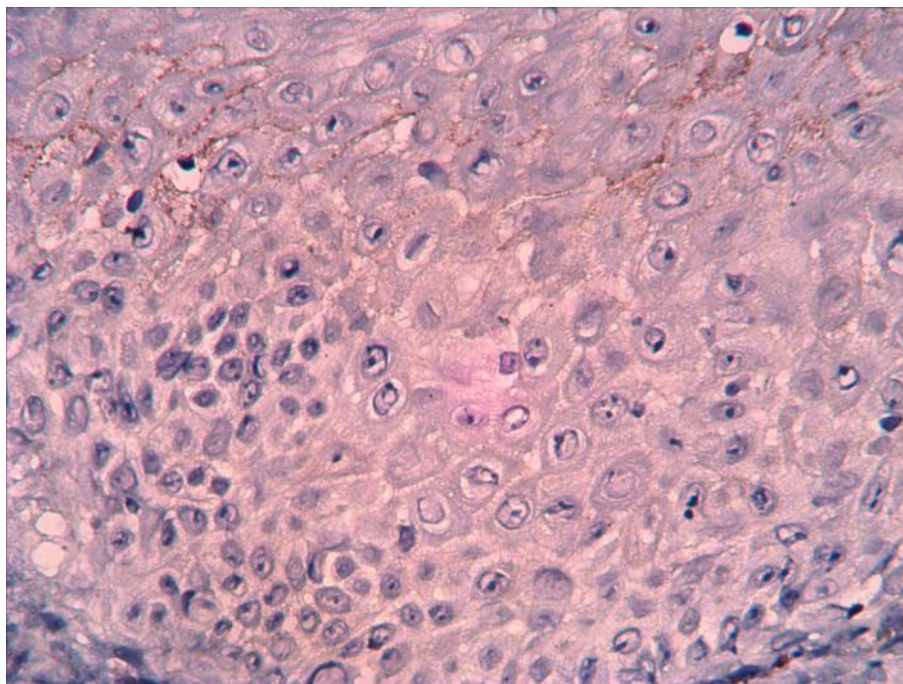


Рисунок 3.2.10 – Ділянка регенерата шкіри щура зрілого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією на 14-ту добу дослідження. Імуногістохімічне дослідження рецепторів судини до CD34⁺. Зб. х 400

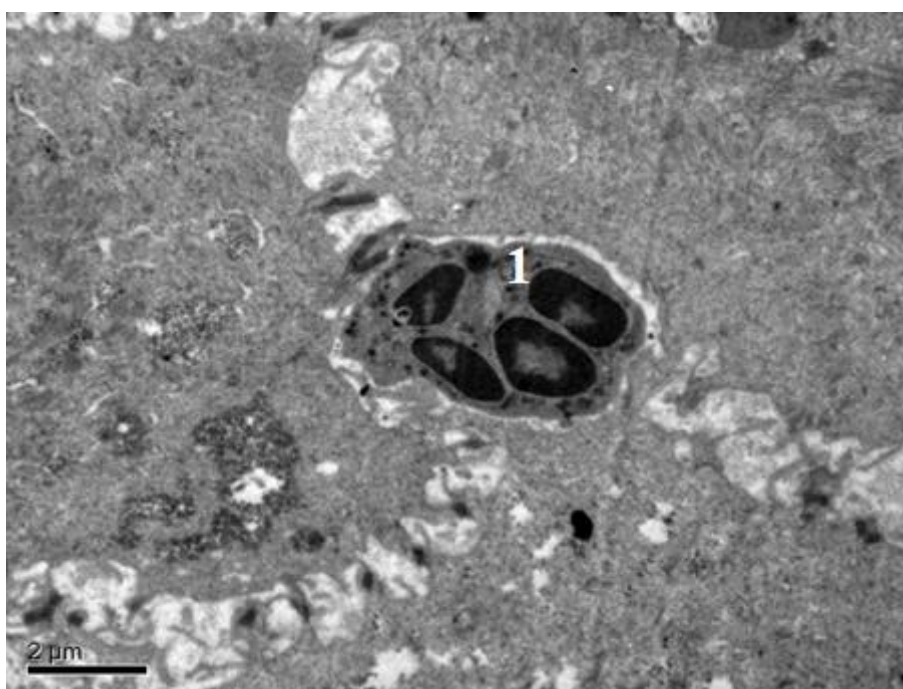


Рисунок 3.2.11 – Ділянка регенерата шкіри щура зрілого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією на 14-ту добу дослідження. 1 – нейтрофіл. Контрастування уранілацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом

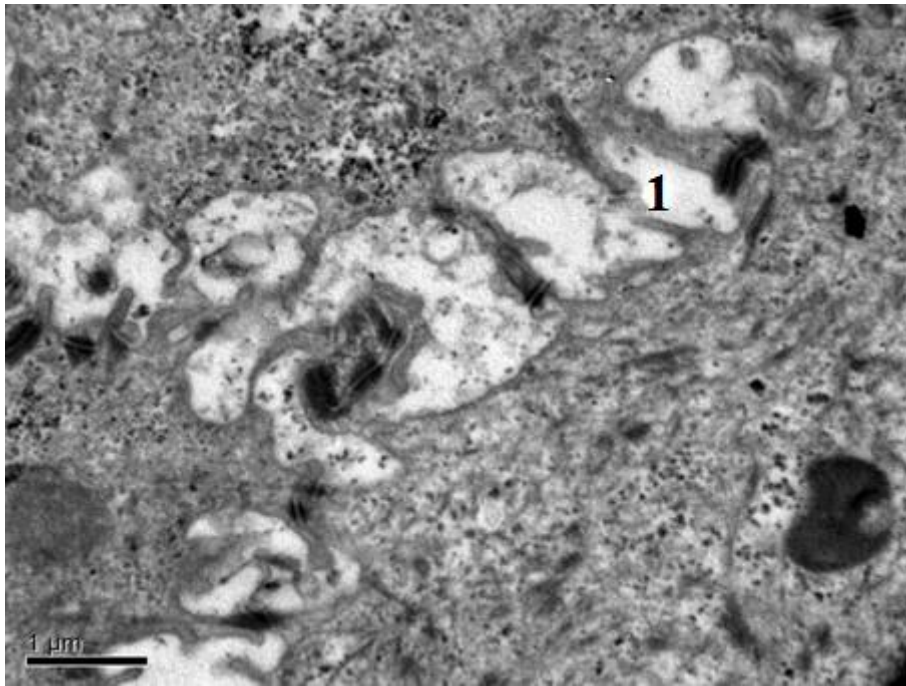


Рисунок 3.2.12 – Ділянка регенерата шкіри щура зрілого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією на 14-ту добу дослідження. 1 – зруйновані десмосоми. Контрастування уранілацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом

На 21-шу добу дослідження рана була заповнена новим епідермісом. Однак, він був неоднорідної товщини. Базальна мембрана не була повноцінною, за рахунок чого базальні клітини проникали у товщу нижче лежачої дерми та скупчувалися під нею. Шипуватий шар містив два, три, а зернистий – один, два ряди корнеоцитів. Цитоплазма зернистих клітин мала невелику кількість гранул. Спостерігалися концентричні агрегати кератина. У корнеоцитах рогового шара спостерігалися збережені ядра та органели клітин. При цьому товщина рогового шара була різною. Колагенові волокна у дермі мали однаправлений напрямок, фібробласти розміщувалися вздовж волокон. Щільність судин була набагато меншою, порівняно з контрольною групою. Крім того у товщі новоутвореної дерми відмічались поодинокі залози та волосяні фолікули (рис. 3.2.13 та 3.2.14).

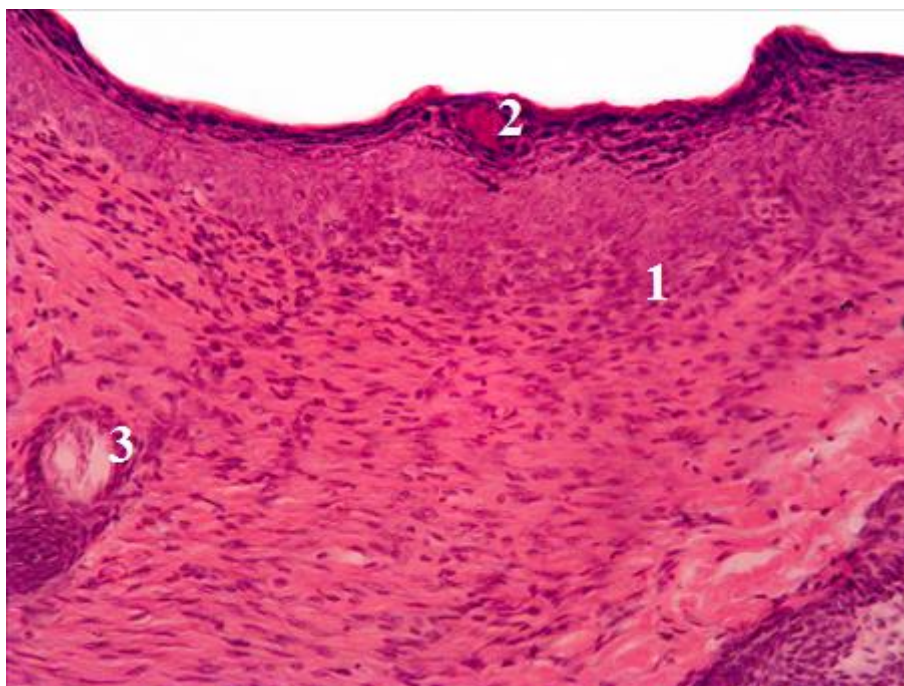


Рисунок 3.2.13 – Ділянка регенерата шкіри щура зрілого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією на 21-шу добу дослідження. 1 – базаліоцити, 2 – концентричні агрегати кератина, 3 – шерстяний фолікул. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. х 200

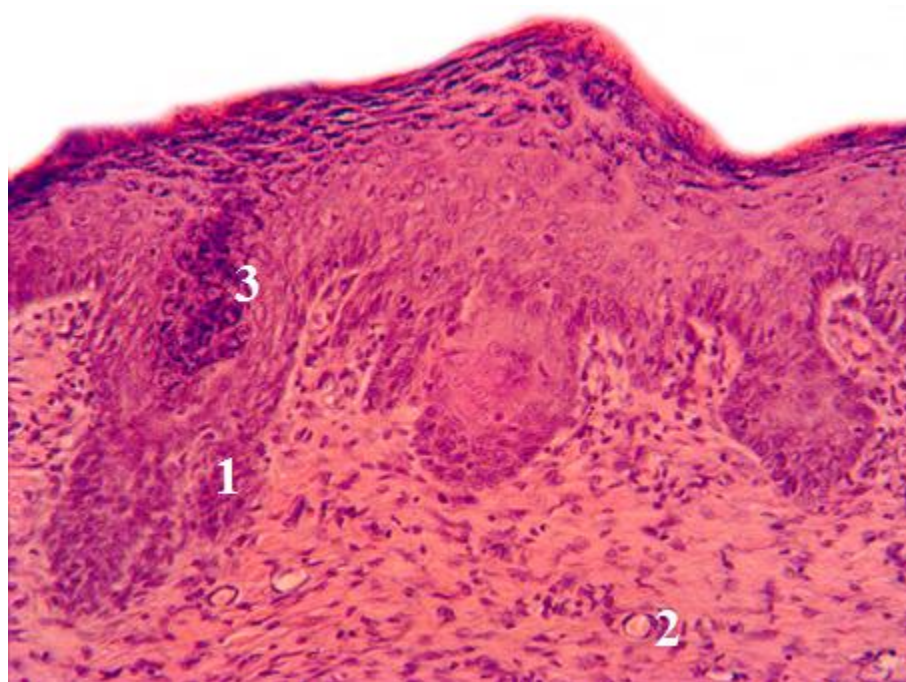


Рисунок 3.2.14 – Ділянка регенерата шкіри щура зрілого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією на 21-шу добу дослідження. 1 – проростання епітелію у товщу дерми, 2 – капіляр, 3 – скупчення гарнул кератогіаліну. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. х 400

Товщина епідермісу на 21-шу добу експерименту у щурів зрілого віку із хронічною гіперглікемією становила ($76,08 \pm 9,31$) мкм, а товщина дерми була ($325,34 \pm 47,55$) мкм. Площа ранової поверхні була ($45,13 \pm 6,05$) мм², при швидкості заживлення рани ($7,69 \pm 1,97$) мм²/добу. Щільність судин становила ($14,06 \pm 2,89$)% від усієї площі зрізу (рис. 3.2.15).

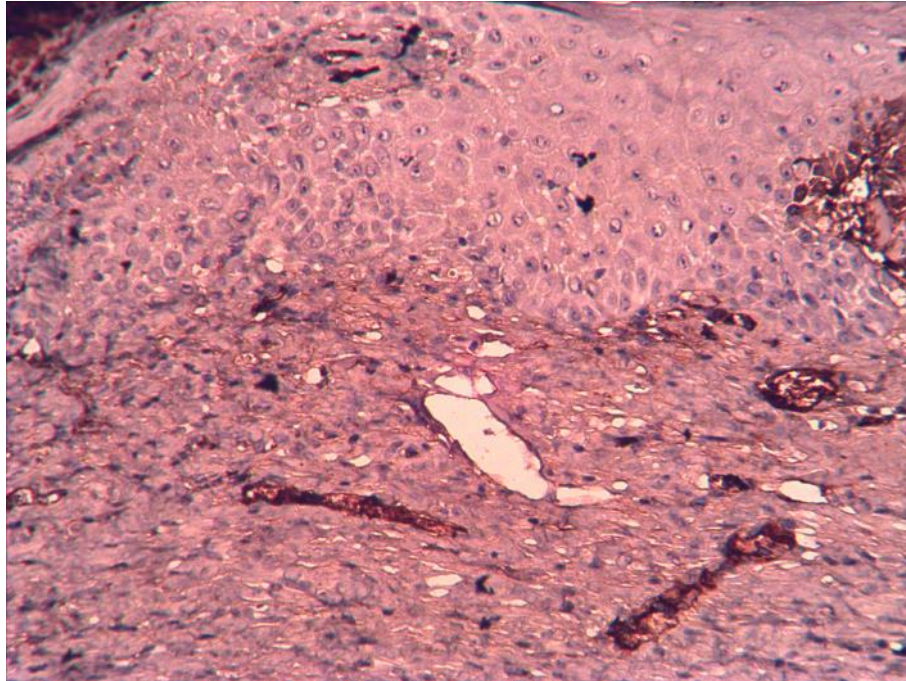


Рисунок 3.2.15 – Ділянка регенерата шкіри щура зрілого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією на 21-шу добу дослідження. Імуногістохімічне дослідження рецепторів судини до CD34⁺. Зб. х 400

На 7-му добу експерименту у щурів старечого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією місце дефекту було заповнено запальним інфільтратом. У більш глибоких шарах спостерігався розвиток грануляційної тканини. Але, кількість судин мікроциркуляторного русла у ній була малою. Крім того для тварин старечого віку спостерігався розвиток дегенеративно-дистрофічних змін у ділянках інтактної шкіри, які межували з ранною. У дермі відбувався лізис аморфного матриксу та пучків колагенових волокон, внаслідок чого втрачалось чітке розмежування сітчастої та сосочкової частин дерми. Збільшувалась кількість жирових клітин та відбувалось руйнування волосяного апарату шкіри. Утворення нового епідермісу не було виявлено

(рис. 3.2.16). Площа ранової поверхні складала $(137,83 \pm 7,76)$ мм², а швидкість заживлення рани $(1,94 \pm 0,59)$ мм²/добу. Щільність судин становила $(3,35 \pm 1,04)$ % від усієї площі зрізу (рис. 3.2.17).

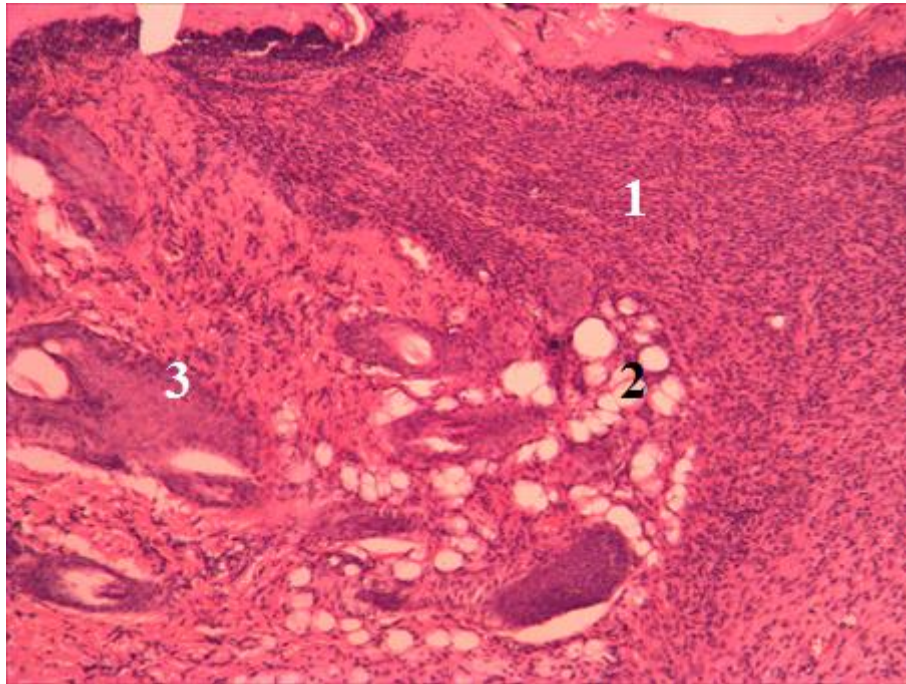


Рисунок 3.2.16 – Ділянка регенерата шкіри щура старечого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією на 7-му добу дослідження. 1 – запальний інфільтрат, 2 – ліпоцити, 3 – влосяний апарат шкіри. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. х 200

На 14-ту добу дослідження рана у щурів старечого віку із хронічною гіперглікемією була заміщена сполучною тканиною та частково новоутвореним епідермісом. Однак, у епідерміс був неповноцінним. Ширина його коливалася у широких межах. Було характерним явище папіломатозу. Крім того у верхніх його шарах спостерігалися значні місця просвітлення без чіткої структури клітин, що свідчило про передчасне руйнування клітин – порушення процесів кератинізації. Базальна мембрана локально була неповноцінною. Відбувалось мігрування клітин базального шару у товщу нижче лежачої сполучної тканини. У епідермісі спостерігалось утворення порожнин вистелених з середини одним шаром клітин. Дерма була представлена щільною сполучною тканиною. Щільність судин була нерівномірною, їхні просвіти були широкими. У частині капілярів стінки були неповноцінними. Артеріоли мали потовщенні оболонки (рис. 3.2.18).

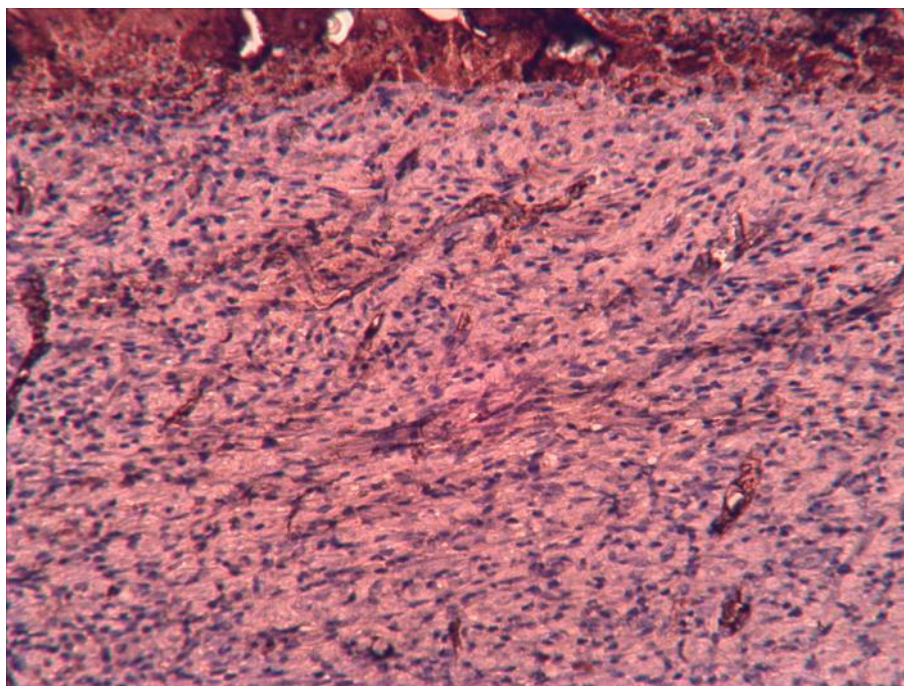


Рисунок 3.2.17 – Ділянка регенерата шкіри щура старечого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією на 7-му добу дослідження. Імуногістохімічне дослідження рецепторів судини до CD34⁺. Зб. х 400

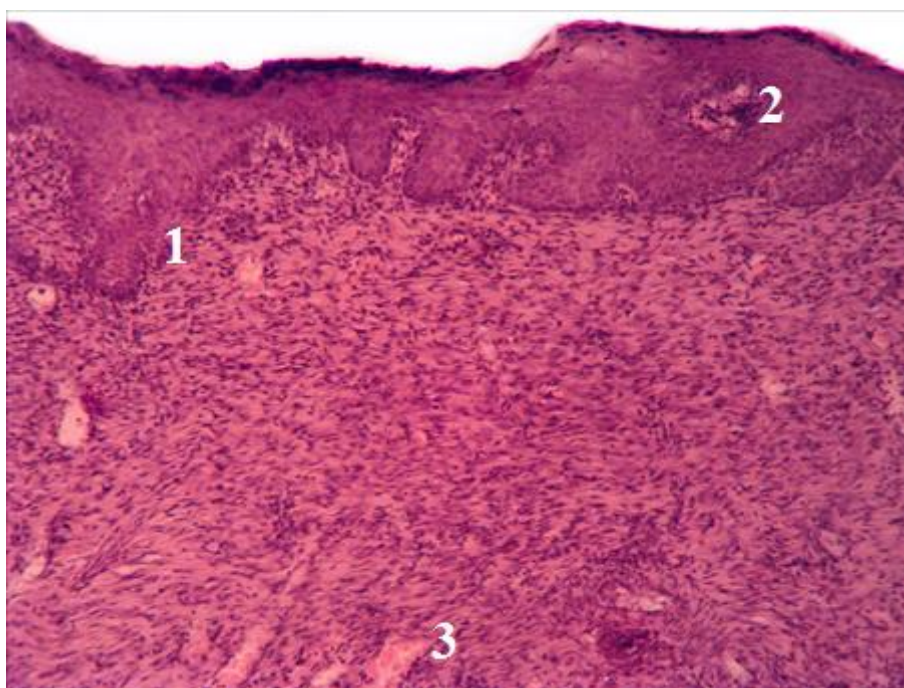


Рисунок 3.2.18 – Ділянка регенерата шкіри щура старечого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією на 14-ту добу дослідження. 1 – проростання епітелію у товщу дерми, 2 – порожнина, 3 – судина. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. х 200

Товщина епідермісу на 14-ту добу експерименту у старечого віку із хронічною гіперглікемією становила ($12,31 \pm 3,39$) мкм, а товщина дерми була ($140,62 \pm 40,34$) мкм. Площа ранової поверхні була ($111,31 \pm 7,69$) мм², при швидкості заживлення рани ($3,79 \pm 0,84$) мм²/добу. Щільність судин становила ($7,51 \pm 0,81$)% від усієї площі зрізу.

При ультрамікроскопічному дослідженні епідермісу регенерата на 14-ту добу у щурів старечого віку із хронічною гіперглікемією спостерігалися місця зруйнованих міжклітинних зв'язків, внаслідок чого утворювалися великі порожнини. Крім того у міжклітинних проміжках спостерігалися залишки дилатованих еритроцитів. У корніоцитах відмічалися збережені ядра, залишки клітинних органел. Утворення повноцінних рогових лусочок не відбулося (рис. 3.2.19).

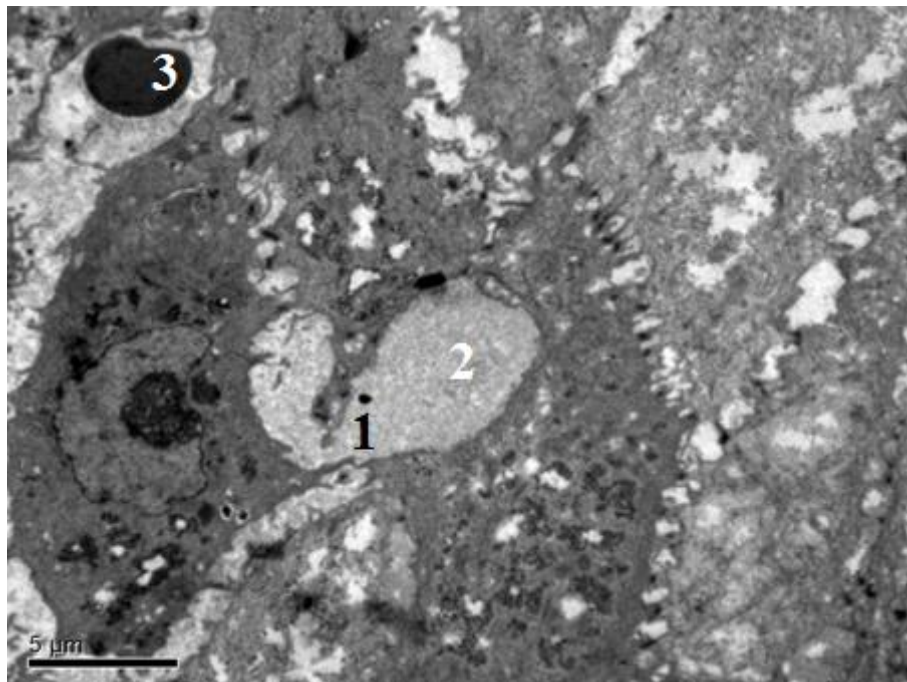


Рисунок 3.2.19 – Ділянка регенерата шкіри щура старечого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією на 14-ту добу дослідження. 1 – зруйновані міжклітинні зв'язки, 2 – порожнина, 3 – еритроцит. Контрастування уранілацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом

На 21-шу добу дослідження у щурів старечого віку із хронічною гіперглікемією повністю затягнення рани новим епідермісом не відбулось. Утворений епідерміс не мав повноцінно-цілісної базальної мембрани, внаслідок чого спостерігалось інтенсивне мігрування клітин у товщу дерми. Ці клітини утворювали цілі безформні острівці. Тому чіткої межі між клітинами базального та шипуватого шарів не виявлялося. При цьому, корнеоцити шипуватого та зернистого шарів морфологічно правильно утворювали свої шари. Вони були тонкими, склалися з двох, інколи з трьох рядів клітин. Роговий шар, в основному не містив збережених ядер. Однак, спостерігалися залишки зруйнованих органел, гранул. Сполучення між корнеоцитами не було міцним. Разом з тим між клітинами епідермісу та, особливо, у верхніх шарах новоутвореної дерми спостерігалися лімфоцити та сегментоядерні нейтрофіли (рис. 3.2.20).

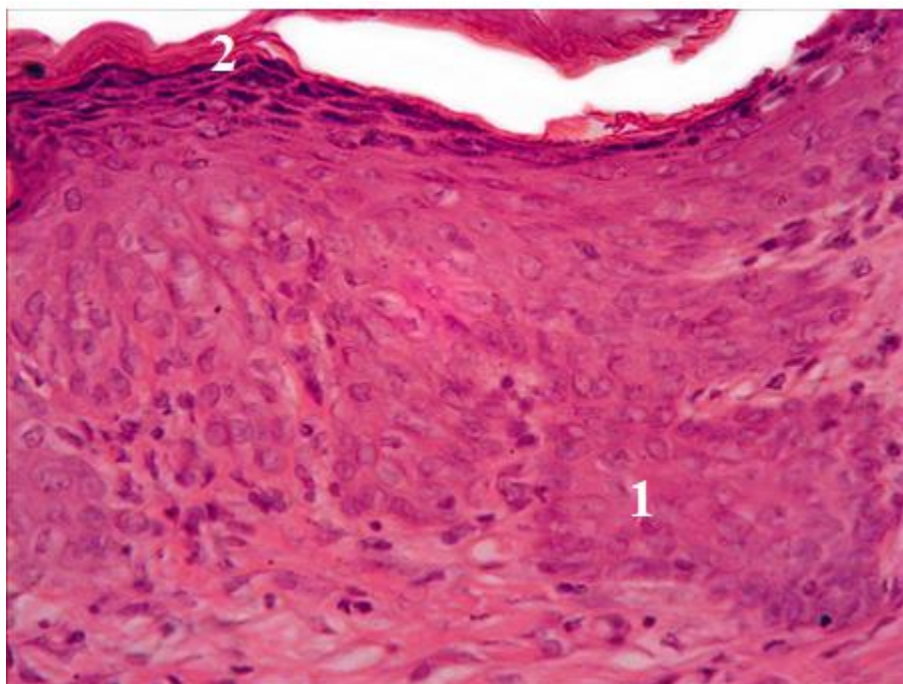


Рисунок 3.2.20 – Ділянка регенерата шкіри щура старечого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією на 21-шу добу дослідження. 1 – острівці кератиноцитів, 2 – роговий шар. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. х 400

Товщина епідермісу на 21-шу добу дослідження у щурів старечого віку із хронічною гіперглікемією становила ($44,92 \pm 3,45$) мкм, а товщина дерми була ($254,25 \pm 39,79$) мкм. Площа ранової поверхні була ($72,69 \pm 9,95$) мм², при швидкості заживлення рани ($5,52 \pm 1,77$) мм²/добу. Щільність судин становила ($9,44 \pm 2,54$)% від усієї площі зрізу (рис. 3.2.21).

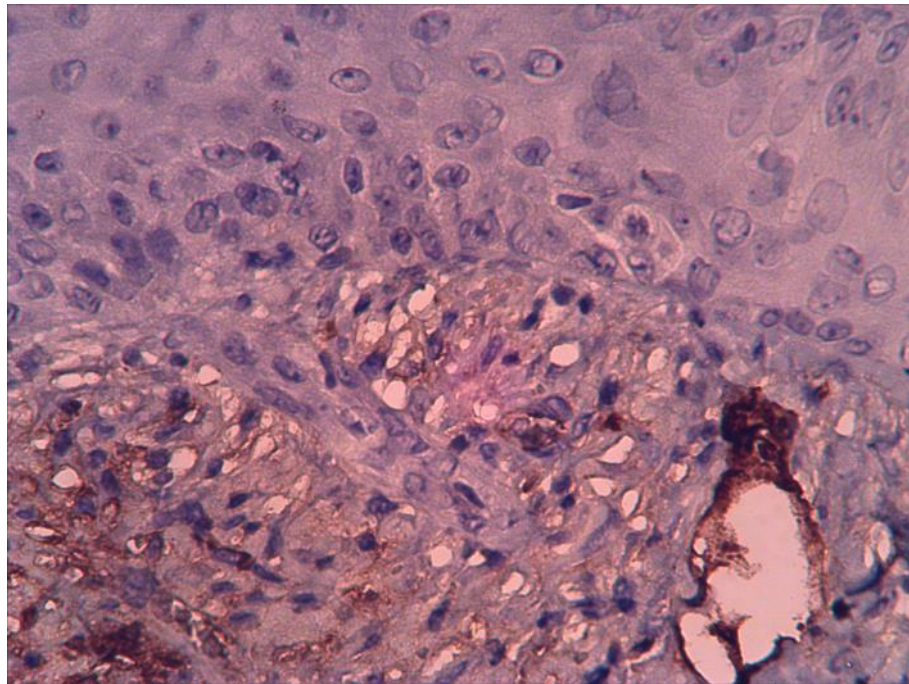


Рисунок 3.2.21 – Ділянка регенерата шкіри щура старечого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією на 21-шу добу дослідження. Імуногістохімічне дослідження рецепторів судини до CD34⁺. Зб. х 400

На 21-шу добу експерименту при ультрамікроскопічному дослідженні регенерату шкіри щурів старечого віку із змодельованою гіперглікемією ми не виявили повноцінної базальної мембрани. Базаліоцити мали здебільшого видовжену, іноді деформовану форму, цитоплазма містила велику кількість везикул та ядра із гетерохроматином. Міжклітинні контакти, у більшості були розірваними. Спостерігалися зруйновані фібробласти та ендотеліоцити зі пікнотичними ядрами (рис. 3.2.22).

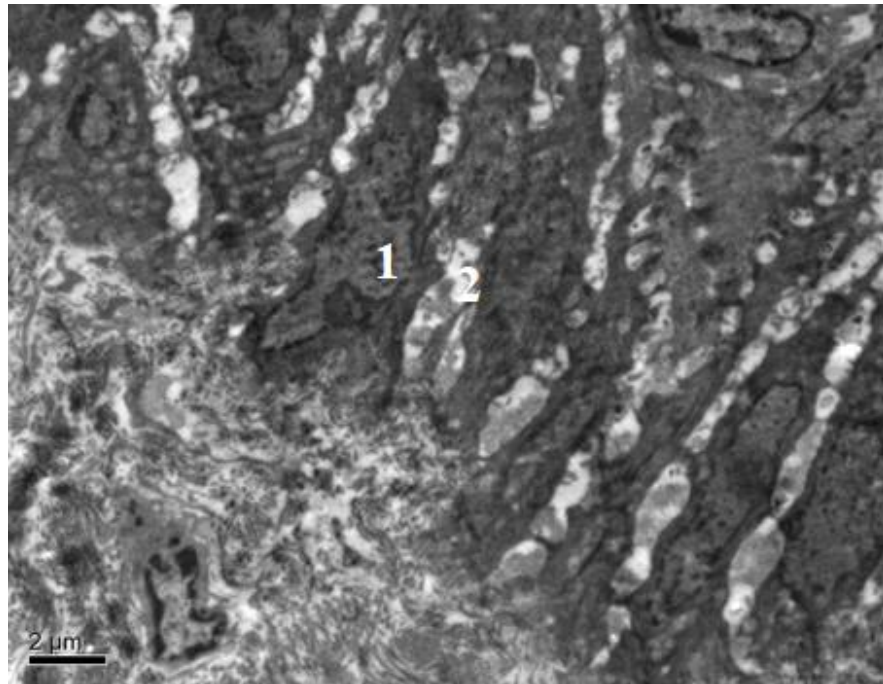


Рисунок 3.2.22 – Ділянка регенерата шкіри щура старечого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією на 21-шу добу дослідження. 1 – базаліоцити, 2 – міжклітинні контакти. Контрастування уранілацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом

Отже, хронічна гіперглікемія призводить до сповільнення процесів епітелізації, кератинізації епідермісу, ангиогенезу та затримує реорганізацію новоутвореної дерми у щурів усіх вікових груп. Затримується елімінація запального інфільтрата у регенератах шкіри. Епітелізація ран за умов впливу хронічної гіперглікемії краще відбулася у щурів молодого та зрілого віку, що обумовлене репаративними та компенсаторно-приспосувальними механізмами та віковим аспектом. Площа ранової поверхні у тварин зрілого віку у кінці експерименту зменшилась на 70,63% ($p < 0,001$), а у молодих тварин – на 68,68% ($p < 0,001$) від початкової завданої площі рани. У тварин старечого віку із хронічною гіперглікемією регенерація шкіри відбулася найгірше, площа рани зменшилася у кінці дослідження на 52,004% ($p < 0,001$) відповідно контролю. На ранніх термінах дослідження швидкість загоєння ран у контрольних групах була більше, ніж у групах із хронічною гіперглікемією.

На 21-шу добу в обох групах із хронічною гіперглікемією швидкість загоєння рани виросла, а у груп контролю, навпаки, зменшилася. У регенератах шкіри тварин прогресивного та стабільного віку із хронічною гіперглікемією формування повноцінної базальної мембрани ми не виявили, внаслідок чого кератиноцити проникали у товщу сполучної тканини дерми. Чіткого формування на сосочковий та сітчастий шари у дермі не було виявлено. У нижчих шарах сполучна тканина містила осередки запального інфільтрату. Утворення волосяних фолікулів та сальних залоз ми не спостерігали. У зернистому шарі ми спостерігали концентричні агрегати кератину. У щурів старечого віку із хронічною гіперглікемією на пізніх термінах дослідження між клітинами епідермісу та у верхніх шарах дерми спостерігалися лімфоцити та сегментоядерні нейтрофіли. Роговий шар містив залишки зруйнованих органел, сполучення між корнеоцитами не було міцним.

Основні результати цього розділу опубліковані у працях [277-286].

3.3 Структурні особливості регенерації шкіри у щурів молодого, зрілого та старечого віку за умов гіперглікемії та при застосуванні збагаченої тромбоцитами плазми

На 7-му добу дослідження у щурів молодого віку із хронічною гіперглікемією, яким вводили у краї рани збагачену тромбоцитами плазму ми спостерігали добре проростання епідермісу до центру рани під геморагічною кірочкою. Клітини базального шару розміщувалися перпендикулярно базальної мембрани, мали однакові розміри. Але під струпом базаліоцити були менших розмірів та розміщувалися здебільшого паралельно базальної мембрани. Епітелій під кіркою був тонким, повноцінної кератинізації не спостерігалось. У ділянках, які вже були очищені від некротичного струпа, епітелій був набагато товстішим. Клітинні шари добре простежувалися. Але, все ж таки, у шипуватому шарі спостерігалися клітини різних розмірів, деякі містили пікнотичні ядра та ущільнену цитоплазму. Шар зернистих клітин був утворений одним рядом кератиноцитів, частина яких була зруйнованою. Роговий пласт був тонким, у ньому спостерігалися включення гранул кератогіаліну та залишки клітин (рис. 3.3.1-3.3.2).

При ультрамікроскопічному дослідженні регенерату шкіри тварин молодого віку із хронічною гіперглікемією, яким вводили збагачену тромбоцитами плазму на 7-му добу експерименту, ми спостерігали зруйновані тромбоцити із пікнотичними ядрами, багаточисленими включеннями та везикулами. Відмічались нейтрофільні гранулоцити з великою кількістю електронно-щільними гранулами, поодинокими мітохондріями. Фібробласти мали великі ядра із скупченнями гетерохроматину, дилатованими цистернами ендоплазматичного ретикулуму в оточенні різнонапрвлених пучків колагенових волокон (рис. 3.3.2).

Площа ранової поверхні була $(102,59 \pm 8,38)$ мм², при швидкості заживлення рани $(7,89 \pm 0,97)$ мм²/добу. Щільність судин становила $(7,83 \pm 0,79)\%$ від усієї площі зрізу (рис. 3.3.3).

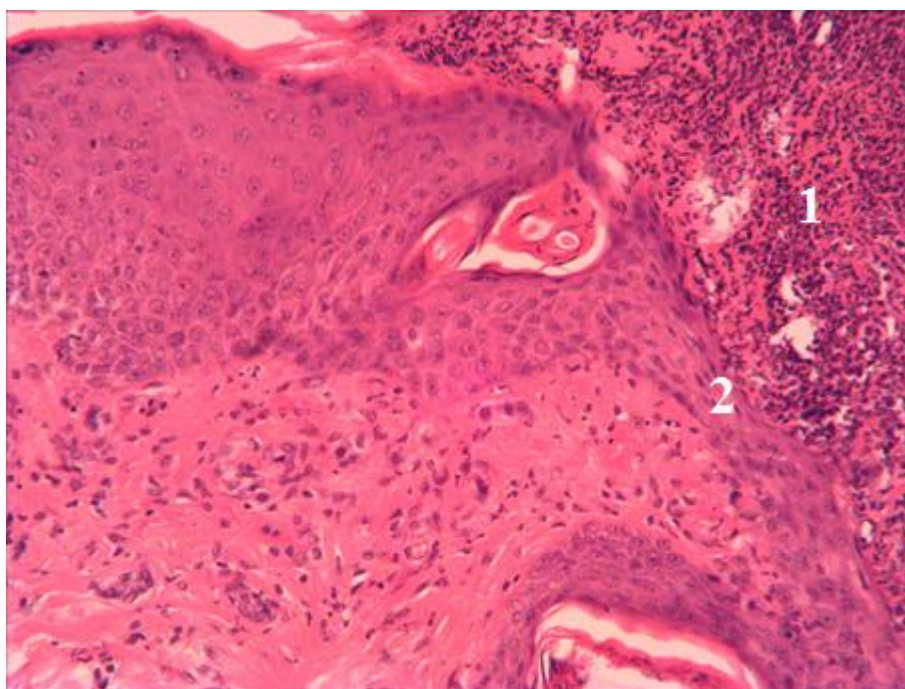


Рисунок 3.3.1 – Ділянка регенерата шкіри щура молодого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією та застосуванням ЗТП на 7-му добу дослідження. 1 – геморагічна кірка, 2 – новий епідерміс. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. х 400

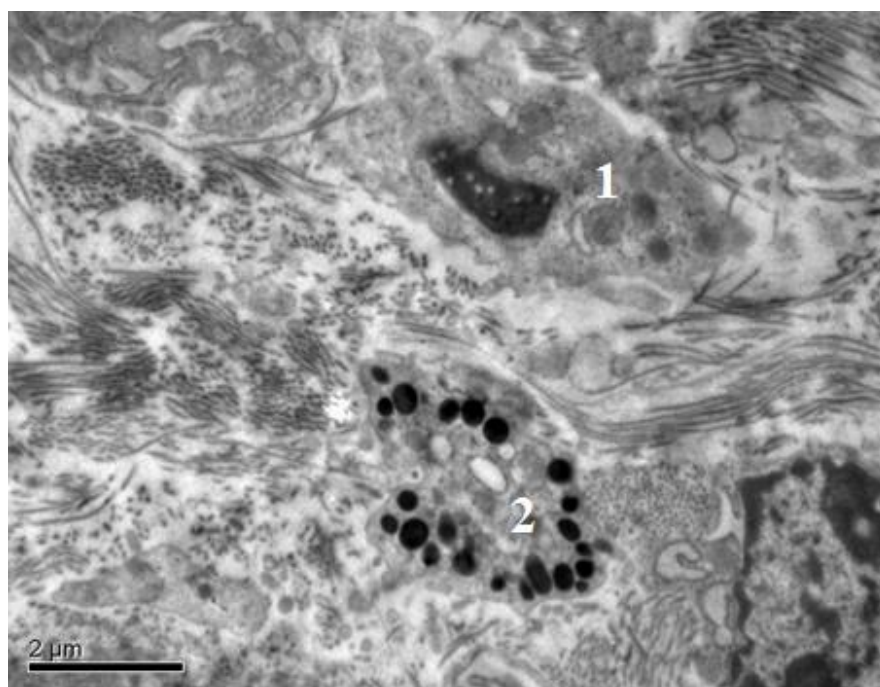


Рисунок 3.3.2 – Ділянка регенерата шкіри щура молодого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією та застосуванням ЗТП на 7-му добу дослідження. 1 – тромбоцити, 2 – електронно-щільні гранули. Контрастування ураніацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом

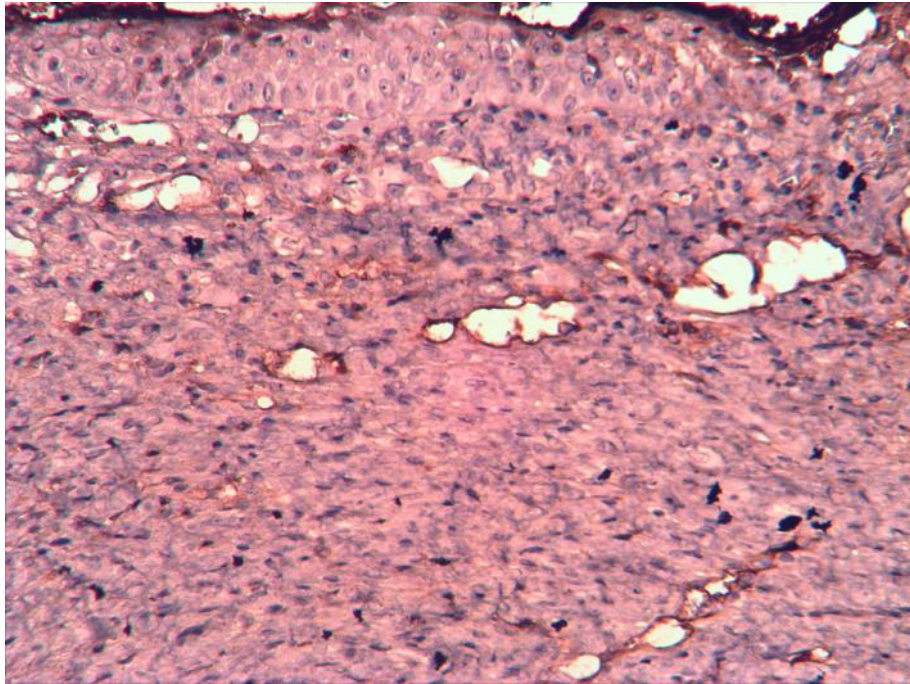


Рисунок 3.3.3 – Ділянка регенерата шкіри щура молодого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією та застосуванням ЗТП на 7-му добу дослідження. Імуногістохімічне дослідження рецепторів судини до CD34⁺. Зб. х 200

На 14-ту добу дослідження регенерата шкіри щурів молодого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією та застосуванням ЗТП епітелізація відбулась не повністю. Центральна частина дефекту не була вистелена новим епітелієм. У перикрайових ділянках рани у базальному шарі епітелію ми спостерігали значну кількість мітозів. При цьому, базаліоцити мали витягнуту форму. Проміжки між клітинами були широкими. Повноцінної базальної мембрани ми не виявили. Шипуватий пласт налічував чотири шари клітин. Ближче до поверхні епітелію кератиноцити мали більш щільне сполучення між собою, ніж біля базального шара. Зернистий шар налічував один ряд клітин, які містили незначну кількість гранул кератогіаліну. Під епідермісом ми спостерігали фібробласти витягнутої, інколи поліморфної форми у товщі тонких колагенових волокон, судини із різним діаметром просвітів. Також, відзначалися макрофаги та лімфоцити (рис. 3.3.4).

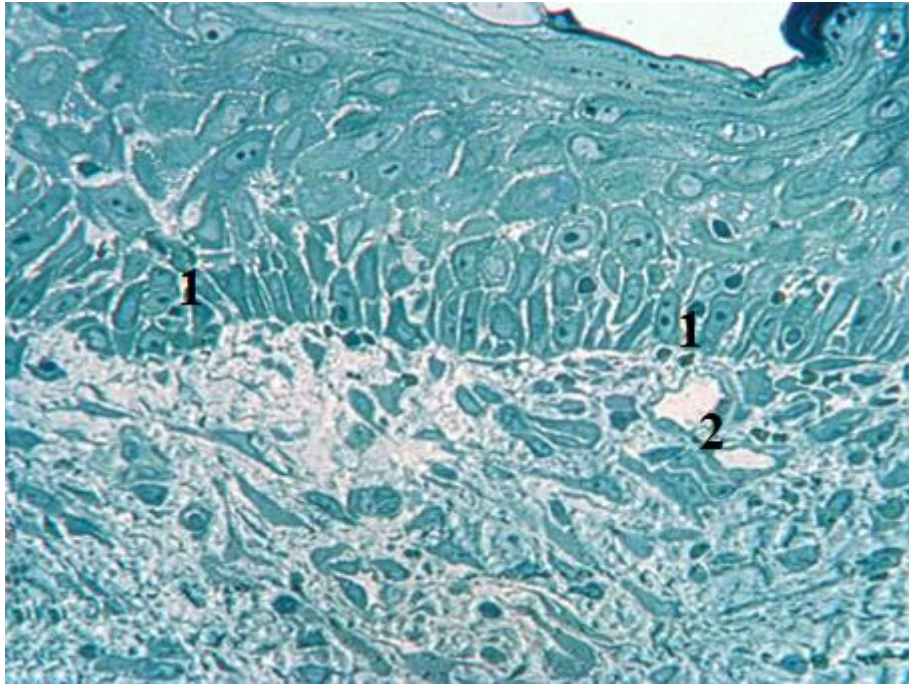


Рисунок 3.3.4 – Ділянка регенерата шкіри щура молодого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією та застосуванням ЗТП на 14-ту добу дослідження. 1 – мітози базаліоцитів, 2 – просвіт судини. Забарвлення метиленовим синім. Зб. x 400

При ультрамікроскопічному дослідженні на 14-ту добу експерименту у щурів молодого віку із хронічною гіперглікемією, яким вводили збагачену тромбоцитами плазму, ми спостерігали фібробласти, цитоплазма, яких містила велику кількість дрібних везикул та електронно-щільних гранул. Мітохондрії мали великі розміри, округлу форму та світлий матрикс. Комплекс Гольджі містив багаточисленні трансмембранні везикули, а цистерни ендоплазматичного ретикулума були роширеними, налічували на своїй поверхні велику кількість рибосом, мали звивисту форму (рис. 3.3.5).

Товщина епідермісу на 14-ту добу дослідження у щурів молодого віку із хронічною гіперглікемією та застосування ЗТП становила $(26,53 \pm 5,51)$ мкм, а товщина дерми була $(155,26 \pm 31,67)$ мкм. Площа ранової поверхні була $(59,29 \pm 10,41)$ мм², при швидкості заживлення рани $(6,19 \pm 1,58)$ мм²/добу. Щільність судин становила $(15,48 \pm 1,11)\%$ від усієї площі зрізу (рис. 3.3.6).

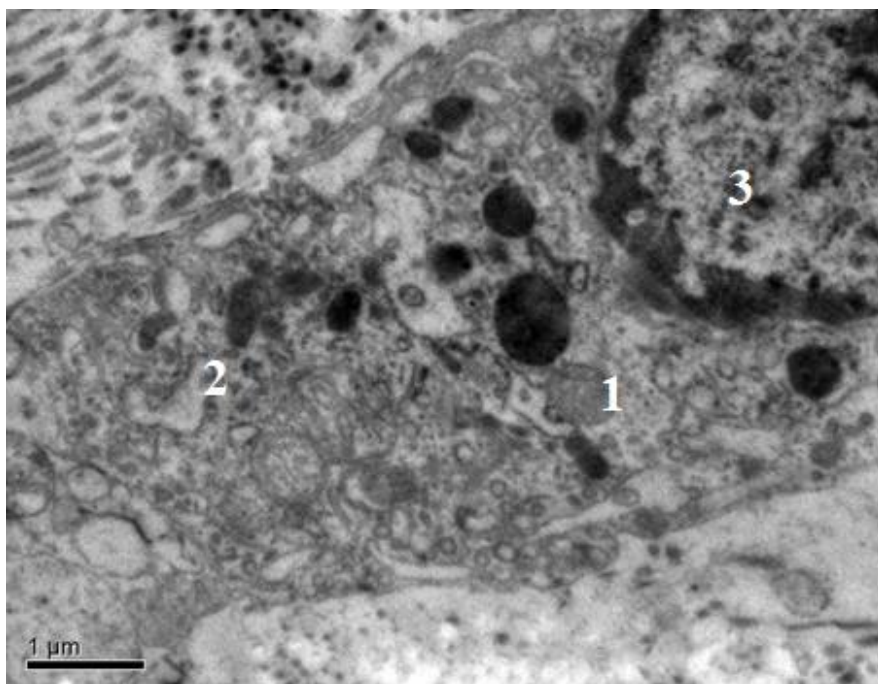


Рисунок 3.3.5 – Ділянка регенерата шкіри щура молодого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією та застосуванням ЗТП на 14-ту добу дослідження. Контрастування уранілацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом

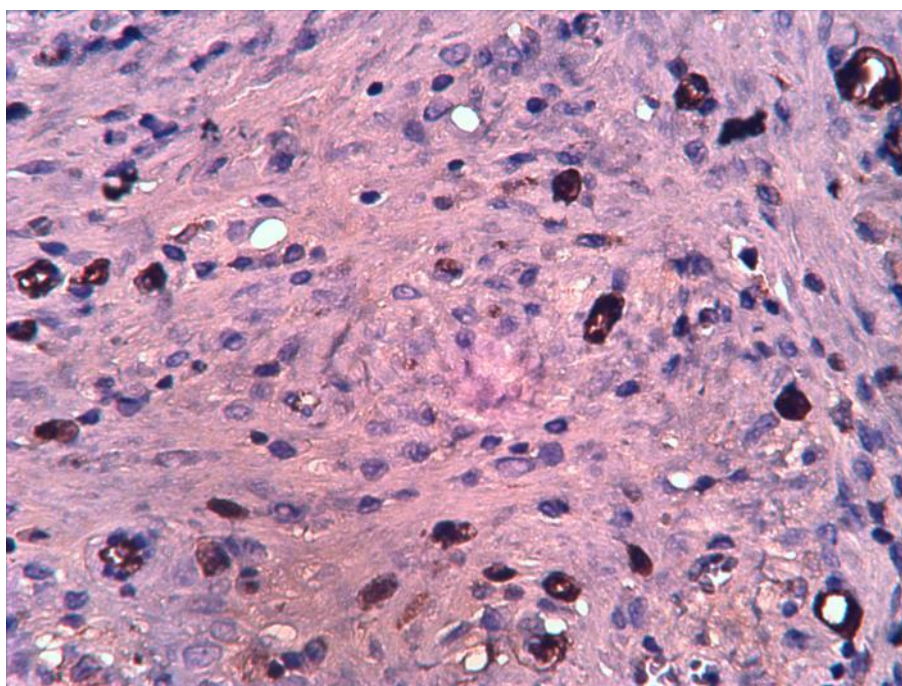


Рисунок 3.3.6 – Ділянка регенерата шкіри щура молодого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією та застосуванням ЗТП на 14-ту добу дослідження. Імуногістохімічне дослідження рецепторів судини до CD34⁺. 36. x 400

На 21-шу добу експерименту у щурів молодого віку із змодельованою гіперглікемією та застосуванням ЗТП новоутворений епідерміс був тонкішим порівняно з інтактним епідермісом. Сполучення між кератиноцитами було щільнішим відповідно попереднього терміну дослідження. Процес кератинізації відбулися краще ніж на 14-ту добу дослідження. У зернистому шарі спостерігалася більша кількість гранул кератогіаліну. Спостерігалосся мігрування клітин епідермісу у товщу новоутвореної дерми. Також, у епідермісі виявлялися одиничні порожнини вистелені одним шаром клітин. Утворена дерма була представлена щільно розміщеними колагеновими волокнами, які впліталися у товщу стічатого та сосочкового шарів інткатної дерми. У глибоких шарах новоутвореної дерми були виявлені протоки залоз (рис. 3.3.7).

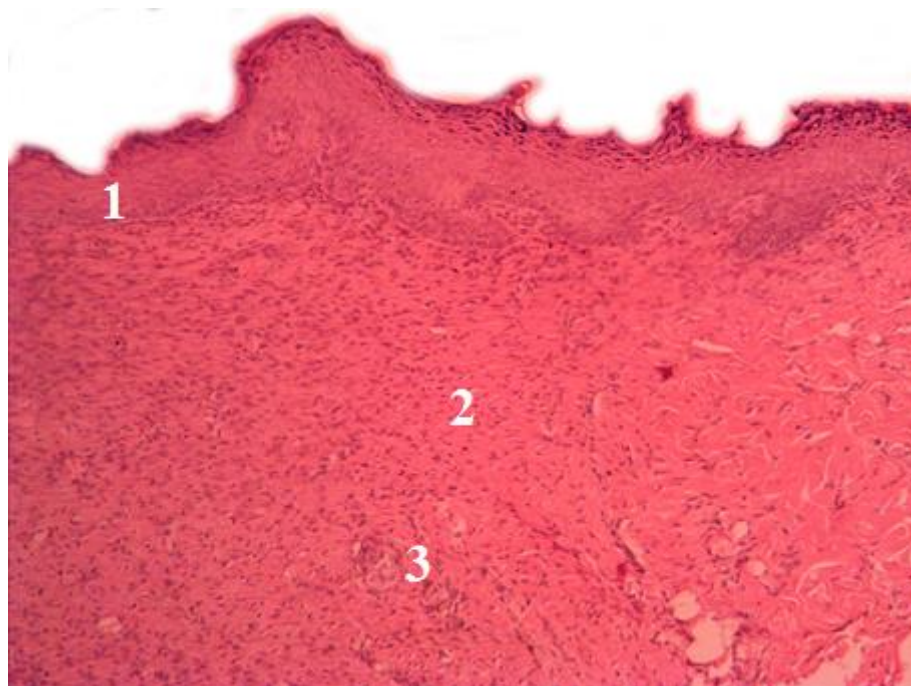


Рисунок 3.3.7 – Ділянка регенерата шкіри щура молодого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією та застосуванням ЗТП на 21-шу добу дослідження. 1 – епідерміс регенерата, 2 – дерма регенерата, 3 – залоза. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. х 200

Товщина епідермісу на 21-шу добу дослідження у щурів молодого віку із хронічною гіперглікемією становила ($82,89 \pm 20,01$) мкм, а товщина дерми була ($203,42 \pm 43,19$) мкм. Площа ранової поверхні була ($9,82 \pm 1,35$) мм², при швидкості заживлення рани ($7,07 \pm 1,46$) мм²/добу. Щільність судин становила ($28,96 \pm 2,23$)% від усієї площі зрізу (рис. 3.3.8).

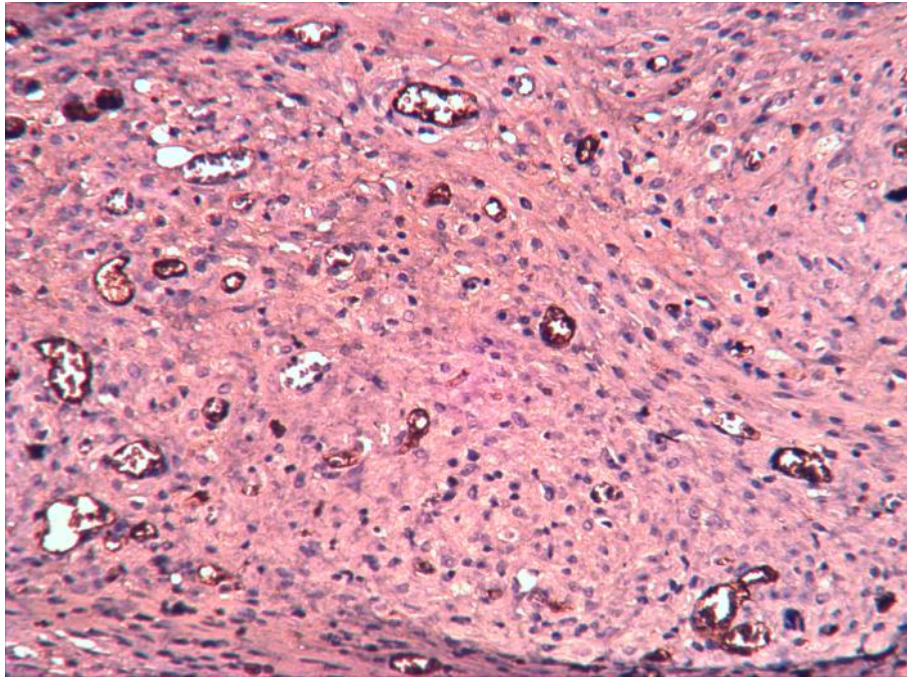


Рисунок 3.3.8 – Ділянка регенерата шкіри щура молодого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією та застосуванням ЗТП на 21-шу добу дослідження. Імуногістохімічне дослідження рецепторів судини до CD34⁺. 36. x 400

На 21-шу добу експерименту при ультрамікроскопічному дослідженні регенерату шкіри щурів молодого віку із хронічною гіперглікемією, яким вводили ЗТП у новоутворенній дермі ми спостерігали стрижні волосся у товщі внутрішніх та зовнішніх епітеліальних кореневих піхв. Навколо волосяних фолікулів спостерігалися поодинокі тлоцити продовгуватої форми із багаточисленими електроннощільними гранулами у цитоплазмі. Відмічались капіляри, ендотеліоцити, яких мали великі ядра із вип'ячуванням плазмолеми у їх просвіт та відростки заповненні везикулами. Колагенові волокна місцями утворювали однонаправленні пучки, але здебільшого мали різнонаправлене розміщення (рис. 3.3.9)

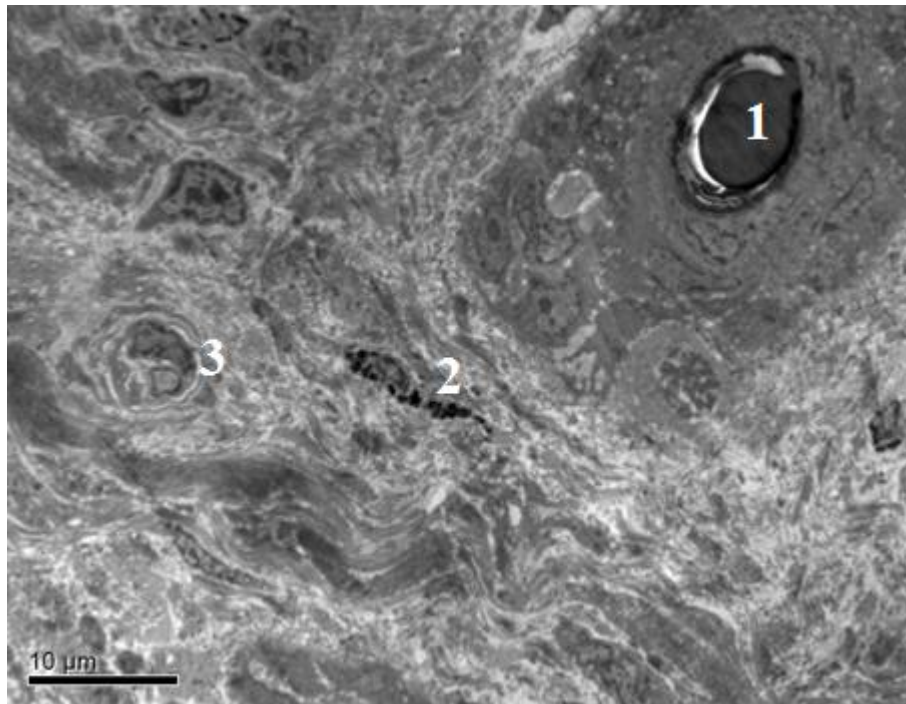


Рисунок 3.3.9 – Ділянка регенерата шкіри щура молодого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією та застосуванням ЗТП на 21-шу добу дослідження. 1 – стрижень волосся, 2 – капіляр, 3 – телоцит. Контрастування уранілацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом

На 7-му добу експерименту у щурів зрілого віку із хронічною гіперглікемією, яким вводили ЗТП, місце дефекту було заповнено геморагічною кіркою під якою відзначалося проростання тонкого епідермісу. У місці контакту з інтактною шкірою відзначалося потовщення епідермісу. У новоутвореному регенераті спостерігалися вогнища запального інфільтрата у товщі грануляційної тканини (рис. 3.3.10).

Площа ранової поверхні у щурів зрілого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією та із застосуванням ЗТП на 7-му добу після травмування була $(110,22 \pm 15,64)$ мм², при швидкості заживлення рани $(6,49 \pm 1,33)$ мм²/добу. Щільність судин становила $(6,31 \pm 0,94)\%$ від усієї площі зрізу (рис. 3.3.11).

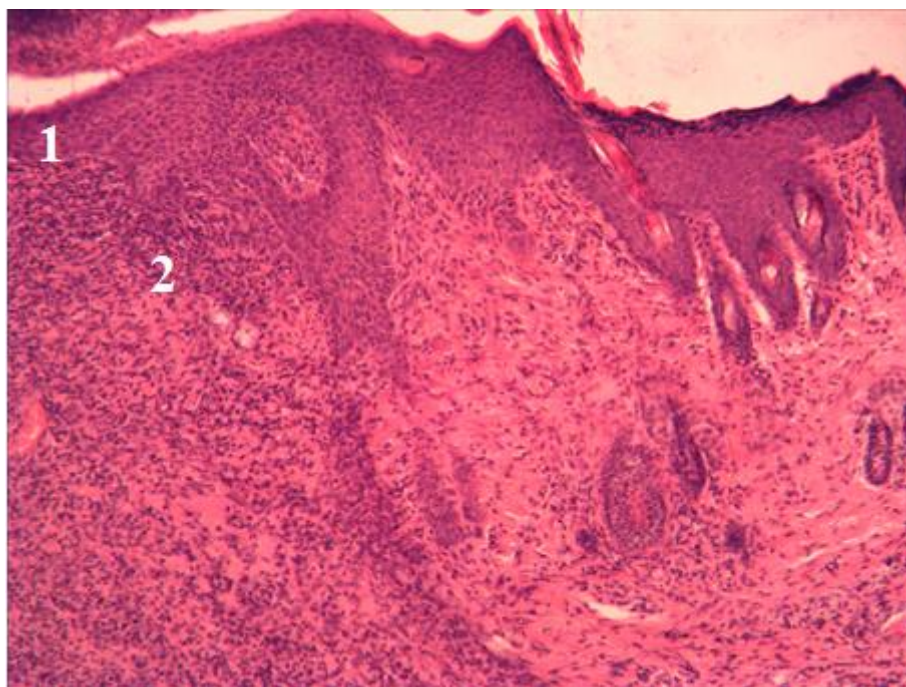


Рисунок 3.3.10 – Ділянка регенерата шкіри щура зрілого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією та застосуванням ЗТП на 7-му добу дослідження. 1 – епідерміс регенерата, 2 – запальний інфільтрат. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. х 200

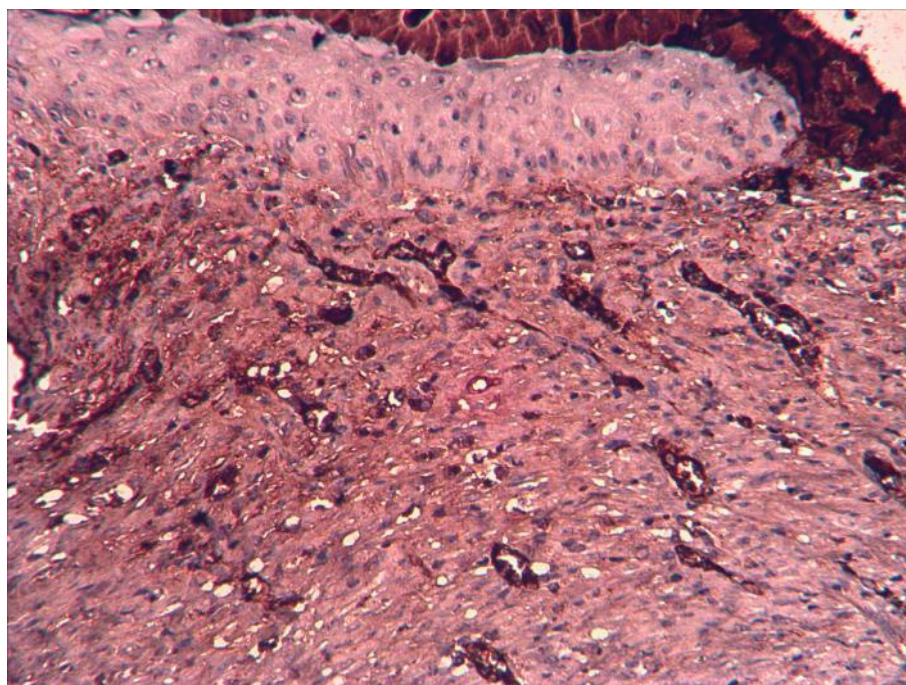


Рисунок 3.3.11 – Ділянка регенерата шкіри щура зрілого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією та застосуванням ЗТП на 7-му добу дослідження. Імуногістохімічне дослідження рецепторів судини до CD34⁺. Зб. х 400

Площа рани у щурів зрілого віку із хронічною гіперглікемією, яким вводили ЗТП на 14-ту добу експерименту була меншою порівняно із тваринами без застосування ЗТП. Новий епідерміс мав переважно рівномірну товщину. Клітини базального шару місцями не мали міцного сполучення між собою. У цих ділянках відмічалися скупчення шипуватих кератиноцитів, які мали зменшенні розміри, відповідно сусідніх ділянок, пікнотичні ядра. Проміжки між цими клітинами були широкими. Цілих зернистих кератиноцитів у цих місцях епідермісу ми не спостерігали. При цьому, відмічалися ділянки скупчень гранул кератогіаліну та залишків органел та зруйнованих клітин. Дерма була представлена сполучною тканиною, яка у верхніх шарах була більш структурованою. Колагенові волокна та фібробласти розміщувалися паралельно поверхні регенерату. У глибоких шарах дерма була утворена пучками колагенових волокон та різнонаправлено розташованими фібробластами. Судини розміщувалися більш однорідно по площі зрізу та мали різні діаметри просвітів (рис. 3.3.12).

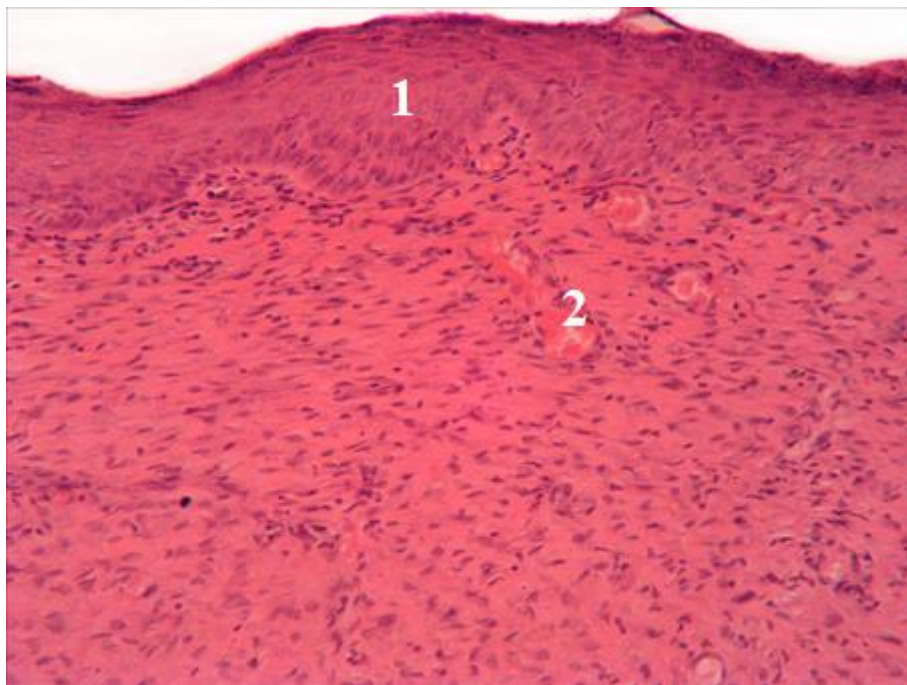


Рисунок 3.3.12 – Ділянка регенерата шкіри щура зрілого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією та застосуванням ЗТП на 14-ту добу дослідження. 1 – епідерміс регенерата, 2 – просвіт судини. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. х 200

При ультрамікроскопічному дослідженні на 14-ту добу експерименту у щурів зрілого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією, яким вводили збагачену тромбоцитами плазму, серед пучків паралельно організованих колагенових волокон спостерігалися телоцити. Клітини мали великі розміри та видовжену форму. Цитоплазма їх була заповнена багаточисленними електронно-щільними гранулами та великими везикулами із прозорим вмістом. Поодинокі відмічалися залишки тромбоцитів (рис. 3.3.13).

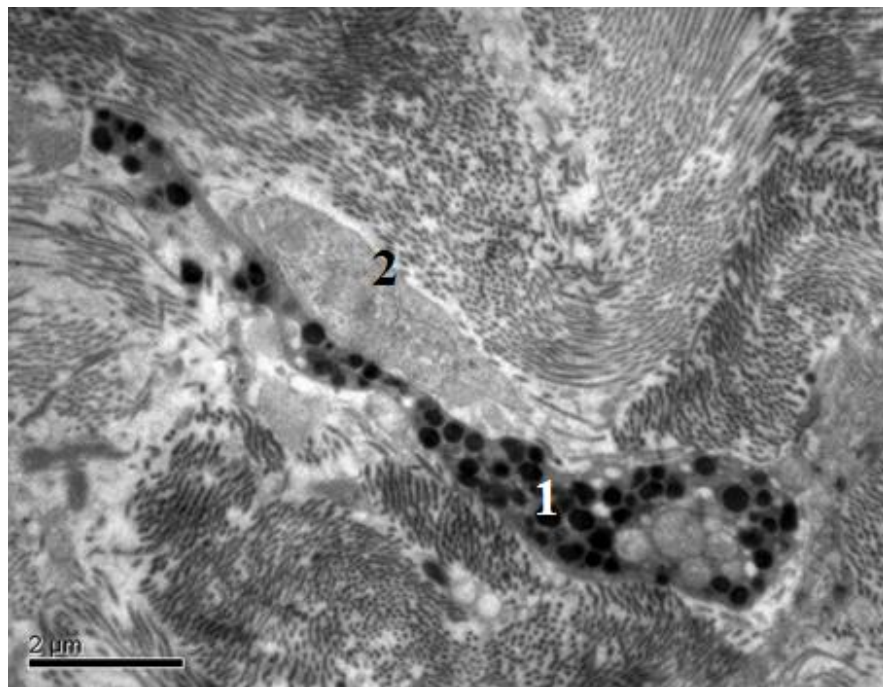


Рисунок 3.3.13 – Ділянка регенерата шкіри щура зрілого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією та застосуванням ЗТП на 14-ту добу дослідження. 1 – телоцит, 2 – тромбоцит. Контрастування уранілацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом

Товщина епідермісу на 14-ту добу дослідження у щурів зрілого віку із хронічною гіперглікемією становила $(24,19 \pm 4,81)$ мкм, а товщина дерми була $(279,97 \pm 15,36)$ мкм. Площа ранової поверхні була $(59,65 \pm 9,99)$ мм², при швидкості заживлення рани $(7,22 \pm 2,01)$ мм²/добу. Щільність судин становила $(15,23 \pm 2,54)\%$ від усієї площі зрізу (рис. 3.3.14).

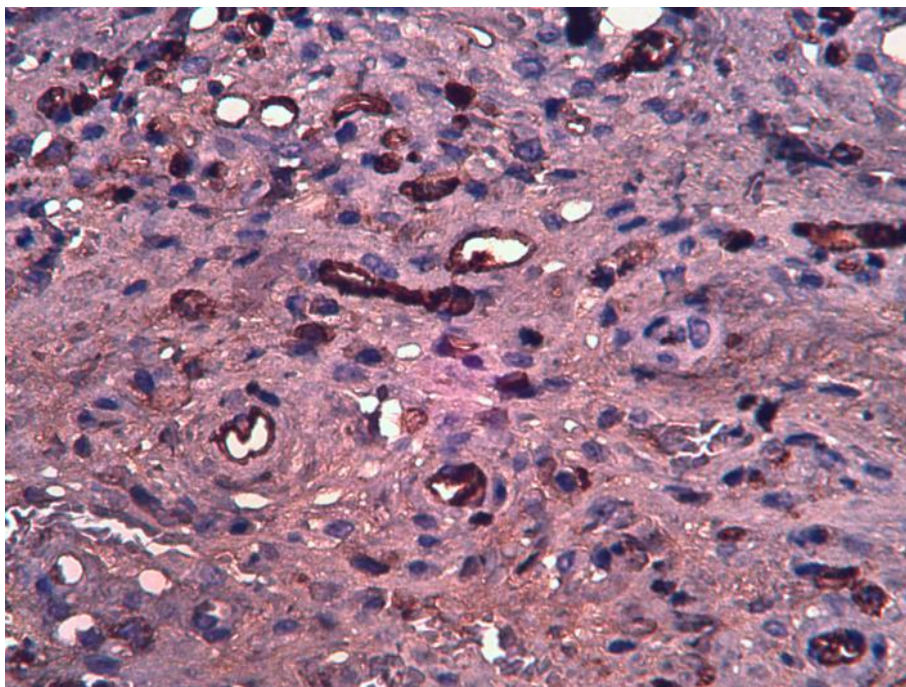


Рисунок 3.3.14 – Ділянка регенерата шкіри щура зрілого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією та застосуванням ЗТП на 14-ту добу дослідження. Імуногістохімічне дослідження рецепторів судини до CD34⁺. Зб. х 400

На 21-шу добу експерименту у щурів зрілого віку із змодельованою гіперглікемією та застосування ЗТП регенерат шкіри складався із епідермісу, який був представлений усіма шарами. Відмічалися ділянки нерівномірного потовщення за рахунок збільшення кількості шипуватого та зернистого шарів. У цих ділянках спостерігалася велика кількість мітозів у базальному шарі. У дермі формувалися сосочковий та сітчастий шари. Спостерігалася велика кількість судин з широкими, повнокровними просвітами (рис. 3.3.15).

Товщина епідермісу на 21-шу добу дослідження у щурів зрілого віку із хронічною гіперглікемією та при введенні ЗТП становила $(87,89 \pm 21,22)$ мкм, а товщина дерми – $(354,55 \pm 168,99)$ мкм. Площа ранової поверхні була $(15,98 \pm 3,39)$ мм², при швидкості заживлення рани $(6,24 \pm 1,47)$ мм²/добу. Щільність судин становила $(24,15 \pm 6,52)$ % від усієї площі зрізу (рис. 3.3.16).

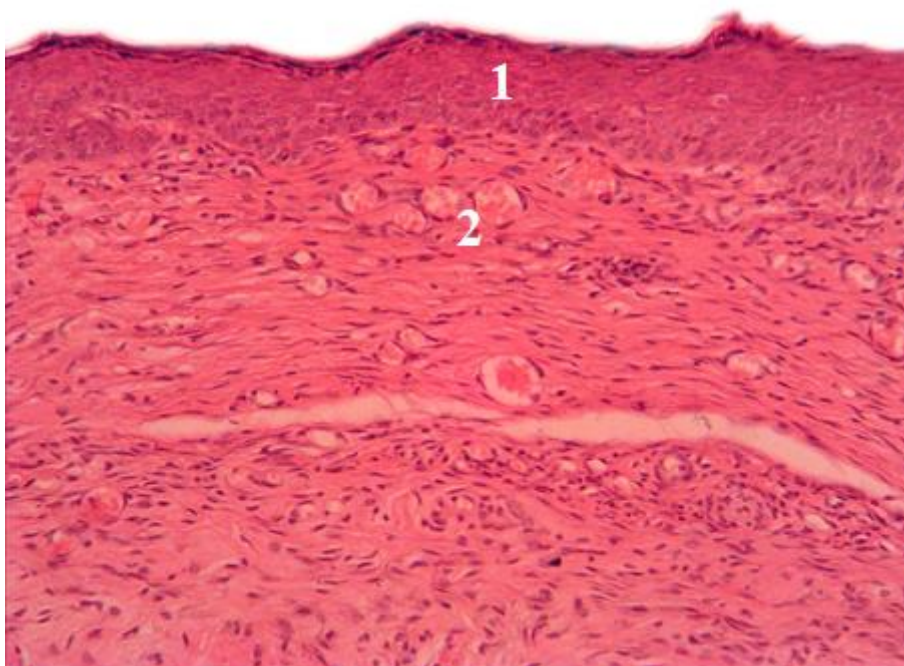


Рисунок 3.3.15 – Ділянка регенерата шкіри щура зрілого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією та застосуванням ЗТП на 21-шу добу дослідження. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. х 200

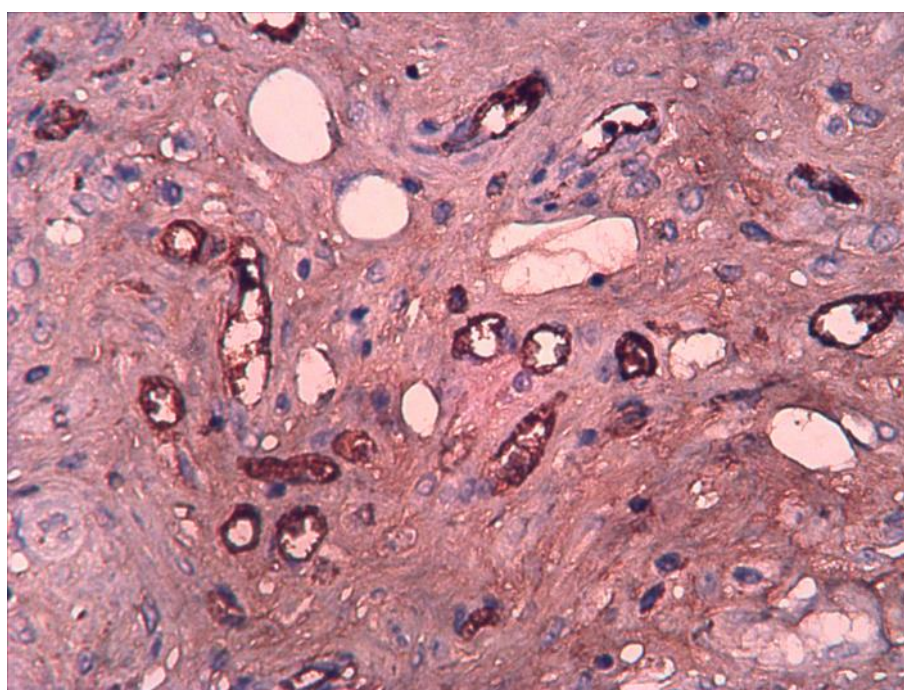


Рисунок 3.3.16 – Ділянка регенерата шкіри щура зрілого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією та застосуванням ЗТП на 21-шу добу дослідження. Імуногістохімічне дослідження рецепторів судини до CD34⁺. Зб. х 400

При ультрамікроскопічному дослідженні епідермісу регенерата у щурів зрілого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією та при введенні ЗТП на 21-шу добу експерименту ми спостерігали у роговому шарі збереженні ядра та оргanelи клітин. Відмічалася велика кількість десмосом між корнеоцитами (рис. 3.3.17).

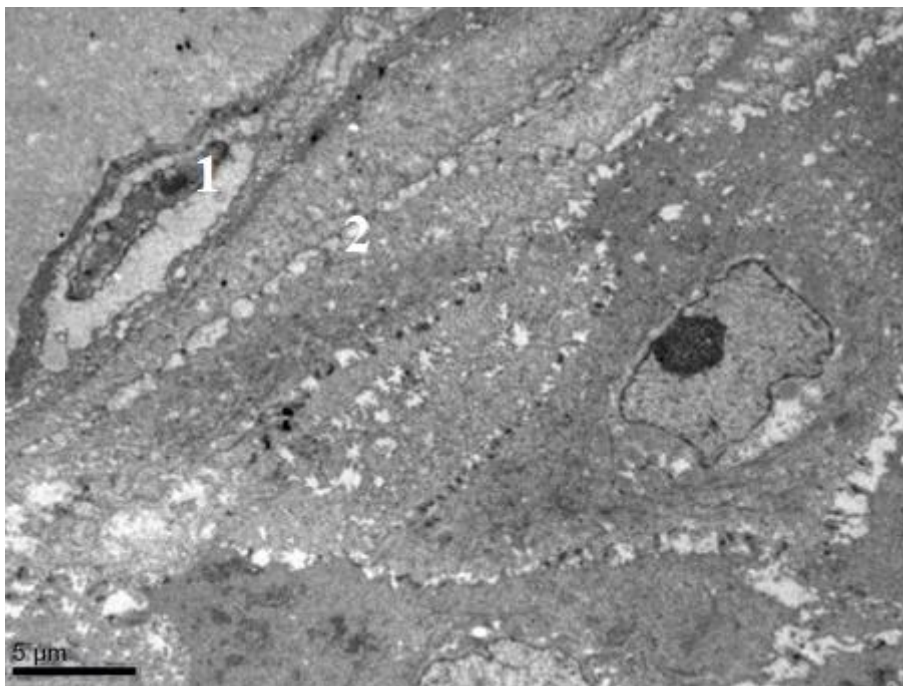


Рисунок 3.3.17 – Ділянка регенерата шкіри щура зрілого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією та застосуванням ЗТП на 21-шу добу дослідження. 1 – залишки кератиноцита, 2 – десмосоми. Контрастування уранілацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом

У дермі спостерігалися метартеріоли із вузькими просвітами та гіпертрофованими міоцитами м'язової оболонки. У них був плоский ендотелій із нефенестрованих ендотеліальних клітин. Навколо мікросудин відмічалися телоцити із довгими відростками, які були заповненні багаточисленними, великими електронно-щільними гранулами. Біля ядра спостерігалися мітохондрії із розвиненими кристами та прозорим матриксом. Фібробласти мали дилатовані цистерни ендоплазматичного ретикулула. Колагенові волокна були організовані у паралельно та перпендикулярно направленні пучки у товщі аморфного матрикса (рис. 3.3.18).

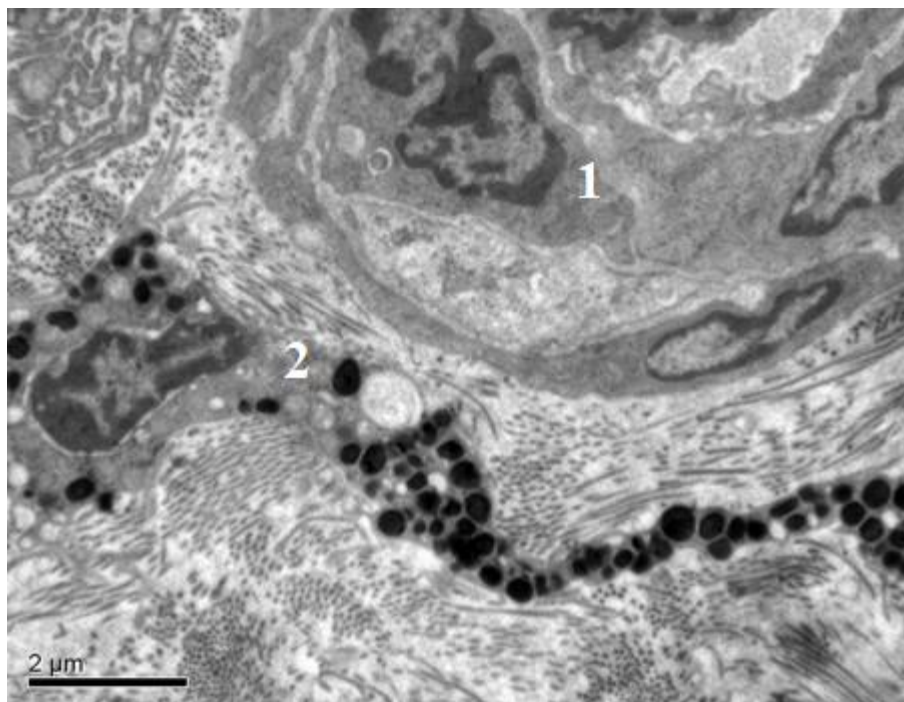


Рисунок 3.3.18 – Ділянка регенерата шкіри щура зрілого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією та застосуванням ЗТП на 21-шу добу дослідження. 1 – ендотеліоцит, 2 – телочит. Контрастування уранілацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом

На 7-му добу експерименту у щурів старечого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією та при введенні ЗТП ми спостерігали утворення струпа, який покривав всю площу рани. При гістологічному дослідженні було виявлено проростання тонкого шару базальних клітин під геморагічною кіркою лише біля інтактної шкіри. Верхні шари регенерату були заповнені грануляційною тканиною із ділянками некротичного детриту. У більш глибоких шарах регенерату спостерігалось очищення рани від запального інфільтрату та розвиток сполучної тканини. Щільність утворених судин мікроциркуляторного русла була вищою біля крайових ділянок дефекта, які мали повнокровні просвіти. При цьому, у епідермісі інтактної шкіри біля рани спостерігалось збільшення кількості шипуватого та зернистого шарів, порушення процесів кератинізації та диференціації кератиноцитів (рис. 3.3.19).

Площа ранової поверхні на 7-му добу експерименту у щурів старечого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією та застосуванням ЗТП була $(123,99 \pm 6,47)$ мм², при швидкості заживлення рани $(3,82 \pm 0,53)$ мм²/добу. Щільність судин становила $(4,87 \pm 0,70)\%$ від усієї площі зрізу (рис. 3.3.20).

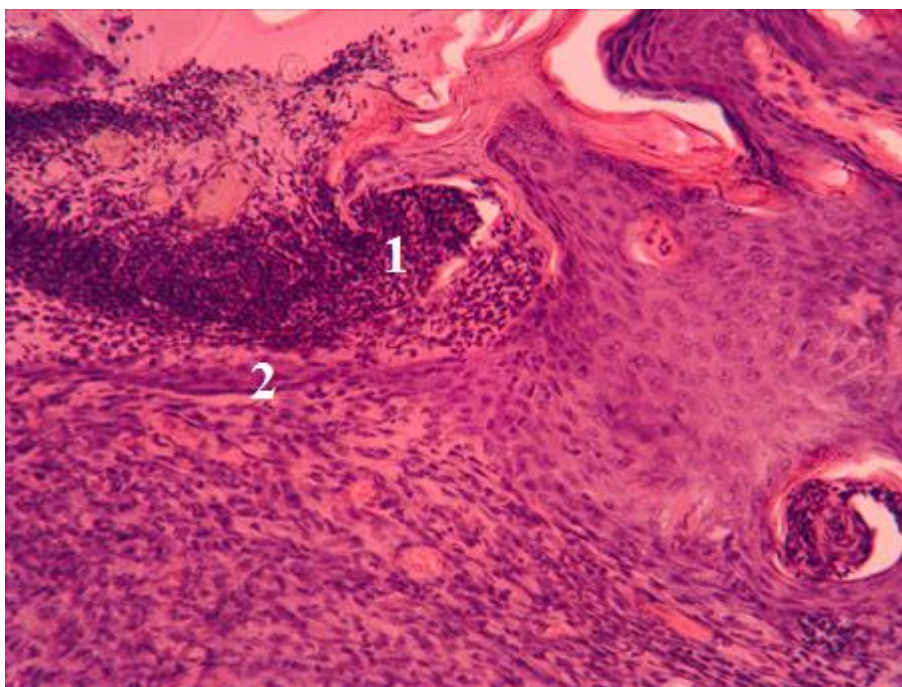


Рисунок 3.3.19 – Ділянка регенерата шкіри щура старечого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією та застосуванням ЗТП на 7-му добу дослідження. 1 – запальний інфільтрат, 2 – епідерміс регенерата. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. х 400

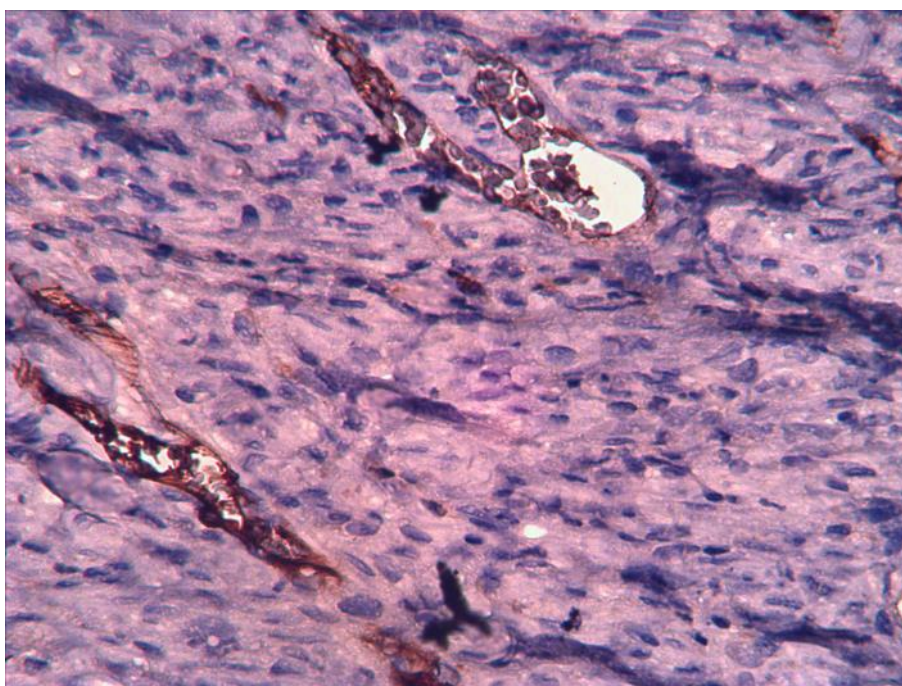


Рисунок 3.3.20 – Ділянка регенерата шкіри щура старечого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією та застосуванням ЗТП на 7-му добу дослідження. Імуногістохімічне дослідження рецепторів судини до CD34⁺. Зб. х 400

При ультрамікроскопічному дослідженні регенерата шкіри щурів старечого віку із хронічною гіперглікемією, яким вводили збагачену тромбоцитами плазму ми спостерігали сегментоядерні нейтрофіли із великою кількістю темних гранул різного розміру. Ядра нейтрофілів мали розширені пори каріолеми, скупчення гетерохроматину під ядерною оболонкою. Відмічалися пучки коротких колагенових волокон. Фібробласти мали видовжену форму, довгі відростки із багаточисленними цистернами ендоплазматичного ретикулума (рис. 3.3.21).

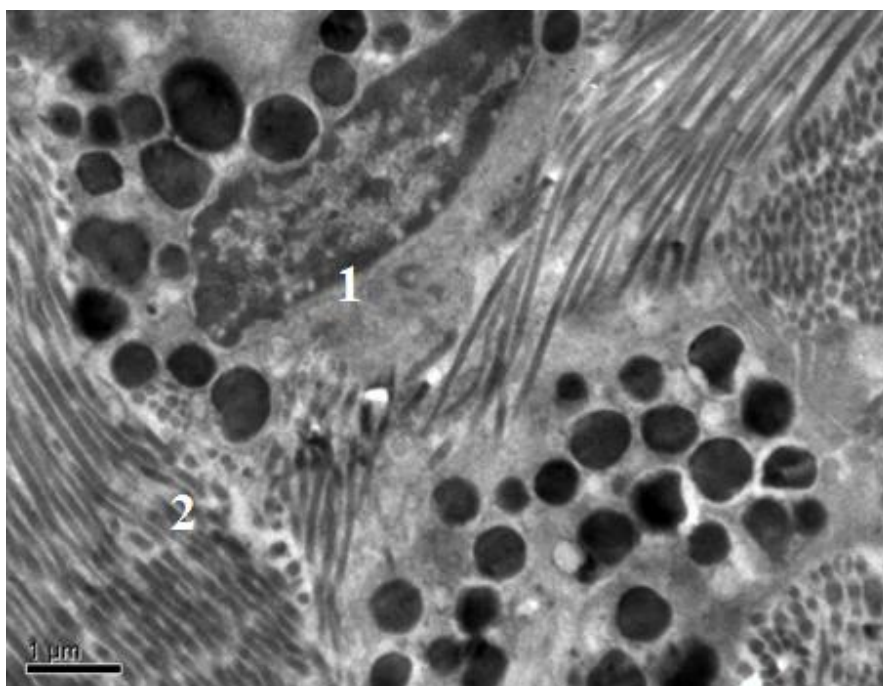


Рисунок 3.3.21 – Ділянка регенерата шкіри щура старечого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією та застосуванням ЗТП на 7-му добу дослідження. 1 – нейтрофільний гранулоцит, 2 – колагенові волокна. Контрастування уранілацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом

На 14-ту добу дослідження регенерата у щурів старечого віку із хронічною гіперглікемією та введенням ЗТП проростання епідермісу до центру дефекта відбулось краще ніж у тварин із ХГ, яким не вводили ЗТП того ж терміну спостереження. Однак, епітелій мав нерівномірну товщину, значні проростання у товщу дерми, під якими спостерігалися периваскулярні скупчення лімфоцитів. У товщі дерми відмічалися ділянки формування

сітчатого шару, поодинокі зачатки волосяних фолікулів та скупчень жирових клітин. У більш глибоких шарах регенерата зберігались поодинокі острівці грануляційної тканини з запальним детритом (рис. 3.3.22).

Товщина епідермісу на 14-ту добу дослідження у щурів старечого віку із хронічною гіперглікемією та застосуванням ЗТП становила $(22,11 \pm 8,32)$ мкм, а товщина дерми була $(205,81 \pm 63,42)$ мкм. Площа ранової поверхні була $(85,07 \pm 6,33)$ мм², при швидкості заживлення рани $(5,56 \pm 0,93)$ мм²/добу. Щільність судин становила $(9,23 \pm 1,18)\%$ від усієї площі зрізу (рис. 3.3.23).

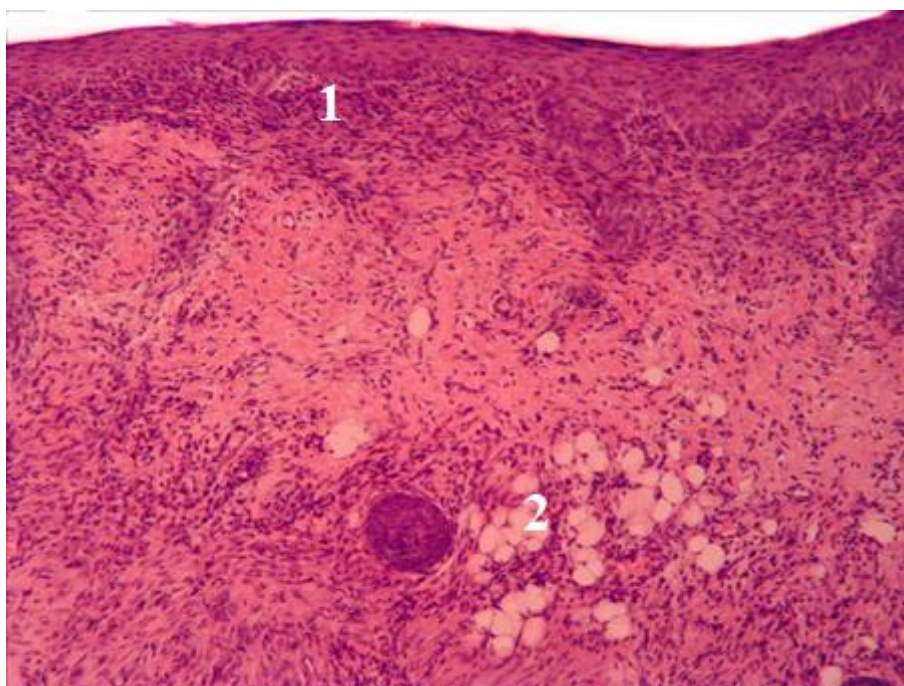


Рисунок 3.3.22 – Ділянка регенерата шкіри щура старечого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією та застосуванням ЗТП на 14-ту добу дослідження. 1 – лімфоцити, 2 – ліпоцити. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. х 200

При ультрамікроскопічному дослідженні регенерата шкіри щурів старечого віку із хронічною гіперглікемією, яким вводили збагачену тромбоцитами плазму на 14-ту добу експерименту ми спостерігали венули із вузькими просвітами, плоскими ендотеліоцитами. Спостерігалися розширені проміжки між ендотеліоцитами. Зовнішня оболонка венул була розпушеною. Колагенові волокна утворювали хаотично розміщені та різнонаправленні пучки (рис. 3.3.24).

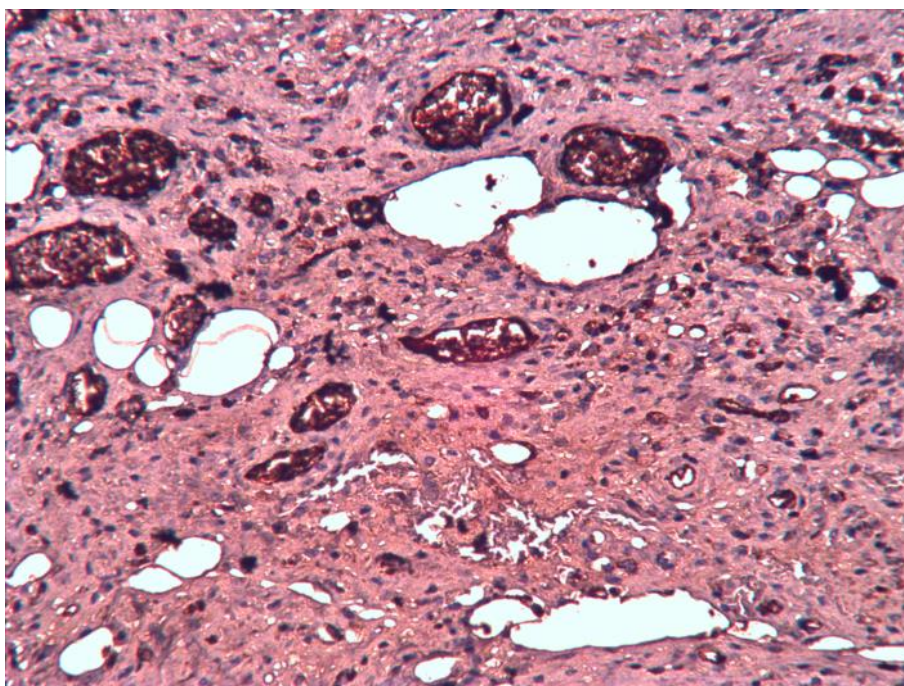


Рисунок 3.3.23 – Ділянка регенерата шкіри щура старечого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією та застосуванням ЗТП на 14-ту добу дослідження. Імуногістохімічне дослідження рецепторів судини до CD34⁺. Зб. х 400

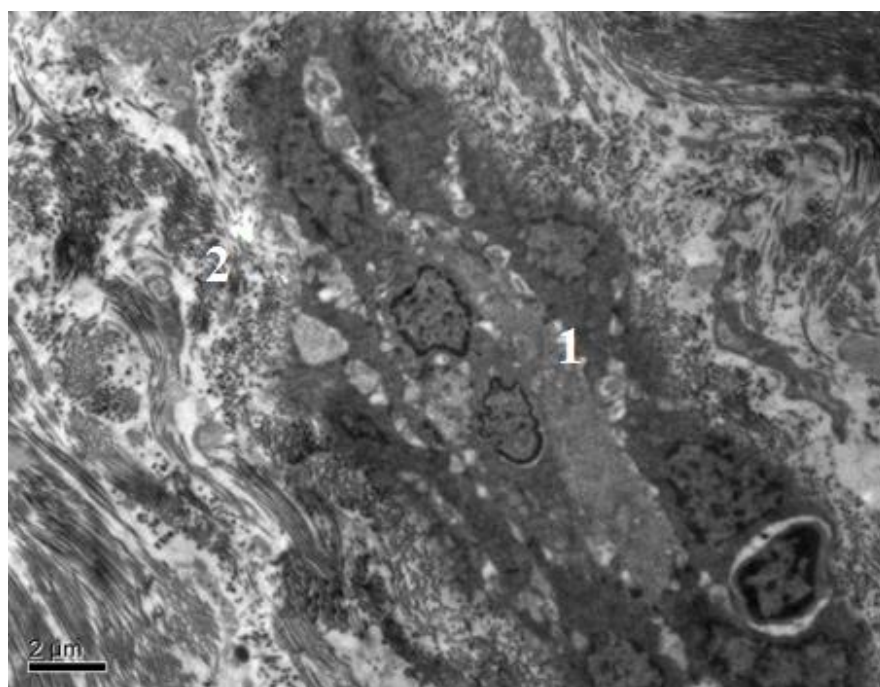


Рисунок 3.3.24 – Ділянка регенерата шкіри щура старечого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією та застосуванням ЗТП на 14-ту добу дослідження. 1 – венула, 2 – колагенові волокна. Контрастування уранілацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом

На 21-шу добу дослідження регенерат шкіри у щурів старечого віку із хронічною гіперглікемією, яким вводили ЗТП складався із епідермісу, який мав значні розростання у товщу дерми. У цих ділянках епідерміса спостерігалися концентричні скупчення корнеоцитів. У дермі спостерігалось формування сітчастого та сосочкового шарів. У верхніх її шарах відмічалися лімфоцити та поодинокі макрофаги. Судини були повнокровними (рис. 3.3.25).

Товщина епідермісу на 21-шу добу дослідження у щурів старечого віку із хронічною гіперглікемією та застосуванням ЗТП становила $(68,01 \pm 5,98)$ мкм, а товщина дерми була $(301,58 \pm 39,09)$ мкм. Площа ранової поверхні була $(28,98 \pm 5,24)$ мм², при швидкості заживлення рани $(8,01 \pm 1,02)$ мм²/добу. Щільність судин становила $(12,97 \pm 4,03)\%$ від усієї площі зрізу (рис. 3.3.26).

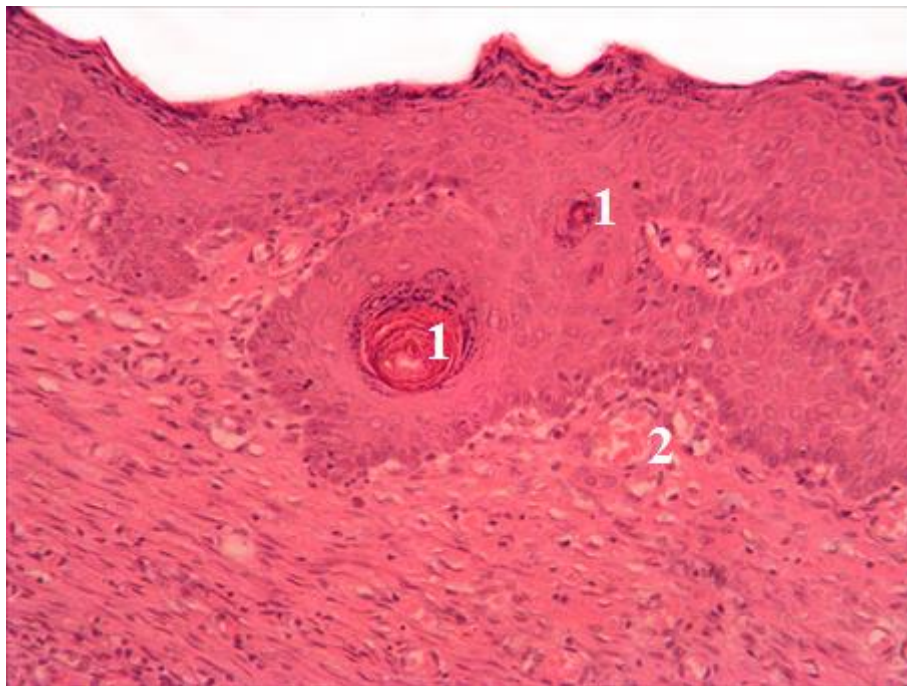


Рисунок 3.3.25 – Ділянка регенерата шкіри щура старечого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією та застосуванням ЗТП на 21-шу добу дослідження. 1 – концентричні скупчення корнеоцитів, 2 – артеріола. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. х 200

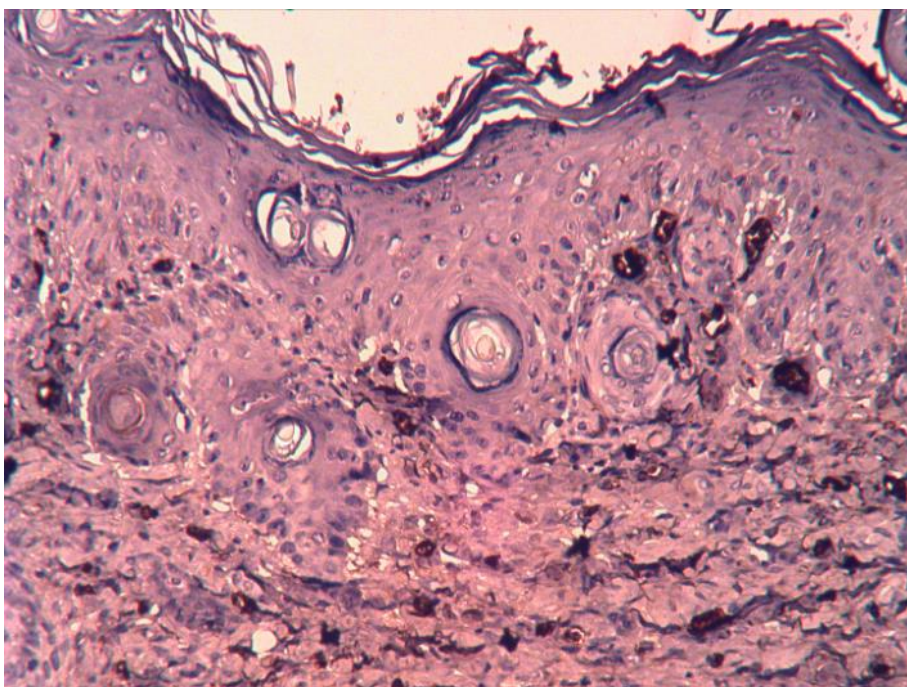


Рисунок 3.3.26 – Ділянка регенерата шкіри щура старечого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією та застосуванням ЗТП на 21-шу добу дослідження. Імуногістохімічне дослідження рецепторів судини до CD34⁺. Зб. х 200

При ультрамікроскопічному дослідженні регенерата шкіри щурів старечого віку із хронічною гіперглікемією, яким вводили збагачену тромбоцитами плазму на 21-шу добу експерименту ми спостерігали капіляри у просвітах яких спостергалися еритроцити та лімфоцити. Міжєндотеліальні проміжки були широкими. Плазмолема відростків ендотеліоцитів утворювала вип'ячування у середину просвітів капілярів. Навколо мікросудин відмічались поодинокі нейтрофіли, макрофаги, лімфоцити та поодинокі дрібні еритроцити. У товщі дерми спостерігалися деформовані фібробласти. Крім того, у периваскулярному просторі вміст аморфного матриксу переважав над щільністю колагенових волокон (рис. 3.3.27).

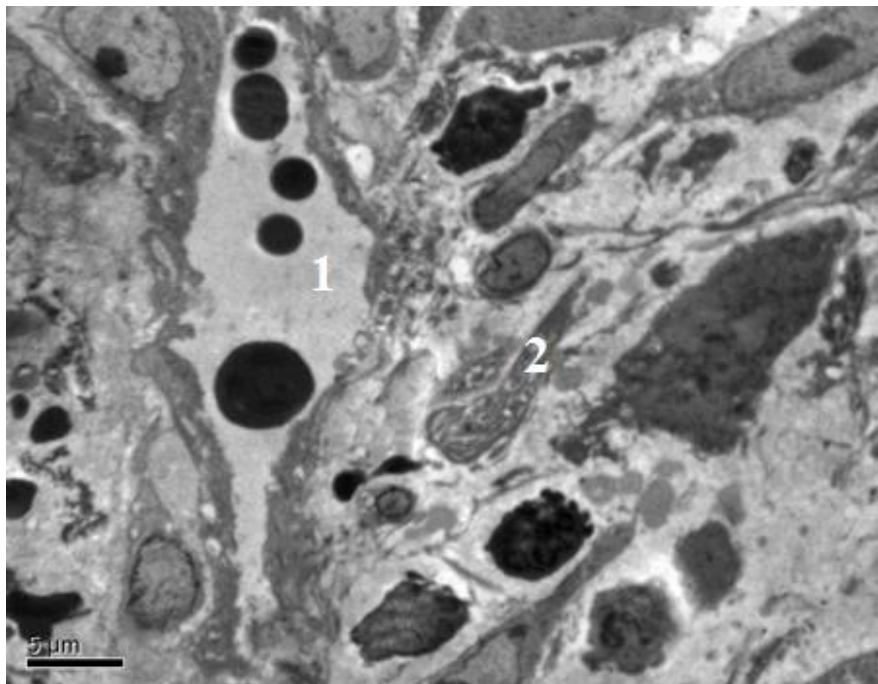


Рисунок 3.3.28 – Ділянка регенерата шкіри щура старечого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією та застосуванням ЗТП на 21-шу добу дослідження. 1 – венула, 2 – фібробласт. Контрастування уранілацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом

Отже, ін'єкції аутологічної збагаченої тромбоцитами плазми сприяють більш швидкому ангиогенезу, зменшенню запалення та прискоренню епітелізації ран. Ці процеси виражені краще у щурів молодого та зрілого віку. У щурів старечого віку загоєння ран відбувалося повільніше, але застосування збагаченої тромбоцитами плазми призводило до прискорення елімінації запального інфільтрату, посилення ангиогенезу та покращенню процесів епітелізації.

Основні результати цього розділу опубліковані у працях [277, 278, 282, 286].

РОЗДІЛ 4

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Проблема репаративної регенерації органів та тканин на фоні хронічної гіперглікемії залишається однією з найбільш значущих та недостатньо вивчених у медицині та біології [290, 291]. Загоєння ран при хронічній гіперглікемії може носити тривалий, рецидивуючий характер та погано піддаватися лікуванню, особливо у людей старшого віку [292-295]. Хронічна гіперглікемія часто ускладнює перебіг загоєння ран та збільшує ризик розвитку їх хронізації, що викликає серйозну стурбованість у всьому світі [296]. На сьогодні відбувається збільшення кількості людей, які страждають на цукровий діабет, що вже цілком обґрунтовано трактується як неінфекційна пандемія [1, 297, 299, 300].

Завдяки науковій, клінічній та економічній значимості, вивчення процесів загоєння ран стало метою багатьох досліджень [222, 225, 235, 248, 255, 256, 258, 260, 269, 270-272, 275]. Крім того, сьогодні ведеться активний пошук економічно ефективних методів, які б сприяли покращенню та прискоренню регенерації ран шкіри [225, 251, 263, 293, 294].

Тому, нами було проведено дослідження по вивченню регенерації шкіри у тварин різних вікових груп із хронічною гіперглікемією та при введенні збагаченої тромбоцитами плазми. У експерименті ми моделювали механічну травму шкіри та стрептозотонін індуковану хронічну гіперглікемію. Вивчення морфологічних особливостей регенерації шкіри у всіх шурів проводили на 7-му, 14-ту та 21-шу добу після моделювання рани.

Отже при вивченні літературних даних ми виявили, що Іванов Е. В. та співавтори дослідили, що на 8-му добу дослідження регенерації шкіри у щурів групи контролю більша частина рани була закрита грануляційною тканиною, інтенсивно інфільтрованою нейтрофілами, макрофагами та лімфоцитами. Регенеруючий край епідермісу був потовщений з чітко вираженими

базальним, шипуватим та зернистим шарами. На 16-ту добу спостерігалось згасання запального процесу та зникнення ознак гострого пошкодження. Під новим тонким епідермісом утворилася грубоволокниста сполучна тканина. У групі контролю до 24-ої доби експерименту рана повністю загоїлась у всіх тварин. Крім того, автори зазначають, що у деяких щурів контрольної групи репітелізація рани завершилася до 16-ї доби, а у всіх тварин групи контролю до 24-ої доби експерименту [299].

У нашому дослідженні у щурів усіх вікових груп на 7-му добу експерименту рана була заповнена грануляційною тканиною інфільтрованою клітинами макрофагально-фагоцитарного ряду. У тварин молодого віку зустрічалися поодинокі лімфоцити та ліпоцити. Також, у щурів молодого віку у регенераті шкіри ми спостерігали телоцити разом із фібробластами в оточенні колагенових волокон, що сприяло більш швидкому зменшенню площі рани. У тварин зрілого та старечого віку виявлялися кровоносні судини з невопноцінними стінками, у результаті чого спостерігалися периваскулярні крововиливи, і як наслідок недостатнього кровопостачання у регенератах шкіри утворювалася велика кількість ліпоцитів та відбувалося зменшення швидкості загоєння ран шкіри порівняно з тваринами молодого віку (рис. 4.1.1 та 4.1.2).

На 21-шу добу експерименту у щурів молодого віку групи контролю місце дефекту було повністю замінено новоутвореним епітелієм та дермою. Добре було видно фігури мітозу у базальному шарі. Разом з тим, між клітинами не завжди спостерігалось міцне сполучення, а у новоутвореній шкірі локально відмічався розвиток папіломатозу. Клітинний склад дерми окрім фібробластів, був представлений поодинокими макрофагами, клітинами Лангерганса та лімфоцитами. Спостерігалися волосяні цибулини в оточенні сальних залоз, які мали досить великі розміри та розвинуті часточки. У дермі відмічалася розвинена сітка судин мікроциркуляторного русла.

У щурів зрілого віку контрольної групи на 21-шу добу експерименту епітелізація рани відбулась майже повністю. У базальному шарі епідерміса, як

і у щурів молодого віку відмічалася велика кількість мітозів на різних стадіях. У новоутворенній дермі візуалізувалися сосочковий та сітчастий шари. Спостерігалися волосяні фолікули в оточенні сальних залоз.

У тварин старечого віку у кінці експерименту місце дефекту не повністю було заповнено епітелієм. Кількість капілярів та інших судин мікроциркуляторного русла була меншою порівняно з тваринами молодого та зрілого віку, що можливо вплинуло на те, що місцями спостерігалось порушення кератинізації. Міцного сполучення між базальним шаром та нижче лежачою дермою не було, відбувалось проростання епітелію у дерму, що також може бути наслідком порушення процесів кератинізації та утворення базальної мембрани. У роговому шарі спостерігалися залишки зруйнованих клітин. Реорганізації сполучної тканини дерми у сосочковий та сітчастий шари ми не спостерігали.

При порівнянні площ ранової поверхні на 7-му добу дослідження найбільшого зменшення зазнала площа рани у щурів молодого віку, вона зменшилась на 56,74% ($p < 0,001$) від площі рани на початку експерименту. У щурів зрілого віку площа рани зменшилась на 50,58% ($p < 0,001$), а у тварин старечого віку – на 35,71% ($p < 0,001$) від початку експерименту. На 21-шу добу дослідження площа рани зменшилась у щурів молодого та зрілого віку майже однаково. Так, у щурів молодого віку площа рани склала 0,46% ($p < 0,001$) від площі рани на початку експерименту, а у тварин зрілого віку 0,79% ($p < 0,001$). У тварин старечого віку площа рани була на рівні 3,42% ($p < 0,001$) від площі завданної рани (рис. 4.1).

Цікавим виявилось, що швидкість загоєння дефектів шкіри у групі контролю найбільшою була у тварин молодого та зрілого віку на 7-му та 14-ту добу дослідження та найменшою у кінці експерименту. У щурів старечого віку на початкових термінах дослідження швидкість регенерації ран була найменшою серед усіх тварин, а на 21-шу добу найбільшою (рис. 4.2).

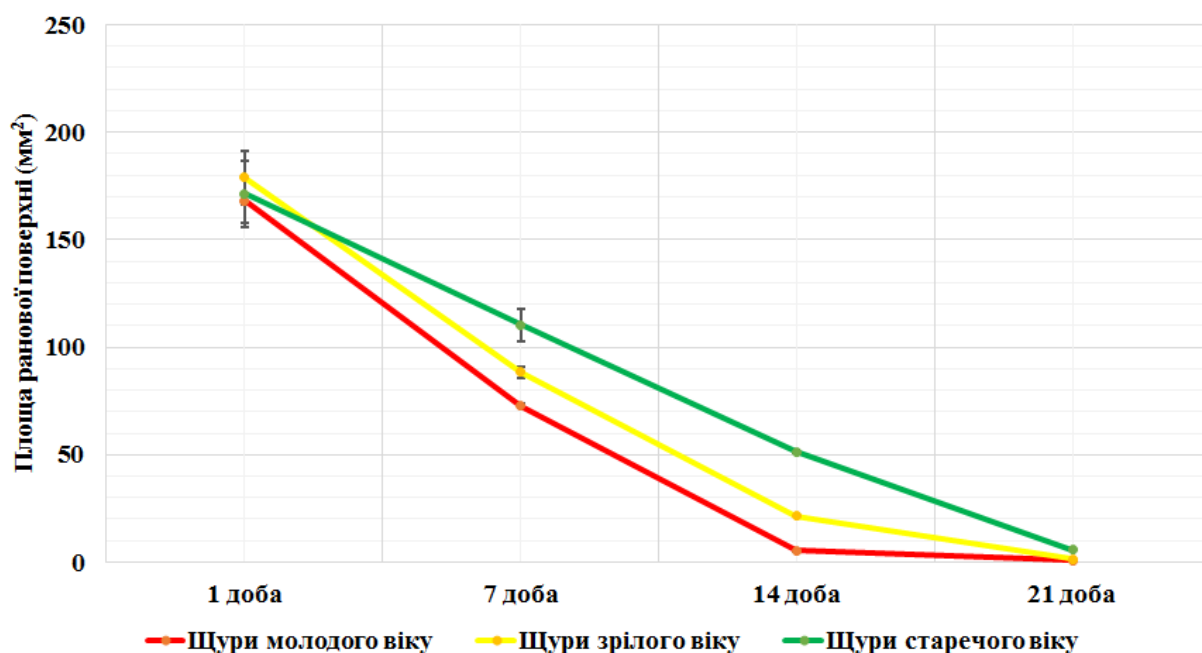


Рисунок 4.1 – Динаміка показників площ ранових поверхонь контрольних тварин груп порівняння

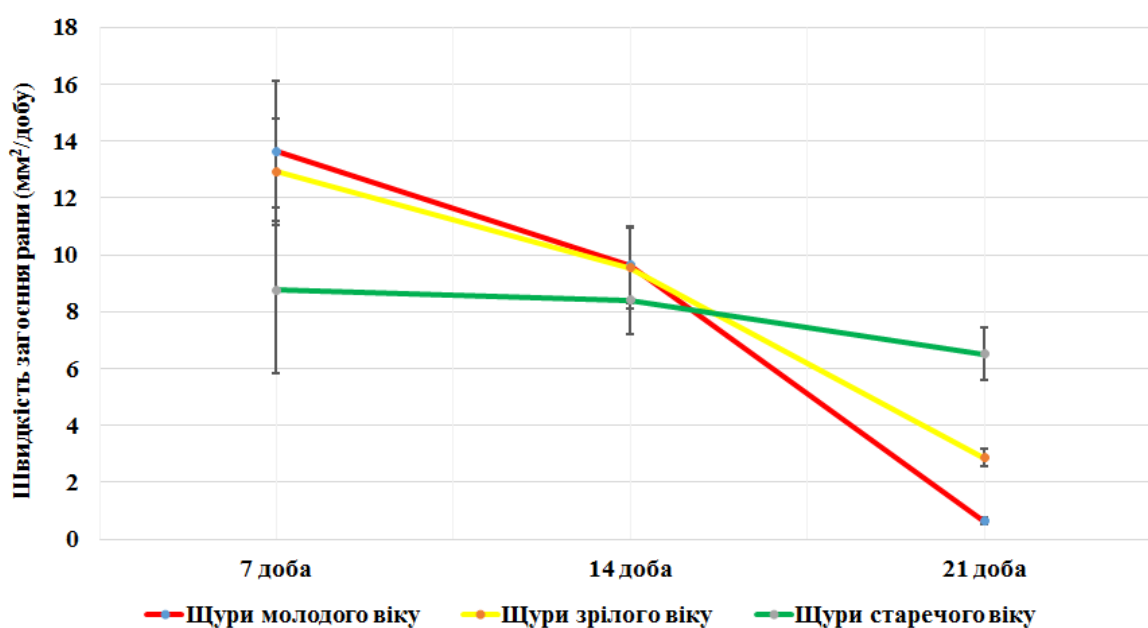


Рисунок 4.2 – Динаміка показників швидкості загоєння ран контрольних тварин груп порівняння

Також, у щурів молодого та зрілого віку щільність судин на початку експерименту була майже однаковою. Далі на всіх термінах дослідження щільність судин у регенератах була достовірно найбільшою у тварин молодого віку (рис. 4.3).

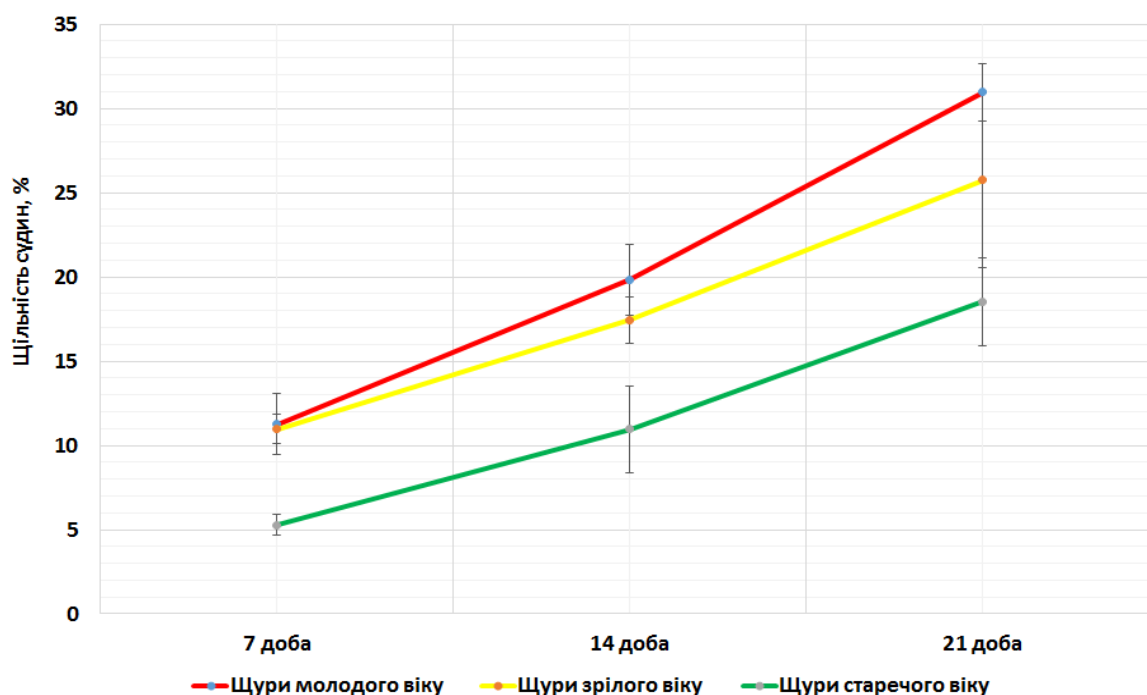


Рисунок 4.3 – Динаміка показників щільності судин у регенератах шкіри контрольних тварин груп порівняння

Найбільш частим ускладненням у пацієнтів з цукровим діабетом є порушення процесу загоєння ран шкіри, що приводить до таких ускладнень, як виразки діабетичної стопи, які викликають серйозну стривоженість у всьому світі через різні клінічні та соціально-економічні проблеми [299]. Дослідження показують, що загоєння ран сповільнюється через гіперглікемію під час ЦД [300-302].

Рановий процес на фоні цукрового діабету має певні особливості, що характеризуються різко вираженими мікроциркуляторними розладами, наявністю мікротромбів, формуванням сладж-феноменів, дистрофічними та некротичними процесами, перевагою запального процесу над репаративним, пригніченням клітинної проліферації [303].

На думку Yixiao Dong та його колег, регенерація рани в осіб з підвищеним рівнем глюкози у крові, порушується на всіх фазах загоєння. Відбувається аномальний ангиогенез, стійке запалення, неадекватне утворення грануляційної тканини, знижується синтез колагену та глікозаміногліканів [177, 179, 214].

Е. Ф. Ефімов та А. В. Хорошкевич у своїх дослідженнях з'ясували, що у регенератах шкіри пацієнтів, які страждають на цукровий діабет, є прояви паренхіматозного диспротеїнозу та жирової дистрофії, що відображає порушення тканинного метаболізму у даної категорії хворих і є фактором для виникнення ранових ускладнень. Перебіг ранового процесу у таких пацієнтів характеризується пролонгуванням фази запалення та затримкою регенеративних процесів [180].

Аналізуючи характер регенерації шкіри у щурів різних вікових груп із змодельованою хронічною гіперглікемією ми виявили, що на 7-му добу дослідження проростання епідермісу у центр рани краще за все відбулося у щурів молодого віку, що обумовлене репаративними, компенсаторно-приспосувальними механізмами та віковим аспектом. Так, площа ранової поверхні на 7-му добу дослідження у щурів молодого віку із хронічною гіперглікемією була на 16,28% ($p < 0,001$) меншою відповідно площі рани на початку експерименту. У щурів зрілого віку на 7-му добу площа рани зменшилася на 14,204% ($p < 0,001$) від початкової площі дефекту. При цьому, у тварин старечого віку зменшення рани відбулося лише на 8,99% ($p < 0,001$) порівняно із вихідним показником на початку експерименту (рис. 4.4).

Цікавим було виявити, що при мікроскопічному дослідженні регенерату шкіри на ранніх термінах дослідження у щурів молодого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією біля крайових ділянок дефекту спостерігалось проростання епідермісу. Однак, чіткого порядку у клітинних шарах не було. У його товщі спостерігалися клітини макрофагально-лейкоцитарного ряду, залишки некротичного детриту, великі пустоти та розриви. Грануляційна тканина, окрім вогнищ запального інфільтрату містила судини просвіт яких був дуже широким, а стінки були неповноцінними.

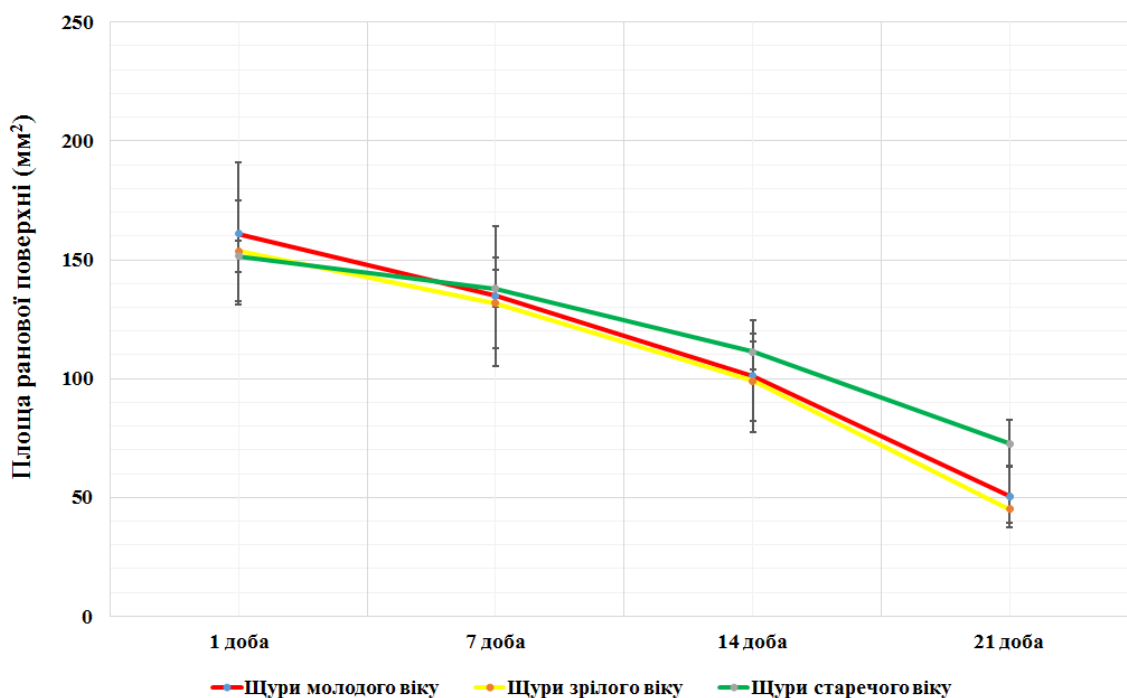


Рисунок 4.4 – Динаміка показників площ ранових поверхонь тварин із хронічною гіперглікемією груп порівняння

На 7-му добу експерименту у щурів зрілого віку із хронічною гіперглікемією місце травми, також було заповнено запальним інфільтратом та грануляційною тканиною. Інтенсивність проростання кровоносними судинами регенерату була менша порівняно з контролем. Але, треба зазначити, що при цьому, судини утворювали хаотичну мережу з усіх типів відразу та все ж таки, вони були нестабільними, незрілими, не мали повноцінної базальної мембрани та перицитів, міжэндотеліальні пори були значно збільшені, внаслідок чого біля крайових ділянок дефекту під епідермісом спостерігалися значні крововиливи. Проростання нового епідермісу під струпом відбулось трохи менше порівняно із тваринами молодого віку.

У щурів старечого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією на 7-му добу експерименту місце рани, здебільшого було заповнене запальним інфільтратом. Тільки у глибоких шарах спостерігався розвиток грануляційної тканини з малою кількістю судин мікроциркуляторного русла. Крім того у тварин даної вікової групи спостерігався розвиток дегенеративно-дистрофічних змін у ділянках інтактної шкіри, які межували з раною, що не

було характерно для інших щурів. У дермі відбувався лізис аморфного матриксу та пучків колагенових волокон, внаслідок чого втрачалось чітке розмежування сітчастої та сосочкової частин дерми. Збільшувалась кількість жирових клітин та відбувалось руйнування волосяного апарату шкіри. Утворення нового епідермісу не було виявлено. Можна припустити, що ці зміни відбулись внаслідок скомпрометованих віком та хронічною гіперглікемією судин дерми інтактної шкіри та агресивним впливом запального інфільтрата на цьому фоні.

Аналізуючи швидкість загоєння дефектів шкіри у тварин усіх вікових груп із хронічною гіперглікемією на ранніх термінах експерименту ми виявили, що найбільшою вона була у щурів молодого віку, що і підтверджувалось гістологічними даними, а саме найкращою серед усіх тварин епітелізацією рани. Але, порівнюючи із контрольним показником даного терміну дослідження, ми встановили, що швидкість загоєння рани у тварин молодого віку із хронічною гіперглікемією знизилась в 3,64 рази ($p < 0,001$). У тварин зрілого віку швидкість епітелізації дефекту також знизилась та становила $(3,12 \pm 0,82)$ мм²/добу, що в 4,14 рази ($p < 0,001$) менше від контрольного показника. Найменшою швидкість загоєння рани була у тварин старечого віку – $(1,94 \pm 0,59)$ мм²/добу, що в 4,49 рази ($p < 0,001$) повільніше за швидкість епітелізації рани у тварин із нормальним рівнем глюкози у крові (рис. 4.5).

Швидкість епітелізації рани залежить також і від збережених залишків базальної мембрани з базальними кератиноцитами епідермісу, клітин волосяних фолікулів та сальних залоз. При поверхневому пошкодженні шкіри без порушення базальної мембрани та сосочкового шара дерми, регенерація шкіри завжди досягається шляхом посиленої проліферації базальних кератиноцитів. При пошкодженні шкіри із зачіпанням сосочкового шара дерми, внаслідок якого пошкоджується базальна мембрана та капіляри поверхневої судинної мережі, регенерація шкіри, як правило, протікає за рахунок збережених фрагментів базальної мембрани, клітин волосяних

фолікулів та епітелію сальних залоз. При такому загоєнні кератиноцити починають активно ділитися і спрямовуватися на дно рани, а також переходять із країв рани. Спочатку створюється одиночний шар клітин, а потім багат шаровий, під яким проходить завершення регенерації шкіри [308].

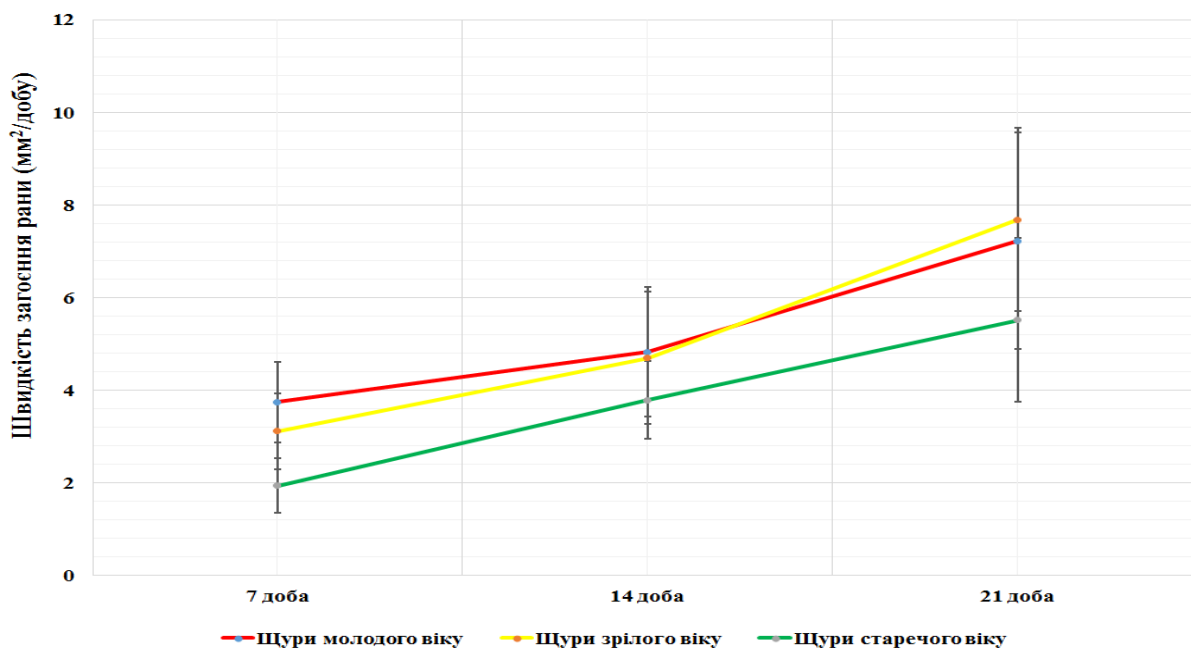


Рисунок 4.5 – Динаміка показників швидкості загоєння ран тварин із хронічною гіперглікемією груп порівняння

На думку Грамкова І. І. та Максимової Є. Р. швидкість регенерації шкіри залежить від глибини та площі пошкодження, стану імунітету шкіри та від того, як протікає мікроциркуляція у судинному руслі шкірного покриву [308].

За умов хронічної гіперглікемії має місце локальне зниження VEGF, внаслідок чого погіршується утворення судинних колатералей та загоєння ран. В експериментальній роботі було показано, що при ЦД фібробласти, які відповідають за загоєння ран, експресують VEGF у 7 разів гірше, ніж здорові фібробласти. За умов впливу гіпоксії не відбувається збільшення експресії VEGF, що сприяє поганому загоєнню ран при цукровому діабеті та більш затяжному періоду одужання при ранових ушкодженнях [189, 190].

Гіперглікемія та пов'язані з нею розлади метаболізму порушують нормальний ангиогенез. Високий рівень глюкози знижує експресію рецепторів VEGF в ендотеліальних клітинах, пригнічує здатність цих клітин до

спрямованої міграції та формуванню судиноподібних структур. Крім того, надлишок глюкози зменшує здатність мезенхімальних стромальних клітин стимулювати ангиогенез через паракринну активність. Показано, що вираженість порушення продукції VEGF, ендотеліальної NO-синтази та інтенсивність ангиогенезу залежить не тільки від рівня, а й від діапазону коливань глікемії. Важливу роль у порушенні ангиогенезу грають пізні продукти глікозилування, що накопичуються в умовах гіперглікемії [191-193].

При дослідженні щільності судин мікроциркуляторного русла регенератів шкіри щурів із хронічною гіперглікемією з використанням маркера судин CD34⁺ ми виявили, що найбільшою вона була у щурів молодого віку на всіх термінах експерименту. Але, на 7-му та 14-ту добу дослідження щільність судин у тварин молодого віку статистично не відрізнялася від показника щурів зрілого віку ($p = 0,4329$) та ($p = 0,5545$). У тварин старечого віку даний показник був найменший серед усіх груп (рис. 4.6).

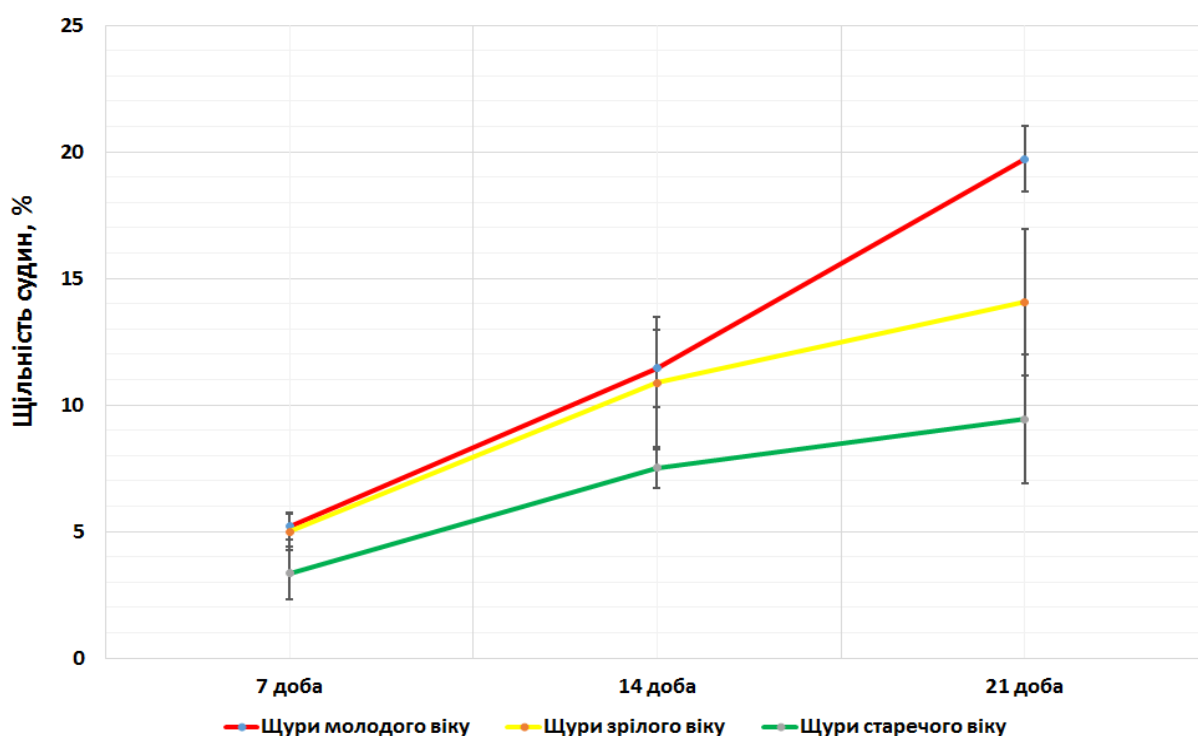


Рисунок 4.6 – Динаміка показників щільності судин у регенератах шкіри тварин із хронічною гіперглікемією груп порівняння

Порівнюючи із контролем, щільність судин у щурів молодого віку із хронічною гіперглікемією на 7-му добу дослідження була на 53,75% ($p < 0,001$) менше. На 14-ту добу показник був меншим на 42,26% ($p < 0,001$), а на 21-шу добу – 36,28% ($p < 0,001$) (рис. 4.7).

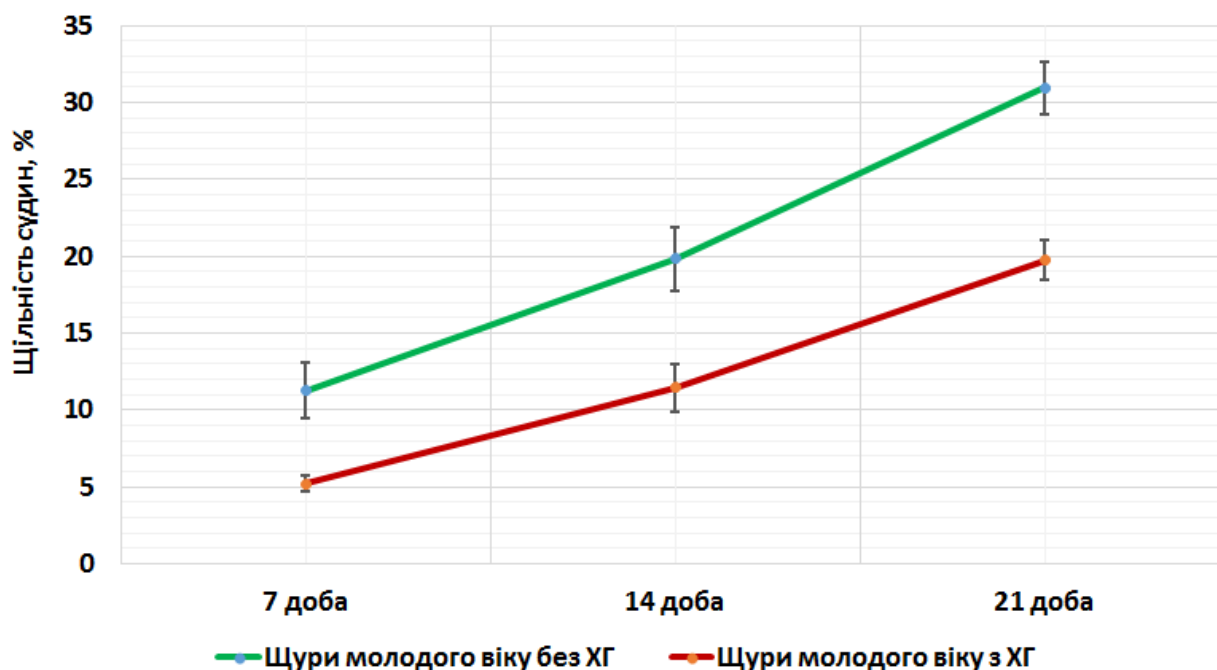


Рисунок 4.7 – Динаміка показників щільності судин у регенератах шкіри щурів молодого віку без та з хронічною гіперглікемією

У тварин зрілого віку із хронічною гіперглікемією щільність судин на 7-му добу була меншою на 54,56% ($p < 0,001$), на 14-ту – на 37,68% ($p < 0,001$), а на 21-шу добу менше на 45,36% ($p < 0,001$) відповідно контрольної групи (рис. 4.8). У щурів старечого віку із хронічною гіперглікемією щільність судин була меншою на 36,37% ($p < 0,004$) на 7-му добу експерименту, на 31,39% ($p < 0,008$) на 14-ту добу та на 49,08% ($p < 0,0224$) менше контрольних показників відповідних термінів дослідження (рис. 4.9).

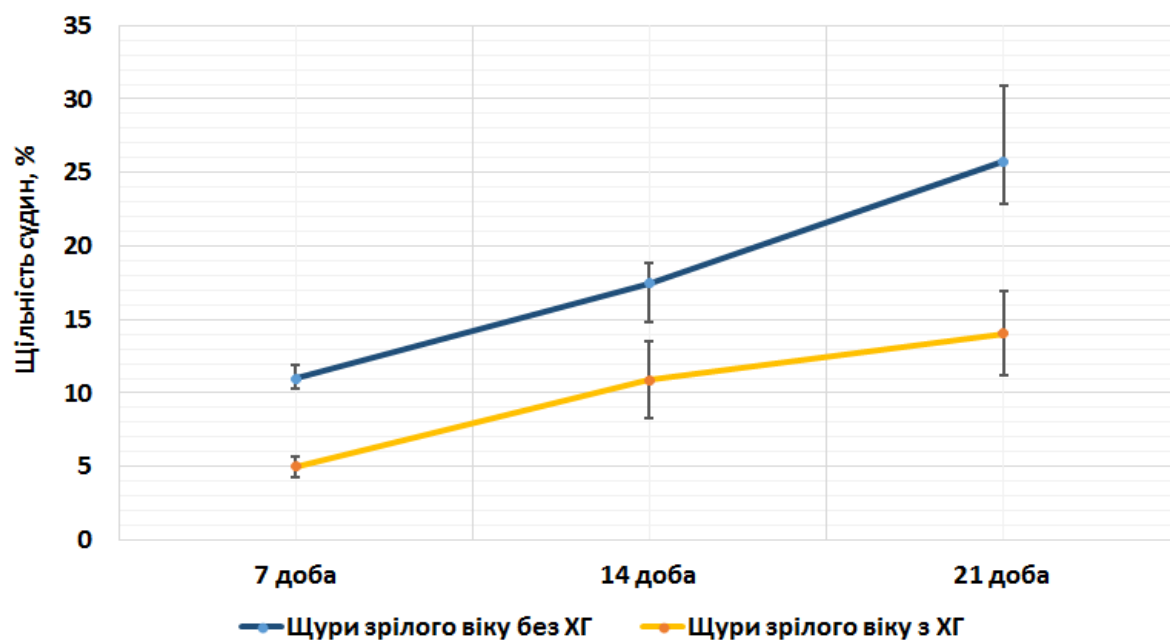


Рисунок 4.8 – Динаміка показників щільності судин у регенератах шкіри щурів зрілого віку без та з хронічною гіперглікемією

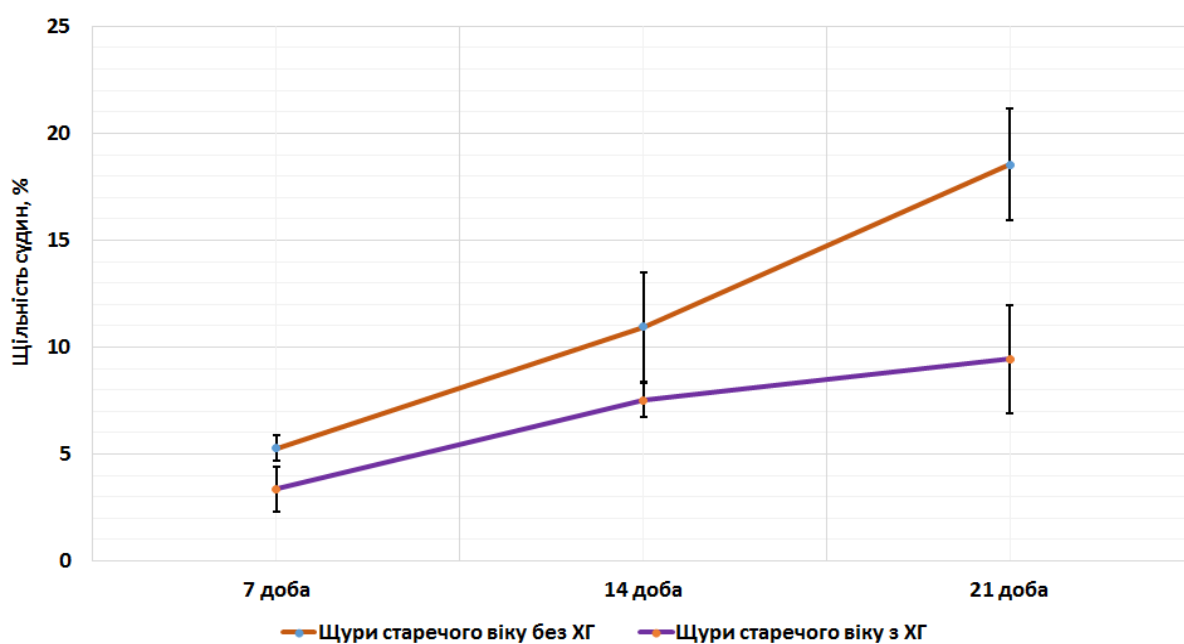


Рисунок 4.9 – Динаміка показників щільності судин у регенератах шкіри щурів старечого віку без та з хронічною гіперглікемією

За умов хронічної гіперглікемії відбуваються зміни в імунній системі: зниження кількості лейкоцитів та лімфоцитів, порушення основних функцій нейтрофілів та макрофагів, у тому числі адгезії, хемотаксису та фагоцитозу, редукція бактерицидної здатності, зменшення адгезії поліморфноядерних лейкоцитів та зниження апоптозу. Встановлено, що у пацієнтів із хронічною гіперглікемією має місце підвищення виділення прозапальних цитокінів (ФНП- α , ІЛ-6, ІЛ-8, активних форм кисню) та зниження секреції ендотеліального оксиду азоту, що сприяє вазоконстрикції. Зниження активності імунної системи підвищує ризик інфікування рани, при виникненні якого нейтрофіли та макрофаги у надлишку виділяють матриксну металопротеїназу та оксиданти [194-198].

A. Prakash et al. повідомили про зниження міцності ран у інсуліндефіцитних тварин. W. H. Goodson і T. K. Hunt виявили зменшення вмісту колагену в ранах у тварин із цукровим діабетом. E. R. Arguilla et al. W. H. Goodson та T. K. Hunt встановили, що у тварин з цукровим діабетом призначення інсуліну більше значення має на ранніх стадіях процесу ранового загоєння. Рання фаза загоєння, протягом якої призначення інсуліну має вирішальне значення, є періодом запальної відповіді. Виявлення порушень у цій фазі у тварин з діабетом корелює з відомими даними про порушення функціональної активності лейкоцитів у хворих на діабет. При цьому має місце зниження хемотаксису та фагоцитозу [62, 200-202].

Підвищення рівня активних форм кисню та прозапальних цитокінів також призводить до зростання концентрації матриксної металопротеїнази у рановій рідині, що відображається на розщепленні та розпаді компонентів внутрішньоклітинного матриксу та закритті рани. Крім того, матриксна металопротеїназа має здатність руйнувати фактори росту та цитокіни, необхідні для загоєння. У результаті, недостатність продукції цитокінів у процесі загоєння призводить до хронізації ранового процесу. За даними інших авторів, цитокіни, які тривало містяться у рановій рідині незагоюваної рани

пригнічують ріст та сприяють морфологічним змінам нормальних фібробластів шкіри, що також сприяє довготривалій регенерації дефектів шкіри [204-208].

У нашому аналізі зразків травмованої шкіри щурів молодого віку із хронічною гіперглікемією на 14-ту добу виявилось, що повної епітелізації ран не відбулось. Лише біля крайових ділянок дефекту спостерігалось проростання епідермісу без чіткого порядку у клітинних шарах. Привертало увагу, що у його товщі зберігалися клітини макрофагально-лейкоцитарного ряду, залишки некротичного детриту, великі пустоти та розриви. Формування повноцінної дерми не відбулося, натомість був утворений суцільний шар сполучної тканини у товщі якого нами були виявлені лейкоцити, макрофаги, лімфоцити, зруйновані еритроцити, залишки клітинного та тканинного детриту, а також судини, просвіт яких був дуже широким, а стінки були неповноцінними.

У тварин зрілого віку із хронічною гіперглікемією повного заміщення рани епідермісом, також ми не спостерігали, лише біля її крайових ділянок. У ньому ми не спостерігали формування повноцінної базальної мембрани, внаслідок чого базаліоцити не мали міцного зчеплення, спостерігалось їх проникнення у товщу нижче лежачої сполучної тканини. Також, слід зазначити, що між шипуватими кератиноцитами спостерігалися нейтрофіли та залишки зруйнованих клітин. На межі між епідермісом та дермою спостерігалися капіляри із зруйнованими стінками та локальні крововиливи.

У щурів старечого віку із хронічною гіперглікемією на 14-ту добу дослідження рана частково була вистелена неповноцінним епідермісом, у якому спостерігалось порушення процесів кератинізації, проростання клітин епідермісу у сполучну тканину дерми. У його товщі відмічалось утворення пустот, які із середини були вистелені кератиноцитами. Дерма була представлена щільною сполучною тканиною, у якій відмічались локальні ділянки запального інфільтрату. Ангіогенез був нерівномірним. Капіляри були неповноцінними. Артеріоли мали потовщенні оболонки та периваскулярний інфільтрат.

Отже, вищезазначений мікроскопічний аналіз зразків регенератів шкіри тварин усіх вікових груп із хронічною гіперглікемією показав, що на 14-ту добу не відбулось повного розсмоктування запального інфільтрату й розвитку повноцінного неоангіогенезу.

Гіперглікемія спричинює негативний вплив на регенеративні можливості шкірних покривів. Це пов'язано з ефектами кінцевих продуктів глікування, які індукують продукцію факторів запалення (ФНП α , ІЛ-1) та порушують синтез колагену фібробластами. У результаті патогенного впливу гіперглікемії відбувається значна кількість молекулярних та клітинних порушень, рана не проходить етапи загоєння, та зупиняється, у більшості випадків, на фазі запалення [184-186].

Дослідження S. Leibovich та R. Ross свідчать, що розлади загоєння ран у період запальної фази, особливо елімінація макрофагів, є безпосередньою причиною подальшого порушення проліферації фібробластів та синтезу колагену. Таким чином, незадовільний результат загоєння ран у пацієнтів з цукровим діабетом може бути пов'язаний з дефектом запальної відповіді [87].

За умов хронічної гіперглікемії фібробласти можуть мати фенотип «старіючих» клітин, демонструючи низьку відповідь на ТФР- β та ТФР, міграційну та проліферативну здатність, а також схильність до апоптозу [210, 211].

У нашому дослідженні порушень у проліферації фібробластів та синтезу колагену з формуванням сполучнотканинного шара регенерата у щурів усіх вікових груп ми не спостерігали. Однак, слід зазначити, що у ході експерименту ми виявили ознаки затримання елімінації запального інфільтрата на всіх термінах експерименту, особливо на ранніх.

Низька інтенсивність реепітелізації у тривало регенеруючих ранах може бути пов'язана зі зниженням швидкості міграції та проліферації кератиноцитів, на які впливають багато факторів: склад матриксу та активність цитокінів, що синтезуються фібробластами та макрофагами у

ранове середовище. У тривало регенеруючих ранах їх рівень знижений, кератиноцити не мають здатності мігрувати [210, 211].

Під час вивчення регенерації шкіри щурів із хронічною гіперглікемією на 21-шу добу експерименту, ми виявили, що найменша площа дефекта шкіри була у щурів зрілого віку. У тварин старечого віку площа ураження залишалась найбільшою. Але, слід зазначити, що повної епітелізації ран у цей термін дослідження у жодній групі щурів із хронічною гіперглікемією не відбулося. Також, привертало увагу, що у регенератах шкіри в усіх піддослідних щурів в утвореному епітелії ми спостерігали порушення процесів кератинізації, неповноцінну базальну мембрану, внаслідок чого відбувалось проникнення клітин епітелію у товщу сполучної тканини дерми, у якій чіткого формування на сосочковий та сітчастий шари ми не виявили.

У щурів зрілого віку безпосередньо під епітелієм спостерігалось щільне розміщення пучків колагенових волокон між якими відмічалася велика кількість судин мікроциркуляторного русла. Судини мали нормальні повнокровні просвіти. Однак у нижчих шарах сполучна тканина містила більше аморфного матриксу та осередки запального інфільтрату. Кровоносні судини мали розширені просвіти та були малокровними. Утворення волосяних фолікулів та сальних залоз ми не спостерігали. У зернистому шарі спостерігалися концентричні агрегати кератину.

У щурів старечого віку із хронічною гіперглікемією на 21-шу добу дослідження між клітинами епідермісу та у верхніх шарах дерми спостерігалися лімфоцити та сегментоядерні нейтрофіли. Роговий шар містив залишки зруйнованих органел, сполучення між корнеоцитами не було міцним.

У дослідженні Іванова Е. В. у щурів із ЦД у порівнянні з контрольною групою загоєння ран сповільнилося на пізніх етапах (24-та доба). При цьому, середні значення розміру рани в різні терміни експерименту між групами ЦД та контролю значимо не відрізнялися. Але, було відмічено, що до кінця експерименту в групі контролю у всіх тварин рана повністю зажила, а в групі тварин з ЦД спостерігали варіабельність швидкості загоєння ран [299].

У нашому дослідженні на ранніх термінах дослідження швидкість загоєння ран та зменшення їх площ у контрольних групах була більше, ніж у групах із хронічною гіперглікемією. На 21-шу добу в обох групах із хронічною гіперглікемією швидкість загоєння рани виросла, а у груп контролю, навпаки, зменшилася. При цьому у щурів зрілого віку контрольної групи площа рани була найменшою серед усіх груп. У всіх інших тварин на 21-шу добу повної епітелізації рани не відбулося. У щурів із ХГ на 21-шу добу площа рани була меншою у щурів зрілого віку, а швидкість її загоєння більшою порівняно з групою тварин старечого віку із ХГ.

Під час морфометричного аналізу регенератів шкіри щурів усіх вікових груп із хронічною гіперглікемією, ми виявили що товщина епідермісу та дерми найбільшою серед усіх тварин у кінці дослідження була у щурів зрілого віку. Найменшою вона виявилася у щурів старечого віку (рис. 4.10 та 4.11).

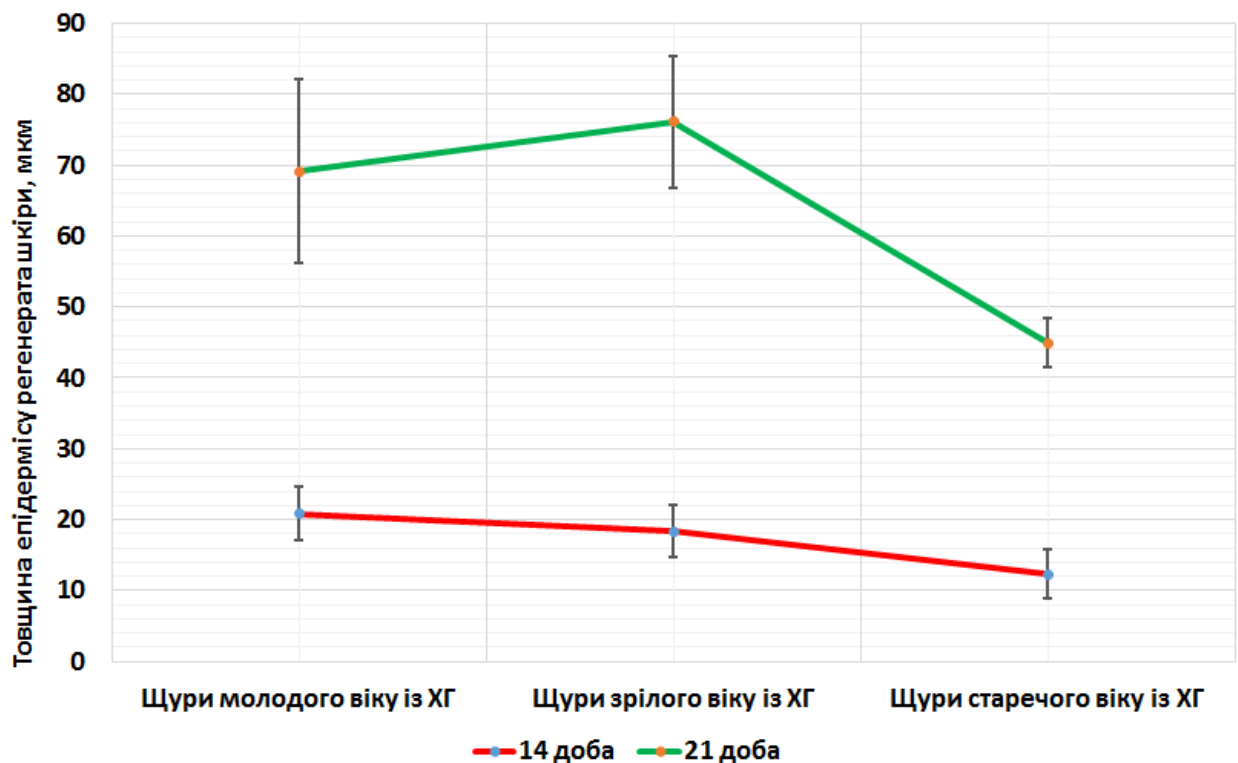


Рисунок 4.10 – Динаміка показників товщин епідерміса у регенератах шкіри щурів із хронічною гіперглікемією груп порівняння

Порівнюючі ці показники зі контрольними, то ми виявили, що на всіх термінах дослідження товщина епідермісу та дерми найгірше відновились у тварин старечого віку. У щурів зрілого віку із хронічною гіперглікемією на ранніх термінах дослідження товщина дерми була найбільшою відповідно усіх тварин до їх контрольних значень, а на останніх термінах експерименту у тварин цієї ж вікової групи товщина епідермісу виявилася найбільшою.

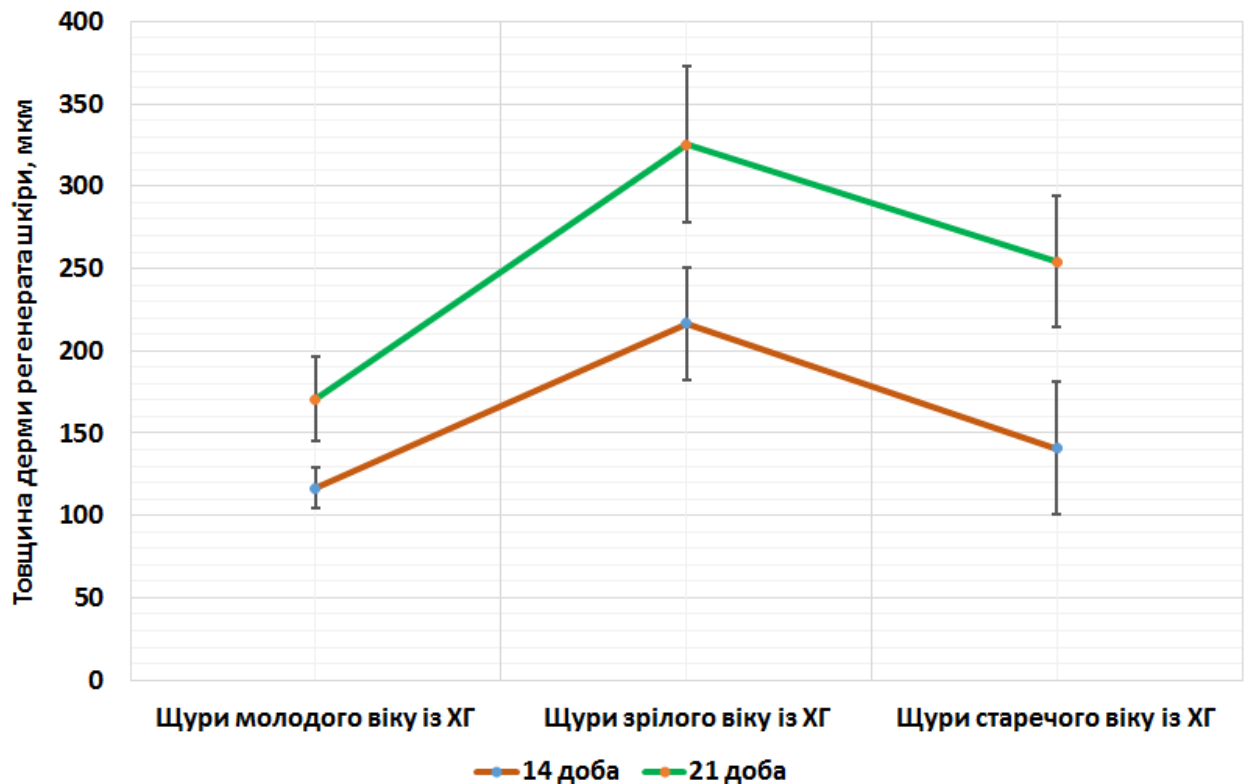


Рисунок 4.11 – Динаміка показників товщин дерми у регенератах шкіри щурів із хронічною гіперглікемією груп порівняння

Регенерація рани являє собою складну проблему для сучасної охорони здоров'я, оскільки далеко не завжди існуючі методики лікування є ефективними, що обумовлює необхідність освоєння нових перспективних методів [24, 297]. У зв'язку з цим на сьогодні великий інтерес у дослідників викликає можливість використання ЗТП при лікуванні хворих із пошкодженнями м'яких тканин [216, 304].

Застосування ЗТП набуває все більшого інтересу в регенеративній медицині завдяки своєму потенціалу стимулювати та прискорювати загоєння тканин [208, 217, 222, 298]. ЗТП містить platelet-derived growth factor (PDGF),

transforming growth factor beta (TGF- β), fibroblast growth factor (FGF), epithelium growth factor (EGF) та vascular endothelial growth factor (VEGF), що мають здатність стимулювати ангиогенез та збільшувати диференціювання фібробластів, прискорюючи процеси загоювання ран. Крім того, PDGF та EGF – це головні чинники, що впливають на проліферацію, міграцію фібробластів та синтез колагену. За даними літератури, підвищена концентрація цих факторів прискорює загоєння рани в 2 – 3 рази [215, 224, 225, 236, 306].

Epithelium growth factor відіграє життєво важливу роль у проліферації, диференціюванні, міграції клітин епітелію та кератиноцитів. Вважається, що EGF є ефективним у стимулюванні епітелізації глибоких пошкоджень. Більша концентрація EGF виявляється на початку процесу загоєння [236, 237].

Fibroblast growth factor сприяє реепітелізації, ангиогенезу та прискорює утворення грануляційної тканини. Дослідження на моделях діабетичної миші показали прискорене загоєння ран [220, 221, 244].

ЗТП містить не тільки фактори росту, але й адгезивні молекули та цитокіни, що стимулюють репараційні та анаболічні процеси у пошкоджених тканинах, а також володіють протизапальним ефектом [223, 244, 247].

У своїх дослідженнях по вивченню структурних особливостей загоєння асептичних ран м'яких тканин А. А. Глухов з'ясував, що на 14-ту добу при використанні тромбоцитарного концентрату відбувалась епітелізація рани з повною диференціацією клітинних шарів епідермісу. При цьому товщина його була збільшена внаслідок потовщення шиповатого та зернистого шарів. До 14-ї доби дослідження вже були сформовані сосочковий та сітчасті шари дерми. Клітинний компонент дерми був представлений фібробластами, тканинними базофілами, нерідко зустрічалися клітини макрофагального ряду. В окремих препаратах зустрічалися ділянки великої клітинної інфільтрації, що свідчило про залишкові явища запальної реакції. По периферії регенерату були сформовані зачатки волосяних фолікулів та сальних залоз. На периферії рани у дермі спостерігалися численні розширені кровоносні судини з ознаками стазу. Навколо окремих судин зберігалися ознаки периваскулярного набряку [249].

У нашому дослідженні у щурів молодого та зрілого віку із хронічною гіперглікемією на ранніх термінах регенерації, яким вводили збагачену тромбоцитами плазму ми спостерігали більш швидке проростання епідермісу до центру рани під геморагічною кірочкою порівняно із групами тварин із хронічною гіперглікемією. У тварин молодого віку новоутворений епітелій під кіркою був тонким, повноцінної кератинізації не спостерігалось. Клітинні шари добре простежувалися. При ультрамікроскопічному дослідженні регенерату шкіри ми спостерігали зруйновані тромбоцити із пікнотичними ядрами, багаточисленими включеннями та везикулами. У щурів зрілого віку в місці контакту з інтактною шкірою відзначалося потовження епідермісу та вогнища запального інфільтрата у товщі грануляційної тканини.

У щурів старечого віку із змодельованою хронічною гіпреглікемією та при введенні ЗТП на місці дефекта ми спостерігали утворення струпа, який покривав всю площу рани. При гістологічному дослідженні було виявлено проростання тонкого шару базальних клітин під геморрагічною кіркою лише біля інтактної шкіри. Верхні шари регенерату були заповненні грануляційною тканиною із ділянками некротичного детриту. У більш глибоких шарах регенерату спостерігалось очищення рани від запального інфільтрату та розвиток сполучної тканини.

На 14-ту добу дослідження регенерата шкіри щурів молодого віку із змодельованою хронічною гіперглікемією, яким вводили ЗТП епітелізація рани відбулась не повністю. Центральна частина дефекту не була вистелена новим епітелієм. У перикрайових ділянках рани у базальному шарі епітелію ми спостерігали значну кількість мітозів. Повноцінної базальної мембрани ми не виявили. Під епідермісом ми спостерігали судини з різним діаметром просвітів. Також, відзначалися макрофаги та лімфоцити.

Площа рани у щурів зрілого віку із хронічною гіперглікемією, яким вводили ЗТП на 14-ту добу експерименту була меншою порівняно із тваринами без застосування ЗТП (рис. 4.12). Новий епідерміс мав переважно рівномірну товщину. Судини розміщувалися більш однорідно по площі зрізу

та мали різні діаметри просвітів. Також у новоутвореній дермі серед пучків паралельно організованих колагенових волокон спостерігалися телоцити та поодинокі відмічалися залишки тромбоцитів.

На 14-ту добу дослідження регенерату у щурів старечого віку із хронічною гіперглікемією та введенням ЗТП проростання епідермісу до центру дефекта відбулось краще ніж у тварин із ХГ, яким не вводили ЗТП того ж терміну спостереження. Однак, епітелій мав нерівномірну товщину, значні проростання у товщу дерми, під якими спостерігалися периваскулярні скупчення лімфоцитів. У товщі дерми відмічалися ділянки формування сітчатого шару, поодинокі зачатки волосяних фолікулів та скупчень жирових клітин. У більш глибоких шарах регенерату зберігались поодинокі островці грануляційної тканини з запальним детритом. Венули мали вузькі просвіти та плоскі ендотеліоцити з розширеними проміжками між ендотеліоцитами.

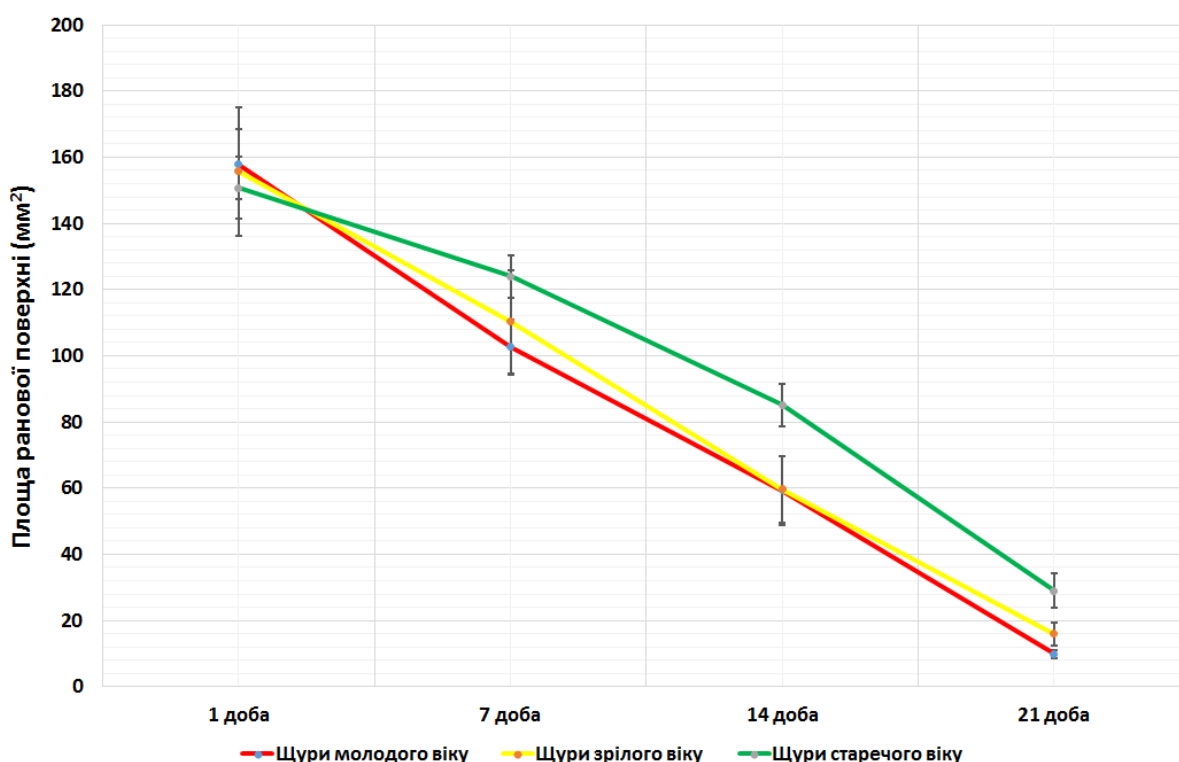


Рисунок 4.12 – Динаміка показників площ ранових поверхонь тварин груп порівняння із хронічною гіперглікемією, яким вводили ЗТП

Регенераційна здатність PRP допомагає скоротити час відновлення пошкоджень тканин. Babaei et al. при місцевому застосуванні PRP спостерігали формування здорової грануляційної тканини та раннє повне загоєння рани шкіри у 150 пацієнтів із діабетичною виразкою стопи. Дослідники демонстрували потенційну безпеку та ефективність застосування PRP для хронічних незагоєваних ран. Вони відмічали значне зменшення розміру дефекту, відсутність побічних ефектів, зменшення болю та запалення у місці пошкодження у всіх пацієнтів, які отримували PRP. Подібні позитивні результати були отримані при вторинних ранах м'яких тканин після місцевого застосування аутологічної PRP, де спостерігалася посилена неоваскуляризація та реепітелізація [255, 256, 259, 261].

Після проведення багаточисленних досліджень було встановлено, що після місцевої обробки ран шкіри аутологічною плазмою пришвидшується їх загоєння [258, 260, 262, 268].

У своєму дослідженні ми виявили, що застосування ЗТП у щурів зрілого віку із хронічною гіперглікемією сприяє збільшенню швидкості загоєнню рани порівняно із тваринами, яким не вводили ЗТП. При цьому, швидкість на ранніх та пізніх термінах регенерації у тварин зрілого віку була однаковою. У тварин старечого віку із хронічною гіперглікемією введення збагаченої тромбоцитами плазми сприяло збільшенню швидкості епітелізації ран, як на ранніх так і на пізніх термінах дослідження майже в 2 рази (рис. 4.13).

У нашому дослідженні у щурів зрілого віку, яким вводили ЗТП на 21-шу добу епітелізація рани відбулось майже повністю. Клітини епідермісу локально проростали у сполучну тканину дерми, у якій повної реорганізації на сосочковий та сітчастий шари не відбулось. У щурів старечого віку, яким вводили ЗТП у кінці дослідження повної епітелізації рани не відбулося. Рана була заповнена сполучною тканиною. Епідерміс мав нерівномірну товщину, значні розростання та агрегати кератину. Реорганізацію дерми на сосочковий та сітчастий шари ми не спостерігали.

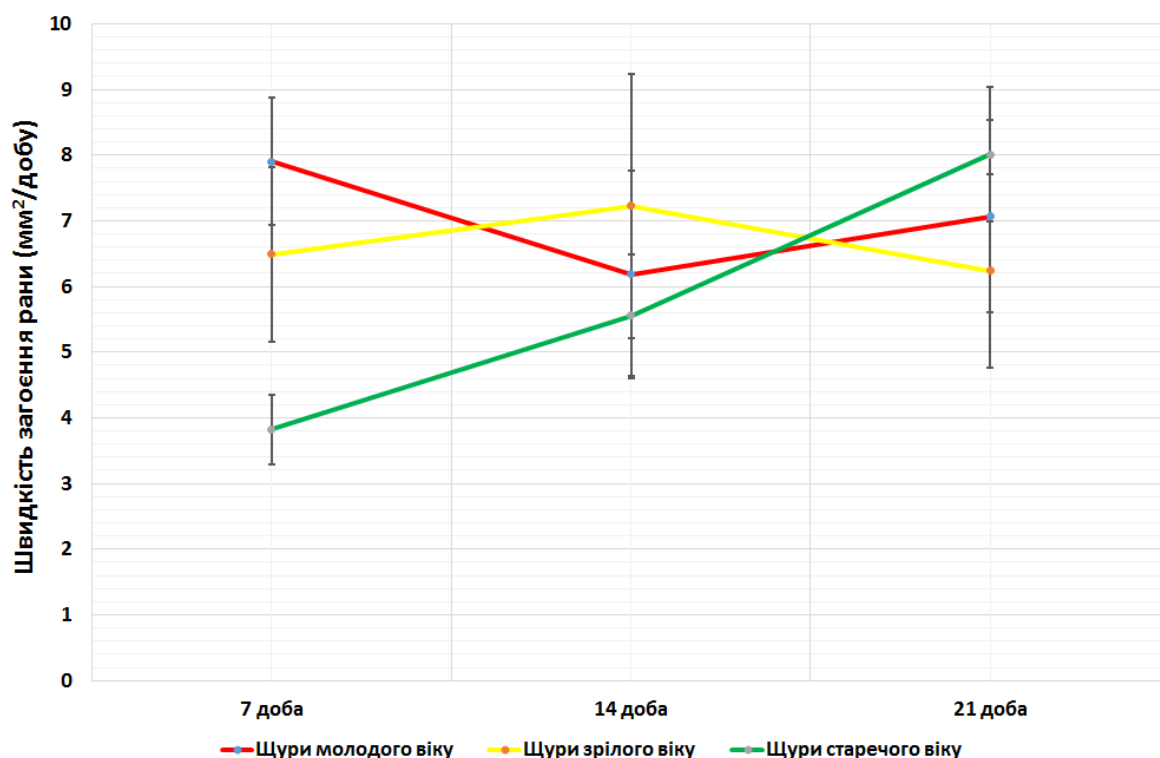


Рисунок 4.13 – Динаміка показників швидкості загоєння ран тварин із хронічною гіперглікемією груп порівняння, яким вводили ЗТП

У тварин старечого віку рана була заповнена сполучною тканиною та новоутвореним епітелієм. При цьому, повністю проростання епітелію до центру дефекта не відбулося. Епітелій мав нерівномірну товщину за рахунок локального розростання. Спостерігались концентричні агрегати кератину у товщі епідермісу. Щільність судин у дермі була меншою порівняно з контрольною групою. Реорганізації дерми на сосочковий та сітчастий шари ми не спостерігали.

Використовуючи експериментальні підходи дослідники вивчили вплив тромбоцитарного концентрату на властивості проліферації та міграції мезенхімальних стовбурових клітин та фібробластів шкіри, демонструючи значну індукцію міграційної здатності та швидкості проліферації. Крім того, вони продемонстрували прискорене загоєння ран шкіри після лікування PRP-перев'язками та швидшу неоваскуляризацію ураженої ділянки [263, 264].

Показано, що при застосуванні PRP спостерігається більш високий синтез колагену I типу та матричної металопротеїнази, прискорюється дозрівання грануляційної тканини, посилюється ангіогенез, зменшується

утворення рубців завдяки своєчасній епітелізації рани та добрій організації колагенових волокон порівняно з ранами, які лікували традиційними методиками [269-272].

В. Г. Богдан та співавтори показали, що PRP стимулює фібробласти синтезувати колаген при трофічних виразках венозної етіології. На їх думку, використання PRP дозволяє активувати синтез сполучної тканини без зміни її структури та складу [271].

G. Nicoletti з колегами виявили, що використання PRP сприяє проліферації клітин епітелію та фібробластів. Застосування PRP продемонструвало інгібуючий ефект на деструкцію колагену та еластичні волокна, а також позитивно сприяло реорганізації цих волокон [272].

Е. В. Липова та співавтори відзначили у ранах шкіри, через добу після застосування PRP, тенденцію до організації структури тканини, появу мітозів базальних клітин, фібробластів, колагенових волокон, що свідчить про активізацію процесів регенерації. Вони показали, що на 5-й день структура тканини була більш організованою, з'явилися стовпчики щільно упакованих базальних клітин. По краях рани відзначалася епітелізація. Збільшилася кількість фібробластів та пучків колагену. Почався ангиогенез. У групі, в якій застосовували традиційні підходи до лікування через добу не було відзначено ніяких змін. На 5-й день спостерігався ангиогенез, але він був виражений набагато слабше, ніж у групах із PRP. Відмічалася дезорганізація пучків колагену. У процесі лікування PRP не було відмічено ніяких небажаних ефектів, аномального формування тканини, розвитку гіпертрофічних рубців, а також випадків вторинного інфікування рани [21].

Оцінюючи процеси ангиогенезу у зрізах травмованих ділянках шкіри, ми виявили, що між щурами із хронічною гіперглікемією, яким вводили ЗТП та контрольною групою зрілого віку на 21-шу добу дослідження достовірної різниці у показнику щільності судин мікроциркуляторного русла не було. Тоді, коли у групі тварин зрілого віку з ХГ щільність судин була меншою порівняно з контролем. Щільність судин у зрізах шкіри щурів старечого віку із ХГ, яким вводили ЗТП була достовірно нижчою ніж у контрольній групі (рис. 4.14).

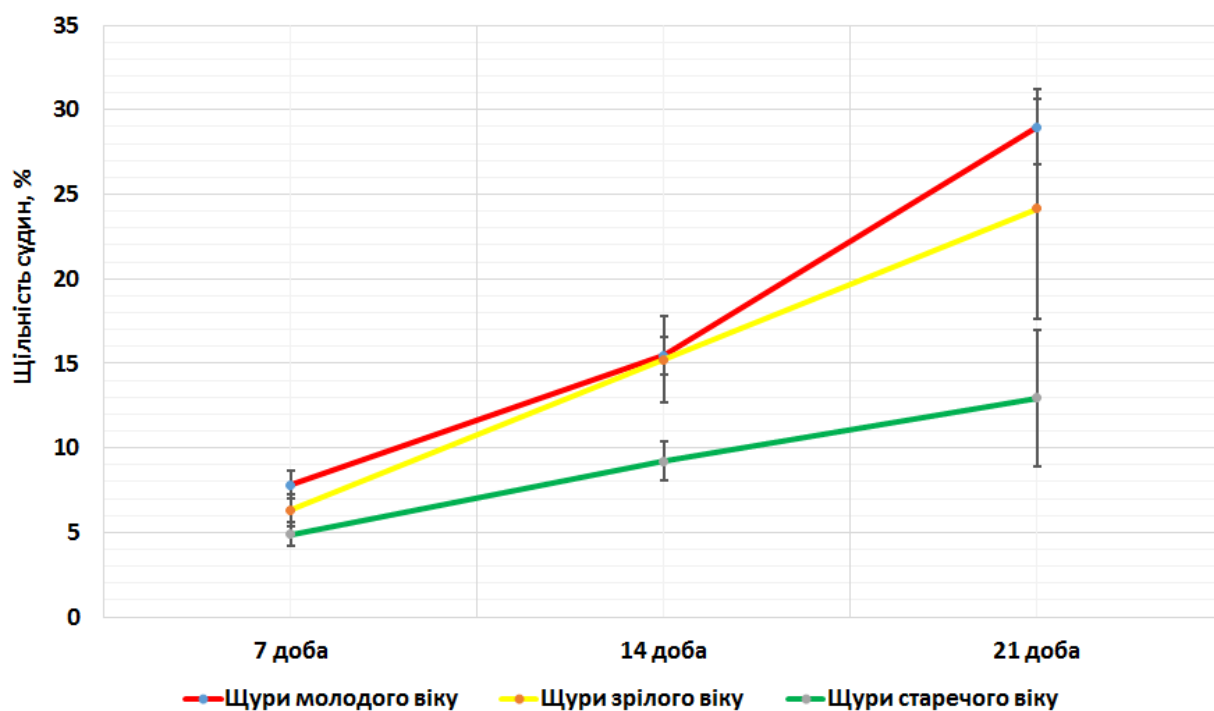


Рисунок 4.14 – Динаміка показників щільності судин у регенератах шкіри тварин груп порівняння із хронічною гіперглікемією, яким вводили ЗТП

Згідно досліджень М. В. Аралова та ін. застосування ЗТП у лікуванні ран в експерименті, показало, що на 3-ю добу набряку та гіперемії не спостерігалось у жодній групі. Загоєння проходило під тонким струпом. На 5-у добу у всіх тварин рани гоїлися вторинним натягом, набряку та гіперемії не було. Однак площа ран була різною. У контрольній групі вона була в 2 рази більше порівняно з групою, яким вводили ЗТП. Максимальне скорочення площі рани було у тварин, яким вводили ЗТП. При гістологічному дослідженні біоптатів травмованої шкіри у тварин із ЗТП на 5-ту добу на всьому зрізі рани було видно епідерміс, структуровану дерму та незначну локальну периваскулярну інфільтрацію. У мікропрепаратах контрольної групи було відзначено крайову епітелізацію, дно рани було вистелено пухкою волокнистою сполучною тканиною з лейкоцитарною інфільтрацією, що свідчить про запальні зміни у рані. Отримані дані експериментальних досліджень вказують на досить високу ефективність застосування ЗТП для стимуляції регенерації хронічних ран [276].

Е. Н. Горбач та співавтори з'ясували, що на 18-ту добу після застосування PRP колагенові волокна у ділянці шкірного регенерату не мали певної орієнтації. У прикордонних тканинах із ділянкою рани кількість мітозів в епідермісі була більше ніж ближче до центра дефекта. У цей період у регенераті формувалися зачатки волосяних фолікулів та сальних залоз. На 28-му добу рана була покрита сформованим епідермісом. Іноді у крайових ділянках спостерігався акантоз. Роговий шар в цей період мав незначну товщину. Базальний і шипуватий шари були потовщені за рахунок збільшення в них клітинних рядів. Рана була заповнена щільною неоформленою волокнистою сполучною тканиною. Між пучками колагенових волокон утворювалися проміжки (щілини), в які поступово проникали судини мікроциркуляторного русла. Клітинний склад був представлений в основному фібробластами різного ступеня диференціювання. У периваскулярних просторах спостерігалися поодинокі макрофаги. Еластичні волокна були нечисленні. У зоні дефекту вздовж судин спостерігалися їх незрілі форми. Найбільш зріла волокниста сполучна тканина формувалася у ділянці рани через місяць після її загоєння [276].

Таким чином, отримані результати показали, що застосування збагаченої тромбоцитами плазми покращує процес регенерації ран шкіри за умов впливу на організм хронічної гіпергілкемії, що полягає у пришвидшенні їх епітелізації, відновленні правильної структури епідермісу та дерми.

ВИСНОВКИ

У представленій дисертаційній роботі наведене теоретичне узагальнення та рішення наукового завдання, що полягає у визначенні морфологічних особливостей регенерації шкіри за умов впливу хронічної гіперглікемії та досліджена можливість корекції репаративних процесів шкіри за допомогою збагаченої тромбоцитами плазми.

1. Травма шкіри запускає активацію механізмів, які направлені на відновлення втраченої тканини. У тварин молодого віку контрольної групи спостерігається більш швидке загоєння рани на ранніх термінах регенерації, що обумовлено віковим аспектом та морфологічними особливостями, а саме: наявністю у регенераті шкіри телоцитів та найбільшою щільністю судин серед усіх тварин ($(11,27 \pm 1,81)\%$ на 7-му добу дослідження та $(30,95 \pm 1,704)\%$ у кінці експерименту). На пізніх термінах регенерації у тварин молодого та зрілого віку епітелізація ранової поверхні відбулась майже повністю (площа рани становила $(0,77 \pm 0,11)$ мм² у тварин прогресивного та $(1,42 \pm 0,20)$ мм² у тварин стабільного віку). Для тварин старечого віку була характерна не повна епітелізація рани, порушення процесів кератинізації та реорганізації сполучної тканини дерми у сосочковий та сітчастий шари, що обумовлено віковими особливостями ранового загоєння.

2. Хронічна гіперглікемія призводить до сповільнення процесів проліферації та ремоделювання, що збільшує тривалість загоєння ранових дефектів у тварин усіх вікових груп. Площа рани у тварин молодого віку у кінці експерименту зменшилась на 68,68% ($p < 0,001$), а у зрілих тварин – на 70,63% ($p < 0,001$) від початкової завданої площі ранового дефекту. У тварин старечого віку із хронічною гіперглікемією регенерація шкіри відбулась найгірше, площа рани зменшилась у кінці дослідження лише на 52,004% ($p < 0,001$) відповідно площі завданої рани.

3. Хронічна гіперглікемія чинить негативний вплив на процеси кератинізації епідермісу, ремоделювання новоутвореної дерми та утворення

волосяного апарату шкіри у щурів усіх вікових груп. Порушується формування базальної мембрани та диференціація кератиноцитів. Затримується елімінація запального інфільтрата у регенератах.

4. Внаслідок пригнічення ангиогенезу у тварин усіх вікових груп відзначена низька щільність судин мікроциркуляторного русла. У щурів молодого віку на 7-му та 14-ту добу дослідження щільність судин не відрізнялася від показників щурів зрілого віку ($p = 0,4329$) та ($p = 0,5545$). У кінці експерименту щільність судин у регенератах шкіри щурів прогресивного віку була меншою на 36,28% ($p < 0,001$) відповідно контролю, а у щурів стабільного віку менше на 45,36% ($p < 0,001$). У щурів старечого віку із хронічною гіперглікемією на 21-шу добу регенерації щільність судин була на 49,08% ($p < 0,0224$) менше контрольного показника.

5. Ін'єкції збагаченої тромбоцитами плазми призводять до частково нівелювання негативного впливу хронічної гіперглікемії на регенерацію шкіри, що проявлялося інтенсивнішому новоутворенню кровоносних судин та прискоренню загоєння ран в усіх вікових групах тварин. Краще відбувалися процеси проліферації, диференціювання кератиноцитів та ремоделювання дерми. Найбільш ефективним було застосування збагаченої тромбоцитами плазми у щурів молодого та зрілого віку, що достовірно призвело до зменшення ранових поверхонь (площа рани у щурів молодого віку зменшилась на 93,78% ($p < 0,001$), у щурів зрілого віку на 89,74% ($p < 0,001$) відповідно площі завданої рани на останньому терміні дослідження). У щурів старечого віку введення збагаченої тромбоцитами плазми призвело до зменшення ранової поверхні на 80,78% ($p = 0,179$) відповідно початку дослідження.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Global report on diabetes. World Health Organization, in 2006. [Internet]. 2019. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241565257>.
2. Асфандиярова НС. Смертность при сахарном диабете. Сахарный диабет. 2015;18(4):12-21.
3. IDF Diabetes Atlas 2021: 10th edition. [Internet]. 2021. Available from: www.diabetesatlas.org.
4. International Diabetes Federation. Diabetes Atlas. 5th Edition 2012 Update, Brussels. [Internet]. 2012. Available from: www.idf.org/diabetesatlas
5. World Health Organization. Diabetes. [Internet]. Available from: https://www.who.int/health-topics/diabetes#tab=tab_1
6. Antoshchuk RYa. Tsukrovyy diabet: etiologiya zakhvoryuvannya. Molodyy uchenyy. 2016;6:277-80.
7. Ferrari SL, Abrahamsen B, Napoli N. et al. Diagnosis and management of bone fragility in diabetes: an emerging challenge. Osteoporosis International. 2018;29(12):2585-2596. doi: [org/10.1007/s00198-018-4650-2](https://doi.org/10.1007/s00198-018-4650-2).
8. Центр громадського здоров'я МОЗ України: В Україні вивчатимуть поширеність факторів ризику неінфекційних захворювань. [Інтернет]. Доступно: <https://phc.org.ua/news/v-ukraini-vivchatimut-poshirenist-faktoriv-riziku-neinfekciynikh-zakhvoryuvan>.
9. Smirnov AV, Nakula MA. Sakharnyy diabet 1-go tipa u detey i podrostkov: etiopatogenez, klinika, lecheniye. Lechashchiy vrach. 2015;6:31-6.
10. Sokolova LK. Sakharnyy diabet 2-go tipa. Rol' semeynogo vracha. Ukrain's'kiy medichniy chasopis. 2012;1(87):70-4.
11. Ntrebenko OK. Mladencheskiye istoki khronicheskikh neinfektsionnykh zabolevaniy: sakharnyy diabet, ozhireniye, serdechno-sosudistyeye zabolevaniya. Pediatriya: zhurnal imeni G. N. Speranskogo. 2014;5(93):109-17.

12. Buryakovskaya AA, Isayeva AS. Sakharnyy diabet: rol' geneticheskikh faktorov v razvitii zabolevaniya. *Mizhnarodniy endokrinologichniy zhurnal*. 2017;1(13):110-9.
13. Центр медичної статистики Міністерства охорони здоров'я України [Інтернет]. Доступно: <http://medstat.gov.ua/ukr/main.html>.
14. Бенца ТМ. Хронические осложнения сахарного диабета: рациональные подходы к диагностике и лечению. *Ліки України*. 2015;4(25):18-21.
15. Дедова ИИ, Шестаковой МВ. Сахарный диабет: острые и хронические осложнения. Издательство «Медицинское информационное агентство». 2011:480 с.
16. Штемберг ЛВ, Францева АП, Состояние проблемы патогенеза, этиологии и диагностических критериев сахарного диабета 1 типа. (Обзор литературы). *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2014;9:98-102.
17. Aldridge E, Sethi D, Yon Y. Травматизм: призыв к действиям в области общественного здравоохранения в странах Европы. Обновленная информация, представленная на основе разработанных ВОЗ глобальных оценочных показателей здоровья за 2015 г. 2015:30 с.
18. Фоміна ПД. Хірургічні хвороби: підруч. для лікаря за спеціальністю «Загальна практика-сімейна медицина». К.: Бібліотека Здоров'я України, 2015:496 с.
19. Sen CK, Gordillo GM, Roy S. et al. Human skin wounds: a major and snowballing threat to public health and the economy. *Wound Repair Regen*. 2009;17(6):763-71. doi: 10.1111/j.1524-475X.2009.00543.x.
20. Mehanni SS, Ibrahim NF, Hassan AR, Rashed LA. New approach of bone marrow-derived mesenchymal stem cells and human amniotic epithelial cells applications in accelerating wound healing of irradiated albino rats. *Int. J. Stem Cells*. 2013;6(1):45-54. doi: 10.15283/ijsc.2013.6.1.45.

21. Lipova EV, Pokrovskii KA, Gryazeva NV. Use of autologous platelet rich plasma for the treatment of chronic cutaneous nonhealing wounds. *Annals of surgery*. 2012;5:41-44.
22. Милица НН, Солдусова ВВ. Прогнозирование течения раневого процесса у больных с гнойно-некротическими осложнениями диабетической стопы. *Український журнал хірургії*. 2009;1:94-96.
23. Омеляновский ВВ, Шестакова МВ, Авксентьева МВ, Игнатьева ВИ. Экономические аспекты сахарного диабета в отечественной практике. *Медицинские технологии. Оценка и выбор*. 2015;4(22):43-60.
24. Geremicca W, Fonte C, Vecchio S. Blood components for topical use in tissue regeneration: evaluation of corneal lesions treated with platelet lysate and considerations on repair mechanisms. *Blood Transfus*. 2010;8(2):107-112. doi: 10.2450/2009.0091-09.
25. Пасечник АВ. Использование обогащенной тромбоцитами плазмы при лечении ран различной этиологии. *Проблеми безперервної медичної освіти і науки*. 2015(2):84-87.
26. Suryanarayan S, Budamakuntla L, Khadri SIS. et al. Efficacy of autologous platelet-rich plasma in the treatment of chronic nonhealing leg ulcers. *Plastic Aesthetic Res*. 2014;1(2):65 -69. doi.org/10.4103/2347-9264.139703.
27. Carducci M, Bozzetti M, Spezia M. et al. Treatment of a refractory skin ulcer using punch graft and autologous platelet-rich plasma. *Case reports in dermatological medicine*. 2016;2016:7685939. doi: 10.1155/2016/7685939.
28. Гилевич ИВ, Федоренко ТВ, Коломийцева ЕА. и др.. Обогащенная тромбоцитами плазма в лечении длительно незаживающих язв нижних конечностей. *Инновационная медицина Кубани*. 2018;(4):17-24.
29. Сухова ДС, Большакова ОВ. Регенеративные возможности кожи. *Международный студенческий научный вестник*. 2018;5:1-7.
30. Weng T, Wu P, Zhang W, et al. Regeneration of skin appendages and nerves: current status and further challenges. *J Transl Med*. 2020;18(1):53. doi:10.1186/s12967-020-02248-5.

31. Greaves NS, Iqbal SA, Baguneid M, Bayat A. The role of skin substitutes in the management of chronic cutaneous wounds. *Wound Repair Regen.* 2013;21(2):194-210.
32. Аксенова ВИ, Шарипова ММ, Извольская МС. Репаративная регенерация тканей кожи крыс под действием растительных препаратов метосепт и витанорм. *Вестник восстановительной медицины.* 2011;3(43):2-9.
33. Shilo S, Roth S, Amzel T, et al. Cutaneous wound healing after treatment with plant-derived human recombinant collagen flowable gel. *Tissue Eng.* 2013;19(13-14):1519-1526.
34. Liu S, Thompson K, Leask A. CCN2 expression by fibroblasts is not required for cutaneous tissue repair. *Wound Repair Regen.* 2014;22(1):119-124.
35. Іщенко Ю. Використання кріоконсервованої сироватки кордової крові в лікуванні холодових ран (експериментальне дослідження). Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук, Харків, 2016.
36. Blanpain C. Skin regeneration and repair. *Nature.* 2010(464):686-687. doi.org/10.1038/464686a.
37. Yannas IV, Tzeranis DS, So PTC. Regeneration of injured skin and peripheral nerves requires control of wound contraction, not scar formation. *Wound Repair Regen.* 2017;25(2):177-191. doi:10.1111/wrr.12516.
38. Саркисов ДС, Туманов ВИ. Общая патология человека. М.: Медицина. 1990;(2):99-322.
39. Бумейстер ВІ, Погорелов МВ. Сучасний погляд на репаративний остеогенез. *Світ медицини та біології.* 2008;4:104-110.
40. Даценко БМ. Раневой процесс как фундаментальная проблема современной клинической хирургии. *Вісник медичної української стоматологічної академії.* 2007;7(1-2):212-214.
41. Адо АД, Петров ИР. Патологическая физиология. Медгиз. 1957:539 с.
42. Альперн ДЕ. Патологическая физиология. Медгиз. 1954:583 с.
43. Аничков НН, Волкова КГ, Гаршин ВГ. Морфология заживления ран. Медгиз. 1951:123 с.

44. Давыдовский ИВ. Патологическая анатомия и патогенез болезней человека. Медгиз. 1956;1: 662 с.
45. Гирголав СС. Огнестрельная рана. Л. Воен.-мед. акад. 1956; 330 с.
46. Кузин МИ, Костюченко БМ. Принципы активного хирургического лечения гнойных ран. Всесоюзная конференция по ранам и раневой инфекции. 1977;96-98.
47. Стручков ВИ, Григорян АВ, Гостищев ВК. Гнойная рана. Медицина. 1975;310 с.
48. Понкиров С. Гнойно-септическая хирургия. Медицина. 1974; 481 с.
49. Форреста АП, Картера ДС, Маклеода ИБ. Хірургія. Основи та практика: у 2-х т.: [підручник для студ. мед. вузів]:пер. з англ.. Т. 1 / за ред.; ред. - консультант перекладу П. Джуль. – 3-тє вид.. – К.: Кобза, 1994. – 343 с.: ил. -27
50. Peacock EE, Winkle vW. Surgery and Biology of wound repair. 1970;615 p.
51. Ross R. The fibroblast and wound repair. Biol Rev Camb Philos Soc. 1968;43(1):51-96. doi: 10.1111/j.1469-185x.1968.tb01109.x.
52. Singer AJ, Clark RA. Cutaneous wound healing. N Engl J Med. 1999;341(10):738-46. doi: 10.1056/NEJM199909023411006.
53. Clark RAF. Wound repair: overview and general considerations. The molecular and cellular biology of wound repair. New York: Plenum Press;1996:3-35.
54. Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, Longaker MT. Wound repair and regeneration. Nature. 2008;453(7193):314-321. doi: 10.1038/nature07039.
55. Landén NX, Li D, Ståhle M. Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing. Cell Mol Life Sci. 2016;73(20):3861-3885. doi: 10.1007/s00018-016-2268-0.
56. Strbo N, Yin N, Stojadinovic O. Innate and adaptive immune responses in wound epithelialization. Adv Wound Care (New Rochelle). 2014;3(7):492-501. doi: 10.1089/wound.2012.0435.
57. Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. Cell 2010;140(6):805-20. doi: 10.1016/j.cell.2010.01.022.

58. Лопухин ЮМ, Савельев ВС. Хирургия. М:ГЭОТАР МЕДИЦИНА. 1997:1070 с.
59. Guo S, Dipietro LA. Factors affecting wound healing. *J Dent Res.* 2010;89(3):219-29. doi: 10.1177/0022034509359125. Epub 2010 Feb 5.
60. Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, Tomic-Canic M. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair Regen.* 2008;16(5):585-601. doi: 10.1111/j.1524-475X.2008.00410.x.
61. Shah JM, Omar E, Pai DR, Sood S. Cellular events and biomarkers of wound healing. *Indian Journal of Plastic Surgery.* 2012;45(2):220-8. doi: 10.4103/0970-0358.101282.
62. Sinno H, Prakash S. Complements and the wound healing cascade: an updated review. *Plast Surg Int.* 2013;1-7. doi: 10.1155/2013/146764.
63. Бордаков ВН. Рана. Раневой процесс. Принципы лечения ран: учеб.-метод. пособие. Минск: БГМУ. 2014:31 с.
64. Enoch S, Price PE. Cellular, molecular and biochemical differences in the pathophysiology of healing between acute wounds, chronic wounds and wounds in the aged. *World Wide Wounds.* 2004. URL: <http://www.worldwidewounds.com> (available: 27.11.2014).
65. Schultz GS, Davidson JM, Kirsner RS, Bornstein P, Herman IM. Dynamic reciprocity in the wound microenvironment. *Wound Repair Regen.* 2011;19(2):134-148. doi: 10.1111/j.1524-475X.2011.00673.x.
66. Diegelmann RF, Evans MC. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. *Frontiers in Bioscience.* 2004;9:283-9. doi: 10.2741/1184.
67. Reinke JM, Sorg H. Wound repair and regeneration. *European Surgical Research.* 2012;49(1):35-43. doi: 10.1159/000339613.
68. Brass LF. Thrombin and platelet activation. *Chest.* 2003;124(3):18S-25S. doi: 10.1378/chest.124.3_suppl.18s.
69. Vestweber D: How leukocytes cross the vascular endothelium. *Nat Rev Immunol.* 2015;15(11):692-704. doi: 10.1038/nri3908.

70. Schultz GS, Wysocki A. Interactions between extracellular matrix and growth factors in wound healing. *Wound Repair Regen.* 2009;17(2):153-162. doi: 10.1111/j.1524-475X.2009.00466.x.
71. Wu YS, Chen SN. Apoptotic cell: linkage of inflammation and wound healing. *Frontiers in Pharmacology.* 2014;5(1):1-6 doi: 10.3389/fphar.2014.00001.
72. Hoffman M, Harger A, Lenkowski A. et al. Cutaneous wound healing is impaired in hemophilia B. *Blood.* 2006;108(9):3053-3060. doi.org/10.1182/blood-2006-05-020495.
73. Blair P, Flaumenhaft R. Platelet α -granules: basic biology and clinical correlates. *Blood Reviews.* 2009;23(4):177-189. doi: 10.1016/j.blre.2009.04.001.
74. Yang HS, Shin J, Bhang SH. et al. Enhanced skin wound healing by a sustained release of growth factors contained in platelet-rich plasma. *Experimental and Molecular Medicine.* 2011;43(11):622-629. doi: 10.3858/emm.2011.43.11.070.
75. Eming SA, Martin P, Tomic-Canic M. Wound repair and regeneration: mechanisms, signaling, and translation. *Sci Transl Med.* 2014;6(265):265sr6. doi: 10.1126/scitranslmed.3009337.
76. Nosbaum A, Prevel N, Truong HA, Mehta P, Ettinger M, Scharschmidt TC, et al. Cutting edge: regulatory T cells facilitate cutaneous wound healing. *J Immunol.* 2016;196(5):2010-14. doi: 10.4049/jimmunol.1502139.
77. Sindrilaru A, Scharffetter-Kochanek K. Disclosure of the culprits: macrophages-versatile regulators of wound healing. *Adv Wound Care.* 2013;2:357-368.
78. Sindrilaru A, Peters T, Wieschalka S, Baican C, Baican A, Peter H et al. An unrestrained proinflammatory M1 macrophage population induced by iron impairs wound healing in humans and mice. *J Clin Invest.* 2011;121:985-997.
79. Busti AJ, Hooper JS, Amaya CJ, Kazi S. Effects of perioperative antiinflammatory and immunomodulating therapy on surgical wound healing. *Pharmacotherapy.* 2005;25(11):1566-1591.

80. Lucas T, Waisman A, Ranjan R, Roes J, Krieg T, Muller W et al. Differential roles of macrophages in diverse phases of skin repair. *Journal of Immunology*. 2010;184:3964-3977.
81. Koh TJ, DiPietro LA. Inflammation and wound healing: the role of the macrophage. *Expert Reviews in Molecular Medicine*. 2011;13(e23). doi: 10.1017/S1462399411001943.
82. Galli SJ, Borregaard N, Wynn TA. Phenotypic and functional plasticity of cells of innate immunity: macrophages, mast cells and neutrophils. *Nat Immunol*. 2011;12:1035-1044.
83. Brancato SK, Albina JE. Wound macrophages as key regulators of repair: origin, phenotype, and function. *American Journal of Pathology*. 2011;178:19-25.
84. Taylor KR, Trowbridge JM, Rudisill JA, Termeer CC, Simon JC, Gallo RL. Hyaluronan fragments stimulate endothelial recognition of injury through TLR4. *Journal of Biological Chemistry*. 2004;279(17):17079-17084.
85. Yoneda A, Couchman JR. Regulation of cytoskeletal organization by syndecan transmembrane proteoglycans. *Matrix Biology*. 2003;22(1):25-33.
86. Witte MB, Barbul A. Role of nitric oxide in wound repair. *American Journal of Surgery*. 2002;183(4):406-412.
87. Leibovich SJ, Ross R. The role of the macrophage in wound repair. A study with hydrocortisone and antimacrophage serum. *Am. J. Pathol*. 1975;78(1):71-83.
88. Brancato SK, Albina JE. Wound macrophages as key regulators of repair: origin, phenotype, and function. *American Journal of Pathology*. 2011;178(1):19-25.
89. Rodero MP, Khosrotehrani K. Skin wound healing modulation by macrophages. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*. 2010;3(7):643-653.
90. Delavary BM, Veer WM, Egmond M, Niessen FB, Beelen RHJ. Macrophages in skin injury and repair. *Immunobiology*. 2011;216(7):753-762.

91. Eming SA, Krieg T, Davidson JM. Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms. *Journal of Investigative Dermatology*. 2007;127(3):514-525.
92. Eming SA, Brachvogel B, Odorisio T, Koch M. Regulation of angiogenesis: wound healing as a model. *Progress in Histochemistry and Cytochemistry*. 2007;42(3):115-170.
93. Willenborg S, Lucas T, Loo G. et al. CCR2 recruits an inflammatory macrophage subpopulation critical for angiogenesis in tissue repair. *Blood*. 2012;120(3):623-625.
94. Оболенский ВН. Хроническая рана: обзор современных методов лечения. *ПМЖ*. 2013;5:282-289.
95. Schreml S, Szeimies RM, Prantl L, Landthaler M, Babilas P. Wound healing in the 21st century. *J. Am. Acad. Dermatol*. 2010;63(5):866-881.
96. Robson MC. Cytokine manipulation of the wound. *Clinics in Plastic Surgery*. 2003;30(1):57-65.
97. Midwood KS, Williams LV, Schwarzbauer JE. Tissue repair and the dynamics of the extracellular matrix. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 2004;36(6):1031-1037.
98. Sorrell JM, Caplan AI. Fibroblast heterogeneity: more than skin deep. *Journal of Cell Science*. 2004;117(5):667-675.
99. Li B, Wang JHC. Fibroblasts and myofibroblasts in wound healing: force generation and measurement. *Journal of Tissue Viability*. 2011;20(4):108-120.
100. Eckes B, Nischt R, Krieg T. Cell-matrix interactions in dermal repair and scarring. *Fibrogenesis and Tissue Repair*. 2010;3:4. doi: 10.1186/1755-1536-3-4.
101. Barker TH. The role of ECM proteins and protein fragments in guiding cell behavior in regenerative medicine. *Biomaterials*. 2011;32(18):4211-4214.

102. Kane CJ, Hebda PA, Mansbridge JN, Hanawalt PC. Direct evidence for spatial and temporal regulation of transforming growth factor beta 1 expression during cutaneous wound healing. *J. Cell. Physiol.* 1991;148(1):157-173.
103. Igarashi A, Okochi H, Bradham DM, Grotendorst GR. Regulation of connective tissue growth factor gene expression in human skin fibroblasts and during wound repair. *Mol. Biol. Cell.* 1993;4(6):637-645.
104. Nowak G, Olejek A. Biological and molecular aspects of wound healing. *Practical Gynecology.* 2004;12:2-30.
105. Nauta A, Gurtner GC, Longaker MT. Wound healing and regenerative strategies. *Oral Diseases.* 2011;17(6):541-549.
106. Clark RA, Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolff K. Mechanisms of cutaneous wound repair. *Dermatology in General Medicine.* New York: McGraw-Hill. 1993;1:473-486.
107. Milan PB, Lotfibakhshaiesh N, Joghataie MT, Ai J, Pazouki A, Kaplan DL, et al. Accelerated wound healing in a diabetic rat model using decellularized dermal matrix and human umbilical cord perivascular cells. *Acta Biomaterialia* 2016;45:234-246.
108. Kong P, Xie X, Li F, Liu Y, Lu Y. Placenta mesenchymal stem cell accelerates wound healing by enhancing angiogenesis in diabetic Goto-Kakizaki (GK) rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013;438:410-419.
109. Bodnar RJ. Chemokine regulation of angiogenesis during wound healing. *Adv Wound Care.* 2015;4:641-650.
110. Lee K-B, Choi J, Cho S-B, Chung J-Y, Moon E-S, Kim N-S, et al. Topical embryonic stem cells enhance wound healing in diabetic rats. *J Orthop Res.* 2011;29:1554-1562.
111. Карлова ВА. Раны и раневая инфекция. М.:Медицина. 2003:340 с.
112. Чен Г, Соннендэй КДж, Лилремо КД. Руководство по технике врачебных манипуляций. М.:Мед. лит-ра. 2002;384 с.
113. Кондена Р, Хайхус Л. Клиническая хирургия. М.:Медицина. 2002;635 с.
114. Петров СВ. Общая хирургия. М.:ГЭОТАР-Медиа. 2007:768 с.

115. Myers BA. Wound Management: Principles and practice. Prentice Hall. 2003;448 p.
116. Baranoski S, Ayello EA. Wound care essentials: practice and principles. Lippincott Williams & Wilkins. 2006;432 p.
117. Gantwerker EA, Hom DB. Skin: histology and physiology of wound healing. *Clin Plast Surg*. 2012;39(1):85-97. doi: 10.1016/j.cps.2011.09.005. PMID: 22099852.
118. Gantwerker EA, Hom DB. Skin: histology and physiology of wound healing. *Facial Plast Surg Clin North Am*. 2011;19(3):441-53. doi: 10.1016/j.fsc.2011.06.009. PMID: 21856533.
119. Marchese C, Felici A, Visco V et al. Fibroblast growth factor 10 induces proliferation and differentiation of human primary cultured keratinocytes. *J. Invest. Dermatol*. 2001;116(4):623-628.
120. Werner S, Beer HD, Mauch C, Lüscher B, Werner S. The Mad1 transcription factor is a novel target of activin and TGF-beta action in keratinocytes: possible role of Mad1 in wound repair and psoriasis. *Oncogene*. 2001;20(51):7494-7504.
121. Sorrell JM, Baber MA, Caplan AI. Site matched papillary and reticular human dermal fibroblasts differ in their release of specific growth factors/cytokines and in their interaction with keratinocytes. *J. Cell. Physiol*. 2004;200(1):134-145.
122. Grinnell F. Fibroblasts, myofibroblasts and wound contraction. *J. Cell. Biol*. 1994;124(4):401-404.
123. Blomme EA, Sugimoto Y, Lin YC, Capen CC, Rosol TJ. Parathyroid hormone-related protein is a positive regulator of keratinocyte growth factor expression by normal dermal fibroblasts. *Mol. Cell. Endocrinol*. 1999;152(1-2):189-197.
124. Dechert TA, Ducale AE, Ward SI, Yager DR. Hyaluronan in human acute and chronic dermal wounds. *Wound Repair and Regeneration*. 2006;14(3):252-258.

125. Li J, Zhang YP, Kirsner RS. Angiogenesis in wound repair: angiogenic growth factors and the extracellular matrix. *Microscopy Research and Technique*. 2003;60(1):107-114.
126. Bauer SM, Bauer RJ, Velazquez OC. Angiogenesis, vasculogenesis, and induction of healing in chronic wounds. *Vascular and Endovascular Surgery*. 2005;39(4):293-306.
127. Arnold F, West DC. Angiogenesis in wound healing. *Pharmacology and Therapeutics*. 1991;52(3):407-422.
128. Tonnesen MG, Feng X, Clark RA. Angiogenesis in wound healing. *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc*. 2000;5(1):40-46.
129. Bodnar RJ, Satish L, Yates CC, Wells A. Pericytes: a newly recognized player in wound healing. *Wound Rep Regen*. 2016;24:204-214.
130. Proebstl D, Voisin M-B, Woodfin A, Whiteford J, D'Acquisto F, Jones GE, et al. Pericytes support neutrophil subendothelial cell crawling and breaching of venular walls in vivo. *J Exp Med*. 2012;209:1219-1234.
131. Slevin M, Kumar S, Gaffney J. Angiogenic oligosaccharides of hyaluronan induce multiple signaling pathways affecting vascular endothelial cell mitogenic and wound healing responses. *Journal of Biological Chemistry*. 2002;277(43):41046-59. doi: 10.1074/jbc.M109443200.
132. Day AJ, Prestwich GD. Hyaluronan-binding proteins: tying up the giant," *Journal of Biological Chemistry*. 2002;277(7):4585-88.
133. Voisin MB, Nourshargh S. Neutrophil transmigration: emergence of an adhesive cascade within venular walls. *J Innate Immun*. 2013;5:336-347.
134. Lauer G, Sollberg S, Cole M, et al. Expression and proteolysis of vascular endothelial growth factor is increased in chronic wounds. *J. Invest. Dermatol*. 2000;115(1):12-18.
135. Ayres-Sander CE, Lauridsen H, Maier CL, Sava P, Pober JS, Gonzalez AL: Transendothelial migration enables subsequent transmigration of neutrophils through underlying pericytes. *PLoS One* 2013;8(3):e60025. doi: 10.1371/journal.pone.0060025.

136. Pober JS, Tellides G. Participation of blood vessel cells in human adaptive immune responses. *Trends Immunol.* 2012;33:49-57.
137. Humphreys BD, Lin S-L, Kobayashi A, Hudson TE, Nowlin BT, Bonventre JV, et al. Fate tracing reveals the pericyte and not epithelial origin of myofibroblasts in kidney fibrosis. *Am J Pathol.* 2010;176:85-97.
138. DiPietro LA. Angiogenesis and wound repair: when enough is enough. *J Leukoc Biol.* 2016;100:979-984.
139. Demidova-Rice TN, Durham JT, Herman IM. Wound healing angiogenesis: innovations and challenges in acute and chronic wound healing. *Adv Wound Care.* 2012;1:17-22.
140. Dulmovits BM, Herman IM: Microvascular remodeling and wound healing: a role for pericytes. *Int J Biochem Cell Biol.* 2012;44:1800-1812.
141. Kusindarta DL, Wihadmadyatami H, Fibrianto YH, Nugroho WS, Susetya H, Musana DK, et al. Human umbilical mesenchymal stem cells conditioned medium promote primary wound healing regeneration. *Vet World.* 2016;9:605-610.
142. Wietecha MS, Król MJ, Michalczyk ER, Chen L, Gettins PG, DiPietro LA: Pigment epithelium-derived factor (PEDF) as a multifunctional regulator of wound healing. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2015;309:H812-H826.
143. Mogili NS, Krishnaswamy VR, Jayaraman M, Rajaram R, Venkatraman A, Korrapati PS: Altered angiogenic balance in keloids: a key to therapeutic intervention. *Transl Res.* 2012;159:182-189.
144. Diao J-S, Xia W-S, Guo S-Z: Bevacizumab: a potential agent for prevention and treatment of hypertrophic scar. *Burns.* 2010;36:1136-1137.
145. Chodorowska G, Roguś-Skorupska D. Cutaneous wound healing. *Ann Univ Mariae Curie Sklodowska Med.* 2004;59(2):403-7. PMID: 16146117.
146. Wilgus TA, Matthies MA, DiPietro LA. Novel Function for Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-1 on Epidermal Keratinocytes. *Am. J. Pathol.* 2005;167(5):1257-1266.

147. Volk SW, Bohling MW. Comparative wound healing: are the small animal veterinarian's clinical patients an improved translational model for human wound healing research? *Wound Repair Regen.* 2013;21:372-381.
148. Knobloch K, Vogt PM. Die rekonstruktive Sequenz des 21. Jahrhunderts. *Chirurg.* 2010;81:441-446.
149. Rittié L. Cellular mechanisms of skin repair in humans and other mammals. *J Cell Commun Signal.* 2016;10:103-120.
150. Rittié L, Sachs DL, Orringer JS, Voorhees JJ, Fisher GJ: Eccrine sweat glands are major contributors to reepithelialization of human wounds. *Am J Pathol.* 2013;182:163-171.
151. Rittié L, Farr EA, Orringer JS, Voorhees JJ, Fisher GJ. Reduced cell cohesiveness of outgrowths from eccrine sweat glands delays wound closure in elderly skin. *Aging Cell.* 2016;15:842-852.
152. Matsubayashi Y, Razzell W, Martin P. “White wave” analysis of epithelial scratch wound healing reveals how cells mobilise back from the leading edge in a myosin-II-dependent fashion. *J Cell Sci* 2011;124(Pt 7):1017-1021. doi: 10.1242/jcs.080853.
153. Stone RC, Pastar I, Ojeh N, Chen V, Liu S, Garzon KI, et al. Epithelial-mesenchymal transition in tissue repair and fibrosis. *Cell Tissue Res.* 2016;365:495-506.
154. Blanpain C, Fuchs E. Plasticity of epithelial stem cells in tissue regeneration. *Science* 2014;344:1242281-1242281.
155. Donati G, Watt FM. Stem cell heterogeneity and plasticity in epithelia. *Cell Stem Cell.* 2015;16:465-476.
156. Pastar I, Stojadinovic O, Yin NC, Ramirez H, Nusbaum AG, Sawaya A, et al. Epithelialization in wound healing: a comprehensive review. *Adv Wound Care.* 2014;3:445-464.
157. Stojadinovic O, Pastar I, Nusbaum AG, Vukelic S, Krzyzanowska A, Tomic-Canic M. Deregulation of epidermal stem cell niche contributes to

- pathogenesis of nonhealing venous ulcers. *Wound Rep Regen.* 2014;22:220-227.
158. Chen D, Hao H, Fu X, Han W. Insight into reepithelialization: how do mesenchymal stem cells perform? *Stem Cells Int.* 2016;2016:6120173.
159. Yang M, Li Q, Sheng L, Li H, Weng R, Zan T. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells transplantation accelerates tissue expansion by promoting skin regeneration during expansion. *Ann Surg.* 2011;253:202-209.
160. Tenenhaus M, Rennekampff H-O: Current concepts in tissue engineering. *Plast Reconstr Surg.* 2016;138:42S-50S.
161. Buchanan EP, Longaker MT, Lorenz HP. Fetal skin wound healing. *Adv Clin Chem.* 2009;48:137-161.
162. Walraven M. Cellular and molecular mechanisms involved in scarless wound healing in the fetal skin. Amsterdam. 2016: 144 p.
163. Walraven M, Gouverneur M, Middelkoop E, Beelen RHJ, Ulrich MMW. Altered TGF- β signaling in fetal fibroblasts: what is known about the underlying mechanisms? *Wound Repair Regen.* 2014;22:3-13.
164. Mirastschijski U, Schnabel R, Claes J, Schneider W, Agren MS, Haaksma C, et al. Matrix metalloproteinase inhibition delays wound healing and blocks the latent transforming growth factor- β 1-promoted myofibroblast formation and function. *Wound Rep Regen.* 2010;18:223-234.
165. Taylor KR, Gallo RL. Glycosaminoglycans and their proteoglycans: host-associated molecular patterns for initiation and modulation of inflammation. *The FASEB Journal.* 2006;20(1):9-22.
166. Ud-Din S, Volk SW, Bayat A. Regenerative healing, scar-free healing and scar formation across the species: current concepts and future perspectives. *Exp Dermatol* 2014;23:615-619.
167. Farahani RM, Kloth LC. The hypothesis of “biophysical matrix contraction”. wound contraction revisited. *International Wound Journal.* 2008;5(3):477-482.

168. Monstrey S, Middelkoop E, Vranckx JJ, Bassetto F, Ziegler UE, Meaume S, et al. Updated scar management practical guidelines: non-invasive and invasive measures. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2014;67:1017-1025.
169. O'Brien L, Jones DJ. Silicone gel sheeting for preventing and treating hypertrophic and keloid scars. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013;9:CD003826.
170. Sarrazy V, Billet F, Micallef L, Coulomb B, Desmoulière A. Mechanisms of pathological scarring: role of myofibroblasts and current developments. *Wound Repair and Regeneration*. 2011;19:S10-S15.
171. Vedrenne N, Coulomb B, Danigo A, Bonté F, Desmoulière A. The complex dialogue between (myo)fibroblasts and the extracellular matrix during skin repair processes and ageing. *Pathologie Biologie*. 2012;60(1):20-27.
172. Hinz B. Targeting myofibroblast to improve wound healing. *Wound Healing Biomaterials. Therapies and Regeneration*. 2016;1:69-100. doi.org/10.1016/B978-1-78242-455-0.00003-3.
173. Peplow PV. Glycosaminoglycan: a candidate to stimulate the repair of chronic wounds. *Thrombosis and Haemostasis*. 2005;94(1):4-16.
174. Ko JH, Kim PS, Zhao Y, Hong SJ, Mustoe TA. HMG-CoA reductase inhibitors (statins) reduce hypertrophic scar formation in a rabbit ear wounding model. *Plast Reconstr Surg*. 2012;129:252e-261e.
175. Olczyk P, Wisowski G, Komosinska-Vassev K. et al. Propolis modifies collagen types I and III accumulation in the matrix of burnt tissue. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2013, Article ID 423809.
176. Луцевич ОЭ, Тамразова ОБ, Шикунова АЮ. и др. Современный взгляд на патофизиологию и лечение гнойных ран. *Хирургия*. 2011;(5):72-7.
177. Dong Y, Rodrigues M, Kwon SH, Li X, Sigen A, Brett EA, et al. Acceleration of diabetic wound regeneration using an in situ-formed stem-cell-based skin substitute. *Advanced Healthcare Materials*. 2018;7:1-9. doi: 10.1002/adhm.201800432.

178. Mirza RE, Fang MM, Novak ML, Urao N, Sui A, Ennis WJ, et al. Macrophage PPAR γ and impaired wound healing in type 2 diabetes. *J Pathol.* 2015;236:433-444.
179. Khanna S, Biswas S, Shang Y, Collard E, Azad A, Kauh C, et al. Macrophage dysfunction impairs resolution of inflammation in the wounds of diabetic mice. *PLoS One.* 2010;5:e9539. doi: 10.1371/journal.pone.0009539.
180. Efimov EV, Khoroshkevich AV. Features of wound process affected by diabetes mellitus. *Wounds and wound infections.* 2015;2(3):30-35. doi: 10.17650 / 2408-9613-2015-2-3-30-35.
181. Прошин АВ. Сравнительная характеристика раневого процесса у больных с гнойно-некротическими формами синдрома диабетической стопы. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* 2010;12:52-54.
182. Gardiner M, Vicaretti M, Sparks J et al. A longitudinal study of the diabetic skin and wound microbiome. *PeerJ.* 2017;5:e3543; doi:10.7717/peerj.3543.
183. Spravchikov N, Sizyakov G, Gartsbein M, Accili D, Tennenbaum T. Efrat wertheimer glucose effects on skin keratinocytes. *Diabetes Jul.* 2001;50(7):1627-1635; doi: 10.2337/diabetes.50.7.1627.
184. Brem H, Golinko MS, Stojadinovic O, Kodra A, Diegelmann RF, Vukelic S. et al. Primary cultured fibroblasts derived from patients with chronic wounds: a methodology to produce human cell lines and test putative growth factor therapy such as GMCSF. *J. Transl. Med.* 2008;6:75. doi: 10.1186/1479-5876-6-75.
185. Falanga V. Wound healing and its impairment in the diabetic foot. *Lancet.* 2005;366(9498):1736-1743.
186. Hennessey PJ, Ford EG, Black CT, Andrassy RJ. Wound collagenase activity correlates directly with collagen glycosylation in diabetic rats. *J. of Pediatric Surgery.* 1990;25(1):75-78.
187. Cheng R, Ma JX. Angiogenesis in diabetes and obesity. *Rev Endocr Metab Disord.* 2015;16(1):67-75. doi:10.1007/s11154-015-9310-7.
188. Galiano RD, Tepper OM, Pelo CR, Bhatt KA, Callaghan M, Bastidas N, et al. Topical vascular endothelial growth factor accelerates diabetic wound healing

- through increased angiogenesis and by mobilizing and recruiting bone marrow-derived cells. *Am J Pathol.* 2004;164:1935-47.
189. Lu M, Adamis AP. Molecular biology of choroidal neovascularization. *Ophthalmol. Clin. North Am.* 2006;19:323-334.
190. Северина АС, Шестакова МВ. Система ангиогенеза в норме и при сахарном диабете. 2004;199:343.
191. Parfenova EV, Tkachuk VA. Hyperglycemia impact on angiogenic properties of endothelial and progenitor vascular cells. *Annals Of The Russian Academy Of Medical Sciences.* 2012;(1):38-44.
192. Akopyan ZhA, Sharonov GV, Kochegura TN, et al. The influence of high glucose concentration on the ability of mesenchymal stromal cells to stimulate blood vessel growth. *Diabetes mellitus.* 2011;(3):32-36.
193. Biscetti F, Pitocco D, Straface G, et al. Glycaemic variability affects ischaemia-induced angiogenesis in diabetic mice. *Clin Sci (Lond).* 2011;121(12):555-564.
194. Mulder GD. Diabetic foot ulcers: old problems – new technologies. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2001;16(4):695-669.
195. Marhoffer W, Stein M, Maeser E, Federlin K. Impairment of polymorphonuclear leukocyte function and metabolic control of diabetes. *Diabetes Care.* 1992;15(2):256-260.
196. Tsourdi E, Barthel A, Rietzsch H, Reichel A, Bornstein SR. Current aspects in the pathophysiology and treatment of chronic wounds in diabetes mellitus. *Biomed. Res. Intern.* 2013;385641. doi: 10.1155/2013/385641.
197. Creager MA, Lüscher TF, Cosentino F, Beckman JA. Review: Clinical Cardiology: New Frontiers Diabetes and Vascular Disease Pathophysiology. URL: <http://circ.ahajournals.org/content/108/12/1527.full> (available: 27.11.2014).
198. Devaraj S, Venugopal SK, Singh U, Jialal I. Hyperglycemia Induces Monocytic Release of Interleukin-6 via Induction of Protein Kinase C- α and - β . *Diabetes.* 2005;54(1):85-91

199. Gonzalez Y, Herrera MT, Soldevila G, et al. High glucose concentrations induce TNF- α production through the down-regulation of CD33 in primary human monocytes. *BMC*. 2012;13:19.
200. Arguilla ER, Weringer FJ, Nakajo M. Wound healing: A model for the study of diabetic angiopathy. *Diabetes*. 1976;25:811-813.
201. Goodson WH, Hunt TK. Studies of wound healing in experimental diabetes mellitus. *J. Surg. Res.* 1977;22:221-226.
202. Goodson WH, Hunt TK. Wound healing in experimental diabetes mellitus: importance of early insulin therapy. *Surg. Forum*. 1978;29:95-99.
203. Lipsky BA, Pecoraro RE, Wheat LJ. The diabetic foot. Soft tissue and bone infection. *Infect. Dis. Clin. North Am.* 1990;4:409-432.
204. VanDam S, Gispen WH, Bravenboer B. et al. The role of oxidative stress in neuropathy and other diabetic complications. *Diabetes Metabol. Rev.* 1995;11(3):181-192.
205. Страхова ГЮ, Арбузова МИ, Токмакова АЮ. Эффективность коллагенсодержащих повязок в комплексной терапии хронических раневых дефектов у больных сахарным диабетом. *Сахарный диабет*. 2007;4:30-34.
206. Schultz GS. Molecular analysis of the environment of healing and chronic wounds: cytokines, proteases and growth factors. *Wounds*. 1998;10:1-9.
207. Schultz GS. Extracellular matrix: review of its roles in acute and chronic wounds. URL: <http://www.worldwidewounds.com/2005/august/Schultz/Extrace-Matric-Acute-Chronic-Wounds.html> (available: 27.11.2014).
208. Vasquez R, Marien BJ, Gram C. et al. Proliferative capacity of venous ulcer wound fibroblasts in the presence of platelet derived growth factor. *Vasc. Endovasc. Surg.* 2004;38(4):355-360.
209. Boulton AJ. The diabetic foot: a global view. *Metab. Res. Rev.* 2000;16:2-5.
210. Siqueira MF, Li J, Chehab L. et al. Impaired wound healing in mouse models of diabetes is mediated by TNF-alpha dysregulation and associated with

- enhanced activation of fork head box O1 (FOXO1). *Diabetologia*. 2010; 53(2):378-388.
211. Agren MS, Eaglstein WH, Ferguson MW. et al. Causes and effects of chronic inflammation in venous leg ulcers. *Acta Derm. Venereol. (Stockh)*. 2000;210:3-17.
212. Gabbiani G. The myofibroblast in wound healing and fibrocontractive diseases. *J. Pathol*. 2003;200(4):500-503.
213. Ачкасов ЕЕ, Безуглов ЭН, Ульянов АА и др. Применение аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, в клинической практике. *Биомедицина*. 2013;1(4):46-59.
214. Steed DL, Attinger C, Colaizzi T. et al. Guidelines for the treatment of diabetic ulcers. *Wound Repair. Regen*. 2006;14(6):680-92. doi: 10.1111/j.1524-475X.2006.00176.x.
215. Pietrzak W, Eppley B. Scientific foundations platelet rich plasma: biology and new technology. *J. Craniofac. Surg*. 2005;16(6):1043-54. doi: 10.1097/01.scs.0000186454.07097.bf.
216. Marx R. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent*. 2001;10(4):225-8. doi: 10.1097/00008505-200110000-00002.
217. Fernández-Barbero JE, Galindo-Moreno P, Avila-Ortiz G. et al. Flow cytometric and morphological characterization of platelet-rich plasma gel. *Clin. Oral Implants Res*. 2006;17(6):687-93.
218. Marx R, Garg A. Dental and craniofacial applications of platelet rich plasma. Carol Stream: Quintessence Publishing Co, Inc.. 2005;154 p.
219. Троянов АА. и др. Экспериментальное и клиническое обоснование применения плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов, для лечения длительно незаживающих ран при сахарном диабете. *Медицинский журнал*. 2018;2:112-117.
220. Медведев ВЛ, Коган МИ, Михайлов ИВ, Лепетунов СН. Аутологичная плазма обогащённая тромбоцитами: что это и для чего? *Вестник*

- урологии. 2020;8(2):67-77. <https://doi.org/10.21886/2308-6424-2020-8-2-67-77>.
221. Anitua E, Alkhraisat MH, Orive G. Perspectives and challenges in regenerative medicine using plasma rich in growth factors. *J. Control. Release.* 2012;157:29-38. doi: 10.1016/j.jconrel.2011.07.004.
222. El-Sharkawy H, Kantarci A, Deady J, Hasturk H, Liu H, Alshahat M, Van Dyke TE. Platelet-rich plasma: growth factors and pro- and anti-inflammatory properties. *J. Periodontol.* 2007;78(4):661-9.
223. Petrungaro PS. Using platelet-rich plasma to accelerate soft tissue maturation in esthetic periodontal surgery. *Compend. Contin. Educ. Dent.* 2001;22(9):729-32.
224. Yoo J, Roth K, Hughes B, Fung K, Franklin J, Lampe H, Pietrzak WS. Evaluation of postoperative drainage with application of platelet-rich and platelet-poor plasma following hemithyroidectomy: a randomized controlled clinical trial. *Head and Neck.* 2008;30(12):1552-8. doi: 10.1002/hed.20900.
225. Sánchez M, Anitua E, Andia I. Poor standardization in plateletrich therapies hampers advancement. *Arthroscopy.* 2010;26(6):725-6. doi: 10.1016/j.arthro.2010.03.002.
226. Gonshor A. Technique for producing plateletrich plasma and platelet concentrate: background and process. *Int. J. Periodontics. Restorative Dent.* 2002;22(6):547-557.
227. Рибалка ЯВ. Дисертація оптимізація лікування хронічних ран із застосуванням RPR-терапії. Полтава. 2018;УДК: 616-001.4-036.12-089.844:615.38.
228. Molloy T, Wang Y, Murrell G. The roles of growth factors in tendon and ligament healing. *Sports Med.* 2003;33(5):381-94. doi: 10.2165/00007256-200333050-00004.
229. Aspenberg P, Virchenko O. Platelet concentrate injection improves Achilles tendon repair in rats. *Acta Orthop. Scand.* 2004.75(1):93-9. doi: 10.1080/00016470410001708190.

230. Locati M, Bonecchi R, Corsi MM. Chemokines and their receptors: roles in specific clinical conditions and measurement in the clinical laboratory. *Am. J. Clin. Pathol.* 2005;12(3):82-95. doi: 10.1309/M6U4B8L6TNAK4G9L.
231. Everts PAM, Knape JTA, Weibrich G, Schönberger JPAM, Hoffmann J, Overdevest EP, Box HAM, Zundert A. Platelet-rich plasma and platelet gel: a review. *J Extra Corpor Technol.* 2006;38(2):174-187.
232. Antonaides HN, Williams LT. Human platelet-derived growth factor: structure and functions. *Federation Proceedings.* 1983;42(9):2630-34.
233. Ahmad Z, Howard D, Brooks RA. et al. The role of platelet rich plasma in musculoskeletal science. *JRSM Short Rep.* 2012;3:40. doi: 10.1258/shorts.2011.011148.
234. Arwert EN, Hoste E, Watt FM. Epithelial stem cells, wound healing and cancer. *Nat. Rev. Cancer.* 2012;12:170-180. doi: 10.1038/nrc3217.
235. Mata JDL. Platelet rich plasma. A new treatment tool for the rheumatologist? *Reumatol. Clin.* 2013;9(3):166-171. doi: 10.1016/j.reuma.2012.05.011.
236. Roubelakis MG, Trohatou O, Roubelakis A. et al. Platelet-rich plasma (PRP) promotes fetal mesenchymal stem/stromal cell migration and wound healing process. *Stem Cell Rev.* 2014;10:417-428. doi: 10.1007/s12015-013-9494-8.
237. Demidova-Rice TN, Hamblin MR, Herman IM. 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;25:349-370. doi: 10.1097/01.ASW.0000418541.31366.a3.
238. Lamerigts NM, Buma P, Aspenberg P. et al. Role of growth factors in the incorporation of unloaded bone allografts in the goat. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 1999;36(8):260-270.
239. Bostrom MP, Asnis P. Transforming growth factor beta in fracture repair. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 2003;35(5):124-131.

240. Peng H. VEGF improves, whereas sFlt1 inhibits, BMP2-induced bone formation and bone healing through modulation of angiogenesis. *J. Bone Miner Res.* 1998;(20):17-27.
241. Kawase T. et al. In vitro evidence that the biological effects of platelet-rich plasma on periodontal ligament cells is not mediated solely by constituent transforming-growth factor-beta or platelet-derived growth factor. *J. Periodontol.* 2005;76(5):760-767.
242. Lynch SE, Nixon JC, Colvin RB, Antoniades HN. Role of platelet-derived growth factor in wound healing: Synergistic effects with other growth factors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1987;84:7696-7700. doi: 10.1073/pnas.84.21.7696.
243. Girdler NM, McGurk M, Aqual S, Prince M. The effect of epidermal growth factor mouthwash on cytotoxic-induced oral ulceration. A phase I clinical trial. *Am. J. Clin. Oncol.* 1995;18:403-406. doi: 10.1097/00000421-199510000-00009.
244. Xie J, Bian H, Qi S, Xu Y, Tang J, Li T, Liu X. Effects of basic fibroblast growth factor on the expression of extracellular matrix and matrix metalloproteinase-1 in wound healing. *Clin. Exp. Dermatol.* 2008;33:176-182. doi: 10.1111/j.1365-2230.2007.02573.x.
245. Niu J, Chang Z, Peng B, Xia Q, Lu W, Huang P, Tsao MS, Chiao PJ. Keratinocyte growth factor/fibroblast growth factor-7-regulated cell migration and invasion through activation of NF-kappaB transcription factors. *J. Biol. Chem.* 2007;282:6001-6011. doi: 10.1074/jbc.M606878200.
246. Shi H-X, Lin C, Lin B-B. et al. The anti-scar effects of basic fibroblast growth factor on the wound repair in vitro and in vivo. *PLoS ONE.* 2013;8(4):e59966. doi: 10.1371/journal.pone.0059966.
247. Ross R, Raines EW, Bowen-Pope DF. The biology of platelet derived growth factor. *Cell.* 1986;46:155-169.

248. Singh, JP, Chaikin MA, Stiles CD. Phylogenetic analysis of platelet derived growth factor by radio-receptor assay. J.P. Singh. J. Cell Biol. 1982;95:667-671.
249. Glukhov AA, Ostroushko AP, Semenov SN, Alexeeva NT, Bugrimov DYU. Structural and functional features of healing of aseptic wounds of soft tissues using by platelet-rich blood plasma. Journal of experimental and clinical surgery. 2010;3(3):210-213.
250. Троянов АА. и др. Первый клинический опыт местного лечения кожных поражений при сахарном диабете с помощью плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов. Медицинский журнал. 2018;1:116-120.
251. Троянов АА. и др. Биологические эффекты и ранозаживляющее действие плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов, в условиях экспериментальной гипергликемии. Медицинский журнал. 2018;2:107-112.
252. Griffeth RJ, Garcia-Parraga D, Mellado-Lopez M. et al. Platelet-rich plasma and adipose-derived mesenchymal stem cells for regenerative medicine-associated treatments in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) PLoS ONE. 2014;9:e108439. doi: 10.1371/journal.pone.0108439.
253. Suthar M, Gupta S, Bukhari S, Ponemone V. Treatment of chronic non-healing ulcers using autologous platelet rich plasma: a case series. J. Biomed. Sci. 2017;24(1):16. doi: 10.1186/s12929-017-0324-1.
254. Hersant B, SidAhmed-Mezi M, Bosc R, Meningaud JP. Autologous platelet-rich plasma/thrombin gel combined with split-thickness skin graft to manage postinfectious skin defects: a randomized controlled study. Adv. Skin Wound Care. 2017;30(11):502-508. doi: 10.1097/01.ASW.0000524399.74460.87.
255. Cieslik-Bielecka A, Skowronski R, Jedrusik-Pawlowska M, Pierchala M. The application of L-PRP in AIDS patients with crural chronic ulcers: A pilot study. Adv. Med. Sci. 2018;63:140-146. doi: 10.1016/j.advms.2017.10.002.

256. Frykberg RG, Driver VR, Carman D. et al. Chronic wounds treated with a physiologically relevant concentration of platelet-rich plasma gel: a prospective case series. *Ostomy Wound Manage.* 2010;56(6):36-44.
257. Driver VR, Hanft J, Fylling CP, Beriou JM. Autologel diabetic foot ulcer study group. A prospective, randomized, controlled trial of autologous platelet-rich plasma gel for the treatment of diabetic foot ulcers. *Ostomy Wound Manag.* 2006;52(6):68-70,72,74.
258. Steenvoorde P, van Doorn LP, Naves C, Oskam J. Use of autologous platelet-rich fibrin on hard-to-heal wounds. *J. Wound Care.* 2008;17(2):60-3. doi: 10.12968/jowc.2008.17.2.28179.
259. Takikawa M, Sumi Y, Ishihara M, et al. PRP&F/P MPs improved survival of dorsal paired pedicle skin flaps in rats. *J. Surg. Res.* 2011;170:e189-e196.
260. Li W, Enomoto M, Ukegawa M, et al. Subcutaneous injections of platelet-rich plasma into skin flaps modulate proangiogenic gene expression and improve survival rates. *Plast. Reconstr. Surg.* 2012;129(4):858-66. doi: 10.1097/PRS.0b013e3182450ac9.
261. Amable PR, Carias RB, Teixeira MV, et al. Platelet-rich plasma preparation for regenerative medicine: Optimization and quantification of cytokines and growth factors. *Stem Cell Res Ther.* 2013;4(3):67. doi: 10.1186/scrt218.
262. Laposy CB, Nai GA, Giuffrida R, Nogueira RM. Effects of heterologous platelet-rich plasma gel on standardized dermal wound healing in rabbits. *Acta Cir. Bras.* 2015;30:209-215. doi: 10.1590/S0102-865020150030000008.
263. Carter MJ, Fylling CP, Parnell LK. Use of platelet rich plasma gel on wound healing: A systematic review and meta-analysis. *Eplasty.* 2011;11:e38.
264. Kim DH, Je YJ, Kim CD. et al. Can Platelet-rich Plasma Be Used for Skin Rejuvenation? Evaluation of Effects of Platelet-rich Plasma on Human Dermal Fibroblast. *Ann. Dermatol.* 2011;23:424-431. doi: 10.5021/ad.2011.23.4.424.
265. Na JI, Choi JW, Choi HR. et al. Rapid healing and reduced erythema after ablative fractional carbon dioxide laser resurfacing combined with the

- application of autologous platelet-rich plasma. *Dermatol. Surg.* 2011;37:463-468. doi: 10.1111/j.1524-4725.2011.01916.x.
266. Cho JW, Kim SA, Lee KS. Platelet-rich plasma induces increased expression of G1 cell cycle regulators, type I collagen, and matrix metalloproteinase-1 in human skin fibroblasts. *Int. J. Mol. Med.* 2012;29(1):32-6. doi: 10.3892/ijmm.2011.803.
267. DeRossi R, Coelho AC, Mello GS, et al. Effects of platelet-rich plasma gel on skin healing in surgical wound in horses. *Acta Cir. Bras.* 2009;24(4):276-281. doi: 10.1590/S0102-86502009000400006.
268. Kim JH, Park C, Park HM. Curative effect of autologous platelet-rich plasma on a large cutaneous lesion in a dog. *Vet. Dermatol.* 2009;20(2):123-6. doi: 10.1111/j.1365-3164.2008.00711.x.
269. Jinming W, Caiyue L, Baojin W, et al. Effects of platelet-rich plasma on tissue expansion in rabbits. *Aesthetic Plastic Surgery.* 2017;41:454-460. doi: 10.1007/s00266-017-0797-z.
270. Park YG, Lee IH, Park ES, Kim JY. Hydrogel and platelet-rich plasma combined treatment to accelerate wound healing in a nude mouse model. *Arch. Plast. Surg.* 2017;44:194-201. doi: 10.5999/aps.2017.44.3.194.
271. Bogdan VG, Tolstov DA, Zafranskaya MM. Evaluation stimulating influence platelet rich plasma in experimental models fibroblast cultures of patients with trophic ulcers of venous etiology. *Medicsinskie novosti.* 2014;8:87-89.
272. Nicoletti G, Saler M, Villani L. et al. Platelet rich plasma enhancement of skin regeneration in an ex-vivo human experimental model. *Front Bioeng Biotechnol.* 2019;7:2. doi:10.3389/fbioe.2019.00002.
273. Шухтин ВВ, Цыганчук ЕВ. Использование обогащенной тромбоцитами плазмы в лечении длительно незаживающих ран у больных СПИДОМ. *Актуальные проблемы транспортной медицины.* 2011;2(24):118-121.
274. Aralova MV, Antakova LN, Alimkina YuN. et al. Application of platelet-rich plasma in experiment. *Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy.* 2019;2:72-79.

275. Aralova MV, Korotkikh NN, Alimkina YN. et al. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2018;9(3):136-143.
276. Горбач ЕН, Петровская НВ, Гребнева ОЛ. Влияние компонентов плазмы крови на процесс заживления кожных ран (экспериментальное исследование). Гений Ортопедии. 2007;2:52-56.
277. Maksymova OS, German SM, Moskalenko PO. et al. Features of skin wounds healing under chronic hyperglycemia and improvement of their treatment methods. Wiadomości Lekarskie. 2021;74(5):1174-1179. doi: 10.36740/WLek202105124.
278. Максимова ОС. Загоєння ран шкіри щурів старечого віку за умов хронічної гіперглікемії та при застосуванні збагаченої тромбоцитами плазми. Український журнал медицини, біології та спорту. 2021;6(30):44-50. doi:10.26693/jmbs06.02.044.
279. Максимова ОС, Муравський ДВ, Ткач ГФ. Структурні особливості репаративної регенерації шкіри щурів зрілого віку за умов хронічної гіперглікемії. Український журнал медицини, біології та спорту. 2020;5(28):72-78. doi: 10.26693/jmbs05.06.072.
280. Максимова ОС, Ткач ГФ. Гістологічна та планіметрична характеристика регенерації шкіри щурів молодого віку за умов хронічної гіперглікемії. Вісник проблем біології і медицини. 2020;4(158):276-281. doi:10.29254/2077-4214-2020-4-158-276-281.
281. Ілляшенко ВЮ, Ткач ГФ, Максимова ОС. та ін. Препарувальний лоток для фіксації дрібних лабораторних тварин. Патент на корисну модель № 145726. МПК 2021.01. № u 2020 05430; заявл. 2020-08-21; опубл. 2020-12-28, Бюл. № 24.
282. Максимова ОС, Ткач ГФ. Планіметричний аналіз ранового процесу шкіри у щурів молодого віку за умов хронічної гіперглікемії та при застосуванні PRP – терапії. International scientific and practical conference «Today's problems in medicine, pharmacy and dentistry», Arad. 2020:114-116.

283. Максимова ОС, Ткач ГФ. Структурні особливості репаративної регенерації шкіри за умов хронічної гіперглікемії організму. Науково-практична конференція «Актуальні питання сучасної морфології» присвячена 100-річчю з дня народження професора Олександра Гавриловича Яхниці та 65-річчю з дня народження професора Миколи Анатолійовича Волошина, м. Запоріжжя. 2020:73-74.
284. Maksymova OS, Tkach GF. Microscopic features of reparative skin regeneration under chronic hyperglycemia. «International Scientific Conference of Students, Postgraduates and Young Scientists «Biomedical Perspectives II», Sumy. 2020:25.
285. Максимова О. Особливості ранового процесу шкіри у щурів старечого віку за умов хронічної гіперглікемії. XXV Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених, м. Тернопіль. 2021:320.
286. Максимова ОС, Ткач ГФ. Ультрамiкроскопiчний аналіз регенерату шкіри у щурів старечого віку за умов хронічної гіперглікемії та при застосуванні збагаченої тромбоцитами плазми. Міжнародна наукова конференція, присвячена 100-річчю з часу заснування кафедри анатомії, гістології і патоморфології тварин ім. акад. В. Г. Касьяненка Національного університету біоресурсів і природокористування України, Київ, 2021:41-42.
287. Gavrilenko AV, Voronov DA, Kotov AE, Loikov DA. Complex treatment of patients with critical limb ischemia and diabetes mellitus. *Annals of surgery*. 2014;3:41-46.
288. Zheliba MD, Bohachuk MH. Morphometric and morphofunctional status of peripheral blood leukocytes in purulent inflammatory tissue diseases on type 2 diabetes mellitus. *Art of medicine*. 2018;4(8):74-77.
289. Perez-Zabala E, Basterretxea A, Larrazabal A. et al. Biological approach for the management of non-healing diabetic foot ulcers. *J. Tissue Viability*. 2016;25(2):157-163. doi: 10.1016/j.jtv.2016.03.003.
290. 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):304-14. doi: 10.1097/01.ASW.0000416006.55218.d0.
291. Meaume S, Perez J, Rethore V. et al. Management of chronic wounds with an innovative absorbent wound dressing. *Journal of Wound Care*. 2012;21(7):315-22. <https://doi.org/10.12968/jowc.2012.21.7.315>.
292. Omelyanovsky VV, Shestakova MV, Avxentyeva MV, Ignatyeva VI. The economic aspects of diabetes mellitus in the national practice. *Medical technologies. Evaluation and selection*. 2015;4:43-60.
293. Phillips A, Mehl AA. Diabetes mellitus and the increased risk of foot injuries. *J Wound Care*. 2015;24(5):4-7. doi:10.12968/jowc.2015.24.Sup5b.4.
294. Tarasenko NA. Diabetes: reality, forecasts, prevention. *Modern problems of science and education*. 2017;6:1-9.
295. Tan WS, Arulselvan P, Ng SF. et al. Improvement of diabetic wound healing by topical application of Vicenin-2 hydrocolloid film on Sprague Dawley rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2019;19(1):20.
296. Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw J. IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract*. 2011;94(3):311-21. doi: 10.1016/j.diabres.2011.10.029.
297. Achkasov EE, Bezuglov EN, Ul'yanov EN. et al. Application platelet-rich plasma in clinical practice. *Biomedicine*. 2013;4:46-59.
298. Gorbach EN, Petrovskaya NV, Grebneva OL. The effect of blood plasma components on the process of skin wound healing (an experimental study). *Genij Ortopedii*. 2007;2:52-56.
299. Ivanov EV, Morozova MP, Rzhavina EM. et al. Keratinocytes differentiation and wound healing in rats with streptozotocin – induced diabetes and severe hyperglycemia. *Diabetes Mellitus*. 2020;23(1):19-28. doi: 10.14341/DM10017.
300. Zhang XN, Ma ZJ, Wang Y. et al. *Angelica dahurica* ethanolic extract improves impaired wound healing by activating angiogenesis in diabetes. *PLoS One*. 2017;12(5): e0177862. doi: 10.1371/journal.pone.0177862.

301. Kido D, Mizutani K, Takeda K. et al. Impact of diabetes on gingival wound healing via oxidative stress. *PLoS One*. 2017;12(12):e0189601. doi: 10.1371/journal.pone.0189601.
302. Hu SCS, Lan CCE. High-glucose environment disturbs the physiologic functions of keratinocytes: focusing on diabetic wound healing. *Journal of Dermatological Science*. 2016;84(2):121-127.
303. Luczevich OE, Tamrazova OB, Shikunova AYu. A modern view of the pathophysiology and treatment of purulent wounds. *Khirurgiya*. 2011;5:72-77.
304. Medvedev VL, Kogan MI, Mihailov IV, Lepetunov SN. Platelet-rich autologous plasma: what is it and for what? *Urology Herald*. 2020;8(2):67-77. <https://doi.org/10.21886/2308-6424-2020-8-2-67-77>.
305. Krawczyk A, Izdebska M, Grzanka A. The influence of hyperglycemia on functions of endothelial progenitor cells. *Pol Merkur Lekarski*. 2009;26(153):245-7.
306. Almeida ARH, Menezes JA, Araújo GKM, Mafra AVC. Utilização de plasma rico em plaquetas, plasma pobre em plaquetas e enxerto de gordura em ritidoplastias: análise de casos clínicos. *Rev Bras Cir Plast*. 2008;23(2):82-8.
307. Mahdavian Delavary B, van der Veer WM, van Egmond M, Niessen FB, Beelen RH. Macrophages in skin injury and repair. *Immunobiology*. 2011;216(7):753–762. doi: 10.1016/j.imbio.2011.01.001.
308. Грамкова ИИ, Максимова ЕР. Регенерация кожи. *Bulletin of Medical Internet Conferences*. 2017;7:266.
309. Dionyssiou D, Demiri E, Foroglou P. et al. The effectiveness of intralesional injection of platelet-rich plasma in accelerating the healing of chronic ulcers: an experimental and clinical study. *Int Wound J*. 2012;10(4):397-406. doi: 10.1111/j.1742-481X.2012.00996.x.
310. Dhurat R, Sukesh M. Principles and methods of preparation of platelet-rich plasma: a review and author's perspective. *Journal of cutaneous and aesthetic surgery*. 2014;7(4):189-197.

ДОДАТОК А1

**Результати дослідження регенератів шкіри щурів молодого віку
контрольної групи, із хронічною гіперглікемією та хронічною
гіперглікемією із застосуванням збагаченої тромбоцитами плазми
(M ± SD), n = 10**

Показник	Контроль	ХГ	ХГ+ЗТП
7-ма доба дослідження			
Площа ранової поверхні, мм ²	72,77 ± 10,24	134,81 ± 29,33	102,59 ± 8,38
Швидкість загоєння рани, мм ² /добу	13,63 ± 2,46	3,75 ± 0,87	7,89 ± 0,97
Щільність судин,%	11,27 ± 1,81	5,21 ± 0,52	7,83 ± 0,79
14-та доба дослідження			
Площа ранової поверхні, мм ²	5,29 ± 1,01	101,02 ± 23,34	59,29 ± 10,41
Швидкість загоєння рани, мм ² /добу	9,64 ± 1,33	4,83 ± 1,402	6,19 ± 1,58
Щільність судин,%	19,83 ± 2,09	11,45 ± 1,53	15,48 ± 1,11
Товщина епідермісу, мкм	35,67 ± 5,72	20,85 ± 3,75	26,53 ± 5,51
Товщина дерми, мкм	204,91 ± 10,21	116,63 ± 12,54	155,26 ± 31,67
21-ша доба дослідження			
Площа ранової поверхні, мм ²	0,77 ± 0,11	50,43 ± 12,85	9,82 ± 1,35
Швидкість загоєння рани, мм ² /добу	0,65 ± 0,13	7,23 ± 2,33	7,07 ± 1,46
Щільність судин,%	30,95 ± 1,704	19,72 ± 1,29	28,96 ± 2,23
Товщина епідермісу, мкм	93, 64 ± 15,44	69,14 ± 12,94	82,89 ± 20,00
Товщина дерми, мкм	223,52 ± 27,49	170,82 ± 25,86	203,42 ± 43,19

ДОДАТОК А2

**Результати дослідження регенератів шкіри щурів зрілого віку
контрольної групи, із хронічною гіперглікемією та хронічною
гіперглікемією із застосуванням збагаченої тромбоцитами плазми
(M ± SD), n = 10**

Показник	Контроль	ХГ	ХГ+ЗТП
7-ма доба дослідження			
Площа ранової поверхні, мм ²	88,34 ± 12,43	131,84 ± 19,11	110,22 ± 15,64
Швидкість загоєння рани, мм ² /добу	12,92 ± 1,87	3,12 ± 0,82	6,49 ± 1,33
Щільність судин%	10,98 ± 0,89	4,99 ± 0,71	6,31 ± 0,94
14-та доба дослідження			
Площа ранової поверхні, мм ²	21,54 ± 2,45	98,95 ± 16,64	59,65 ± 9,99
Швидкість загоєння рани, мм ² /добу	9,54 ± 1,43	4,69 ± 1,43	7,22 ± 2,01
Щільність судин%	17,45 ± 1,39	10,87 ± 2,62	15,23 ± 2,54
Товщина епідермісу, мкм	41,202 ± 8,73	18,39 ± 3,77	24,19 ± 4,81
Товщина дерми, мкм	332,95 ± 51,56	216,65 ± 33,99	279,97 ± 15,36
21-ша доба дослідження			
Площа ранової поверхні, мм ²	1,42 ± 0,20	45,13 ± 6,05	15,98 ± 3,39
Швидкість загоєння рани, мм ² /добу	2,87 ± 0,32	7,69 ± 1,97	6,24 ± 1,47
Щільність судин%	25,73 ± 5,17	14,06 ± 2,89	24,15 ± 6,52
Товщина епідермісу, мкм	98,83 ± 13,49	76,08 ± 9,31	87,89 ± 21,22
Товщина дерми, мкм	435,32 ± 52,73	325,34 ± 47,55	354,55 ± 168,99

ДОДАТОК АЗ

**Результати дослідження регенератів шкіри щурів старечого віку
контрольної групи, із хронічною гіперглікемією та хронічною
гіперглікемією із застосуванням збагаченої тромбоцитами плазми
(M ± SD), n = 10**

Показник	Контроль	ХГ	ХГ+ЗТП
7-ма доба дослідження			
Площа ранової поверхні, мм ²	110,22 ± 15,51	137,83 ± 7,76	123,99 ± 6,47
Швидкість загоєння рани, мм ² /добу	8,75 ± 2,91	1,94 ± 0,59	3,82 ± 0,53
Щільність судин%	5,27 ± 0,603	3,35 ± 1,04	4,87 ± 0,70
14-та доба дослідження			
Площа ранової поверхні, мм ²	51,47 ± 7,39	111,305 ± 7,69	85,07 ± 6,33
Швидкість загоєння рани, мм ² /добу	8,39 ± 1,19	3,79 ± 0,84	5,56 ± 0,93
Щільність судин%	10,95 ± 2,56	7,51 ± 0,81	9,23 ± 1,18
Товщина епідермісу, мкм	34,96 ± 6,89	12,31 ± 3,39	22,11 ± 8,32
Товщина дерми, мкм	307,06 ± 74,04	140,62 ± 40,34	205,81 ± 63,42
21-ша доба дослідження			
Площа ранової поверхні, мм ²	5,86 ± 0,83	72,69 ± 9,95	28,98 ± 5,24
Швидкість загоєння рани, мм ² /добу	6,51 ± 0,94	5,52 ± 1,77	8,01 ± 1,02
Щільність судин%	18,54 ± 2,61	9,44 ± 2,54	12,97 ± 4,03
Товщина епідермісу, мкм	87,68 ± 6,37	44,92 ± 3,45	68,01 ± 5,98
Товщина дерми, мкм	357,19 ± 45,96	254,25 ± 39,79	301,58 ± 39,09

ДОДАТОК Б1


«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Проректор з науково-педагогічної роботи
 Запорізького державного медичного університету
 д. мед. наук, професор Візир В.А.

_____ 2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Структурні особливості регенерації шкіри за умов гіперглікемії у віковому аспекті
2. **Установа-розробник:** Сумський державний університет МОН України, кафедра мофрології (40018, м. Суми, вул. Санаторна, 31), Максимова Олена Сергіївна
3. **Джерело інформації:**
 - 3.1 Maksymova O.S., German S. M., Moskalenko P. O., Yasenok V. O., Gortynska O. M., Hortynskiy K. M., Tkach G. F. Features of skin wounds healing under chronic hyperglycemia and improvement of their treatment methods. *Wiadomości Lekarskie*. 2021;74(5):1174-1179. doi: 10.36740/WLek202105124.
 - 3.2 Максимова О. С., Ткач Г. Ф. Гістологічна та планіметрична характеристика регенерації шкіри шурів молодого віку за умов хронічної гіперглікемії. *Вісник проблем біології і медицини*. 2020;4(158):276-281. doi:10.29254/2077-4214-2020-4-158-276-281.
 - 3.3 Максимова О. С. Загоєння ран шкіри шурів старечого віку за умов хронічної гіперглікемії та при застосуванні збагаченої тромбоцитами плазми. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2021;6(30):44-50. doi:10.26693/jmbs06.02.044.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Запорізький державний медичний університет, кафедра анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії
5. **Термін впровадження:** жовтень - листопад 2021 року.
6. **Форма впровадження:** у матеріали лекцій та практичних занять з анатомії людини
7. **Зауваження та пропозиції:** не поступило.
8. **Протокол засідання кафедри № _____ від _____ 2021 р.**

Відповідальний за впровадження:
 завідувач кафедри анатомії людини,
 оперативної хірургії та топографічної анатомії
 доктор мед. наук, професор

 О. А. Григор'єва

ДОДАТОК Б2



«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор з наукової роботи
Вінницького національного медичного
університету ім. М.І. Пирогова,
проф. О.В. Власенко
« 28 » 12 2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів отриманих у дисертаційній роботі у наукову роботу та навчальний процес

1. **Пропозиція для впровадження:** Структурні особливості регенерації шкіри за умов гіперглікемії у віковому аспекті
2. **Установа-розробник:** Сумський державний університет МОН України, кафедра мофрології (40018, м. Суми, вул. Санаторна, 31), Максимова Олена Сергіївна
3. **Джерело інформації:**
 - 3.1 Maksymova O.S., German S. M., Moskalenko P. O., Yasenok V. O., Gortynska O. M., Hortynskyi K. M., Tkach G. F. Features of skin wounds healing under chronic hyperglycemia and improvement of their treatment methods. Wiadomości Lekarskie. 2021;74(5):1174-1179. doi: 10.36740/WLek202105124.
 - 3.2 Максимова О. С., Ткач Г. Ф. Гістологічна та планіметрична характеристика регенерації шкіри щурів молодого віку за умов хронічної гіперглікемії. Вісник проблем біології і медицини. 2020;4(158):276-281. doi:10.29254/2077-4214-2020-4-158-276-281.
 - 3.3 Максимова О. С. Загоєння ран шкіри щурів старечого віку за умов хронічної гіперглікемії та при застосуванні збагаченої тромбоцитами плазми. Український журнал медицини, біології та спорту. 2021;6(30):44-50. doi:10.26693/jmbs06.02.044.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра клінічної анатомії та оперативної хірургії
5. **Результат застосування:** пропозиції за період з 1 жовтня 2021 року по 30 листопада 2021 року. Матеріали використовуються у науковій та навчальній роботі кафедри клінічної анатомії та оперативної хірургії.
6. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3).** Використання результатів наукових досліджень дозволило розширити знання щодо структурних змін процесу регенерації шкіри за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії.
7. **Зауваження та пропозиції:** не вносилося.
8. **Обговорено і затверджено** на засіданні кафедри, протокол № 11 від 28.12 2021 р.

Відповідальний за впровадження:
завідувач кафедри клінічної анатомії
та оперативної хірургії
Вінницького національного медичного
університету ім. М.І. Пирогова МОЗ України,
доктор медичних наук, професор

В.І. Півторак

ДОДАТОК БЗ



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

В.о. проректора
науково-педагогічної роботи
Одеського національного
медичного університету,
Шмакова І.П.

2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів отриманих у дисертаційній роботі у наукову роботу та навчальний процес

1. **Пропозиція для впровадження:** Структурні особливості регенерації шкіри за умов гіперглікемії у віковому аспекті
2. **Установа-розробник:** Сумський державний університет МОН України, кафедра мофрології (40018, м. Суми, вул. Санаторна, 31), Максимова Олена Сергіївна
3. **Джерело інформації:**
 - 3.1 Maksymova O.S., German S. M., Moskalenko P. O., Yasenok V. O., Gortynska O. M., Hortynskiy K. M., Tkach G. F. Features of skin wounds healing under chronic hyperglycemia and improvement of their treatment methods. Wiadomości Lekarskie. 2021;74(5):1174-1179. doi: 10.36740/WLek202105124.
 - 3.2 Максимова О. С., Ткач Г. Ф. Гістологічна та планіметрична характеристика регенерації шкіри шурів молодого віку за умов хронічної гіперглікемії. Вісник проблем біології і медицини. 2020;4(158):276-281. doi:10.29254/2077-4214-2020-4-158-276-281.
 - 3.3 Максимова О. С. Загоєння ран шкіри шурів старечого віку за умов хронічної гіперглікемії та при застосуванні збагаченої тромбоцитами плазми. Український журнал медицини, біології та спорту. 2021;6(30):44-50. doi:10.26693/jmbs06.02.044.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Одеський національний медичний університет
5. **Результат застосування:** пропозиції за період з 1 жовтня 2021 року по 30 листопада 2021 року. Матеріали використовуються у науковій та навчальній роботі кафедри нормальної та патологічної клінічної анатомії.
6. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3).** Використання результатів наукових досліджень дозволило розширити знання щодо структурних змін процесу регенерації шкіри за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії.
7. **Зауваження та пропозиції:** не вносилося.
8. **Обговорено і затверджено** на засіданні кафедри, протокол № 3 від 04.10. 2021 р.

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри нормальної та
патологічної клінічної анатомії
Одеського національного
медичного університету,
д. мед. н., професор

О. І. Аппельханс

ДОДАТОК Б4



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
Дніпровського державного
медичного університету
проф. О.О. Гудар'ян

«_____» _____ 2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів отриманих у дисертаційній роботі, у наукову роботу та навчальний процес

1. **Пропозиція для впровадження:** Структурні особливості регенерації шкіри за умов гіперглікемії у віковому аспекті
2. **Установа-розробник:** Сумський державний університет МОН України, кафедра мофрології (40018, м. Суми, вул. Санаторна, 31), Максимова Олена Сергіївна
3. **Джерела інформації:**
 - 3.1 Maksymova O.S., German S. M., Moskalenko P. O., Yasenok V. O., Gortynska O. M., Hortynskyi K. M., Tkach G. F. Features of skin wounds healing under chronic hyperglycemia and improvement of their treatment methods. Wiadomości Lekarskie. 2021;74(5):1174-1179. doi: 10.36740/WLek202105124.
 - 3.2 Максимова О. С., Ткач Г. Ф. Гістологічна та планіметрична характеристика регенерації шкіри щурів молодого віку за умов хронічної гіперглікемії. Вісник проблем біології і медицини. 2020;4(158):276-281. doi:10.29254/2077-4214-2020-4-158-276-281.
 - 3.3 Максимова О. С. Загоєння ран шкіри щурів старечого віку за умов хронічної гіперглікемії та при застосуванні збагаченої тромбоцитами плазми. Український журнал медицини, біології та спорту. 2021;6(30):44-50. doi:10.26693/jmbs06.02.044.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Дніпровський державний медичний університет, кафедра анатомії людини, клінічної анатомії та оперативної хірургії
5. **Термін впровадження:** жовтень - листопад 2021 року.
6. **Форма впровадження:** у наукову роботу кафедри, а також у матеріали лекцій та практичних занять з анатомії, клінічної анатомії та оперативної хірургії
7. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.
8. **Обговорено і затверджено на засіданні кафедри, протокол №** __ **від** _____ **2021 р.**

Завідувач кафедри анатомії людини,
клінічної анатомії та оперативної хірургії
д.мед.наук, професор



О.О. Нефьодова

Відповідальна за впровадження особа:
професор кафедри анатомії людини,
клінічної анатомії та оперативної хірургії
д.мед.наук, професор


В.В. Кошарний

ДОДАТОК Б5

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Перший проректор
 з науково-педагогічної роботи
 Полтавського державного
 медичного університету
 проф. В. М. Дверник
 2021 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Структурні особливості регенерації шкіри за умов гіперглікемії у віковому аспекті
2. **Установа-розробник:** Сумський державний університет МОН України, кафедра мофрології (40018, м. Суми, вул. Санаторна, 31), Максимова Олена Сергіївна
3. **Джерело інформації:**
 Максимова О. С., Ткач Г. Ф. Гістологічна та планіметрична характеристика регенерації шкіри щурів молодого віку за умов хронічної гіперглікемії. Вісник проблем біології і медицини. 2020; 4 (158):276-281. doi:10.29254/2077-4214-2020-4-158-276-281.
4. **Де і коли впроваджено:** кафедра патологічної анатомії з секційним курсом Української медичної стоматологічної академії, травень – вересень 2021 р.
5. **Результати застосування методу:** отримані результати щодо особливостей регенерації шкіри за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії впровадженні у навчальний процес зі здобувачами вищої освіти, лікарями інтернами (в лекційний курс, практичні заняття) та науково-дослідну роботу кафедри.
6. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації** (п.3). Використання результатів роботи в навчальному процесі та науково-дослідній роботі дозволяє поглибити й підвищити знання студентів, лікарів-інтернів, аспірантів щодо морфологічних особливостей регенеративних процесів в організмі за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії.
7. **Зауваження та пропозиції:** немає.

Пропозиція обговорена і затверджена на кафедральному засіданні № 4 від 06.10.2021 р.

Відповідальний за впровадження:
 завідувач кафедри
 патологічної анатомії з секційним курсом,
 д. мед. н., професор



І.І. Старченко

ДОДАТОК Б6

ЗАТВЕРДЖУЮ
 Проректор з науково-педагогічної роботи
 Буковинського державного медичного університету
 І.В. Геруш
 2021 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Пропозиція для впровадження: «Структурні особливості регенерації шкіри за умов гіперглікемії у віковому аспекті».

Установа-розробник: Сумський державний університет МОЗ України, кафедра мофрології (40018, м. Суми, вул. Санаторна, 31), Максимова Олена Сергіївна.

Джерело інформації:

1. Maksymova O.S., German S. M., Moskalenko P. O., Yasenok V. O., Gortynska O. M., Hortynskyi K. M., Tkach G. F. Features of skin wounds healing under chronic hyperglycemia and improvement of their treatment methods. Wiadomości Lekarskie. 2021;74(5):1174-1179. doi: 10.36740/WLek202105124.
2. Максимова О. С., Ткач Г. Ф. Гістологічна та планіметрична характеристика регенерації шкіри шурів молодого віку за умов хронічної гіперглікемії. Вісник проблем біології і медицини. 2020;4(158):276-281. doi:10.29254/2077-4214-2020-4-158-276-281.
3. Максимова О. С. Загоєння ран шкіри шурів старечого віку за умов хронічної гіперглікемії та при застосуванні збагаченої тромбоцитами плазми. Український журнал медицини, біології та спорту. 2021;6(30):44-50. doi:10.26693/jmbs06.02.044.

Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра анатомії, клінічної анатомії та оперативної хірургії Буковинського державного медичного університету.

Термін впровадження: жовтень – листопад 2021 року.

Форми впровадження: введено у навчальний процес – у матеріали лекцій та практичних занять з анатомії, клінічної анатомії та оперативної хірургії.

Затверджено на засіданні кафедри (протокол № 4 від 27.09.2021 р.).

**Завідувач кафедри анатомії,
 клінічної анатомії
 та оперативної хірургії
 Буковинського державного
 медичного університету МОЗ України,
 доктор медичних наук, професор**



Олександр СЛОБОДЯН

ДОДАТОК Б7



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор

науково-педагогічної роботи

Львівського національного

медичного університету

імені Данила Галицького

проф. Гжегоцький М.Р.

2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів отриманих у дисертаційній роботі, у наукову роботу та навчальний процес

1. **Пропозиція для впровадження:** Структурні особливості регенерації шкіри за умов гіперглікемії у віковому аспекті
2. **Установа-розробник:** Сумський державний університет МОН України, кафедра мофрології (40018, м. Суми, вул. Санаторна, 31), Максимова Олена Сергіївна
3. **Джерела інформації:**
 - 3.1 Maksymova O.S., German S. M., Moskalenko P. O., Yasenok V. O., Gortynska O. M., Hortynskyi K. M., Tkach G. F. Features of skin wounds healing under chronic hyperglycemia and improvement of their treatment methods. Wiadomości Lekarskie. 2021;74(5):1174-1179. doi: 10.36740/WLek202105124.
 - 3.2 Максимова О. С., Ткач Г. Ф. Гістологічна та планіметрична характеристика регенерації шкіри шурів молодого віку за умов хронічної гіперглікемії. Вісник проблем біології і медицини. 2020;4(158):276-281. doi:10.29254/2077-4214-2020-4-158-276-281.
 - 3.3 Максимова О. С. Загоєння ран шкіри шурів старечого віку за умов хронічної гіперглікемії та при застосуванні збагаченої тромбоцитами плазми. Український журнал медицини, біології та спорту. 2021;6(30):44-50. doi:10.26693/jmbs06.02.044.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра оперативної хірургії з топографічною анатомією
5. **Термін впровадження:** жовтень - листопад 2021 року.
6. **Форма впровадження:** у наукову роботу кафедри, а також у матеріали лекцій та практичних занять
7. **Зауваження та пропозиції:** не поступило.
8. **Протокол засідання кафедри № 2** від 16 вересня 2021 р.

Відповідальний за впровадження:
завідувач кафедри оперативної
хірургії з топографічною анатомією
д.мед.наук, професор

3.3. Масна