

*На правах рукописи*

ШУТСКИЙ  
Никита Алексеевич

**МЕХАНИЗМЫ РЕМОДУЛЯЦИИ МЕЖКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА  
ДЕРМЫ НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ОСТРОГО  
ОТМОРОЖЕНИЯ ПРИ НАРУШЕНИИ ГЛЮКОЗОТОЛЕРАНТНОСТИ**

3.3.3. Патологическая физиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Екатеринбург – 2024

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования "Северный государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

**Научный руководитель:**

Доктор медицинских наук, доцент

**Кашутин  
Сергей Леонидович**

**Официальные оппоненты:**

Доктор медицинских наук, профессор, декан лечебного факультета, заведующий кафедрой патофизиологии с курсом клинической патофизиологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Власов  
Тимур Дмитриевич**

Доктор медицинских наук, начальник научно-исследовательского отдела (медико-биологических исследований) НИЦ ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации

**Глушаков  
Руслан Иванович**

**Ведущая организация** – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Санкт-Петербург).

Защита диссертации состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2024 года в \_\_\_\_\_ часов на заседании Совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук 24.1.063.01 на базе ФГБУН Института иммунологии и физиологии УрО РАН по адресу: 620049, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 106.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке УрО РАН по адресу: 620041, г. Екатеринбург, ул. Софьи Ковалевской/Академическая, 22/20 и на сайте ИИФ УрО РАН (<http://iip.uran.ru>), с авторефератом – там же и на сайте ВАК РФ (<http://vak2.ed.gov.ru>).

Автореферат разослан \_\_\_\_\_ 2024 г.

Ученый секретарь Совета 24.1.063.01  
на базе Института иммунологии и физиологии УрО РАН,  
кандидат биологических наук

Ю.А. Журавлёва

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Необходимость изучения процессов регенерации тканей в постхолодовой период обусловлены освоением Арктической зоны, для которой свойственны абсолютно дискомфортные климатические условия (Гудков А.Б., Попова О.Н., Лукманова Н.Б. 2012; Добродеева Л.К., Филиппова О.Е., Балашова С.Н. 2014). Под покровом льдов Арктики сосредоточены до 20% нефтяных и более 50% газовых отечественных запасов, а также месторождения различных полезных ископаемых и редких металлов (золота, угля, хрома, марганца и др.). Освоение Арктической зоны определено в стратегии развития Арктической зоны Российской Федерации и обеспечения национальной безопасности на период до 2035 года (Груздева О.С., 2020; Жуков Д.Ю. и др., 2020; Mohr W.J., Jenabzadeh K., Ahrenholz D.H., 2009). В тоже время, сезонный характер холодового повреждения, число случаев отморожений (20% от всех случаев термических травм), сложность лечения с большой продолжительностью временной нетрудоспособности, высокий риск инвалидизации, особенно, в молодом трудоспособном возрасте, определяют экономическую составляющую холодового повреждения как социальной проблемы (Бочаров М.И., 2015; Лазаренко В.А., Ляшев Ю.Д., Шевченко Н.И., 2015; Суркова Г.В., 2015; Чигунадзе А.Л. и др., 2015; Шерстюков Б.Г., 2016; Патракеева В.П., Самодова А.В., 2017; Шаньгина А.А. и др., 2018; Патракеева В.П., Штаборов В.А., 2019).

Механизмы регенерации тканей после холодового воздействия разных степеней освещены достаточно подробно с учетом не только изменений по суткам, но и по часам, с указанием гистологических и иммуногистохимических изменений в эпидермисе и дерме в первую очередь с описанием качественных изменений клеточного состава дермы и межклеточного ее матрикса, представляющего собой волокнистые структуры (коллаген и эластин), а также межклеточного вещества (Шаповалов К.Г., Сизоненко В.А., Бурдинский Е.Н., 2008; Лукин А.А., 2020; Жуков Д.Ю. и др., 2020; Валентюкевич А.Л., Меламед В.Д., Прокопчик Н.И., 2021; Хадарцев А.А., Фудин Н.А., Миненко И.А., 2022; Arora R., 2018).

В то же время гистологические и иммуногистохимические методы не позволяют количественно оценить интенсивность деградации, равно как и синтеза коллагена, что обуславливает необходимость разработки методов, позволяющих количественно определить степень изменения данных процессов (Дуденкова В.В. и др., 2019; Мангилева Т.А., 2019). С другой стороны, оценить интенсивность изменений межклеточного вещества возможно, определяя концентрацию сиаловых кислот. Известно, что сиаловые кислоты – ациальные производные нейраминовой кислоты, являющейся одним из компонентов межклеточного вещества соединительной ткани, в

том числе дермы. В процессе деградации межклеточного матрикса дермы уровень сиаловых кислот в сыворотке крови повышается, что позволяет оценить интенсивность деградации межклеточного вещества (Дуденкова В.В. и др., 2019; Звягинцева Т.В., Миронченко С.И., 2019; Schauer R., Kamerling J.P., 2018).

Отягчающим фактором восстановительного периода после различного рода повреждений нередко могут являться последствия отклонений на основе инсулинорезистентности и компенсаторной гиперинсулинемии, при которых возникает вероятность развития нарушений микроциркуляции и энергетического обмена (Kaur J.A., 2014).

Наблюдения показывают, что метаболические отклонения в виде нарушения толерантности к глюкозе (НТГ) широко распространяются во всем мире, и Арктическая зона не стала исключением (Беленков Ю.Н. и др., 2018; Мартынов А.В., 2022; Kaur J.A., 2014). С учетом частоты регистрации случаев нарушения глюкозотолерантности в северных широтах, изучение механизмов ремодуляции межклеточного матрикса дермы, сопряженных с их наличием, представляет не только теоретический, но и практический интерес (Шилов А. и др., 2010; Беленков Ю.Н. и др., 2018; Hanefeld M., 2007; Kaur J.A., 2014; McIntosh S.E. et al., 2019). Также важным является определение уровня секреции и влияния на регенеративные процессы в условиях нарушенной глюкозотолерантности инсулиноподобного фактора роста (IGF-1), который является стимулятором пролиферации и дифференциации клеток и заживления тканей, а также выполняет инсулиноподобную функцию по улучшению потребления глюкозы (Delafontaine P., Song Y.H., Li Y., 2004).

Все перечисленное определяет актуальность, перспективность и практическую значимость анализа влияния нарушения толерантности к глюкозе на интенсивность деградации и синтеза межклеточного матрикса дермы, что в свою очередь влияет на длительность и качество восстановления кожных покровов после локального холодового воздействия.

**Степень разработанности темы.** Изучение патологических процессов термических поражений, в частности, холодовых воздействий, получили широкое распространение в связи с частой регистрацией таких случаев (Бойко В.В. и др., 2010; Патракеева В.П., Самодова А.В., 2017; Тателадзе Д.Г., Симонов С.Н., 2017; Шаньгина А.А. и др., 2018; Патракеева В.П., Штаборов В.А., 2019; Груздева О.С., 2020; Патракеева В.П., Штаборов В.А., 2022). Вопросам патологии локальных холодовых воздействий кожи посвящено большое количество публикаций ведущих научных журналов по дерматологии и травматологии. Представленные в них рекомендации зарегистрированы отечественными и зарубежными исследователями. В публикациях

этих авторов изложены основы тактики лечения отморожений (Сизоненко В.А., 1997; Сизоненко В.А. и др., 2002; Карайланов М.Г., 2008; Груздева О.С., 2020; Banzo J., Martínez V.G., Abós M.D., 2002; Finderle Z., 2002; McIntosh S.E. et al., 2019). Несмотря на некоторые успехи, достигнутые в исследовании патогенеза холодových повреждений, многие вопросы остаются открытыми.

В исследовании регенерационных процессов важным является изучение влияния отягчающих факторов, хронических заболеваний и патологических состояний, к которым можно отнести нарушение толерантности к глюкозе (Шилов А. и др., 2010; Шишко О.Н. 2013; Хакунов Р.Н., 2012; Беленков Ю.Н. и др., 2018; Nathan D.M. et al., 2007; Kaur J., 2014). Однако вопрос о том, какое влияние оказывает такое отклонение на ремодуляцию дермы, остается малоизученным.

**Цель исследования** – проанализировать механизмы ремодуляции межклеточного матрикса дермы на экспериментальной модели острого отморожения при нарушении глюкозотолерантности.

В соответствии с поставленной целью исследования были сформулированы следующие **задачи**:

1. Сравнить продолжительность ремодуляции в зоне повреждения после локального острого отморожения у крыс с нарушением и без нарушения толерантности к глюкозе.
2. Исследовать содержание коллагена дермы после локального острого отморожения у крыс с нарушением глюкозотолерантности.
3. Определить динамику толщины коллагеновых волокон дермы после локального острого отморожения у крыс, с индуцированным нарушением толерантности к глюкозе.
4. Установить динамику концентрации сиаловых кислот в сыворотке крови после острого локального отморожения у крыс с нарушением глюкозотолерантности.
5. Проанализировать локализацию клеток дермы после острого локального отморожения у крыс на фоне нарушения толерантности к глюкозе.
6. Исследовать концентрацию инсулиноподобного фактора роста (IGF-1) в сыворотке крови в ходе регенераторного процесса после острого локального отморожения у крыс на фоне нарушения толерантности к глюкозе.

**Научная новизна и теоретическая значимость работы.** Впервые установлены количественные критерии деградации и синтеза межклеточного матрикса дермы в ходе ремодуляции после локального острого отморожения на фоне нарушения толерантности к глюкозе. Впервые выявлено, что снижение содержания коллагена межклеточного матрикса дермы, регистрируемое на 3 сутки после острого локального

отморожения, сменяется синтезом и формированием его уже на 7 сутки не зависимо от наличия или отсутствия нарушений толерантности к глюкозе. Выявлено, что интенсивный синтез коллагена на фоне нарушения толерантности к глюкозе происходит на 7-14 сутки ремодуляции кожи, что по продолжительности короче, чем в условиях отсутствия такого нарушения (3-7 сутки и 14-21 сутки). Показано, что при отклонении толерантности к глюкозе время формирования толщины коллагеновых волокон ограничено интервалом с 3 по 14 сутки (против интервала с 3 по 21 сутки в группе без нарушения толерантности к глюкозе).

Впервые установлено, что ремодуляция дермы в условиях нарушения толерантности к глюкозе связана с более поздней концентрацией клеток на границе сетчатой дермы и гиподермы. Процесс восстановления дермы после локального острого отморожения сопряжен с увеличением концентрации инсулиноподобного фактора роста (IGF-1).

Научная новизна подтверждается патентами Российской Федерации на изобретение: «Способ определения количества коллагена в ткани» № 2689337 от 2 июля 2018 г., «Способ выделения коллагеновых волокон дермы» № 2764514 от 23 декабря 2020 г.

**Практическая значимость работы.** Определены количественные критерии синтеза и деградации межклеточного матрикса дермы на экспериментальной модели острого отморожения при нарушении толерантности клеток к глюкозе.

В условиях нарушения толерантности к глюкозе снижение содержания коллагена в дерме (менее 60 %) и увеличение концентрации сиаловых кислот в сыворотке крови (более 180 усл. ед.) может служить биомаркером активности процессов деградации межклеточного матрикса дермы.

Практическая значимость исследования заключается в разработке методологии количественного определения коллагена (патент РФ № 2689337).

Успешно разработана и апробирована методика выделения коллагеновых волокон дермы (патент РФ № 2764514), которая может быть использована для анализа структуры изолированных коллагеновых волокон.

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Содержание коллагена дермы и толщина коллагеновых волокон до острого отморожения не зависят от наличия или отсутствия нарушения толерантности к глюкозе, в отличие от концентрации сиаловых кислот и IGF-1 в сыворотке крови.

2. После локального острого отморожения синтез и формирование коллагена дермы происходит с низкой интенсивностью на фоне нарушения толерантности к глюкозе.

3. Процесс ремодуляции межклеточного матрикса дермы после острого отморожения происходит на фоне увеличения концентрации IGF-1 в сыворотке крови.

**Степень достоверности результатов проведенных исследований.** Достоверность и обоснованность результатов диссертационного исследования подтверждается достаточным объемом экспериментального материала и использованием современных методик, опубликованных в научных изданиях. Допущенные предположения, утверждения и выводы, сформулированные в диссертации, подтверждены данными в виде таблиц и рисунков.

**Личный вклад диссертанта.** Автором совместно с научным руководителем сформулированы цель, задачи, основные положения, выносимые на защиту, выводы по работе. Воспроизведение экспериментальных моделей метаболических отклонений в виде нарушения толерантности к глюкозе и острого отморожения, разработка способов определения количества коллагена в ткани и выделения коллагеновых волокон дермы, гистологические исследования, определение концентраций инсулиноподобного фактора роста-1 и сиаловых кислот в сыворотке крови, анализ и обобщение результатов исследования, подготовка материалов для публикаций в научных изданиях и для получения двух патентов, апробация результатов исследования, написание и оформление рукописи диссертации осуществлены лично автором.

**Апробация диссертации.** Основные результаты работы были представлены в виде тезисов и докладов на следующих научных конференциях: научно-практическая конференция, посвященная памяти академика Н.А. Агаджаняна «Научное наследие, современные аспекты физиологии» (г. Архангельск, 2023); VIII междисциплинарный медицинский форум «Актуальные вопросы врачебной практики. Беломорские зори» (г. Архангельск, 2023); LI Ломоносовские чтения. Итоговая научная сессия «Фундаментальные и прикладные аспекты сбережения здоровья человека в Арктике», приуроченная к 300-летию Российской академии наук (г. Архангельск, 2023); LI Ломоносовские чтения. Итоговая научная сессия «Медицина в Арктике: экологические, фундаментальные и прикладные аспекты», посвящённая 90-летию СГМУ (Архангельск, 2022); IV междисциплинарный медицинский форум «Актуальные вопросы врачебной практики. Беломорские зори» (Архангельск, 2019); V Общероссийский форум «Медицина в Арктике: экологические, фундаментальные и прикладные аспекты» (Архангельск, 2019); XLVII Ломоносовские чтения «Проблемы гистологии, цитологии, эмбриологии и анатомии». Фундаментальные аспекты морфологии и цитологии (Архангельск, 2018); XLVI Ломоносовские чтения «Проблемы гистологии, цитологии, эмбриологии и анатомии». Фундаментальные аспекты морфологии и цитологии (Архангельск, 2017).

**Внедрение результатов исследования в практику.** Результаты диссертационной работы внедрены в учебный процесс на лечебном факультете и факультете медико-профилактического дела и медицинской биохимии (акт внедрения от 14.03.2023); в научный процесс Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО СГМУ (г. Архангельск) Минздрава России (2 акта внедрения от 15.03.2023); в рабочие программы по дисциплине «Дерматовенерология» в раздел «Общая дерматология» (выписка из протокола заседания кафедры кожных и венерических болезней № 5 от 02.11.2023) ФГБОУ ВО СГМУ (г. Архангельск) Минздрава России); результаты исследования используются в разделе программы «Физиология человека и животных» при прохождении учебной и производственной практики студентов и аспирантов на базе лаборатории физиологии иммунокомпетентных клеток ФГБУН ФИЦКИА УрО РАН (акт внедрения от 16.03.2023).

**Публикации.** По результатам диссертационной работы опубликовано 11 статей, из них 3 статьи – в журналах, включенных в Перечень ВАК для публикации результатов диссертационных исследований по специальности 3.3.3. Патологическая физиология и/или индексируемых в МБД Scopus, WoS и RSCI, получено 2 патента РФ.

**Структура и объем работы.** Диссертационная работа состоит из следующих разделов: введение, обзор литературных источников, объект и методы исследования, 2 главы результатов собственных исследований, заключение, выводы, список литературы (119 источников). Работа изложена на 119 страницах текста, содержит 21 рисунок и 12 таблиц.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

В качестве объектов исследования были лабораторные самцы и самки беспородных крыс. Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям этического комитета ФГБОУ ВО СГМУ (г. Архангельск) Минздрава России (протокол № 05/06-18 от 28.06.2018).

Индукцию нарушения толерантности к глюкозе проводили в соответствии с методикой, предложенной группой исследователей (Derkach K.V. et al., 2015). Крысят в количестве 63 особей с возраста 26 дней вместо воды поили 30%-ным раствором сахарозы. В рацион также добавляли насыщенные жиры (масло 82,5%) из расчета 4 г масла/крысу/день. Через месяц после начала диеты повышали суточное количество масла до 5 г, еще через месяц – до 6 г. По истечении 30 дней у лабораторных крыс оценивали чувствительность к глюкозе с помощью глюкозотолерантного теста. Для



этого вводили раствор глюкозы (2 г/кг) внутривенно и в течение 120 мин в крови, полученной из хвостовой вены, измеряли концентрацию глюкозы. На основании двух критериев: повышенной массы тела животных (более 450 г) и нарушения толерантности к глюкозе была сформирована группа крыс в количестве 43 особей, 11 из которых использовались в качестве контрольной группы с нарушенной толерантностью к глюкозе, а остальные были разделены на экспериментальные группы, у которых моделировали острое отморожение. У 20 крыс нарушения толерантности к глюкозе не проявились, и они не участвовали в последующем эксперименте (рисунк 1).



**Рисунок 1 – Дизайн диссертационного исследования**

Воспроизведение модели острого отморожения проводили по методу Бойко В.В., 2010. Металлическую гирьку диаметром 2,5 см предварительно охлаждали в жидком азоте, а затем прикладывали к депилированной коже спины крысы на 3 мин. В последующем обработка раневой поверхности включала ежедневную обработку 0,01% водным раствором хлоргексидина. Вывод из эксперимента проводили путем передозировки средства для наркоза на 3, 7, 14 и 21 сутки.

Животные, у которых моделировали только острое отморожение, сформировали первую группу (n = 80). Животные с повышенной массой тела и нарушенной толерантностью к глюкозе сформировали вторую группу (n = 43), которым аналогичным образом воспроизводили модель острого локального отморожения. В качестве контрольной группы без развития нарушения толерантности к глюкозе (n = 20) были использованы интактные беспородные крысы, содержащиеся на стандартном пищевом режиме.

Определение количественного содержания коллагена дермы осуществляли по разработанному нами способу (патент РФ № 2689337). Блок-схема процесса представлена на *рисунке 2*.



**Рисунок 2 – Блок-схема количественного определения коллагена в ткани**

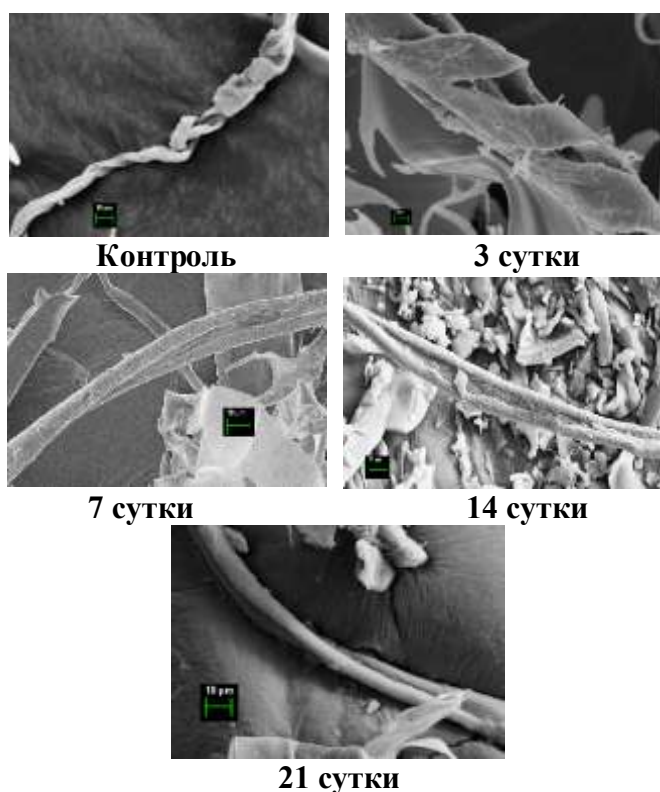
Определение толщины коллагеновых волокон осуществляли в 2 этапа. Первый этап заключался в их выделении из дермы в соответствии с предложенной нами методикой (патент РФ № 2764514). На втором этапе проводили электронно-сканирующую микроскопию после полного высушивания выделенных коллагеновых волокон (*рисунок 3*) на электронном микроскопе SEM Sigma VP Zeiss (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Германия). Для увеличения контрастности изображений поверхность высушенных волокон покрывали слоем Au-Pd сплава (80:20) толщиной до 5 нм с помощью напылительной установки Q150T ES (Quorum Technologies Ltd, Великобритания).

Биоптаты пораженной кожи с окружающим ее неповрежденным участком фиксировали в 10% забуференном формалине. После классической гистологической проводки из парафиновых блоков на микротоме (Reichert, Austria) получали серийные срезы толщиной 5-10 мкм, которые в дальнейшем окрашивали гематоксилин-эозином и по Ван-Гизону. Снимки микропрепаратов были получены на микроскопе Axio Scope A1 (Carl Zeiss, Germany) при помощи аппаратно-программного комплекса «Мекос-Ц2».

Забор крови осуществляли путем пункции полости сердца перед выведением животного из эксперимента. Пробирки с кровью центрифугировали с помощью LMC-4200R (BioSan, Латвия) в течение 10 мин при температуре 8°C и 2700 об/мин. Сыворотку крови отбирали в пластиковые градуированные пробирки, после чего замораживали их в низкотемпературном морозильнике DW-86W100 (Haier, Китай).

Определение инсулиноподобного фактора роста в сыворотке крови производили методом иммуноферментного анализа с реактивом IFG-1 ELISA (Mediagnost, Германия) и оценкой на аппарате Multiskan Fc (Thermo Fisher, США). Измерение концентрации фактора роста осуществляли в соответствии с инструкцией фирмы производителя.

Определение сиаловых кислот в сыворотке крови проводили в соответствии с классической методикой с реактивом Гесса, подробно описанной в работе Романовой Ю.Г., 2018. Оптическую плотность полученных образцов определяли с помощью прибора Spectrophotometer 2800 UV/VIS (United products & instruments, USA) в кварцевой кювете с шириной слоя 10 мм при длине волны 545 нм против кюветы сравнения с реактивом Гесса. Результат выражали в условных единицах, умножая величину экстинкции на 1000.



**Рисунок 3 – Электронная микроскопия выделенных коллагеновых волокон дермы поврежденного участка после острого отморожения**

Статистическую обработку результатов проводили с помощью SPSS 13.0 для Windows. Распределение параметров было ненормальным, в связи с чем описание выборок проводили с помощью подсчета среднего значения, медианы (Me) и межквартильного интервала (Q25; Q75). Вероятность различий оценивали по непараметрическим критериям Колмогорова–Смирнова (Z) и Уилкоксона (W). Корреляционный анализ проводился с определением коэффициента Кендалла ( $\tau$ ). Статистическая достоверность присваивалась при значении  $p < 0,05$ .

### **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Воспроизведение модели острого отморожения представлено на *рисунке 4*. В соответствии с полученными результатами исследования, на 3 сутки эксперимента в зоне повреждения эпителиальный слой кожи полностью разрушился, происходили воспалительные процессы в дерме (гиперемия, отек), что сопровождалось полной

реорганизацией волокнистой структуры, разрушением волосяных фолликулов, сальных и потовых желез. Процесс ремоделирования межклеточного матрикса дермы на 21 сутки после острого отморожения на фоне нарушения толерантности к глюкозе продолжался, о чем свидетельствовали наличие эрозивно-язвенных дефектов в стадии рубцевания и гиперемии вокруг их. Напротив, при холодовом повреждении без нарушения углеводного обмена к 21 суткам, ремодуляция заканчивалась формированием рубца.



**Рисунок 4 – Процесс заживления после острого отморожения без нарушения (а) и с нарушением толерантности к глюкозе (б)**

В соответствии с полученными данными, на 3 сутки после холодового повреждения регистрировали статистически значимое снижение содержания коллагена по отношению к массе биоптата на 50% (рисунок 5), что согласуется с предшествующими исследованиями (Бочаров М.И., 2015).

Заметная деградация коллагена дермы сопровождалась статистически значимым снижением толщины коллагеновых волокон с 11,11 мкм (10,08; 13,90) до 3,36 мкм (3,08; 4,42);  $Z=2,02$ ;  $p=0,001$  (рисунок б). На основании статистически значимого увеличения содержания коллагена в дерме с 3 по 7 сутки почти на 10%: с 21,71% (16,37; 22,51) до 31,15% (30,02; 33,55);  $Z=1,79$ ;  $p=0,003$ , можно полагать о начале репаративных процессов, именно в этот период. Таким образом, скопления фибробластов в очаге локального холодового повреждения на 7 сутки являются функционально активными в направлении синтеза волокнистых структур соединительной ткани. Увеличение толщины коллагеновых волокон дермы начиналось на 7 сутки до 5,65 мкм (5,09; 6,08) и продолжилось до конца периода наблюдения, достигнув 8,99 мкм (8,95; 9,76);  $Z=1,64$ ;  $p=0,009$ , все еще отличаясь от контрольной группы. Статистически значимое ускорение синтеза изучаемого белка вновь возобновилось с 14 по 21 сутки: с 35,91% (32,39; 49,29) до 52,27% (46,42; 55,17);  $Z=1,38$ ;  $p=0,040$ , что отразилось на толщине волокон. Содержание коллагена к 21

суткам так и не достигло уровня интактной группы, как и показатель толщины волокон, который на всем протяжении наблюдения статистически значимо различался с контрольными значениями, что также согласуется с выводами, сделанными ранее (Груздева О.С., 2020; Валентюкевич А.Л., Меламед В.Д., Прокопчик Н.И., 2021).



**Рисунок 5 – Динамика содержания коллагена после острого отморожения**

*Примечание:* \* - сравнение значений с предыдущими сутками (\* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ )

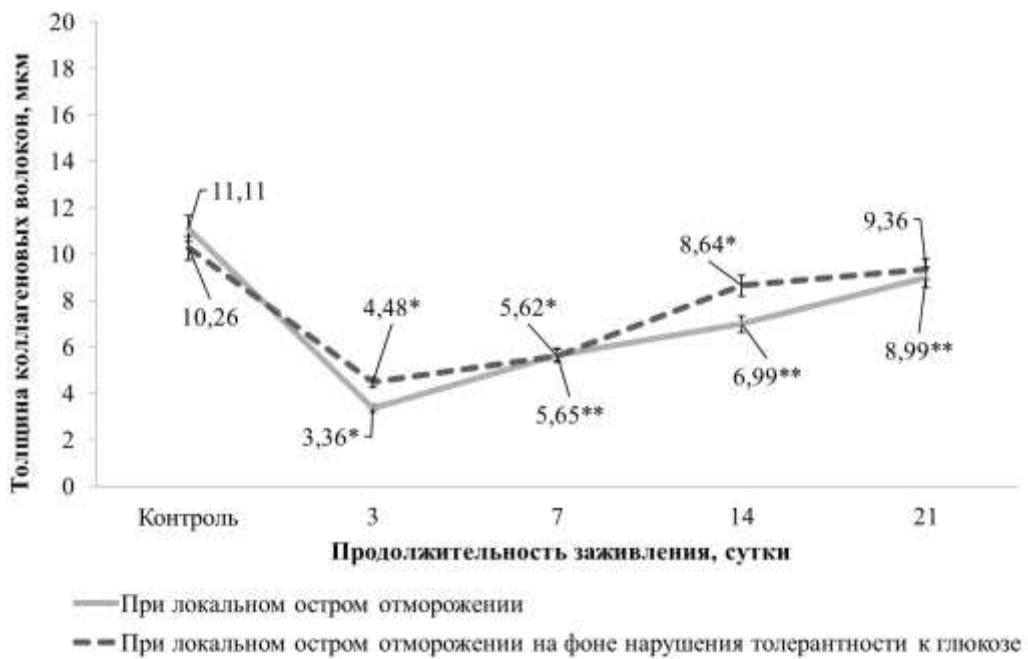
В условиях нарушения толерантности к глюкозе на 3 сутки после локального отморожения наблюдали статистически значимое снижение содержания коллагена дермы более чем на 40%: с 69,91% (69,05; 70,87) до 26,92% (23,48; 30,80);  $Z=1,85$ ;  $p=0,002$ . Но уже на 7 сутки уровень изучаемого показателя достигал 40,51% (38,43; 42,12);  $Z=1,54$ ;  $p=0,016$ . Увеличение данного показателя до 53,22% (49,98; 56,53);  $Z=1,54$ ;  $p=0,016$  продолжилось к 14 суткам, но в период с 14 по 21 сутки содержание коллагена дермы увеличилось всего на 3,06% без статистически значимого подтверждения и составило 56,28% (54,23; 56,78);  $Z=0,78$ ;  $p=0,586$ . Таким образом, к 21 суткам после локальной холодовой травмы содержание коллагена дермы не достигло уровня соответствующего показателя в контрольной группе (56,27% (54,23; 56,78) против 69,91% (69,05; 70,87);  $Z=1,63$ ;  $p=0,010$ ).

На 3 сутки после холодовой травмы у крыс на фоне метаболических нарушений в отношении глюкозотолерантности снижение содержания коллагена дермы сопровождалось со статистически значимым уменьшением толщины коллагеновых волокон (с 10,26 мкм (9,90; 10,85) до 4,48 мкм (3,43; 4,37);  $Z=1,75$ ;  $p=0,004$ ).

Увеличение толщины начиналось на 7 сутки (5,62 мкм (5,14; 6,10);  $Z=1,36$ ;  $p=0,047$ ). К 14 и 21 суткам толщина волокон приблизилась к близким значениям к

контрольной группе и составила 8,64 мкм (7,64; 9,31);  $Z=1,54$ ;  $p=0,018$  и 9,36 мкм (9,17; 9,53);  $Z=1,29$ ;  $p=0,071$ , соответственно.

Увеличение содержания коллагена в дерме и толщины волокон происходит с 3 по 7 и с 14 по 21 сутки, может указывать на существование двух экстремумов ремоделирования коллагена дермы после острого отморожения, именно, в эти периоды в группе крыс без нарушения толерантности к глюкозе. Отсутствие статистически значимых различий в содержании коллагена между группой контроля и опытной группой на 21 сутки может свидетельствовать, что изучаемые параметры одинаковы, что позволяет полагать о восстановлении массы коллагена дермы к 21 суткам.



**Рисунок 6 – Динамика толщины коллагеновых волокон дермы после острого отморожения**

*Примечание:* \* - сравнение значений с предыдущими сутками (\* -  $p<0,05$ ; \*\* -  $p<0,01$ )

Известно, что в фибробластах синтезируется проколлаген в виде 3-х цепочечных спиралей, поступающий в межклеточный матрикс. Там, преобразовываясь в тропоколлаген, они формируют фибриллы, из которых в дальнейшем создаются коллагеновые волокна (Зорин В.Л. и др., 2009). Как показали результаты настоящего исследования, увеличение толщины коллагеновых волокон происходит к 7 суткам после локального холодового воздействия и продолжается до окончания эксперимента. Таким образом, укрупнение коллагеновых волокон может свидетельствовать, с одной стороны, о нарастающей синтетической активности фибробластов дермы, а с другой – об активности процессов пространственной организации волокон из фибрилл тропоколлагена в матриксе дермы. Наряду с увеличением толщины коллагеновых волокон увеличивалась содержание коллагена. Естественно полагать, что данная

зависимость прямая и очевидная. Обращает на себя внимание тот факт, что нарастание содержания коллагена имеет 2 экстремума, тогда как толщина волокон увеличивается прямолинейно и происходит без пиковых значений.

Следующим этапом исследования являлось определение сиаловых кислот в сыворотке крови, поскольку они являются одними из компонентов межклеточного матрикса дермы. Они высвобождаются в процессе разрушения МКМ и, следовательно, их содержание в сыворотке крови повышается.

В соответствии с полученными результатами исследования (*рисунок 7*), в группе животных с острым отморожением на 3 сутки наблюдали статистически значимое снижение содержания сиаловых кислот в сыворотке крови с 151,0 усл. ед. (138,0; 180,0) до 101,0 усл. ед. (70,0; 110,0);  $Z=1,79$ ;  $p=0,003$ ). К 7 суткам наблюдали незначительную тенденцию к увеличению показателя – до 127,0 усл. ед. (109,0; 131,5);  $Z=1,27$ ;  $p=0,082$ . В период с 7 по 14 сутки вновь регистрировали статистически значимое увеличение уровня сиаловых кислот в сыворотке крови, которое достигло 138,5 усл. ед. (137,3; 143,5);  $Z=1,49$ ;  $p=0,023$ . К 21 суткам после локальной холодовой травмы у крыс отмечали уровень содержания сиаловых кислот на отметке 108,5 усл. ед. (105,5; 131,5), что статистически значимо не отличалось от значений контрольной группы ( $Z=1,29$ ;  $p=0,070$ ).

Стоит отметить, что нарушение толерантности к глюкозе само по себе, даже без локального острого отморожения, сопровождалось увеличением содержания сиаловых кислот в сыворотке крови (151,0 усл. ед. (138,0; 180,0) против 276,5 усл. ед. (243,0; 280,8);  $Z=2,10$ ;  $p=0,001$ ). При анализе динамики сиаловых кислот в ходе ремодуляции межклеточного матрикса дермы после острого отморожения при нарушении толерантности к глюкозе была установлена тенденция к увеличению концентрации на 7 сутки эксперимента (до 299,0 усл. ед. (253,0; 314,0);  $Z=0,82$ ;  $p=0,518$ ). К 14 суткам наблюдали незначительное снижение – до 283,0 усл. ед. (246,0; 295,0);  $Z=0,72$ ;  $p=0,685$ . В период с 14 по 21 сутки снижение уровня сиаловых кислот было малозаметным и достигло 278,0 усл. ед. (274,0; 294,5);  $Z=0,77$ ;  $p=0,593$ . Таким образом, к 21 суткам данный показатель вернулся к исходному значению.

Следовательно, динамика содержания сиаловых кислот в двух экспериментальных группах различна. Низкий уровень сиаловых кислот, в отличие от контрольной группы, на 21 сутки эксперимента может указывать на преобладание процессов синтеза межклеточного матрикса, проявляющегося полностью готовым рубцом. На фоне образующегося матрикса на 21 сутки после холодового воздействия в условиях НТГ продолжается разрушение межклеточного вещества, о чем

свидетельствует высокие значения сиаловых кислот в сыворотке крови, что, по-видимому, объясняет отсутствие полностью сформированного регенерата к 21 суткам.



**Рисунок 7 – Динамика содержания сиаловых кислот в сыворотке крови после острого отморожения**

*Примечание:* \* - сравнение значений с предыдущими сутками (\* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ );  
 - статистически значимые различия значений между группами при НТГ и без НТГ

Таким образом, в течение первых 3 суток после холодового воздействия без нарушения толерантности к глюкозе наблюдается деградация межклеточного матрикса, затем два пика синтеза коллагена с 3 по 7 и с 14 по 21 сутки. В связи с этим возникает вопрос: «где локализуются в дерме центры синтеза коллагеновых волокон?». Как известно, дерма представляет собой два слоя – сосочковый и сетчатый. В норме в сосочковом слое локализуются фибробласты, синтезирующие и ремоделирующие межклеточный матрикс дермы. Структура межклеточного матрикса оказывает значительное влияние на функции фибробластов. Продуцируя сигнальные молекулы, влияющие на проницаемость сосудистых стенок и метаболизм, осуществляют трофическую функцию. Дермальные фибробласты активно участвуют в ангиогенезе, продуцируя множество проангиогенных факторов, которые в свою очередь индуцируют дифференцировку и миграцию эндотелиальных клеток, способствуя образованию и стабилизации сосудов (Зорина А.И. и др. 2012). В то же время, в ходе воспроизведения экспериментальной модели локального холодового воздействия третьей степени в патологический процесс вовлекаются все слои дермы (Бойко В.В., 2010; Валентюкевич А.Л., Меламед В.Д., Прокопчик Н.И., 2021). Ответ на поставленный вопрос позволит в последующем обосновать точки приложения терапевтических мероприятий при лечении данной хирургической патологии,

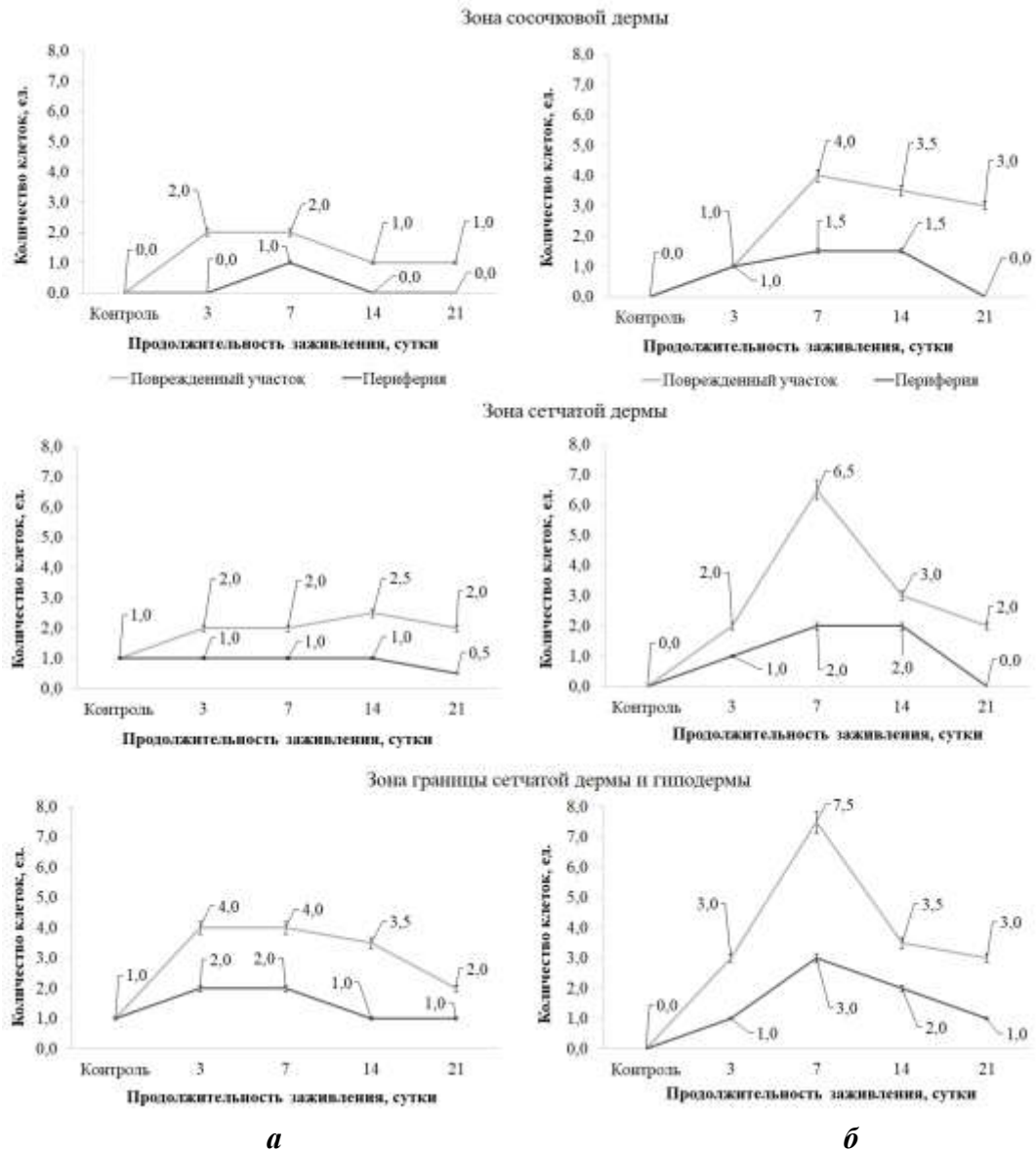


направленных на активизацию регенеративного процесса, с целью ускорения реабилитационного периода и исключения стойкой нетрудоспособности.

В соответствии с полученными данными, на 3 сутки после локального холодового повреждения в зоне поражения регистрировали увеличение количества клеток на единице площади во всех зонах дермы, особенно на границе сетчатой дермы и гиподермы (*рисунок 8а*). Данная ситуация сохранялась до 7 суток, но к 14 суткам после поражения наметилось снижение количества клеток в сосочковой дерме (с 2,0 (1,3; 2,0) до 1,0 (1,0; 2,0);  $Z=1,58$ ;  $p=0,010$ ). К 21 суткам регистрировали статистически значимое снижение количества клеток только на границе сетчатой дермы и гиподермы (2,0 (2,0; 3,0)), так и не достигнув значений контрольной группы ( $Z=1,58$ ;  $p=0,010$ ).

В неповрежденной коже, находящейся в непосредственной близости от очага повреждения, статистически значимых изменений в содержании клеток в сосочковой и сетчатой дерме после холодового воздействия на протяжении всего периода наблюдения не регистрировали. Было отмечено лишь статистически значимое увеличение количества клеток на единице площади на границе сетчатой дермы и гиподермы на 3 сутки после холодового повреждения (до 2,0 (1,0; 3,0)). После 14 суток наметилась слабая тенденция к снижению.

В группе животных с нарушением толерантности к глюкозе максимальные значения количества клеток во всех зонах дермы наблюдали на 7 сутки (*рисунок 8б*). Однако, наиболее привлекательной зоной для миграции клеток также, как и в группе с локальным холодовым повреждением, являлась граница сетчатой дермы и гиподермы, где увеличение количества клеток на единице площади достигало 7,5 (6,5; 8,0) на 7 сутки, а затем сменилось снижением до 3,0 (2,0; 4,0), не вернувшись к значениям интактной группы ( $Z=1,59$ ;  $p=0,01$ ).



**Рисунок 8 – Динамика медиан количества клеток дермы у крыс после острого отморожения без НТГ (а) и на фоне НТГ (б)**

*Примечание:* НТГ – нарушение толерантности к глюкозе

Следовательно, один из вероятных центров регенерации в дерме может быть расположен в неповрежденной коже, находящейся в непосредственной близости от очага поражения на границе сетчатой дермы и гиподермы, сформированным к 3 суткам после локального отморожения. Также, основываясь на результатах, установлено, что в очаге повреждения на границе сетчатой дермы и гиподермы содержание клеток значительно больше, чем в сосочковой и сетчатой дерме на протяжении всего периода эксперимента. Вторым центром регенерации в дерме может являться область на границе сетчатой дермы и гиподермы, где была воспроизведена модель локального холодого воздействия.

Таким образом, основываясь на результатах об увеличении массы коллагена, его содержания в дерме и утолщении коллагеновых волокон после 7 суток, можно

предположить, что для полноценной продукции коллагена после миграции клеткам требуется около четырех суток (с 3 по 7 сутки) без сопутствующего нарушения толерантности к глюкозе. На основании того, что содержание клеток больше на границе сетчатой дермы и гиподермы, создается впечатление, что синтез и формирование коллагена происходит в большей степени именно здесь, нежели в сосочковой или сетчатой дерме. После 7 суток количество клеток на единице площади на границе сетчатой дермы и гиподермы статистически значимо снижается, тогда, как синтез коллагена продолжается вплоть до 21 суток. Вполне вероятно, что с 7 по 21 сутки большее количество коллагена продуцируется меньшим количеством клеток.

При холодовом воздействии у крыс без НТГ коллаген интенсивно синтезировался с 3 по 7 сутки и с 14 по 21 сутки, а на фоне нарушения толерантности к глюкозе экстремум проявлялся на 7-14 сутки. На основании этого можно предположить, что нарушение углеводного обмена существенно сказывается на интенсивности синтеза коллагена фибробластами. Однако толщина коллагеновых волокон в ходе регенерации в условиях НТГ за 21 сутки сформировалась и не имела различий с группой контроля к концу периода наблюдения. Подтверждением этого является то, что на 3 сутки после холодового воздействия снижение содержания коллагена дермы сопровождалось со значимым уменьшением толщины коллагеновых волокон. Увеличение толщины начиналось на 7 сутки и продолжилось до 21 суток. Иными словами, динамика изменения толщины коллагеновых волокон была практически идентичной тому, как в случае формирования толщины коллагеновых волокон без сопутствующего нарушения глюкозотолерантности. Различие определялось только в том, что к 21 суткам толщина волокон при отклонении углеводного обмена не отличалась от контрольных значений, чего не было в случае у крыс без такого нарушения.

Один из ключевых эффектов в регенерации тканей, особенно при нарушении толерантности клеток к глюкозе, отводится инсулиноподобному фактору роста (IGF-1). Как известно, данный ростовой фактор, обладая способностью к ингибированию апоптоза, опосредованно отвечает за стимуляцию пролиферации и дифференцировки клеток путем увеличения потребления ими глюкозы. Учитывая, что рецепторы клеток к IGF-1 повсеместны, естественно полагать, что влияние на метаболические процессы, вызванные IGF-1, происходит на все типы клеток, в том числе фибробласты и эндотелиоциты дермы, поскольку сосудистые эффекты IGF-1 связаны с его вазодилатирующим действием (Guo S. et al., 2010).

При исследовании динамики инсулиноподобного фактора роста в сыворотке крови после локального холодового воздействия на фоне нарушения толерантности

клеток к глюкозе (рисунок 9) установлено, что на 3 сутки после холодового повреждения у крыс на фоне метаболического синдрома различий не наблюдалось ( $Z=1,05$ ;  $p=0,218$ ), однако на 7 сутки была отмечена тенденция к снижению (693 нг/мл (607; 843);  $Z=1,26$ ;  $p=0,082$ ), а затем (на 14 сутки) – резкое увеличение изучаемого показателя (до 1164 нг/мл (1069; 1237);  $Z=1,65$ ;  $p=0,009$ ). На данном уровне значение наблюдалось до окончания эксперимента (1086 нг/мл (893; 1394);  $Z=1,20$ ;  $p=0,112$ ), не отличаясь от значений контрольной группы.

Корреляционный анализ показал статистически достоверную умеренную связь между концентрацией IGF-1 и количеством клеток на границе сетчатой дермы и гиподермы вокруг зоны повреждения на 7 сутки после локального холодового воздействия без НТГ ( $\tau=0,39$ ;  $p=0,039$ ), а в условиях нарушения глюкозотолерантности – обратную связь между содержанием IGF-1 и толщиной коллагеновых волокон также на 7 сутки ( $\tau=-0,95$ ;  $p=0,001$ ).

Таким образом, механизм влияния инсулиноподобного фактора роста проявляется как при холодовом повреждении, так и при холодовом повреждении на фоне НТГ на 7 сутки эксперимента. Различие заключается в том, что при локальном холодовом воздействии концентрация IGF-1 оказывает влияние на содержание клеток на границе сетчатой дермы и гиподермы в перифокальной зоне, тогда как на фоне НТГ низкие концентрации IGF-1 отрицательно коррелируют с толщиной коллагеновых волокон.

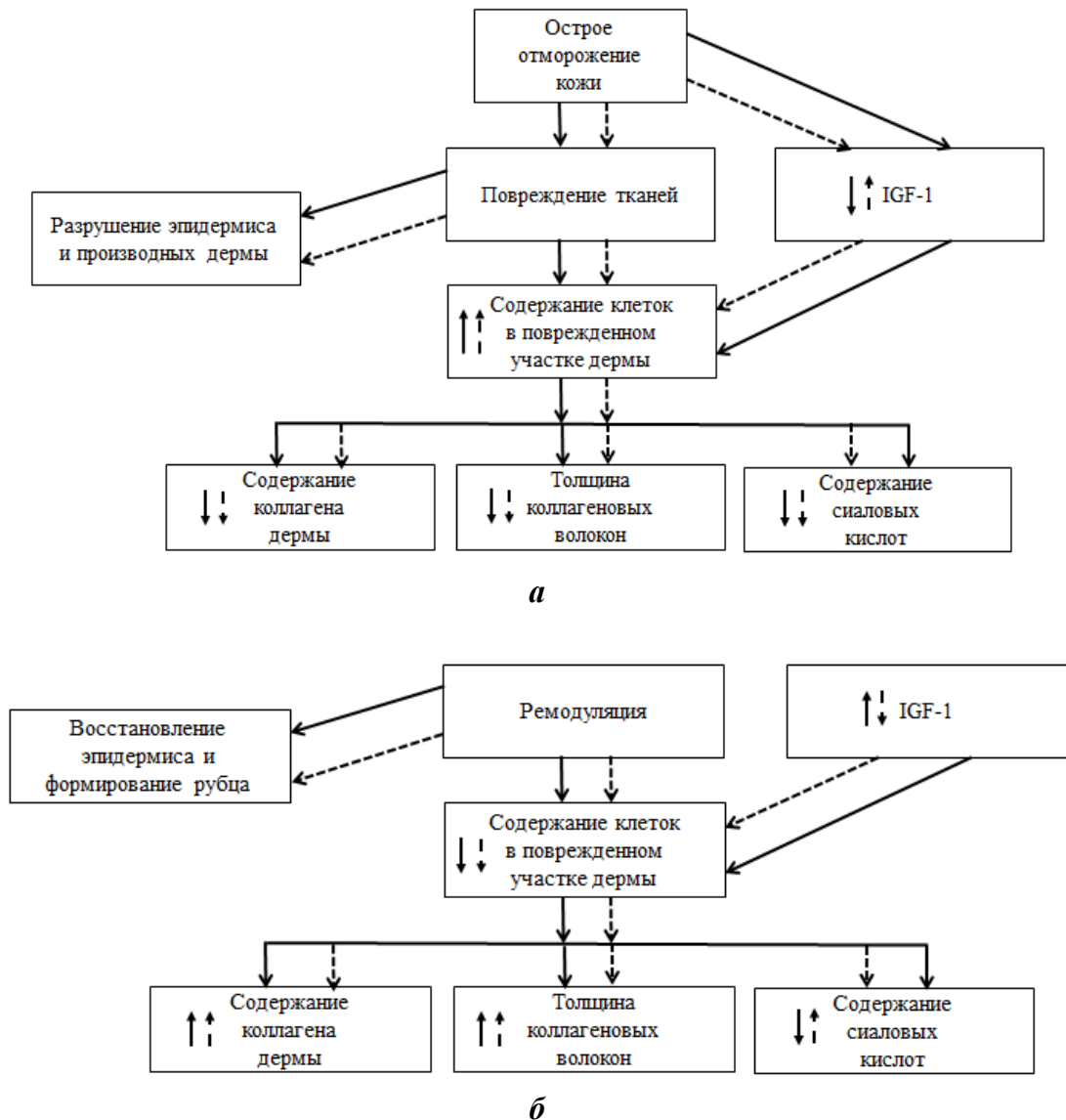


**Рисунок 9 – Динамика содержания инсулиноподобного фактора роста (IGF-1) в сыворотке крови после острого отморожения**

*Примечание:* IGF-1 - инсулиноподобный фактор роста; \* - сравнение значений с предыдущими сутками (\* -  $p<0,05$  ; \*\* -  $p<0,01$ ); <sup>1</sup> - статистически значимые различия значений между группами при НТГ и без НТГ

Регенеративный процесс после локального холодового воздействия на фоне нарушения толерантности к глюкозе характеризуется поздним образованием рубца;

низкой интенсивностью синтеза и формированием дермального коллагена; резким увеличением содержания сиаловых кислот в сыворотке крови на 7 сутки; более поздним наступлением пика миграционного процесса и большим количеством клеток, вовлеченных в миграцию, а также влиянием инсулиноподобного фактора роста на толщину коллагеновых волокон. Основные механизмы ремодуляции межклеточного матрикса дермы после острого отморожения при нарушении толерантности к глюкозе и без него представлены на *рисунке 10*.



**Рисунок 10 – Механизмы ремодуляции кожи после острого отморожения:**  
**а – в реактивном периоде на 3 сутки;**  
**б – в восстановительном периоде на 21 сутки**

*Примечание:* НТГ - нарушение толерантности к глюкозе; IGF-1 - инсулиноподобный фактор роста; **————>** - без НТГ; **- - - ->** - при НТГ

## ВЫВОДЫ

1. Статистически значимое снижение содержания коллагена межклеточного матрикса дермы, регистрируемое на 3 сутки после острого локального отморожения, сменяется синтезом и формированием его уже на 7 сутки, независимо от наличия или отсутствия нарушений толерантности к глюкозе; на фоне нарушения толерантности к глюкозе ремодуляция кожи после локального острого отморожения более продолжительная, чем без нарушения углеводного обмена, о чем свидетельствует наличие эрозивно-язвенных дефектов в стадии рубцевания и гиперемии на 21 сутки.

2. При нарушении глюкозотолерантности ремодуляция дермы после острого отморожения происходит медленнее за счет более низкой интенсивности синтеза коллагена дермы, что проявляется увеличением его содержания только с 7 по 14 сутки, и отличает ремодуляцию в условиях отсутствия нарушения углеводного обмена, при которой интенсивное увеличение содержания коллагена в дерме происходит с 3 по 7 сутки и с 14 по 21 сутки.

3. Активное увеличение толщины коллагеновых волокон дермы в ходе регенераторного процесса после острого отморожения на фоне нарушения толерантности к глюкозе происходит с 3 по 14 сутки, в то время как без нарушения углеводного обмена данный процесс наблюдается с 3 по 21 сутки.

4. Нарушение толерантности к глюкозе само по себе, даже без локального острого отморожения, сопровождается увеличением содержания сиаловых кислот в сыворотке крови; в условиях ремодуляции межклеточного матрикса дермы незначительное увеличение содержания сиаловых кислот к 7 суткам на 7,5% сменяется снижением уровня их на 14 сутки и достигает исходного значения контрольной группы к 21 суткам эксперимента.

5. Механизмы ремодуляции дермы после острого отморожения сопряжены с миграцией макрофагов, лейкоцитов, гистиоцитов, фибробластических и малодифференцированных клеток на границу сетчатой дермы и гиподермы поврежденного участка: пик миграции у крыс без нарушения толерантности к глюкозе наступает на 3 сутки, на фоне нарушений углеводного обмена – на 7 сутки.

6. Нарушение толерантности к глюкозе связано с увеличением концентрации IGF-1 в сыворотке крови: снижение концентрации IGF-1 происходит на протяжении всего периода ремодуляции межклеточного матрикса дермы, особенно на 7 сутки, к 21 суткам к исходному значению данный показатель не возвращается.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для определения количества коллагена кожи рекомендовано использовать способ, заключающийся в многократной гомогенизации материала, лиофильного высушивания и определения массы материала до и после ферментативного гидролиза коллагена (патент РФ № 2689337).

2. Для выделения коллагеновых волокон дермы рекомендовано использовать способ, заключающийся в обработке измельченного кусочка кожи гидроксидом калия, гомогенизации, промывки и лиофильного высушивания материала (патент РФ № 2764514).

3. Результаты исследования, касающиеся выявленных центров локализации синтеза коллагеновых волокон, могут быть использованы при лечении острых отморожений с целью ускорения реабилитационного периода и исключения стойкой нетрудоспособности.

### Список работ, опубликованных по теме диссертации

#### *Публикации в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ и индексируемых в международных базах данных WoS и Scopus:*

1. **Шутский, Н.А.** Содержание коллагена дермы и факторов роста сыворотки крови у крыс после локального холодового повреждения / **Н.А. Шутский**, Л.Л. Шагров, С.Л. Кашутин, С.И. Малявская // Цитология. – 2020. – Т. 62, № 8. – С. 601-608. (Scopus, WoS, RSCI, ИФ РИНЦ – 0.622, К-1)

2. Содержание клеток в зонах дермы крыс в норме и на фоне метаболического синдрома при восстановлении после холодовой травмы / **Н.А. Шутский**, С.Л. Кашутин, Л.Л. Шагров, С.И. Малявская, Н.С. Холопов // Журнал медико-биологических исследований. – 2022. – Т. 10, № 2. – С. 87-99. (ВАК, ИФ РИНЦ – 0.521, К-2)

3. **Шутский, Н.А.** Интенсивность деградации и синтеза межклеточного матрикса дермы у крыс после локальной холодовой травмы на фоне метаболического синдрома / **Н.А. Шутский**, Л.Н. Горбатова, С.Л. Кашутин, Н.С. Холопов, Л.Л. Шагров, А.Л. Зашихин // Цитология. – 2023. – Т. 65. – № 5. – С. 499-506. (Scopus, WoS, RSCI, ИФ РИНЦ – 0.481, К-1)

#### *Патенты:*

4. Способ определения количества коллагена в ткани: патент на изобретение № 2689337 Рос. Федерация: (51) МПК<sup>51</sup> G01N 33/48 / С.И. Малявская, С.Л. Кашутин, **Н.А. Шутский**, Л.Л. Шагров, Д.В. Мизгирёв, А.С. Аксенов, Д.Г. Чухчин; заявитель и правообладатель ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. – № 2018124160; заявл. 02.07.2018, опубл. 27.05.2019. Бюлл. № 15.

5. Способ выделения коллагеновых волокон дермы: патент на изобретение № 2764514 Рос. Федерация: (51) МПК<sup>51</sup> А61К 35/36 / Л.Н. Горбатова, **Н.А. Шутский**, С.Л. Кашутин, С.И. Малявская, Л.Л. Шагров, Д.В. Мизгирёв, Д.Г. Чухчин; заявитель и правообладатель ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. – № 2020142837; заявл. 23.12.2020, опубл. 18.01.2022. Бюлл. № 2.

#### *Публикации в других изданиях:*

6. **Шутский, Н.А.** Динамика содержания коллагена дермы крыс после локального холодового повреждения / **Н.А. Шутский**, Л.Л. Шагров, С.Л. Кашутин, А.С. Аксенов,

С.И. Малявская // Труды Карельского научного центра Российской академии наук. – 2019. – № 6. – С. 85-91.

7. Шагров, Л.Л. Динамика гематологических показателей крови крыс после локального холодового повреждения / Л.Л. Шагров, **Н.А. Шутский**, С.Л. Кашутин, С.И. Малявская // Труды Карельского научного центра Российской академии наук. – 2019. – № 12. – С. 86-92.

8. Об участии эозинофилов в восстановлении тканей после локальной холодовой травмы / Л.Л. Шагров, **Н.А. Шутский**, С.Л. Кашутин, В.И. Николаев, С.И. Малявская // Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. – 2020. – Т. 12, № 2. – С. 71-78.

9. Изучение динамики содержания клеток в зависимости от локализации в дерме после локального холодового повреждения у крыс с метаболическим синдромом / **Н.А. Шутский**, С.Л. Кашутин, Л.Л. Шагров, Л.Н. Горбатова, С.И. Малявская, О.В. Калмин // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2021. – № 3 (59). – С. 167-176.

10. Изучение динамики содержания клеток в зависимости от локализации в дерме после локального холодового повреждения / **Н.А. Шутский**, С.Л. Кашутин, Л.Л. Шагров, Л.Н. Горбатова, С.И. Малявская, О.В. Калмин, И.М. Кобелев // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2021. – № 2 (58). – С. 151-159.

11. Изучение динамики содержания нейтрофильных лейкоцитов красного костного мозга у крыс после холодовой травмы на фоне метаболического синдрома / И.М. Кобелев, **Н.А. Шутский**, Н.С. Холопов, Н.Л. Шапчиц, С.Л. Кашутин // Бюллетень Северного государственного медицинского университета. – 2022. – № 2 (48). – С. 150-152.

**ШУТСКИЙ НИКИТА АЛЕКСЕЕВИЧ**

**МЕХАНИЗМЫ РЕМОДУЛЯЦИИ МЕЖКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА  
ДЕРМЫ НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ  
ОСТРОГО ОТМОРОЖЕНИЯ ПРИ НАРУШЕНИИ  
ГЛЮКОЗОТОЛЕРАНТНОСТИ**

3.3.3. Патологическая физиология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук