

Сравнительная характеристика заживления хирургических ран слизистой оболочки полости рта и кожи у домашних свиней. Светооптическое и электронно-микроскопическое исследование

Ч.Р. Рагимов¹, Э.К. Гасымов², Т.Р. Кулиев¹, Ф.Г. Рзаев³

¹Кафедра хирургии полости рта и челюстно-лицевой области Азербайджанского медицинского университета; Азербайджанская Республика, 1022, Баку, ул. Бакиханова, 23;

²кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии Азербайджанского медицинского университета; Азербайджанская Республика, 1022, Баку, ул. Миргасымова, 1;

³отдел электронной микроскопии Азербайджанского медицинского университета; Азербайджанская Республика, 1022, Баку, ул. Миргасымова, 1

Контакты: Эльдар Кочари оглы Гасымов geldar1949@gmail.com

Цель исследования – изучить особенности структурных элементов твердого неба и кожи при заживлении резано-ушитых ран на стадии гемостаза и воспаления у домашних свиней.

Материалы и методы. Для эксперимента были взяты 9 поросят с массой тела 35–40 кг. На коже спины и в твердом небе были сделаны прямолинейные разрезы (модели хирургических ран) длиной 2,5–3,0 см. Для проведения морфологических исследований в каждой серии экспериментов (контроль, через 6 ч и на 3-е и 7-е сутки после операции) было взято по 3 биоптата как из кожи, так и из слизистой оболочки твердого неба. Материал для электронной микроскопии фиксировали иммерсией *in situ* и далее обрабатывали по общепринятой методике. Полу- и ультратонкие срезы изучали соответственно под световым микроскопом *Latimet* (Leica) и электронным микроскопом JEM-1400 (JEOL) при ускоряющем напряжении 80–120 кВ.

Результаты. Быстрое угасание воспалительных процессов резано-ушитых ран кожи на ранних этапах заживления приводит к задержке очистки поврежденных структур и фибриноидов с раневой поверхности по сравнению с таковыми на слизистой оболочке твердого неба. Поэтому формирование созревшей грануляционной ткани на коже начинается не на 3-и, а на 7-е сутки.

Выводы. Различия в фазах гемостаза и воспаления отражаются на последующих фазах репаративной регенерации (пролиферации и формирования рубца), что, возможно, и приводит к различию в развитии рубцовой ткани послеоперационных ран.

Ключевые слова: модель хирургической раны, кожа, слизистая оболочка твердого неба, гемостаз, воспаление, трансмиссионный электронный микроскоп, репаративная регенерация, фибрин, кератиноциты, тонофибриллы, фибриноид, нейтрофильная и макрофагальная инфильтрация, фагоцитоз, апоптотические тельца, онкотический некроз, грануляционная ткань

DOI: 10.17650/2408-9613-2015-2-4-8-14

Comparative description of healing of surgical wounds in the oral mucosa and skin of pigs. Light optical and electron microscopic examination

Ch.R. Ragimov¹, E.K. Gasymov², T.R. Kuliev¹, F.G. Rzaev³

¹Oral and Maxillofacial Surgery Department, Azerbaijan Medical University; 23 Bakikhanova St., Baku, 1022, Republic of Azerbaijan;

²Department of Histology, Embryology, and Cytology, Azerbaijan Medical University; 1 Mirgasymova St., Baku, 1022, Republic of Azerbaijan;

³Department of Electron Microscopy, Azerbaijan Medical University; 1 Mirgasymova St., Baku, 1022, Republic of Azerbaijan

Objective: to study the specific features of the structural elements of the hard palate and skin in the healing of incised and sutured wounds at the stage of hemostasis and inflammation in pigs.

Materials and methods. Nine piglets weighing 35–40 kg were taken for an experiment. 2.5–3.0-cm rectilinear incisions (surgical wound models) were made in the back skin and hard palate. Three skin biopsy specimens and 3 hard palate mucosal biopsy specimens were taken for morphological examinations in each experimental series (control, 6 hours and 3 and 7 days postsurgery). The electron microscopic material was fixed by an *in situ* immersion method and then processed by the conventional procedure. Semi- and ultrafine sections were examined under a *Latimet* light microscope (Leica) and a JEM-1400 electron microscope (JEOL), respectively, at an accelerating voltage of 80–120 kV.

Results. A rapid decrement of inflammatory processes in the incised and sutured wounds in the early stages of healing results in delayed cleansing of damaged structures and fibrinoids from the wound surface compared to those in the hard palate mucosa. So formation of mature skin granulation tissue begins on day 7 rather on day 3.

Conclusion. The differences in the phases of hemostasis and inflammation affect the further phases of reparative regeneration (proliferation and scar formation), which may lead to a difference in the development of postoperative wound scar tissue.

Key words: surgical wound model, skin, hard palate mucosa, hemostasis, inflammation, transmission electron microscope, reparative regeneration, fibrin, keratinocytes, tonofibrils, fibrinoid, neutrophil and macrophage infiltration, phagocytosis, apoptotic bodies, oncotoc necrosis, granulation tissue

Введение

Известно, что заживление ран кожи с восстановлением всех ее структурных элементов возможно только при поверхностных повреждениях, т. е. до базального слоя эпидермиса [1–3]. Глубокие (полнослойные) же повреждения кожи всегда сопровождаются в той или иной степени развитием рубцовой ткани, что вызывает как функциональные, так и социальные проблемы [4–8].

Несмотря на то, что репаративная регенерация является генетически детерминированным стереотипным процессом, различные ткани и органы по степени развития рубца существенно отличаются друг от друга. По данным многочисленных экспериментальных и клинических исследований показано, что по сравнению с кожей заживление ран слизистых оболочек происходит значительно быстрее и с меньшим образованием рубцовой ткани [9–11]. Установление причин этого может привести к разработке новых современных методов, позволяющих контролировать ход процессов репаративной регенерации в различных частях тела, в том числе и на коже лица [12, 13].

По мнению ряда авторов, степень выраженности рубцовой ткани слизистых оболочек зависит от иммунологической толерантности развития воспалительных процессов [14], состава факторов роста [15, 16], фенотипа местных фибробластов (склеротические или несклеротические) [17], состава внеклеточного матрикса [15, 18, 19], количества апоптоза [20] и т. д. Не умаляя роли вышеперечисленных факторов в процессе формирования рубцовой ткани, следует подчеркнуть, что до сих пор не уточнены ультраструктурные характеристики клеточных и фибриллярных структур на различных стадиях заживления ран слизистой оболочки полости рта и кожи в сравнительном аспекте.

Цель работы — изучить особенности изменения структурных элементов слизистой оболочки полости рта и кожи при заживлении хирургических ран в эксперименте на свиньях.

Материалы и методы

Эксперименты проведены в лаборатории НИИ ветеринарии при Министерстве сельского хозяйства Азербайджанской Республики на 9 поросятах с массой тела 35–40 кг, полученных от скрещивания свиней пород ландрас и украинская. Все хирургические манипуляции выполняли под общим наркозом [21] в рамках специального протокола.

На коже спины животных и на твердом небе в полости рта были созданы модели хирургических ран проведением прямолинейных полнослойных разрезов длиной 2,5–3,0 см и последующим их ушиванием узловыми швами [21]. Для проведения морфологических исследований в каждой серии экспериментов (контроль, через 6 ч и на 3-и и 7-е сутки после операции)

были взяты по 3 биоптата кожи и слизистой оболочки твердого неба. Размеры биоптатов составляли 10,0 × 0,3–0,4 мм. Материал для электронной микроскопии фиксировали иммерсией *in situ* в течение 15 мин смесью 2,5 % раствора глутаральдегида, 2,5 % раствора параформальдегида и 0,1 % раствора пикриновой кислоты на фосфатном буфере (рН 7,4). Затем биоптаты на ночь помещали в свежую порцию фиксатора. Последующую фиксацию проводили в 1 % растворе четырехоксида осмия и 1,5 % растворе ферроцианида калия на 0,1 М фосфатном буфере (рН 7,4) в течение 2 ч. Дальнейшую обработку материала — обезвоживание и заливку в Аралдит и Эпон-812 — выполняли по общепринятой методике [22, 23]. Полу- и ультратонкие срезы получали на ультратоме Leica EM UC7. Полутонкие срезы (1–2 мкм) окрашивали 0,5 % раствором метиленового синего [24] и изучали под световым микроскопом Latimet (Leica, Германия). Изображения фотографировали цифровой фотокамерой Рихга (США). Ультратонкие срезы окрашивали 2 % насыщенным водным раствором уранилацетата, затем 0,6 % раствором чистого цитрата свинца (Serva, Германия) на 0,1 М растворе NaOH. Ультратонкие срезы просматривали и фотографировали на электронном микроскопе JEM-1400 (JEOL, Япония) при ускоряющем напряжении 80–120 кВ.

Результаты и обсуждение

При исследовании ран на слизистой оболочке твердого неба после первых 6 ч (рис. 1) выявлено наличие сгустков крови с преобладанием эритроцитов в фибриновой массе (см. рис. 1а, з). Внутри сгустков крови по краям ран на уровне рогового слоя найдены бактерии (см. рис. 1б, указаны стрелками), а на уровне шиповатого слоя — фрагменты различных клеток (см. рис. 1в). На раневой поверхности собственной пластинки слизистой оболочки кроме эритроцитов обнаружены секреторные гранулы и фрагменты тромбоцитов, макрофаги, лимфоциты с расширенными перинуклеарными цистернами (см. рис. 1е), а также скопления фибриноида (см. рис. 1д).

Конечный продукт свертывания крови, формирующийся из фибриновых волокон, называют фибриновыми сгустками [25, 26]. В результате свертывания крови во время беременности между ворсинками плаценты формируется фибриновый сгусток, называемый фибринным типом фибриноида. Следует отметить, что при заживлении ран фибриноидная масса образуется не только в результате свертывания крови, но и при расщеплении промежуточных филаментов — тонофиламентов в кератиноцитах.

На рис. 2а, б видно, что в результате деструкции цитоплазматических элементов, особенно тонофиламентов (см. рис. 2б, указаны стрелками), в кератиноцитах, подвергшихся некрозу, формируется скопление

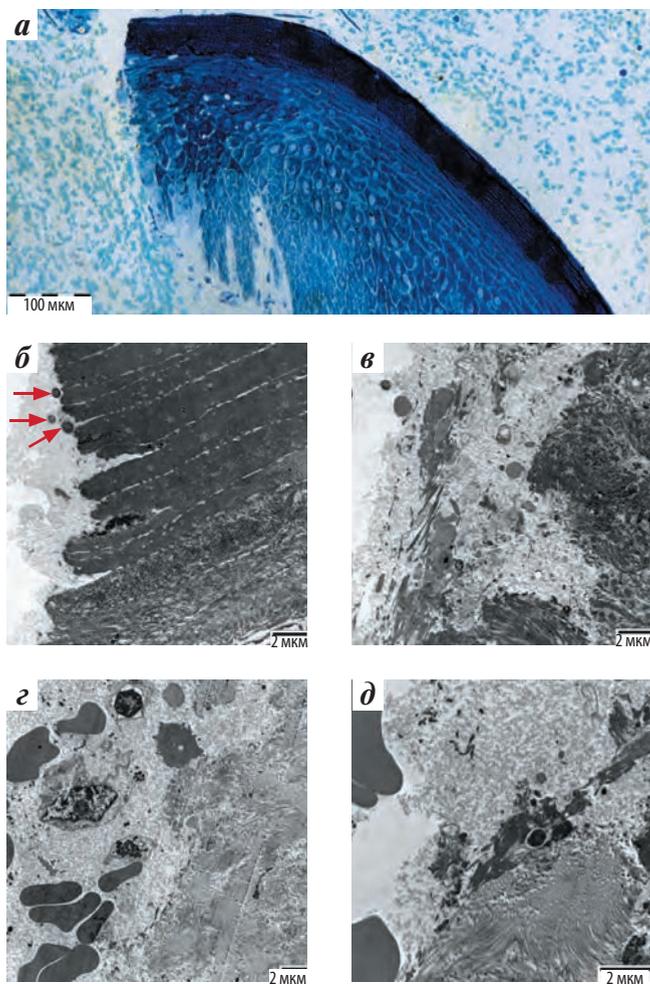


Рис. 1. Светооптические (а) и ультраструктурные (б–д) характеристики структурных элементов твердого неба в резано-ушитой ране через 6 ч (пояснение в тексте): а – полутонкий срез, окрашивание метиленовым синим; б–д – ультратонкие срезы, электронограммы, окрашивание 2 % уранилацетатом и 0,6 % чистым цитратом свинца

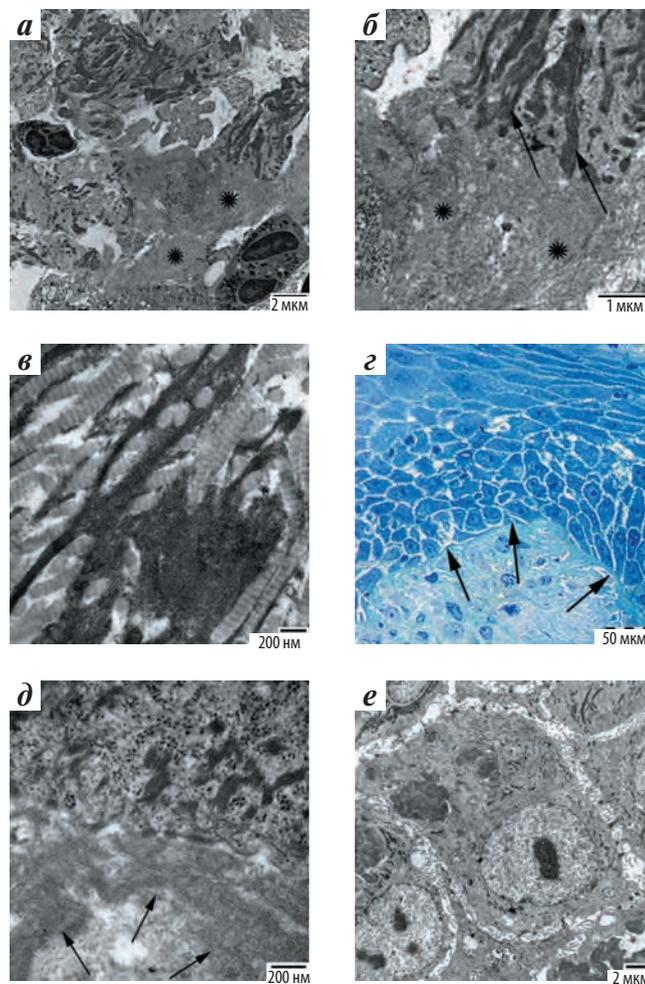


Рис. 2. Формирование и гистотопография фибриноидов кератинного (а, б, г, д) и фибринового (в) типов и их фагоцитоз кератиноцитами (е): а–в, д, е – ультратонкие срезы, электронограммы, окрашивание 2 % уранилацетатом и 0,6 % чистым цитратом свинца; г – полутонкий срез, окрашивание метиленовым синим

фибрилярных структур (указано звездочками), которые по ультраструктурным параметрам почти не отличаются от фибринового типа фибриноида, расположенного между коллагеновыми волокнами (рис. 2в). Таким образом, при заживлении ран на слизистой оболочке твердого неба формируются как фибриновый, так и кератиновый типы фибриноида. Причем если фибриновый тип обнаруживается по краям раны на уровне собственной пластинки слизистой оболочки твердого неба (см. рис. 1е) и дермы, то кератиновый тип обычно располагается под базальным слоем кератиноцитов эпителиального покрытия твердого неба и эпидермиса (рис. 2г, д, указано стрелками). Последние, по мнению G. Odland и R. Ross (1968), образуют «ковёр» (см. рис. 2г), по которому осуществляется миграция кератиноцитов в процессе реэпителизации раневой поверхности [1]. Обнаружено, что фибриноиды подвергаются фагоцитозу не только со стороны нейтрофилов и макрофагов, но и кератиноцитов (рис. 2е).

При исследовании на коже отличительной чертой заживления ран в стадии гемостаза является четкое определение признаков острого воспаления в образцах, взятых из ран спустя 6 ч после создания модели. Как по краям раны в толще фибринового слоя (рис. 3а), так и вокруг кровеносных сосудов, расположенных между пучками коллагеновых волокон собственно кожи, обнаружено скопление большого количества нейтрофилов и отдельных макрофагов (рис. 3б). Кроме того, даже при малом увеличении электронного микроскопа среди скоплений фибринов различной плотности выявлены в большом количестве отдельные фрагменты осмиофильных секреторных гранул, подвергшихся дегрануляции тромбоцитов, нейтрофилов и тучных клеток (рис. 3в). Частичной дегрануляции подвергаются и тучные клетки, расположенные между пучками коллагеновых волокон собственно кожи. В толще фибринового слоя (см. рис. 3в, указано стрелками) и непосредственно на краях ран за счет резкого

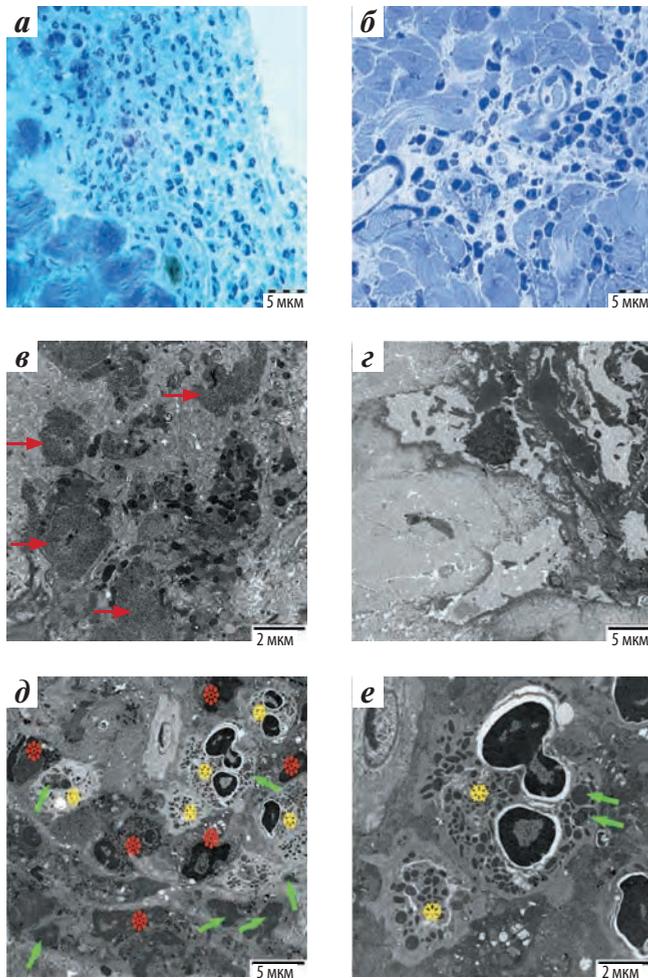


Рис. 3. Светооптические (а, б) и ультраструктурные (в–д) признаки остро воспаления резано-ушитой раны кожи через 6 ч (пояснение в тексте): а, б – полутонкие срезы, окрашивание метиленовым синим; в–е – ультратонкие срезы, электронограммы, окрашивание 2 % уранилацетатом и 0,6 % чистым цитратом свинца

уплотнения частей фибриновых волокон появляются фрагменты фибринового типа фибриноида (см. рис. 3з). Помимо ограждения краев раны, они частично диффундируют также между коллагеновыми волокнами собственно кожи. На месте формирования будущей рубцовой ткани в окружении фибриновых волокон и фибриноидов фибринового типа обнаружено скопление плотно упакованных нейтрофилов (рис. 3д, е). На последних электронограммах четко определены подвергшиеся деструктивным изменениям темные нейтрофилы с апоптотическими ядрами (см. рис. 3д, указано звездочками), на периферии которых отмечена суперконденсация гетерохроматина, а также функционально активные нейтрофилы (см. рис. 3д, е, указано снежинками). На электронограммах стрелками указаны также апоптотические тельца, появляющиеся в результате расщепления клеток в процессе запрограммированной клеточной смерти, и их фагоцитоз со стороны расположенных вокруг функционально

активных нейтрофилов. С одной стороны, закончившие свою активность нейтрофилы, подвергшиеся апоптозу, а с другой – удаление фагоцитозом апоптотических частиц другими нейтрофилами указывают на то, что воспаление, развивающееся на хирургической ране кожи, в течение 6 ч подходит к завершающему этапу [27, 28].

Результаты, полученные на 3-и сутки заживления ран слизистой оболочки твердого неба, демонстрируют индивидуальные особенности у оперированных животных. В одной группе отмечено продолжение воспалительной фазы заживления, а в другой в этот же период наблюдали формирование грануляционной ткани. Наличие на 3-и сутки на ране твердого неба у 1 из 3 свиней нейтрофильной и макрофагальной инфильтрации в собственной пластинке слизистой оболочки и эпителиального покрова говорит о продолжающемся воспалительном процессе (рис. 4а). Наряду с воспалительной инфильтрацией обращает на себя внимание деструктивное изменение базального слоя кератиноцитов эпителиальной выстилки твердого неба. Кроме эксцентрично расположенных ядрышек, остальная часть ядра и цитоплазма похожи на пустое оптическое пространство, окруженное тонким базофильным ободком. Описанные деструктивные изменения базального слоя кератиноцитов могут быть оценены как результат нарушения кровоснабжения, которое приводит к ишемической гибели клеток – онкотическому некрозу [29]. На 3-и сутки заживления ран в составе эпителиального покрова твердого неба как между клетками шиповатого (см. рис. 4а) и рогового (рис. 4б) слоев, так и на наружной поверхности (рис. 4в) последнего обнаруживается немалое количество нейтрофилов.

В этот же период в биоптатах твердого неба под эпителиальной выстилкой, а также на внутренней поверхности пучков коллагеновых волокон (границы показаны штриховыми линиями), образующих собственную пластинку слизистой оболочки, формируется грануляционная ткань (рис. 4з), которая резко отличается от собственной пластинки твердого неба как клеточным составом, так и составом фибриллярных элементов. На электронограмме между плотно расположенными веретенообразными фибробластами (характерными для созревшей грануляционной ткани) видны отдельные фрагменты фибриноидов (рис. 4д, указано звездочками). Фибриноид, расположенный в центре, окружен клетками фагоцитарного ряда.

Другим, не менее важным отличительным признаком грануляционной ткани является преобладание клеточных элементов над синтезированными фибробластами фибриллярных структур (см. рис. 4д), относящихся в основном к тонкому (III) типу коллагеновых волокон [17, 30]. Очень редко вокруг фибробластов обнаруживают большое количество вновь образован-

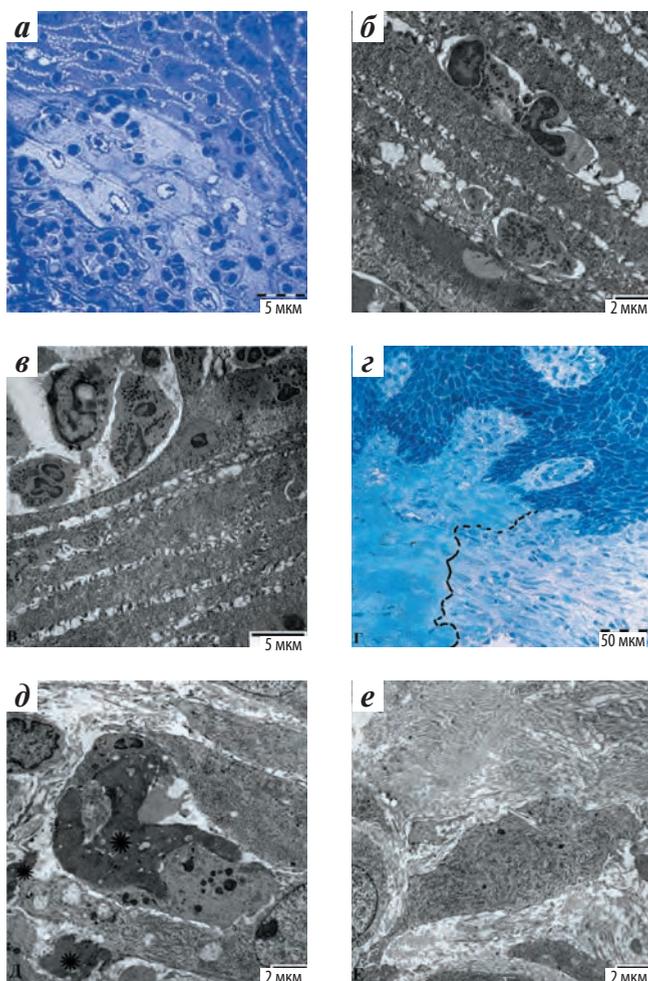


Рис. 4. Признаки острого воспаления (а–в) и развитие грануляционной ткани (г–е) резано-ушитой раны твердого неба на 3-и сутки (пояснение в тексте): а, г – полутонкие срезы, окрашивание метиленовым синим; б, в, д, е – ультратонкие срезы, электронограммы, окрашивание 2 % уранилацетатом и 0,6 % чистым цитратом свинца

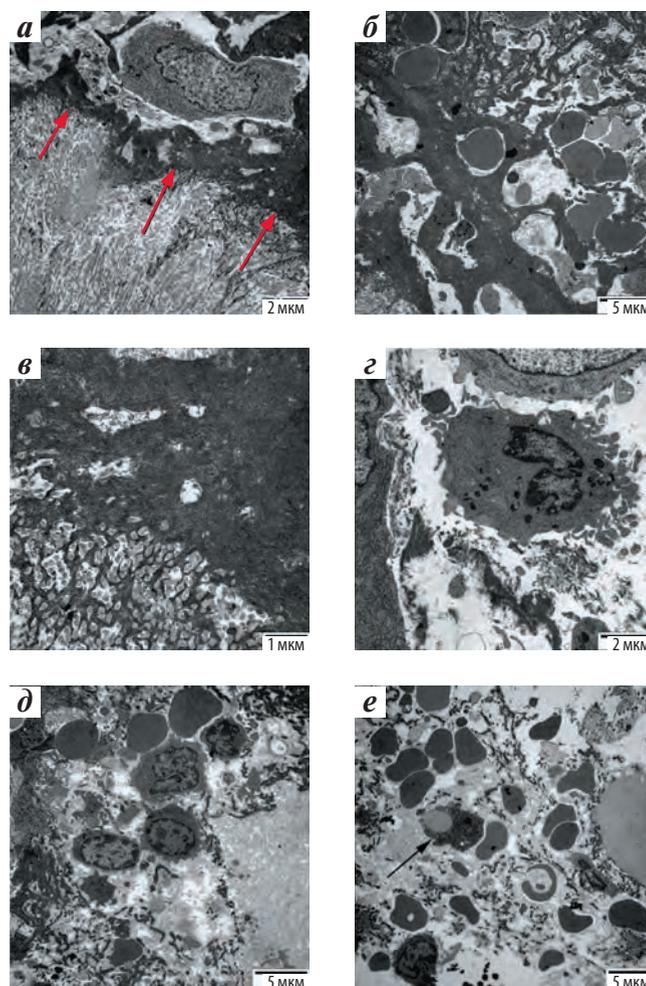


Рис. 5. Ультраструктурная характеристика клеточных и фибриллярных структур резано-ушитой раны кожи на 3-и сутки (пояснение в тексте). Ультратонкие срезы, электронограммы, окрашивание 2 % уранилацетатом и 0,6 % чистым цитратом свинца

ных тонких коллагеновых волокон (рис. 4е), которые, располагаясь хаотично, не формируют пучки, характерные для контрольных препаратов.

Полученные материалы показывают, что процесс заживления, происходящий на 3-и сутки в кожных ранах, существенно отличается от соответствующего периода заживления ран твердого неба. Если на твердом небе фибриноид представлен в виде отдельных фрагментов (см. рис. 4д), то на ранах кожи они как бы «забором» (рис. 5а, указано стрелками) ограждают коллагеновые пучки собственной кожи от окружающих структур. Помимо этого, большие образования фибриноидов, формирующиеся между кровяными элементами (рис. 5б) и проникающие между коллагеновыми волокнами дермы на различные расстояния (рис. 5в), образуют барьер, препятствующий переходу форменных элементов крови между пучками коллагеновых волокон собственно кожи. В раневом канале в составе сгустка крови на-

ряду с эритроцитами обнаруживаются подвергшиеся дегрануляции (неактивные) единичные нейтрофилы (рис. 5г), тромбоциты, тучные клетки, моноциты и лимфоциты (рис. 5д). Клетки, имеющие фагоцитарную активность, здесь очень редки (рис. 5е). Наличие остатков фибриноидов в просвете лимфатических капилляров дермы (рис. 6а, указано стрелками) и эритроцитов между кератиноцитами эпидермиса (рис. 6б, в) может служить дополнительным свидетельством угасания воспалительного процесса на 3-и сутки заживления ран кожи.

Обнаружение отдельных фибробластов округлой формы (рис. 6г, д) на незначительном участке раневой поверхности указывает на начальную стадию формирования растущей (молодой) грануляционной ткани на ранах кожи на 3-и сутки процесса заживления. При этом все признаки развития созревшей грануляционной ткани появляются только на 7-е сутки заживления ран кожи (рис. 6е).

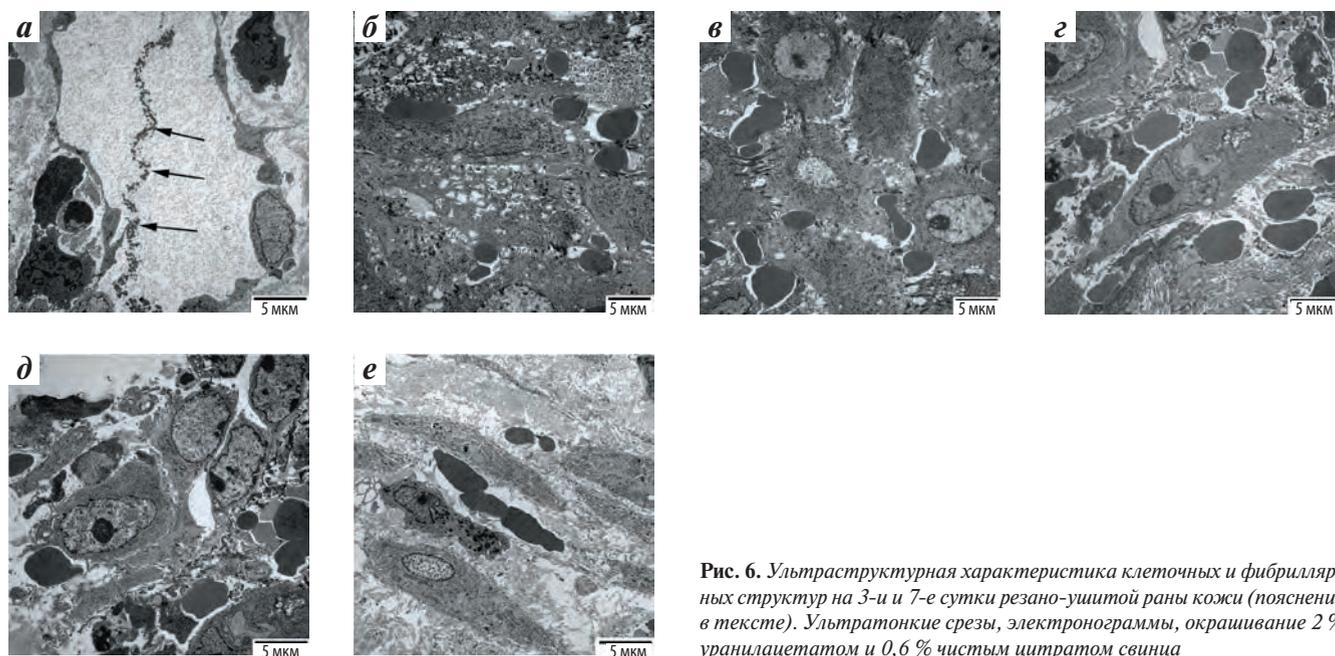


Рис. 6. Ультраструктурная характеристика клеточных и фибриллярных структур на 3-и и 7-е сутки резано-ушитой раны кожи (пояснение в тексте). Ультратонкие срезы, электронограммы, окрашивание 2 % уранилацетатом и 0,6 % чистым цитратом свинца

Заключение

Быстрое угасание воспалительного процесса резано-ушитых ран кожи сопровождается задержкой очистки раневой поверхности от поврежденных структур и фибриноидов, что приводит к формированию созревшей грануляционной ткани на коже

не на 3-и, а на 7-е сутки. Отмеченные различия в фазах гемостаза и воспаления отражаются на последующих фазах репаративной регенерации (пролиферации и формирования рубца), что, возможно, и обуславливает различия в развитии рубцовой ткани послеоперационных ран.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Odland G., Ross R. Human wound repair. I. Epidermal regeneration. *J Cell Biol* 1968;39(1):135–51.
2. Alster T.S., Tanzi E. Hypertrophic scars and keloids. *Clin Dermatol* 2003;4(4):235–43.
3. Pastar I., Stojadinovic O., Yin N.C. et al. Epithelialization in wound healing: a comprehensive review. *Adv Wound Care (New Rochelle)* 2014;3(7):445–64.
4. Martin P. Wound healing – aiming for perfect skin regeneration. *Science* 1997;276(5309):75–81.
5. Bayat A., McGrouther D.A., Ferguson M.W. Skin scarring. *Br Med J* 2003;326(1):88–92.
6. Ferguson M.W., O’Kane S. Scar-free healing: from embryonic mechanisms to adult therapeutic intervention. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2004;359(1445):839–50.
7. Толстых М.П., Ахмедов Б.А., Атаев А.Р. и др. Лечение ран антиоксидантами. Махачкала: Эпоха, 2004. 170 с. [Tolstykh M.P., Akhmedov B.A., Ataev A.R. et al. *Treatment of wounds with antioxidants. Makhachkala: Epokha, 2004. 170 p. (In Russ.)*].
8. Абаев Ю.К. Справочник хирурга. Раны и раневая инфекция. Ростов-на-Дону: Феникс, 2006. 427 с. [Abaev Yu.K. *Surgeon’s reference book. Wounds and wound infection. Rostov-on-Don: Feniks, 2006. 427 p. (In Russ.)*].
9. Schrementi M.E., Ferreira A.M., Zender C., DiPietro L.A. Site-specific production of TGF-beta in oral mucosal and cutaneous wounds. *Wound Repair Regen* 2008;16(1):80–6.
10. Mak K., Manji A., Gallant-Behm C. et al. Scarless healing of oral mucosa is characterized by faster resolution of inflammation and control of myofibroblast action compared to skin wounds in the red Duroc pig model. *Dermatol Sci* 2009;56(3):168–80.
11. Larjava H., Wiebe C., Gallant-Behm C. et al. Exploring scarless healing of oral soft tissues. *J Can Dent Assoc* 2011;77:b18.
12. Wu Z., Ding Y., Zhang L. et al. Primary grafting research of tissue engineered oral mucosa lamina propria on skin full thickness wounds. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi* 2006;20(2):172–6.
13. Glim J.E., van Egmond M., Niessen F.B. et al. Detrimental dermal wound healing: what can we learn from the oral mucosa? *Wound Repair Regen* 2013;21(5):648–60.
14. Pabst O., Bernhardt G., Forster R. The impact of cell-bound antigen transport on mucosal tolerance induction. *J Leukoc Biol* 2007;82(4):795–800.
15. Leask A., Abraham D. TGF-beta signaling and the fibrotic response. *FASEB J* 2004;18(7):816–27.
16. Walraven M., Gouverneur M., Middelkoop E. et al. Altered TGF-β signaling in fetal fibroblasts: what is known about the underlying mechanisms? *Wound Repair Regen* 2014;22(1):3–13.
17. Mah W., Jiang G., Olver D. et al. Human gingival fibroblasts display a non-fibrotic phenotype distinct from skin fibroblasts in three-dimensional cultures. *PLoS One* 2014;9(3):e90715.
18. Ghaffari A., Li Y., Karami A. et al. Fibroblast extracellular matrix gene expression in response to keratinocyte-releasable stratifin. *J Cell Biochem* 2006;98(2):383–93.
19. Wong J., Gallant-Behm C., Wiebe C. et al. Wound healing in oral mucosa results in reduced scar formation as compared with skin: evidence from the red Duroc pig model and humans. *Wound Repair Regen* 2009;17(5):717–29.

20. Johnson A., Francis M., DiPietro L. Differential apoptosis in mucosal and dermal wound healing. *Adv Wound Care (New Rochelle)* 2014;3(12):751–61.
21. Rəhimov Ç.R., Qasımov E.K., Quliyev T.R., Fərzəliyev İ.M. Ağız boşluğunda cərrahi yaraların sağalması prosesinin öyrənilməsi üçün münasib eksperimental model. *Azərbaycan Tibb Jurnalı* 2014;(2):120–5.
22. Уикли Б.С. Электронная микроскопия для начинающих. М.: Мир, 1975. 325 с. [*Weekly B.S. Electronic microscopy for beginners. Moscow: Mir, 1975. 325 p. (In Russ.)*].
23. Kuo J. *Electron microscopy: methods and protocols*. Totowa: Humana Press, 2007. 625 p.
24. D'Amico F. A polychromatic staining method for epoxy embedded tissue: a new combination of methylene blue and basic fuchsine for light microscopy. *Biotech Histochem* 2005;80(5–6):207–10.
25. Undas A., Ariëns R.A. Fibrin clot structure and function: a role in the pathophysiology of arterial and venous thromboembolic diseases. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011;31(12):e88–99.
26. Weigandt K.M., White N., Chung D. et al. Fibrin clot structure and mechanics associated with specific oxidation of methionine residues in fibrinogen. *Biophys J* 2012;103(11):2399–407.
27. El Kebir D., Filep J.G. Role of neutrophil apoptosis in the resolution of inflammation. *Scientific World J* 2010;10:1731–48.
28. Esmann L., Idel C., Sarkar A. et al. Phagocytosis of apoptotic cells by neutrophil granulocytes: diminished proinflammatory neutrophil functions in the presence of apoptotic cells. *J Immunol* 2010;184(1):391–400.
29. Манских В.Н. Пути гибели клеток и их биологическое значение. *Цитология* 2007;49(11):909–15. [*Manskikh V.N. Ways of cells' death and its biologic value. Tsitologiya = Cytology* 2007;49(11):909–15. (In Russ.)].
30. Velnar T., Bailey T., Smrkolj V. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *J Int Med Res* 2009;37(5):1528–42.