

M1/M2 ПОЛЯРИЗАЦИЯ МОНОЦИТОВ-МАКРОФАГОВ У БОЛЬНЫХ С СИНДРОМОМ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ

Галстян К.О.*¹, Недосугова Л.В.¹, Земляной А.Б.², Колмычкова К.И.³, Собенин И.А.⁴

УДК: 617.588:616.379-008.64-002.3/4:616.155.3-008.3
DOI: 10.25881/BPNMSC.2018.32.71.009

¹Первый Московский Государственный Медицинский Университет им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва

²Национальный медико-хирургический Центр имени Н.И. Пирогова, Москва

³АНО НИИ Атеросклероза РАЕН, Москва

⁴Научный Медицинский Исследовательский Центр Кардиологии Минздрава России, Москва

M1/M2 MONOCYTES-MACROPHAGES POLARIZATION IN PATIENTS WITH DIABETIC FOOT SYNDROME

Galstjan K.O.*¹, Nedosugova L.V.¹, Zemljanoj A.B.², Kolmychkova K.I.³, Sobenin I.A.⁴

¹Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), Moscow

²Federal state budgetary institution "National Medical and Surgical Center named after N.I. Pirogov" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

³Autonomous non-profit organization Research Institute of Atherosclerosis of the Russian Academy of Natural Sciences, Moscow

⁴Federal State budget organization National medical research center of cardiology of the Ministry of healthcare of the Russian Federation, Moscow

Резюме. Исследована спонтанная и индуцированная секреция провоспалительного цитокина TNF- α (M1) и противовоспалительного хемокина CCL18 (M2) моноцитами-макрофагами в культуральной среде у больных с СДС. Обследовано 42 пациента с СДС, 14 больных с нейропатической формой (7м/7ж), 28 – с нейроишемической (22м/6ж). Методом ИФА исследованы уровни базальной и стимулированной интерфероном- γ секреции TNF- α , CCL18- интерлейкином -4 моноцитами-макрофагами при различных язвенных дефектах. У больных с нейропатической форме СДС мы выявили более высокие значения провоспалительного ответа и достоверное снижение стимулированного противовоспалительного, по сравнению с больными с нейроишемической формой ($p < 0,001$). Избыточная продукция TNF- α и снижение CCL18 выявлены у пациентов с длительностью язвенных дефектов более 6 месяцев, ($p < 0,05$). При этом у пациентов с дефектами малых и больших размеров ($< 1 \text{ см}^2$; $> 3 \text{ см}^2$) более высокие значения TNF- α , $p < 0,001$, чем у больных с дефектами средних размеров ($1-3 \text{ см}^2$). При дефектах $1-3 \text{ см}^2$ не получен стимуляционный противовоспалительный ответ, а у больных с язвами $< 1 \text{ см}^2$ стимулированный ответ ниже базального. В данной когорте найдена корреляционная зависимость между высоким уровнем HbA1c $> 8,0\%$ и низким уровнем CCL18 ($r = -0,883$; $p = 0,008$).

Ключевые слова: СДС, язвенный дефект, противовоспалительный цитокин, противовоспалительный хемокин, поляризация макрофага.

Abstract. Investigation of the spontaneous and induced secretion of the anti-inflammatory cytokine TNF- α (M1) and the anti-inflammatory chemokine CCL18 (M2) by macrophage monocytes in the culture medium in patients with diabetic foot syndrome (DFS). 42 patients with diabetic foot syndrome (DFS), 14 patients with a neuropathic form (7m / 7f), 28 with a neuroischemic (22m / 6f) were examined. The levels of basal and interferon- γ stimulated TNF- α secretion, CCL18- interleukin-4 monocyte-macrophages with various ulcerative defects were studied by ELISA. In patients with neuropathic form of DFS, we found higher values of the proinflammatory response and a significant decrease in the stimulated anti-inflammatory response, compared with patients with the neuroischemic form ($p < 0,001$). Excess production of TNF- α and a decrease in CCL18 were detected in patients with a duration of ulcerative defects more than 6 months, ($p < 0,05$). In patients with defects of small and large sizes ($< 1 \text{ cm}^2$, $> 3 \text{ cm}^2$), higher values of TNF- α , $p < 0,001$, than in patients with defects of medium size ($1-3 \text{ cm}^2$). With defects of $1-3 \text{ cm}^2$, no stimulatory anti-inflammatory response was obtained, and in patients with ulcers $< 1 \text{ cm}^2$, the stimulated response is lower than basal. In this cohort, a correlation was found between a high level of HbA1c $> 8.0\%$ and a low level of CCL18 ($r = -0,883$; $p = 0,008$).

Keywords: DFS, ulcerative defect, anti-inflammatory cytokine, anti-inflammatory chemokine, polarization of macrophage.

Введение

Диабетическая рана является основным предиктором смертности, несмотря на риск ТИА, инсультов, ИБС и атеросклероз периферических артерий у больных СД. Проведенный ретроспективный анализ одного года выживаемости среди 66323 лиц пожилого возраста с СДС составила 80,80%, 2-х – 69,01% и 5-летней – 28,64% [16].

Трагизм пандемии СД заключается в развитии генерализованных сосудистых осложнений. Согласно руководству МРГДС, язвенное поражение стоп – тяжелое осложнение диабета, связанное с ростом

заболеваемости, смертности и финансовых затрат. Ежегодная потеря части конечности превышает 1млн. больных СД, следовательно, резко ухудшается качество жизни не только пациента, но и его семьи [3]. В мировом масштабе частота нетравматических ампутаций нижних конечностей достигает 50–75% и это большие СД [1].

Исключительно важную роль в формировании СДС отводится диабетической периферической полинейропатии [3]. В связи с этим, одновременная коррекция гипергликемии и дефицита миоинозитола в нервном волокне – важный эшелон профилактики СДС в раннем

* e-mail: karin_777@mail.ru

периоде заболевания и применение патогенетической и симптоматической терапии, несомненно, снижает нейропатическую боль, улучшает состояние нервных волокон, блокируя их альтерацию [6]. Однако, длительное токсическое действие гликемии препятствует ремиелинизации [4].

СДС встречается в различной форме у 30–80% больных СД. Глобальными проблемами являются реампутации и постампутационная смертность больных [2].

Заккрытие язвенных дефектов нижних конечностей на сегодняшний день имеет затяжной характер. Безусловно, такие факторы, как микробная обсемененность, длительно незаживающие раны, ампутация, реампутации являются причинами ухудшения качества жизни пациентов. Оценка тяжести течения и мониторинг раневого процесса являются составной парадигмой [7; 18].

Участие молекулярных процессов, а именно транспорт пептидов, концентрация иммунной атаки влекут за собой формирование СД [5].

В течение последних десяти лет теория воспаления занимает важное место в эндогенной иммунорегуляции. Активация и ингибирование иммунного ответа на воспалительный процесс зависит, как правило, от межклеточного взаимодействия цитокинов и гормонов. Локальное и системное воспаление в первую очередь способствует продукции провоспалительных цитокинов и противовоспалительных хемокинов, а также активации ядерного фактора NF- κ B. Можно предположить, что представитель семейства провоспалительного цитокина –TNF- α , препятствует стабилизации окислительно-восстановительного состояния, а индуцированный цитокин генерирует активные формы кислорода и реактивные формы азота. Реакции молекулярных связей влияют на множественные процессы, а именно пролиферации и воспаления [15].

В основе воспалительного процесса при СД2т могут быть необратимые биохимические нарушения, поэтому изучение поляризации макрофагов и секретируемых цитокинов и при СД2т открывает новый взгляд на патогенез длительно незаживающих ран. Поскольку про- и противовоспалительные процессы играют решающее значение в различных фазах заживления ран, можно предположить, что дисрегуляция иммунорегуляторного ответа нарушает тканевой гомеостаз и после формирования дефекта приводит к развитию хронических, вялотекущих, незаживающих и, в том числе, рецидивирующих ран, которые характерны для СДС.

Массовые экспериментальные работы на генетически модифицированных мышах показали, как цитокины оказывают ингибирующий эффект на факторы роста и процессы ремоделирования [19].

В связи с этим была изучена спонтанная и индуцированная секреция провоспалительного цитокина TNF- α и противовоспалительного хемокина CCL18 моноцитами-макрофагами в культуральной среде у больных с СДС, длительно страдающих СД2т.

Материалы и методы

Для выделения первичной культуры моноцитов-макрофагов крови человека мы получали моноциты из периферической крови 42 пациентов с СДС.

В зависимости от нарушения магистрального кровотока пациенты с СДС в возрастной категории от 49 до 75 лет были разделены на нейропатическую форму ($n = 14$, 7м/7ж) и нейроишемическую форму ($n = 28$, 22м/6ж). По возрастному составу различие было статистически достоверным ($p = 0,05$). Однако по гендерному признаку достоверно не различались. Характеристика больных с СДС представлена в табл. 1.

Для получения клеточной популяции не менее 95% моноцитов была проведена магнитная сепарация положительных к кластеру дифференцировки 14 (CD14+) клеток с использованием парамагнитных наночастиц, конъюгированных с антителами к CD14.

Функциональный анализ активации моноцитов заключался в измерении концентраций цитокинов, секретируемых клетками в стандартных условиях в ответ на провоспалительную стимуляцию INF- γ в концентрации 100 нг/мл или противовоспалительную стимуляцию IL-4 в концентрации 10 нг/мл. Секреция TNF- α рассматривалась как маркер провоспалительной активации моноцитов по M1 фенотипу, а секреция CCL18 – как маркер противовоспалительной активации по M2 фенотипу. Концентрации TNF- α и CCL18 в культуральной среде измерялись твердофазным INF- γ анализом через 24 и 144 часа после стимуляции моноцитов. В анализе ИФА общепринятыми являются международная система единиц (СИ), как одна трлн. часть грамма (10^{12}). Результаты выражены в пг/мл. Анализ гликированного гемоглобина проводился автоматизированной системой капиллярного электрофореза Capillarys 2.

Табл. 1. Характеристика обследованных пациентов

Показатель, ед	СД2т с СДС (n = 42)			
	Нейропатическая форма (n = 14)	Нейроишемическая форма (n=28)	p	
Возраст, лет	54,0 [50,7; 67,7]	63,5 [58,2; 71,7]	0,031	
Возраст до манифестации СД	48 [40,2; 54,5]	49 [45,2; 54,7]	0,363	
Пол м/ж	7 (50%)	22 (78,6%)	0,403	
	7 (50%)	6 (21,4%)	0,183	
Стаж СД, годы	7,5 [5,5; 14,2]	14 [8,5; 20]	0,226	
Стаж СДС, месяцы	6,5 [2,7; 12,7]	3,5 [1; 6]	0,176	
	<1 месяца	14,3%	35,7%	0,264
	<6 месяцев	35,7%	42,9%	0,770
>6 месяцев	50,0%	21,4%	0,183	
ИМТ кг/м ²	32,4 \pm 6,1	30,1 \pm 5,2	0,206	
HbA1c, (%)	9,4 \pm 2,3	8,5 \pm 1,5	0,117	
Хс, ммоль/л	5,2 \pm 1,6	5,1 \pm 1,3	0,820	
ТГ, ммоль/л	2,2 \pm 1,4	2,1 \pm 1,0	0,745	
ЛПВП, ммоль/л	1,6 \pm 1,1	1,4 \pm 0,7	0,493	
ЛПНП, ммоль/л	3,6 \pm 1,4	2,6 \pm 1,5	0,054	
КА, (%)	2,8 \pm 1,6	2,5 \pm 1,2	0,536	

Примечание: данные представлены в виде медиана и 25; 75 квартили. (** $p < 0,001$; * $p < 0,05$).

Статистическая обработка результатов проведена с определением медианы [Me] и перцентилей Q [25; 75]. Различия между группами выявляли по U-критерий Манна-Уитни, Z-критерий Колмогорова-Смирнова. Парный частотный анализ между группами проводили с помощью достоверности различий хи-квадрата и точного решения Фишера. Корреляционную зависимость определяли с помощью ранговой корреляции Спирмена [р] и линейного коэффициента Пирсона [г]. Статистически значимым считали до 5%-ного уровня значимости [$p < 0,05$].

Результаты

У больных с язвенными дефектами функциональный анализ активации макрофагов показал высокие значения уровня базального TNF γ у больных нейропатической формой СДС и 1,98-кратное его повышение в ответ на стимуляцию INF- γ . Достоверных различий по сравнению с нейроишемической формой СДС не получили. Противовоспалительный маркер -CCL18, у больных нейропатической формой СДС показал снижение уровня базальной секреции и подавление стимулированного IL-4 ответа в сравнении с больными нейроишемической формой СДС, у которых, напротив, получили достоверное повышение (2,58-кратн., $p < 0,001$) противовоспалительного ответа на стимуляцию IL-4 (Табл. 2).

Рассмотрена поляризация M1/M2 при длительно незаживающих ранах. Выявлено, что на протяжении всего раневого процесса сохраняются высокие уровни провоспалительного фенотипа с активным стимуляционным ответом, $p < 0,05$ (Рис. 1). При этом у больных с длительностью язвенного дефекта более 6 месяцев, отсутствовал стимуляционный противовоспалительный ответ, $p = 0,033$ (Рис. 2).

У больных с СДС площади хронических ран составили от 0,45 до 123,94 см². При сравнении показателей провоспалительного фенотипа были получены высокие значения базального TNF- α и двукратное увеличение стимуляционного ответа у пациентов с дефектами <1 см², $p = 0,028$ и >3 см², $p < 0,001$. Снижение поляризации M1 фенотипа выявлено у пациентов, имеющих язвенные дефекты 1–3 см², по сравнению с больными у которых дефекты были <1 см², >3 см² (Рис. 3). Несмотря на то, что показатели M2 фенотипа при дефектах <1 см² до 3 см² достаточно высокие, тем не менее стимуляционный ответ повышения CCL18 не получен, а у больных с дефектами <1 см² стимулированный ответ ниже базального уровня, без статистически достоверных различий.

У пациентов с площадью язвенных дефектов >3 см² отмечено увеличение уровня базального CCL18, с выраженным 2,7-кратным индуцированным приростом CCL18, соответственно, $p = 0,072$ (Рис. 4).

Впервые выявлена корреляционная связь между низким уровнем стимулированного CCL18 и высоким уровнем HbA1c при площади язвенных дефектов <1 см² ($r = -0,883$; $p = 0,008$).

Табл. 2. Статистические параметры распределений величин маркеров у пациентов в зависимости от формы СДС

Показатели Пг/мл	СДС		P _{1,2}
	Нейропатическая форма (n = 14)	Нейроишемическая форма (n = 28)	
TNF α базальный	777 [495; 1772]	607,5 [257; 1180]	0,290
TNF α стимулированный	1541 [632; 4058,5] $p < 0,001^{**}$	1160 [550; 2133] $p < 0,001^{**}$	0,185
CCL18 базальный	7,50 [3; 15,1]	12 [3,2; 60]	0,604
CCL18 стимулированный	4 [0,5; 10,2] 0,861	31 [8,4; 80] *0,029	0,009*

Примечание: данные представлены в виде медиана и 25; 75 квартили. (** $p < 0,001$; * $p < 0,05$).

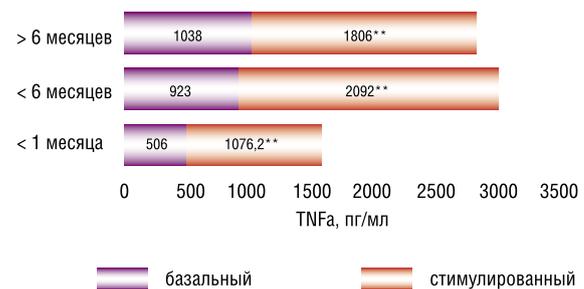


Рис. 1. Динамика TNF α до/после стимуляции в зависимости от длительности язвенных дефектов

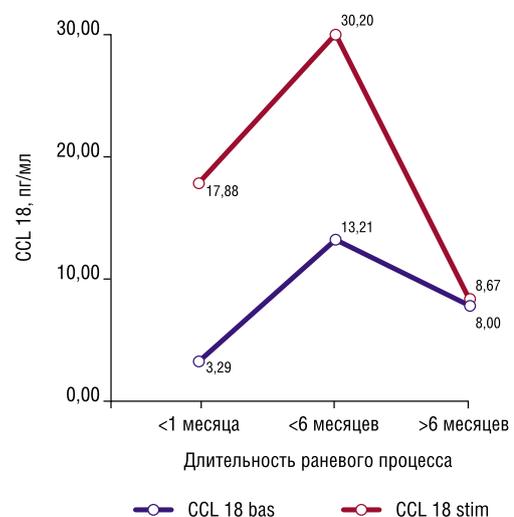


Рис. 2. Динамика CCL18 до/после стимуляции в зависимости от длительности язвенных дефектов

Обсуждение результатов и выводы

Комплекс биологических процессов, направленных на восстановление целостности поврежденных тканей, включает в себя основные фазы (гемостаз, воспаление,

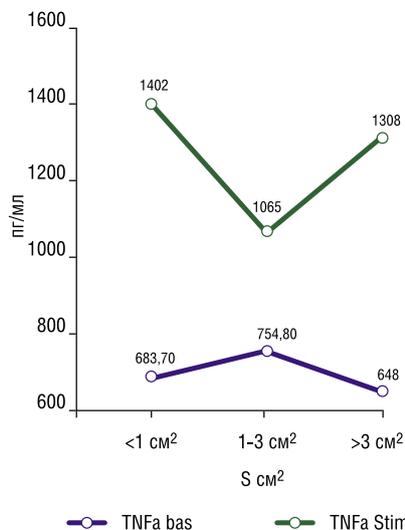


Рис. 3. Динамика TNFα до/после стимуляции в зависимости от площади язвенных дефектов у больных с нейропатической и нейроишемической формами СДС

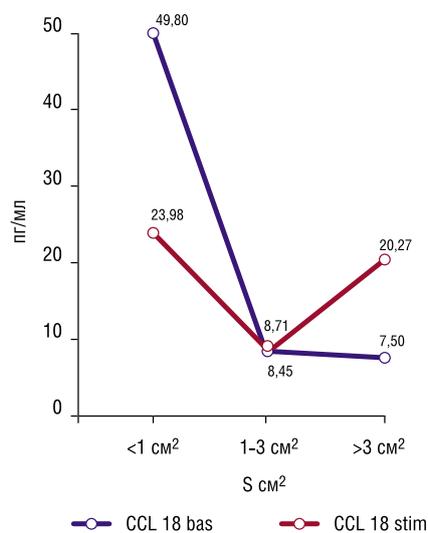


Рис. 4. Динамика CCL18 до/после стимуляции в зависимости от площади язвенных дефектов у больных с СДС

пролиферация, ремоделирование) [11]. Каждая из фаз протекает с участием цитокинов, дисбаланс которых приводит к затяжному течению раневого процесса [8]. Понимание клеточных и иммунорегуляторных механизмов, которые нарушают процесс ремоделирования и скорость заживления раневого дефекта в диабетической среде, в сравнении с нормальной средой, служат подспорьем для выявления факторов, приводящих к дисрегуляции последовательного переключения провоспалительных и противовоспалительных фенотипов.

Роль макрофагов разнообразна. При этом в организме моноцитарно-макрофагальная система инертна. Их активность непостоянная и зависит от изменчивости микроокружения, например, внутри- и экстраклеточных

патогенов, которые посредством интеграции патоген-ассоциированных молекулярных паттернов (PAMP) с паттерн-распознающими рецепторами (PRR) подвергаются фенотипическому переключению и продуцируют провоспалительные цитокины, которые поддерживают воспаление, и противовоспалительные, регулирующие в свою очередь репаративные процессы [10]. Как известно, одни и те же цитокины синтезируются разными клетками и в разных органах. В условиях отсутствия патогенных стимулов большая часть не продуцируется [12].

Безусловно, в заживлении ран макрофаги имеют чрезвычайно важное значение. Без активации макрофагов заживление раневого дефекта невозможно [13]. Незавершённый клиренс ингибирует переключение M1 в M2 в диабетической среде. Но что важно, на этапе ремоделирования в условиях гипергликемии нарушен процесс переключения фенотипов, что способствует задержке заживления и хронизации воспаления. Данный факт согласуется с работами A.S. Macleod и J.N. Mansbridge, а также полученными нами результатами [17].

Состояние M-1 и M-2 поляризации макрофагов и выделяемыми ими цитокинов/хемокинов в зависимости от формы СДС у больных с нейропатической формой СДС показали более высокие значения провоспалительного фенотипа, как базального, так и стимулированного, по сравнению с нейроишемической формой, однако без статистической значимости. И, напротив, получили достоверное снижение стимулированного противовоспалительного ответа у больных нейропатической формой, что не наблюдалось при нейроишемической форме ($p < 0,05$). Это объясняется отсутствием переключения фенотипа M2 у больных нейропатической формой СДС и пролонгацией воспаления. Возможно, у пациентов без ЗПА имеется также повышенный риск длительного заживления язв, в связи с низким уровнем базальной и стимулированной противовоспалительной секрецией CCL18 по сравнению больными с нейроишемической формой язвенных дефектов.

Мы также выявили преимущественное превалирование M1 над M2 поляризацией во время всего воспалительного процесса ($p < 0,05$), и в то же время неспособность макрофагов стимулировать противовоспалительный ответ у пациентов с язвенными дефектами с длительностью более 6 месяцев. Этим фактом можно объяснить длительность существования «диабетических» язв. Возможно, длительность хронических гетерогенных процессов в условиях гипоксии тканей и континуум функциональных состояний макрофагов, поддерживают воспаление и ремоделирование синхронно, в частности, в условиях гипергликемии, что способствует дальнейшей необратимой деструкции «клеток-активаторов» [17]. Не исключено, что ингибируются процессы ангиогенеза и репарации [14].

Фактически, у больных СД язвенный дефект минимальных размеров, по прошествии ряда лет может так и не зарубцеваться. В связи с этим, мы оценивали поляризацию фенотипов и площади дефектов. Выяви-

ли, что у пациентов язвенные дефекты малых (<1 см²) и больших (>3 см²) размеров имеют более высокий M1 ответ $p < 0,001$, чем у больных с дефектами – 3 см². Наряду с этим не отмечено поляризации макрофагов по M2 фенотипу при дефектах 1–3 см².

При язвенных дефектах <1 см² стимулированный ответ ниже базального по M2 фенотипу. У этих же больных найдена связь низкого уровня CCL18 с высоким уровнем HbA1c, ($r = -0,883$; $p = 0,008$). По этой причине вероятность таких ран самостоятельно зарубцеваться минимальная. И, напротив, у пациентов, имеющих дефекты >3 см², отмечался значительный стимуляционный ответ M2 фенотипа.

Анализируя полученные результаты для больных СД, вероятно, длительно незаживающими являются именно дефекты малых размеров из-за преобладания M1 над M2, в сочетании с отсутствием стимуляционного ответа фенотипа M2. У больных с язвенными дефектами <1 см² и длительностью раневого процесса >6 месяцев выявлена обратная корреляция ($r = -0,929$; $p = 0,022$). Это проявляется тем, что диабетические длительно незаживающие раны, существующие больше года, подвержены к деградации пролиферативных процессов и формированию фибринозной ткани, что объясняет неблагоприятный прогноз заживления [9]. Возможно, это объясняется поддержанием хронизации воспалительного процесса при избыточной продукции TNF- α , как отражение провоспалительного фенотипа и ослабление противовоспалительного ответа. По-видимому, нарушения равновесия M1/M2 является причиной ингибирования стадии пролиферации и ремоделирования тканей, что приводит к рецидивированию дефекта, так и не достигнув его закрытия. И в противовес этому большие раны (>3 см²) продолжительностью меньше полугода имеют более значимый регенеративный потенциал ($r = 0,723$; $p = 0,008$), что объясняет их большие шансы к самостоятельному заживлению.

Таким образом, исследование показало, что на всех этапах раневого процесса макрофаги продуцируют как воспалительные, так и противовоспалительные маркеры. Более подробное изучение состояний фенотипов при СД показало многочисленные взаимосвязи с продолжительностью язвенного дефекта, высокого уровня HbA1c с нарушением поляризации макрофагов M1/M2. Вопросы поляризации макрофагов по M1/M2 фенотипам при СДС, а также подавление M1 ответа требуют дальнейшего изучения и применения необходимой и своевременной коррекции.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Анциферов, М.Б., Галстян, Г.Р., Токмакова, А.Ю., Дедов, И.И. Синдром диабетической стопы: клиника, диагностика, лечение и профилактика // Сахарный диабет. – 2001. – № 2. – С. 2–8; 67–73. [Antsiferov, M. B., Galstyan G.R., Tokmakova A.Yu., Dedov I.I. Diabetic foot syndrome: clinical

- presentation, diagnosis, treatment and prevention // Diabetes mellitus. – 2001. – № 2. – С. 2–8; 67–73.
2. Анциферов, М.Б. Синдром диабетической стопы // М.Б. Анциферов, Е.Ю. Комелягина. – М.: Медицинское информационное агентство, 2013. – 14–15 с. [Antsiferov, M.B. Diabetic foot syndrome // M.B. Antsiferov, E. Yu. Komelygina. – M.: Medical Information Agency, 2013. – 14–15 s.]
 3. Баккер, К. Профилактика и лечение заболеваний стопы при диабете // К. Баккер, Дж. Апельквист, Б.А. Липски и др. перевод с англ. И.В. Гуревой и М.А. Дадяна. – Руководство, документы и рекомендации (международный консенсус по диабетической стопе), 2015. – 4 с. [Bakker, K. Prevention and treatment of diseases of the foot in diabetes // K. Bakker, J. Apelquist, B. A. Lipsky and others. I.V. Gurevoi and M.A.Dadyan. – Guide, documents and recommendations (international consensus on diabetic foot), 2015. – 4 s.]
 4. Бреговский, В.Б., Храмлини, В.Н., Демидова, И.Ю. Диабетическая дистальная полинейропатия. Обзор современных рекомендаций // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. – 2015. – Т. 9, № 1. – С. 60–68. [Bregovsky, V.B., Khramilin, V.N., Demidova, I.Yu. Diabetic distal polyneuropathy. Review of current recommendations // Annals of Clinical and Experimental Neurology. – 2015. – Т. 9, № 1. – С. 60–68].
 5. Вайнтрауб, Б.Д. Молекулярная эндокринология // Б.Д. Вайнтрауб. – Фундаментальные исследования и их отражение в клинике, 2003. – 262–265 с. [Weintraub, B.D. Molecular endocrinology // B.D. Weintraub. – Fundamental research and their reflection in the clinic, 2003. – 262–265 s.]
 6. Гурьева, И.В., Онучина, Ю.С. Современные подходы к определению, диагностике и классификации диабетической полинейропатии. Патогенетические аспекты лечения // Consilium medicum. – 2016. – № 12. – С. 103–109. [Gurieva, I.V., Onuchina, Yu.S. Modern approaches to the definition, diagnosis and classification of diabetic polyneuropathy. Pathogenetic aspects of treatment // I.V. Gurieva, Yu.S. Onuchina. – Consilium medicum. – 2016. – № 12. – С. 103–109].
 7. Дедов, И.И. Сахарный диабет: острые и хронические осложнения // И.И. Дедов, М.В. Шестакова. – М.: Медицинское информационное агентство, 2012. – 365–403 с. [Dedov, I.I. Sugar diabetes: acute and chronic complications // I.I. Dedov, M.V. Shestakova. – M.: Medical Information Agency, 2012. – 365–403 s.]
 8. Кузин, М.И. Раны и раневая инфекция // М.И. Кузин, Б.М. Костюченко. – М.: Медицина, 1990. – 97 с. [Kuzin, M.I. Wounds and wound infection // M.I. Kuzina, B.M. Kostyuchenok. – M.: Medicine, 1990. – 97 s.]
 9. Комелягина, Е.В., Коган, Е.А., Анциферов, М.Б. Клинико-морфологические параметры и маркеры репарации невропатических язвенных дефектов при синдроме диабетической стопы // Сахарный диабет. – 2015. – 18 (3). – С. 70–76. [Komelyagina, E.V., Kogan, E.A., Antsiferov, M.B. Clinical and morphological parameters and markers of repair of neuropathic ulcer defects in diabetic foot syndrome // Diabetes mellitus. – 2015. – 18 (3). – С. 70–76].
 10. Лямина, С.В., Малышев, И.Ю. Поляризация макрофагов в современной концепции формирования иммунного ответа // Журнал Фундаментальные исследования. – 2014. – № 10. – С. 930–935. [Lyamina, S.V., Malyshev, I.Yu. Polarization of macrophages in the modern concept of the formation of the immune response // Journal of Fundamental Research. – 2014. – № 10. – С. 930–935].
 11. Савельев, В.С. Клиническая хирургия // В.С. Савельев, А.И. Кириенко. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – Т. 1. – 537 с. [Saveliev, V.S. Clinical surgery // V.S. Saveliev, A.I. Kirienko. – M.: GEOTAR-Media, 2008. – Т. 1. – 537 s.]
 12. Симбирцев, А.С. Лечебное применение цитокинов // А.С. Симбирцев. – СПб.: РИЦ ПСПбГМУ, 2017. – 4 с. [Simbirtsev, A.S. Therapeutic use of cytokines // A.S. Simbirtsev. – SPb.: RIC PSPbGMU, 2017. – 4 s.]
 13. Шольц, Н. Подология // Н. Шольц. – Учебник и иллюстрированный атлас по подологии, 2017. – 322 с. [Scholz, N. Podology // N. Scholz. – Textbook and Illustrated Atlas on Podology, 2017. – 322 s.]
 14. Bodnar, R.J. Chemokine Regulation of During Wound Healing // Ady Wound Care(-New Rochelle). – 2015. – 4 (11). – P. 641–650.
 15. Blaser, H., Brenner, D., Dostert, C. TNF and ROS Crosstalk in Inflammation // Journal Cellpress. – 2016. – P. 1–13.
 16. Brennan, M.B., Hess, T.M., Bartle, B., Cooper, J.M. Diabetic foot ulcer severity predicts mortality among veterans with type 2 diabetes // Journal of diabetes and its complications. – 2017. – № 31 (3). – P. 556–561.
 17. Macleod, A.S., Mansbridge, N. The Innate Immune System in Acute and chronic wounds // Ady Wound Care(New Rochelle). – 2016. – 5 (2). – P. 65–78.
 18. Netten, V.J. J., Price, P.E., Lavery, L. A. Prevention of foot ulcers in the at-risk patient with diabetes // Diabetes.Metabolism research and reviews. – 2016. – 32 (Suppl. 1). – P. 84–98.
 19. Werner, S., Grose, R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines // Physiol Rev. – 2003. – 83 (3). – P. 835–70.