

УДК 616.5:616-001.4

<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2022-22-3-293-307>

Научная статья | Scientific article



Ранозаживляющее и противовоспалительное действие рекомбинантного ангиогенина человека

А.Е. Гуляев¹, З.Т. Шульгау¹, Ш.Д. Сергазы^{1,2}, Н.В. Юрина³, А.М. Горячкин⁴,
С.С. Богачев⁵, А.С. Проскурина^{5,✉}

¹ РГП «Национальный центр биотехнологии», Кургальжинское шоссе, д. 13/5, г. Нур-Султан, 010000, Республика Казахстан

² Частное учреждение "National Laboratory Astana", Назарбаев Университет, просп. Кабанбай Батыра, д. 53, г. Нур-Султан, 010000, Республика Казахстан

³ Автономная некоммерческая организация «Региональный центр высоких медицинских технологий», ул. Фрунзе, д. 71/1, г. Новосибирск, 630112, Российская Федерация

⁴ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Красный просп., д. 52, г. Новосибирск, 630091, Российская Федерация

⁵ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», просп. Академика Лаврентьева, д. 10, г. Новосибирск, 630090, Российская Федерация

✉ Проскурина Анастасия Сергеевна; labmolbiol@mail.ru

Резюме

Создание новых эффективных ранозаживляющих средств является актуальной задачей современной клинической фармакологии. Одним из перспективных направлений представляется разработка препаратов для стимуляции ангиогенеза, который является критическим этапом процесса заживления ран. **Цель работы:** оценить ранозаживляющее действие препарата на основе рекомбинантного ангиогенина человека в виде геля на различных экспериментальных моделях. **Материалы и методы:** в качестве экспериментальных животных использовали белых беспородных крыс-самцов. Исследовано ранозаживляющее действие препарата на основе рекомбинантного ангиогенина человека (0,0025%) в виде геля относительно препарата сравнения на моделях плоскостной кожно-мышечной, линейной и ожоговой раны. Ранозаживляющее действие исследуемого препарата при лечении длительно незаживающей раны охарактеризовано на модели аллоксанового сахарного диабета. На модели адьювантного артрита оценено противовоспалительное действие препарата на основе рекомбинантного ангиогенина человека относительно препарата сравнения. **Результаты:** установлена более высокая ранозаживляющая активность препарата на основе рекомбинантного ангиогенина человека относительно препарата сравнения (гель Солкосерил) для плоскостной кожно-мышечной раны, линейной и ожоговой ран. При применении исследуемого препарата ускоряется процесс репарации тканей при лечении длительно незаживающей раны на модели аллоксанового сахарного диабета. Отмечено более быстрое расплавление некротических масс и переход к эпителизации краев раны. Установлена противовоспалительная активность препарата на основе рекомбинантного ангиогенина человека, по эффективности сравнимая с действием препарата сравнения (гель Диклофенак). **Выводы:** определено наличие у препарата на основе рекомбинантного ангиогенина человека в виде геля выраженных ранозаживляющих и противовоспалительных свойств, сопоставимых с препаратами сравнения.

© А.Е. Гуляев, З.Т. Шульгау, Ш.Д. Сергазы, Н.В. Юрина, А.М. Горячкин, С.С. Богачев, А.С. Проскурина, 2022

Ключевые слова: плоскостная кожно-мышечная рана; линейная рана; ожоговая рана; аллоксановый сахарный диабет; адъювантный артрит; противовоспалительное средство; рекомбинантный ангиогенин человека

Для цитирования: Гуляев А.Е., Шульгау З.Т., Сергазы Ш.Д., Юрина Н.В., Горячкин А.М., Богачев С.С., Проскурина А.С. Ранозаживляющее и противовоспалительное действие рекомбинантного ангиогенина человека. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2022;22(3):293–307. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2022-22-3-293-307>

Wound healing and anti-inflammatory effects of recombinant human angiogenin

A.E. Gulyayev¹, Z.T. Shulgau¹, Sh.D. Sergazy^{1,2}, N.V. Yurina³, A.M. Goryachkin⁴, S.S. Bogachev⁵, A.S. Proskurina^{5,✉}

¹ National Center for Biotechnology, 13/5 Kurgalzhynskoye Rd, Nur-Sultan 010000, Republic of Kazakhstan

² National Laboratory Astana, Nazarbayev University, 53 Kabanbay batyr Ave, Nur-Sultan 010000, Republic of Kazakhstan

³ Regional Center for High Medical Technologies, 71/1 Frunze St., Novosibirsk 630112, Russian Federation

⁴ Novosibirsk State Medical University, 52 Krasnyj Ave, Novosibirsk 630091, Russian Federation

⁵ Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 10 Academician Lavrentiev Ave, Novosibirsk 630090, Russian Federation

✉ Anastasia S. Proskurina; labmolbiol@mail.ru

Abstract

New effective wound healing agents are a priority for modern clinical pharmacology. A promising approach would be to develop medicinal products that promote angiogenesis, which is a critical step in wound healing. **The aim of the study** was to evaluate the wound healing effect of a medicinal product based on recombinant human angiogenin in gel form in various experimental models. **Materials and methods:** white outbred male rats were used as experimental animals. The study compared healing effects of a regenerating product containing recombinant human angiogenin (0.0025%) in gel form and a reference product in full-thickness excision, incision, and burn wound models. The healing effect of the test product in treating chronic wounds was assessed in a model of alloxan-induced diabetes mellitus. The anti-inflammatory effect of the test product containing recombinant human angiogenin was compared with that of another reference product in a model of adjuvant-induced arthritis. **Results:** according to the study, the test product based on recombinant human angiogenin exerts higher wound healing effect in treating excision, incision, and burn wounds than the reference product (Solcoseryl gel). Being applied, the test product intensifies tissue repair in chronic wounds in the model of alloxan-induced diabetes. The dissociation of necrotic tissues and the progression towards epithelialisation at wound edges are more rapid. The anti-inflammatory effect of the test product based on recombinant human angiogenin is comparable with that of the reference product (Diclofenac gel). **Conclusions:** the test product based on recombinant human angiogenin in gel form was found to have pronounced wound healing and anti-inflammatory effects comparable with those of reference products.

Key words: excision wound; incision wound; burn wound; alloxan-induced diabetes mellitus; adjuvant-induced arthritis; anti-inflammatory agent; recombinant human angiogenin

For citation: Gulyayev A.E., Shulgau Z.T., Sergazy Sh.D., Yurina N.V., Goryachkin A.M., Bogachev S.S., Proskurina A.S. Wound healing and anti-inflammatory effects of recombinant human angiogenin. *BIO-*

Введение

Создание эффективных ранозаживляющих средств является актуальной задачей современной клинической медицины. Одним из перспективных направлений представляется разработка подходов для стимуляции ангиогенеза, который является критическим этапом процесса заживления ран. Вновь образующиеся кровеносные сосуды участвуют в инициации формирования грануляционной ткани и далее обеспечивают питанием и кислородом растущие ткани [1, 2].

Одним из сильнейших индукторов образования кровеносных сосудов является ангиогенин. Он также играет ведущую роль в различных физиологических и патологических процессах, включая репродуктивный цикл, рост эмбриональных и постнатальных тканей, регенерацию поврежденных тканей и системы кровотока, нейропротекцию и воспаление [3–6].

Ангиогенин представляет собой секреторную рибонуклеазу, которая стимулирует транскрипцию рРНК в ядрах эндотелиальных клеток. Это приводит к активному синтезу различных белков, необходимых для роста и выживаемости клеток и формирования новых сосудов. В итоге пролиферирующие эндотелиальные клетки образуют новую трубку как основу будущего кровеносного сосуда, которая укрепляется клетками гладкой мускулатуры, формируя новый кровеносный сосуд [7, 8].

Помимо основной функции активации ангиогенеза, ангиогенин участвует в регуляции воспалительного процесса и проявляет противовоспалительное действие [9–13].

В экспериментальной и клинической практике описана возможность использования ангиогенина для системного лечения сосудистых заболеваний (ишемия, инфаркт миокарда), бокового амиотрофического склероза, для заживления костей и восстановления суставов [4, 14–16]. Также описано применение ангиогенина, в том числе в виде гелей, для местного лечения ран [1, 17–22].

Описано получение активного химерного белка рекомбинантного ангиогенина человека в штамме-продуценте *Pichia pastoris* [23]. На ос-

нове субстанции рекомбинантного ангиогенина человека был разработан гель регенерирующий для местного применения.

Цель работы – оценить ранозаживляющее действие препарата на основе рекомбинантного ангиогенина человека в виде геля на различных экспериментальных моделях.

Материалы и методы

Материалы:

- исследуемый препарат – препарат на основе рекомбинантного ангиогенина человека [23] в виде геля – гель регенерирующий Ангиофарм (25 мкг на 1 г готовой лекарственной формы, массовый процент 0,0025%) (ООО «Лаборатория Ангиофарм», Россия);
- контрольный препарат – гелевая основа – гидроксипропил акрилат/натрия акрилоилдиметилтаурата сополимер (Sepinov EMT 10, Франция);
- препарат сравнения – гель Солкосерил (Legacy Pharmaceuticals Switzerland GmbH, Швейцария);
- препарат сравнения – гель Диклофенак (1% диклофенак натрия) (Nemofarm, Сербия).

Экспериментальные животные

Исследования на животных были одобрены локальным этическим комитетом Института цитологии и генетики СО РАН (протокол № 8 от 19.03.2019) и проведены в соответствии с положениями Директивы Европейского парламента и совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях¹, а также требованиями и рекомендациями Руководства по содержанию и использованию лабораторных животных².

В качестве экспериментальных животных использовали грызунов (крысы), применение которых рекомендовано для изучения регенеративной активности препаратов для местного применения [24].

В исследованиях использовали белых беспородных крыс-самцов массой 200–300 г (источник животных – виварий ФГБНУ «Федеральный

¹ Директива Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63/ЕС от 22 сентября 2010 г. о защите животных, используемых для научных целей.

² ГОСТ 33216-2014. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами.

исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук»). Животных содержали в клетках с обеспыленной подстилкой из деревянной стружки при комнатной температуре 22 ± 2 °С с 12-часовым циклом свет/темнота и минимальной относительной влажностью 40%, имели свободный доступ к воде и гранулированному корму (Ssniff, V1534-300, Германия).

Эксперименты по моделированию ран проводили в соответствии с требованиями руководства работы с лабораторными животными³ и принципами надлежащей лабораторной практики⁴. Раны моделировали в условиях эфирного наркоза. Поскольку процесс заживления модельных ран зависит от типа раны, сроки проведения экспериментов различались для каждой модели. Вывод животных из эксперимента проводили во временные точки в соответствии с задачами, определенными для каждой модели раны. Эвтаназию животных проводили посредством передозировки углекислого газа.

Методы

Режим нанесения препаратов на рану. Препараты наносили в одинаковом режиме. Количество наносимого препарата зависело от площади поверхности раны. На каждый квадратный сантиметр поверхности раны наносили не более 0,1 г геля 1 раз в сутки. Необходимое количество препарата равномерно наносили аппликатором на область поражения с краевым захватом здоровых тканей, создавая равномерную пленку толщиной не более 1 мм.

Модель плоскостной кожно-мышечной раны. Крысам наносили полнослойную кожную рану в шейнолопаточной области путем удаления кожного лоскута с подкожной клетчаткой площадью 3 см^2 . С целью получения у всех животных одинакового исходного размера ран к краям раны подшивали рамочки, так как вследствие подвижности кожи у крыс размеры ран могут значительно варьировать, рамочки удаляли через двое суток⁵. Препараты (исследуемый препарат на основе рекомбинантного ангиогенина человека; препарат сравнения Солкосерил; контрольный препарат – гелевая основа) наносили на раневую поверхность ежедневно в течение 21 сут. В каждой группе было по 10 животных. С целью взятия материала для морфологическо-

го исследования, половина животных (по 5 животных из каждой исследуемой группы) выводились из эксперимента на 5 сут. У оставшихся животных (по 5 животных в каждой исследуемой группе) оценивали сроки заживления ран. Сроки заживления ран фиксировали по моменту отпадения струпа и наличия под ним покрытого эпителием дефекта.

Модель линейной раны. Крысам в области спины наносили резаную рану длиной 3 см до собственной фасции. Лечение начинали немедленно после подсыхания раны. Препараты (исследуемый препарат на основе рекомбинантного ангиогенина человека; препарат сравнения Солкосерил; контрольный препарат – гелевая основа) наносили на раневую поверхность ежедневно в течение 7 сут. В каждой группе было по 5 животных.

Модель ожоговой раны. Термический ожог у крыс вызывали на выстриженном участке спины размером 3×3 см. Для этого использовали прибор собственного лабораторного производства с установленной контролируемой температурной шкалой и электропаяльником, на конце которого крепится металлическая пластина размером 3×3 см. Данный метод позволяет получить стандартные ожоги по площади и глубине всей толщи кожи. Время экспозиции нагретой до 200 ± 10 °С контактной пластинки составляло 10 с. При соблюдении этих условий ожог кожи у животных соответствовал IIIA степени клинической классификации ожогов⁶. Препараты (исследуемый препарат на основе рекомбинантного ангиогенина человека; препарат сравнения Солкосерил; контрольный препарат – гелевая основа) наносили на раневую поверхность ежедневно в течение 28 сут. В каждой группе было по 6 животных. Регистрировали состояние раны, проводили измерение площади раны, прикладывая к ране прозрачный трафарет. Фиксировали также количество животных с зарубцевавшими ранами.

Модель длительно незаживающей раны на фоне аллоксанового сахарного диабета. Экспериментальный диабет индуцировали у 20 крыс путем внутривенного однократного введения в хвостовую боковую вену 45 мг/кг аллоксана. Эффективность модели оценивали по уровню глюкозы в сыворотке крови с помощью стандартной клинической методики [25]. Крыс с раз-

³ Каркищенко НН, Грачева СВ, ред. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях. М.: Профиль; 2010.

⁴ ГОСТ Р 53434-2009. Принципы надлежащей лабораторной практики.

⁵ Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К; 2013.

⁶ Кузнецов НА, ред. Основы клинической хирургии: практическое руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2009.

вившимся сахарным диабетом распределяли по группам (8 животных в контрольной группе; 7 животных в группе, получавшей препарат на основе рекомбинантного ангиогенина человека) и индуцировали образование раны путем введения в подушечку задней конечности 50 мкл 20% гидроксида калия. Через неделю после введения гидроксида калия формировалась длительно незаживающая рана. Препараты (исследуемый препарат на основе рекомбинантного ангиогенина человека; контрольный препарат – гелевая основа) наносили на раневую поверхность ежедневно в течение 28 сут.

Модель адьювантного артрита у крыс. Хроническое иммунное воспаление моделировали у крыс однократным субплантарным введением в правую заднюю лапу 0,1 мл полного адьюванта Фрейнда (взвесь ослабленных жизнеспособных бацилл Кальметта–Герена 2,5 мг/мл в вазелиновом масле). Лечение начинали на 12 сут после введения адьюванта Фрейнда. Препараты (исследуемый препарат на основе рекомбинантного ангиогенина человека; препарат сравнения Диклофенак; контрольный препарат – гелевая основа) наносили на место воспаления ежедневно в течение 21 сут. В каждой группе было по 5 животных. С помощью штангенциркуля каждые 2–4 сут измеряли диаметр здоровой лапы и лапы с индуцированным воспалением. Торможение отека оценивали по формуле $T = 100\% \times (\Delta D_k - \Delta D_0) / \Delta D_k$, где T – торможение отека, ΔD_k – разница между отеком и здоровой лапой в контроле, ΔD_0 – разница между отеком и здоровой лапой в опытных группах. Объем конечности определяли методом онкометрии с помощью портативного плетизмометра [26].

Морфологическое исследование. Материалы для гистологического исследования забирали на видимой границе между интактной и поврежденной тканью, захватывая оба варианта ткани, и фиксировали в 10% нейтральном мелом формалине. Дальнейшую обработку и заливку материала в парафин осуществляли по общепринятой гистологической методике [27, 28]. Срезы толщиной 5–7 мкм окрашивали гематоксилин-эозином. Все микропрепараты исследовали на микроскопах Axioskop-2 (Carl Zeiss, Германия).

Статистическая обработка данных. Статистическую обработку полученных результатов проводили при помощи программы Statistica 8.0 методом непараметрической статистики с оценкой значимости различий по U -критерию Манна–Уитни. На рисунках приведены средние значения и стандартные отклонения.

Результаты и обсуждение

Оценка ранозаживляющего действия рекомбинантного ангиогенина человека на модели плоскостной кожно-мышечной раны

На смоделированной условно асептической полнослойной ране кожи крыс размером 3 см² (рис. 1А) проведено сравнительное морфологическое изучение динамики раневого процесса на 5 сут эксперимента, поскольку в этот момент наиболее выражена воспалительная фаза течения раневого процесса. В контрольной группе на 5 сут эксперимента морфологическая картина раны характеризовалась травматическим воспалением с серозно-фибринозной и нейтрофильной экссудацией, резким расширением сосудов (рис. 1В). Кровеносные сосуды дермы расширены и полнокровны, присутствует плотный воспалительный инфильтрат.

При обработке раны препаратом сравнения Солкосерил на 5 сут эксперимента фибриновые массы в ране были набухшие с равномерно распределенными включенными гнойными тельцами (рис. 1В). Морфологические изменения отличались от контроля меньшей толщиной, плотностью и интенсивностью окраски лейкоцитарного вала. Воспалительная инфильтрация в дерме была также выражена меньше в сравнении с контролем.

При обработке раны препаратом на основе рекомбинантного ангиогенина человека фибринозно-лейкоцитарный слой раны был утолщен за счет равномерного пропитывания гелем (рис. 1В). При этом нейтрофильные лейкоциты были разрушены. Диффузная воспалительная инфильтрация в дерме была выражена слабее в сравнении с контролем, отмечались обширные участки кровоизлияний. Воспалительный инфильтрат проникал в глубокие слои дермы, где появлялись крупные клетки неправильной формы с базофильными крупными, эксцентрично расположенными ядрами. Вокруг сосудов были отмечены многочисленные молодые формы фибробластов.

Время заживления ран фиксировали по моменту отпадения струпа и наличия под ним покрытого эпителием дефекта. Установлено, что и препарат сравнения Солкосерил, и исследуемый препарат на основе рекомбинантного ангиогенина человека ускоряют заживление плоскостных ран кожи у крыс (рис. 2). При этом средняя скорость заживления раны в случае применения исследуемого препарата (12 сут) была достоверно выше по сравнению как с контролем (20 сут), так и с препаратом сравнения Солкосерил (15 сут).

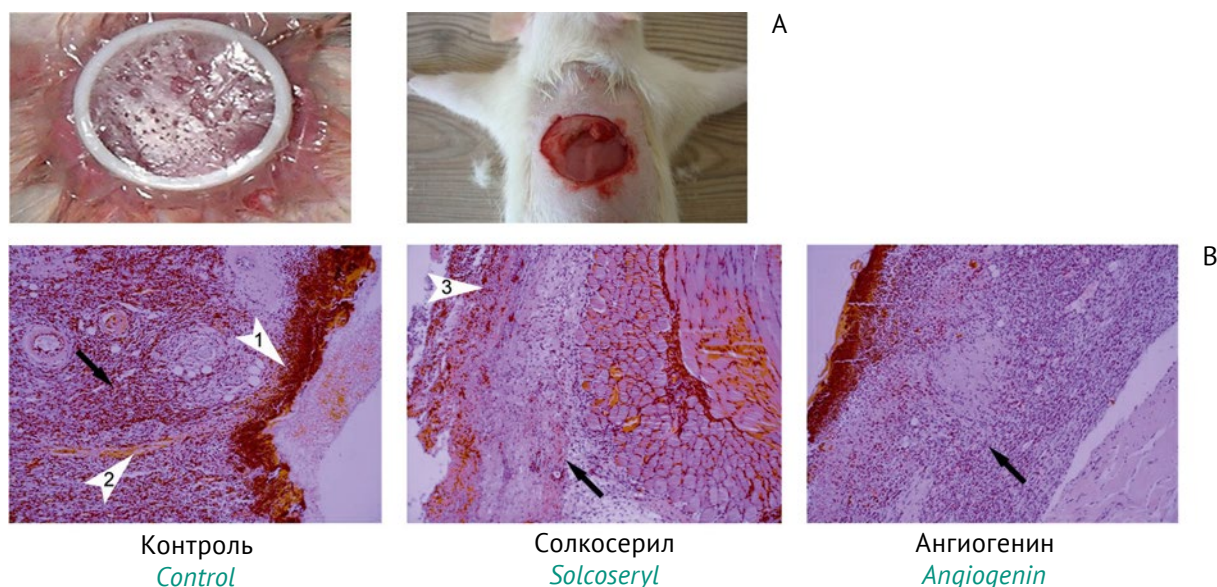


Рис. 1. Оценка ранозаживляющего действия рекомбинантного ангиогенина человека на модели плоскостной кожно-мышечной раны у крыс. А – моделирование плоскостной кожно-мышечной раны с использованием фиксирующих размер рамок (фотография слева) и плоскостная кожно-мышечная рана (фотография справа). В – состояние плоскостной кожно-мышечной раны на 5 сут в контрольной группе (Контроль) и после обработки препаратом сравнения (Солкосерил) и препаратом на основе рекомбинантного ангиогенина человека (Ангиогенин). Белыми стрелками указаны: 1 – фибринозно-геморрагическая корка на поверхности раны, 2 – полнокровный сосуд, 3 – распадающиеся нейтрофилы. Черными стрелками указана воспалительная инфильтрация. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение $\times 100$.

Fig. 1. Evaluation of the wound healing effect of recombinant human angiogenin using a full-thickness excision wound model in rats. A – splinting (left) and the resulting wound (right); B – wound condition in the control group (Solcoseryl), and the test group (recombinant human angiogenin) on treatment day 5. White arrows: 1 – fibrinohaemorrhagic crust on the wound surface, 2 – blood-filled vessel, 3 – degrading neutrophils. Black arrows: inflammatory infiltration. Haematoxylin-eosin stains at $100\times$ magnification.

Оценка ранозаживляющего действия рекомбинантного ангиогенина человека на модели линейной раны

На смоделированной линейной ране (рис. 3А) для забора гистологического препарата были выбраны 5 сут, поскольку в этот момент наиболее выражена воспалительная фаза течения раневого процесса. Морфологическая картина линейной раны на 5 сут в контрольной группе исследования характеризовалась воспалительной фазой раневого процесса. Дефект ткани был заполнен некротическими массами и покрыт фибринозно-лейкоцитарным слоем различной толщины с многочисленными нейтрофилами и гнойными тельцами (рис. 3В).

В группе с применением препарата сравнения Солкосерил сохранялась массивная фибринозно-некротическая пленка на всем протяжении раневой поверхности. Воспалительная инфильтрация была выражена в меньшей степени по сравнению с контролем. Молодая ткань характеризовалась началом развития грануляционной ткани с появлением фибробластов и мелких овальной формы сосудов (рис. 3В).

При обработке раны препаратом на основе рекомбинантного ангиогенина человека поверхностный фибринозно-лейкоцитарный слой был равномерно пропитан гелем (рис. 3В). Грануляционная ткань была представлена тонким слоем и характеризовалась умеренной степенью зрелости. Наблюдалась небольшая кровозлияния. По краям раны отмечено усиленное новообразование мелких кровеносных сосудов.

На рисунке 4 представлена динамика изменения морфологических параметров раны и клеточного состава в мазке раневого экссудата на 1, 3 и 7 сут эксперимента в контрольной группе и группах с применением препарата сравнения Солкосерил и исследуемого препарата в форме геля.

В группе с применением препарата на основе рекомбинантного ангиогенина человека наблюдается уменьшение площади интерстиция (рис. 4А), свидетельствующее об активно идущих регенеративных процессах. Количество полиморфноядерных лейкоцитов в группе, получавшей исследуемый препарат, существенно снижалось к 7 сут (рис. 4В), что свидетельствует об уменьшении воспалительного процесса.

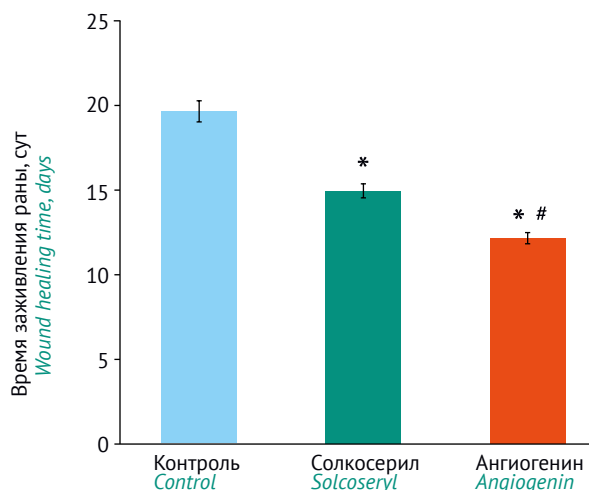
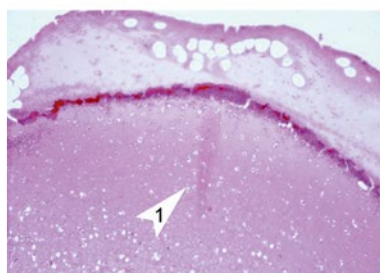
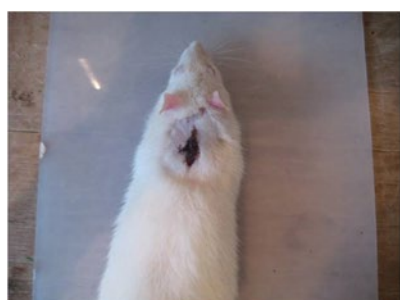
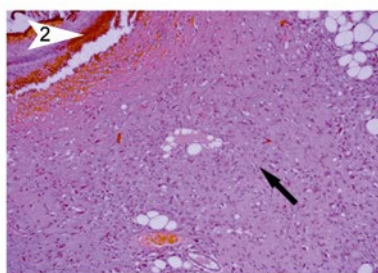


Рис. 2. Влияние рекомбинантного ангиогенина человека на сроки полной эпителизации плоскостных ран у крыс. По оси абсцисс указаны группы животных. * – достоверные отличия от контрольной группы, # – достоверные отличия от группы, получавшей Солкосерил ($p < 0,05$, U -критерий Манна–Уитни).

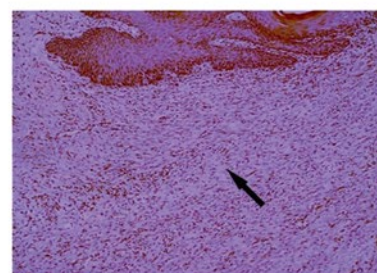
Fig. 2. Effect of recombinant human angiogenin on the time to complete epithelialisation of excision wounds in rats. The X-axis represents animal groups. *—significant difference from the control group, #—significant difference from the Solcoseryl group ($p < 0.05$; Mann–Whitney U -test).



Контроль
Control



Солкосерил
Solcoseryl



Ангиогенин
Angiogenin

Рис. 3. Оценка ранозаживляющего действия рекомбинантного ангиогенина человека на модели линейной раны у крыс. А – модель линейной раны. В – морфологическая картина линейной раны на 5 сут в контрольной группе (Контроль) и после обработки препаратом сравнения (Солкосерил) и препаратом на основе рекомбинантного ангиогенина человека (Ангиогенин). Белыми стрелками указаны: 1 – серозная корка на поверхности раны, 2 – фибринозно-некротическая пленка на поверхности раны. Черными стрелками указана грануляционная ткань. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение $\times 100$.

Fig. 3. Evaluation of the wound healing effect of recombinant human angiogenin using an incision wound model in rats. A—incision wound model; B—wound morphology in the control group, the reference group (Solcoseryl), and the test group (recombinant human angiogenin) on treatment day 5. White arrows: 1—serous crust on the wound surface, 2—fibrinoid necrotic layer on the wound surface. Black arrows: granulation tissue. Haematoxylin–eosin stains at $100\times$ magnification.

Было изучено количество фибробластов как показателя интенсивности пролиферативных процессов. В группах, получавших препарат сравнения Солкосерил и препарат на основе рекомбинантного ангиогенина человека, отмечена сходная динамика роста количества фибробластов (рис. 4С). При этом в контрольной группе нарастание количества фибробластов с 1 по 7 сут отсутствовало.

Количество внесосудистых эритроцитов в группах с применением препарата Солкосерил и исследуемого препарата снижалось уже на 3 сут и продолжало уменьшаться на 7 сут (рис. 4D), что свидетельствует о затухании воспалительного процесса.

О локальной реактивности тканей в зоне раны свидетельствует количество макрофагов и тучных клеток. В группах, получавших препарат сравнения Солкосерил и исследуемый препарат, оно возрастало и достигало максимального значения к 7 сут (рис. 4E, 4F). В контрольной группе увеличения числа макрофагов и тучных клеток не наблюдалось.

Таким образом, проведенные сравнительные исследования свидетельствуют о том, что наиболее благоприятная тенденция к заживлению ран отмечена в группе с применением исследуемого препарата на основе рекомбинантного ангиогенина человека.

Оценка ранозаживляющего действия рекомбинантного ангиогенина человека на модели ожоговой раны

При проведении сравнительного исследования на модели ожоговой раны у крыс (рис. 5) было показано, что различия в скорости заживления

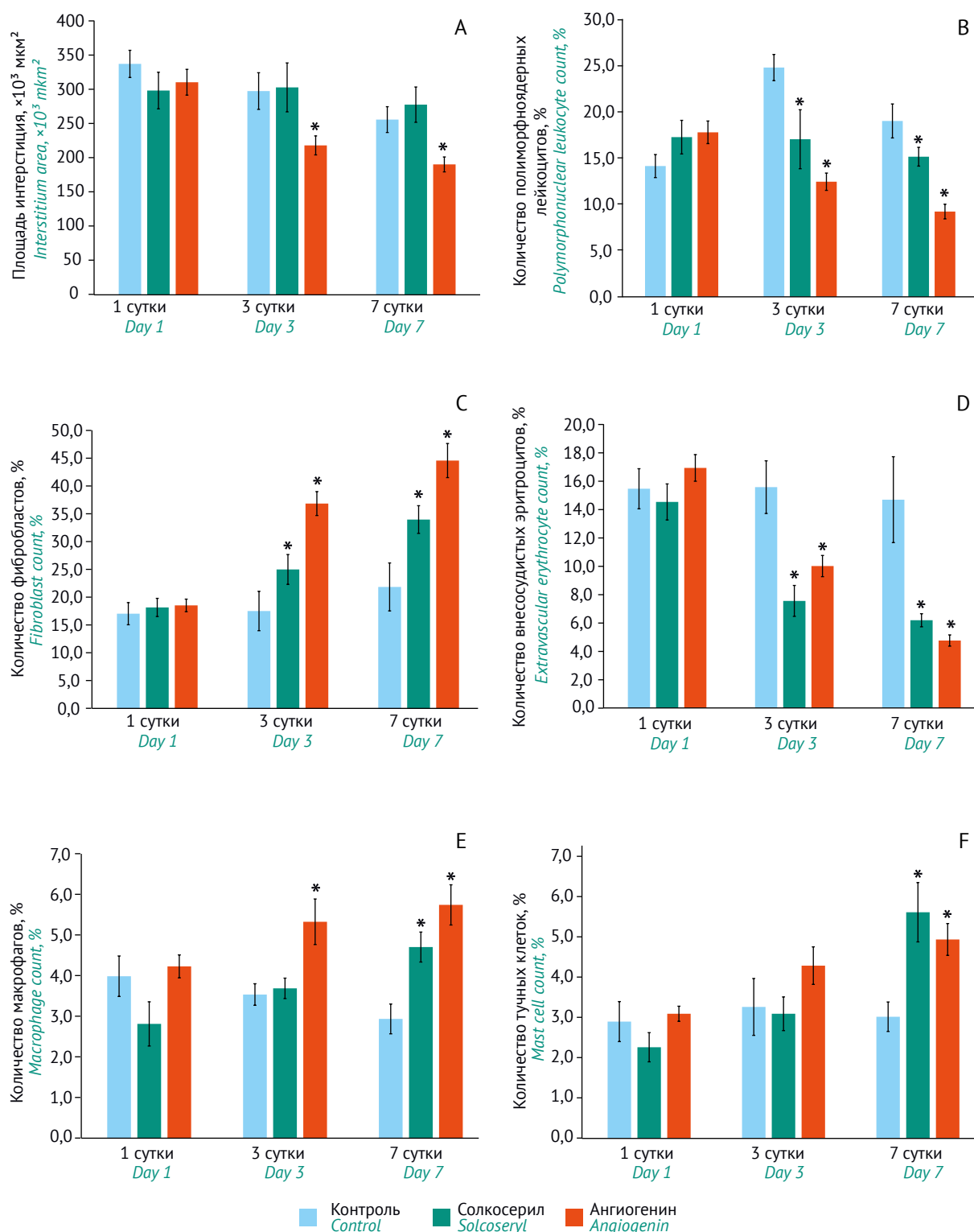


Рис. 4. Динамика изменения клеточного состава в мазке раневого экссудата линейной раны на 1, 3 и 7 сут эксперимента в контрольной группе (Контроль) и после обработки препаратом сравнения (Солкосерил) и препаратом на основе рекомбинантного ангиогенина человека (Ангиогенин). А – площадь интерстиция, В – количество полиморфноядерных лейкоцитов, С – количество фибробластов, Д – количество внесосудистых эритроцитов, Е – количество макрофагов, F – количество тучных клеток. В легенде указаны группы животных. * – достоверные отличия от контрольной группы ($p < 0,05$, U-критерий Манна–Уитни).

Fig. 4. Time course of cellular composition changes in smears of incision wound exudate in the control group, the reference group (Solcoseryl), and the test group (recombinant human angiogenin) on treatment days 1, 3, and 7. A – interstitium areas, B – polymorphonuclear leukocyte counts, C – fibroblast counts, D – extravascular erythrocyte counts, E – macrophage counts, F – mast cell counts. The legend indicates animal groups. * – significant difference from the control group ($p < 0,05$; Mann–Whitney U-test).

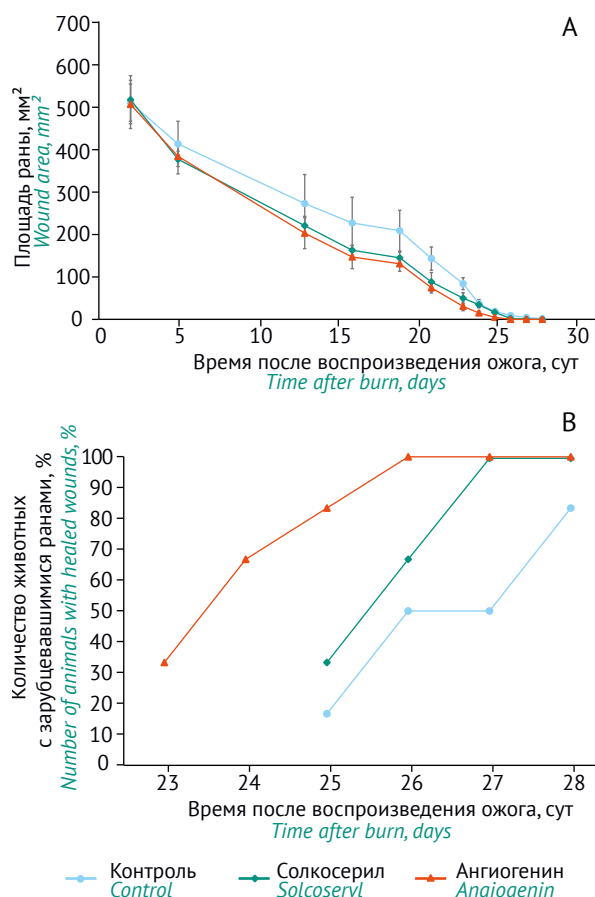


Рис. 5. Оценка ранозаживляющего действия рекомбинантного ангиогенина человека на модели ожоговой раны у крыс. Представлены показатели заживления ран в контрольной группе (Контроль) и после обработки препаратом сравнения (Солкосерил) и препаратом на основе рекомбинантного ангиогенина человека (Ангиогенин). А – динамика изменения площади раны во времени. В – количество животных с зарубцевавшимися ранами. В легенде указаны группы животных.

Fig. 5. Evaluation of the wound healing effect of recombinant human angiogenin using a burn wound model in rats. The figure shows indicators of wound healing in the control group, the reference group (Solcoseryl), and the test group (recombinant human angiogenin). A—changes in the wound area with time; B—number of animals with healed wounds. The legend indicates groups of animals.

раны между группой, получавшей исследуемый препарат, и контрольной группой начинают достоверно определяться начиная с 23 сут. Препарат сравнения Солкосерил на модели ожоговой раны проявлял явный ранозаживляющий эффект, процесс эпителизации на 23 сут использования препарата носил выраженный характер. В те же сроки при обработке раны препаратом на основе рекомбинантного ангиогенина человека большая часть раневой поверхности язвы эпителизовалась. Полная эпителизация при применении исследуемого препарата достигалась на 26 сут, а при применении препарата срав-

нения Солкосерил – на 27 сут. В контрольной группе полная эпителизация не была достигнута вплоть до окончания эксперимента (28 сут).

При исследовании мазков раневой поверхности в динамике отмечалась следующая картина. На 1–2 сут во всех исследуемых группах наблюдалось наличие эритроцитов и лейкоцитов в разреженном пространстве. На 7–9 сут в группах, получавших препарат Солкосерил и препарат на основе рекомбинантного ангиогенина человека, отмечались единичные макроциты, напоминающие клетки рогового слоя эпителия. В контрольной группе преобладали лейкоциты. На 10–13 сут в группах с применением препарата Солкосерил и исследуемого препарата наблюдалось присутствие крупных безъядерных эпителиальных клеток. В контрольной группе выявлены единичные безъядерные эпителиальные клетки в консорциуме с макроцитами.

Таким образом, было показано, что препарат на основе рекомбинантного ангиогенина человека обладает способностью стимулировать репарацию тканей в области ожоговой раны дермы (ожог III степени) относительно контроля. При этом ранозаживляющий эффект исследуемого препарата сходен с эффектом препарата сравнения Солкосерил, являющимся стандартом при исследовании процессов регенерации.

Оценка ранозаживляющего действия рекомбинантного ангиогенина человека на модели длительно незаживающей раны на фоне аллоксанового сахарного диабета

Известно, что при формировании аллоксанового сахарного диабета существенно снижается способность животных к нормальному протеканию репаративных процессов, что позволяет моделировать у них длительно незаживающие раны [29]. При моделировании аллоксанового сахарного диабета у крыс (табл. 1) была зафиксирована гибель 3 из 20 экспериментальных животных. В экспериментальные группы были отобраны крысы с концентрацией глюкозы в крови, превышающей 10,0 мМ (табл. 1). У этих крыс вызвали развитие длительно незаживающей раны в подушечке задней конечности (рис. 6А), характеризующейся формированием фибринового струпа и наличием большого количества некротизированных клеток.

Морфологическая картина раны до лечения (на момент формирования модели) характеризовалась глубоким поражением дермы, обилием гнойных телец и небольшим фибриновым слоем с резко выраженными признаками некроза. Отмечено присутствие нейтрофилов. Раневой канал заполнен фибриноидными массами,

Таблица 1. Характеристика экспериментальных групп животных по уровню концентрации глюкозы в крови через 4 сут после однократного введения аллоксана

Table 1. Classification of experimental animal groups according to blood glucose concentrations 4 days after a single injection of alloxan

Контрольная группа <i>Control group</i>				Группа, получавшая препарат на основе рекомбинантного ангиогенина человека <i>Recombinant human angiogenin group</i>			
№ животного <i>Animal No.</i>	Масса животного, г <i>Animal weight, g</i>	Концентрация глюкозы, мМ <i>Glucose concentration, mM</i>		№ животного <i>Animal No.</i>	Масса животного, г <i>Animal weight, g</i>	Концентрация глюкозы, мМ <i>Glucose concentration, mM</i>	
		до введения аллоксана <i>before alloxan treatment</i>	после введения аллоксана <i>after alloxan treatment</i>			до введения аллоксана <i>before alloxan treatment</i>	после введения аллоксана <i>after alloxan treatment</i>
1	215	4,5	16,5	1	201	3,6	17,6
2	210	3,8	16,8	2	219	5,3	Гибель <i>Death</i>
3	232	5,1	Гибель <i>Death</i>	3	202	3,6	12,6
4	207	3,7	7,7 ^а	4	238	4,8	19,8
5	237	5	20	5	218	4,1	17,1
6	202	4,3	14,3	6	205	3,1	5,9 ^а
7	212	3,2	17,7	7	220	4,6	19,6
8	202	5,2	19,2	8	213	3,5	Гибель <i>Death</i>
9	235	5,3	20,3	9	236	3,6	10,6
10	231	5,5	18,5	10	239	4,3	15,3

^а Исключенные из исследования животные (концентрация глюкозы в крови ≤ 10 мМ).

^а Animals withdrawn from the study (blood glucose concentrations ≤ 10 mM).

покрытыми лейкоцитарным слоем. Наблюдались участки полнокровных сосудов и признаки воспалительной инфильтрации, зоны кровоизлияний (рис. 6А).

На 7 сут в контрольной группе изменения не выражены. На поверхности раны присутствовали значительные некротические массы с фибрином. В группе животных, получавших лечение исследуемым препаратом, отмечались признаки расплавления некротических масс, острая воспалительная инфильтрация в глубоких слоях дермы, не разрушенных во время формирования раны.

На 14 сут лечения в контрольной группе отмечены признаки лизиса некротических масс, увеличено количество нейтрофилов, определялись отложения фибрина на поверхности раны. В глубоких слоях дермы выявлен воспалительный инфильтрат (рис. 6В). В группе с применением исследуемого препарата на фоне обильных некротических масс с фибрином отмечены участки активного лизиса с миграцией нейтрофилов и макрофагов в эти зоны. В глубоких слоях дермы воспалительная инфильтрация (рис. 6В).

По краям раны наблюдался тонкий регенерирующий эпителиальный пласт, подползающий под некротические массы.

На 21 сут в контрольной группе отмечено значительное сокращение размеров фибринозного слоя и уменьшение некротических масс. Расположенная под тонким слоем фибринозно-лейкоцитарного слоя грануляционная ткань характеризовалась очагами отека, фибриноидного набухания, полнокровием кровеносных сосудов. Наблюдающийся эпителиальный регенерирующий пласт имел неравномерную толщину и слабые связи с подлежащей тканью. Выявлено значительное количество моноцитов и нейтрофилов, а также присутствие плазматических клеток. В глубоких слоях дермы имелись признаки воспалительных процессов (рис. 6В). Отмечено значительное сокращение некротических масс и фибринозного слоя. Поверхность к моменту окончания лечения была эпителизирована. В подлежащей соединительной ткани отмечено формирование волосяных луковиц. Тем не менее репарации структуры дермы и полного заживления раны не произошло.

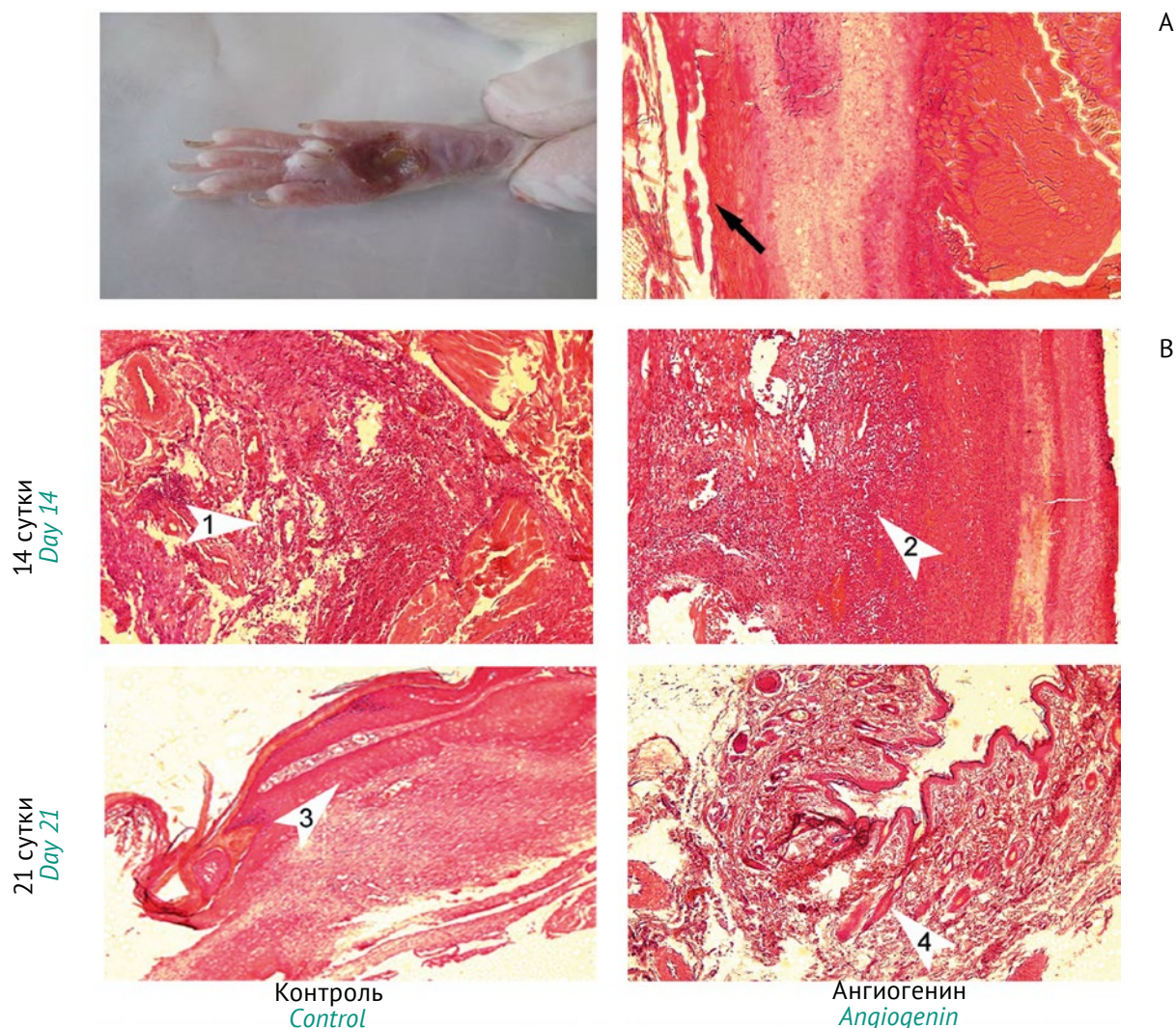


Рис. 6. Оценка ранозаживляющего действия рекомбинантного ангиогенина человека на модели длительно незаживающей раны на фоне аллоксанового сахарного диабета у крыс. А – внешний вид раны (фотография слева) и морфологическая картина раны на момент формирования модели, без лечения (фотография справа). Черной стрелкой отмечены фибринозно-геморрагические массы на поверхности раны. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение $\times 200$. В – морфологическая картина раны в контрольной группе (Контроль) и после применения препарата рекомбинантного ангиогенина человека (Ангиогенин) на 14 и 21 сут. Белыми стрелками отмечены: 1 – воспалительный инфильтрат в глубоких слоях дермы, 2 – некротические массы с лейкоцитарной инфильтрацией, 3 – эпидермизирующаяся рана, 4 – восстановленные волосные фолликулы в эпидермизированной ране. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение $\times 200$, для группы с применением препарата Ангиогенин на 21 сут – увеличение $\times 50$.

Fig. 6. Evaluation of the wound healing effect of recombinant human angiogenin using a chronic wound model in rats with alloxan-induced diabetes mellitus. A—appearance of the wound (left); and wound morphology at the moment of model formation, without treatment (right). The black arrow indicates fibrinohaemorrhagic masses at the wound surface. Haematoxylin–eosin stains at $200\times$ magnification. B—wound morphology in the control group and the test group (recombinant human angiogenin) on treatment days 14 and 21. White arrows: 1— inflammatory infiltrate in the deep dermis layers, 2—necrotic masses with leukocytic infiltration, 3—wound re-epithemisation, 4—restored hair follicles in the re-epithemised wound. Haematoxylin–eosin stains at $50\times$ magnification (angiogenin on day 21) and $200\times$ magnification (the rest).

На фоне применения препарата на основе рекомбинантного ангиогенина человека на 21 сут наблюдения рана полностью эпителизовалась с восстановлением полноценной структуры кожи (рис. 6В).

Среднее время заживления хронической раны после лечения исследуемым препаратом сокращалось на 8 сут по сравнению с контрольной группой (рис. 7).

Оценка противовоспалительного действия рекомбинантного ангиогенина человека на модели адьювантного артрита

Крысам с адьювантным артритом на воспаленную конечность наносили препарат на основе рекомбинантного ангиогенина человека или препарат сравнения Диклофенак. Сравнивали противовоспалительное действие препаратов с действием гелевой основы (контрольная

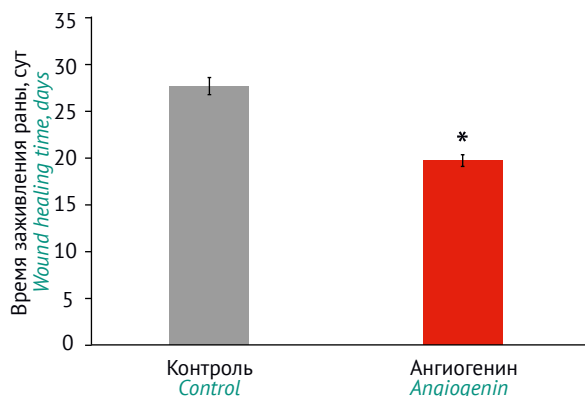


Рис. 7. Сроки заживления хронических ран при использовании рекомбинантного ангиогенина человека на модели длительно незаживающей раны на фоне аллоксанового сахарного диабета у крыс. По оси абсцисс указаны группы животных. * – достоверные отличия от контрольной группы ($p < 0,05$, U -критерий Манна–Уитни).

Fig. 7. Chronic wound healing time with recombinant human angiogenin in the chronic wound model in rats with alloxan-induced diabetes mellitus. The X-axis represents animal groups. * – significant difference from the control group ($p < 0.05$; Mann–Whitney U -test).

группа). На рисунке 8 приведены результаты сравнения противовоспалительного действия препаратов по изменению размеров пораженной конечности крыс в контрольной и экспериментальных группах.

Обнаружено, что при терапии смоделированного адьювантного артрита противовоспалительное действие исследуемого препарата было сопоставимо с действием препарата сравнения Диклофенак и достоверно отличалось от эффекта препарата контроля.

Заключение

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о наличии у препарата на основе рекомбинантного ангиогенина человека в виде геля выраженных ранозаживляющих и противовоспалительных свойств.

В случае применения исследуемого препарата наблюдалась наиболее благоприятная тенденция к заживлению ран по сравнению с контролем и препаратами сравнения Солкосерил и Диклофенак, выражающаяся следующими признаками:

- высокий локальный ответ (реактивность) тканей в зоне раны, сопровождающийся снижением числа нейтрофилов и миграцией в зону воспаления макрофагов, тучных клеток и фибробластов, индуцирующих и поддерживающих противовоспалительные процессы;
- активная стимуляция репарации поврежденных тканей;

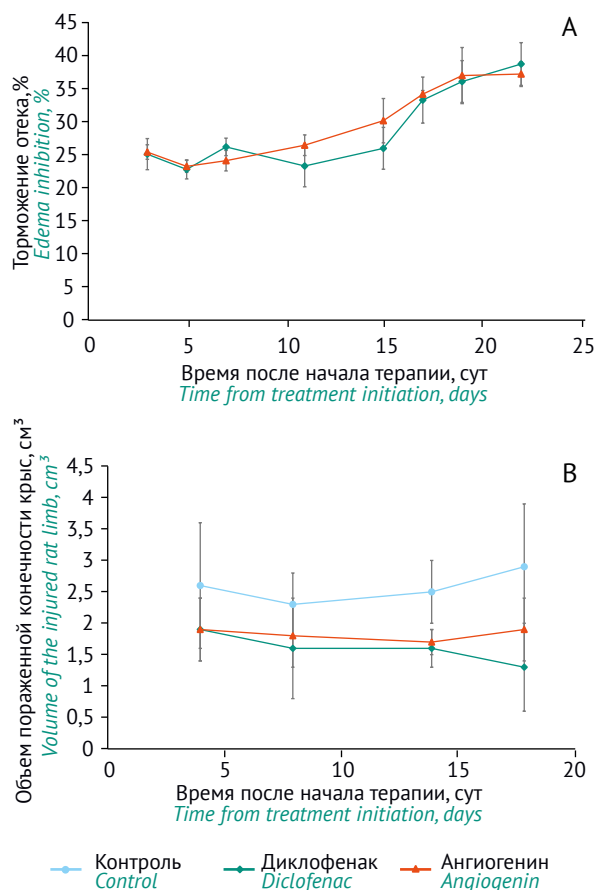


Рис. 8. Оценка противовоспалительного эффекта рекомбинантного ангиогенина человека на модели адьювантного артрита у крыс. Представлены показатели противовоспалительного действия в контрольной группе (Контроль) и после обработки препаратом сравнения (Диклофенак) и препаратом рекомбинантного ангиогенина человека (Ангиогенин). А – динамика торможения отека. В – динамика изменения объема пораженной конечности крыс. В легенде указаны группы животных.

Fig. 8. Evaluation of the anti-inflammatory effect of recombinant human angiogenin using a model of adjuvant-induced arthritis in rats. The figure shows indicators of the anti-inflammatory effect in the control group, the reference group (Diclofenac), and the test group (recombinant human angiogenin). A – edema inhibition with time, %; B – changes in the injured limb volume with time, cm³. The legend indicates groups of animals.

- быстрая эпителизация с восстановлением полноценной структуры кожи;
- достоверное сокращение сроков заживления раны, определяемое по моменту отпадения струпа и наличия под ним покрытого эпителием дефекта;
- выраженное противовоспалительное действие.

Полученные результаты дают основание для проведения дальнейших экспериментальных исследований свойств препарата на основе рекомбинантного ангиогенина человека в виде геля, а также проведения расширенных доклинических и клинических исследований.

Литература/References

1. Гуляев АЕ, Лохвицкий СВ, Тусупханов БА. Ранозаживляющие эффекты рекомбинантного ангиогенина человека. *Медицина и экология*. 2010;3:9–12. [Gulyayev AY, Lohvitski SV, Tusupkhanov BA. Wound healing effects of man's recombined angiogenin. *Medicina i ekologiya = Medicine and Ecology*. 2010;3:9–12 (In Russ.)]
2. Комолова ГС, Ионова ИИ. Биологические функции и лечебные свойства ангиогенина. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2010;73(3):40–4. [Komolova GS, Ionova II. Biological functions and therapeutic properties of angiogenins. *Ekspierimentalnaya i klinicheskaya farmakologiya = Experimental and Clinical Pharmacology*. 2010;73:40–4 (In Russ.)]
3. Koutroubakis IE, Xidakis C, Karmiris K, Sfridakis A, Kandidaki E, Kouroumalis EA. Serum angiogenin in inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci*. 2004;49:1758–62. <https://doi.org/10.1007/s10620-004-9565-4>
4. King TV, Vallee BL. Neovascularisation of the meniscus with angiogenin. An experimental study in rabbits. *J Bone Joint Surg Br*. 1991;73(4):587–90. <https://doi.org/10.1302/0301-620x.73b4.1712788>
5. Goncalves KA, Silberstein L, Li S, Severe N, Hu MG, Yang H, et al. Angiogenin promotes hematopoietic regeneration by dichotomously regulating quiescence of stem and progenitor cells. *Cell*. 2016;166(4):894–906. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.06.042>
6. Yu D, Cai Y, Zhou W, Sheng J, Xu Z. The potential of angiogenin as a serum biomarker for diseases: systematic review and meta-analysis. *Dis Markers*. 2018:1984718. <https://doi.org/10.1155/2018/1984718>
7. Sheng J, Xu Z. Three decades of research on angiogenin: a review and perspective. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2016;48(5):399–410. <https://doi.org/10.1093/abbs/gmv131>
8. Newman AC, Nakatsu MN, Chou W, Gershon PD, Hughes CCW. The requirement for fibroblasts in angiogenesis: fibroblast-derived matrix proteins are essential for endothelial cell lumen formation. *Mol Biol Cell*. 2011;22(20):3791–800. <https://doi.org/10.1091/mbc.E11-05-0393>
9. Etoh T, Shibuta K, Barnard GF, Kitano S, Mori M. Angiogenin expression in human colorectal cancer: the role of focal macrophage infiltration. *Clin Cancer Res*. 2000;6(9):3545–51.
10. Hartmann A, Kunz M, Köstlin S, Gillitzer R, Toksoy A, Bröcker EB, Klein CE. Hypoxia-induced up-regulation of angiogenin in human malignant melanoma. *Cancer Res*. 1999;59(7):1578–83.
11. Lee SH, Kim KW, Joo K, Kim JC. Angiogenin ameliorates corneal opacity and neovascularization via regulating immune response in corneal fibroblasts. *BMC Ophthalmol*. 2016;16:57. <https://doi.org/10.1186/s12886-016-0235-z>
12. Matousek J, Soucek J, Riha J, Zankel TR, Benner SA. Immunosuppressive activity of angiogenin in comparison with bovine seminal ribonuclease and pancreatic ribonuclease. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. 1995;112(2):235–41. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(95\)00075-5](https://doi.org/10.1016/0305-0491(95)00075-5)
13. Oikonomou KA, Kapsoritakis AN, Kapsoritaki AI, Manolakis AC, Tiaka EK, Tsiopoulos FD, et al. Angiogenin, angiopoietin-1, angiopoietin-2, and endostatin serum levels in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2011;17(4):963–70. <https://doi.org/10.1002/ibd.21410>
14. Moreau C, Devos D, Gosset P, Brunaud-Danel V, Tonnel A-B, Lassalle P, et al. Mécanismes de dérégulation de la réponse à l'hypoxie dans la sclérose latérale amyotrophique [Mechanisms of deregulated response to hypoxia in sporadic amyotrophic lateral sclerosis: a clinical study]. *Rev Neurol (Paris)*. 2010;166(3):279–83. <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2009.05.018>
15. Liu XH, Bai CG, Xu ZY, Huang SD, Yuan Y, Gong DJ, Zhang JR. Therapeutic potential of angiogenin modified mesenchymal stem cells: angiogenin improves mesenchymal stem cells survival under hypoxia and enhances vasculogenesis in myocardial infarction. *Microvasc Res*. 2008;76(1):23–30. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2008.02.005>
16. Weiss S, Zimmermann G, Pufe T, Varoga D, Henle P. The systemic angiogenic response during bone healing. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2009;129(7):989–97. <https://doi.org/10.1007/s00402-008-0777-5>
17. Ибраимов АС, Бейсембаев АА, Давыдов ВТ, Омурбеков ТО. Влияние ангиогенина на репаративные процессы при экспериментальной асептической ране печени. В кн.: *Морфология и хирургия: Сборник научных трудов НГМА*. Новосибирск; 2022. С. 61–2. [Ibraimov AC, Beisembaev AA, Davydov VT, Omurbekov TO. The effect of angiogenin on reparative processes in an experimental aseptic wound of the liver. In: *Morphology and Surgery: Collection of scientific works of NSMA*. Novosibirsk; 2002. P. 61–2 (In Russ.)]
18. Кулбачаев БК, Ибраимов АС. Регенераторные процессы в экспериментальной ране печени при интраоперационном применении геля рекомбинантного ангиогенина человека. *Хирургия, морфология, лимфология*. 2003;1:37–41. [Kulbachev BC, Ibraimov AC. Regenerative processes in an experimental liver wound with intraoperative use of recombinant human angiogenin gel. *Khirurgiya, morfologiya, limfologiya = Surgery, Morphology, Lymphology*. 2003;1:37–41 (In Russ.)]
19. White R, McIntosh C. A review of the literature on topical therapies for diabetic foot ulcers. Part 2: advanced treatments. *J Wound Care*. 2009;18(8):335–41. <https://doi.org/10.12968/jowc.2009.18.8.43633>
20. Langer A, Rogowski W. Systematic review of economic evaluations of human cell-derived wound care products for the treatment of venous leg and diabetic foot ulcers. *BMC Health Serv Res*. 2009;9:115. <https://doi.org/10.1186/1472-6963-9-115>
21. Токтомбаев КК, Габитов АХ. Экспериментальное обоснование возможности применения ангиостимулирующих технологий в хирургии. *Вестник КPCY*. 2009;9(1):162–4. [Toktombaev KK,

- Gabitov AN. Experimental substantiation of the possibility of using angiostimulating technologies in surgery. *Vestnik KRSU = Herald of KRSU*. 2009;9(1):162–4 (In Russ.)
22. Гуляев АЕ, Тусупханов БА. Стимуляция ангиогенином процессов заживления ран в эксперименте. *Медицина и экология*. 2010;3:54–56. [Gulyayev AY, Tusupkhanov BA. Stimulation of wound repair processes by angiogenin in experiment. *Medicina i ekologiya = Medicine and Ecology*. 2010;3:54–56 (In Russ.)]
23. Пуртов АА, Мамаев АЛ. Рекомбинантная плазмида для экспрессии в дрожжах *Pichia pastoris* гена химерного белка ангиогенина человека и штамм дрожжей *Pichia pastoris* – продуцент рекомбинантного химерного белка ангиогенина человека. Патент Российской Федерации № 2658758; 2018. [Purtov AA, Mamaev AL. Recombinant plasmid for expression in *Pichia pastoris* yeast gene of chimeric protein of human angiogenin and strain of *Pichia pastoris* yeast – producer of recombinant chimeric protein of human angiogenin. Patent of the Russian Federation No. 2658758; 2018 (In Russ.)]
24. Гуцин ЯА, Ковалева МА. Сравнительная морфология кожи человека и лабораторных животных. *Лабораторные животные для научных исследований*. 2019;2. [Gushchin YA, Kovaleva MA. Comparative morphology of skin of human and laboratory animals. *Laboratornye zhivotnyye dlya nauchnykh issledovaniy = Laboratory Animals for Science*. 2019;2 (In Russ.)] <https://doi.org/10.29296/2618723X-2019-02-06>
25. Ломаева СВ, Гетте ИФ, Булавинцева ТС, Переведенцева СЕ, Данилова ИГ. Особенности обмена биополимеров соединительной ткани в печени крыс с аллоксановым диабетом. *Бюллетень сибирской медицины*. 2013;12(6):38–42. [Lomaeva SV, Gette IF, Bulavintseva TS, Perevedentseva SE, Danilova IG. The exchange of connective tissue biopolymers in the liver of alloxan diabetic rats. *Bulleten' sibirskoy mediciny = Bulletin of Siberian Medicine*. 2013;12(6):38–42 (In Russ.)]
26. Тринус ФП, Мохорт НА, Клебанов БМ. *Нестероидные противовоспалительные средства*. Киев: Здоровье; 1975. [Trinus FP, Mokhort NA, Klebanov BM. *Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs*. Kiev: Health; 1975 (In Russ.)]
27. Хэм А, Кормак Д. *Гистология*. В 5 томах. М.: Мир; 1982. [Ham A, Cormack D. *Histology*. In 5 volumes. M.: Mir; 1982 (In Russ.)]
28. Kittel B, Ruehl-Fehlert C, Morawietz G, Klapwijk J, Elwell MR, Lenz B, et al. Revised guides for organ sampling and trimming in rats and mice – Part 2. a joint publication of the RITA and NACAD groups. *Exp Toxicol Pathol*. 2004;55(6):413–31. <https://doi.org/10.1078/0940-2993-00349>
29. Ярмолинская МИ, Андреева НЮ, Абашова ЕИ, Мишарина ЕВ. Экспериментальные модели сахарного диабета 1-го типа. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2019;68(2):109–18. [Yarmolinskaya MI, Andreyeva NY, Abashova EI, Misharina EV. Experimental models of type 1 diabetes. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney = Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2019;68(2):109–18 (In Russ.)] <https://doi.org/10.17816/JOWD682109-118>

Вклад авторов. А.Е. Гуляев – разработка дизайна исследования, планирование экспериментальной работы, написание текста рукописи; З.Т. Шульгау – проведение экспериментальной работы, сбор и систематизация данных; Ш.Д. Сергазы – проведение экспериментальной работы, сбор и систематизация данных; Н.В. Юрина – анализ полученных данных, редактирование и переработка рукописи; А.М. Горячкин – интерпретация результатов исследования; С.С. Богачев – анализ и обобщение данных литературы, анализ и систематизация экспериментальных данных; А.С. Проскурина – обобщение результатов исследования, редактирование, переработка и оформление рукописи.

Соответствие принципам этики. Протокол исследования с использованием лабораторных животных был одобрен локальным этическим комитетом Института Цитологии и Генетики СО РАН (протокол № 8 от 19.03.2019).

Благодарности. Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в Институте цитологии и генетики (государственный бюджетный проект № FWNR-2022-0016) и при поддержке ООО «Лаборатория Ангиофарм».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Authors' contributions. А.Е. Gulyayev—elaboration of the study design, planning of the experiments, writing of the text of the manuscript; З.Т. Shulgau—execution of the experiments, collection and systematisation of data; Ш.Д. Sergazy—execution of the experiments, collection and systematisation of data; Н.В. Yurina—analysis of the data obtained, editing and revision of the manuscript; А.М. Goryachkin—interpretation of the study results; С.С. Bogachev—analysis and consolidation of literature data, analysis and systematisation of the experimental data obtained; А.С. Proskurina—consolidation of the study results, editing, revision and formatting of the manuscript.

Ethics approval. The animal study protocol was approved by the Local Ethics Committee of the Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (approval No. 8, 19 March 2019).

Acknowledgements. This work was supported by the Russian Ministry of Science and Higher Education via the Institute of Cytology and Genetics (State Budget Project No. FWNR-2022-0016) and by Angiopharm Laboratory, LLC.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

Об авторах / Authors

Гуляев Александр Евгеньевич, д-р мед. наук, проф.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5098-4675>
akin@mail.ru

Шульгау Зарина Токтамысовна, канд. мед. наук.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8148-0816>
zarina4006@mail.ru

Сергазы Шынгыс Даулетханулы, канд. биол. наук.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6030-620X>
shynggys.sergazy@nu.edu.kz

Юрина Наталья Владимировна. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6907-8629>
yurina_nat@mail.ru

Горячкин Александр Михайлович. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0249-3043>
goryachkin.a@inbox.ru

Богачев Сергей Станиславович, д-р биол. наук.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2019-9382>
gorbi@bionet.nsc.ru

Проскурина Анастасия Сергеевна, канд. биол. наук.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7650-4331>
labmolbiol@mail.ru

Поступила 25.12.2021

После доработки 10.08.2022

Принята к публикации 26.08.2022

Aleksandr E. Gulyayev, Dr. Sci. (Med.), Professor. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5098-4675>
akin@mail.ru

Zarina T. Shulgau, Cand. Sci. (Med.). ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8148-0816>
zarina4006@mail.ru

Shynggys D. Sergazy, Cand. Sci. (Biol.). ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6030-620X>
shynggys.sergazy@nu.edu.kz

Natalia V. Yurina. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6907-8629>
yurina_nat@mail.ru

Aleksandr M. Goryachkin. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0249-3043>
goryachkin.a@inbox.ru

Sergey S. Bogachev, Dr. Sci. (Biol.). ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2019-9382>
gorbi@bionet.nsc.ru

Anastasia S. Proskurina, Cand. Sci. (Biol.). ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7650-4331>
labmolbiol@mail.ru

Received 25 December 2021

Revised 10 August 2022

Accepted 26 August 2022