



Заживление тканей в области тяжелого местного лучевого поражения кожи при генноопосредованной индукции ангиогенеза препаратом «Неоваскулген»

П. С. Еремин¹, Р. В. Деев^{2, 3*}, И. Я. Бозо³, Ю. Б. Дешевой⁴, В. Г. Лебедев⁴,
И. И. Еремин⁵, С. А. Анисимова⁶, Т. А. Насонова⁴, И. Р. Гильмутдинова¹,
Б.Б. Мороз⁴

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр реабилитации и курортологии» Минздрава России, Москва, Россия

²ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

³ПАО «Институт стволовых клеток человека», Москва, Россия

⁴ГНЦ «Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, Москва, Россия

⁵ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Россия

⁶ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» Минздрава России, Рязань, Россия

Местные лучевые поражения (МЛП) в форме лучевых язв, сформированные в результате локального воздействия источников ионизирующего излучения, характеризуются длительным волнообразным течением, плохим прогнозом в отношении самостоятельного заживления и требуют специализированных высокотехнологичных способов лечения. Одним из компонентов их патоморфогенеза является поражение сосудов микроциркуляторного русла, что наряду с повреждением клеток эпителиальной и соединительной тканей служит одной из причин морфологических особенностей развития этого вида повреждения. Генная индукция роста сосудов микроциркуляторного русла может стать одним из компонентов местного лечения МЛП.

Цель исследования – оценить влияние проангиогенного геннотерапевтического препарата на основе pl-vegfr165 («Неоваскулген», Россия) на процессы заживления в экспериментальной модели длительно незаживающих тяжелых местных лучевых поражений (язв).

Материал и методы. Эксперимент проведен на белых крысах-самцах (n=40), которые были разделены на 4 группы по 10 животных: контроль, группа с однократным введением препарата через 14 сут после облучения, группа с двукратным введением через 14 и 27 сут, и группа с однократным поздним введением – через 35 сут. Основным критерием оценки заживления была макроскопическая планиметрия. Выполнены рутинные гистологическое и морфометрическое исследования.

Результаты. Установлено, что статистически значимые различия динамики заживления МЛП по критерию площади язвенной поверхности получены между группами контроля и экспериментальными группами в отдаленный период – при наблюдении более чем через 60 сут.

Заключение. Выявленный результат может быть объяснен динамикой развития новых сосудов микроциркуляторного русла, образовавшихся в результате генной индукции ангиогенеза.

Ключевые слова: местные лучевые поражения, лучевая язва, генная терапия, эндотелиальный сосудистый фактор роста, vegfr165.

Tissue Healing after Severe Cutaneous Local Radiation Injuries under Gene-Mediated Induction of Angiogenesis Using “Neovascugen”

© P. S. Eremin¹, R. V. Deev^{2, 3*}, I. Ya. Bozo³, Yu. B. Deshevoi⁴, V. G. Lebedev⁴, I. I. Eremin⁵, S. A. Anisimova⁶,
T. A. Nasonova⁴, I. R. Gil'mutdinova¹, B. B. Moroz⁴, 2020

¹National Medical Research Center for Rehabilitation and Balneology, Moscow, Russia

²I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, St. Petersburg, Russia

³Institute of Human Stem Cells, Moscow, Russia

⁴A.I. Burnazyan Federal Medical Biophysical Center, Moscow, Russia

⁵Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia

⁶I.P. Pavlov Ryazan State Medical University, Ryazan, Russia

Local radiation injuries in the form of radiation ulcers resulting from the local exposure to ionizing radiation are characterized by a long wave-like course, poor prognosis for self-healing and require specialized high-tech treatment techniques. Damage to vessels of the microvasculature being a component of their pathomorphogenesis

along with the damage to the epithelial and connective tissue cells, is one of the reasons for the morphological features of this type of damage. Gene induction of the vascular growth in the microvasculature can be a component of the local treatment of local radiation injuries.

The aim of the study was to assess the effect of a pro-angiogenic gene therapeutic preparation based on pl-vegfr165 (Neovascugen, Russia) on the healing process of simulated long-term nonhealing severe local radiation injuries (ulcers).

Material and methods. The study included white male rats (n=40), which were divided into 4 groups, 10 animals in each group: a control group, a group with a single administration of the preparation in 14 days after irradiation, a group with a double administration of the preparation in 14 and 27 days after exposure, and a group with a single late administration of the preparation in 35 days after exposure. Macroscopic planimetry was the main criterion for assessing the healing process. Routine histological and morphometric investigations were also performed.

Results. The study results demonstrated that statistically significant differences in the dynamics of local radiation injury healing on the criterion "the ulcer surface area" were registered between the control group and experimental groups in the long-term period – in more than 60 days.

Conclusion. The results obtained can be due to the development of new blood vessels of the microvasculature resulting from the gene induction of angiogenesis.

Key words: local radiation injuries, radiation ulcer, gene therapy, the endothelial vascular growth factor, vegfr165.

***Автор для переписки:**

Деев Роман Вадимович

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, ул. Кирочная, 41, Санкт-Петербург, 191015, Российская Федерация

***Corresponding author:**

Roman Deev

I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, ul.

Kirochnaya, 41, St. Petersburg, 191015, Russian Federation

E-mail: romdey@gmail.com

Введение

Местные лучевые поражения (МЛП) кожи являются результатом локального или неравномерного внешнего воздействия источника ионизирующего излучения. В клинической практике большая часть МЛП является осложнениями рентгенотерапии опухолей и некоторых неопухолевых заболеваний [2, 7, 8].

Отличительной характеристикой патоморфогенеза МЛП служит отсроченность дозозависимых некротически-деструктивных явлений в тканях; кроме этого, показана некоторая зависимость повреждения и регенерации тканей от индивидуальных особенностей организма, топографо-анатомической локализации области воздействия [10]. Процессы, развивающиеся в коже, включают радиационно-индуцированную гибель клеток, в том числе клеток камбиального резерва эпидермиса, эндотелиоцитов капилляров и др., нарушение функционирования цитокиновой ауто- и паракринной (цитокиновой) сети между кератиноцитами, фибробластами, гистиоцитами и резидентными лимфоцитами [7, 11, 12], что обеспечивает реализацию как прямой так и отсроченной гибели клеточных элементов в том числе за счет ишемического и аутоиммунного компонентов патогенеза.

Известно, что ионизирующее излучение резко снижает потенциал заживления ран [1], который требует скоординированности сложных регуляторных событий, миграции и пролиферации клеток различных дифферен-

продукцию компонентов внеклеточного матрикса, ангиогенеза и последующего ремоделирования тканевого регенерата [3].

Лечение МЛП кожи предполагает комплекс мер, направленных как на удаление погибших тканей, так и на оптимизацию репаративных процессов. Как правило, данные методы не позволяют добиться полного заживления у 79% пациентов. Самыми частыми осложнениями хирургического лечения лучевых повреждений являются нарушения кровообращения в перемещаемых комплексах тканей [2].

В течение последнего десятилетия проведено значительное количество исследований, которые описывают процессы восстановления поврежденных тканей организма за счет последовательного взаимодействия различных типов клеток, молекул внеклеточного матрикса и растворимых медиаторов. Эти работы положили начало формированию новых подходов в лечении ряда наследственных и приобретенных заболеваний при помощи генной терапии [18]. Важное место среди таких работ занимают эксперименты по оптимизации регенерационного гистогенеза путем местного применения гена эндотелиального сосудистого фактора роста (Vascular endothelial growth factor, vegf) [4]. Такая методология основана на опосредованном воздействии на течение репаративных процессов за счет улучшения кровоснабжения поврежденных тканей, а также привнесении в зону регенерации клеток-предшественниц, как с кровотоком, так и в составе периваскулярного микроокружения растущих сосудов [5, 13]. Указанный подход до сих пор не был применен для лечения длительно незаживающих лучевых язв, что явилось предпосылкой к планированию и проведению настоящего исследования.

Цель работы – оценить влияние проангиогенного геннотерапевтического препарата на основе pl-vegfr165 (Неоваскулген, Россия) на процессы заживления в экспериментальной

модели длительно незаживающих тяжелых местных лучевых поражений (язв).

Материал и методы исследования

В основу эксперимента положена модель незаживающих тяжелых МЛП [9]. Половозрелых самцов крысы породы Wistar массой 180–200 г содержали в оптимальных для данного вида условиях. Температура воздуха в помещении составляла +22°C, влажность – 50–60%. Длина светового дня составляла 12 ч и регулировалась при помощи искусственного освещения. Животных содержали на стандартном рационе со свободным доступом к питьевой воде. Работа с животными осуществлялась с учетом строгого соблюдения «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях» в ходе выполнения научно-исследовательской работы по теме: «Исследование условий применения мезенхимальных стволовых клеток костного мозга для клеточной терапии тяжелых местных радиационных поражений». Эксперимент одобрен этическим комитетом ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им А.И. Бурназяна ФМБА России (протокол №1 от 20.06.2012).

Облучение лабораторных животных. Моделирование незаживающих тяжелых МЛП кожи осуществляли путем воздействия мягкого рентгеновского излучения на рентгеновском аппарате РАП100-10 (Россия). Дозиметрические характеристики исследовали с помощью тканеэквивалентного фантома, состоящего из сборки тонких термолюминесцентных детекторов ТТЛД-580 и прокладок из фторопласта общей толщиной 30 мм, помещенной в плексигласовый цилиндр. Облучение фантома проводили при напряжении на трубке 30 кВ, токе трубки 6.1 мА, с алюминиевым фильтром толщиной 0.1 мм. Расстояние от источника излучения до поверхности сборки составляло 9 см. Животных облучали в течение 380 с до достижения дозы на поверхности кожи 110 Гр (мощность дозы 17.5 Гр/мин).

Генный индуктор ангиогенеза. Препарат представлял собой высокоочищенную сверхскрученную плазмидную ДНК рl-VEGF165 (лекарственный препарат «Неоваскулен», производитель – ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России; разработчик – ПАО «Институт стволовых клеток человека», Россия). Доза для введения была подобрана, исходя из доклинических исследований препарата, и составила 200 мкг, растворенных в 6 мл воды для инъекций, на животное.

Характеристики эксперимента *in vivo*. В связи с тем, что после облучения деструктивные и репаративные процессы в тканях

развиваются гетерохронно, были апробированы два режима введения препарата: однократно или двукратно через 14 сут после облучения (период активной гибели эндотелиоцитов и эпителиоцитов) и однократно на 35-е сут (период сформированного язвенного дефекта). Все животные были разделены на 4 группы по 10 крыс в каждой: 1-ю группу – контрольную, в которой заживление МЛП происходило самостоятельно; 2-ю группу – раннее однократное введение препарата на 14-е сут; 3-ю группу – двукратное введение препарата на 14-е и 27-е сут и 4-ю группу – позднее однократное введение препарата на 35-е сут после облучения.

Введение препарата. Раствор вводили туннельным способом в области дна и краев язвы в 5 точках.

Гистологические и морфометрические исследования. Для оценки изменений использовали планиметрические методы. Фотосъемку лучевой язвы проводили цифровой фотокамерой Canon. Площадь лучевого поражения кожи рассчитывали с помощью компьютерной программы DraftSight (США). Гистологические исследования проводили через 35, 48 и 62 сут после облучения. Для уменьшения стресса животных наркотизировали путем внутривенного введения препарата «Золетил» 100 мг (Virbac, Франция). В 0.5 мл 3% раствора Золетила добавляли физиологический раствор (NaCl 0.9%), доводя объем до 2 мл. На 2 мл полученного раствора Золетила добавляли 100 мкл препарата «Рометар» (Bioveta, Чехия). Каждому животному вводили в хвостовую вену 0.3–0.5 мл полученного раствора. После введения препарата животное погружали в глубокий сон и декапитировали. После выведения животного из эксперимента язву иссекали полностью вместе с лоскутом кожи и подлежащими структурами. Ткани подвергали стандартной гистологической обработке, получали парафиновые блоки, изготавливали гистологические срезы толщиной 5–7 мкм. Плоскость среза проходила через все слои кожи, срез включал как центральную часть области поражения, так и периферические (краевые) участки. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Изучение препаратов осуществляли при помощи микроскопа Leica DM1000 (Германия), оборудованного штатной системой фотовизуализации и программой обработки изображений и морфометрии ImageScore M (Россия). Оценивали диаметр язвенного дефекта, глубину дефекта, расстояние от края дефекта до первого сохранившегося придатка кожи, толщину эпидермиса у края дефекта, толщину дермы от дна язвенного дефекта до фасции кожной мышцы в центре дефекта и у его краев. Сканирование гистологических препаратов для получения цифровых гистотопограмм проводили прибором

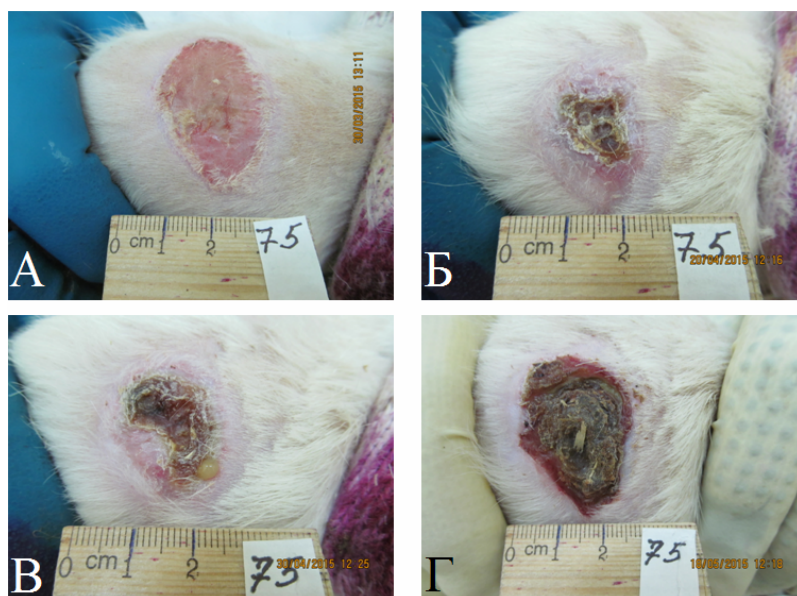


Рис. 1. Местные лучевые поражения кожи у крысы контрольной группы. Сроки после облучения: 12-е сут (А), 33-е сут (Б), 48-е сут (В), 62-е сут (Г).

Leica Aperio CS2 (Германия).

Статистический анализ. На первом этапе статистического анализа определяли средние значения, стандартные отклонения, медианы, нижний и верхний квартили количественных показателей в каждой группе. Затем оценивали распределение количественных признаков закону нормального распределения с использованием критерия Шапиро–Уилка. В случае распределения признаков, отличного от нормального, для межгрупповых сравнений использовали непараметрические критерии: Колмогорова–Смирнова для одномоментного сравнения сразу всех групп по одному из показателей и U-критерий Манна–Уитни для попарных межгрупповых сравнений в случае выявления статистически значимой разницы при сравнении с использованием критерия Колмогорова–Смирнова. Для сравнения показателей в каждой из групп на разных сроках наблюдения применяли критерий Вилкоксона. Во избежание ошибки множественных сравнений использовали поправку Бонферрони.

Результаты и их обсуждение

Развитие местных изменений в коже и подлежащих тканях у животных контрольной группы соответствовало ранее описанной динамике [6, 9]. Местные изменения начинались с эритемы и снижения тургора кожи. К 12–13-м сут после облучения у животных регистрировали проявления сухого дерматита, который переходил во влажный. Преимущественными процессами в этом периоде были десквамация эпителия, лейкоцитарная инфильтрация погибших и погибающих тканей, разрушение коллагенового остова дермы. К 25-м суткам после облучения у 60% животных начинал образовываться язвенный дефект с серозно-геморрагическим экссудатом, ссыхающимся в тонкие коричневые корочки,

в последующем образуя струп темно-коричневого цвета. На 29–36-е сут происходило окончательное формирование язвы, после чего некротический процесс прогрессировал (рис. 1).

Динамика развития лучевого поражения в опытных группах полностью совпадает с контрольной до момента формирования тканевого дефекта после 10–12-х сут (табл. 1).

Раннее однократное введение (2-я группа). При однократном введении в ранние сроки патологические процессы носили тяжелый характер, но в сравнении с контрольной группой площадь язвенного дефекта была значительно меньше (рис. 1, 2).

По данным гистологического исследования, лишь у одной крысы из 2-й группы к 62-м сут развившаяся грануляционная ткань заполняла дефект кожи. В остальных случаях язвенный дефект определялся отчетливо, соответствовал по морфологии контролю: глубина – 8600 ± 1200 мкм, диаметр в наибольшем измерении – 16650 ± 1900 мкм (рис. 3).

Двукратное введение (3-я группа). При двукратном введении препарата отмечалось снижение площади язвы, начиная с 48-х сут до крайнего срока наблюдения. К 62-м сут у 3 крыс из 4 язвенный дефект полностью зажил. При двукратном введении проангиогенного препарата патоморфологические изменения к 33-м сут. полностью коррелировали с контрольной группой. Диаметр язвенного дефекта составлял 20100 ± 1100 мкм, глубина – 8700 ± 2670 мкм. К 48-м сут лишь у одной крысы было отмечено наличие язвы кратерообразной формы, в остальных случаях развивалась грануляционная ткань. Диаметр поражения был равен 24000 ± 4200 мкм, глубина – 6700 ± 2900 мкм. К концу срока наблюдения у всех крыс отмечалось уменьшение площади поражения и развитие грануляционной ткани. Диаметр дефекта составлял 12500 ± 6100 мкм, глубина – 3100 ± 1900 мкм (рис. 4).

Таблица 1

Площадь язвенного дефекта кожи крыс, см² (M±σ)

Сроки после облучения, (сут)	1-я группа (контрольная)	2-я группа	3-я группа	4-я группа
6-е	8.77±0.92	9.06±1.60	9.21±1.20	8.23±0.95
11-е	7.08±0.93	6.51±1.70	6.38±1.19	8.46±0.61
15-е	4.92±1.38	4.36±1.02	4.77±0.86	5.78±0.93
19-е	3.10±0.58	3.26±0.77	3.00±0.67	3.94±0.72
22-е	2.89±0.38	3.21±0.85	2.69±0.63	3.19±0.66
26-е	2.85±0.55	2.88±0.94	2.67±1.28	2.86±0.81
29-е	2.45±0.84	2.63±0.96	2.25±0.96	2.74±0.75
33-е	1.87±0.61	2.08±0.77	1.91±0.39	2.50±0.67
36-е	1.73±0.94	1.97±0.93	2.24±0.43	2.41±0.74
40-е	1.81±0.76	1.95±0.83	2.22±0.73	2.40±0.74
43-е	2.23±1.26	2.12±1.21	2.57±1.09	2.51±0.56
48-е	3.67±0.89	3.09±1.36	3.15±1.96	2.78±0.54
55-е	6.02±1.72	3.40±0.94	2.19±0.95*	3.83±1.50
62-е	7.07±2.07	3.63±0.64	1.82±1.18*/**	4.22±1.47

Примечание: количество животных в каждой группе (n=10); * – различия при сравнении с контрольной группой статистически значимы (p<0.05); ** – различия при сравнении с 4-й группой (однократное введение pl-vegfl65 на 35-е сут после облучения) статистически значимы (p<0.05).

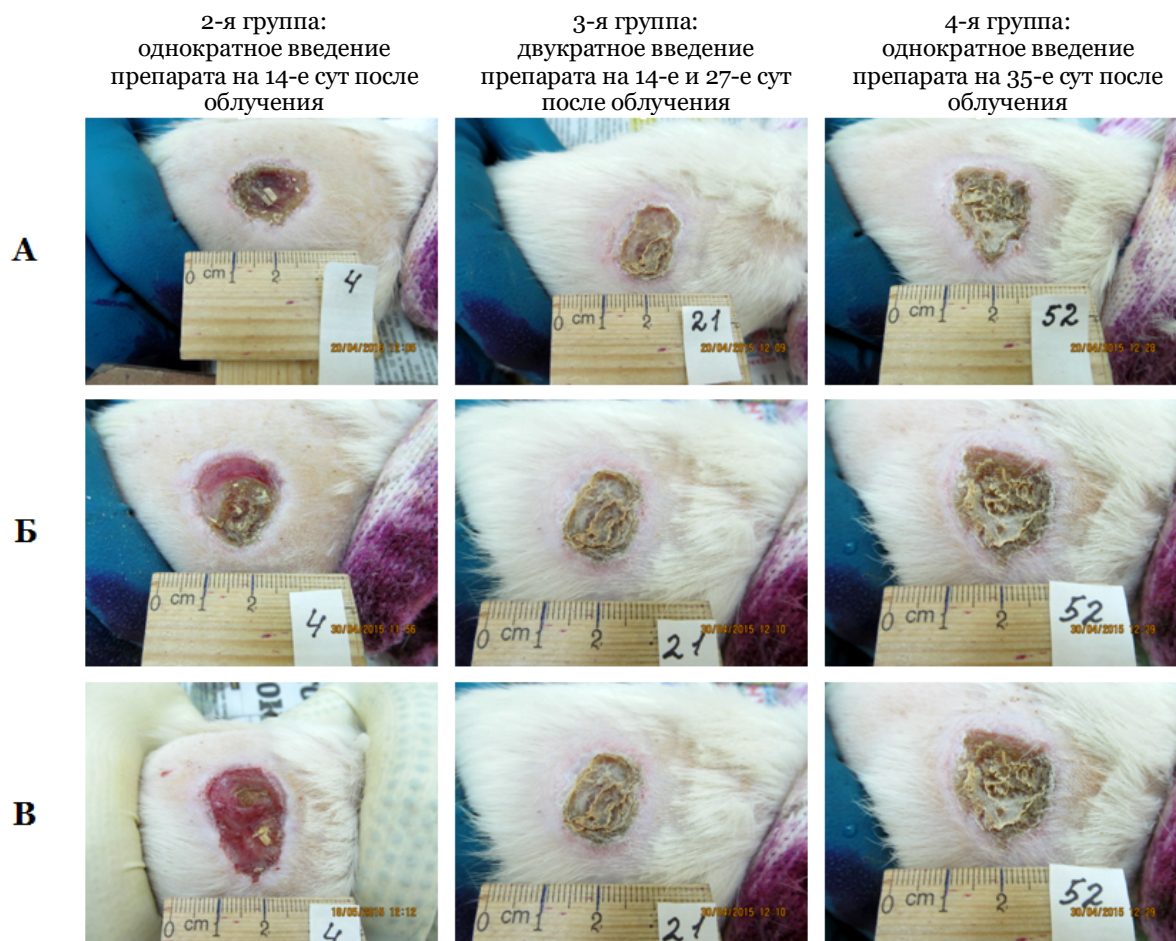


Рис. 2. Местные лучевые поражения кожи у крыс экспериментальных групп. Сроки после облучения: 33-е сут (ряд А), 48-е сут (ряд В), 62-е сут (ряд В).

Позднее однократное введение (4-я группа). В случае однократного введения препарата на 35-е сут после облучения площадь язвенного дефекта была меньше, чем в контрольной (табл. 1). Тем не менее, во всех экспериментальных группах наблюдалась положительная динамика заживления язвенного дефекта. Диаметр язвенного дефекта на 48-е сут. после облучения достигал

23630±4000 мкм, глубина – 4700±1070 мкм. К концу срока наблюдения под толстым струпом полнослойный дефект мягких тканей отсутствовал, однако поверхность под струпом не была эпителизирована – дефект эпидермиса достигал 23500 мкм в диаметре (рис. 5).

Морфометрический анализ выявил статистически значимые различия при двукратном введении pl-vegfl65 по сравнению с

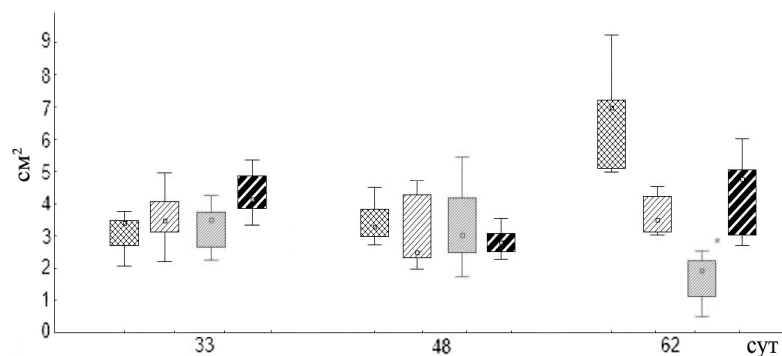


Рис. 3. Площадь тканевого дефекта кожи в контрольной и экспериментальных группах животных в ключевые точки наблюдения: ▨ – 1-я группа (контрольная группа), ▤ – 2-я группа, ■ – 3-я группа, ▩ – 4-я группа; * – статистически значимые различия с контрольной группой отмечены ($p < 0.05$).

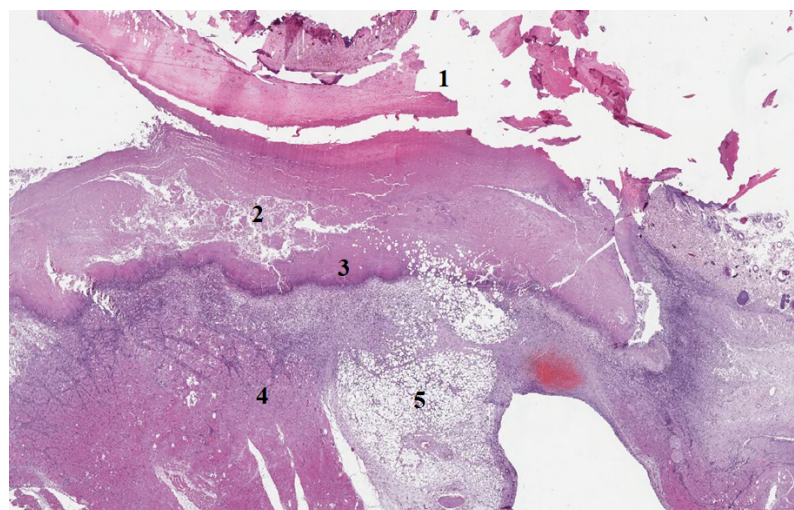


Рис. 3. Гистотопограмма местного лучевого поражения у животного 2-й группы, 62-е сут после облучения. Обозначения: 1 – струп; 2 – некроз и организованный фибрин; 3 – демаркационный вал; 4 – регенерирующая кожная мышца; 5 – жировая ткань. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 4$.

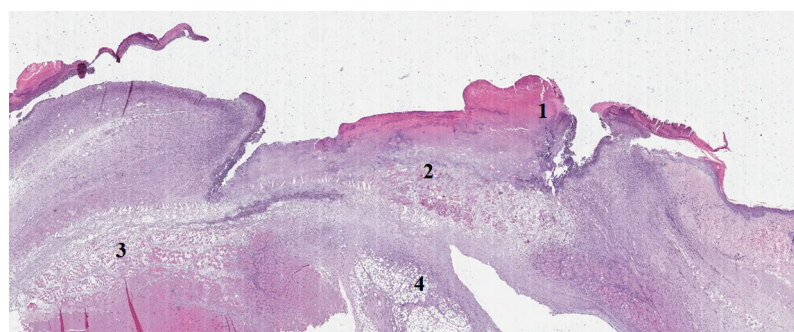


Рис. 4. Гистотопограмма местного лучевого поражения у животного 3-й группы, 62-е сут после облучения. Обозначения: 1 – струп; 2 – плотная волокнистая соединительная ткань; 3 – регенерирующая кожная мышца; 4 – жировая ткань в дне язвы. Окраска: гематоксиллин и эозин. Ув. $\times 4$.

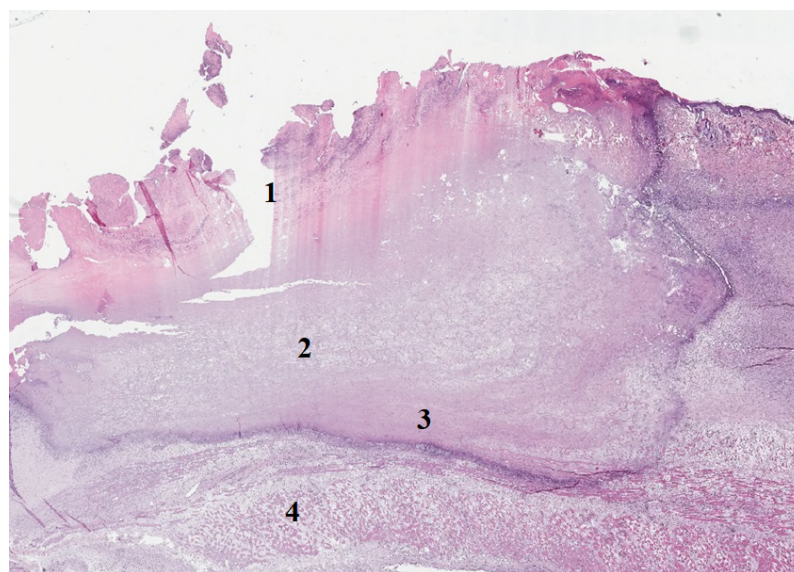


Рис. 5. Гистотопограмма местного лучевого поражения у животного 4-й группы, 62-е сутки после облучения. Обозначения: 1 – струп; 2 – некроз и фибрин; 3 – демаркационный вал; 4 – регенерирующая кожная мышца. Окраска: гематоксиллин и эозин. Ув. $\times 4$.

Таблица 2

**Результаты гистологического исследования зоны лучевого дефекта через
48 и 62 сут после облучения**

Показатели	1-я группа (контрольная)		2-я группа		3-я группа		4-я группа	
	Сроки после облучения, сут							
	48-е	62-е	48-е	62-е	48-е	62-е	48-е	62-е
Диаметр дефекта, мм	19.2±6.4	20.2±5.6	17.4±5.5	16.6±1.9*	24.4±4.2	12.5±6.1*	23.63±4	23.1±5.5
Глубина дефекта, мм	6.2±3.7	5.3±3.1	6±1.2	8.6±2.7	6.7±2.9	3.1±1.9*	9.8±2.8	струп
Расстояние от края до первого придатка, мм	1.4±0.7	3.1±2.5	1.5±0.3	1.2±0.2*	1.1±0.5	1.2±0.14*	1.88±0.1	0.4±0.1*
Толщина эпидермиса у края дефекта, мкм	61±14.9	90±41	84±2.8	78±4.2	80±21.9	111.9±2.9*	67.7±28	44±12
Толщина дермы в центре, мм	6.2±3.1	5.3±2.8	6±1.2	8.6±3.2	7.1±3.4	3.1±1.9*	9.3±3.1	струп
Толщина дермы у края дефекта, мм	5.4±2.2	5.1±1.9	3.8±0.4	6.9±1.5	6.5±2.4	2.9±1.7*	3.7±1	струп

Примечание: количество животных в каждой группе (n=10); * – различия при сравнении с контрольной группой статистически значимы (p<0.05).

контрольной группой и группой животных, которым вводили препарат однократно на 35-е сут после облучения. Гистологические исследования также показали статистически значимые различия по сравнению с контролем во всех группах по показателю «расстояние от края язвы до первого придатка кожи»; во 2-й и 3-й группах по диаметру дефекта; в 3-й группе по глубине дефекта, толщине дермы и эпидермиса у края и толщине дермы в центре дефекта. Между экспериментальными группами статистически значимых различий не было выявлено (табл. 2).

Роль короткодистантных регуляторов морфогенетических процессов, в частности, факторов роста, стала глубоко исследоваться на протяжении последних трех десятилетий. Среди них VEGF определяется многими авторами как плеотропный фактор роста, активно задействованный в регенерации тканей кожи в ходе раневого процесса [14, 19, 21]. Механизмы участия VEGF в заживлении раны целесообразно подразделить на две группы: связанные с ангиогенезом напрямую, и не связанные с развитием и ростом сосудов в грануляционной ткани кожи. За счет первого механизма достигаются закономерное увеличение оксигенации метаболически затратных процессов пролиферации, миграции, дифференцировки клеточных элементов мультитканевого регенерата [17]. Не связанное с ростом сосудов воздействие связано с включением в молекулярный сигналинг оси VEGF-VEGFR1 клеток, не относящихся к эндотелиальному дифферону. Показано, что кератиноциты экспрессируют различные рецепторы к этому фактору, взаимодействие которых с лигандом обеспечивает пролиферацию этих клеток [21,

24]. Известно, что фибробласты различной тканевой и органной локализации обладают специфическим рецепторным полем для VEGF [20, 23]. При этом источниками самого VEGF в условиях заживления ран и при других явлениях чаще всего становятся гистиоциты и стромальные клетки-предшественницы [15, 22].

Лучевая язва характеризуется целым рядом особенностей, важнейшими из которых является волнообразное течение, что большая часть авторов связывает с циклическим повреждением сосудов [1], изменением фенотипического состава раневого инфильтрата, а следовательно, и особой динамикой цитокинового профиля в ране. Привнесение экзогенного VEGF является тем фактором, который ощутимо повлияет на течение гистогенетических процессов. В частности, экзогенный рекомбинантный эндотелиальный сосудистый фактор роста и др. при хронических дефектах кожи ишемического генеза показали свою эффективность при некоторых режимах введения в эксперименте и клинической практике [16]. Однако, белковые факторы, введенные одномоментно, характеризуются крайней нестойкостью в раневом экссудате, в то время как генная индукция относительно пролонгирована по времени за счет активности трансфицированных клеток, выступающих в качестве «биореакторов», продуцирующих регуляторный фактор.

Заключение

Таким образом, полученные результаты подтверждают волнообразную или двухфазную динамику развития некротических

процессов в язве, о чем свидетельствует уменьшение размеров язвенного дефекта с $8.77 \pm 0.92 \text{ см}^2$ на 6-е сутки до $1.81 \pm 0.76 \text{ см}^2$ к 40-м суткам и начало роста размера дефекта с 43-го дня. За весь период наблюдения самостоятельное заживление в контроле зарегистрировано только у 20% животных.

В нашем исследовании установлено, что по основным морфометрическим показателям введение генного индуктора ангиогенеза способствует прогрессу в заживлении язвы, в основе которого, вероятно, лежит предотвращение второй волны некротических изменений в местных лучевых поражениях за счет индукции роста местной сосудистой сети. Причем, наиболее выражен этот эффект при двукратном введении, что может свидетельствовать о дозозависимом эффекте примененного воздействия.

Так же показано, что лечение геннотерапевтическим препаратом наиболее целесообразно в фазу разгара клинического проявления местного лучевого поражения, не дожидаясь необходимости хирургического вмешательства.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы / References

1. Африканова Л.А. Острая лучевая травма кожи. М.; 1975 [Afrikanova LA. Ostraya lucheaya travma kozhi. Moscow; 1975] (in Russian).
2. Галстян И.А., Надежина Н.М., Барабанова А.В., и др. Диагностика, лечение местных лучевых поражений и их отдаленных последствий. Федеральные клинические рекомендации. ФКР ФМБА России. 2015 [Galstyan IA, Nadezhina NM, Barabanova AV, i dr. Diagnostika, lechenie mestnykh lucheuykh porazhenii i ikh otdalennykh posledstviy. Federal'nye klinicheskie rekomendatsii. FKR FMBA Rossii. 2015] (in Russian).
3. Данилов Р.К., Григорян Б.А., Гололобов В.Г., Графова Г.Я., и др. Экспериментально-гистологический анализ раневого процесса. Вопросы морфологии XXI века. 2008;1:100–4 [Danilov RK, Grigoryan BA, Gololobov VG, Grafova GYa, i dr. Eksperimental'no-gistologicheskii analiz ranevogo protsessa. Voprosy morfologii XXI veka. 2008;1:100–4] (in Russian).
4. Деев Р.В., Бозо И.Я., Мжаванадзе Н.Д., Нерсисян Е.Г., и др. Эффективность применения гена vegf165 в комплексном лечении пациентов с хронической ишемией нижних конечностей 2а–3 стадии. Ангиология и сосудистая хирургия. 2014;20(2):38–48 [Deev RV, Bozo IYa, Mzhavanadze ND, Nersesyan EG, et al. Efficacy of using VEGF165 gene in comprehensive treatment of patients with stage 2A-3 lower limb chronic ischaemia. Angiology And Vascular Surgery. 2014;20(2):38–48] (in Russian).
5. Деев Р.В., Плакса И.Л., Бозо И.Я., Мжаванадзе Н.Д., и др. Результаты 5-летнего наблюдения за пациентами с заболеваниями периферических артерий после генной терапии. Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. 2018;13(3):61–6 [Deev RV, Plaksa IL, Bozo IY, Mzhavanadze ND, et al. Results of 5-year observation of patients with diseases of peripheral arteries after gene therapy. Bulletin of Pirogov National Medical & Surgical Center. 2018;13(3):61–6] (in Russian). doi: 10.25881/BPNMSC.2018.62.14.013
6. Еремин П.С., Пигалева Н.А., Мурзабеков М.Б., Лебедев В.Г., и др. Исследование эффективности применения аутологичных клеточных продуктов на основе жировой ткани для терапии тяжелых местных лучевых повреждений. Саратовский научно-медицинский журнал. 2014;10(4):838–44 [Eremin PS, Pigaleva NA, Murzabekov MB, Lebedev VG, et al. Effectiveness of autologous cell products derived from adipose tissue for the treatment of severe local radiation injuries. Saratov Journal of Medical Scientific Research. 2014;10(4):838–44] (in Russian).
7. Заргарова Н.И., Владимиров О.О., Лебеза В.И., Гребенюк А.Н. Моделирование глубоких лучевых поражений кожи в эксперименте на крысах. Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2014;3:5–11 [Zargarova NI, Vladimirova OO, Legeza VI, Grebenyuk AN. Modeling of the Deep Injuries of Skin in Experiment on Rats. Medical radiology and radiation safety. 2014;3:5–11] (in Russian).
8. Котенко К.В., Еремин И.И., Мороз Б.Б., Бушманов А.Ю. и др. Клеточные технологии в лечении радиационных ожогов: опыт ФМБЦ им. А.И. Бурназяна. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 2012;VII(2):97–102 [Kotenko KV, Eremin II, Moroz BB, Bushmanov AJu, et al. Cell technologies in the treatment of radiation burns: experience Burnasyan Federal Medical Biophysical Centre. Cellular Transplantation and Tissue Engineering. 2012;VII(2):97–102] (in Russian).
9. Котенко К.В., Мороз Б.Б., Насонова Т.А., Добрынина О.А., и др. Экспериментальная модель тяжелых местных лучевых поражений кожи после действия рентгеновского излучения. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2013;4:121–3 [Kotenko KV, Moroz BB, Nasonova TA, Dobrynina OA, Lipengolz A.A, et al. Experimental model of severe local radiation injuries of the skin after X-rays. Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya Terapiya. 2013;4:121–3] (in Russian).
10. Пиголкин Ю.И., Квачева Е.Ю. Современные возможности судебно-медицинской экспертизы местной радиационной травмы. Судебно-медицинская экспертиза. 2012;3:52–5 [Pigolkin IuI, Kvacheva IuE. The current potential of forensic medical expertise of a local radiation injury. Sudebno-meditsinskaya ekspertiza. 2012;3:52–5] (in Russian).
11. Поровский Я.В., Тетенев Ф.Ф. Состояние сосудов микроциркуляторного русла кожи у лиц, подвергшихся воздействию малых доз ионизирующего излучения. Сибирский медицинский журнал (Иркутск). 2011;4:77–80 [Porovsky JaV, Tetenev FF. The state of vessels of microcirculatory dermal bed in the persons subjected to the influence of ionizing radiation in small doses. Siberian Medical Journal (Irkutsk). 2011;4:77–80] (in Russian).

12. Ткаченко З.Я., Демидова Г.Г., Чеботарев Е.Е. Реакция эндотелия стенки сосудов на ионизирующее воздействие. Радиобиология. 1978;18(1):127–31 [Tkachenko ZYa, Demidova GG, Chebotarev EE. Reaktsiya endoteliya stenki sosudov na ioniziruyushchee vozdeistvie. Radiobiologiya. 1978;18(1):127–31] (in Russian).
13. Шестакова В.Г., Баженов Д.В., Банин В.В. Связь васкуляризации регенерата кожи с пролиферативной активностью его клеток. Морфология. 2017;151(3):37–40 [Shestakova VG, Bazhenov DV, Banin VV. The association between the vascularization of skin regenerate and the proliferative activity of its cells. Morfologiya. 2017;151(3):37–40] (in Russian).
14. Bao P, Kodra A, Tomic-Canic M, Golinko MS, Ehrlich HP, Brem H. The Role of Vascular Endothelial Growth Factor in Wound Healing. Journal of Surgical Research. 2009 May;153(2):347–58. doi: 10.1016/j.jss.2008.04.023
15. Barrientos S, Brem H, Stojadinovic O, Tomic-Canic M. Clinical application of growth factors and cytokines in wound healing. Wound Repair and Regeneration. 2014 Sep;22(5):569–78. doi: 10.1111/wrr.12205
16. Barrientos S, Brem H, Stojadinovic O, Tomic-Canic M. Clinical application of growth factors and cytokines in wound healing. Wound Repair and Regeneration. 2014 Sep;22(5):569–78. doi: 10.1111/wrr.12205
17. Eming SA, Krieg T, Davidson JM. RETRACTED: Gene therapy and wound healing. Clinics in Dermatology. 2007 Jan;25(1):79–92. doi: 10.1016/j.clindermatol.2006.09.011
18. Eming SA, Krieg T. Molecular Mechanisms of VEGF-A Action during Tissue Repair. Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings. 2006 Sep;11(1):79–86. doi: 10.1038/sj.jidsymp.565001
19. Johnson KE, Wilgus TA. Vascular Endothelial Growth Factor and Angiogenesis in the Regulation of Cutaneous Wound Repair. Advances in Wound Care. 2014 Oct;3(10):647–61. doi: 10.1089/wound.2013.0517
20. Ohshima M, Yamaguchi Y, Ambe K, Horie M, Saito A, Nagase T, et al. Fibroblast VEGF-receptor 1 expression as molecular target in periodontitis. Journal of Clinical Periodontology. 2016 Feb;43(2):128–37. doi: 10.1111/jcpe.12495
21. Ong HT, Dilley RJ. Novel non-angiogenic role for mesenchymal stem cell-derived vascular endothelial growth factor on keratinocytes during wound healing. Cytokine & Growth Factor Reviews. 2018 Dec;44:69–79. doi: 10.1016/j.cytogfr.2018.11.002
22. Vannella KM, Wynn TA. Mechanisms of Organ Injury and Repair by Macrophages. Annual Review of Physiology. 2017 Feb 10;79(1):593–617. doi: 10.1146/annurev-physiol-022516-034356
23. Vavken P, Saad FA, Fleming BC, Murray MM. VEGF receptor mRNA expression by ACL fibroblasts is associated with functional healing of the ACL. Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy. 2011 Feb 19;19(10):1675–82. doi: 10.1007/s00167-011-1443-y
24. Wilgus TA, Matthies AM, Radek KA, Dovi JV, Burns AL, Shankar R, et al. Novel Function for Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-1 on Epidermal Keratinocytes. The American Journal of Pathology. 2005 Nov;167(5):1257–66. doi: 10.1016/S0002-9440(10)61213-8

Поступила в редакцию 26.07.2019

Received 26.07.2019

Принята в печать 1.06.2020

Accepted 1.06.2020

Для цитирования: Еремин П.С., Деев Р.В., Бозо И.Я., Дешевой Ю.Б., Лебедев В.Г., Еремин И.И., Анисимова С.А., Насонова Т.А., Гильмутдинова И.Р., Мороз Б.Б. Заживление тканей в области тяжелого местного лучевого поражения кожи при генноопосредованной индукции ангиогенеза препаратом «Неоваскулген». Журнал анатомии и гистопатологии. 2020; 9(2): 26–34. doi: 10.18499/2225-7357-2020-9-2-26-34

For citation: Eremin P.S., Deev R.V., Bozo I.Ya., Deshevoi Yu.B., Lebedev V.G., Eremin I.I., Anisimova S.A., Nasonova T.A., Gil'mutdinova I.R., Moroz B.B. Tissue healing after severe cutaneous local radiation injuries under gene-mediated induction of angiogenesis using "Neovascugen". Journal of Anatomy and Histopathology. 2020; 9(2): 26–34. doi: 10.18499/2225-7357-2020-9-2-26-34