

А. Н. ИВАНОВ, М. А. САХАНЬ, А. В. ЕРМАКОВ,
А. А. САВКИНА, Т. В. СТЕПАНОВА, В. В. НИКИТИНА,
Е. В. ЛЕНГЕРТ, Т. С. КИРИЯЗИ

Влияние полилактидных раневых покрытий с таниновой кислотой на концентрацию маркеров ангиогенеза, альтерации и активации эндотелиальных клеток в крови у белых крыс при заживлении экспериментального полнослойного дефекта кожи

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского» Минздрава России,
г. Саратов, Россия
410012, Россия, г. Саратов, ул. Большая Казачья, д. 112
E-mail: lex558452@gmail.com

Статья поступила в редакцию 19.02.24 г.; принята к печати 27.05.24 г.

Резюме

Введение. В настоящее время остро стоит проблема поиска новых эффективных средств лечения кожных ран. Одним из возможных решений проблемы представляется применение синтетических раневых покрытий на основе полилактида с адресной доставкой таниновой кислоты. **Цель.** Оценка изменения концентрации маркеров ангиогенеза, альтерации и активации эндотелиальных клеток под влиянием микрокамерных полилактидных раневых покрытий, загруженных таниновой кислотой, в динамике заживления экспериментального полнослойного дефекта кожи у белых крыс. **Материалы и методы.** Для достижения цели выполнен эксперимент на 63 белых крысах-самцах, разделенных на четыре группы: интактные животные (n=9), группа сравнения (n=18), опытные группы № 1, 2 (по n=18). У животных сравнительной и опытных групп оперативным путем создавалась модель острой эксцизионной кожной раны размером 10х10 мм. Животным опытной группы № 1 на сформированный кожный дефект накладывалось полилактидное микрокамерное раневое покрытие без активных компонентов. Крысам опытной группы № 2 накладывалось аналогичное покрытие, микрокамеры которого были загружены таниновой кислотой. Оценивались концентрации в крови фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), синдекана-1, sE-селектина. **Результаты.** В результате исследований обнаружили, что заживление полнослойного дефекта кожи у крыс сопровождается альтерацией и активацией эндотелия, характеризующимися повышением сывороточных концентраций синдекана-1 в 4,4 раза и sE-селектина в 2,2 раза. Также происходит активация ангиогенеза с увеличением концентрации VEGF в 1,7 раза на 7-е сутки эксперимента и в 6,5 раз на 14-е сутки. Покрытия с таниновой кислотой вызывают снижение альтерации эндотелиального гликокаликса и воспалительной активации эндотелиоцитов, что проявляется уменьшением к 7-м суткам эксперимента сывороточных концентраций VEGF и синдекана-1 в 2 раза и sE-селектина в 1,7 раз по сравнению с аналогом без активных компонентов. На 14-е сутки эксперимента в опытной группе № 2 концентрации VEGF в 5,9, Синдекана-1 в 2,8, а E-селектина в 2,2 раза меньше, чем у крыс группы сравнения. При этом, концентрации VEGF и E-селектина соответствуют значениям интактных животных, а уровень синдекана-1 превышает контроль на 58 %. **Заключение.** Полилактидные раневые покрытия с микрокамерами, заполненными таниновой кислотой, оказывают значительное влияние на течение раневого процесса у крыс с полнослойным дефектом кожи.

Ключевые слова: раневые покрытия, полнослойный дефект кожи, таниновая кислота, полилактид, фактор роста эндотелия сосудов, синдекан-1, sE-селектин

Для цитирования: Иванов А. Н., Сахань М. А., Ермаков А. В., Савкина А. А., Степанова Т. В., Никитина В. В., Ленгерт Е. В., Кириязи Т. С. Влияние полилактидных раневых покрытий с таниновой кислотой на концентрацию маркеров ангиогенеза, альтерации и активации эндотелиальных клеток в крови у белых крыс при заживлении экспериментального полнослойного дефекта кожи. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2024;23(3):81–88. Doi: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-81-88.

A. N. IVANOV, M. A. SAHAN, A. V. ERMAKOV,
A. A. SAVKINA, T. V. STEPANOVA, V. V. NIKITINA,
E. V. LENGERT, T. S. KIRIYAZI

Influence of polylactide wound dressings with tannic acid on serum concentration of markers of angiogenesis, endothelial cell alteration and activation in white rats during healing of experimental full-thickness skin defect

V. I. Razumovsky Saratov State Medical University, Saratov, Russia
112, Bolshaya Kazachya str., Saratov, Russia, 410012
E-mail: lex558452@gmail.com

Received 19.02.24; accepted 27.05.24

Summary

Introduction. The development of effective treatment of skin wounds is the one of the current challenges. Synthetic wound dressings based on polylactide, capable of targeted delivery of biologically active substances, provide new solutions to the problem of stimulating regeneration. Tannic acid seems to be a promising substance as a component of wound dressings due to its anti-inflammatory and antioxidant effects. *The aim* of the study was to assess the changes in the serum concentrations of markers of angiogenesis, endothelial cell alteration and activation under the influence of microchamber polylactide wound dressings loaded with tannic acid during the healing of an experimental full-thickness skin defect in white rats. *Materials and Methods.* The experiment was carried out on 63 white male rats, divided into four groups: intact animals (n=9), comparison group (n=18), experimental groups No. 1, 2 (n=18 each). A 10×10 mm acute excisional skin wound model was surgically created in animals of the comparative and experimental groups. Animals in the experimental group № 1 received a polylactide microchamber wound dressing without active components on the formed skin defect. The rats of experimental group № 2 received a similar dressing with its microchambers loaded with tannic acid. The concentrations of vascular endothelial growth factor (VEGF), syndecan-1, and sE-selectin in the blood were assessed. *Results.* It was found that the healing of a full-thickness skin defect in rats is accompanied by alteration and activation of the endothelium, characterized by an increase in serum concentrations of syndecan-1 in 4.4 times and sE-selectin in 2.2 times. There is also an activation of angiogenesis with increase in VEGF concentration 1.7 times on the 7th day and 6.5 times on the 14th day of the experiment. Dressings with tannic acid cause a decrease in the alteration of the endothelial glycocalyx and inflammatory activation of endothelial cells, which is manifested by a decrease in serum concentrations of VEGF and syndecan-1 by 2 times and sE-selectin by 1.7 times on the 7th day of the experiment compared to the analogue without active components and complete normalization of the serum concentration of the angiogenesis stimulator VEGF by the 14th day of the experiment. *Conclusion.* Polylactide wound dressings with micro-chambers filled with tannic acid have a significant effect on the course of the wound process in rats with a full-thickness skin defect.

Keywords: wound dressings, wound defect of the skin, tannic acid, polylactic acid, vascular endothelial growth factor, syndecan-1, sE-selectin

For citation: Ivanov A. N., Sahan M. A., Ermakov A. V., Savkina A. A., Stepanova T. V., Nikitina V. V., Lengert E. V., Kiriyaizi T. S. Influence of polylactide wound dressings with tannic acid on serum concentration of markers of angiogenesis, endothelial cell alteration and activation in white rats during healing of experimental full-thickness skin defect. *Regional hemodynamics and microcirculation.* 2024;23(3):81–88. Doi: 10.24884/1682-6655-2024-23-3-81-88.

Введение

Распространенность острых и хронических ран, как в России, так и за рубежом, остается на высоком уровне, что обуславливает актуальность совершенствования технологий их лечения. Согласно прогнозам национальной программы медицинского страхования в США ожидается, что к 2024 г. ежегодный объем рынка средств для ухода за ранами достигнет 15–22 миллиардов долларов [1].

Значительные изменения в принципах лечения ран стали возможны с развитием технологий обработки полимеров естественного и искусственного происхождения [2]. В качестве материала для создания раневых покрытий использовались различные природные полимеры, в том числе коллаген, хитозан, фибрин, желатин, гиалуроновая кислота и шелк [3].

Синтетические полимеры обладают рядом преимуществ по сравнению с натуральными, включая дополнительные возможности модификации их механических свойств. Среди синтетических полимеров для создания раневых покрытий использовались полигликолид, полиэтиленгликоль, поликапролактон, полилактид и сополимеры молочной и гликолевой кислот [4, 5]. Особый интерес представляет полилактид – полимер, сочетающий оптимальные механические свойства, включая прочность, биodeградацию без токсичных продуктов и невысокую стоимость производства [6]. Согласно современным данным литературы, использование гидрогелей и трехмерно организованных волокон способно ускорить заживление ран, а применение биodeградируемых полимеров для создания раневых покрытий позволяет из-

бежать травматизации тканей при смене повязки [7]. Новые возможности для ускорения заживления раневых дефектов тканей открывают технологии микро- и наноструктурирования перевязочных материалов, которые позволяют включать в состав биополимеров различные биологически активные вещества, влияющие на течение раневого процесса.

Естественное заживление ран включает в себя ряд последовательно сменяющих друг друга сложных процессов, включая гемостаз, воспаление, формирование и ремоделирование ткани [8]. Очевидно, что срок заживления раны напрямую зависит от скорости сменяемости фаз. В этой связи подбор биологически активного вещества должен осуществляться с учетом его влияния на разные стадии раневого процесса. В качестве биологически активного вещества перспективным представляется использование таниновой кислоты. Согласно данным литературы, таниновая кислота обладает выраженным противовоспалительным действием, снижает образование активных форм кислорода, а также принимает участие в процессах ремоделирования коллагена [9].

Цель исследования – изучить динамику изменений концентрации маркеров ангиогенеза, альтерации и активации эндотелиальных клеток в крови у белых крыс при заживлении экспериментального полнослойного дефекта кожи и выявить влияние раневых покрытий из полилактида без активных компонентов и с таниновой кислотой на изменения параметров ангиогенной активности эндотелиоцитов в процессе регенерации.

Материалы и методы исследования

Дизайн исследования включал в себя четыре группы беспородных крыс-самцов в возрасте от 6 до 12 месяцев, массой 180–240 граммов.

В первую (контрольную) группу вошли 9 крыс.

Вторую группу составили животные (18 крыс) с раневым полнослойным дефектом кожи в межлопаточной области (группа сравнения).

Третья группа (опытная группа № 1) состояла из 18 крыс, которым выполнена модель раневого полнослойного дефекта кожи в межлопаточной области, который был закрыт биодеградируемым микрокамерным покрытием, не содержащим активных компонентов.

В четвертую (опытная группа № 2) вошло 18 крыс, которым выполнена модель раневого полнослойного дефекта кожи в межлопаточной области, закрытого биодеградируемым микрокамерным покрытием, микрокамеры которого были заполнены таниновой кислотой.

При выполнении эксперимента соблюдались все условия, предусмотренные Директивой Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС от 22 сентября 2010 г. о защите животных, используемых для научных целей, с Федеральным законом от 27.12.2018 N 498-ФЗ (ред. от 27.12.2019) «Об ответственном обращении с животными и о внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации». Исследование выполнено в соответствии с рекомендациями этического комитета СГМУ (протокол № 12 от 30.06.2022 г.).

Всем животным за 10 минут до проведения манипуляций внутримышечно вводили раствор тилетамина

и золазепам (Телазол 100 мг®, производитель *Zoetis Manufacturing & Research Spain*, Испания) из расчета 20 мг/кг (0,2 мл/кг) массы тела и ксилазина гидрохлорида (Ксиланит®, производитель ООО «Нита-Фарм», Россия) в дозе 10 мг/кг (0,5 мл/кг) массы тела. Моделирование полнослойного дефекта кожи осуществлялось хирургическим методом [10]. У животных сравнительной и опытных групп после депиляции и антисептической обработки кожи в межлопаточной области с помощью квадратного трафарета спиртовым раствором йода 5 % наносились контуры будущего раневого дефекта размером 10×10 мм. По разметке с помощью скальпеля проводилось формирование полнослойного раневого дефекта. Для того чтобы избежать влияния анальгетиков на интенсивность воспалительного ответа, тонус сосудов и перфузию микроциркуляторного русла в послеоперационном периоде дополнительного обезболивания не проводилось.

Раневые покрытия из полилактида (полимолочная кислота) в виде массивов полимерных микрорезервуаров (микрокамер) были изготовлены с применением шаблона с рельефом в виде лунок микронного размера по методике, изложенной в [11]. Толщина стенок микрокамер покрытия составляла 0,3–0,5 мкм, горизонтальное сечение микрокамер покрытия имело форму квадрата со стороной 10 мкм, высота микроконтейнеров составляла 12 мкм.

Площадь покрытия соответствовала размеру раневого дефекта и составляла порядка 1 см². Наложение покрытия проводилось однократно, непосредственно после формирования раневого дефекта. После выполнения манипуляции каждая крыса помещалась в отдельную клетку. В послеоперационном периоде ежедневно проводился визуальный контроль раневого дефекта. Признаков нагноения ран, а также выпадений раневых покрытий из раны не было.

Для биохимических исследований перед выведением из эксперимента у животных под наркозом проводился забор крови путем пункции правых отделов сердца. Кровь забирали в пробирки Vacuette с активатором свертывания и разделительным гелем для получения сыворотки. Сыворотку крови получали путем центрифугирования 3000 об/мин. Затем их аликвотировали, замораживали и хранили при температуре –80 °С. Животных сравнительной и опытных групп выводили из эксперимента на 7-е и 14-е сутки (по 9 особей), путем декапитации.

Концентрации VEGF, синдекана-1, sE-селектина определяли методом иммуноферментного анализа с использованием наборов реагентов Cloud-Clone Corp (Китай). При выполнении ИФА определение оптической плотности проводилось с использованием микропланшетного спектрофотометра StatFax 4200 (*Awareness Technology*, США).

Также на 7-е и 14-е сутки эксперимента оценивалась динамика регенерации раневой поверхности. Для этого на раневой дефект накладывалась стерильная полимерная пленка, затем маркером на пленку наносилась линия по краю раневого дефекта, после данной манипуляции пленка накладывалась на миллиметровую бумагу, по которой проводилось вычисление площади.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью программы Statistica 10 (StatSoft, США). Большинство данных не соответствовали закону нормального распределения, поэтому рассчитывали медиану, верхний и нижний квартили. Для сравнения полученных показателей использовали непараметрический U-критерий Манна–Уитни. Различия считались достоверными при показателе достоверности различий $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Полученные данные свидетельствуют, что на 7-е сутки после формирования полнослойного раневого дефекта кожи у белых крыс концентрация VEGF в сыворотке крови возрастает в 4 раза по сравнению с контролем (рисунок, а). При этом сывороточные концентрации маркеров альтерации и воспалительной активации эндотелиальных клеток – синдекана-1 и sE-селектина на 7-е сутки после формирования полнослойного дефекта кожи возрастают в 4,4 (рисунок, б) и 2,2 раза (рисунок, в) соответственно. Концентрация VEGF увеличивается в 1,7 раза в период с 7-х по 14-е сутки эксперимента, к 14-м суткам превышая значения интактных животных в 6,5 раз (рисунок, а). Значимой динамики концентраций синдекана-1 и sE-селектина в период между 7-ми и 14-ми сутками после формирования дефекта кожи у крыс не обнаружено (рисунок, б, в). Следовательно, при заживлении полнослойного дефекта кожи у белых крыс без использования покрытий отмечается выраженная активация ангиогенеза до 14-х суток эксперимента, которая сопровождается альтерацией эндотелиального гликокаликса и воспалительной активацией эндотелиоцитов.

Следует отметить, что на 7-е сутки эксперимента у крыс группы сравнения отмечалось сокращение площади раневого дефекта, которая в среднем составила 32,3 (28; 46) мм². К 14-м суткам исследования площадь раны у животных группы сравнения значимо ($p < 0,001$) уменьшалась по сравнению с 7-ми сутками и составляла 6,3 (5; 16) мм².

Результаты биохимических исследований сыворотки крови у крыс опытной группы № 1 свидетельствуют, что при закрытии раневого дефекта кожи полилактидным микрокамерным покрытием без активных компонентов концентрация VEGF и синдекана-1 на 7-е сутки эксперимента не имеют значимых отличий относительно значений группы сравнения в тот же срок наблюдения (рисунок, а, б). При этом концентрация sE-селектина в крови у крыс опытной группы № 1 на 7-е сутки эксперимента на 16 % меньше, чем в группе сравнения в тот же срок наблюдения (рисунок, в). Относительно контроля на 7-е сутки эксперимента у крыс опытной группы № 1 в сыворотке крови повышены концентрации VEGF в 3,4, синдекана-1 в 3,6 раза, а sE-селектина на 88 % (рисунок).

Согласно данным рисунка, а, на 14-е сутки эксперимента уровень VEGF в сыворотке крови животных опытной группы № 1 статистически значимо ниже на 48 % значений группы сравнения в тот же срок наблюдения. Однако при закрытии дефекта кожи раневым покрытием без активных компонентов концентрация VEGF у животных на 14-е сутки экспери-

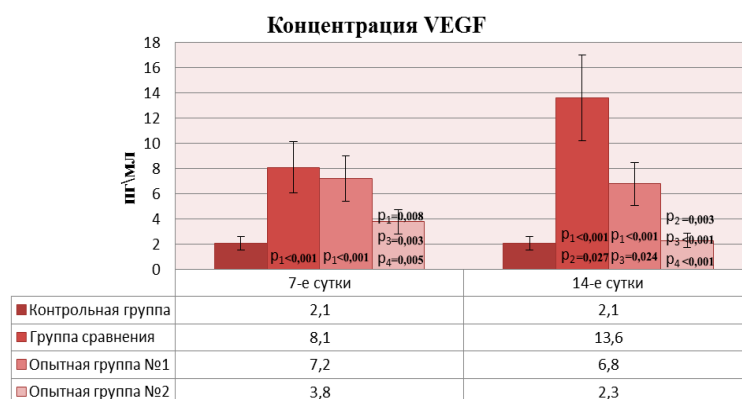
мента в 3,2 раза превышает контрольные значения и не имеет отличий по сравнению со значениями 7-х суток. Уровень маркера альтерации эндотелиального гликокаликса – синдекана-1 в крови у животных опытной группы № 1 не имеет значимых отличий от такового у крыс группы сравнения на 14-е сутки эксперимента. На 14-е сутки концентрация в крови синдекана-1 увеличена относительно контрольных значений в 3,5 раза. Тенденция к уменьшению среднего значения концентрации синдекана-1 у крыс опытной группы № 1 в период между 7-ми и 14-ми сутками эксперимента статистической значимости не достигает (рисунок, б). На 14-е сутки эксперимента опытная № 1 и сравнительная группы значимых отличий в уровне sE-селектина не имеют. При этом концентрация в крови sE-селектина у животных опытной группы № 1 повышена по сравнению с контрольными значениями на 51 % (рис. 1, в).

Макроскопически отмечается, что у животных опытной группы № 1 на 7-е сутки эксперимента площадь раны сокращалась в среднем до 23,4 (20; 36) мм², что статистически значимо меньше ($p = 0,008$), чем у крыс группы сравнения. Через 2 недели у 40 % животных опытной группы № 1 кожная рана эпителизовалась полностью, площадь раны в группе в среднем составила 4,4 (0; 10) мм².

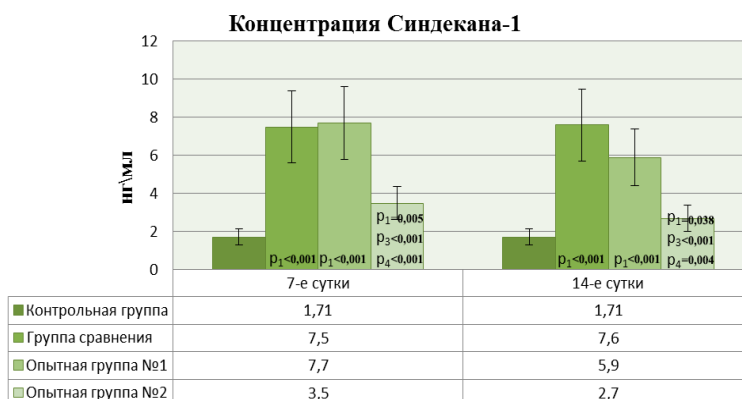
Таким образом, под влиянием полилактидного покрытия без активных компонентов у белых крыс с полнослойным дефектом кожи на 1-й неделе уменьшается воспалительная активация эндотелиоцитов. На второй неделе ангиогенная активность у крыс опытной группы № 1 не снижается, но становится ниже таковой у животных, которым раны не закрывались.

Результаты, представленные на рис. 1, свидетельствуют, что при закрытии полнослойного дефекта кожи полилактидным покрытием с таниновой кислотой активация ангиогенеза, сопровождающаяся альтерацией эндотелиального гликокаликса и воспалительной активацией эндотелиоцитов выражены меньше, чем у крыс группы сравнения. Так, на 7-е сутки эксперимента у животных, которым рана закрывалась покрытием с таниновой кислотой, концентрации VEGF и Синдекана-1 в 2 раза, а E-селектина в 1,7 раза меньше, чем у крыс группы сравнения в тот же срок наблюдения. Вместе с тем на 7-е сутки эксперимента у крыс опытной группы № 2 отмечается повышение сывороточных концентраций VEGF, E-селектина и синдекана-1 относительно контрольных значений на 81 %, 31 % и в 2 раза соответственно. По сравнению с аналогом без активных компонентов раневое покрытие, содержащее таниновую кислоту, вызывает уменьшение сывороточных концентраций VEGF на 47 %, синдекана-1 на 54 %, а E-селектина на 30 % у животных на 7-е сутки после формирования дефекта кожи.

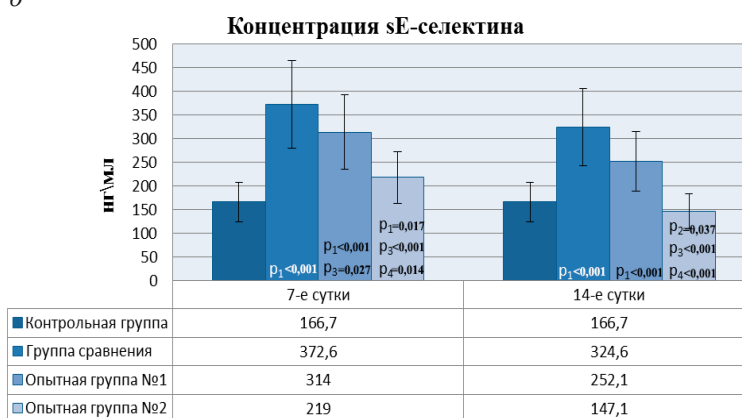
На 14-е сутки эксперимента в опытной группе № 2 концентрации VEGF в 5,9, синдекана-1 в 2,8, а E-селектина в 2,2 раза меньше, чем у крыс группы сравнения. При этом, концентрации VEGF и E-селектина соответствуют значениям интактных животных, а уровень синдекана-1 превышает контроль на 58 %. В этот срок наблюдения при исполь-



а



б



в

Сывороточные концентрации VEGF (а), синдекана-1 (б) и sE-селектина (в) у крыс сравнительной и опытной групп на 7-е и 14-е сутки: p_1 – различия статистически значимы ($p < 0,05$) по сравнению с контролем; p_2 – различия статистически значимы ($p < 0,05$) относительно 7-х суток в той же группе; p_3 – различия статистически значимы ($p < 0,05$) относительно группы сравнения в тот же срок наблюдения; p_4 – различия статистически значимы ($p < 0,05$) относительно раневого покрытия без активных компонентов в тот же срок наблюдения. Значения медианы для каждой из групп представлены под графиком.

Serum concentration of VEGF (а), syndecan-1 (б) and sE-selectin (в) in rats in comparison and experimental groups on the 7th and 14th days: p_1 – differences are statistically significant ($p < 0.05$) compared to control; p_2 – differences are statistically significant ($p < 0.05$) relative to the 7th day in the same group; p_3 – differences are statistically significant ($p < 0.05$) relative to the comparison group at the same observation period; p_4 – differences are statistically significant ($p < 0.05$) relative to the wound dressing without active components at the same observation period. The median values for each group are presented below the graph

зовании для закрытия раны покрытия с таниновой кислотой по сравнению с применением аналога без активных компонентов отмечается снижение сывороточных концентраций VEGF на 66 %, синдекана-1 на 54 %, а Е-селектина на 41 % (рисунок).

Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что у животных опытной группы, которым выполнялось закрытие раневого дефекта полилактонидным покрытием с таниновой кислотой, на 7-е сутки эксперимента площадь раны сокращалась в среднем до 15,6 (10,8; 21,2) мм². Площадь раны у животных опытной группы № 2 была значимо меньше ($p = 0,008$), чем у крыс группы сравнения и крыс

опытной группы № 1 ($p = 0,032$). Через 2 недели у 60 % животных опытной группы № 2 кожная рана эпителизировалась полностью, площадь раны в группе в среднем составила 5,1 (0; 8) мм². Значимых различий площади раны через 14 суток после наложения покрытий без активных компонентов и покрытий с микрокамерами, загруженными таниновой кислотой, не выявлено ($p = 0,927$).

Таким образом, таниновая кислота в составе покрытия вызывает выраженное снижение альтерации эндотелиального гликокаликса, воспалительной активации эндотелиоцитов и к 14-м суткам способствует полной нормализации концентрации стимулятора

ангиогенеза VEGF в крови животных с полнослойным дефектом кожи, что выражается ускорением темпов эпителизации раны.

В результате проведенных биохимических исследований установлено, что заживление полнослойного дефекта кожи у крыс сопровождается альтерацией и активацией эндотелия, характеризующимися повышением сывороточных концентраций синдекана-1 и sE-селектина в 4,4 и 2,2 раза, активацией ангиогенеза с увеличением концентрации VEGF в 4 и 6,5 раз на 7-е и 14-е сутки эксперимента. Известно, что интенсификация отщепления растворимой формы синдекана-1 в очаге воспаления обеспечивается различными ферментами, в том числе ферментами лейкоцитов [12], и свидетельствует об альтерации гликокаликса эндотелиальных клеток, нарушении адгезивных свойств и барьерных функций [13, 14]. Повышение экспрессии sE-селектина происходит под влиянием провоспалительных цитокинов и характеризует воспалительную активацию эндотелиальных клеток, обеспечивающую роллинг лейкоцитов и их последующую трансэндотелиальную миграцию в очаг воспаления [15]. Индукторами повышения продукции VEGF, как основного стимулятора ангиогенеза, при альтерации тканей выступают гипоксия, ацидоз, активные формы кислорода, воспалительные цитокины [16]. Выявленное повышение уровня VEGF в крови у крыс группы сравнения соответствует ранее опубликованным литературным данным [17]. Вместе с тем следует отметить, что на второй неделе эксперимента у крыс группы сравнения продолжается увеличение продукции VEGF, что свидетельствует о продолжающейся воспалительной реакции и вторичной альтерации тканей [16].

Для изучения механизмов сосудистых эффектов полилактидных покрытий были выполнены биохимические исследования маркеров альтерации, воспалительной активации эндотелиальных клеток и ангиогенеза. Обнаружено, что под влиянием полилактидного покрытия без активных компонентов у белых крыс с полнослойным дефектом кожи на 1-й неделе уменьшается концентрация sE-селектина относительно группы сравнения, что отражает снижение воспалительной активации эндотелиальных клеток, при этом значимых изменений концентрации синдекана-1 не выявлено. На второй неделе ангиогенная активность у крыс опытной группы № 1 не снижается, но становится ниже таковой у животных, которым раны не закрывались. Ранее было продемонстрировано, что полилактидные нанопленки и фибриллярные покрытия обеспечивают механическую защиту регенерирующих тканей, препятствуют вторичной альтерации тканей, способствуют пролиферации фибробластов и ускоряют заживление ран [18, 19]. Вероятно, что снижение воспалительной активации эндотелиальных клеток у крыс, которым закрытие дефекта проводилось с помощью полилактидных покрытий без активных компонентов, и отсутствие нарастания продукции VEGF на 2-й неделе эксперимента обусловлено явлением уменьшения вторичной альтерации.

Таким образом, полилактидные покрытия без активных компонентов не влияют на развитие альтерации эндотелия, но ограничивают воспалительную

активацию эндотелиальных клеток на первой неделе после формирования полнослойного дефекта кожи, а также ограничивают нарастание проангиогенной активности на второй неделе эксперимента.

Установлено, что полилактидные покрытия с таниновой кислотой к 14-м суткам вызывают снижение сывороточных концентраций VEGF на 66 %, синдекана-1 на 54 % и sE-селектина на 30–41 % по сравнению с аналогом без активных компонентов. При этом уровень VEGF в крови у животных опытной группы № 2 полностью нормализуется и находится в пределах вариабельности контрольной группы, что указывает на завершение активной фазы ангиогенеза. Ранее были описаны антиангиогенные эффекты пролонгированного высвобождения таниновой кислоты в подкожной клетчатке [20]. В этой связи было сделано предположение, что ограничение избыточного ангиогенеза может также вносить вклад в ускорение нормализации локального кровотока при использовании раневого покрытия с микрокамерами, заполненными таниновой кислотой. В настоящее время проводятся исследования возможностей использования для заживления ран биоадгезивов, содержащих таниновую кислоту, авторского коллектива из США и Китая, результаты которого указывают на двухфазное изменение экспрессии VEGF в зоне раневого дефекта кожи. С помощью иммуногистохимического окрашивания авторы выявили увеличение в сравнении с естественным заживлением экспрессии CD31 (кластер детерминации 31), PDGF (тромбоцитарный фактор роста) и VEGF на 7-й день под влиянием таниновой кислоты. Вместе с тем на 14-й день эксперимента уровни экспрессии CD31, PDGF и VEGF стали ниже, чем при естественном заживлении. В этой связи авторы заключают, что редукция избыточного ангиогенеза содействует регенерации кожи без рубцов на более поздней стадии (стадии ремоделирования) заживления ран [21]. Следовательно, одновременно двумя независимыми исследованиями была выявлена способность таниновой кислоты ограничивать ангиогенез на поздних стадиях заживления ран. Причины различий эффектов на ранних стадиях (7-суток) могут быть обусловлены различными свойствами носителей, использованных для доставки таниновой кислоты в рану.

Снижение сывороточных концентраций синдекана-1 может быть связано с уменьшением лейкоцитарной инфильтрации зоны раневого дефекта при его закрытии покрытием с таниновой кислотой, так как ферменты нейтрофилов обеспечивают отщепление компонентов гликокаликса от эндотелиоцитов [12]. Полученные результаты собственных исследований согласуются с данными литературы, касающимися эффектов таниновой кислоты на структурные изменения при заживлении кожной раны. Так, при применении растворов таниновой кислоты была описана полная редукция нейтрофильной инфильтрации к 10-му дню эксперимента [22]. Учитывая то, что основными стимуляторами экспрессии sE-селектина на поверхности эндотелиоцитов являются воспалительные цитокины, динамика его концентрации у крыс опытной группы № 2 может объясняться описанным

в литературе снижением под влиянием таниновой кислоты в растворе или в составе адгезива продукции интерлейкина-1-бета и фактора некроза опухоли-альфа [21, 22].

Таким образом, покрытия с таниновой кислотой вызывают снижение альтерации эндотелиального гликокаликса и воспалительной активации эндотелиоцитов, что проявляется уменьшением сывороточных концентраций синдекана-1 на 54 % и sE-селектина на 30–41 % по сравнению с аналогом без активных компонентов, а к 14-м суткам способствует полной нормализации концентрации стимулятора ангиогенеза VEGF в крови животных с полнослойным дефектом кожи.

Заключение

Заживление полнослойного дефекта кожи у крыс сопровождается альтерацией и активацией эндотелия, что выражается повышением сывороточных концентраций синдекана-1 и sE-селектина в 4,4 и 2,2 раза, активацией ангиогенеза с увеличением концентрации VEGF в 4 и 6,5 раз на 7-е и 14-е сутки эксперимента. Покрытия с таниновой кислотой вызывают снижение альтерации эндотелиального гликокаликса и воспалительной активации эндотелиоцитов, что проявляется уменьшением сывороточных концентраций синдекана-1 на 54 % и sE-селектина на 30 % и 41 % по сравнению с аналогом без активных компонентов, а к 14-м суткам способствует полной нормализации концентрации стимулятора ангиогенеза VEGF в крови животных с полнослойным дефектом кожи.

Полученные результаты исследования свидетельствуют, что полилактидные раневые покрытия с микрокамерами, заполненными таниновой кислотой, оказывают значительное влияние на течение раневого процесса, что обуславливает перспективы применения данного метода лечения в клинической практике. Вместе с тем обязательным условием для начала клинических испытаний является всесторонняя оценка безопасности. Поэтому перспективы дальнейшей разработки темы связаны с исследованием морфологических изменений, направленных на выявление гистопатогенных эффектов, а также параметров системного воспалительного ответа и реакций эндогенной антиоксидантной системы на применение таниновой кислоты.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare that they have no conflict of interest.

Источник финансирования / Funding

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В. И. Разумовского» Минздрава России «Разработка микрокамерных раневых покрытий, обеспечивающих локальную модуляцию оксидативного гомеостаза тканей». / The study was supported by the state assignment of the Razumovsky Saratov State Medical University of the Ministry of Health of Russia «Development of microchamber wound dressings providing local modulation of tissue oxidative homeostasis».

Литература / References

1. Sen CK. *Human Wounds and Its Burden: An Updated Compendium of Estimates. Advances in wound care.* 2019; 8(2):39-48. Doi: 10.1089/wound.2019.0946.
2. Agrawal P, Soni S, Mittal G, Bhatnagar A. Role of polymeric biomaterials as wound healing agents. *Int J Low Extremity Wounds.* 2014;13(3):180-190. Doi: 10.1177/1534734614544523.
3. Negut I, Dorcioman G, Grumezescu V. Scaffolds for Wound Healing Applications. *Polymers.* 2020;12(9):2010. Doi: 10.3390/polym12092010.
4. Zhang J, Song C, Han Y, Xi Z, Zhao L, Cen L, Yang Y. Regulation of inflammatory response to polyglycolic acid scaffolds through incorporation of sodium tripolyphosphate. *Eur Polym J.* 2020;122:109349. Doi: 10.1016/j.eurpolymj.2019.109349.
5. Joseph B, Augustine R, Kalarikkal N, Thomas S, Seantier B, Grohens Y. Recent advances in electrospun polycaprolactone based scaffolds for wound healing and skin bioengineering applications. *Mater Today Commun.* 2019;19:319-335. Doi: 10.1016/j.mtcomm.2019.02.009.
6. Hamad K. Properties and medical applications of poly (lactic acid): A review. *Express Polym Lett.* 2015;9(5):435-455. Doi: 10.3144/expresspolymlett.2015.42.
7. Radhakumary C, Antonty M, Sreenivasan K. Drug loaded thermoresponsive and cytocompatible chitosan based hydrogel as a potential wound dressing. *Carbohydr Polym.* 2011;83(2):705-713. Doi: 10.1016/j.carbpol.2010.08.042.
8. Wang X, Cheng F, Liu J, Smatt JH, Gepperth D, Lastusaari M, Xu C, Hupa L. Biocomposites of copper-containing mesoporous bioactive glass and nanofibrillated cellulose: Biocompatibility and angiogenic promotion in chronic wound healing application. *Acta biomater.* 2016;46:286-298. Doi: 10.1016/j.actbio.2016.09.021.
9. Cheng M, Hu L, Xu G, Pan P, Liu Q, Zhang Z, He Z, Wang C, Liu M, Chen L, Chen J. Tannic acid-based dual-network homogeneous hydrogel with antimicrobial and pro-healing properties for infected wound healing. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2023;227:113354. Doi: 10.1016/j.colsurfb.2023.113354.
10. Смотровин С.М., Довнар Р.И., Васильков А.Ю. и др. Влияние перевязочного материала, содержащего наночастицы золота или серебра, на заживление экспериментальной раны // Журн. ГТМВ. – 2012. – № 1. – С. 75–80. [Smotrin SM, Dovnar RI, Vasilkov AY, Prokopchik NI, Ioskevich NN. The effect of dressing material containing gold or silver nanoparticles on the healing of an experimental wound. *J Grodno State Med University.* 2012;1(37):75-80. (in Russ.)].
11. Иванов А.Н., Ермаков А.В., Ленгерт Е.В. и др. Раневое микрокамерное покрытие из полилактида и способ его получения. Патент № 281120; заявл. 2023117375/04(037127) от 30.06.2023. Опубликовано: 11.01.2024 Бюл. № 2. [Ivanov AN, Ermakov AV, Lengert EV, Stepanova TV, Savkina AA, Kiriya TS. Wound microchamber coating made of polylactide and method for its production. Patent 2811200, Appl. 2023117375/04(037127) 06/30/2023. Published: 01/11/2024 Bull. No. 2.2023. (in Russ.)].
12. Gopal S. Syndecans in Inflammation at a Glance. *Front Immunol.* 2020;11:227. Doi: 10.3389/fimmu.2020.00227.
13. McDonald, KK, Cooper S, Danielzak L, Leask RL. Glycocalyx Degradation Induces a Proinflammatory Phenotype and Increased Leukocyte Adhesion in Cultured Endothelial Cells under Flow. *PloS one.* 2016;11(12):e0167576. Doi: 10.1371/journal.pone.0167576.
14. Voyvodic PL, Min D, Liu R, Williams E, Chitalia V, Dunn AK, Baker AB. Loss of syndecan-1 induces a pro-inflammatory phenotype in endothelial cells with a dysregu-

lated response to atheroprotective flow. *J Biol Chem.* 2014; 289(14):9547-9559. Doi: 10.1074/jbc.M113.541573.

15. Silva M, Videira PA, Sackstein R. E-Selectin Ligands in the Human Mononuclear Phagocyte System: Implications for Infection, Inflammation, and Immunotherapy. *Front Immunol.* 2018;8:1878. Doi: 10.3389/fimmu.2017.01878.

16. Shaik-Dasthagirisheeb YB, Varvara G, Murmura G, Saggini A, Potalivo G, Caraffa A, Antinolfi P, Tete S, Tripodi D, Conti F, Cianchetti E, Toniato E, Rosati M, Conti P, Speranza L, Pantalone A, Saggini R, Theoharides T C, Pandolfi F. Vascular endothelial growth factor (VEGF), mast cells and inflammation. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2013;26(2):327-335. Doi: 10.1177/039463201302600206.

17. Johnson KE, Wilgus TA. Vascular Endothelial Growth Factor and Angiogenesis in the Regulation of Cutaneous Wound Repair. *Adv Wound Care (New Rochelle).* 2014;3(10):647-661. Doi: 10.1089/wound.2013.0517.

18. Aoki S, Kinoshita M, Miyazaki H, Saito A, Fujie T, Iwaya K, Takeoka S, Saitoh D. Application of poly-L-lactic acid nanosheet as a material for wound dressing. *Plast Reconstr Surg.* 2013;131(2):236-240. Doi: 10.1097/PRS.0b013e3182789c79.

19. Bi H, Feng T, Li B, Han Y. In Vitro and In Vivo Comparison Study of Electrospun PLA and PLA/PVA/SA Fiber Membranes for Wound Healing. *Polymers.* 2020;12(4):839. Doi: 10.3390/polym12040839.

20. Saveleva MS, Ivanov AN, Kurtukova MO, Atkin VS, Ivanova AG, Lyubun GP, Martyukova AV, Cherevko EI, Sarg-syan AK, Fedonnikov A S, Norkin IA, Skirtach AG, Gorin DA, Parakhonskiy BV. Hybrid PCL/CaCO₃ scaffolds with capabilities of carrying biologically active molecules: Synthesis, loading and in vivo applications. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2018;85:57-67. Doi: 10.1016/j.msec.2017.12.019.

21. Wu K, Fu M, Zhao Y, Gerhard E, Li Y, Yang J, Guo J. Anti-oxidant anti-inflammatory and antibacterial tannin-cross-linked citrate-based mussel-inspired bioadhesives facilitate scarless wound healing. *Bioact mater.* 2022;20:93-110. Doi: 10.1016/j.bioactmat.2022.05.017.

22. Chen Y, Tian L, Yang F, Tong W, Jia R, Zou Y, Yin L, Li L, He C, Liang X, Ye G, Lv C, Song X, Yin Z. Tannic Acid Accelerates Cutaneous Wound Healing in Rats Via Activation of the ERK 1/2 Signaling Pathways. *Adv Wound Care (New Rochelle).* 2019;8(7):341-354. Doi: 10.1089/wound.2018.0853.

Информация об авторах

Иванов Алексей Николаевич – д-р мед. наук, зав. отделением лабораторной диагностики Научно-исследовательского института травматологии, ортопедии и нейрохирургии, зав. Центральной научно-исследовательской лабораторией, зав. кафедрой нормальной физиологии им. И. А. Чувевского, Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского, г. Саратов, Россия, e-mail: lex558452@gmail.com, ORCID: 0000-0003-4061-5221.

Сахань Максим Алексеевич – ассистент кафедры нормальной физиологии им. И. А. Чувевского, младший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского, г. Саратов, Россия, e-mail: maksimsahan425@gmail.com, ORCID: 0009-0004-3909-657X.

Ермаков Алексей Вадимович – канд. физ.-мат. наук, старший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского, г. Саратов, Россия, e-mail: oualeksej@yandex.ru, ORCID: 0000-0001-8105-5932.

Савкина Ангелина Альбертовна – младший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского, г. Саратов, Россия, e-mail: sawkina.ange@yandex.ru, ORCID: 0000-0003-2357-400X.

Никитина Виктория Викторовна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры биохимии, старший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского, г. Саратов, Россия, e-mail: vik-nik72@mail.ru, ORCID: 0000-0002-8893-8612.

Степанова Татьяна Вячеславовна – младший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского, г. Саратов, Россия, e-mail: cnil-sgmu@mail.ru, ORCID: 0000-0001-8439-8033.

Ленгерт Екатерина Владимировна – младший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского, г. Саратов, Россия, e-mail: lengertkatrin@mail.ru, ORCID: 0000-0002-6447-2811.

Кириязи Татьяна Святославовна – кандидат биологических наук, доцент кафедры нормальной физиологии им. И. А. Чувевского, старший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского, г. Саратов, Россия, e-mail: fev.6171@yandex.ru, ORCID: 0000-0003-1180-5560.

Authors information

Ivanov Alexey N. – Doctor of Medical Sciences, Head, Department of Laboratory Diagnostics, Research Institute of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery; Head, Central Scientific Research Laboratory; Head, Department of Normal Physiology named after I. A. Chuevsky, Saratov State Medical University, Saratov, Russia, e-mail: lex558452@rambler.ru, ORCID: 0000-0003-4061-5221.

Sahan Maksim A. – Assistant, Department of Normal Physiology named after I.A. Chuevsky; Junior Researcher, Central Research Laboratory, Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, e-mail: maksimsahan425@gmail.com, ORCID: 0009-0004-3909-657X.

Ermakov Alexey V. – Candidate (PhD) of Physical and Mathematical Sciences, Senior Researcher, Central Research Laboratory, Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, e-mail: oualeksej@yandex.ru, ORCID: 0000-0001-8105-5932.

Savkina Angelina A. – Junior Researcher, Central Research Laboratory, Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, e-mail: sawkina.ange@yandex.ru, ORCID: 0000-0003-2357-400X.

Nikitina Victoria V. – Candidate (PhD) of Medical Sciences, Associate Professor, Department of Biochemistry, Senior Researcher, Central Research Laboratory, Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, e-mail: vik-nik72@mail.ru, ORCID: 0000-0002-8893-8612.

Stepanova Tatyana V. – Junior Researcher, Central Research Laboratory, Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, e-mail: cnil-sgmu@mail.ru, ORCID: 0000-0001-8439-8033.

Lengert Ekaterina V. – Junior Researcher, Central Research Laboratory, Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, e-mail: lengertkatrin@mail.ru, ORCID: 0000-0002-6447-2811.

Kiriyazi Tatyana S. – Candidate (PhD) of Biological Sciences, Associate Professor, Department of Normal Physiology named after I. A. Chuevsky, Senior Researcher, Central Research Laboratory, Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, e-mail: fev.6171@yandex.ru, ORCID: 0000-0003-1180-5560.