

*На правах рукописи*



Сухов Андрей Владимирович

**Оптимизация заживления операционных ран после реконструктивных вмешательств на  
коже в эксперименте**

3.1.9. Хирургия

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Москва - 2023

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, профессор

**Блинова Екатерина Валериевна**

**Официальные оппоненты:**

**Власов Алексей Петрович** – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарёва», кафедра факультетской хирургии с курсами топографической анатомии и оперативной хирургии, урологии и детской хирургии, заведующий кафедрой

**Грачёв Николай Сергеевич** – доктор медицинских наук, доцент, федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Институт детской хирургии и онкологии, директор института, кафедра хирургии с курсом онкологии, детской и реконструктивно-пластической хирургии, заведующий кафедрой

**Ведущая организация:** федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «4» марта 2024 г. в 14:00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.28 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д.8, стр.2.

С диссертацией можно ознакомиться в ЦНМБ ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д.37/1 и на сайте организации: [www.sechenov.ru](http://www.sechenov.ru)

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

Ученый секретарь диссертационного совета,  
доктор медицинских наук, профессор



**Семиков Василий Иванович**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

Кожа – самый крупный орган человеческого тела, обладающий огромным набором функций – от иммунологической защиты и формирования чувствительности до реализации свойств защитного барьера и контроля температуры и влажности [В.М. Kuehn, 2007]. Заболеваемость, ассоциированная с кожными ранами, остается высокой и обуславливает высокую медико-социальную и экономическую значимость этой проблемы во всем мире. Более того, в последнее десятилетие наблюдается рост первичной заболеваемости, хирургической активности по поводу раневых дефектов, в частности, ожогового и диабетического происхождения [W. Wang et al., 2019]. По данным последнего доклада экспертов ВОЗ более 300000 смертей ежегодно обусловлены последствиями кожных ран [М.А.М. Jahromi, 2018].

Раны характеризуются нарушением целостности кожи вследствие заболевания, травмы или повреждения [Н. Sorg, 2017]. Небольшие раны способны к самостоятельному заживлению без потребности в хирургическом или терапевтическом вмешательстве. Однако, обширные поражения кожи требуют незамедлительного и самого внимательного отношения. Наиболее опасными последствиями больших повреждений кожи являются кровотечение и вторичное инфицирование [Р.Н. Wang, 2018]. В зависимости от длительности раневого процесса кожные раны могут быть острые (острые повреждения вследствие несчастных случаев или хирургические нарушения целостности) и хронические. Сразу же после повреждения начинается сложный процесс ранозаживления, включающий ряд последовательно протекающих стадий: стадии тромбообразования, воспаления, регенерации и ремоделирования [N.W. Holly et al., 2020, S. Ramalingam et al.].

За последние два десятилетия применение наноматериалов в хирургии кожной раны получило довольно высокое распространение [К. Kalantari et al., 2020]. Среди наиболее актуальных достижений в области можно отметить применение наноматериалов для создания самоформирующихся покрытий на рану [Т. Shanmugasundaram et al., 2017]. Также наноструктуры рассматриваются как эффективные транспортные системы для таргетной доставки лекарственных средств, обладающих ранозаживляющим и противомикробным действием, в очаг повреждения и воспаления [У. Beshpalova et al., 2017, J. Geh et al., 2014]. Вместе с тем, чрезвычайная вариабельность материалов для создания лекарственных наночастиц, сохраняющаяся медико-социальная значимость проблемы лечения кожных ран диктуют необходимость продолжения изыскания эффективных и безопасных подходов к стимуляции ранозаживления, что обуславливает актуальность настоящей диссертационной работы.

## Степень разработанности темы

В настоящее время существует довольно широкий спектр наноматериалов, у которых показана способность к стимуляции ранозаживления, в том числе, в сочетании с антимикробными, анестезирующими и иными свойствами [G.A. Seisenbaeva et al., 2017]. К таковым относятся полимерные материалы – липосомы, целлюлоза, карбид кремния, а также металлы и металлоиды. Все они могут обладать собственной активностью либо допироваться другими молекулами. При этом, формы, в которых указанные наночастицы применяются в хирургической практике, включают коллоидные растворы, эмульсии, мази, пластыри, самоформирующиеся повязки, аэрозоли и др.

Ранее в нашей лаборатории совместно с учеными отдела химии, технологии синтетических лекарственных средств и аналитического контроля АО «ВНЦ БАВ» (г. Старая Купавна) в сотрудничестве с к.м.н. Д.В. Пахомовым была разработана аэрозольная форма наночастиц оксида церия. В экспериментах на животных с сахарным диабетом первого и второго типа топическое применение этой формы позволило не только ускорять ранозаживление, но добиваться формирования противомикробного действия в отношении штамма *S.aureus*, стимулировать ангиогенез в очаге повреждения [Пахомов Д.В., 2022].

## Цель и задачи

Провести экспериментально-хирургическое обоснование эффективности применения водорастворимого гидрогеля на основе наночастиц коллоидного раствора оксида церия для лечения неосложненной кожной раны.

1. Изучить динамику заживления линейной кожной раны крысы, прочность формирующегося рубца и его косметические свойства на фоне курсового топического применения коллоидного раствора наночастиц оксида церия в форме гидрогеля.

2. Определить закономерности закрытия полнослойной циркулярной неосложненной кожной раны крысы при местном воздействии коллоидного раствора наночастиц оксида церия в форме гидрогеля.

3. Изучить морфологические особенности 2-4 фаз раневого процесса и влияние на них коллоидного раствора наночастиц оксида церия в форме гидрогеля у экспериментальных животных с открытой плоскостной неосложненной кожной раной.

4. Установить характер влияния наночастиц оксида церия в форме гидрогеля на некоторые звенья местной регуляции асептического воспаления, свободнорадикальных реакций, пролиферации и дифференцировки грануляционной ткани в раневом ложе экспериментального плоского дефекта кожи.

5. Изучить влияние топического воздействия наночастиц оксида церия в форме гидрогеля на неоангиогенез в регенерирующей ране с определением диагностического потенциала метода лазерной speckle-фотометрии в оценке кровотока в моменте времени.

6. Исследовать влияние топического применения коллоидного раствора наночастиц оксида церия в форме гидрогеля на заживление и косметические результаты Z-образной кожной пластики округлой полнослойной кожной раны минипига с планированием лоскутов по Лимбергу.

### **Научная новизна**

Впервые проведено комплексное экспериментально-хирургическое исследование эффективности курсового топического применения коллоидного раствора наночастиц церия в форме гидрогеля на открытые линейную и циркулярную полнослойную неосложненную кожную рану крыс и на область кожно-пластического закрытия округлой кожной раны минипигов.

Установлено, что топическое курсовое применение 1% коллоидного раствора наночастиц оксида церия в смеси с N-ацетил-6-аминогексановой кислотой в форме водорастворимого гидрогеля ускоряет заживление линейной кожной раны у крыс Sprague-Dawley, что сопровождается повышением в среднем на 31,4% при сравнении с контролем прочности формирующегося рубцового соединения. При анализе косметических результатов заживления линейной раны показано сокращение площади поверхности рубца, отсутствие его депигментации, эритематозных изменений и телеангиэктазий, атрофических и гипертрофических процессов в области соединения.

Показано, что курсовое (однократно в сутки) воздействие наночастиц оксида церия в форме гидрогеля на неосложненную циркулярную полнослойную кожную рану крыс приводит к сокращению срока полного закрытия раны в среднем до 16,3 сут, уменьшению площади поверхности рубца в среднем до 51,4 мм<sup>2</sup>. Установлено, что в основе полученного эффекта лежит ограничение распространенности и глубины воспалительной реакции, сокращение масштаба инфильтративного процесса. На основе анализа экспрессии маркера Ki-67 и гена *FGFR3* подтверждено ускорение созревания грануляционной ткани и начала реэпителизации.

Установлено, что местное воздействие 1% коллоидного раствора наночастиц оксида церия в смеси с N-ацетил-6-аминогексановой кислотой в форме водорастворимого гидрогеля у животных к 5-м суткам наблюдения приводит к ограничению роста тканевой концентрации провоспалительных цитокинов ФНО-альфа и ИЛ-1бета наряду с повышением уровня противовоспалительного цитокина ИЛ-10 в грануляционных тканях раны, что создает благоприятный баланс межклеточной сигнализации в очаге ранозаживления.

Впервые выявлено, что местное применение 1% НФОЦ однократно в сутки модулирует баланс между свободнорадикальными и антиоксидантными механизмами, позволяет избежать чрезмерной активации липопероксидации, что, в комплексе с другими факторами, сдерживает течение воспалительной фазы раневого процесса и ускоряет ранозаживление.

Показано, что топическое применение 1% коллоидного раствора наночастиц оксида церия в гидрогеле в течение 9 суток, предшествующих анализу, приводит к росту плотности CD34+ эндотелиоцитов в формирующихся грануляциях, что отражает интенсификацию формирования кровеносных капилляров, обеспечивающих плотность микрососудов на уровне  $11,3 \pm 0,5$  на  $1 \text{ см}^2$  площади поверхности ткани. При применении инновационного метода лазерной speckle-фотометрии для оценки уровня кровотока в моменте времени в группе животных, получавших топическое лечение 1% коллоидным раствором наночастиц церия в виде гидрогеля, к 5-м суткам наблюдения был зарегистрирован максимальный рост интегрального показателя регионарного кровотока в моменте времени до  $8,4 \pm 0,4$ , что свидетельствовало об ускорении патофизиологического процесса ангиогенеза, обеспечивающего потребности в быстро размножающихся грануляционных тканях, выстилающих дно раны.

В работе установлено, что локальное воздействие наночастицами оксида церия на область Z-образной кожной пластики округлого дефекта кожи минипигов с планированием лоскутов по Лимбергу повышает прочность рубцового соединения и сопровождается однонаправленным (при сопоставлении с результатами, полученными на крысах) косметическими результатами в виде уменьшения площади поверхности рубца, отсутствия пигментных и эритематозных изменений окружающих тканей, атрофических и гипертрофических процессов в области соединения.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Проведенное исследование имеет большое практическое значение. Полученные результаты о ранозаживляющем действии 1% коллоидного раствора оксида церия в форме водорастворимого гидрогеля могут быть с успехом использованы при проведении последующих исследований инновационной хирургической технологии и обладают высоким трансляционным потенциалом для реальной клинической практики.

Полученные результаты обосновывают режим и кратность топического использования наночастиц – при применении 1% коллоидного раствора оксида церия в форме гидрогеля его следует наносить равномерным слоем толщиной до 1 мм на открытую раневую поверхность однократно в сутки в течение 10-15 суток.

Инновационный метод лазерной speckle-фотометрии, примененный в условиях экспериментальной кожной раны может быть использован для неинвазивной и точной оценки интенсивности кровотока и динамики ангиогенеза на поверхности неэпителизированных свежих кожных раневых дефектов.

### **Методология и методы исследования**

Настоящая диссертация представляет собой экспериментально-хирургическое исследование, выполненное с использованием в качестве объекта исследования лабораторных животных двух видов – крыс линии Sprague-Dawley и минипигов. Целесообразность привлечения двух видов животных обосновывается тем, что лабораторные грызуны – крысы – являются наиболее удобным объектом для воспроизведения данного типа экспериментальной патологии, в международной научной периодике имеется большой массив статей, описывающих как способ моделирования кожной раны на этом виде грызунов, так и клиническую и молекулярно-генетическую характеристику этапов раневого процесса при его осложненном и неосложненном течении.

Поскольку разработка новых и / или оптимизация существующих подходов к хирургии кожной раны представляется комплексной и междисциплинарной проблемой, требующей в своей методологической основе привлечения методов молекулярной биологии, биохимии, органической и физической химии, фармакологии, биомеханики и биоинженерии, этот принцип был положен в построение методологического фундамента настоящего диссертационного исследования, сочетающего в себе основополагающие элементы гносеологической теории познания – сочетания единства научного замысла и поставленных цели и задач, комплексного подхода к их решению, использования необходимой и достаточной доказательной базы для каждого положения диссертации.

В работе изучена эффективность 1% коллоидного раствора наночастиц оксида церия в форме водорастворимого гидрогеля, любезно представленная учеными АО «ВНЦ БАВ» (Старая Купавна).

Для воспроизведения экспериментальной патологии использовали модель линейной кожной раны крысы, циркулярной полнослойной неосложненной кожной раны крысы, а также модель округлой полнослойной кожной раны минипига с Z-образной пластикой дефекта и планированием лосутов по Лимбергу.

Динамику ранозаживления на фоне топического применения гидрогеля с наночастицами оксида церия проводили методом фотофиксации раны с последующей программной обработкой изображений и подсчетом площади раны и рубцового соединения. Определение влияния гидрогеля с наночастицами оксида церия на косметические характеристики

формирующегося кожного соединения проводили по шкале SCAR. При окрашивании срезов тканей раневого ложа гематоксилином и эозином и цитохимическим окрашиванием по Ван-Гизону определение влияния гидрогеля с наночастицами оксида церия на динамику морфологических процессов в кожной ране.

Изучение влияния гидрогеля с наночастицами оксида церия на активность свободнорадикальных процессов и антирадикальный статус в кожной ране проводили методом железоиндуцированной хемилюминисценции, концентрацию про- и противовоспалительных цитокинов в области воспаления определяли количественным ИФА типа «сэндвич». Проллиферативный потенциал в регенерирующей ране оценивали методами ИГХ, а экспрессию гена *FGFR3* – методом ПЦР в режиме реального времени с подтверждением результатов секвенированием по Сэнгеру.

Исследование влияния гидрогеля с наночастицами оксида церия на течение процесса неоангиогенеза в области раневого дефекта проведено с помощью ИГХ определения плотности CD34+ эндотелиоцитов и путем применения инновационной методики лазерной speckle-фотометрии.

Анализ данных проводили методами вариационной статистики с использованием лицензионного пакета статистических программ STATA 17.0.

### **Личный вклад автора**

Автор выдвинул идею выполнения настоящего исследования, самостоятельно провел глубокий анализ зарубежных и отечественных литературных источников, сформулировал и обосновал научную гипотезу, предложил использование в качестве способа стимулирования ранозаживления топическое применение на область кожного дефекта водорастворимого гидрогеля, содержащего 1% коллоидный раствор наночастиц оксида церия, лично автором обоснована необходимость привлечения всего спектра методологических инструментов для ответа на поставленные задачи. Автор лично выполнял работы по моделированию линейной и циркулярной кожной раны крысы, округлой кожной раны минипига, планировал кожные лоскуты по Лимбергу и проводил Z-образную пластику. Автор непосредственно участвовал в оценке динамики ранозаживления, прочностных и косметических эффектов технологии. Автор включенно участвовал в выполнении иммуногистохимических, морфологических, иммуноферментных и молекулярных исследований. При непосредственном участии автора проведены speckle-фотометрические исследования. Автор самостоятельно провел обобщение и анализ результатов. Диссертант принял самое деятельное участие в подготовке научных публикаций по теме диссертации, самостоятельно написал рукопись и автореферат работы.



### **Положения, выносимые на защиту**

1. Топическое применение 1% коллоидного раствора наночастиц оксида церия в смеси с N-ацетил-6-аминогексановой кислотой в форме гидрогеля один раз в сутки курсом 10 суток приводит к ускорению заживления линейной хирургической раны кожи крыс и минипигов с повышением прочности рубцового соединения. Применение лечебной технологии сопровождается заметным косметическим эффектом.

2. Местное использование 1% коллоидного раствора наночастиц оксида церия в смеси с N-ацетил-6-аминогексановой кислотой в форме гидрогеля один раз в сутки курсом 12 суток вызывает ускорение заживления полнослойной циркулярной неосложненной кожной раны крысы с сокращением площади формирующегося рубца. В основе эффекта лечебной технологии лежит сдвиг межклеточной сигнализации в сторону повышения продукции противовоспалительных цитокинов, ограничение амплитуды свободнорадикальных реакций в области раневого дефекта, активация неоангиогенеза, что на фоне индукции пролиферации и дифференцировки грануляционной ткани сокращает сроки течения асептического воспаления, чрезмерную продукцию коллагена и ускоряет реэпителизацию раны.

3. Применение инновационного метода лазерной speckle-фотометрии позволяет оценивать уровень кровотока в поверхностно расположенных свежих грануляционных тканях регенерирующей раны и по уровню достоверности результатов соответствует иммуногистохимическому определению плотности образованных капилляров на основании оценки экспрессии CD34+ эндотелиоцитов.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 3.1.9. Хирургия, области исследований п. 2 Разработка и усовершенствование методов диагностики и предупреждения хирургических заболеваний, п.4 Экспериментальная и клиническая разработка методов лечения хирургических болезней и их внедрение в клиническую практику, п.6 «Экспериментальная и клиническая разработка современных высокотехнологичных методов хирургического лечения, в том числе эндоскопических и роботических».

### **Степень достоверности и апробации результатов**

Достоверность сформулированных по результатам выполненной диссертационной работы выводов и положений обосновывается строгим следованием протоколу исследования и принципам биоэтики, неукоснительным соблюдением процедур получения исходных данных, их регистрации и учета, использованием в исследовании лицензионного программного обеспечения, валидированных методов получения доказательств, сертифицированного и поверенного оборудования, лабораторных животных, приобретенных в сертифицированных

питомниках, формированием объема выборки необходимого и достаточного для получения репрезентативных результатов, корректных и современных методов медико-биологической статистики.

Апробация диссертационной работы проведена на заседании кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), протокол №9 от 19 сентября 2023 г.

Результаты представленного диссертационного исследования докладывались и обсуждались на XXVIII Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2022,23), XXIII Международном конгрессе «Здоровье и образование в XXI веке» (Москва, 2022).

### **Публикации по теме диссертации**

По результатам исследования автором опубликовано 5 работ, в том числе: 2 научных статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета/ Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук; 1 статья в издании, индексируемом в международной базе данных Scopus; 1 патент на изобретение; 1 публикация в сборнике материалов всероссийской научной конференции.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация написана по традиционному плану, включает следующие разделы: введение, главу 1 – литературный обзор, главу 2 с описанием материалов и методов исследования, главу 3 с результатами исследований эффективности технологии у крыс линейной и циркулярной полнослойной кожной раной, главу 4 с результатами экспериментально-хирургического исследования на минипигах, главу 5, обобщающую результаты и заключающую исследование.

Диссертация изложена на 137 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 24 рисунками и 13 таблицами. Библиографический список содержит выходные данные 169 работ, из которых 5 работ отечественных и 164 – зарубежных авторов.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Материалы и методы исследования

Настоящая диссертация представляет собой экспериментально-хирургическое исследование, выполненное на 60 лабораторных крысах-самцах Sprague-Dawley весом 180-220 г, приобретенных в питомнике ФГБУН Институт биоорганической химии имени академиков Шемякина и Овчинникова Российской академии наук (г. Пущино) и 10 минипигах-самцах весом 3,5-4,5 кг, приобретенных в специальном питомнике лабораторных животных – филиале ФГБУН Центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства. Целесообразность привлечения двух видов животных обосновывается тем, что лабораторные грызуны – крысы – являются наиболее удобным объектом для воспроизведения данного типа экспериментальной патологии, в международной научной периодике имеется большой массив статей, описывающих как способ моделирования кожной раны на этом виде грызунов, так и клиническую и молекулярно-генетическую характеристику этапов раневого процесса при его осложненном и неосложненном течении.

Наночастицы церия были получены в отделе химии и технологии синтетических лекарственных средств и аналитического контроля АО «Всесоюзный научный центр по безопасности биологически активных веществ» (г. Старая Купавна Московской области). Получение исходной фармацевтической формы представляло собой растворение наноформы оксида церия в батарее гликолей различной концентрации, последующее добавление в полученный коллоидный раствор N-ацетил-6-аминогексановой кислоты с образованием стабильной смеси оксида церия и N-ацетил-6-аминогексаноата церия, структура которых представлена на рисунке 1.

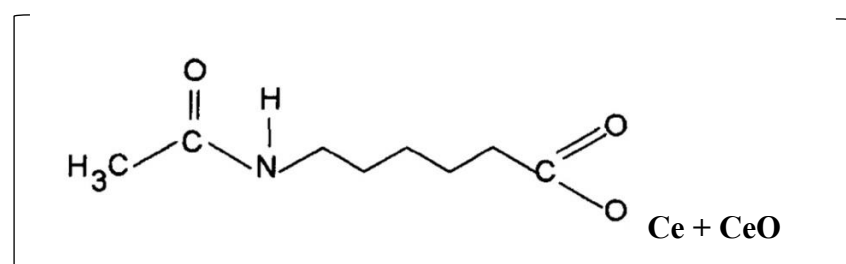


Рисунок 1 – Общая структура коллоидного раствора оксида церия – N-ацетил-6-аминогексаноата церия

Экспериментально-хирургического исследования включала 4 больших этапа. На первом этапе были сформулированы общая концепция работы, выдвинута и обоснована ее идея, определены цель и задачи исследования, выбрана методологическая база. Второй этап включал проведение экспериментально-хирургического исследования на крысах Sprague-Dawley. У

животных воспроизводили два классических вида кожной раны – линейную кожную рану и циркулярную полнослойную кожную рану (рисунок 2).

На модели ушитой линейной раны выполняли следующие виды исследований: 1) определение динамики ранозаживления на фоне топического применения гидрогеля с наночастицами оксида церия; 2) определение влияния гидрогеля с наночастицами оксида церия на косметические характеристики формирующегося кожного соединения по шкале SCAR ; 3) определение влияния гидрогеля с наночастицами оксида церия на прочность сформированного кожного рубца на приборе динамометр Ugo Basile (Италия) путем определения силы, прилагаемой для разрыва кожного соединения. На модели циркулярной полнослойной кожной раны изучали площадь раневого дефекта на 10, 15, 20 и 25 сутки при помощи программы ImageJ 8.0 (США), патоморфологическую картину с использованием как методов классической светооптической микроскопии (окраска гематоксилин и эозин), так и цитохимические (метод Ван-Гизона) и иммуногистхимические методы окрашивания кроличьи рекомбинантные моноклональные анти – CD34 (клон EP 373 Y, производитель Abcam, Великобритания) антитела и рекомбинантные моноклональные кроличьи анти – Ki67 антитела (клон S P 6, производитель Abcam, Великобритания), определения уровня про- и противовоспалительных цитокинов в ткани кожной раны (ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$ , ИЛ-10) с использованием количественного иммуноферментного (кИФА), изучали активность локальной антиокислительной системы в области экспериментальной раны, экспрессию рецептора фактора роста фибробластов (*FGFR3*) с использованием полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (rtПЦР). Методом лазерной speckle-фотометрии оценивали интенсивность ангиогенеза в кожной ране.



А



Б



В

Рисунок 2 – Экспериментально-хирургическое моделирование: А, Б -линейной кожной раны, В-циркулярной полнослойной кожной раны у половозрелого самца крысы Sprague-Dawley

На третьем этапе выполняли моделирование экспериментально-хирургической патологии на минипигах. У животных воспроизводили округлую полнослойную кожную рану с последующим ее закрытием кожным лоскутом (рисунок 3). Определяли время полного закрытия раневого дефекта, а также измеряли площадь кожного соединения в контроле и у животных, получавших местно наноформу коллоидного раствора оксида церия в смеси с N-ацетил-6-гексаноатом церия в виде 1% гидрогеля.

На четвертом – аналитическом – этапе проведена сводка полученных данных в общий информационный массив, для чего использовались технологические мощности программного обеспечения формирования базы данных RedCap. Выполнена статистическая обработка результатов, сформулированы выводы и основные положения, выносимые на защиту.

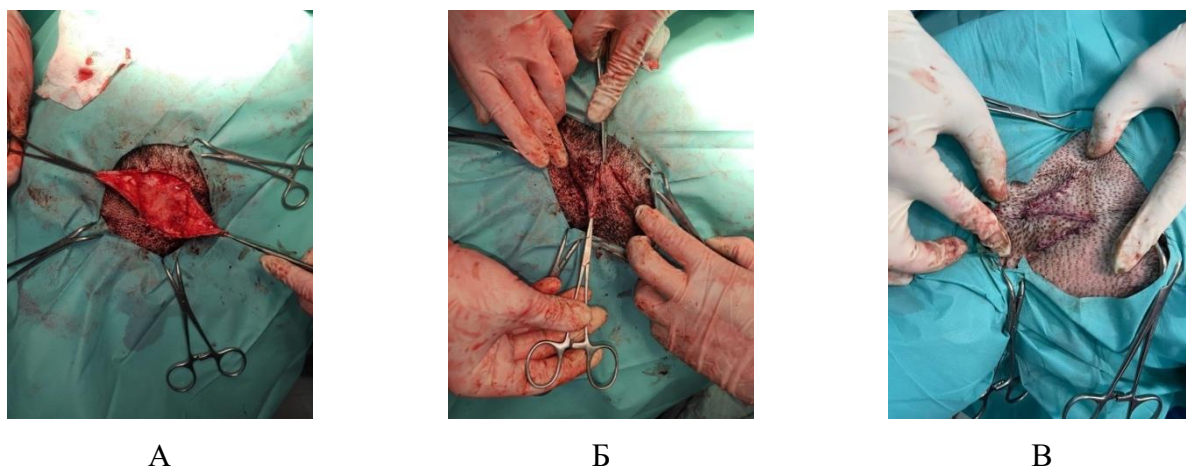


Рисунок 3 - Этапы операции на минипигах (Z-образная пластика по Лимбергу): А – формирование кожных лоскутов; Б – перемещение лоскутов; В – ушивание дефекта кожи

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

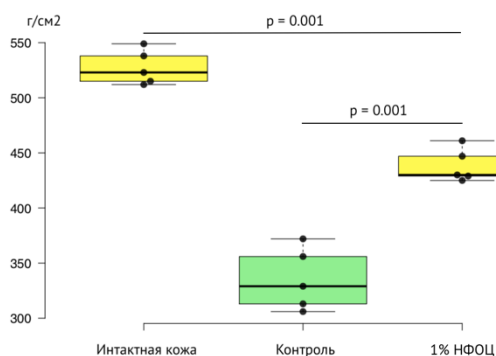
Топическое использование 1% коллоидного раствора наночастиц оксида церия в смеси с N-ацетил-6-аминогексановой кислотой в форме водорастворимого гидрогеля, ускоряло заживление линейной неосложненной кожной раны лабораторных крыс. В контрольной серии опытов время полного ранозаживления составляло в среднем  $10 \pm 1$  суток, тогда как при локальном ежесуточном нанесении наноформы 1% оксида церия в гидрогеле -  $6 \pm 2$  суток. Также изменялась и площадь кожного соединения в исходе линейного раневого процесса: в группе контрольных лабораторных крыс она была равна  $109 \pm 4$  мм, а на фоне локального применения наноформы 1% оксида церия в гидрогеле снижалась до  $88 \pm 3$  мм<sup>2</sup> (Таблица 1).

Таблица 1 – Быстрота полного закрытия кожной линейной раны крысы Sprague-Dawley и площадь рубцового соединения на фоне местного нанесения 1% НФОЦ (n = 5 в каждой группе)

Группа животных	Кратность местного применения	Время полного закрытия раны, сутки (M ± SD)	Площадь кожного рубца, мм <sup>2</sup> (M ± SD)
Контроль (гидрогелевый матрикс)	1 раз в сутки	10 ± 1	109 ± 4
1% НФОЦ	1 раз в сутки	6 ± 2*	88 ± 3*

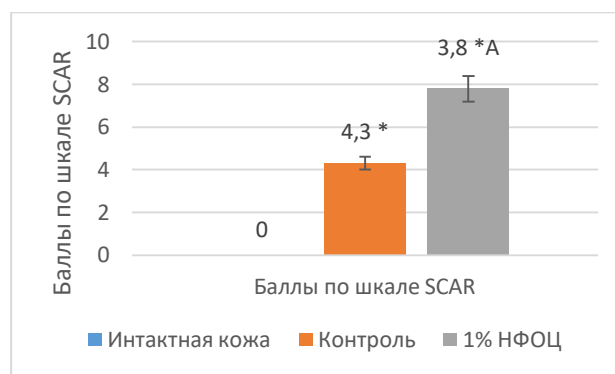
Примечание: \* p < 0,05 достоверность различий при сравнении с контролем (одномерный дисперсионный анализ, критерий Манна-Уитни)

Прочность рубцового соединения в исходе неосложненной кожной раны в контрольной группе животных заметно снижалась в среднем на 48% и достигала значения 325 г/см<sup>2</sup> (p = 0,001 при сравнении с интактной группой). Топическое нанесение один раз в сутки в течение 12 суток 1% коллоидного оксида церия в форме наночастиц в гидрогеле сопровождалось значимым повышением прочностных характеристик рубца – сила, требовавшаяся для разрыва кожного соединения возрастала до 427 г/см<sup>2</sup> (p = 0,001 при сравнении с контрольной группой), однако, не достигала значений интактной кожи (p = 0,001 при сравнении с интактной группой) (рисунок 4 А).



Достоверность различий определяли с помощью критерия ANOVA с последующим применением критерия Тьюки после проверки нормальности распределения одномерным дисперсионным анализом

А



Достоверность различий \* p < 0,05 достоверность различий при сравнении с интактной кожей; ^ p < 0,05 достоверность различий при сравнении с контролем (одномерный дисперсионный анализ, критерий Манна-Уитни)

Б

Рисунок 4 – А. Прочность рубцового кожного соединения в исходе линейной кожной неосложненной раны крыс-самцов Sprague-Dawley (измерение проведено на 14 сутки) на фоне локального применения 1% коллоидного раствора наноформы оксида церия в виде гидрогеля, Б. Комплексная интегральная оценка косметического результата заживления линейной кожной раны крыс по международной шкале SCAR на фоне топического применения 1% НФОЦ

При интегральной оценке эффективности ранозаживления в исследуемых группах с использованием универсальной международной шкалы SCAR в контрольной группе животных оценка в баллах составила 7,8 баллов, в группе, получавшей 1% НФОЦ - 4,3 балла ( $p < 0,05$  при сравнении с контролем) (рисунок 4Б).

На модели полнослойной циркулярной кожной раны у крыс топическое применение коллоидного раствора наночастиц церия вызывало ускорение полного закрытия дефекта кожи с уменьшением площади поверхности рубцового соединения (Таблица2). При этом, патоморфологически ранозаживление полнослойной циркулярной кожной неосложненной раны у крыс было представлено воспалительным асептическим процессом с выраженным интерстициальным отеком, гистиоцитарной и лимфоидной инфильтрацией тканей ложа раны и окружающих тканей к 5-10-м суткам после экспериментального моделирования раневого кожного дефекта, трансформирующимся в формирование фиброзной грубой рубцовой ткани к 20-м суткам наблюдения (рисунок 5А). Топическое применение гидрогеля с 1% коллоидным раствором наноформы оксида церия ограничивало распространенность и глубину воспалительной реакции, сокращало масштаб инфильтративного процесса, способствовало ускорению созревания грануляционной ткани и начала реэпителизации (рисунок 5В).

Таблица 2 – Динамика площади (в % к исходным значениям) кожной полнослойной циркулярной неосложненной раны крысы Sprague-Dawley контрольной группы (локальное использование только гидрогелевой основы) и животного, рану которого ежедневно обрабатывали 1% коллоидным раствором наноформы оксида церия в форме гидрогеля (1% НФОЦ)

Экспериментальная группа	Площадь раны (% от исходного значения в мм <sup>2</sup> )					Время полного закрытия раны, М ± SD, сутки	Средняя площадь рубца* в мм <sup>2</sup>
	Исходный размер раны	10-е сутки	15-е сутки	20-е сутки	25-е сутки		
крысы Sprague-Dawley							
Контроль	n = 20 100±0	n = 15 63±4	n = 10 42±3	n = 5 18±2	n = 5 0±0	22,8±1,6	94±5
1% НФОЦ	n = 20 100±0	n = 15 24±2 <sup>†</sup>	n = 10 11±3 <sup>†</sup>	n = 5 0±0 <sup>†</sup>	n = 5 0±0	16,3±1,8 <sup>†</sup>	51±4 <sup>†</sup>

Примечание: <sup>†</sup>  $p < 0,05$  при сравнении с контрольной группой животных (одномерный дисперсионный анализ, t-критерий Стьюдента); \* значение площади кожного рубца измеряли в сутки, следующие за днем полного закрытия кожного раневого дефекта

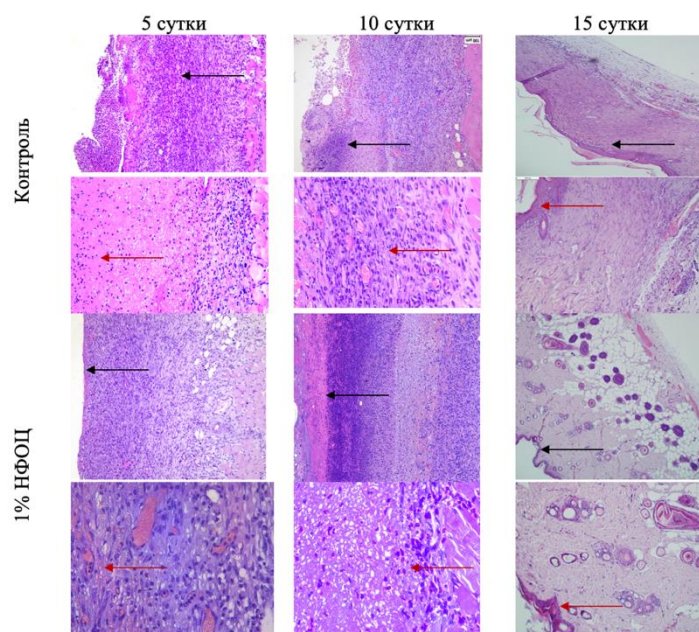
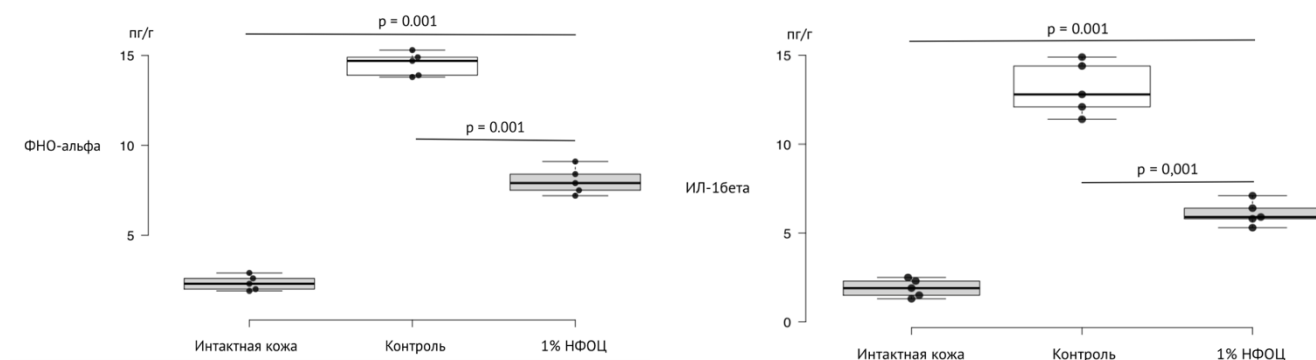


Рисунок 5 – А. Микрофотографии регенерирующей циркулярной полнослойной кожной раны крысы на 5-е, 10-е и 15-е сутки после формирования кожного дефекта, гематоксилин и эозин: ув. 200х.

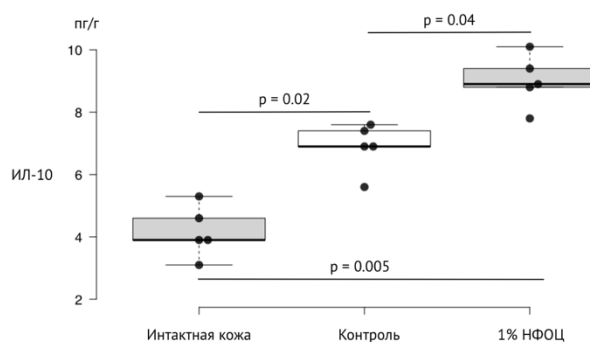
Поскольку в основе формирования воспаления лежит продукция провоспалительных цитокинов и хемокинов тучными, дендритными клетками, клетками Лангерганса, макрофагами, а также активация процессов свободнорадикальной липопероксидации, представляло большой научно-практический интерес изучить цитокиновый статус и активность антиоксидантных механизмов в регенерирующей ране под действием 1% НФОЦ. Для этого на 5 сутки наблюдения у 5 экспериментальных животных каждой серии, отобранных случайным образом и выведенных из эксперимента, острым способом забирали грануляционную ткань, в которой определяли количественное содержание провоспалительных цитокинов ФНО-альфа и ИЛ-1бета, а также противовоспалительного цитокина ИЛ-10 методом ИФА типа «сэндвич». Кроме того, на 5 сутки, а также на 10 сутки наблюдения в грануляционной ткани определяли активность свободнорадикальных реакций и уровень антиоксидантной защиты.



А

Б





В.

Рисунок 6 – Концентрация провоспалительных (ФНО-альфа (А), ИЛ-1бета (Б)) и противовоспалительных (ИЛ-10 (В)) цитокинов в ткани кожной раны крысы на 5 сутки после операции и локального воздействия 1% НФОЦ

Местное воздействие 1% коллоидного раствора наночастиц оксида церия в смеси с N-ацетил-6-аминогексановой кислотой в форме водорастворимого гидрогеля у животных к 5-м суткам наблюдения приводило к ограничению роста тканевой концентрации провоспалительных цитокинов: ФНО-альфа – до  $2,4 \pm 0,3$  пг/г и ИЛ-1бета – до  $2,1 \pm 0,2$  пг/г ( $p < 0,05$  при сравнении с контрольными животными), однако значения показателей не достигали уровня неизменной кожи (рисунок 6 А,Б.). Наряду с этим уровень противовоспалительного цитокина ИЛ-10 в грануляционных тканях раны значительно повышался до  $2,4 \pm 0,3$  пг/г ( $p < 0,05$  при сравнении с контрольными животными), что создавало благоприятный баланс межклеточной сигнализации в очаге ранозаживления (рисунок 6В).

В то же время, полученные нами результаты изучения интенсивности гидроперекисных процессов, позволяют заключить, что местное применение 1% НФОЦ однократно в сутки модулирует баланс между свободнорадикальными и антиоксидантными механизмами, позволяет избежать чрезмерной активации липопероксидации, что, в комплексе с другими факторами, обеспечивает сдерживать течение воспалительной фазы раневого процесса и ускорять ранозаживление (таблица 3).

Одним из важнейших тканевых процессов, лежащих в основе регенеративного процесса в организме высших млекопитающих и, в том числе, человека, является формирование новых кровеносных сосудов – ангиогенез. Ангиогенез обеспечивает потребности растущих, размножающихся и дифференцирующихся клеток в кислороде и нутриентах, и, следовательно, детерминирует сроки, направление и масштаб регенерации.

Таблица 3 – Интенсивность гидроперекисных свободнорадикальных процессов (ГСП) и антиоксидантного потенциала (ААП) грануляционной ткани кожной полнослойной неосложненной раны лабораторных крыс на фоне топического воздействия 1% коллоидного раствора наночастиц оксида церия в гидрогеле (1% НФОЦ)

Экспериментальная группа	Активность железо-индуцированной хемилюминесценции ( $\times 10^3$ импульсов / с)			
	5-е сутки		10-е сутки	
	ГСП	ААП	ГСП	ААП
Интактная кожа <sup>А</sup>	2.7 ± 0.3	3.3 ± 0.2	3.0 ± 0.2	3.1 ± 0.3
Контроль	9.2 ± 0.5*	0.4 ± 0.1*	5.4 ± 0.2* <sup>†</sup>	1.5 ± 0.5* <sup>†</sup>
1% НФОЦ	5.7 ± 0.4* <sup>#</sup>	2.3 ± 0.3* <sup>#</sup>	3.8 ± 0.4 <sup>#†</sup>	4.7 ± 0.4 <sup>#†</sup>

Примечания: <sup>А</sup> – результаты получены в нашей экспериментальной операционной в совместном исследовании с кандидатом медицинских наук Д.В. Пахомовым; \*  $p < 0,05$  при сравнении с интактной кожей лабораторных животных; <sup>#</sup>  $p < 0,05$  при сравнении с тканью раны экспериментальных животных с полнослойной циркулярной кожной раной лабораторных животных (одномерный дисперсионный анализ, ANOVA; критерий Тьюки); <sup>†</sup>  $p < 0,05$  при сравнении с соответствующим показателем, зарегистрированным на 5-е сутки наблюдения (критерий Уилкоксона)

В нашем исследовании для изучения процесса ангиогенеза использовали два метода: метод иммуногистохимического окрашивания CD36+ эндотелия вновь образованных микрососудов, и второй – инновационный – подход был связан с применением метода лазерной speckle-фотометрии для фиксации кровотока в ткани в моменте времени.

Топическое применение 1% коллоидного раствора наночастиц оксида церия в гидрогеле в течение 9 суток, предшествующих анализу, приводило к росту интенсивности неоангиогенеза, что было наглядно видно по увеличению экспрессии CD34 эндотелиоцитами формирующихся кровеносных капилляров, обеспечивающих плотность микрососудов на уровне  $11,3 \pm 0,5$  на  $1 \text{ см}^2$  площади поверхности ткани (рисунок 7).

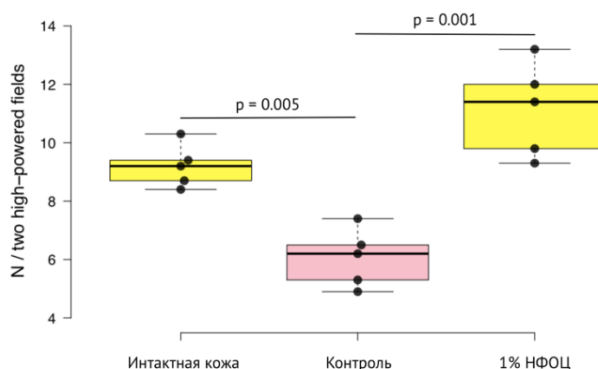


Рисунок 7 – Плотность сформированных капилляров и экспрессия CD34+ клетками эндотелия микрососудов кожи крыс Sprague-Dawley на 10-е сутки после формирования циркулярной полнослойной неосложненной кожной раны в контроле и на фоне локального использования 1% НФОЦ однократно в течение 9 дней предшествующих регистрации

На основе данных применения метода лазерной speckle-фотометрии для фиксации кровотока в ткани в моменте времени, в группе животных, получавших топическое лечение 1% коллоидным раствором наночастиц церия в виде гидрогеля, к 5-м суткам наблюдения был зарегистрирован максимальный рост интегрального показателя регионарного кровотока в моменте времени, что свидетельствовало об ускорении патофизиологического процесса ангиогенеза, обеспечивающего потребности в быстро размножающихся грануляционных тканях, выстилающих дно раны (таблица 4).

Таблица 4 – Интегральные показатели интенсивности регионарного кровотока по данным лазерной speckle-фотометрии интактной кожи и раневой поверхности на фоне 1% НФОЦ

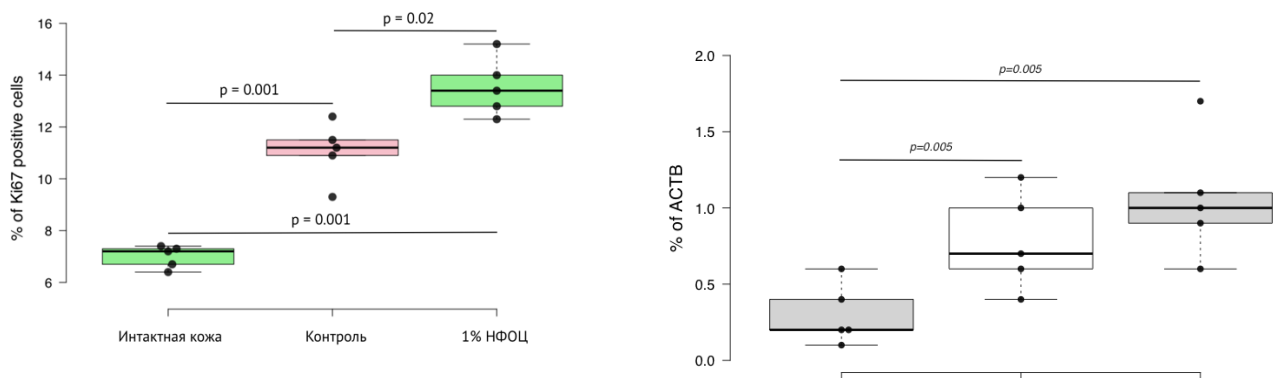
Экспериментальная группа	Время наблюдения		
	5-е сутки	10-сутки	15-сутки
Интактная кожа	n = 15 1,2 ± 0,2	n = 10 1,7 ± 0,3	n = 5 1,5 ± 0,4
Контроль	n = 15 5,1 ± 0,3*	n = 10 7,9 ± 0,4* <sup>#</sup>	n = 5 2,4 ± 0,5 <sup>#</sup>
1% НФОЦ	n = 15 8,4 ± 0,4* <sup>†</sup>	n = 10 4,8 ± 0,3* <sup>#†</sup>	n = 5 1,4 ± 0,4 <sup>#</sup>

Примечания: <sup>#</sup> p<0,05 при сравнении с соответствующим показателем, зарегистрированным на 5-е сутки наблюдения (критерий Уилкоксона); \* p<0,05 при сравнении с интактной кожей лабораторных животных; <sup>†</sup> p<0,05 при сравнении с тканью раны экспериментальных животных с полнослойной циркулярной кожной раной лабораторных животных (одномерный дисперсионный анализ, ANOVA; критерий Тьюки)

На 15-е сутки эксперимента, вследствие завершения процесса реэпителизации и заживления полнослойной циркулярной кожной раны, значение интегрального показателя снижалось до не отличающегося от интактной кожей значения. Проведенный эксперимент позволил сделать вывод о том, что, метод лазерной speckle-фотометрии может с успехом быть использован для оценки регионарного поверхностного кровотока как индикатор эволюции раны и активности ангиогенеза.

Фундаментальной основой восстановления целостности дефекта ткани служит формирование достаточной клеточной массы вследствие миграции в очаг поражения клеток-предшественников, их размножения, дифференцировки и созревания. Внутриклеточным маркером пролиферации и дифференцировки является цитоплазматический Ki67, при этом, указанный фактор неспецифичен и экспрессируется подавляющим большинством пролиферирующих клеток. Известно, что основная (по количеству) клеточная популяция, определяющая тканевую репарацию раны, формирующая грануляционную ткань, представлена фибробластами. В группе животных, получавших топическое лечение 1% коллоидным раствором наночастиц церия в виде гидрогеля, на 10-е сутки эволюции циркулярной кожной

полнослойной раны  $11,3 \pm 0,5\%$  пролиферирующих и дифференцирующихся клеток экспрессировали Ki67 (рисунок 8А).



Количественное определение Ki67-позитивных клеток дано как  $M \pm SD$ ; статистическая достоверность различий определена одномерным дисперсионным анализом с последующим применением ANOVA и критерия Тьюки;

$M \pm SD$ ; статистическая значимость различий определена одномерным дисперсионным анализом с последующим использованием, ANOVA и критерия Тьюки

А

Б

Рисунок 8 – А. Уровень экспрессии Ki67 клетками интактной кожи и грануляционной ткани кожной циркулярной неосложненной раны крыс Sprague-Dawley на 10-е сутки эксперимента в контроле и на фоне топического применения 1% НФОЦ, Б. Уровень экспрессии транскрипта гена *FGFR3*, выраженной в % к концентрации мРНК гена *ACTB*, в ткани, выполняющей раневое ложе кожного циркулярного полнослойного дефекта крыс на 10-е сутки патологического процесса в контроле и под действием локального применения 1% НФОЦ ежедневно

И, хотя к этому сроку закрытие ложа раны уже произошло, столь высокая экспрессия была обусловлена главным образом дифференцировкой клеток.

Специфическим маркером, позволяющим судить об активности пролиферации фибробластов, может служить рецептор фактора роста фибробластов 3 (FGFR3) и экспрессия одноименного гена, его кодирующего. Также на рассматриваемом сроке наблюдения обнаруживали конгруэнтные изменения экспрессии гена рецептора фактора роста фибробластов 3 типа, что свидетельствовало о стимуляции и ускорения дифференцировки специализированных клеток кожи под действием топического применения 1% НФОЦ (рисунок 8Б).

На заключительном экспериментальном этапе нашего исследования изучили влияние местного применения 1% коллоидного раствора наночастиц церия в виде гидрогеля на исход кожно-пластического Z-образного закрытия округлой кожной раны с планированием кожных лоскутов по Лимбергу. Топическое использование 1% коллоидного раствора наночастиц оксида церия в смеси с N-ацетил-6-аминогексановой кислотой в форме водорастворимого гидрогеля, ускорило заживление кожной раны в исходе Z-образной пластики с планированием

перемещаемых кожных лоскутов по Лимбергу, приводило к повышению прочности рубцового соединения по сравнению с контролем (рисунок 9А).

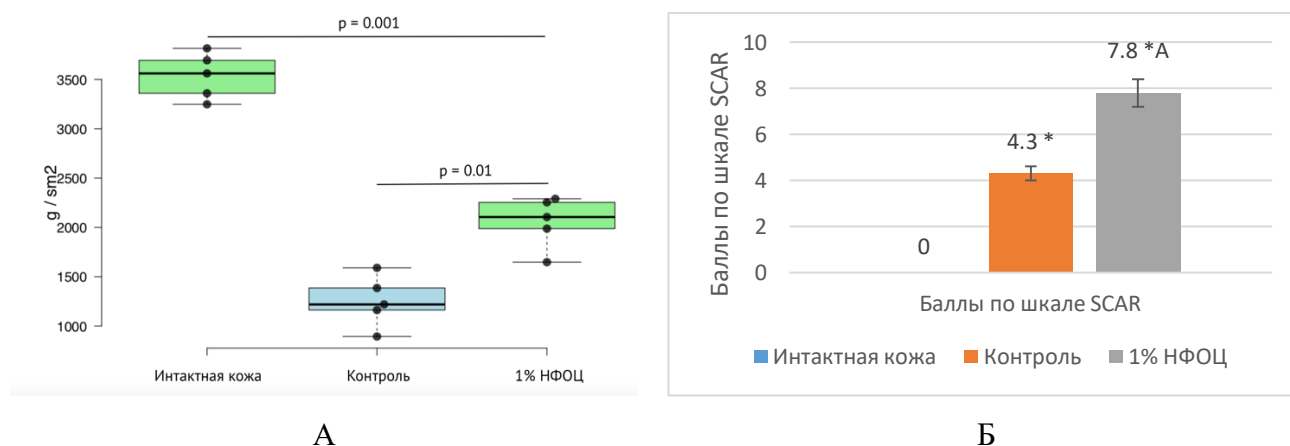


Рисунок 9 – А. Прочность рубцового кожно-пластического соединения в исходе Z-образной пластики неосложненной раны с планированием перемещаемых кожных лоскутов по Лимбергу минипигов (измерение проведено на 20 сутки) на фоне локального применения 1% коллоидного раствора наноформы оксида церия в виде гидрогеля: достоверность различий определяли с помощью критерия ANOVA с последующим применением критерия Тьюки после проверки нормальности распределения одномерным дисперсионным анализом, Б.Комплексная интегральная оценка косметического результата заживления кожной раны минипигов в исходе Z-образной пластики с планированием лоскутов по Лимбергу по международной шкале SCAR на фоне топического применения 1% НФОЦ: \*  $p < 0,05$  достоверность различий при сравнении с интактной кожей; <sup>A</sup>  $p < 0,05$  достоверность различий при сравнении с контролем (одномерный дисперсионный анализ, критерий Манна-Уитни)

Также сопровождалось благоприятными косметическими результатами. в виде уменьшения площади поверхности рубца, отсутствия его депигментации, эритематозных изменений и телеангиэктазий, атрофических и гипертрофических процессов в области рубца (рисунок 9Б).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведение экспериментально-хирургического исследования, основанного на воспроизведении трех моделей ранозаживления – заживления линейной раны у крыс, заживление циркулярной полнослойной неосложненной раны у крыс и кожная Z-образная пластика округлого дефекта кожи с планированием перемещаемых кожных лоскутов по Лимбергу у минипигов, позволило установить лечебные возможности 1% коллоидного раствора наночастиц оксида церия в форме водорастворимого гидрогеля при его курсовом топическом использовании на область раневого дефекта и формирующегося рубцового соединения.

Было установлено, что местное применение 1% НФОЦ сопровождается ускорением формирования кожного соединения линейного дефекта, заживления циркулярного полнослойного дефекта кожи у грызунов, при этом сокращение сроков заживления обусловлено ограничением масштаба воспалительного процесса, более ранней васкуляризацией формирующихся грануляций, активацией пролиферации и дифференцировки фибробластов, выполняющих раневое ложе. Клиническими результатами изученной экспериментально-хирургической технологии, кроме того, служат снижением площади рубцового соединения, повышением при сравнении с контролем его косметических свойств при повышении прочностных характеристик формирующегося рубца. Исследование инновационного местного средства в эксперименте на крупных животных приводило к однонаправленным с грызунами оптимизации косметических и механических свойств рубца в исходе кожной пластики.

Важным итогом работы может служить и то, что нами была продемонстрирована возможность метода лазерной speckle-фотометрии для оценки ангиогенеза в открытой кожной ране.

## **ВЫВОДЫ**

1. Топическое применение 1% коллоидного раствора наночастиц оксида церия в смеси с N-ацетил-6-аминогексановой кислотой в форме водорастворимого гидрогеля ускоряет заживление линейной кожной раны у крыс, приводит к повышению в среднем на 31,4% при сравнении с контролем прочности рубцового соединения и сопровождается благоприятными косметическими результатами в виде уменьшения площади поверхности рубца, отсутствия его депигментации, эритематозных изменений и телеангиэктазий, атрофических и гипертрофических процессов в области соединения.

2. Ежедневное воздействие наночастиц оксида церия на неосложненную циркулярную полнослойную кожную рану крыс сопровождается сокращением сроков полного закрытия раны, уменьшением площади поверхности рубца. В основе клинического эффекта лежит ограничение амплитуды местной воспалительной реакции в виде сокращения объема и времени тканевой инфильтрации, ускорения формирования и дифференцировки грануляционной ткани и синтеза межклеточного матрикса на основе коллагеновых волокон.

3. Локальное противовоспалительное действие 1% коллоидного раствора наночастиц оксида церия в форме гидрогеля обусловлено ингибированием продукции провоспалительных цитокинов ИЛ-1бета и ФНО-альфа с одновременной стимуляцией синтеза противовоспалительного ИЛ-10 в раневом ложе, а также ограничением локальных свободнорадикальных реакций на фоне поддержания антиоксидантного резерва тканей.

4. Местное воздействие наночастиц оксида церия приводит к активации неоангиогенеза: при сравнении с контролем повышается плотность CD34-позитивных эндотелиоцитов в свежих грануляциях. ИГХ- подтвержденный рост капилляров соответствует результатам оценки кровоснабжения тканей в моменте времени методом лазерной speckle- фотометрии.

5. Топическое воздействие наночастицами оксида церия на область Z- образной кожной пластики округлого дефекта кожи минипигов с планированием лоскутов по Лимбергу повышает прочность рубцового соединения и сопровождается однонаправленным (при сопоставлении с результатами, полученными на крысах) косметическими результатами.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Полученные результаты о ранозаживляющем действии 1% коллоидного раствора оксида церия в форме гидрогеля могут быть использованы при проведении последующих исследований инновационной хирургической технологии и ее трансляции в реальную клиническую практику.

2. При топическом применении 1% коллоидного раствора оксида церия в форме гидрогеля его следует наносить равномерным слоем толщиной до 1 мм на открытую раневую поверхность однократно в сутки.

3. Метод лазерной speckle-фотометрии может быть использован для оценки интенсивности кровотока и динамики ангиогенеза на поверхности неэпителизированных свежих кожных раневых дефектов.

### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ АВТОРОМ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Влияние топического применения наночастиц оксида церия на регенерацию тканей в эксперименте / Галиченко К.А., **Сухов А.В.**, Тимошкин С.П., Алхататнех Б.А.С., Мионов М.М., Елдырева М.В., Сорокваша И.В., Блинова Е.В. // **Медико-фармацевтический журнал Пульс**. 2023. Т. 25. № 5. С. 96-100.

2. Изучение процессов заживления послеоперационной раны при z-образной пластике кожи в эксперименте на фоне применения церийсодержащего соединения n-ацетил-6-аминогексановой кислоты / Галиченко К.А., Блинова Е.В., Симакина Е.А., **Сухов А.В.**, Шимановский Д.Н., Гилевская Ю.С., Скачилова С.Я., Тимошкин С.П., Кытько О.В., Сорокваша И.Н., Богоявленская Т.А. // **Оперативная хирургия и клиническая анатомия (Пироговский научный журнал)**. 2022. Т. 6. № 3. С. 5-11

3. Cerium-containing n-acetyl-6-aminohexanoic acid formulation accelerates wound reparation in diabetic animals / Ekaterina Blinova , Dmitry Pakhomov , Denis Shimanovsky , Marina Kilmyashkina,

Yan Mazov ,Tatiana Demura , Vladimir Drozdov , Dmitry Blinov , Olga Deryabina , Elena Samishina,Aleksandra Butenko , Sofia Skachilova , Alexey Sokolov , Olga Vasilkina , Bashar A. Alkhatatneh ,Olga Vavilova , **Andrey Sukhov** , Daniil Shmatok , Ия Sorokvasha , Oxana Tumutolova and Elena Lobanova // **Biomolecules**, 2021, 11(6), 834 [**Scopus**]

4.Изучение ранозаживляющей активности церий-содержащего соединения N-ацетил-6-аминогексановой кислоты при сахарном диабете 2 типа / Блинова Е.В., **Сухов А.В.**, Сорокваша И.Н., Шимановский Д.Н., Галиченко К.А., Скачилова С.Я. // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2022. Т. 21. № S2. С. 75-76.

5.Спрей для лечения инфицированных и неинфицированных ран при сахарном диабете I типа Скачилова С.Я., Ермакова Г.А., Блинова Е.В., Блинов Д.С., Алешина В.А., Симакина Е.А., Либерман Е.Ю., Кильмяшкина М.Ф., Мазов Ян.А., Соколов А.И., Пахомов Д.В., Шматок Д.О., **Сухов А.В.**, Коваленко П.С., Сорокваша И.Н., Проскурина О.В., Шилова Е.В., Желтухин Н.К. **Патент на изобретение 2790837 С2**, 28.02.2023. Заявка № 2021115803 от 02.06.2021

### **СПИСОК УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

ИГХ – иммуногистохимия

ИЛ- интерликин

ФНО- фактор некроза опухоли

НФОЦ- нанорма оксида церия