

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-337

**РАНОЗАЖИВЛЯЮЩИЙ ЭФФЕКТ РЕКОМБИНАНТНОГО ГМ-КСФ
И ЕГО ХИМЕРНОЙ ФОРМЫ НА МОДЕЛИ ОЖГОВЫХ РАН КРЫСЫ*****WOUND HEALING EFFECT OF RECOMBINANT GM-CSF
AND ITS CHIMERIC FORM IN A RAT BURN WOUND MODEL**К. И. Мосалев¹, А. А. Абышев^{1,2}, М. В. Котова¹, М. А. Карпов^{1,2}, С. М. Мирошниченко¹, М. Б. Пыхтина¹¹Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины СО РАН, Новосибирск
²Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава РоссииK. I. Mosalev¹, A. A. Abyshv^{1,2}, M. V. Kotova¹, M. A. Karpov^{1,2}, S. M. Miroshnichenko¹, M. B. Pykhtina¹¹Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine SB RAS, Novosibirsk
²Novosibirsk State Medical University

✉ mosalevkir@mail.ru

Аннотация

Рекомбинантные цитокины активно исследуются в качестве возможных фармакологических агентов для заживления различных ран. В данной работе изучено ранозаживляющее действие рекомбинантного ГМ-КСФ человека (rГМ-КСФ), а также его химерной формы с аполипопротеином А-I (pГМ-КСФ-АпоАI) на модели ожога III степени у крыс. Показано, что оба цитокина способствуют заживлению раны, однако химерная форма эффективнее снижает воспаление и стимулирует неангиогенез зрелых сосудов.

Abstract

Recombinant cytokines are being actively investigated as possible pharmacological agents for the healing of various wounds. In this work, we studied the wound healing effect of recombinant human GM-CSF (rGM-CSF) and its chimeric form with apolipoprotein A-I (rGM-CSF-ApoAI) on the model of III degree burns in rats. It was shown that both cytokines promote wound healing, but the chimeric form more effectively reduces inflammation and stimulates neoangiogenesis of mature vessels.

Термические повреждения являются достаточно распространенной причиной травматизма. Согласно статистическим данным ВОЗ, ожоговые раны ежегодно приводят к гибели около 180 000 человек. При этом основными причинами смерти после ожога являются сопутствующая инфекция и шок, обусловленные нарушением целостности эпителиального барьера и повышением проницаемости сосудов с потерей жидкости [1].

Показано, что применение ростовых факторов (в т. ч. ГМ-КСФ) сокращает время заживления ожоговых ран и при этом не вызывает значимых побочных эффектов [2].

В настоящей работе исследовали ранозаживляющие свойства rГМ-КСФ и pГМ-КСФ-АпоАI, полученные биосинтезом в дрожжах *P. Pastoris*, на модели ожоговой раны III степени у крыс Wistar. Ожог III степени вызывали на выбритом участке спины площадью 1 см² аппликацией нагретым в кипятке металлическим грузом. Препараты белков (4 мкг/мл rГМ-КСФ и 11,2 мкг/мл pГМ-КСФ-АпоАI) и контрольный буфер равномерно наносили аппликатором на область поражения с захватом здоровых тканей, начиная с 1 суток эксперимента. Верификацию гистологических изменений проводили на 3-и, 16-е и 25-е сутки. Кроме этого, осуществляли забор биоптатов кожи для измерения экспрессии генов цитокинов — маркеров раневого процесса.

К 16-м суткам после ожога в контрольных образцах и в присутствии rГМ-КСФ наблюдался обширный инфильтрированный очаг некроза, достигающий глубоких слоев дермы, в то время как в образцах кожи, обработанных pГМ-КСФ-АпоАI, он располагался поверхностно, и инфильтрация лейкоцитами была минимальна. В присутствии rГМ-КСФ поддерживалось повышенное содержание нейтрофилов, в то время как в контроле и в присутствии химерной формы происходило их резкое падение. В то же время химерная форма белка способствовала увеличению относительного содержания лимфоцитов (в 4,2 раза на 3 сутки и в 1,3 раза на 16 сутки, $p = 0,0006$) по сравнению с контролем. Воспалительный статус в присутствии rГМ-КСФ, возможно, объясняется чужеродностью белка, который имеет не более 56 % гомологии с цитокином грызунов, в то время как АпоАI относится к высококонсервативным белкам. Рекомбинантные цитокины к 16–25 суткам способствовали

* Работа выполнена по теме государственного задания № 1022072600029-5-1.6.2;1.6.8 в рамках бюджетного проекта № 122032200236-1 с использованием оборудования ЦКП «Протеомный анализ», поддержанного финансированием Минобрнауки России (соглашение № 075-15-2021-691).

формированию мелких и более крупных сосудов, высланных эндотелием. Применение рГМ-КСФ приводило к увеличению объемной плотности сосудов в ожоговой ране к 25-м суткам (V_v контроль — 0,63 против V_v рГМ-КСФ — 2,5), а обработка раны рГМ-КСФ-АпоА1 повышала соотношение м-РНК генов *Angpt1/Angpt2* в коже по сравнению с контролем ($p = 0,049$) на 16-е сутки. Данное наблюдение в совокупности с присутствием зрелых сосудов на 16-е и 25-е сутки в ранах, обработанных рГМ-КСФ-АпоА1, может свидетельствовать об ускорении процесса неоангиогенеза под влиянием химерного белка. Толщина эпидермиса у особей, обработанных рГМ-КСФ-АпоА1, к 25 суткам эксперимента была в 1,5 раза больше, чем у контрольных особей ($p = 0,00$), и контракция раны происходила быстрее.

Таким образом, рекомбинантные цитокины стимулируют заживление ожоговой раны, однако химерная форма рГМ-КСФ эффективнее снижает воспалительную инфильтрацию и способствует формированию зрелых кровеносных сосудов.

Литература

1. Tiwari V.K. Burn wound: How it differs from other wounds? // Indian J. Plast. Surg. 2012. Vol. 45(2). P. 364–373.
2. Zhang Yi, Wang Tao, He Jinguang, Dong Jiasheng. Growth factor therapy in patients with partial-thickness burns: a systematic review and meta-analysis // International Wound Journal. 2014. n/a–n/a.