

ОСОБЕННОСТИ ЗАЖИВЛЕНИЯ ТЕРМИЧЕСКОЙ РАНЫ В УСЛОВИЯХ СТИМУЛЯЦИИ НЕОКОЛЛАГЕНОГЕНЕЗА: ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ РАНДОМИЗИРОВАННОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Г. М. Могильная, Е. В. Фомичева*, К. И. Мелконян

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
ул. им. Митрофана Седина, д. 4, Краснодар, 350063, Россия

АННОТАЦИЯ

Введение. Известно, что заживление кожных ран различной этиологии — многоступенчатый процесс, характеризующийся определенными межклеточными взаимодействиями, влияющими на клетки дермы, их прикрепление, миграцию и дифференцировку. Этап восстановления его интерпретируется как возврат дермы к исходному состоянию. Однако на самом деле экстрацеллюлярный матрикс дермы имеет нарушенную организацию, что подавляет регулируемую и репозиторную функцию дермы, приводит к формированию рубца, который лишает участок повреждения ряда биологических функций и вызывает эстетические проблемы, связанные с мобильностью.

Цель исследования — оценить структурные особенности дермы при заживлении кожных ран в условиях использования биодеградируемого кальцийсодержащего имплантата.

Методы. Исследование выполнено на крысах (60 особей). Животным был нанесен ожог IIIa степени, затем животных разделили на 2 группы: опытная и контрольная. На 14-й день после нанесения ожога крысам опытной группы вводили биодеградируемый кальцийсодержащий имплант. В контрольной группе использовали стерильный физиологический раствор. Материал забирали в сроки, соответствующие 2 месяцам (74-й день) и 4 месяцам (134-й день). Для оценки морфологического состояния зоны ожога срезы окрашивали гематоксилином и эозином, по Маллори и Ван-Гизону. Для избирательно выявления коллагенов использованы иммуногистохимические тесты с антителами к коллагену I и III типов (Abcam, Англия). Для характеристики клеток дермы использовали антитела к виментину (LabVision, США), а также рецепторам CD-68 (cluster of differentiation 68), α -SMA (alpha-smooth muscle actin), CD-105 (cluster of differentiation 105), VEGF (vascular endothelial growth factor) (Abcam, Англия). Обработку результатов осуществляли с использованием программы Statistica 6 (StatSoft, США).

Результаты. Установлено, что введение биодеградируемого кальцийсодержащего филлера в срок, соответствующий процессу заживления ожога, обеспечивает локальную активацию фибробластов с образованием коллагена I и III типов. При пролонгировании времени пребывания имплантата до 4-х месяцев происходит увеличение числа макрофагов, экспрессирующих CD-68 рецепторы, причем клетки не меняют своей локализации, в то время как клетки, экспрессирующие α -SMA, локализуются на участке как поверхностного, так и глубокого компартментов дермы. Число клеток, экспрессирующих CD-105 и VEGF, также увеличивается.

Заключение. Полученные данные позволяют считать, что использование биодеградируемого филлера представляется перспективным в аспекте регенерации дермы после ожога и может обеспечить получение экстрацеллюлярного матрикса дермы, имеющего состав и сборку коллагеновой сети, приближенной к исходной. Макрофаги выступают

в роли главных регулировщиков синтеза экстрацеллюлярного матрикса дермы, стимулируют фибробласты, что обеспечивает реэпителизацию и ангиогенез зоны повреждения.

Ключевые слова: дерма, ожоговая рана, имплант, неоколлагеногенез, гидроксиапатит кальция, филлер

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Могильная Г.М., Фомичева Е.В., Мелконян К.И. Особенности заживления термической раны в условиях стимуляции неоколлагеногенеза: доклиническое экспериментальное рандомизированное исследование. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2022; 29(6): 53–66. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2022-29-6-53-66>

Получена: 22.03.2022

Получена после доработки: 29.08.2022

Принята к публикации: 30.09.2022

THERMAL INJURY HEALING IN THE CONTEXT OF NEOCOLLAGENOGENESIS INDUCTION: PRECLINICAL RANDOMIZED EXPERIMENTAL STUDY

Galina M. Mogilnaya, Evgeniya V. Fomicheva*, Karina I. Melkonian

Kuban State Medical University

Mitrofana Sedina str., 4, Krasnodar, 350063, Russia

ABSTRACT

Background. The healing of skin wounds having various etiologies is known to involve a multistep process characterized by certain intercellular interactions affecting dermal cells, their attachment, migration, and differentiation. Here, recovery is interpreted as the return of dermis to its original state. The fact is, however, that the dermal extracellular matrix (ECM) is structurally impaired, which suppresses the regulatory and repository functions of the dermis, leading to the formation of a scar that inhibits several biological functions in the affected area and causes aesthetic problems associated with mobility.

Objectives. To evaluate the structural features of dermis during wound healing using a calcium-containing biodegradable implant.

Methods. The study used 60 rats that were inflicted with a third-degree burn injury (partially damaged dermis). The selected animals were divided into two groups: experimental and control. On post-burn day 14, a calcium-containing biodegradable implant was administered to rats from the experimental group, while a sterile saline solution was used in the control group. Material was sampled at two months (74 days) and four months (134 days). In order to assess the morphological state of the burn area, its sections were stained with hematoxylin and eosin, according to Mallory and Van-Gieson. For the selective detection of collagens, immunohistochemical tests using antibodies to collagen types I and III (Abcam, England) were employed. To characterize dermal cells, the authors used antibodies to vimentin (LabVision, USA), as well as to CD-68 (cluster of differentiation 68), α -SMA (alpha-smooth muscle actin), CD-105 (cluster of differentiation 105), and VEGF (vascular endothelial growth factor) receptors (Abcam, England). The obtained results were processed using the Statistica 6 software (StatSoft, USA).

Results. The administration of a calcium-containing biodegradable filler during the burn healing process was found to ensure local fibroblast activation with the formation of collagen types I and III. When the implant residence time was prolonged up to four months, an increase in the number of macrophages expressing CD-68 receptors was observed. Of note is that these cells

retained their localization, while α -SMA-expressing cells were localized in both the superficial and deep dermal compartments. The number of cells expressing CD-105 and VEGF rose as well.

Conclusion. The use of the biodegradable filler is found to be promising in terms of post-burn dermal regeneration, as well as providing a dermal ECM, whose collagen network composition and assembly are similar to the original. Here, macrophages act as the primary synthesis regulators of the dermal ECM and stimulate fibroblasts, which ensures re-epithelialization and angiogenesis of the inflicted area.

Keywords: dermis, burn injury, implant, neocollagenogenesis, calcium hydroxyapatite, filler

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Mogilnaya G.M., Fomicheva E.V., Melkonian K.I. Thermal Injury Healing in the Context of Neocollagenogenesis Induction: Preclinical Randomized Experimental Study. *Kuban Scientific Medical Bulletin*. 2022; 29(6): 53–66 (In Russ.). <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2022-29-6-53-66>

Received: 22.03.2022

Received after revision: 29.08.2022

Accepted: 30.09.2022

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что заживление кожных ран различной этиологии — это многоступенчатый процесс, характеризующийся определенными межклеточными взаимодействиями, влияющими на клетки дермы, их прикрепление, миграцию и дифференцировку [1–8]. При этом процесс заживления разделяют на четыре последовательных этапа: фаза коагуляции и гомеостаза, воспалительная фаза, период пролиферации и фаза ремоделирования [9–12].

Первая фаза направлена на закрытие раневой поверхности с последующим формированием фибриновой пробки и клетками фибробластами экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ). Этап восстановления его интерпретируется как возврат дермы к исходному состоянию. Однако на самом деле ЭЦМ имеет нарушенную организацию, что подавляет регулируемую и репозиторную функцию дермы, приводит к формированию рубца, который лишает участок повреждения ряда биологических функций и вызывает эстетические проблемы, связанные с мобильностью [13–18].

Имеющийся на сегодняшний день прогресс в науке о биоматериалах и тканевой инженерии привел к разработке различных заменителей кожи, но упомянутые проблемы развивающейся репарации, а не регенерации остаются [19–22].

Современная стратегия тканевой инженерии выступает за использование собственных клеток пациента для создания *in vivo* васкуляризованного внеклеточного матрикса, отличающегося отсутствием экзогенного материала, ибо это может

привести к процессу физиологической регенерации [24–28].

Цель исследования — оценить структурные особенности дермы при заживлении кожных ран в условиях использования биodeградируемого кальцийсодержащего имплантата.

МЕТОДЫ

Экспериментальные животные

Эксперимент выполнен на 60 аутобредных крысах-самцах массой 250 ± 30 г, полученных из федерального государственного бюджетного учреждения «Питомник лабораторных животных «Рапполово» Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (НИЦ «Курчатовский институт» — ПЛЖ «Рапполово»).

Размещение и содержание

Животные находились под наблюдением в условиях виварного блока учебно-производственного отдела федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России) на стандартном пищевом рационе со свободным доступом к пище и воде¹.

Дизайн исследования

Нами проведено рандомизированное контролируемое исследование. Моделью для исследования послужили крысы-самцы с ожоговой раной. Эксперименты реализованы на базе

¹ ГОСТ 33044–2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики». Утвержден Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 20 ноября 2014 г. № 1700-ст.



Рис. 1. Блок-схема дизайна исследования.

Примечание: КГ1 — контрольная подгруппа 1; КГ2 — контрольная подгруппа 2; ОГ1 — опытная подгруппа 1; ОГ2 — опытная подгруппа 2.

Fig. 1. Schematic diagram of the research design.

Note: CS1 — control subgroup 1; CS2 — control subgroup 2; ES1 — experimental subgroup 1; ES2 — experimental subgroup 2.

кафедры гистологии с эмбриологией ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России. Блок-схема дизайна исследования представлена на рисунке 1.

Объем выборки

Животные были разделены на две группы: контрольная ($n = 30$) и опытная ($n = 30$). У всех животных был сформирован ожог IIIa степени². Опытным экспериментальным единицам вводили биодеградируемый кальцийсодержащий филлер (Radiesse, Германия), группе контрольных экспериментальных единиц вводили стерильный 0,9% изотонический раствор натрия хлорида. Введение препаратов осуществляли однократно на 14-е сутки после моделирования ожога. Забор материала производили через 2 (74 дня) и 4 месяца (134 дня). Различные сроки пребывания препарата в дерме были критерием деления животных на подгруппы. Распределение на подгруппы производилось через 2 месяца (74 дня) после введения препарата в случайном порядке

по 15 особей в экспериментальной и контрольной группах.

Критерии соответствия

Критерии включения

Для проведения эксперимента были отобраны самцы аутбредных крыс без внешних признаков заболеваний и анатомических нарушений.

Критерии не включения

В эксперимент не включались особи, вес которых отличался более чем на 50 г, и не включались особи женского пола.

Критерии исключения

Если в ходе исследования на любом этапе животные бы травмировали зону введения имплантата, нагноение в области раны также не позволило бы животному далее участвовать в эксперименте.

² Павленко С.Г., Шаблин Д.В., Хуранов А.А., Зобенко В.Я., Евглевский А.А. *Приспособление для моделирования экспериментальной ожоговой раны на животном*. Патент на полезную модель № 151026, зарегистрирован 11.02.2015 г. Патентообладатели: Павленко С.Г., Шаблин Д.В.

Рандомизация

Рандомизация проводилась методом «конвертов». С учетом критериев включения были отобраны 60 крыс, которых разделили на 2 группы: опытная (30 животных) и контрольная (30 животных).

Обеспечение анонимности данных

Распределение животных на группы и анализ результатов проводился авторами без введения дополнительных лиц.

Итоговые показатели исследования (исходы исследования)

Основной исход исследования — в результате использования биodeградируемого кальцийсодержащего импланта оценить достижение активации клеток дермы и переход клеток в неоколлагеногенез, ремоделирование экстрацеллюлярного матрикса дермы по типу исходного.

Критерием активации дермы и перехода ее клеток в неоколлагеногенез считали: наличие фибробластов дермы отростчатой формы с высокой экспрессией проколлагена, коллагена III, виментина, появление виментин-положительных структур в матриксе соединительной ткани; наличие миграции макрофагов в зону ожога; появление клеток с рецепторами CD-68 и α -SMA в поверхностном слое дермы.

Экспериментальные процедуры

Ожоговая рана моделировалась с использованием латунного цилиндра с площадью поверхности 706 мм² и массой 300 грамм, нагретого до 100 градусов в кипящей воде. Цилиндр прикладывался к депилированной коже животного в области холки на 15 секунд, что приводило к формированию ожога IIIa степени. В качестве анестетика использовали ингаляционный наркоз Севоран (Abbott, Англия). Затем экспериментальные животные были разделены на 2 группы: опытная (30 животных) и контрольная (30 животных). В рамках протокола эксперимента крысам опытной группы вводили препарат Radiesse на 14-й день после нанесения ожога. Введение филлера проводили субдермально в объеме 0,05 мл/эксп. ед. [29] на границе визуально определяемой «интактной кожи». Этот день считали точкой отсчета эксперимента. Для стандартизации введения препарата в контрольной группе использовали стерильный физиологический раствор, введение осуществляли субдермально в объеме 0,05 мл/эксп. ед.

Объектом исследования послужили фрагменты кожи, взятые в центре раневого дефек-

та, а также из участков неповрежденной кожи по периферии. Биологический материал забирали в сроки, соответствующие 2 и 4 месяцам. Проводку и заливку выполняли в процессорах фирмы Tissue-Tek VIP5Jr. (Япония). Из парафиновых блоков изготавливали срезы толщиной 4–5 микрон с использованием ротационного микротомы HM 340 E (MICROM Laborgerate GmbH, Германия).

Для оценки морфологического статуса зоны ожога срезы окрашивали гематоксилином и эозином, по Маллори, Ван-Гизону и Массону. Для избирательного выявления коллагенов использованы иммуногистохимические тесты с антителами к коллагену I и III типа (Abcam, Англия). Для характеристики клеток дермы использовали антитела к виментину (Lab.Vision), а также рецепторам CD-68 (cluster of differentiation 68), α -SMA (alpha-smooth muscle actin), CD-105 (cluster of differentiation 105), VEGF (vascular endothelial growth factor) (Abcam, Англия). Иммуногистохимические тесты проводили согласно протоколу. Для контроля окраски использовали эталоны позитивных и негативных образцов.

Полученные микропрепараты подвергали визуальному исследованию в окрасках гематоксилином и эозином, по Маллори, Ван-Гизону и Массону.

Уход за животными и мониторинг

Животные находились под наблюдением на стандартном пищевом рационе со свободным доступом к пище и воде. В ходе проведения исследования нежелательные явления не отмечены. Животных выводили из эксперимента. Вывод животных из эксперимента осуществлялся согласно рекомендациям Всемирного общества защиты животных, самым гуманным методом — путем передозировки наркоза (введение дозы, в 3 раза превышающей обычное количество препарата).

Статистические процедуры

Принципы расчета размера выборки

Предварительный расчет выборки не производился.

Статистические методы

Было проведено медицинское описательное исследование (серия случаев, т.е. для нескольких крыс использовали биodeградируемый кальцийсодержащий имплант, достигли активации клеток дермы, переход клеток в неоколлагеногенез, что привело к ремоделированию экстрацеллюлярного матрикса дермы по типу исходного). Выборка рассчитана исходя из необходимого

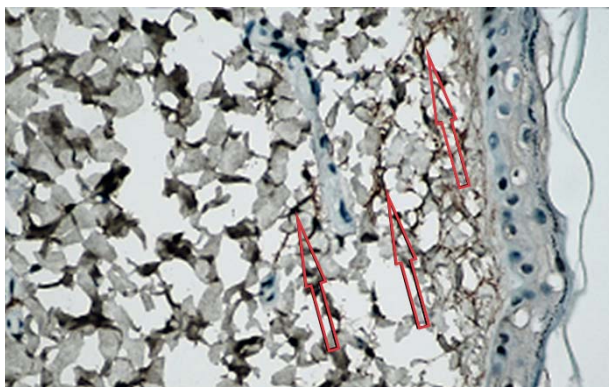


Рис. 2. Участок дермы в зоне ожога через 2 месяца после введения филлера. Иммуногистохимическая окраска на коллаген I типа. Увеличение $\times 400$.

Fig. 2. Dermis in the burn area two months following the filler administration. Immunohistochemical staining for type I collagen ($\times 400$ magnification).

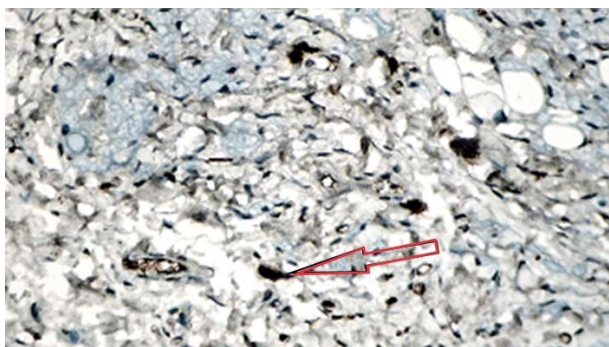


Рис. 3. Участок дермы в зоне ожога через 2 месяца после введения филлера. Иммуногистохимическая окраска на коллаген III типа. Увеличение $\times 400$.

Fig. 3. Dermis in the burn area two months following the filler administration. Immunohistochemical staining for type III collagen ($\times 400$ magnification).

количества животных для адекватного осуществления иммуногистохимического исследования. Для оценки статистической значимости различия показателей эксперимента при воздействии биодеградируемого кальцийсодержащего имплантата на соединительную ткань в условиях заживления термической раны использовали метод четырехпольной таблицы сопряжений. Различие считали значимым при $p < 0,05$. Обработку результатов осуществляли с использованием программы Statistica 6 (StatSoft, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Изучали микропрепараты от контрольной группы животных с термическим ожогом в период, соответствующий первому дню отторжения струпа, а это 14-й постожоговый день, зона повреждения уже эпителизовалась, эпидермис насчитывает от 3 до 5 клеточных рядов, но они плохо конту-

рированы, ядра клеток вакуолизированы. Дерма имеет вид коротких коллагеновых пучков, ориентированных неупорядоченно.

У экспериментальных животных участок ожога с находящимся в дерме филлером при окраске стандартным набором классических гистохимических реакций по Маллори и Ван-Гизону к сроку, соответствующему двум месяцам пребывания филлера в дерме, типичен в виде имплантата с микросферами, окруженного капсулой. В зоне над и под имплантом дерма организована по типу плотной соединительной ткани. При иммуногистохимическом выявлении коллагена I типа (рис. 2) реакцию обнаруживают фибробласты дермы, имеющие вид отростчатых клеток с высокой экспрессией проколлагена (обозначено на рисунке стрелкой). Зона локализации этих клеток соответствует глубокому компартменту дермы.

При выявлении коллагена III типа в зоне экстрацеллюлярного матрикса типична тонкая фибриллярная сеть с преимущественной локализацией в поверхностном компартменте. Здесь встречаются и фибробласты с высокой экспрессией коллагена III типа (рис. 3, обозначено стрелкой).

Изучение клеточного состава дермы у экспериментальных животных в условиях использования биодеградируемого скаффолда показало, что пребывание его в дерме в срок, соответствующий 2 и 4 месяцам, может интерпретироваться как наиболее активный период стимуляции фибробластов по пути синтеза коллагена. К этому сроку в зоне ожога разыгрывается пролиферативная фаза с эффектом миграции макрофагов, продуцирующих цитокины, стимулирующие пролиферацию фибробластов. Эта фаза протекает на фоне контакта макрофагов и фибробластов и может оцениваться как сигнал трансдукции между этими клетками.

При иммуногистохимическом выявлении виментина в срок, соответствующий двум месяцам, зона имплантата окружена четко выраженной соединительнотканной капсулой. К структурам, обнаруживающим высокую степень экспрессии виментина, относятся: во-первых, стенка микросфер, сформированная тонкими виментин-положительными фибриллами; во-вторых, крупные фибробласты с высоким уровнем экспрессии виментина, а также группы клеток, расположенные между микросферами, отдельные из этих клеток имеют цитоплазму вакуолизированного типа с умеренной степенью активности, не исключено, что это макрофаги (рис. 4).

На участке дермы вне импланта также удается выявить клетки с высокой экспрессией виментина, они заполняют зону сосочков, то есть поверхностный компартмент дермы, клетки небольшие по размеру, веретеновидной формы.

К сроку, соответствующему четырем месяцам пребывания скаффолда в дерме, уровень содержания виментина нарастает, этот феномен прослеживается для клеток, локализованных на участке поверхностного компартмента дермы, то есть в зоне сосочков, при этом часть этих клеток мигрирует в зону эпидермиса. Типируемые клетки становятся крупными, особенно клетки на границе с эпидермисом, степень экспрессии в них виментина сохраняется высокой.

Изучение распределения клеток, экспрессирующих CD-68 рецепторы, показало, что спустя 2 месяца после пребывания Radiesse в качестве импланта клетки с рецептором CD-68 в большом количестве скапливаются в поверхностном слое дермы. Клетки мелкие, отростчатые, с умеренной или даже высокой степенью экспрессии CD-68. В зоне самого импланта в этот срок выявляется небольшое число клеток с рецепторами CD-68. Внутри микросфер можно увидеть гомогенную массу с высоким уровнем экспрессии CD-68 (рис. 5).

При пролонгировании времени пребывания импланта до 4-х месяцев происходит миграция макрофагов, экспрессирующих CD-68 рецепторы. Однако клетки не меняют своей локализации, они колонизируют участок поверхностного компартмента дермы. Появление макрофагов с CD-68 может быть связано с нарастанием высоты сосочков дермы. В зоне глубокого компартмента они располагаются по одиночке, сохраняя высокую степень экспрессии CD-68.

При выявлении α -SMA спустя два месяца после введения препарата «радиесс» клетки, несущие этот рецептор, выявляются в зоне сохранившегося импланта, где они располагаются между микросферами и на участке капсулы, окружающей имплант (рис. 6).

В условиях пролонгации пребывания филлера до 4-х месяцев имплант уже отсутствует, клетки, экспрессирующие α -SMA, локализуются на участке как поверхностного, так и глубокого компартментов дермы. Местами встречаются волокна стресса с высоким уровнем содержания α -SMA (рис. 7).

При изучении распределения молекулярного маркера CD-105, выступающего в роли регулятора пролиферации клеток, оказалось, что спустя 2 месяца после введения препарата «радиесс» появляются клетки с рецепторами к CD-105, число их небольшое, с зоной локали-

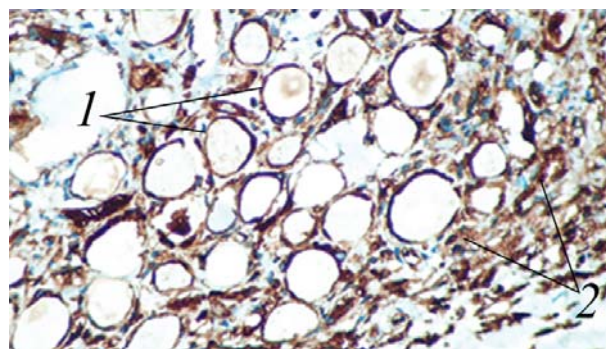


Рис. 4. Участок дермы в зоне ожога через 2 месяца после введения филлера. 1 — стенка микросфер, сформированная тонкими виментин-положительными фибриллами; 2 — виментин-положительные клетки. Иммуногистохимическая реакция. Увеличение $\times 400$.

Fig. 4. Dermis in the burn area two months following the filler administration. 1 — microsphere wall formed by thin vimentin-positive fibrils; 2 — vimentin-positive cells. Immunohistochemical reaction ($\times 400$ magnification).

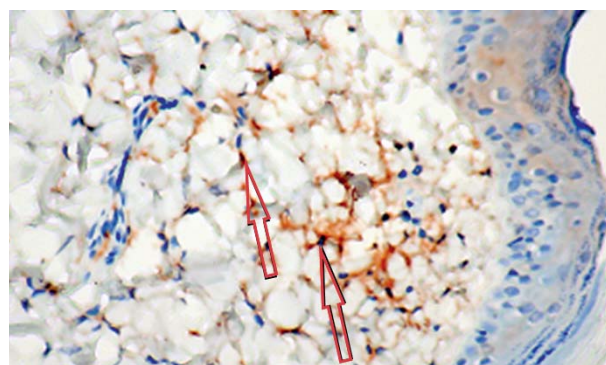


Рис. 5. Участок дермы в зоне ожога. CD-68+ макрофаги (обозначено стрелками) в клетках дермы через 2 месяца после введения филлера. Иммуногистохимическая реакция. Увеличение $\times 400$.

Fig. 5. Dermis in the burn area. CD-68+ macrophages (indicated by the arrows) in dermal cells two months following the filler administration. Immunohistochemical reaction ($\times 400$ magnification).

зации в поверхностном компартменте дермы. Клетки, экспрессирующие рецепторы CD-105, мелкие, отростчатые, с низким или средним уровнем экспрессии. С пролонгированием срока пребывания филлера в дерме плотность этого рецептора на мембране части клеток, расположенных в глубоком ее компартменте, возрастает. Не исключено, что эти крупные клетки с высоким уровнем экспрессии CD-105 относятся к регуляторам функциональной активности тканевых макрофагов.

При выявлении клеток, экспрессирующих VEGF рецептор, в течение первых двух месяцев пребывания импланта число этих клеток нарастает во всех зонах и глубокого, и поверх-

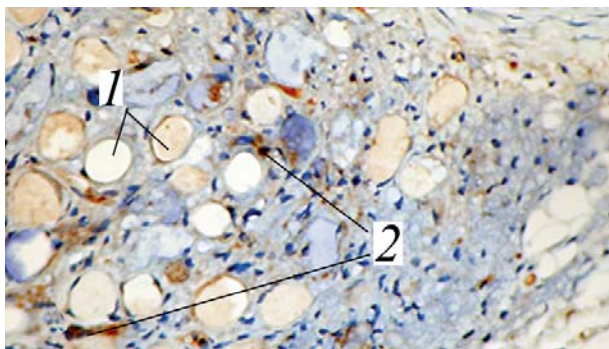


Рис. 6. Участок дермы в зоне ожога. α -SMA+ клетки через 2 месяца после введения филлера. 1 — микросферы 2 — α -SMA+ клетки. Иммуногистохимическая реакция. Увеличение $\times 400$.

Fig. 6. Dermis in the burn area. α -SMA+ cells two months following the filler administration. 1 — micro-spheres 2 — α -SMA+ cells. Immunohistochemical reaction ($\times 400$ magnification).

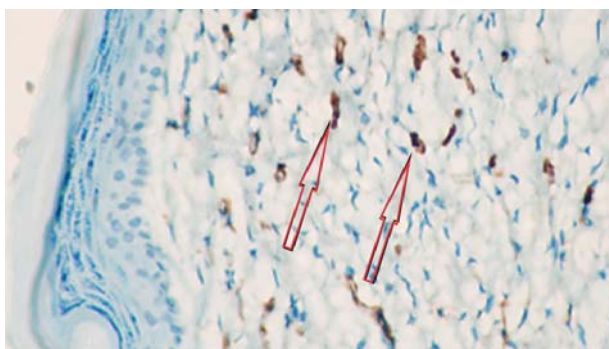


Рис. 7. Участок дермы в зоне ожога. α -SMA+ клетки (обозначено стрелками) через 4 месяца после введения филлера. Иммуногистохимическая реакция. Увеличение $\times 400$.

Fig. 7. Dermis in the burn area. α -SMA+ cells (indicated by the arrows) four months following the filler administration. Immunohistochemical reaction ($\times 400$ magnification).

ностного компартментов. В отдельных случаях наблюдается эффект преимущественной локализации клеток этого типа в поверхностном компартменте. Спустя 4 месяца число клеток, экспрессирующих VEGF, резко возрастает, причем как в поверхностном, так и в глубоком дермальных слоях. В зоне сосочкового слоя клетки мелкие, на участке глубокого компартмента — крупные отростчатые. Уровень VEGF экспрессии в клетках поверхностного компартмента умеренный, а в зоне глубокого — интенсивный.

Результаты анализа основных исходов эксперимента в зависимости от воздействия биодеградируемого кальцийсодержащего импланта на соединительную ткань в условиях заживления термической раны при сроке наблюдения 2 и 4 месяца представлены в таблицах 1 и 2.

ОБСУЖДЕНИЕ

Интерпретация / научная значимость

Современная стратегия тканевой инженерии с использованием собственных клеток пациента для создания *in vivo* внеклеточного матрикса, похожего на исходный, может обеспечить альтернативу репарации кожи на пути ее заживления после ожога, это приведет к уменьшению различия между репаративной и здоровой тканью.

Ограничения исследования

Ограничения исследования не отмечены.

Обобщаемость / экстраполяция

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что введение биодеградируемого филлера в срок, соответствующий процессу заживления ожога, а это четырнадцатый день после травмы, обеспечивает локальную активацию фибробластов. Этот феномен связан с известными свойствами кальцийсодержащего филлера как активатора неоколлагеногенеза. Особенностью его является биодеградация с образованием ионов кальция и фосфора с последующей утилизацией этих веществ, но с сохранением пролонгированного для клеток дермы и прежде всего для фибробластов эффекта неоколлагеногенеза с образованием коллагена как I, так и III типов. Синтезируемый коллаген служит в качестве основы для клеток дермы и реконструирует эффект жесткости и пористости каркаса, обеспечивая сборку синтезируемого *de novo* ЭЦМ.

Роль макрофагов в схеме заживления ожоговой раны видится в том, что они выступают в качестве главных регуляторов, активирующих фибробласты, кератиноциты и эндотелиальные клетки. Они выступают в роли графтов — регуляторов синтеза экстрацеллюлярного матрикса дермы, а также секретируют различные факторы роста, стимулирующие эффект пролиферации и миграции фибробластов, что в конечном счете обеспечивает реэпителизацию и ангиогенез зоны повреждения.

Выявленная динамика фибробластов в зоне повреждения может привести к получению дермы, имеющей состав и сборку коллагеновой сети, свойственной ей *in vivo*. На таком фоне можно ожидать и нормализацию коммуникаций между клетками дермы.

Финальной стадией заживления ожоговой раны считается фаза ремоделирования дермы с образованием фиброзной капсулы. При этом фибробласты грануляционной ткани активируются и приобретают экспрессию α -SMA, что указывает на трансформацию этих клеток в миофи-

Таблица 1. Количество животных с основными исходами в группах и их доли в зависимости от группы (срок наблюдения 2 месяца)

Table 1. Number of animals providing primary outcomes in groups and their percentage depending on the group (observation period of two months)

Группы экспериментальных животных	Животные с основным исходом		Уровень значимости p
	абс.	доля (%)	
Опыт ($n = 15$)	12	80	0,026
Контроль ($n = 15$)	6	40	

Примечание: различие значимо при $p < 0,05$.

Note: The difference is significant at $p < 0.05$.

Таблица 2. Количество животных с основными исходами в группах и их доли в зависимости от группы (срок наблюдения 4 месяца)

Table 2. Number of animals providing primary outcomes in groups and their percentage depending on the group (observation period of four months)

Группы экспериментальных животных	Животные с основным исходом		Уровень значимости p
	абс.	доля (%)	
Опыт ($n = 15$)	14	93	0,031
Контроль ($n = 15$)	9	60	

Примечание: различие значимо при $p < 0,05$.

Note: The difference is significant at $p < 0.05$.

бробласты. Сократительная активность клеток приводит к увеличению жесткости и механическому напряжению ЭЦМ. Относительно невысокая плотность этого маркера в клетках дермы на изученных участках предполагает, что переход фибробластов в миофибробласты здесь происходит постепенно, а это может указывать на процесс ремоделирования дермы без формирования грубого рубца.

Современная стратегия тканевой инженерии с использованием собственных клеток пациента для создания *in vivo* внеклеточного матрикса, похожего на исходный, может обеспечить альтернативу репарации кожи на пути ее заживления после ожога. Во всяком случае это, возможно, приведет к уменьшению различия между репаративной и здоровой тканью. Использование собственных фибробластов для синтеза ЭЦМ в зоне повреждения может обеспечить получение конечной дермы, имеющий состав и степень сборки коллагеновой сети, свойственной дерме *in vivo*. При этом можно рассчитывать, что коммуникации и между клетками, такими как фибробласты, макрофаги и кератиноциты, будут организованы правильно.

Наиболее перспективным в процессе регенерации дермы следует признать активацию синтеза коллагена, который служит в качестве каркаса для клеток дермы. Конструируя эффект жесткости или пористости каркаса, можно контролировать сборку синтезируемого

de novo внеклеточного матрикса. Это приведет к согласованности свойств синтезируемой дермы со свойствами кожи пациента и снизит или, во всяком случае, уменьшит структурные различия между восстановленной дермой и окружающей кожей.

При использовании различных заменителей кожи в случае лечения термических ран под угрозой ставится регуляторная роль внеклеточного матрикса, созданного нативными клетками, ибо синтезируемые фибробластами факторы роста не представляются другим типам клеток, таким как кератиноциты и эндотелиальные клетки, по обычной схеме, и здесь имеет место нарушение межклеточной трансдукции сигналов. Это прежде всего сказывается на характере формирования границы раздела дермы и эпидермиса.

Известно, что кожа, созданная с помощью тканевой инженерии, формирует плоскую дермоэпидермальную границу. При использовании фибробластов для синтеза собственного ЭЦМ происходит формирование профиля гребня с эпителиальными инвагинациями и фолликулярными структурами, которые типичны для физиологической дермоэпидермальной границы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итак, новаторская идея состоит в том, чтобы позволить старым фибробластам частично восстановить их функции, а в группе вновь возник-

ших в процессе митоза клеток модифицировать молекулярные показатели их биологического возраста. Такой подход вполне может обеспечить модуляцию ЭЦМ с получением конечной дермы, аналогичной имеющейся.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Регистрация протокола исследования

Протокол (включая вопросы исследования, основные особенности дизайна и план анализа) был подготовлен до начала исследования и одобрен Независимым этическим комитетом ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.

Доступ к данным

Данные о проведенных исследованиях относятся к свободно доступным для машиночитаемого использования и дальнейшей републикации без ограничений авторского права, патентов и других механизмов контроля.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Содержание и дизайн исследований согласованы с Независимым этическим комитетом федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Рос-

сийской Федерации (ул. им. Митрофана Седина, д. 4) протокол № 54 от 11.10.2017 г. Условия содержания животных и работы с ними соответствовали принципам Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным, директиве Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63/ЕС от 22.09.2010 г. о защите животных, используемых для научных целей.

COMPLIANCE WITH ETHICAL STANDARDS

The study content and design were approved by the Independent Committee for Ethics (Minutes No. 54 as of October 11, 2017) of the Kuban State Medical University (Mitrofana Sedina str., 4, Krasnodar, Russia). The maintenance and handling of animals were consistent with the principles of the Declaration of Helsinki on Humane Treatment of Animals and Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of September 22, 2010 on the protection of animals used for scientific purposes.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии спонсорской поддержки при проведении исследования.

FUNDING

The authors received no financial support for the research.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zhang X., Kang X., Jin L., Bai J., Liu W., Wang Z. Stimulation of wound healing using bioinspired hydrogels with basic fibroblast growth factor (bFGF). *Int. J. Nanomedicine*. 2018; 13: 3897–3906. DOI: 10.2147/IJN.S168998
2. Velnar T., Bunc G., Klobucar R., Gradisnik L. Biomaterials and host versus graft response: a short review. *Bosn. J. Basic. Med. Sci.* 2016; 16(2): 82–90. DOI: 10.17305/bjbm.2016.525
3. Urciuolo F., Casale C., Imparato G., Netti P.A. Bioengineered Skin Substitutes: the Role of Extracellular Matrix and Vascularization in the Healing of Deep Wounds. *J. Clin. Med.* 2019; 8(12): 2083. DOI: 10.3390/jcm8122083
4. Hesketh M., Sahin K.B., West Z.E., Murray R.Z. Macrophage Phenotypes Regulate Scar Formation and Chronic Wound Healing. *Int. J. Mol. Sci.* 2017; 18(7): 1545. DOI: 10.3390/ijms18071545
5. Завгородняя М.И., Макеева Л.В., Славчева О.С., Сулаева О.Н. Клеточные и молекулярные основы заживления ран. *Morphologia*. 2016; 10(3): 19–23. DOI: 10.26641/1997-9665.2016.3.19-23
6. Горохова В.С., Черновол П.А., Черновол В.П., Сулаева О.Н. Варибельность ответа тромбоцитов на АДФ: от теории тромбогенеза к практическому применению богатой тромбоцитами плазмы. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016; 61(6): 363–367. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-6-363-367
7. Gilroy D., De Maeyer R. New insights into the resolution of inflammation. *Semin. Immunol.* 2015; 27(3): 161–168. DOI: 10.1016/j.smim.2015.05.003
8. Donati G., Watt F.M. Stem cell heterogeneity and plasticity in epithelia. *Cell Stem Cell*. 2015; 16(5): 465–476. DOI: 10.1016/j.stem.2015.04.014
9. Rittié L. Cellular mechanisms of skin repair in humans and other mammals. *J. Cell Commun. Signal.* 2016; 10(2): 103–120. DOI: 10.1007/s12079-016-0330-1
10. Motwani M.P., Flint J.D., De Maeyer R.P., Fullerton J.N., Smith A.M., Marks D.J., Gilroy D.W. Novel translational model of resolving inflammation triggered by UV-killed E. coli. *J. Pathol. Clin. Res.* 2016; 2(3): 154–165. DOI: 10.1002/cjp2.43
11. Schlader Z.J., Vargas N.T. Regulation of Body Temperature by Autonomic and Behavioral Thermo effectors. *Exerc. Sport. Sci. Rev.* 2019; 47(2): 116–126. DOI: 10.1249/JES.0000000000000180
12. Lombardi B., Casale C., Imparato G., Urciuolo F., Netti P.A. Spatiotemporal Evolution of the Wound Repairing Process in a 3D Human Dermis Equivalent. *Adv. Healthc. Mater.* 2017; 6(13). DOI: 10.1002/adhm.201601422

13. Martorina F., Casale C., Urciuolo F., Netti P.A., Imparato G. In vitro activation of the neuro-transduction mechanism in sensitive organotypic human skin model. *Biomaterials*. 2017; 113: 217–229. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2016.10.051
14. Boyce S.T., Lalley A.L. Tissue engineering of skin and regenerative medicine for wound care. *Burns.Trauma*. 2018; 6: 4. DOI: 10.1186/s41038-017-0103-y
15. Fetah K., Tebon P., Goudie M.J., Eichenbaum J., Ren L., Barros N., Nasiri R., Ahadian S., Asham-makhi N., Dokmeci M.R., Khademhossein A. The emergence of 3D bioprinting in organ-on-chip systems. *Progress in Biomedical Engineering*. 2019; 1(1): 012001. DOI: 10.1088/2516-1091/ab23df
16. Tarassoli S.P., Jessop Z.M., Al-Sabah A., Gao N., Whitaker S., Doak S., Whitaker I.S. Skin tissue engineering using 3D bioprinting: An evolving research field. *J. Plast. Reconstr.Aesthet. Surg.* 2018; 71(5): 615–623. DOI: 10.1016/j.bjps.2017.12.006
17. Boulet L.P. Airway remodeling in asthma: update on mechanisms and therapeutic approaches. *Curr. Opin. Pulm. Med.* 2018; 24(1): 56–62. DOI: 10.1097/MCP.0000000000000441
18. Roy B., Yuan L., Lee Y., Bharti A., Mitra A., Shrivashankar G.V. Fibroblast rejuvenation by mechanical reprogramming and redifferentiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2020; 117(19): 10131–10141. DOI: 10.1073/pnas.1911497117
19. Путляев В.И., Евдокимов П.В., Мамонов С.А., Зорин В.Н., Климашина Е.С., Родин И.А., Сафронова Т.В., Гаршев А.В. Стереолитографическая 3D-печать биокерамических матриц заданной формы и архитектуры для регенерации костной ткани. *Перспективные материалы*. 2019; 5: 28–40. DOI: 10.30791/1028-978X-2019-5-28-40
20. Shinde A.V., Frangogiannis N.G. Mechanisms of Fibroblast Activation in the Remodeling Myocardium. *Curr. Pathobiol. Rep.* 2017; 5(2): 145–152. DOI: 10.1007/s40139-017-0132-z
21. Wahlsten A., Rüttsche D., Nanni M., Giampietro C., Biedermann T., Reichmann E., Mazza E. Mechanical stimulation induces rapid fibroblast proliferation and accelerates the early maturation of human skin substitutes. *Biomaterials*. 2021; 273: 120779. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2021.120779
22. Meleshina A.V., Bystrova A.S., Rogovaya O.S., Vorotelyak E.A., Vasiliev A.V., Zagaynova E.V. Skin tissue-engineering constructs and stem cells application for the skin equivalents creation (review). *Modern Technologies in Medicine*. 2017; 9(1): 198–220. DOI: 10.17691/stm2017.9.1.24
23. Lorenc Z.P., Bass L.M., Fitzgerald R., Goldberg D.J., Graivier M.H. Physiochemical Characteristics of Calcium Hydroxylapatite (CaHA). *Aesthet. Surg. J.* 2018; 38(suppl_1): S8–S12. DOI: 10.1093/asj/sjy011
24. Michalek I.M., Lelen-Kaminska K., Caetano Dos Santos F.L. Peptides stimulating synthesis of extracellular matrix used in anti-ageing cosmetics: Are they clinically tested? A systematic review of the literature. *Australas J. Dermatol.* 2019; 60(4): e267–e271. DOI: 10.1111/ajd.13036
25. Shpichka A., Butnaru D., Bezrukov E.A., Sukhanov R.B., Atala A., Burdukovskii V., Zhang Y., Timashev P. Skin tissue regeneration for burn injury. *Stem Cell Res. Ther.* 2019; 10(1): 94. DOI: 10.1186/s13287-019-1203-3
26. Urciuolo F., Casale C., Imparato G., Netti P.A. Bioengineered Skin Substitutes: the Role of Extracellular Matrix and Vascularization in the Healing of Deep Wounds. *J. Clin. Med.* 2019; 8(12): 2083. DOI: 10.3390/jcm8122083
27. Zhang Y., Liang H., Luo Q., Chen J., Zhao N., Gao W., Pu Y., He B., Xie J. In vivo inducing collagen regeneration of biodegradable polymer microspheres. *Regen. Biomater.* 2021; 8(5): rbab042. DOI: 10.1093/rb/rbab042
28. Akinbiyi T., Othman S., Familusi O., Calvert C., Card E.B., Percec I. Better Results in Facial Rejuvenation with Fillers. *Plast.Reconstr. Surg. Glob. Open.* 2020; 8(10): e2763. DOI: 10.1097/GOX.0000000000002763
29. Могильная Г.М., Фомичева Е.В. Характер ответной реакции дермы на сочетанное введение двух филлеров. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2020; 27(4): 72–81. DOI: 10.25207/1608-6228-2020-27-4-72-81

REFERENCES

1. Zhang X., Kang X., Jin L., Bai J., Liu W., Wang Z. Stimulation of wound healing using bioinspired hydrogels with basic fibroblast growth factor (bFGF). *Int. J. Nanomedicine*. 2018; 13: 3897–3906. DOI: 10.2147/IJN.S168998
2. Velnar T., Bunc G., Klobucar R., Gradisnik L. Biomaterials and host versus graft response: a short review. *Bosn. J. Basic. Med. Sci.* 2016; 16(2): 82–90. DOI: 10.17305/bjbm.2016.525
3. Urciuolo F., Casale C., Imparato G., Netti P.A. Bioengineered Skin Substitutes: the Role of Extracellular Matrix and Vascularization in the Healing of Deep Wounds. *J. Clin. Med.* 2019; 8(12): 2083. DOI: 10.3390/jcm8122083
4. Hesketh M., Sahin K.B., West Z.E., Murray R.Z. Macrophage Phenotypes Regulate Scar Formation and Chronic Wound Healing. *Int. J. Mol. Sci.* 2017; 18(7): 1545. DOI: 10.3390/ijms18071545
5. Zavgorodniaia M.I., Makeieva L.V., Slavcheva O.S., Sulaieva O.N. Cellular and molecular basics of the wound healing. *Morphology*. 2016; 10(3): 19–23 (In Russ., English abstract). DOI: 10.26641/1997-9665.2016.3.19-23

6. Gorokhova V.S., Chernovol P.A., Chernovol V.P., Sulaieva O.N. The variability of response of thrombocytes to ADP: from theory of thrombogenesis to practical application of plasma rich in thrombocytes. *Klin. Lab. Diagn.* 2016; 61(6): 363–367 (In Russ., English abstract). DOI: 10.18821/0869-2084-2016-6-363-367
7. Gilroy D., De Maeyer R. New insights into the resolution of inflammation. *Semin. Immunol.* 2015; 27(3): 161–168. DOI: 10.1016/j.smim.2015.05.003
8. Donati G., Watt F.M. Stem cell heterogeneity and plasticity in epithelia. *Cell Stem. Cell.* 2015; 16(5): 465–476. DOI: 10.1016/j.stem.2015.04.014
9. Rittié L. Cellular mechanisms of skin repair in humans and other mammals. *J. Cell Commun. Signal.* 2016; 10(2): 103–120. DOI: 10.1007/s12079-016-0330-1
10. Motwani M.P., Flint J.D., De Maeyer R.P., Fullerton J.N., Smith A.M., Marks D.J., Gilroy D.W. Novel translational model of resolving inflammation triggered by UV-killed *E. coli*. *J. Pathol. Clin. Res.* 2016; 2(3): 154–165. DOI: 10.1002/cjp.2.43
11. Schlader Z.J., Vargas N.T. Regulation of Body Temperature by Autonomic and Behavioral Thermo effectors. *Exerc. Sport. Sci. Rev.* 2019; 47(2): 116–126. DOI: 10.1249/JES.0000000000000180
12. Lombardi B., Casale C., Imparato G., Urciuolo F., Netti P.A. Spatiotemporal Evolution of the Wound Repairing Process in a 3D Human Dermis Equivalent. *Adv. Healthc. Mater.* 2017; 6(13). DOI: 10.1002/adhm.201601422
13. Martorina F., Casale C., Urciuolo F., Netti P.A., Imparato G. In vitro activation of the neuro-transduction mechanism in sensitive organotypic human skin model. *Biomaterials.* 2017; 113: 217–229. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2016.10.051
14. Boyce S.T., Lalley A.L. Tissue engineering of skin and regenerative medicine for wound care. *Burns. Trauma.* 2018; 6: 4. DOI: 10.1186/s41038-017-0103-y
15. Fetah K., Tebon P., Goudie M.J., Eichenbaum J., Ren L., Barros N., Nasiri R., Ahadian S., Ashammakhi N., Dokmeci M.R., Khademhossein A. The emergence of 3D bioprinting in organ-on-chip systems. *Progress in Biomedical Engineering.* 2019; 1(1): 012001. DOI: 10.1088/2516-1091/ab23df
16. Tarassoli S.P., Jessop Z.M., Al-Sabah A., Gao N., Whitaker S., Doak S., Whitaker I.S. Skin tissue engineering using 3D bioprinting: An evolving research field. *J. Plast. Reconstr. Aesthet. Surg.* 2018; 71(5): 615–623. DOI: 10.1016/j.bjps.2017.12.006
17. Boulet L.P. Airway remodeling in asthma: update on mechanisms and therapeutic approaches. *Curr. Opin. Pulm. Med.* 2018; 24(1): 56–62. DOI: 10.1097/MCP.0000000000000441
18. Roy B., Yuan L., Lee Y., Bharti A., Mitra A., Shivashankar G.V. Fibroblast rejuvenation by mechanical reprogramming and redifferentiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2020; 117(19): 10131–10141. DOI: 10.1073/pnas.1911497117
19. Putlyaev V.I., Yevdokimov P.V., Klimashina E.S., Rodin I.A., Safronova T.V., Garshev A.V., Mamonov S.A., Zorin V.N. Stereolithographic 3D printing of bioceramic scaffolds of a given shape and architecture for bone tissue regeneration. *Inorganic Materials: Applied Research.* 2019; 10(5): 1101–1108 (In Russ., English abstract). DOI: 10.1134/S2075113319050277
20. Shinde A.V., Frangogiannis N.G. Mechanisms of Fibroblast Activation in the Remodeling Myocardium. *Curr. Pathobiol. Rep.* 2017; 5(2): 145–152. DOI: 10.1007/s40139-017-0132-z
21. Wahlsten A., Rüttsche D., Nanni M., Giampietro C., Biedermann T., Reichmann E., Mazza E. Mechanical stimulation induces rapid fibroblast proliferation and accelerates the early maturation of human skin substitutes. *Biomaterials.* 2021; 273: 120779. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2021.120779
22. Meleshina A.V., Bystrova A.S., Rogovaya O.S., Vortelyak E.A., Vasiliev A.V., Zagaynova E.V. Skin tissue-engineering constructs and stem cells application for the skin equivalents creation (review). *Modern Technologies in Medicine.* 2017; 9(1): 198–220. DOI: 10.17691/stm2017.9.1.24
23. Lorenc Z.P., Bass L.M., Fitzgerald R., Goldberg D.J., Graivier M.H. Physiochemical Characteristics of Calcium Hydroxylapatite (CaHA). *Aesthet. Surg. J.* 2018; 38(suppl_1): S8–S12. DOI: 10.1093/asj/sjy011
24. Michalek I.M., Lelen-Kaminska K., Caetano Dos Santos F.L. Peptides stimulating synthesis of extracellular matrix used in anti-ageing cosmetics: Are they clinically tested? A systematic review of the literature. *Australas J. Dermatol.* 2019; 60(4): e267–e271. DOI: 10.1111/ajd.13036
25. Shpichka A., Butnaru D., Bezrukov E.A., Sukhanov R.B., Atala A., Burdukovskii V., Zhang Y., Timashev P. Skin tissue regeneration for burn injury. *Stem Cell Res. Ther.* 2019; 10(1): 94. DOI: 10.1186/s13287-019-1203-3
26. Urciuolo F., Casale C., Imparato G., Netti P.A. Bio-engineered Skin Substitutes: the Role of Extracellular Matrix and Vascularization in the Healing of Deep Wounds. *J. Clin. Med.* 2019; 8(12): 2083. DOI: 10.3390/jcm8122083
27. Zhang Y., Liang H., Luo Q., Chen J., Zhao N., Gao W., Pu Y., He B., Xie J. In vivo inducing collagen regeneration of biodegradable polymer microspheres. *Regen. Biomater.* 2021; 8(5): rbab042. DOI: 10.1093/rb/rbab042
28. Akinbiyi T., Othman S., Familusi O., Calvert C., Card E.B., Percec I. Better Results in Facial Rejuvenation with Fillers. *Plast. Reconstr. Surg. Glob. Open.* 2020; 8(10): e2763. DOI: 10.1097/GOX.00000000000002763
29. Mogilnaya G.M., Fomicheva E.V. Dermal response to combined double filler administration. *Kuban Scientific Medical Bulletin.* 2020; 27(4): 72–81 (In Russ., English abstract). DOI: 10.25207/1608-6228-2020-27-4-72-81

ВКЛАД АВТОРОВ

Могильная Г.М.

Разработка концепции — формирование идеи, формулировка и развитие ключевых целей и задач.

Проведение исследования — проведение исследования, анализ и интерпретация полученных данных.

Подготовка и редактирование текста — составление черновика рукописи, его критический пересмотр с внесением ценного замечания интеллектуального содержания.

Утверждение окончательного варианта статьи — принятие ответственности за все аспекты работы, целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант.

Фомичева Е.В.

Разработка концепции — формирование идеи, формулировка и развитие ключевых целей и задач.

Проведение исследования — проведение исследования, анализ и интерпретация полученных данных.

Подготовка и редактирование текста — составление черновика рукописи, его критический пересмотр с внесением ценного замечания интеллектуального содержания.

Утверждение окончательного варианта статьи — принятие ответственности за все аспекты работы, целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант.

Проведение статистического анализа — применение статистических методов для анализа и синтеза данных исследования.

Мелконян К.И.

Разработка концепции — развитие ключевых целей и задач.

Проведение исследования — проведение исследования, анализ и интерпретация полученных данных.

Подготовка и редактирование текста — составление черновика рукописи, его критический пересмотр с внесением ценного замечания интеллектуального содержания.

Утверждение окончательного варианта статьи — принятие ответственности за все аспекты работы, целостность всех частей статьи и ее окончательный вариант.

Ресурсное обеспечение исследования — предоставление инструментария.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Mogilnaya G.M.

Conceptualization — concept statement; statement and development of key goals and objectives.

Conducting research — conducting research; analysis and interpretation of the obtained data.

Text preparation and editing — drafting of the manuscript and its critical revision for valuable intellectual content;

Approval of the final version of the paper — agreement to be accountable for all aspects of the work, the integrity of all parts of the paper, and its final version.

Fomicheva E.V.

Conceptualization — concept statement; statement and development of key goals and objectives.

Conducting research — conducting research; analysis and interpretation of the obtained data.

Text preparation and editing — drafting of the manuscript and its critical revision for valuable intellectual content;

Approval of the final version of the paper — agreement to be accountable for all aspects of the work, the integrity of all parts of the paper, and its final version.

Statistical analysis — application of statistical methods for the analysis and synthesis of data.

Melkonian K.I.

Conceptualization — development of key goals and objectives.

Conducting research — conducting research; analysis and interpretation of the obtained data.

Text preparation and editing — drafting of the manuscript and its critical revision for valuable intellectual content;

Approval of the final version of the paper — agreement to be accountable for all aspects of the work, the integrity of all parts of the paper, and its final version.

Resource support — provision of instruments.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Могильная Галина Михайловна — доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой гистологии с эмбриологией федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

<https://orcid.org/0000-0002-4354-2702>

Фомичева Евгения Васильевна — кандидат биологических наук, доцент кафедры гистологии с эмбриологией федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

<https://orcid.org/0000-0002-2050-2417>

Контактная информация: e-mail: fomevg@mail.ru; тел. +7 (918) 151-44-48;

ул. им. Митрофана Седина, д. 4, г. Краснодар, 350063, Россия.

Мелконян Карина Игоревна — кандидат медицинских наук, доцент; заведующая Центральной научно-исследовательской лабораторией федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

<https://orcid.org/0000-0003-2451-6813>

Galina M. Mogilnaya — Dr. Sci. (Med.), Prof., Head of Department for Histology and Embryology, Kuban State Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation.

<https://orcid.org/0000-0002-4354-2702>

Evgeniya V. Fomicheva* — Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., Department for Histology and Embryology, Kuban State Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation.

<https://orcid.org/0000-0002-2050-2417>

Contact information: e-mail: fomevg@mail.ru; tel. +7 (918) 151-44-48;

Mitrofana Sedina str., 4, Krasnodar, 350063, Russia.

Karina I. Melkonian — Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Head of the Central Research Laboratory, Kuban State Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation.

<https://orcid.org/0000-0003-2451-6813>

* Corresponding author / Автор, ответственный за переписку