













А.А. Ковалева¹ ✉ 
Д.И. Поздняков² 
Н.Б. Шабанова² 
Ю.Ю. Жидкова¹ 
Л.И. Калюжная-Земляная¹ 
Д.В. Товпеко¹ 
Э.Ф. Степанова² 
О.А. Ватанская¹ 
Е.А. Климкина¹ 
Е.С. Смирнова¹ 

Изучение регенеративной активности спреев, полученных на основе вартонова студня пуповины человека, в экспериментальном исследовании

¹ Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, ул. Академика Лебедева, д. 6, литера Ж, Санкт-Петербург, 194044, Российская Федерация

² Пятигорский медико-фармацевтический институт — филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, пр-т Калинина, д. 11, г. Пятигорск, 357532, Российская Федерация

✉ Ковалева Анастасия Александровна; kafedra_farmacii@vmeda.org, kovaleva.a.al@mail.ru

РЕЗЮМЕ

ВВЕДЕНИЕ. Для реализации государственной стратегии «Фарма 2030» необходимо создание высокотехнологичных отечественных препаратов, в том числе бесклеточных тканеинженерных композиций, характеризующихся высокой эффективностью и низкой иммуногенностью. В рамках этой задачи проводится разработка и изучение фармакологических свойств спрея регенеративного действия для лечения ожоговых ран IIb–IIIa степени, который представляет собой тканеинженерную композицию из бесклеточного биоматериала пуповины человека и антимикробного компонента.

ЦЕЛЬ. Оценка регенеративной активности экспериментальных составов спрея, полученных на основе вартонова студня пуповины человека, на модели ожога у крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Разработанные составы спрея включали биодegradуемый лиофилизированный гидролизат бесклеточного матрикса вартонова студня пуповины человека и антибактериальные препараты: состав № 1 – с добавлением гентамицина сульфата, состав № 2 – неомицина сульфата. В качестве препарата сравнения использовали аэрозоль «Олазол» («Алтайвитамины», Россия). Исследование проводили на модели глубокого ожога у взрослых крыс. Животные были разделены на группы, получавшие лечение экспериментальными составами спреев, препаратом сравнения, группу контроля (без лечения), группу интактных животных. Оценка регенеративной активности включала измерение площади раневого дефекта, а также концентрации лейкоцитов, С-реактивного белка (СРБ) и эпидермального фактора роста (ЭФР) при исследовании крови.

РЕЗУЛЬТАТЫ. К 28-м суткам наблюдения оба состава спрея статистически значимо превосходили препарат сравнения по уменьшению площади ожоговой раны: состав № 1 – на 66%, состав № 2 – на 20%. Применение экспериментальных составов спрея и препарата сравнения сопровождалось снижением уровня лейкоцитов и СРБ до значений, сопоставимых с таковыми у интактных животных. Концентрация ЭФР в экспериментальных группах статистически значимо повысилась: при лечении составом № 1 – на 104,0%, составом № 2 – на 76,5% относительно группы контроля и на 106,5 и 78,8% соответственно относительно группы интактных животных.

ВЫВОДЫ. Экспериментальные составы спрея, полученные на основе вартонова студня пуповины человека, обладают высокой регенеративной активностью, статистически значимо ускоряя заживление глубоких ожоговых ран и уменьшая выраженность воспалительного ответа у крыс. Результаты работы свидетельствуют о целесообразности их дальнейшего доклинического и клинического изучения с перспективой внедрения в клиническую комбустиологию.

Ключевые слова: регенеративный спрей; вартонов студень пуповины человека; гентамицин; неомицин; тканевая инженерия; регенерация тканей; модель ожога у крыс; эпидермальный фактор роста

Для цитирования: Ковалева А.А., Поздняков Д.И., Шабанова Н.Б., Жидкова Ю.Ю., Калюжная-Земляная Л.И., Товпеко Д.В., Степанова Э.Ф., Ватанская О.А., Климкина Е.А., Смирнова Е.С. Изучение регенеративной активности спреев, полученных на основе вартонова студня пуповины человека, в экспериментальном исследовании. *Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств.* 2026;16(3):308–318. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2026-16-3-308-318>

Финансирование. Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Потенциальный конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Anastasiya A. Kovaleva¹ ✉ 
Dmitry I. Pozdnyakov² 
Natalia B. Shabanova² 
Yunna Yu. Zhidkova¹ 
Lidia I. Kalyuzhnaya-Zemlyanaya¹ 
Dmitry V. Tovpeko¹ 
Eleonora F. Stepanova² 
Olga A. Vatanskaya¹ 
Ekaterina A. Klimkina¹ 
Elena S. Smirnova¹ 

Investigation of the Regenerative Activity of Sprays Derived from Human Umbilical Cord Wharton's Jelly in an Experimental Study

¹ Military Medical Academy named after S.M. Kirov,
6G Academician Lebedev St., St. Petersburg 194044, Russian Federation

² Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute,
branch of the Volgograd State Medical University,
11 Kalinin Ave., Pyatigorsk 357532, Russian Federation

✉ Anastasiya A. Kovaleva; kafedra_farmacii@vmeda.org,
kovaleva.a.al@mail.ru

ABSTRACT

INTRODUCTION. Implementation of the state strategy “Pharma 2030” requires the development of high-tech domestic drugs, including acellular tissue-engineered composites characterized by high efficacy and low immunogenicity. As part of this effort, a regenerative spray for the treatment of grade IIb–IIIa burn wounds is being developed and its pharmacological properties are being studied. This spray is a tissue-engineered composite of acellular human umbilical cord biomaterial and an antimicrobial component.

AIM. To evaluate the regenerative activity of experimental spray formulations derived from human umbilical cord Wharton's jelly in a rat burn model.

MATERIALS AND METHODS. The developed spray formulations contained a biodegradable lyophilized hydrolysate of the acellular matrix of human umbilical cord Wharton's jelly and antibacterial agents: formulation No. 1 included gentamicin sulfate, formulation No. 2 included neomycin sulfate. Olazol aerosol (Altayvitamins, Russia) was used as the reference drug. The study was performed on a deep burn model in adult rats. The animals were divided into groups that received treatment with the experimental sprays, the reference drug, a control group (no treatment), and a group of intact animals. Regenerative activity was assessed by measuring the wound defect area and by determining blood leukocyte count, C-reactive protein (CRP) concentration, and epidermal growth factor (EGF) level.

RESULTS. By day 28 of observation, both spray formulations showed a statistically significant advantage over the reference drug in reducing the burn wound area: formulation No. 1 by 66%, formulation No. 2 by 20%. Treatment with the experimental formulations and the reference drug resulted in a decrease in leukocyte count and CRP level to values comparable with those of intact animals. The blood EGF concentration increased significantly in the experimental groups: with formulation No. 1 by

104.0% and with formulation No. 2 by 76.5% compared with the control group, and by 106.5% and 78.8%, respectively, compared with the intact animal group.

CONCLUSIONS. The experimental spray formulations derived from human umbilical cord Wharton's jelly demonstrate high regenerative activity, significantly accelerating the healing of deep burn wounds and reducing the severity of the inflammatory response in rats. The results support the feasibility of further preclinical and clinical investigation of these compositions, with a view to their introduction into clinical combustingology.

Keywords: regenerative spray; human umbilical cord Wharton's jelly; gentamicin; neomycin; tissue engineering; tissue regeneration; rat burn model; epidermal growth factor

For citation: Kovaleva A.A., Pozdnyakov D.I., Shabanova N.B., Zhidkova Yu.Yu., Kalyuzhnaya-Zemlyanaya L.I., Tovpeko D.V., Stepanova E.F., Vatskaya O.A., Klimkina E.A., Smirnova E.S. Investigation of the regenerative activity of sprays derived from human umbilical cord Wharton's jelly in an experimental study. *Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2026;16(3):308–318. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2026-16-3-308-318>

Funding. The study was performed without external funding.

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Стратегией развития фармацевтической отрасли «Фарма 2030» поставлены четкие цели по переходу российских производителей от производства дженериков к оригинальным лекарственным препаратам. Особенно востребованы исследования в области разработки новых высокотехнологичных лекарственных средств, в том числе включающих тканеинженерные препараты [1].

Тканеинженерные препараты, как правило, содержат модифицированные клетки или ткани человеческого либо животного происхождения, выполняющие в организме реципиента иную функцию, чем в организме донора. Такие препараты предназначены для применения в целях регенерации, репарации или замены ткани человека, их способность стимулировать биологические механизмы открывает новые возможности в различных областях медицины¹.

Большинство зарегистрированных тканеинженерных препаратов представляют собой клеточные продукты, но наряду с этим стремительно развивается направление по изготовлению бесклеточных тканеинженерных композиций из тканей животных и человека [2]. Одним из примеров создания ксеногенных композиций является децеллюляризация дермы свиньи и наложение ее в качестве трансплантата на раневую поверхность человека. За счет удаления клеток животного, но при сохранении структурных коллагеновых волокон создается оптимальная среда для миграции клеток пациента [3]. За рубежом опубликованы работы [4–6] по изучению

возможности применения в лечении пациентов тканеинженерных препаратов из биоматериала животных. Несмотря на положительный регенеративный эффект, такие трансплантаты имеют серьезные недостатки: иммунный ответ реципиента, достаточно агрессивные реагенты для децеллюляризации тканей, цитотоксичные для клеток реципиента, сохранение некоторых эпителиев, вызывающих воспаление и отторжение трансплантата у пациента [7, 8].

Представляется перспективным использование вартонова студня (ВС) пуповины человека в качестве биологического материала для изготовления тканеинженерных лекарственных препаратов. ВС представляет собой соединительную ткань пупочного канатика и обладает богатым биохимическим составом, наделяющим его высокой регенеративной активностью. В ВС было обнаружено 566 белков, большая часть из которых – это множественные типы коллагена, в основном фибриллярные (типы I, III, V, VI), а также связанные с фибриллами (тип XII) и сетевые (тип IV) [9]. Помимо различных типов коллагенов, в ВС выявлено высокое содержание гиалуроновой кислоты и сульфатированных гликозаминогликанов (ГАГ) [10]. В меньших количествах, но не менее значимых по биологической активности, были обнаружены трансформирующий фактор роста (TGF-β3), люмикан, декорин, тенасцин, фибронектин и бигликан, играющие ключевую роль в регуляции регенеративного процесса раны [9].

Способность ВС улучшать регенерацию тканей детерминирована его внеэмбриональным

¹ Решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 78 «О Правилах регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения».

происхождением и является следствием сохранности уникальных фенотипических характеристик, свойственных периоду внутриутробного развития, в том числе способности к заживлению без формирования рубца. ВС служит уникальным источником активных молекул, формирующих выраженную противовоспалительную среду. Важной особенностью эмбриональных и внеэмбриональных тканей является специфический цитокиновый профиль. К основным цитокинам, выявляемым в ВС, относятся: противовоспалительные интерлейкин-10 (IL-10) и интерлейкин-1RA (IL-1RA), интерлейкин-6 (IL-6), который может проявлять не только провоспалительные, но и регенераторные свойства, интерлейкин-8 (IL-8), обладающий ангиогенной активностью. При этом именно высокий уровень IL-10 рассматривается как один из ключевых факторов, обеспечивающих противовоспалительную и регенераторную направленность действия бесклеточных продуктов на основе пуповины. IL-10 супрессирует провоспалительные сигнальные пути, ограничивая избыточное воспаление и создавая благоприятные условия для репаративных процессов [11].

Помимо перечисленных иммуномодулирующих цитокинов, важнейшую роль в регуляции репаративных процессов играют изоформы трансформирующего фактора роста бета (TGF- β), которые контролируют пролиферацию фибробластов и синтез внеклеточного матрикса. Для тканей фетального фенотипа, в том числе для пуповины человека, характерен особый профиль этих изоформ: концентрация профибротической изоформы TGF- β 1 остается низкой, тогда как уровень регуляторной изоформы TGF- β 3 значительно выше. Именно количественное преобладание TGF- β 3 над TGF- β 1 рассматривается в качестве одного из центральных молекулярных механизмов, предотвращающих избыточное отложение коллагена и, как следствие, образование грубого рубца в процессе заживления раны. Таким образом, баланс изоформ TGF- β 1/TGF- β 3 является критическим детерминантом, направляющим раневой процесс в сторону регенерации, а не фиброзного рубцевания [12, 13].

Сотрудниками Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова разработана технология получения биodeградируемого лиофилизированного гидролизата бесклеточного матрикса ВС. Ключевыми характеристиками конечного продукта являются сохранение активных компонентов в составе и естественной архитектуры внеклеточного матрикса, высокая пористость

и гигроскопичность, отсутствие цитотоксичности и иммуногенности. Экспериментальные исследования подтвердили ускорение формирования грануляционной ткани, стимуляцию ангиогенеза в зоне раневого дефекта и сокращение времени эпителизации раневой поверхности [14]. Разработанный гидролизат представляет собой перспективный материал для лечения обширных раневых дефектов, трофических язв и ожогов, который обеспечивает эффективный каркас для клеточной миграции и неоваскуляризации [9, 15, 16].

В настоящее время проводится разработка лекарственных препаратов с включением лиофилизированного гидролизата бесклеточного матрикса ВС, в частности спрея регенерирующего действия для наружного применения. Использование такого спрея возможно в терапии ожоговых ран IIb и IIIa степени, характеризующихся глубоким некрозом тканей и деструкцией дермального слоя. Отсутствие полноценного дермального каркаса приводит к длительной и часто неполноценной реэпителизации, высокому риску инфицирования и формированию рубцов [17]. Применение спрея, полученного на основе ВС, позволяет обеспечить рану необходимым субстратом и ускоряет восстановление дермального слоя. Преимущество спрея как лекарственной формы состоит в значительном сокращении времени обработки ожоговой поверхности, равномерном распределении и безболезненном нанесении. Поскольку наиболее частым осложнением ожоговых ран является инфицирование, то целесообразно внесение в состав спрея антимикробного компонента, который на ранних этапах будет препятствовать развитию раневой инфекции.

Цель работы – оценка регенеративной активности экспериментальных составов спрея, полученных на основе вартонова студня пуповины человека, на модели ожога у крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Изготовление лиофилизированного гидролизата бесклеточного матрикса ВС. Методика включает двухэтапную обработку, начинающуюся с удаления сосудов из нативного образца вартонова студня пуповины человека (рис. 1) и последующей децеллюляризации 0,05% раствором додецилсульфата натрия (Zhishang Chemical Co., Ltd, Китай) в течение суток для полного удаления клеточных компонентов, после чего следует первичная лиофилизация полученного бесклеточного матрикса.



Фотография выполнена авторами / The photograph was taken by the authors

Рис. 1. Вартонов студень пуповины человека после удаления сосудов

Fig. 1. Wharton's jelly of the human umbilical cord after removal of vessels

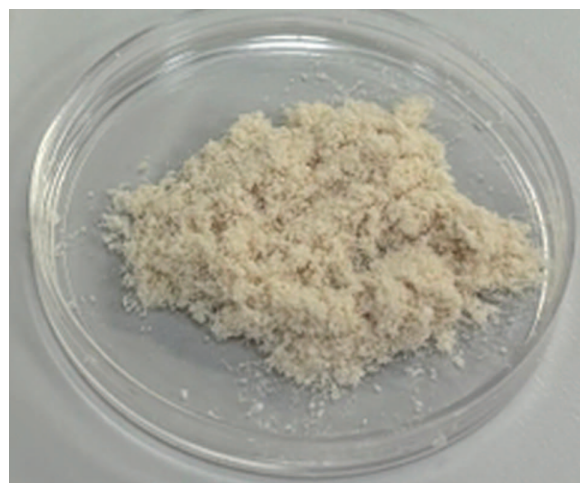
На следующем этапе осуществляется ферментативный гидролиз матрикса солянокислым раствором пепсина (1:3000, Servicebio, Китай, CAS 9001-75-6) в течение 72 ч при контролируемых температурных условиях с последующей лиофилизацией, позволяющей получить его лиофилизированный гидролизат (рис. 2), который может быть подвергнут радиационной стерилизации при 25 кГр.

Экспериментальные препараты. Проведенный анализ данных литературы показал, что микробиота ожоговых ран характеризуется высоким уровнем обсемененности и доминированием таких патогенов, как *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus* [18, 19]. С учетом данного микробиологического профиля в качестве вариантов на роль антимикробного компонента в состав спрея было отобрано два антибиотика: гентамицина сульфат, обладающий выраженной активностью против *P. aeruginosa*² [20], и неомицина сульфат, направленный на подавление грамположительной микрофлоры, в первую очередь *S. aureus*³ [21].

Для проведения исследования было смоделировано два экспериментальных состава спрея. Состав № 1 содержал в качестве действующих веществ лиофилизированный гидролизат бесклеточного матрикса ВС и гентамицина сульфат, состав № 2 – лиофилизированный гидролизат бесклеточного матрикса ВС и неомицина сульфат. В качестве растворителя в обоих составах использовалась вода. Разработанные образцы не имеют аналогов среди зарегистрированных лекарственных препаратов, поэтому

препаратом сравнения был выбран аэрозоль «Олазоль» («Алтайвитамины», Россия), обладающий регенеративным, антибактериальным и анальгезирующим эффектами.

Экспериментальные животные. Работа выполнена на 35 крысах-самцах линии Wistar массой 240–260 г, возрастом 10–12 недель, полученных из питомника «Рапполово» (Всеволожский район, Ленинградская область, д. Рапполово). В ходе эксперимента животных содержали в полипропиленовых боксах группами по 7 особей. В помещениях для животных поддерживали режим день/ночь, температуру на уровне



Фотография выполнена авторами / The photograph was taken by the authors

Рис. 2. Лиофилизированный гидролизат бесклеточного матрикса вартонова студня пуповины человека

Fig. 2. Lyophilized hydrolysate of the acellular matrix of human umbilical cord Wharton's jelly

² Гентамицин – описание вещества, фармакология, применение, противопоказания. <https://www.rlsnet.ru/active-substance/gentamicin-104>

³ Неомицин – описание вещества, фармакология, применение, противопоказания, активное вещество Неомицин. <https://www.rlsnet.ru/active-substance/neomicin-1498>

20–26 °С и относительную влажность воздуха 30–70%. Корм и вода были в свободном доступе. Исследование проводилось в соответствии с требованиями Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета ЕС о защите животных, используемых для научных целей, от 22.09.2010 и Рекомендациями Коллегии ЕЭК от 14.11.2023 № 33 «О Руководстве по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических (неклинических) исследований» и было одобрено независимым Этическим комитетом при Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, протокол № 297 от 17.12.2024.

В зависимости от проводимого лечения животных разделили на четыре группы (по 7 особей в каждой): 1 – контроль (без лечения), 2 – препарат сравнения, 3 – спрей (экспериментальный состав № 1), 4 – спрей (экспериментальный состав № 2). Дополнительно сформировали группу интактных животных без моделирования ожога и без лечения, которая служила группой сравнения для выявления различий в показателях крови между здоровыми животными и животными с ожоговой травмой.

Методы

Моделирование ожоговой травмы. В модели глубокого ожога у взрослых крыс использовали термическое воздействие на кожу животных с помощью металлической пластины диаметром 23 мм, нагретой до 100 °С. Перед моделированием травмы крыс анестезировали внутрибрюшинной инъекцией хлоралгидрата (350 мг/кг). Участок кожи на правом боку выбривали, после чего на него помещали металлическую пластину, предварительно нагретую до температуры 100 °С с помощью электрического нагревателя. Воздействие продолжалось 10 сек, после чего пластину удаляли. До полного пробуждения животных содержали под согревающей лампой для поддержания температуры тела (+25 °С) [22]. Площадь ожоговой раны оценивали планиметрически с помощью инфракрасной камеры сразу после нанесения повреждения и на 7, 14, 21, 28 сут исследования. Для этого животных анестезировали внутрибрюшинной инъекцией хлоралгидрата (350 мг/кг) и фиксировали в ре-стрейнере. Полученные тепловые карты использовали для расчета площади раневого дефекта, который выражали в квадратных миллиметрах (мм²). Общий период наблюдения за состоянием ожоговой раны составил 28 сут, в течение которых ее ежедневно обрабатывали экспериментальными препаратами.

Проведение исследований крови. Образцы крови для определения концентрации лейкоцитов отбирали из подъязычной вены животных в гепаринизированные микропробирки. Для проведения биохимического анализа осуществляли забор цельной крови из брюшной аорты в вакутейнеры с ЭДТА-К3. Полученные образцы центрифугировали при 1000 g в течение 20 мин для получения сыворотки крови, которую в дальнейшем использовали для проведения иммуноферментного анализа.

Концентрацию лейкоцитов определяли на ветеринарном гематологическом анализаторе Mindray BC 2800vet (Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics, КНР) с использованием метода кондуктометрии (импедансного метода). Принцип метода основан на регистрации изменений электрического импеданса в апертуре детектора при прохождении через нее клеток крови. Амплитуда возникающих при этом импульсов пропорциональна объему клеток, а их количество соответствует числу клеточных элементов. Анализ клеток проводили в установленном диапазоне размеров с использованием программных дискриминаторов.

Концентрации С-реактивного белка (СРБ) и эпидермального фактора роста (ЭФР) определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих наборов реагентов (Clou-Clone Corp., США). Анализ сыворотки крови проводили в соответствии с протоколом производителя, который включал последовательную инкубацию с анализируемым образцом, детектирующими антителами и конъюгатом с последующими циклами промывки. Ферментативную реакцию визуализировали с помощью ТМБ-субстрата (триметилбензол) и останавливали стоп-раствором (1М раствор серной кислоты). Оптическую плотность регистрировали на иммуноферментном микропланшетном автоматическом анализаторе Infinite F50 (Tecan Austria GmbH, Австрия), для количественной оценки применяли программное обеспечение Magellan 7.0 (Tecan Austria GmbH, Австрия).

Статистический анализ данных проводили с использованием программного комплекса StatPlus 7.0 (AnalystSoft, США). Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Шапиро – Уилка, а однородность дисперсий – с помощью теста Левена. Для оценки статистически значимых различий между группами применяли однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). В случае выявления значимых

различий проводили пост-хок анализ: при нормальном распределении данных – тестом Тьюки, а при отклонении от нормального распределения – критерием Краскела – Уоллиса с последующим парным сравнением по методу Данна. Во всех случаях статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние экспериментальных препаратов на площадь ожоговой раны у крыс

После нанесения повреждения площадь ожогового дефекта не отличалась между группами испытуемых особей. В течение последующих 28 сут наблюдения летальных исходов среди крыс не отмечалось, установлена положительная динамика течения раневого процесса вследствие ожогового повреждения. Так, в группе контроля к 28 сут площадь нанесенной ожоговой раны уменьшалась на 78%. Препарат сравнения не оказывал существенного влияния на динамику раневого процесса по сравнению с группой контроля. К 28 сут размеры ожогового дефекта отличались между группами только на уровне тенденции – на 26,8%.

Терапия экспериментальным составом № 1 приводила к статистически значимому уменьшению площади ожогового дефекта по сравнению с группой контроля и группой препарата сравнения начиная с 14 сут наблюдения. К 28 сут

медиана площади раны в сравнении с группой контроля была меньше на 70% ($p < 0,05$), а по сравнению с группой препарата сравнения – на 66% ($p < 0,05$).

Применение экспериментального состава № 2 также способствовало более быстрому заживлению ожогового дефекта. Статистически значимые отличия по сравнению с группой контроля и группой препарата сравнения отмечались начиная с 14 сут наблюдения, к 28 сут медиана площади ожоговой раны в группе, получавшей лечение экспериментальным составом № 2 была меньше по сравнению с этими группами на 30% ($p < 0,05$) и 20% ($p < 0,05$) соответственно.

Также было установлено, что применение экспериментального состава № 1 оказывало более выраженное положительное влияние на течение раневого процесса по сравнению составом № 2, различия в размерах площади ожогового дефекта достигали статистически значимых значений во все сроки наблюдения (табл. 1, 2).

Влияние экспериментальных препаратов на концентрацию лейкоцитов в крови у крыс на фоне терапии ожоговой раны

Ожоговая травма вызывала выраженный лейкоцитоз: в группе контроля уровень лейкоцитов превышал показатели в группе интактных животных на 105,7%. Данное увеличение является

Таблица 1. Динамика площади ожоговых ран у крыс в различные сроки после нанесения повреждения и последующей обработки экспериментальными препаратами (Me [Q_{25} ; Q_{75}], мм²)

Table 1. Dynamics of burn wound area in rats at different time points after injury and subsequent treatment with experimental formulations (Me [Q_{25} ; Q_{75}], mm²)

№ п/п Item No.	Группа Group	Срок наблюдения Observation period				
		0 сут Day 0	7 сут Day 7	14 сут Day 14	21 сут Day 21	28 сут Day 28
1	Контроль Control	449,7 [448,8; 450,7]	406,1 [404,2; 411,6]	328,3 [327,6; 329,0]	246,2 [245,7; 246,8]	101,0 [95,5; 107,0]
2	Препарат сравнения Comparator drug	464,6 [443,8; 474,7]	418,1 [399,0; 434,4]	297,1 [271,2; 323,8]	222,8 [203,4; 242,8]	89,6 [86,1; 96,9]
3	Состав № 1 Composition No. 1	457,6 [430,3; 451,1]	391,0 [389,7; 393,6]	246,8 [229,4; 261,0]	160,4 [149,1; 169,6]	31,1 [30,1; 31,5]
4	Состав № 2 Composition No. 2	448,8 [431,1; 463,3]	403,9 [383,3; 408,5]	290,1 [288,5; 292,9]	204,1 [202,0; 212,6]	71,1 [69,7; 76,5]
<i>p</i> -уровень, ANOVA <i>p</i> -value, ANOVA		(1÷4)=0,6857	(1÷4)=0,0951	(1÷4)=0,0009	(1÷4)=0,0002	(1÷4)=0,0003
<i>p</i> -уровень, тест Тьюки <i>p</i> -value, Tukey test				(1-3)=0,0017 (1-4)=0,014 (2-3)=0,0163 (3-4)=0,0104	(1-3)=0,0039 (1-4)=0,0141 (2-3)=0,045 (3-4)=0,0039	(1-3)=0,0005 (1-4)=0,0039 (2-3)=0,0039 (2-4)=0,0021 (3-4)=0,0021

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table was prepared by the authors using their own data

Таблица 2. Динамика заживления ожоговых ран у крыс в различные сроки после нанесения повреждения и последующей обработки экспериментальными препаратами

Table 2. Dynamics of burn wound healing in rats at different time points after injury and subsequent treatment with experimental formulations

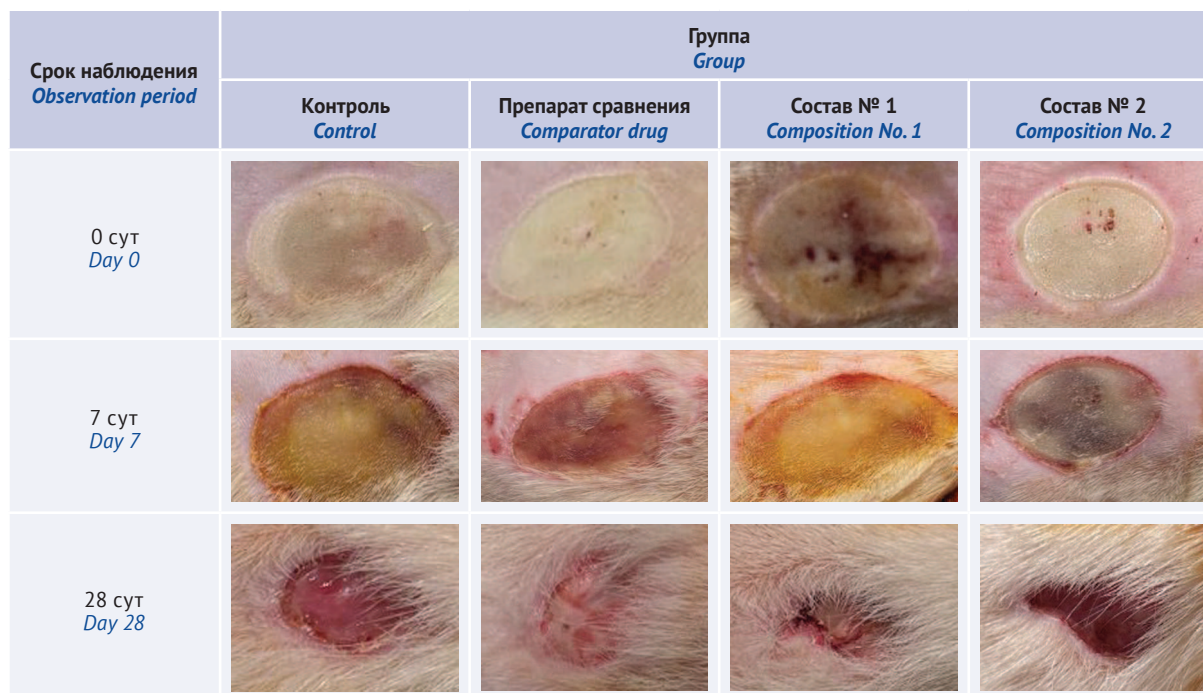


Таблица составлена авторами по собственным данным, фотографии выполнены авторами / The table was prepared by the authors using their own data, the photographs were taken by the authors

Таблица 3. Концентрация лейкоцитов, С-реактивного белка (СРБ), эпидермального фактора роста (ЭФР) в крови у крыс после нанесения повреждения и последующей обработки экспериментальными препаратами (Me [Q₂₅; Q₇₅])

Table 3. Blood concentrations of leukocytes, C-reactive protein (CRP), and epidermal growth factor (EGF) in rats after injury and subsequent treatment with experimental formulations (Me [Q₂₅; Q₇₅])

№ п/п <i>Item No.</i>	Группа <i>Group</i>	Количество лейкоцитов, ×10 ⁹ /л <i>Leukocyte count, ×10⁹/L</i>	Концентрация СРБ, нг/мл <i>CRP concentration, ng/mL</i>	Концентрация ЭФР, пг/мл <i>EGF concentration, pg/mL</i>
1	Контроль <i>Control</i>	9,0 [8,7; 9,2]	27,9 [27,6;28,3]	242,4 [214,62; 261,6]
2	Препарат сравнения <i>Comparator drug</i>	4,4 [4,4; 4,6]	18,2 [18,1;18,4]	204,0 [202,1;205,2]
3	Состав № 1 <i>Composition No. 1</i>	4,5 [4,4; 4,7]	17,7 [17,6;17,9]	494,5 [490,9; 497,6]
4	Состав № 2 <i>Composition No. 2</i>	4,6 [4,5; 4,7]	17,7 [17,6;17,9]	427,8 [424,7; 430,0]
<i>p-уровень, тест Тьюки p-value, Tukey test</i>		(1-2)<0,001 (1-3)<0,001 (1-4)<0,001	(1-2)<0,001 (1-3)<0,001 (1-4)<0,001	(1-3)<0,001 (1-4)<0,001 (2-3)<0,001 (2-4)<0,001

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table was prepared by the authors using their own data

типичным патофизиологическим ответом, отражающим развитие системного воспаления в ответ на обширное повреждение тканей. Применение всех экспериментальных препаратов как различных составов спрея (№ 1, 2), так и препарата сравнения, оказывало выраженный

противовоспалительный эффект. Во всех случаях терапия приводила к статистически значимому уменьшению концентрации лейкоцитов относительно группы контроля, возвращая ее к уровню, сопоставимому с группой интактных животных (табл. 3).

Влияние экспериментальных препаратов на концентрацию С-реактивного белка в сыворотке крови у крыс на фоне терапии ожоговой раны

Уровень СРБ определяли в качестве маркера острой фазы воспаления. Его концентрация закономерно возрастает при системном воспалительном ответе, что позволяет объективно оценить тяжесть воспалительного процесса и эффективность противовоспалительной терапии [23]. У крыс группы контроля было зафиксировано значительное увеличение концентрации СРБ по сравнению с интактными животными – на 238,2%, что подтверждает развитие выраженного системного воспаления в ответ на ожоговую травму. Применение всех экспериментальных препаратов приводило к статистически значимому снижению уровня СРБ по сравнению с группой контроля: в группе препарата сравнения на 34,9%, в группе экспериментального состава № 1 на 36,6%, в группе экспериментального состава № 2 на 36,6%. Значения концентрации СРБ в этих группах приближались к показателям интактных животных, статистически значимых различий между группами не отмечалось (табл. 3).

Влияние экспериментальных препаратов на концентрацию эпидермального фактора роста в сыворотке крови у крыс на фоне терапии ожоговой раны

Оценка концентрации ЭФР является важным показателем в контексте изучения регенеративных свойств исследуемого спрея. ЭФР – это ключевой регулятор пролиферации и дифференцировки кератиноцитов, оказывающий значимое влияние на скорость эпителизации раневой поверхности [24]. В группе контроля и у животных, получавших препарат сравнения, концентрация ЭФР статистически значимо превышала показатели интактных животных на 62,3 и 36,6% соответственно, что отражает компенсаторную активацию эндогенных регенеративных механизмов. У крыс, раны которых обрабатывали экспериментальными составами № 1 и 2, концентрация ЭФР была значительно выше по сравнению с группой контроля – на 104,0 и 76,5% соответственно, а также по сравнению с группой, получающей терапию препаратом сравнения, – на 142,3 и 109,7% соответственно (табл. 3). Полученные результаты демонстрируют, что экспериментальные составы спрея с лиофилизированным гидролизатом бесклеточного матрикса ВС и антибиотиками обладают выраженной

способностью стимулировать эндогенную продукцию ЭФР, существенно превосходя по этому показателю как группу контроля, так и группу препарата сравнения.

При интерпретации результатов необходимо учитывать некоторые ограничения исследования. Ограничения связаны с малым размером выборки ($n=7$ в группе), использованием только крыс-самцов линии Wistar, отсутствием гистологического анализа и оценки ряда иммунологических маркеров (провоспалительные цитокины, оксидативный стресс). Дальнейшие направления исследований включают проведение гистологического анализа, оценку токсичности и тестирование экспериментальных составов спрея на других моделях ран.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспериментальные составы спрея, полученные на основе вартонова студня пуповины человека, показали высокую эффективность при лечении глубокого ожога у крыс. Составы № 1 и 2 статистически значимо превосходили препарат сравнения по уменьшению площади ожогового дефекта на 66 и 20% соответственно. Биохимический анализ крови подтвердил противовоспалительное действие и способность экспериментальных составов спрея стимулировать регенерацию: повышение концентрации ЭФР относительно группы контроля составило для состава № 1 – 104,0% ($p<0,05$), для состава № 2 – 76,5% ($p<0,05$). Экспериментальный состав № 1, содержащий гентамицина сульфат, продемонстрировал более выраженный терапевтический эффект и может быть рекомендован для дальнейших исследований.

Полученные данные свидетельствуют о перспективности экстраполяции полученных результатов на человека, целесообразности дальнейшего доклинического и клинического изучения разработанных экспериментальных составов спрея с лиофилизированным гидролизатом бесклеточного матрикса вартонова студня пуповины человека и антибактериальными препаратами с возможностью их дальнейшего внедрения в практику лечения ожогов. Применение таких препаратов может способствовать сокращению сроков заживления ран, снижению частоты инфекционных осложнений и летальности, а также расширению номенклатуры отечественных высокотехнологичных лекарственных средств.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Пономарева ДВ. Правовой режим обращения высокотехнологичных лекарственных препаратов: опыт межгосударственных интеграционных объединений. *Lex Genetica*. 2025;4(2):28–46. Ponomareva DV. Legal regime of circulation of high-tech medicinal products: Experience of interstate integration associations. *Lex Genetica*. 2025;4(2):28–46 (In Russ.). <https://doi.org/10.17803/lex-gen-2025-4-2-28-46>
2. Liang R, Pan R, He L, et al. Decellularized extracellular matrices for skin wound treatment. *Materials (Basel)*. 2025;18(12):2752. <https://doi.org/10.3390/ma18122752>
3. Lin Z, Nica C, Sculean A, Asparuhova MB. Enhanced wound healing potential of primary human oral fibroblasts and periodontal ligament cells cultured on four different porcine-derived collagen matrices. *Materials (Basel)*. 2020;13(17):5819. <https://doi.org/10.3390/ma13173819>
4. Li T, Javed R, Ao Q. Xenogeneic decellularized extracellular matrix-based biomaterials for peripheral nerve repair and regeneration. *Curr Neuropharmacol*. 2021;19(12):2152–63. <https://doi.org/10.2174/1570159X18666201111103815>
5. Wermker K, Hogrebe M, Gellrich NC, et al. Covering skin defects with a xenogeneic collagen matrix in comparison with a skin graft – A multicenter randomized controlled trial. *J Craniomaxillofac Surg*. 2024;52(1):101–7. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2023.10.009>
6. Chintalapudi N, Rice OM, Hsu JR. The use of xenogenic dermal matrices in the context of open extremity wounds: where and when to consider? *OTA Int*. 2023;6(4 Suppl):e237. <https://doi.org/10.1097/O19.0000000000000237>
7. Özdemir BH. Navigating immunological barriers in xenotransplantation: recent advances and promising strides. *Exp Clin Transplant*. 2025;23(6):421–30. <https://doi.org/10.6002/ect.2023.0351>
8. Ko J, Lee G, Kim HW, et al. Current status of xenotransplantation from an immunobiological standpoint. *Clin Transplant Res*. 2025;39(2):97–115. <https://doi.org/10.4285/ctr.24.0065>
9. Товпеко ДВ, Кондратенко АА, Околитенко МС и др. Оценка структурных и биологических характеристик децеллюляризованного матрикса из вартонова студня пуповины человека. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2025;28(8):45–56. Товпеко DV, Kondratenko AA, Okolitenko MS, et al. Evaluation of structural and biological characteristics of decellularized Wharton's jelly from human umbilical cord. *Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry*. 2025;28(8):45–56 (In Russ.). EDN: **TVEKSI**
10. Руснак МВ, Калюжная ЛИ, Кондратенко АА, Товпеко ДВ. Анализ состава гидрогеля из внеклеточного матрикса пуповины человека. *Гены и клетки*. 2022;17(3):199. Rusnak MV, Kalyuzhnaya LI, Kondratenko AA, Topko DV. Analysis of the composition of hydrogel from human umbilical cord extracellular matrix. *Genes & Cells*. 2022;17(3):199 (In Russ.). EDN: **LRCUFH**
11. Gupta A, El-Amin SF 3rd, Levy HJ, et al. Umbilical cord-derived Wharton's jelly for regenerative medicine applications. *J Orthop Surg Res*. 2020;15(1):49. <https://doi.org/10.1186/s13018-020-1553-7>
12. Li H, et al. From fetal tendon regeneration to adult therapeutic modalities: TGF- β 3 in scarless healing. *Regen Med*. 2023;18(10):791–800. <https://doi.org/10.2217/rme-2023-0112>
13. Leavitt T, Hu MS, Marshall CD, et al. Scarless wound healing: finding the right cells and signals. *Cell Tissue Res*. 2016;365(3):483–93. <https://doi.org/10.1007/s00441-016-2424-8>
14. Кондратенко АА, Товпеко ДВ, Калюжная ЛИ. Биологические эффекты бесклеточного тканеинженерного продукта из пуповины человека. *Патогенез*. 2022;20(4):53–62. Kondratenko AA, Topko DV, Kalyuzhnaya LI. Biological effects of a cell-free engineering product from the human umbilical cord. *Patogenez*. 2022;20(4):53–62 (In Russ.). <https://doi.org/10.25557/2310-0435.2022.04.53-62>
15. Калюжная ЛИ, Волов ДА, Чеботарев СВ и др. Опыт применения бесклеточного гидролизата пуповины человека в лечении пациентов с глубокими ранами. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2024;26(S):187. Kalyuzhnaya LI, Volov DA, Chebotarev SV, et al. Experience of using acellular human umbilical cord hydrolyzate in the treatment of patients with deep wounds. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2024;26(S):187 (In Russ.). EDN: **KTWFKO**
16. Хоминец ВВ, Калюжная-Земляная ЛИ, Кондратенко АА и др. Способ применения бесклеточного лиофилизированного продукта из пуповины человека для заживления ран. Патент Российской Федерации № 2816034 С1; 2024. Khominets VV, Kalyuzhnaya-Zemlyanaya LI, Kondratenko AA, et al. Method of using cell-free lyophilized human umbilical cord product for wound healing. Patent of the Russian Federation No. 2816034 C1; 2024 (In Russ.). EDN: **HFADTH**
17. Симонян ЕВ, Осиков МВ, Агеева АА и др. Современные аспекты патофизиологии термической травмы. *Современные проблемы науки и образования*. 2020;(3):141. Simonyan EV, Osikov MV, Ageeva AA, et al. Modern aspects of pathophysiology of thermal injury. *Modern Problems of Science and Education*. 2020;(3):141 (In Russ.). <https://doi.org/10.17513/spno.29723>
18. Сахаров СП, Козлов ЛБ, Иванов ВВ. Анализ микробного пейзажа раневой инфекции при тяжелой термической травме у детей. *Фундаментальные исследования*. 2013;(9-3):468–71. Sakharov SP, Kozlov LB, Ivanov VV. The analysis of the microbic landscape of the wound infection at the heavy thermal trauma at children. *Fundamental Research*. 2013;(9-3):468–71 (In Russ.). EDN: **RCHRLZ**
19. Özkaçmaz A, Dicle Y, Bayram Y, et al. The distribution and the antimicrobial susceptibility features of microorganisms isolated from the burn wounds: a 10-year retrospective analysis. *J Burn Care Res*. 2024;45(2):384–97. <https://doi.org/10.1093/jbcr/irad158>
20. Cooly J, Obaidi N, Dias V, et al. Delivery of topical gentamicin cream via the platform wound device to reduce wound infection – A prospective, controlled, randomized clinical trial. *Int Wound J*. 2023;20(5):1426–35. <https://doi.org/10.1111/iwj.13998>
21. Алексеев АА, Бобровников АЭ. Местное консервативное лечение ожогов. М.: МИА; 2015. Alekseev AA, Bobrovnikov AE. Local conservative treatment of burns. Moscow: MIA; 2015 (In Russ.). EDN: **ZGYOTB**
22. Фисталь ЭЯ, Солошенко ВВ, Фисталь НН. Некоторые особенности течения раневого процесса в ожоговой ране при комбинированной травме по данным экспериментального исследования. *Таврический медико-биологический вестник*. 2014;17(4):112–5. Fistal EYa, Soloshenko VV, Fistal NN. Experimental data on the wound process features in a burn wound at combined injuries. *Tavricheskiy Mediko-Biologicheskiy Vestnik*. 2014;17(4):112–5 (In Russ.). EDN: **UCMXZR**
23. Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: A critical update. *J Clin Invest*. 2003;111(12):1805–12. <https://doi.org/10.1172/JCI18921>
24. Guo S, Dipietro LA. Factors affecting wound healing. *J Dent Res*. 2010;89(3):219–29. <https://doi.org/10.1177/0022034509359125>

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: А.А. Ковалева – изготовление образцов спрея, написание текста рукописи; Д.И. Поздняков – дизайн исследования, статистическая обработка и анализ данных; Н.Б. Шабанова – моделирование ран, лечение и уход за животными; Ю.Ю. Жидкова – научное руководство, редактирование текста рукописи; Л.И. Калюжная-Земляная – редактирование текста рукописи, утверждение окончательной версии статьи для публикации; Д.В. Товпеко – изготовление лиофилизированного гидролизата бесклеточного матрикса вартонова студня пуповины человека; Э.Ф. Степанова – редактирование текста рукописи; О.А. Ватанская, Е.А. Климкина, Е.С. Смирнова – сбор и обработка информации, редактирование текста рукописи, оформление разделов, формулировка выводов, оформление раздела «Литература».

Соответствие принципам этики. Исследование было одобрено на заседании независимого Этического комитета при Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, протокол № 297 от 17.12.2024.

Использование генеративного искусственного интеллекта. Авторы заявляют, что не использовали генеративный ИИ при подготовке рукописи.

Author contributions. All authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. *Anastasiya A. Kovaleva* prepared the spray samples and drafted the manuscript. *Dmitry I. Pozdnyakov* developed the study design, performed the statistical analysis and analyzed the data. *Natalia B. Shabanova* modeled the wounds, treated the animals, and provided care. *Yunna Yu. Zhidkova* supervised the scientific work and edited the manuscript. *Lidia I. Kalyuzhnaya-Zemlyanaya* edited the manuscript and approved the final version of the manuscript for publication. *Dmitry V. Tovpeko* prepared the lyophilized hydrolysate of the acellular matrix of human umbilical cord Wharton's jelly. *Eleonora F. Stepanova* edited the manuscript. *Olga A. Vatskaya, Ekaterina A. Klimkina, Elena S. Smirnova* collected and processed information, edited the manuscript, designed the sections, formulated the conclusions, and prepared the references.

Ethics approval. The study was approved by the independent Ethics Committee at the Military Medical Academy named after S.M. Kirov (minutes No. 297 dated December 17, 2024).

Use of generative artificial intelligence. The authors declare that no generative AI was used during the preparation of this manuscript.

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Ковалева Анастасия Александровна / Anastasiya A. Kovaleva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9726-0946>

Поздняков Дмитрий Игоревич, д-р фарм. наук / Dmitry I. Pozdnyakov, Dr. Sci. (Pharm.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5595-8182>

Шабанова Наталья Борисовна, канд. фарм. наук / Natalia B. Shabanova, Cand. Sci. (Pharm.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7693-5182>

Жидкова Юнна Юрьевна, канд. фарм. наук / Yunna Yu. Zhidkova, Cand. Sci. (Pharm.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0151-6626>

Калюжная-Земляная Лидия Ивановна, д-р мед. наук, ст. науч. сотр. / Lidia I. Kalyuzhnaya-Zemlyanaya, Dr. Sci. (Med.), Senior Researcher

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6698-4872>

Товпеко Дмитрий Викторович / Dmitry V. Tovpeko

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0286-3056>

Степанова Элеонора Федоровна, д-р фарм. наук, профессор / Eleonora F. Stepanova, Dr. Sci. (Pharm.), Professor

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4082-3330>

Ватанская Ольга Алексеевна, канд. фарм. наук / Olga A. Vatskaya, Cand. Sci. (Pharm.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9125-8757>

Климкина Екатерина Александровна, канд. фарм. наук / Ekaterina A. Klimkina, Cand. Sci. (Pharm.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3391-7208>

Смирнова Елена Сергеевна, канд. фарм. наук / Elena S. Smirnova, Cand. Sci. (Pharm.)

ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-4820-4313>

Поступила 13.02.2026

После доработки 29.05.2026

Принята к публикации 23.06.2026

Received February 13, 2026

Revised May 29, 2026

Accepted June 23, 2026