

MODIFIED GEL BASED ON RECOMBINANT HUMAN ANGIOGENIN: STUDY OF ANTIMICROBIAL, ANTI-INFLAMMATORY AND WOUND HEALING EFFECTS

Bokebayev Zh.T.¹, Kukiev I.S.¹, Krivoruchko T.N.², Sergazy Sh.D.², Shulgau Z.T.², Tolmacheva O.V.², Abuova G.T.³, Zhaugasheva S.K.⁴, Gulyayev A.E.²

¹AO «Medical University Astana»,
Beibitshilik Ave., 49A, Astana, 010000, Kazakhstan

²RSE«National Center for Biotechnology»,
Kurgalzhinskoe highway, 13/5, Astana, 010000, Kazakhstan

³South-Kazakhstan State Pharmaceutical Academy,
Al-Farabi, 1, Shymkent, 160019, Kazakhstan

⁴Karagandy State Medical University,
Gogolya str., 40, Karaganda, 100000, Kazakhstan
shulgau@biocenter.kz

ABSTRACT

The aim of the study was to compare the antimicrobial, anti-inflammatory and wound healing effects of an angiogenin gel with those of a modified version of the gel containing the antimicrobial drug dioxidine. Modifications of the angiogenin gel by the addition of dioxidine resulted in enhanced antimicrobial action against the main pathogens of wound purulent-septic infections: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, and *Escherichia coli*. The presence of dioxidine in the angiogenin gel did not modify the anti-inflammatory effect, which was similar to that of the standard angiogenin gel. The wound healing effect of the angiogenin gel containing dioxidine was enhanced in a burn wound model, as accelerated epithelization was observed, potentially due to the contribution of the antimicrobial component to the healing process.

Keywords: Angiogenin, dioxidine, antimicrobial, anti-inflammatory, wound healing

УДК 615.31; 615.017; 615.015.2

МОДИФИЦИРОВАННЫЙ ГЕЛЬ НА ОСНОВЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АНГИОГЕНИНА ЧЕЛОВЕКА: ОЦЕНКА ПО КРИТЕРИЯМ АНТИМИКРОБНОГО, ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО И РАНОЗАЖИВЛЯЮЩЕГО ЭФФЕКТОВ

Бокебаев Ж.Т.¹, Кукиев И.С.¹, Криворучко Т.Н.², Сергазы Ш.Д.², Шульгау З.Т.², Толмачева О.В.², Абуова Г.Т.³, Жаугашева С.К.⁴, Гуляев А.Е.²

¹АО «Медицинский университет Астана»,
пр.Бейбітшілік, 49А, Астана, 010000, Қазақстан

²РГП «Национальный центр биотехнологии»,
Кургельжинское шоссе, 13/5, Астана, 010000, Қазақстан

³Южно-Казakhstanская государственная фармацевтическая академия,
пл. Аль-Фараби, 1, Шымкент, 160019, Қазақстан

⁴Карагандинский государственный медицинский университет,
ул. Гоголя, 40, Караганда, 100000, Қазақстан
shulgau@biocenter.kz

АБСТРАКТ

Оптимизация состава разрабатываемого ранозаживляющего средства на основе ангиогенина на данном этапе работы сводилась к попытке усиления противомикробного и противовоспалительного потенциала путём включения в гель химиотерапевтического средства –

диоксидин. Целью исследования явилось изучение антимикробной, противовоспалительной и ранозаживляющей активности геля ангиогенин в сравнении с модифицированным вариантом препарата – гелем ангиогенина с диоксидином. Модификации геля на основе рекомбинантного ангиогенина путём добавления в состав геля диоксидина приводит к появлению выраженного антимикробного действия по отношению к основным возбудителям раневой гнойно-септической инфекции – *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* и *Escherichia coli*. Присутствие диоксидина в геле на основе ангиогенина не сказывается на выраженности противовоспалительного эффекта, который сохраняется в объёме типичном для стандартного геля ангиогенин. Ранозаживляющий эффект геля на основе ангиогенина при добавлении диоксидина на модели ожоговых ран усиливается, ускоряется эпителизация, что может быть связано с вкладом противомикробного компонента в процесс заживления.

Ключевые слова: ангиогенин, диоксидин, антимикробная активность, противовоспалительное действие, ранозаживляющий эффект.

ВВЕДЕНИЕ

Последние годы знаменуются широким интересом к классу биостимулирующих веществ и генно-инженерным препаратам цитокинов в лечении язв, что в значительной степени определяется надеждами на успешность их практического применения [1-3]. Известно, что в заживлении раны участвуют не только клеточные элементы соединительной ткани, но и многочисленные факторы иммунной системы, в том числе и цитокины, продуцируемые различными клетками: эндотелиоцитами, кератиноцитами, фибробластами, макрофагами, нейтрофилами, лимфоцитами, тромбоцитами, стромальными и другими клетками [4]. Выбрать ключевой цитокин, определяющий течение раневого процесса, очевидно, крайне сложно, но попытки предпринимаются довольно масштабные, и апробацию проходят десятки препаратов рекомбинантных цитокинов человека. Среди них определённо выделяется по комплексу потенциально терапевтических свойств полипептид, вовлеченный в процесс ангиогенеза–ангиогенин [5-7]. На основе рекомбинантного ангиогенина человека разработан гель, обладающий ранозаживляющими свойствами. Ангиогенин относится к группе ангиогенных белков, стимулирующих рост кровеносных сосудов. Он проявляет высокую ангиогенную активность и вызывает образование кровеносных сосудов при крайне малых концентрациях: одна часть на квадриллион ($1:10^{15}$) [8]. Ангиогенин принимает участие в большинстве стадий процесса ангиогенеза: связывается с эндотелиальными клетками; стимулирует образование вторичных посредников; активирует клеточно-ассоциированные протеазы; усиливает инвазивность культивируемых эндотелиальных клеток; стимулирует синтез ДНК и пролиферацию в культурах с низкой плотностью эндотелиальных клеток; способствует образованию тубулярных структур. Ангиогенин способствует физиологичному протеканию процессов заживления острых язв в коже крысы при экспериментальном ожоге, без образования рубца [9].

Однако в условиях эксперимента при наличии установленной способности геля ангиогенина ускорять заживление линейных и плоскостных ран, а также трофических язв, противовоспалительная активность отчетливо не установлена, а противомикробный потенциал даже не может быть теоретически обоснован по химическим характеристикам активной субстанции. Между тем, наличие противомикробных и противовоспалительных эффектов для ранозаживляющего препарата весьма желательно.

Наблюдения за проявлениями фармакодинамических эффектов геля ангиогенина в условиях предшествующих экспериментов наводят на мысль о недостаточной выраженности антибактериального эффекта, поскольку случаи нагноения ран при использовании данного препарата встречаются нередко. Стремление гарантировать добавочный антимикробный потенциал геля ангиогенина в условиях нашего эксперимента реализовалось в попытке введения в гель ангиогенина диоксидина – противомикробного химиотерапевтического средства широкого спектра действия.

Целью наших исследований явилось изучение антимикробной, противовоспалительной и ранозаживляющей активности геля ангиогенин а в сравнении с модифицированным вариантом препарата – гелем ангиогенина с диоксидином.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами исследования явились нативный гель рекомбинантного ангиогенина человека и модифицированный гель рекомбинантного ангиогенина человека с диоксидином.

Нативный гель ангиогенина содержит рекомбинантный ангиогенин человека в концентрации 25 мкг/мл, вспомогательных веществ – полиэтиленоксид (наполнитель) и бензоат натрия (консервант), предназначен для наружного применения. Модифицированный гель рекомбинантного ангиогенина человека с диоксидином содержит рекомбинантный ангиогенин человека в концентрации 25 мкг/мл и диоксидин 5%, вспомогательных веществ – полиэтиленоксид (наполнитель) и бензоат натрия (консервант).

Антимикробное действие объектов исследования изучали методом «диффузии в агар» [10]. В качестве тестерных штаммов использовали эталонные штаммы, полученные из РГП «Республиканская коллекция микроорганизмов»: грамположительные кокки – *Staphylococcus aureus* ATCC 25922; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853; грамположительные бактерии – *Bacillus subtilis* 8232 и грамотрицательные палочки – ATCC 25923. О степени активности препарата судили по диаметру зоны задержки роста микроорганизмов, которую выражали в миллиметрах (мм).

С целью изучения противовоспалительной активности была использована модель термического воспаления лапы у мышей [11]. В экспериментах использовали 21 белую аутбредную мышь массой 20-25 г. У животных вызывали ожог задней правой лапки путем погружения в горячую воду с температурой 66,5°C на 4 секунды. После этого лапку животных опытных групп смазывали исследуемыми препаратами – нативный гель рекомбинантного ангиогенина человека и модифицированный гель рекомбинантного ангиогенина человека с диоксидином. У контрольных животных лапку смазывали гелем полиэтиленоксида. Через 24 часа мышей выводили из эксперимента путем передозировки углекислым газом. Отечную лапку (правая задняя лапка с ожогом) и неотечную лапку (левая задняя интактная лапка) отрезали на уровне голеностопного сустава, взвешивали на электронных весах и вычисляли разницу в массе. Противовоспалительную активность препаратов в процентах определяли по формуле (1):

$$A = 100\% - (P_{оп} \times 100\%) / P_{к} \quad (1)$$

где А – противовоспалительная активность;

P_к – средняя разница в массе отежной и неотечной лапы в контроле;

P_{оп} – средняя разница в массе отежной и неотечной лапы в опыте.

Моделирование ожоговых ран осуществляли на 18 крысах Wistar массой 250-300 г. На выстриженном участке спины размером 4x4 см² под барбитуровым наркозом у животных вызывали термический ожог. Для этого использовали прибор с установленной температурной шкалой и электропаяльником, на конце которого крепится металлическая пластина размером 2,5x2,5 см². Данный метод позволяет получить стандартные ожоги по площади и глубине всей толщи кожи. Время экспозиции нагретой до 2000°C контактной пластинки составляло 10 сек. При соблюдении этих условий ожог кожи у животных соответствовал III степени клинической классификации ожогов [12].

Животных распределили на 3 группы, в каждой группе по 6 животных. Крысам двухопытных группна ожоговую рану наносили тонким слоем один раз в сутки нативный гель рекомбинантного ангиогенина человека или модифицированный гель рекомбинантного ангиогенина человека с диоксидином, а животным контрольной группы на ожоговую поверхность ран наносили тонким слоем гель полиэтиленоксида. Использование препаратов начинали на второй день после воспроизведения ожогов. Об общем состоянии животных судили на основании поведенческих реакций, аппетита, массы тела, выживаемости. Клинические наблюдения процессов заживления ожоговых ран проводили на 2, 5, 8, 9, 13, 16, 19, 21, 23, 24, 25, 26, 27, 28 сутки и до полного заживления ран. В эти сроки регистрировали состояние раны, проводили измерение площади раны, прикладывая к ране прозрачный трафарет. Фиксировали также процент животных с зарубцевавшимися ранами. Кроме того, о темпах заживления ожоговых повреждений судили по скорости заживления ран, которую вычисляли по формуле (2):

$$V = (S_{макс} - S_{опыт}) / S_{опыт} \quad (2)$$

где S_{макс} – максимальная площадь раны (в нашем опыте на 8-й день);

S_{опыт} – площадь раны в день измерения.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием критерия Стьюдента [13].

Все исследовательские работы с лабораторными животными выполнялись в соответствии с общепринятыми этическими нормами по обращению с животными, на основе стандартных операционных процедур, которые соответствуют правилам, принятым Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных научных целей (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123). Strasbourg, 1986).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования антимикробной активности геля ангиогенина и модифицированного геля ангиогенина с диоксидином представлены в таблице 1.

Как видно из результатов, нативный гель ангиогенина не обладает выраженной противомикробной активностью, тогда как модифицированный гель ангиогенина с диоксидином обладает антимикробным действием в отношении всех исследованных возбудителей раневой гнойно-септической инфекции: стафилококка, кишечной, сенной и синегнойной палочек, что дает возможность обосновать

перспективу использования препарата для лечения гнойных ран и гнойно-воспалительных заболеваний кожных покровов.

Таблица 1. Сравнительная антимикробная активность нативного геля ангиогенина и модифицированного геля ангиогенина с диоксицином

Table 1. Comparative antimicrobial activity of the native gel of angiogenin and a modified gel of angiogenin with dioxidine

Штаммы микроорганизмов Strains of microorganisms	Диаметры зон задержки роста микроорганизмов, мм Diameters of growth inhibition zones of microorganisms, mm	
	Гель ангиогенина Angiogenin gel	Гель ангиогенина с диоксицином Angiogenin gel with dioxidine
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25923	10,6±0,9	29,4±0,4
<i>Bacillus subtilis</i> 8232	9,5±1,5	24,5±0,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	0 (сплошной рост) 0 (Continuous growth)	16,2±0,5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25922	0 (сплошной рост) 0 (Continuous growth)	19,8±0,5

Результаты исследования противовоспалительной активности геля ангиогенина и модифицированного геля ангиогенина с диоксицином представлены в таблице 2.

Как видно из представленных результатов, разница в массе отечной и неотечной лапы в группах, где использовали нативный гель ангиогенина и модифицированный гель, достоверно отличается от показателя в контрольной группе, но между собой эффекты исследуемых объектов не отличаются, что свидетельствует об одинаковой выраженности противовоспалительного эффекта. Таким образом, на модели термического воспаления лапы у мышей стандартный гель ангиогенина и модифицированный гель ангиогенина с диоксицином проявляют сходную противовоспалительную активность на уровне 38,0-40,0%. Плейотропная противовоспалительная активность ангиогенина – не строго определённая категория. В экспериментальных условиях на различных моделях эффект оценивается от нулевого до относительно высокого (в зависимости от сущности модели) [14-16], в клинических условиях противовоспалительная активность предполагается как компонент общего эффекта [17-19]. В условиях нашего эксперимента некоторая противовоспалительная активность зарегистрирована на модели термического воспаления лапы у мышей.

Таблица 2. Сравнительная противовоспалительная активность нативного геля ангиогенина и модифицированного геля ангиогенина с диоксицином на модели термического воспаления у мышей

Table 2. Comparative anti-inflammatory activity of the native gel of angiogenin and the modified gel of angiogenin with dioxidine on the model of thermal inflammation in mice

Исследуемая группа The study group	Разница в массе отечной и неотечной лапы, мг Difference in mass of edematous and non-edematous paw, mg	Противовоспалительная активность, % Anti-inflammatory activity, %
Контроль, n=7 Control, n=7	84,71 ± 5,25	
Гель ангиогенина, n=7 Angiogenin gel, n=7	52,14 ± 10,87*	38,5
Гель ангиогенина с диоксицином, n=7 Angiogenin gel with dioxidine, n=7	50,00 ± 4,82*	40,6

Примечания:

* – уровень значимости $p < 0,05$ – статистически значимые различия по сравнению с соответствующими значениями в контрольной группе животных;
n – количество животных в группе

Notes:

* – significance level $p < 0.05$ – statistically significant differences compared to the corresponding values in the control group of animals;
n – is the number of animals in the group

Результаты изучения ранозаживляющего действия геля ангиогенина и модифицированного геля ангиогенина с диоксином на модели ожоговой раны представлены в таблице 3.

Из представленных результатов видно, что площадь ран у животных, которым наносили гель ангиогенина и гель ангиогенина с диоксином, начиная с 21 суток эксперимента, достоверно отличается от результатов в контрольной группе. Данные результаты свидетельствуют о выраженном репаративном действии как стандартного геля ангиогенина, так и модифицированного геля ангиогенина с диоксином.

Вероятность стимуляции заживления ожоговых ран за счёт увеличения концентрации ангиогенина в области повреждения, ранее зафиксировали Pan S.C. соавт. [20]. Результаты, полученные в условиях нашего эксперимента, подтверждают это положение. Сходные результаты по ускорению заживления ран обнаружили также Steed D.L. соавт. [21], однако в этом случае речь шла об использовании для стимуляции регенерации амниотической жидкости с высоким содержанием ангиогенина, но в комплексе с другими многочисленными ростовыми факторами и цитокинами. Для нашего случая важно, что полное заживление ран (эпителизация раневой поверхности) при использовании модифицированного геля ангиогенина с диоксином наступило на двое суток раньше (25-е сутки), чем у животных, которым наносили стандартный гель ангиогенина (27-е сутки). Полное заживление рану животных контрольной группы завершилось на 30-е сутки опыта с образованием грубого рубца, который рассасывался медленнее (5-6 дней), чем в опытных группах (1-3 дня). Полученные данные позволяют утверждать, что модифицированный гель ангиогенина с диоксином на модели ожоговых ран у крыс проявляет ранозаживляющую активность, превышающую уровень активности стандартного немодифицированного варианта геля ангиогенина без добавления диоксида.

Таблица 3. Сравнительно ранозаживляющее действие нативного геля ангиогенина и модифицированного геля ангиогенина с диоксидином

Table 3. Comparative wound healing effect of the native gel of angiogenin and a modified gel of angiogenin with dioxidine

День опыта Day of experiment	Контроль, n=6			Гель ангиогенина, n=6			Гель ангиогенина с диоксидином, n=6		
	Control, n=6			Angiogenin gel, n=6			Angiogenin gel with dioxidine, n=6		
	S, мм ²	V	% рубцевания % scarring	S, мм ²	V	% рубцевания % scarring	S, мм ²	V	% рубцевания % scarring
2	509,0 ± 43,8	–	–	566,0 ± 56,5	–	–	505,0 ± 56,7	–	–
5	412,17 ± 53,33	0,11	–	376,33 ± 34,50	0,17	–	383,00 ± 12,18	0,16	–
8	397,17 ± 50,99	0,16	–	339,83 ± 34,22	0,29	–	340,50 ± 16,17	0,30	–
13	272,00 ± 68,27	0,69	–	202,33 ± 36,26	1,17	–	220,17 ± 21,92	1,01	–
16	226,17 ± 60,66	1,03	–	146,50 ± 27,58	2,00	–	162,50 ± 11,17	1,72	–
19	208,33 ± 48,00	1,12	–	134,67 ± 13,28	2,25	–	140,50 ± 17,78	2,15	–
21	142,83 ± 27,30	2,21	–	88,00 ± 22,04	3,99	–	84,17 ± 1,05*	4,25	–
23	83,83 ± 14,17	4,47	–	45,83 ± 10,82*	8,56	–	14,33 ± 5,20*	29,86	33,3
24	37,00 ± 9,65	11,38	–	15,17 ± 4,23*	27,89	33,3	4,67 ± 2,00*^	93,67	66,7
25	18,50 ± 6,37	23,76	16,7	6,33 ± 1,08*	68,23	50	0,00 ± 0,00*^	–	100
26	8,83 ± 4,50	50,88	50	2,17 ± 0,51*	200,9	66,7	0,00 ± 0,00*^	–	100
27	4,33 ± 2,89	104,8	50	0,00 ± 0,00	–	100	0,00 ± 0,00	–	100
28	1,33 ± 1,33	343,4	83,3	0,00 ± 0,00	–	100	0,00 ± 0,00	–	100

Примечания:

n – количество животных в группе;

* – p < 0,05 – по сравнению со значениями в контрольной группе животных;

^ – p < 0,05 – по сравнению со значениями в группе с гелем ангиогенина.

Notes:

n – the number of animals in the group;

* – p < 0,05 – in comparison with the values in the control group of animals;

^ – p < 0,05 – in comparison with the values in the group with angiogenin gel.

ВЫВОДЫ

Таким образом, при модификации геля на основе рекомбинантного ангиогенина путём добавления химиотерапевтического средства диоксидин появляется выраженное антимикробное действие по отношению к стафилококку, синегнойной, сенной и кишечной палочкам. Присутствие диоксида в геле на основе ангиогенина не сказывается на выраженности противовоспалительного эффекта, который сохраняется в объёме типичном для стандартного геля ангиогенина. Ранозаживляющий эффект геля на основе ангиогенина при добавлении диоксида на модели ожоговых ран усиливается (ускоряется эпителизация), что мы склонны связывать с вкладом противомикробного компонента в процесс заживления. Безусловно, необходимы дополнительные исследования с контролем микробной обсеменённости поверхности модельных ран для проверки данного положения. Установленное в исследованиях комплексное действие модифицированного геля ангиогенина с диоксином, превосходящее потенциальные терапевтические эффекты исходного препарата – геля ангиогенина, позволяет рекомендовать модифицированный диоксином гель ангиогенина для дальнейших испытаний в качестве ранозаживляющего препарата при лечении гнойных ран, воспалительных инфильтратов, ожогов легкой и средней степени тяжести, пролежней.

ЛИТЕРАТУРА

1. Riabov V., Salazar F., Htwe S.S. et al. Generation of anti-inflammatory macrophages for implants and regenerative medicine using self-standing release systems with a phenotype-fixing cytokine cocktail formulation // *Acta Biomater.* – 2017. – Feb 1.
2. Sherman S.E., Kuljanin M., Cooper T.T. et al. Aldehyde Dehydrogenase Activity Identifies a Subset of Human Mesenchymal Stromal Cells with Vascular Regenerative Potential // *Stem Cells.* – 2017. – Mar 15.
3. Lv Y., Ge L., Zhao Y. Effect and mechanism of SHED on ulcer wound healing in Sprague-Dawley rat models with diabetic ulcer // *Am J Transl Res.* – 2017. – Vol. 9(2). – P. 489-498.
4. Chodorowska G., Roguś-Skorupska D. Cutaneous wound healing // *Ann Univ Mariae Curie Sklodowska Med.* – 2004. – Vol. 59(2). – P. 403-407.
5. Sheng J., Xu Z. Three decades of research on angiogenin: a review and perspective // *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai).* – 2016. – Vol. 48(5). – P. 399-410.
6. Lyons S.M., Fay M.M., Akiyama Y., Anderson P.J., Ivanov P. RNA biology of angiogenin: Current state and perspectives // *RNA Biol.* – 2017. – Vol. 14(2). – P. 171-178.
7. Hoang T.T., Raines R.T. Molecular basis for the autonomous promotion of cell proliferation by angiogenin // *Nucleic Acids Res.* – 2017. – Vol. 45(2). – P. 818-831.
8. Li S., Hu G.F. Emerging role of angiogenin in stress response and cell survival under adverse conditions // *J Cell Physiol.* – 2012. – Vol. 227(7). – P. 2822-2826.
9. Simanski M., Köten B., Schröder J.M., Gläser R., Harder J. Antimicrobial RNases in cutaneous defense // *J Innate Immun.* – 2012. – Vol. 4(3). – P. 241-247.
10. Навашин С.М. Рациональная антибиотикотерапия. – М.: Медицина, 1982. – 496 с.
11. Гацура В.В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ. – М.: Медицина, 1974. – 123 с.
12. Бурмистров В.М., Калметов Б.М. Местное консервативное лечение ожогов // *Ожоги: Руководство для врачей.* – Л.: Медицина, Ленингр. отд., 1981. – С. 123-134.
13. Бельский М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. – Л., 1963. – С. 81-106.
14. Peculiarities of hepatic experimental wound healing in rats treated with angiogenin // *Morfologija.* – 2005. – №128(4). – P. 98-100.
15. Lee S.H., Kim K.W., Min K.M., Kim K.W., Chang S.I., Kim J.C. Angiogenin reduces immune inflammation via inhibition of TANK-binding kinase 1 expression in human corneal fibroblast cells // *Mediators Inflamm.* – 2014. – №2014. – P. 861435.
16. Kendall A.C., Whatmore J.L., Harries L.W. et al. Changes in inflammatory gene expression induced by hyperbaric oxygen treatment in human endothelial cells under chronic wound conditions // *Exp Cell Res.* – 2012. – Feb, 1. – №318(3). – P. 207-216.
17. Koutroubakis I.E., Xidakis C., Karmiris K. et al. Serum angiogenin in inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci.* – 2004. – Nov-Dec. – №49(11-12). – P. 1758-1762.
18. Eleftheriadis T., Antoniadi G., Liakopoulos V. et al. Plasma angiogenin and vascular endothelial growth factor a among hemodialysis patients // *Iran J Kidney Dis.* – 2012. – May. – №6(3). – P. 209-215.
19. Ng M.T., Stammers A.T., Kwon B.K. Vascular disruption and the role of angiogenic proteins after spinal cord injury // *Transl Stroke Res.* – 2011. – Dec. – №2(4). – P. 474-491.

20. Pan S.C., Wu L.W., Chen C.L., Shieh S.J., Chiu H.Y. Angiogenin expression in burn blister fluid: implications for its role in burn wound neovascularization // *Wound Repair Regen.* – 2012. – Vol. 20(5). – P. 731-739.

21. Steed D.L., Trumppower C., Duffy D. et al. Amnion-derived cellular cytokine solution: a physiological combination of cytokines for wound healing // *Eplasty.* – 2008. – Apr 7. – №8. – P. e18.

REFERENCES

1. Riabov V., Salazar F., Htwe S.S. et al. Generation of anti-inflammatory macrophages for implants and regenerative medicine using self-standing release systems with a phenotype-fixing cytokine cocktail formulation. *Acta Biomater.*, 2017, feb, 1, pii: S1742-7061(17)30080-6. [Epub ahead of print]. PMID: 28159717. doi: 10.1016/j.actbio.2017.01.071.

2. Sherman S.E., Kuljanin M., Cooper T.T. et al. High Aldehyde Dehydrogenase Activity Identifies a Subset of Human Mesenchymal Stromal Cells with Vascular Regenerative Potential. *Stem Cells.*, 2017, mar, 15. [Epub ahead of print]. PMID: 28295901. doi: 10.1002/stem.2612.

3. Lv Y., Ge L., Zhao Y. Effect and mechanism of SHED on ulcer wound healing in Sprague-Dawley rat models with diabetic ulcer. *Am J Transl Res.*, 2017, vol. 9(2), pp. 489-498. PMID: 28337277.

4. Chodorowska G., Roguś-Skorupska D. Cutaneous wound healing. *Ann Univ Mariae Curie Skłodowska Med.*, 2004, vol. 59(2), pp. 403-407. PMID: 16146117.

5. Sheng J., Xu Z. Three decades of research on angiogenin: a review and perspective. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2016, vol. 48(5), pp. 399-410. PMID: 26705141. doi: 10.1093/abbs/gmv131.

6. Lyons S.M., Fay M.M., Akiyama Y., Anderson P.J., Ivanov P. RNA biology of angiogenin: Current state and perspectives. *RNA Biol.*, 2017, vol. 14(2), pp. 171-178. PMID: 28010172. doi: 10.1080/15476286.2016.1272746.

7. Hoang T.T., Raines R.T. Molecular basis for the autonomous promotion of cell proliferation by angiogenin. *Acids Res.*, 2017, vol. 45(2), pp. 818-831. PMID: 27915233. PMCID: PMC5314776. doi: 10.1093/nar/gkw1192.

8. Li S., Hu G.F. Emerging role of angiogenin in stress response and cell survival under adverse conditions. *J Cell Physiol.*, 2012, vol. 227(7), pp. 2822-2826. PMID: 22021078. PMCID: PMC3271170. doi: 10.1002/jcp.23051.

9. Simanski M., Köten B., Schröder J.M., Gläser R., Harder J. Antimicrobial RNases in cutaneous defense. *J Innate Immun.*, 2012, vol. 4(3), pp. 241-247. PMID: 22327069. doi: 10.1159/000335029.

10. Navashin S.M. Racional'naja antibiotikoterapija [Rational antibiotic therapy]. Moscow, Medicina [Medicine], 1982, 496 p.

11. Gacura V.V. Metody pervichnogofarmakologicheskogo issledovaniya biologicheskii aktivnykh veshchestv [Methods of primary pharmacological research of biologically active substances]. Moscow, Medicina [Medicine], 1974, 123 p.

12. Burmistrov V.M., Kalmetov B.M. Mestnoe konservativnoe lechenie ozhogov [Local conservative treatment of burns]. Ozhogi: Rukovodstvo dlja vrachej [Burns: Guide for doctors]. Leningrad, Medicina [Medicine], Leningr. otd., 1981, pp. 123-134.

13. Belen'kij M.L. Jelementy kolichestvennoj ocenki farmakologicheskogo jeffekta [Elements of quantitative evaluation of the pharmacological effect], 1963, pp. 81-106.

14. Peculiarities of hepatic experimental wound healing in rats treated with angiogenin. *Morfologija*, 2005, vol. 128(4), pp. 98-100.

15. Lee S.H., Kim K.W., Min K.M., Kim K.W., Chang S.I., Kim J.C. Angiogenin reduces immune inflammation via inhibition of TANK-binding kinase 1 expression in human corneal fibroblast cells. *Mediators Inflamm.*, 2014, vol. 2014, pp. 861435.

16. Kendall A.C., Whatmore J.L., Harries L.W. et al. Inflammatory gene expression induced by hyperbaric oxygen treatment in human endothelial cells under chronic wound conditions. *Exp Cell Res.*, 2012, feb 1, no. 318(3), pp. 207-216.

17. Koutroubakis I.E., Xidakis C., Karmiris K. et al. Serum angiogenin in inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci.*, 2004, nov-dec, no. 49(11-12), pp. 1758-1762.

18. Eleftheriadis T., Antoniadi G., Liakopoulos V. et al. Plasma angiogenin and vascular endothelial growth factor among hemodialysis patients. *Iran J Kidney Dis.*, 2012, may, no. 6(3), pp. 209-215.

19. Ng M.T., Stammers A.T., Kwon B.K. Vascular disruption and the role of angiogenic proteins after spinal cord injury. *Transl Stroke Res.*, 2011, dec, no. 2(4), pp. 474-491.

20. Pan S.C., Wu L.W., Chen C.L., Shieh S.J., Chiu H.Y. Angiogenin expression in burn blister fluid: implications for its role in burn wound neovascularization. *Wound Repair Regen.*, 2012, vol. 20(5), pp. 731-739. PMID: 22823522. doi: 10.1111/j.1524-475X.2012.00819.x.

21. Steed D.L., Trumpower C., Duffy D., et al. Amnion-derived cellular cytokine solution: a physiological combination of cytokines for wound healing. *Eplasty*, 2008, apr 7, no. 8, pp. e18. PMID: 18461121. PMCID: PMC2311453.

РЕКОМБИНАНТТЫ АДАМ АНГИОГЕНИНИ НЕГІЗІНДЕГІ МОДИФИЦИРЛЕНГЕН ЖАҚПАМАЙ: МИКРОБҚА ҚАРСЫ, ҚАБЫНУҒА ҚАРСЫ ЖӘНЕ ЖАРА ЖАЗАТЫН ӘСЕРЛЕРІ ЖАҒЫНАН ӨЛШЕМДЕРІ БОЙЫНША БАҒАЛАУ

**Бөкебаев Ж.Т.¹, Кукиев И.С.¹, Криворучко Т.Н.², Серғазы Ш.Д.², Шульгау
З.Т.², Толмачева О.В.², Әбуова Г.Т.³, Жауғашева С.К.⁴, Гуляев А.Е.²**

¹*«Астана медициналық университеті» АҚ, Бейбітшілік даңғылы, 49А, Астана, 010000, Қазақстан*

²*«Ұлттық биотехнология орталығы» РМК, Қорғалжын тасжолы, 13/5, Астана, 010000, Қазақстан*

³*Оңтүстік Қазақстан мемлекеттік фармацевтикалық академиясы, Әл-Фараби алаңы, 1, Шымкент, 160019, Қазақстан*

⁴*Қарағанды мемлекеттік медициналық университеті, Гоголь көшесі, 40, Қарағанды, 100000, Қазақстан*
shulgau@biocenter.kz

ТҮЙІН

Осы жұмыс мерзімі ішінде ангиогенин негізіндегі әзірленіп отырған жара жазатын дәрі-дәрмектің құрамын оңтайландыру жақпамай құрамына химиотерапевтикалық дәрі – диоксидинді қосу арқылы микробқа қарсы және қабынуға қарсы мүмкіндігін күшейтуге әрекет етуіне әкелді. Зерттеудің мақсаты ангиогенин жақпамайының осы препараттың түрлендірілген нұсқасы – диоксидинді ангиогенин жақпамайымен салыстырғанда микробқа қарсы, қабынуға қарсы және жара жазатын әсерлерін зерттеу болып табылады. Рекомбинантты ангиогенин негізіндегі жақпамайды оның құрамына диоксидин қосу жолымен түрлендіру жарадағы іріңді-септикалық инфекциялардың негізгі қоздырғыштары – *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* және *Escherichia coli*-ге қатысты негізгі микробқа қарсы әсерінің пайда болуына әкеледі. Жақпамай құрамында ангиогенин негізіндегі диоксидиннің болуы қабынуға қарсы әсердің күшіне әсер етпейді, ол стандартты ангиогенин жақпамайына тиесілі көлемде сақталады. Ангиогенин негізіндегі жақпамайға диоксидин қосу кезінде оның күйік жаралар моделіне жара жазатын әсері күшейе түседі, эпителизация жылдамырақ өтеді, бұл жазылу процесіне микробқа қарсы компоненттің үлесімен байланысты болуы мүмкін.

Негізгі сөздер: ангиогенин, диоксидин, микробқа қарсы белсенділік, қабынуға қарсы әсер ету, жара жазатын әсер