

Системы для контролируемого высвобождения и адресной доставки факторов роста в лечении хронических ран

А. Р. Липунов¹, И. М. Афанасов¹, Е. С. Воробьева², А. Б. Чухнина¹,
М. Г. Гладкова³, А. В. Кибардин⁴, В. А. Митиш⁵

¹Химический факультет МГУ имени М. В. Ломоносова
Россия, 119234, Москва, ул. Ленинские Горы, д. 1, стр.3

²ООО «ДжиЭф Групп»

Россия, 107150, Москва, ул. Бойцовая, д. 22

³Факультет биоинженерии и биоинформатики МГУ имени М. В. Ломоносова
Россия, 119192, Москва, ул. Ленинские Горы, д. 1 стр. 73

⁴Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт биологии гена»
Российской академии наук (ИБГ РАН)

Россия, 119334, Москва, ул. Вавилова, д. 34/5

⁵ФГБУ «НМИЦ хирургии им. А. В. Вишневского» Минздрава России
Большая Серпуховская ул., 27, Москва, 117997

Контактное лицо: Липунов Артем Ринатович, artem.lipunov112@gmail.com

Факторы роста (ФР) – это эндогенные сигнальные белки, которые регулируют миграцию, пролиферацию и дифференцировку клеток в процессах репарации тканей. Концентрация этих белков в хронических ранах патологически снижена, что приводит к нарушению нормального течения раневого процесса и существенно затрудняет их лечение. В клинической практике используются препараты, содержащие рекомбинантные ФР в свободной форме. Однако их эффективность для лечения хронических ран ограничена, так как в протеолитической среде таких ран ФР подвергаются быстрой деградации. Для преодоления этого недостатка предложены системы для адресной доставки и контролируемого высвобождения на основе биосовместимых материалов: микро- и наночастицы, гидрогели, биопластические материалы. В настоящем обзоре рассмотрены роли ФР в раневом процессе, особенности патофизиологии хронических ран и системы для контролируемого высвобождения и адресной доставки ФР.

Ключевые слова: факторы роста, хронические раны, рекомбинантные белки, диабетические язвы, контролируемое высвобождение, адресная доставка, биопластические материалы, гидрогели, наночастицы, микрочастицы.

Для цитирования: Липунов А. Р., Афанасов И. М., Воробьева Е. С., Чухнина А. Б., Гладкова М. Г., Кибардин А. В., Митиш В. А. Системы для контролируемого высвобождения и адресной доставки факторов роста в лечении хронических ран. Раны и раневые инфекции. Журнал им. проф. Б. М. Костюченка. 2018; 5 (3): 6-15.

DOI: 10.25199/2408-9613-2018-5-3-6-15

Molecular systems for targeted delivery and controlled release of growth factors for chronic wound treatment

A. R. Lipunov¹, I. M. Afanasov¹, E.S. Vorobeva², A. B. Chuhnina¹, M. G. Gladkova³, A. V. Kibardin⁴, V. A. Mitish⁵

¹Department of Chemistry, Moscow State University
1 b. 3 Leninskiye gory Str., Moscow, 119234, Russia

²“GF Group” LLC

22 Boytsovaya Str., Moscow, 107150, Russia

³The Faculty of Bioengineering and Bioinformatics, Lomonosov Moscow State University
1 b. 73 Leninskiye gory Str., Moscow, 119192, Russia

⁴Institute of Gene Biology Russian Academy of Sciences
34/5 Vavilova Str., Moscow, 119334, Russia

⁵FSGI “A.V. Vishnevsky National Medical Research Center of Surgery” Ministry of Health of Russia
27 Bolshaya Sepuhovskaya Str., Moscow, 117997, Russia

Growth factors (GFs) are endogenous signaling proteins, that regulate cell migration, proliferation and differentiation in tissue regeneration. GFs' concentrations in chronic wounds are pathologically reduced. This leads to a disruption of the healing process and makes chronic wounds treatment more complicated. There are drugs currently used in clinical practice, that contain GFs in a free form. However, their efficiency for chronic wounds treatment is limited, as GFs are quickly degraded in a proteolytic environment of chronic wounds. In order to overcome this limitation biocompatible molecular systems for targeted delivery and controlled release are proposed, such as: micro- and nanoparticles, hydrogels, scaffolds. GFs roles in the healing process, chronic wounds pathophysiology and molecular systems for GFs targeted delivery and controlled release are reviewed.

Key words: growth factors, chronic wounds, recombinant proteins, diabetic ulcers, controlled release, targeted delivery, scaffolds, hydrogels, nanoparticles, microparticles.

For citation: Lipunov A. R., Afanasov I. M., Vorobeva E. S., Chuhnina A. B., Gladkova M. G., Kibardin A. V., Mitish V. A. Molecular systems for targeted delivery and controlled release of growth factors for chronic wound treatment. *Wounds and Wound Infections. The prof. B. M. Kostyuchenok Journal*. 2018; 5 (3): 6-15.

Введение

Рана – это нарушение целостности, структуры и функции ткани [1]. Выделяют два класса ран по характеру и времени процесса заживления: острые и хронические. Острые раны заживают без нарушения нормальной последовательности стадий и их продолжительности, в результате восстанавливаются целостность и функции поврежденных тканей. К хроническим относят раны, в которых нарушается последовательность стадий процесса заживления и/или не происходит их заживления в течение длительного срока [2]. В последние десятилетия число людей, страдающих от хронических ран, неуклонно растет (1,0–2,0 % населения в США и Европе) [3]. Экономическое бремя, налагаемое такими ранами, составляет 2,0–4,0 % от бюджетов на здравоохранение стран ЕС и США, в среднем от 6 до 10 тыс. евро на пациента в год [4]. В связи с этим проблема является актуальной, и в настоящее время большинство исследований посвящено поиску новых и оптимизации существующих методов их лечения.

Заживление ран – это сложный процесс, на который влияет множество факторов. Он состоит из трех основных стадий: воспаления, пролиферации и эпителизации [5]. Сразу после повреждения начинается стадия воспаления: рана освобождается от девитализированных тканей и инородных тел. Затем на стадии пролиферации рана заполняется клеточным матриксом – основой для формирования рубца – и сокращается в размере. Наконец, на стадии эпителизации рана полностью покрывается эпителиальной тканью, прочность рубцовой ткани возрастает. Из-за особенностей патофизиологии хронических ран последовательность и продолжительность стадий процесса заживления ран нарушается [6].

На каждой из стадий в заживлении раны участвуют цитокины и факторы роста (ФР), которые взаимодействуют с рецепторами, другими ФР и внеклеточным матриксом [7]. ФР – это сигнальные молекулы, которые управляют ключевыми процессами в ходе заживления любых типов ран [8]. Знания о патофизиологии хронических ран, накопленные в последние годы, позволяют предположить, что средства на основе ФР могут быть эффективны для лечения ран различной этиологии [9]. Несколько препаратов, содержащих ФР, уже коммерчески доступны: Regranex (becaplermin (PDGF), Smith &

Nephew, Великобритания), Heberprot-p (EGF, Heber Biotec, Куба), Regen-D (EGF), Bharat biotech, Индия), Easyef (EGF, Daewoong Bio, Китай), Fiblast (Trafermin (bFGF), Kaken Pharmaceuticals Co., Ltd., Япония). Однако клиническое применение средств, содержащих ФР, ограничено из-за низкого времени жизни *in vivo* (обусловленного протеолитической деградацией), затрудненного проникновения через кожу (факторы роста практически не способны проникать через неповрежденную кожу, их проникновение возможно только при повреждении кожи) и возможных негативных эффектов, связанных с высокой местной концентрацией в области применения содержащего их средства [10].

В литературе описаны различные способы, позволяющие преодолеть описанные выше проблемы – прежде всего рассматриваются системы адресной доставки и контролируемого высвобождения факторов роста (СДФР) [11]. Различные СДФР повышают устойчивость ФР к протеолитической деградации и позволяют управлять временем и местом их действия. Большое число СДФР на основе биосовместимых материалов находятся на данный момент в разработке для эффективного и безопасного использования ФР как инструмента регенеративной медицины [12].

В настоящем обзоре рассмотрены особенности патофизиологии хронических ран, затрудняющие их лечение, роли ФР в процессе лечения ран и некоторые СДФР, предложенные для лечения хронических ран: системы на основе микро- и наночастиц, биопластические материалы, гидрогели и другие типы.

Особенности патофизиологии хронических ран

Заживление ран – сложный физиологический процесс, который включает взаимодействия между клетками, ФР, внеклеточным матриксом и протеазами [13]. В процессе заживления острых ран фазы воспаления, грануляции и эпителизации следуют друг за другом, зачастую частично перекрываясь. Нарушение порядка и/или сроков протекания фаз – один из главных критериев, позволяющих отнести рану к хроническим [14].

Такие раны развиваются в результате действия следующих факторов (или их комбинации): инфекция, нейропатия, ишемия, возраст, недоедание, сахарный диабет, мацерация, некроз в результате постоянного давления и др. [15]. К хроническим ранам относят и

синдром диабетической стопы (СДС). СДС – наиболее распространенный тип хронических ран, он встречается у 15,0–20,0 % больных сахарным диабетом. Для лечения СДС применяются различные методы, включающие очищение раны (как правило, хирургическое удаление некротической ткани), вакуум-терапию и применение местных средств, стимулирующих пролиферативные процессы и эпителизацию [14]. Эти методы, часто применяемые в комплексном лечении, не могут гарантировать полного выздоровления пациента, так как заживление хронических ран нередко растягивается на недели и месяцы и обычно характеризуется удлиненной фазой воспаления, замедленным формированием грануляционной ткани и слабой степенью эпителизации и ангиогенеза [16].

Одна из основных особенностей патофизиологии хронических ран – повышенное содержание клеток, секретирующих матриксные металлопротеиназы и другие протеазы, что приводит к деградации цитокинов и ФР, необходимых для нормального заживления раны [17]. В результате рана задерживается в стадии воспаления. Действие металлопротеиназ также понижает способность фибробластов к миграции и количество

рецепторов ФР на поверхности клеток (из-за их деградации). Наконец, вследствие продолжительного срока заживления повышается риск инфицирования раны [6]. В связи с чем для успешного лечения необходима нормализация концентрации цитокинов и ФР в течение продолжительного времени.

Факторы роста в раневом процессе

Факторы роста, участвующие в раневом процессе, и их роли

ФР – это белки, регулирующие рост, пролиферацию, миграцию и дифференцировку клеток [18]. Специфическое связывание ФР с рецепторами на поверхности клетки активирует сигнальные пути, которые регулируют различные клеточные процессы, например, активируют цитоплазматические белки или индуцируют транскрипцию новых белков [19]. ФР являются ключевым компонентом в регулировании процессов воспаления, пролиферации и ангиогенеза. ФР также необходимы для успешного формирования матрикса и ремоделирования. В табл. 1 приведены основные ФР, участвующие в раневом процессе, роль каждого из них и их источники в организме.

Таблица 1. Факторы роста, участвующие в раневом процессе, и их роли

Table 1. Growth factors in the healing process and their roles

Фактор роста Growth factor	Источник Source	Основная роль в раневом процессе Key role in a wound healing process	Источники References
PDGF	Тромбоциты Фибробласты Макрофаги Сосудистые эндотелиальные клетки Сосудистые гладкие мышечные клетки Platelets Fibroblasts Macrophages Vascular endothelial cells Vascular smooth muscle cells	<ul style="list-style-type: none"> Выступает в роли хемоаттрактанта для фибробластов, нейтрофилов, моноцитов и гладких мышечных клеток Активирует высвобождение ФР макрофагами Стимулирует пролиферацию фибробластов и образование внеклеточного матрикса <ul style="list-style-type: none"> Acts as chemoattractant for fibroblasts, neutrophils, monocytes, and vascular smooth muscle cells Activates macrophages-induced growth factor release Stimulates fibroblasts proliferation and ECM formation 	[20]
VEGF	Тромбоциты Фибробласты Макрофаги Сосудистые эндотелиальные клетки Сосудистые гладкие мышечные клетки Platelets Fibroblasts Macrophages Vascular endothelial cells Vascular smooth muscle cells	<ul style="list-style-type: none"> Стимулирует ангиогенез Стимулирует пролиферацию и миграцию клеток эндотелия сосудов <ul style="list-style-type: none"> Promotes angiogenesis Promotes proliferation and migration of endothelial cells 	[21]
EGF	Тромбоциты Фибробласты Макрофаги Platelets Fibroblasts Macrophages	<ul style="list-style-type: none"> Стимулирует пролиферацию кератиноцитов, фибробластов и клеток эндотелия сосудов Увеличивает синтез фибронектина <ul style="list-style-type: none"> Promotes proliferation of keratinocytes, fibroblasts, and vascular endothelial cells Increases synthesis of fibronectin 	[9]

TGF- α	Тромбоциты Макрофаги Кератиноциты Platelets Macrophages Keratinocytes	<ul style="list-style-type: none"> • Обладает действием, подобным EGF • Индуцирует ангиогенез <ul style="list-style-type: none"> • Has a similar effect as EGF • Induces angiogenesis 	[22]
IGF	Фибробласты Макрофаги Нейтрофилы Гепатоциты Fibroblasts Macrophages Neutrophils Hepatocytes	<ul style="list-style-type: none"> • Стимулирует эпителизацию • Стимулирует пролиферацию фибробластов <ul style="list-style-type: none"> • Promotes epithelialization • Promotes proliferation of fibroblasts 	[23]
bFGF	Фибробласты Макрофаги Эндотелиальные клетки Fibroblasts Macrophages Endothelial cells	<ul style="list-style-type: none"> • Стимулирует пролиферацию фибробластов • Индуцирует ангиогенез • Стимулирует образование грануляционной ткани, ремоделирование матрикса и эпителизацию <ul style="list-style-type: none"> • Promotes proliferation of fibroblasts • Induces angiogenesis • Promotes formation of granular tissue, matrix remodeling and epithelialization 	[24]
KGF	Фибробласты Fibroblasts	<ul style="list-style-type: none"> • Стимулирует пролиферацию эпителиальных клеток <ul style="list-style-type: none"> • Promotes proliferation of epithelial cells 	[22]
TGF- β 1-3	Тромбоциты Фибробласты Макрофаги Кератиноциты Platelets Fibroblasts Macrophages Keratinocytes	<ul style="list-style-type: none"> • Выступает в роли хемоаттрактанта для макрофагов • Выступает в роли митогена для фибробластов • Стимулирует образование грануляционной ткани <ul style="list-style-type: none"> • Acts as chemoattractant for macrophages • Acts as mitogen for fibroblasts • Promotes formation of granular tissue 	[25]

В разные времена в медицинской практике использовали препараты ФР и цитокинов. Исходно терапевтические белки получали из экстрактов тканей животных и человека. В настоящее время такой подход считается опасным из-за риска передачи инфекций и развития аллергических реакций на ксеногенные белки. Развитие генной инженерии позволило создать целую индустрию получения рекомбинантных терапевтических белков с использованием биотехнологических подходов. Такие белки могут точно повторять последовательность аминокислот белков человека и выполнять их функции.

Современные методы получения рекомбинантных ФР базируются на использовании двух технологий белкового биосинтеза: микробиологических систем получения белка и систем на основе клеток млекопитающих. Достоинством первых является относительно невысокая стоимость продукта. Однако в клетках микроорганизмов отсутствует биохимический аппарат, обеспечивающий правильную сборку аминокислотных

последовательностей белков человека в корректные трехмерные структуры. При этом нарушается функциональность белка и снижается его стабильность при хранении. ФР, полученные в экспрессионных системах на основе клеток млекопитающих, способны не просто в точности повторять аминокислотную последовательность белков человека, но проходить все необходимые посттрансляционные модификации (гликозилирование, сиалирование и др.) и правильный фолдинг (формирование корректных трехмерных структур). Таким образом, они по своей структуре, специфической биологической активности и стабильности в растворах более соответствуют эндогенным ФР человека. [26]. Поэтому именно ФР, наработанные в культурах клеток млекопитающих, наиболее перспективны для использования в качестве компонентов продуктов для регенеративной медицины.

При рассмотрении молекулярного патогенеза раневого и регенераторного процессов становится очевидно, что нормальное заживление ран обеспечивается

в результате секреции сложного коктейля ростовых факторов и цитокинов. Каждый из компонентов такого коктейля стимулирует выполнение различных функций специализированными группами клеток, выпадение из общего списка одного или нескольких ведет к развитию нарушений нормальных репаративных процессов и, как следствие, происходит нарушение процессов заживления. Очевидно, что использование для лечения хронических ран коктейля ФР, вызывающего синергические эффекты, аналогичные природным, предпочтительнее по сравнению с продуктами на основе одного из факторов [27]. Несмотря на наличие на медицинском рынке «монофакторных» препаратов для лечения ран, на смежном косметологическом уже появляются препараты с мультифакторным набором в составе. Таким образом, одной из оптимальных стратегий запуска регенеративных процессов в хронических ранах представляется использование препаратов на основе коктейля рекомбинантных ФР.

Отметим, что концентрация некоторых ФР (например, bFGF, PDGF, EGF и TGF- α) в хронических ранах снижена. Это позволяет предположить, что сложности в лечении хронических ран связаны с недостатком ФР [9]. Так как действие ФР зависит от их локализации и времени применения, контроль этих параметров с помощью СДФР представляется важным для эффективного и безопасного применения ФР в регенеративной медицине.

Типы систем доставки и контролируемого высвобождения факторов роста

В литературе предложены различные типы СДФР для увеличения стабильности и контролируемого высвобождения ФР (рис. 1) [28]. Их возможно классифицировать по двум основным характеристикам: тип иммобилизации ФР и структура матрицы. Ниже описаны их преимущества и недостатки, приведены примеры реализации.

Тип иммобилизации ФР

Химическая иммобилизация

Критерием для отнесения СДФР к системам с химической иммобилизацией является, как правило, наличие ковалентных связей между ФР и СДФР. Такие системы обладают рядом преимуществ [29]:

- 1) позволяют сохранять активность ФР в течение продолжительного времени и устойчивость к деградации и интернализации;
- 2) обеспечивают высвобождение ФР в течение продолжительного времени.

Предложено большое количество методик получения СДФР с химической иммобилизацией, в которых матрица – биосовместимый полимер. В большинстве случаев такие системы получают путем конъюгации полимерной матрицы СДФР с функциональными

группами на поверхности ФР. Однако получение таких конъюгатов затруднительно – необходимо обеспечить селективность химической конъюгации, иначе активность ФР может быть понижена из-за повреждения активного центра или биофункциональных групп [29].

Примерами СДФР с химической иммобилизацией могут служить:

- конъюгат EGF и аминосилового стекловолокна с производными полиэтиленгликоля (ПЭГ) в качестве линкера. Такой конъюгат эффективнее стимулирует рост гепатоцитов крыс, чем СДФР с адсорбированным EGF [30];
- модификация TGF- β 1 с помощью производных ПЭГ. Такие конъюгаты стимулируют восстановление внеклеточного матрикса [31];
- иммобилизация VEGF на пористом волокне из коллагена. Такая СДФР обеспечивает повышенную пролиферацию клеток по сравнению с использованием ФР в свободной форме [32].

Таким образом, СДФР с химической иммобилизацией обеспечивают повышенный контроль высвобождения и устойчивость ФР. Такие системы, в частности, представляют большой интерес для использования в тканевой инженерии [29]. Однако сложности в получении СДФР с химической иммобилизацией затрудняют их использование для лечения хронических ран.

Физическая иммобилизация

Критерием для отнесения СДФР к системам с физической иммобилизацией является отсутствие прочной связи (обычно ковалентной) между ФР и СДФР. Такой подход обладает рядом преимуществ по сравнению с химической иммобилизацией [29]:

- легкость получения (в некоторых случаях простым смешиванием растворов реагентов), возможность управления временем высвобождения ФР (за счет регулирования степени диссоциации комплекса) [33];
- возможность сохранения нативной конформации ФР.

Однако системы с физической иммобилизацией обычно не обеспечивают продолжительного высвобождения ФР и высокой степени его контроля. Большинство предложенных на данный момент СДФР для лечения хронических ран, в том числе нано- и микрочастицы, гидрогели, биопластические материалы, основаны именно на физической иммобилизации. Каждый из типов СДФР с физической иммобилизацией имеет свои преимущества и недостатки, они будут подробно рассмотрены далее.

Структура матрицы

Нано- и микрочастицы

Нано- и микрочастицы широко используются в последние десятилетия для инкапсулирования и

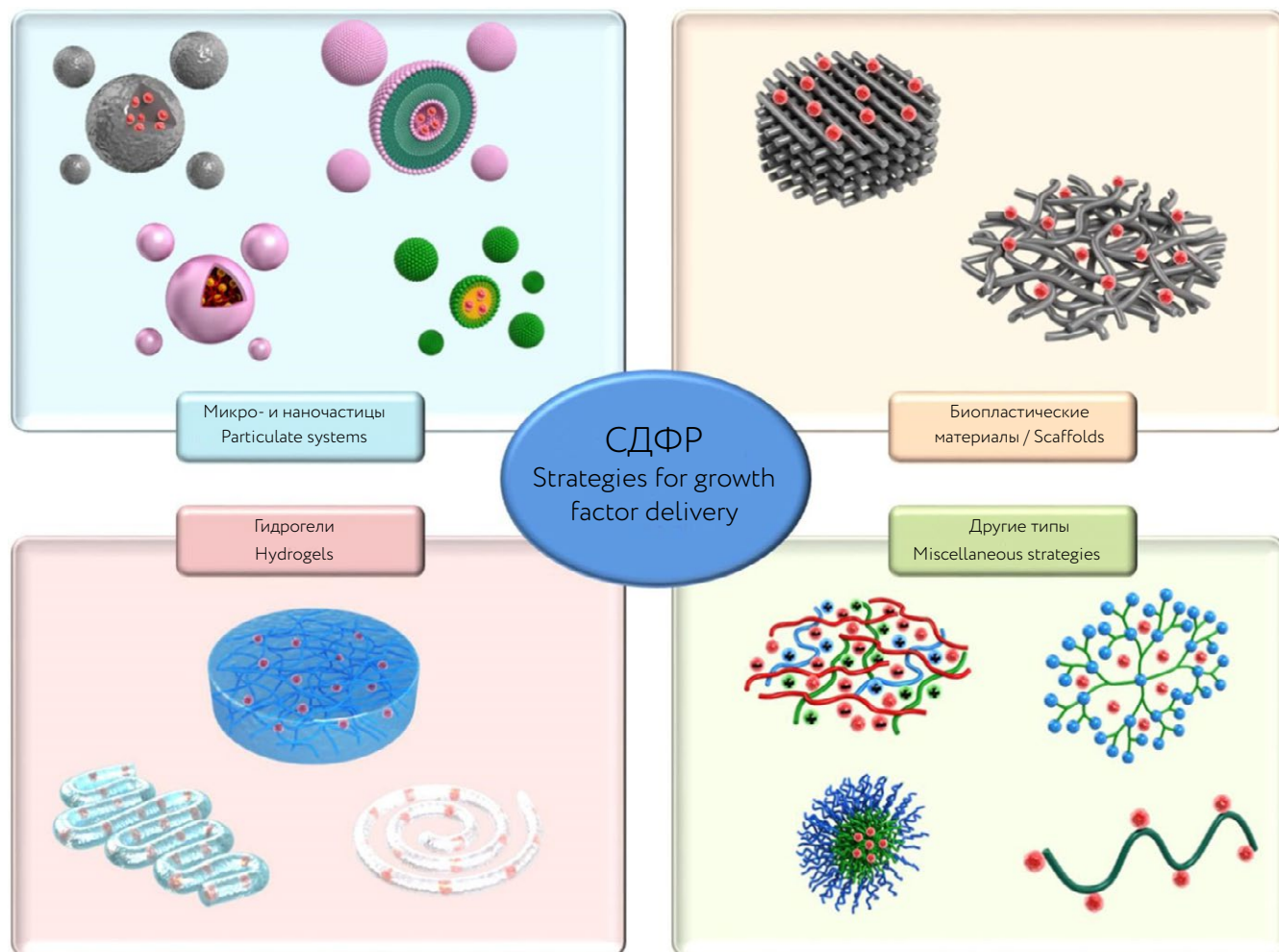


Рис. 1. Различные типы структуры матрицы СДФ (адаптировано из Park J., Hwang S., Yoon I. S. *Advanced growth factor delivery systems in wound management and skin regeneration. Molecules. 2017; 22(8): 1259*)

Fig. 1. Strategies for growth factor delivery (source Park J., Hwang S., Yoon I. S. *Advanced growth factor delivery systems in wound management and skin regeneration //Molecules. – 2017. – V. 22. – №. 8. – P. 1259.*)

направленной доставки лекарственных средств [34]. Подобные частицы зачастую являются дисперсной фазой и вместе с инертной или биоактивной матрицей формируют коллоидную систему [35]. Предложены различные СДФ на основе полимерных нано- и микрочастиц с инкапсулированными ФР. Особенности структурных и физико-химических свойств таких частиц позволяют повысить стабильность и биодоступность инкапсулированных ФР. В результате повышается время жизни ФР за счет снижения их доступности для протеаз. Контролируемое высвобождение инкапсулированных ФР позволяет снизить частоту введения и уменьшить дозу препарата. Эффективность действия препарата сохраняется, и удается избежать побочных эффектов, вызванных высокими дозами и частым введением ФР, а также снизить себестоимость препарата.

Для создания СДФ используют нано- и микрочастицы из биосовместимых полимеров и липидов.

Последние применяются часто, так как молекулы липидов легко подвергаются разложению в организме, такая система доставки не обладает дополнительными побочными эффектами, чем выгодно отличается от ранее использованных для тех же целей частиц из материалов, не поддающихся биodeградации.

В одной из ранних работ EGF был инкапсулирован в многослойные лецитиновые липосомы. При этом наблюдалось увеличение образования коллагена и пролиферации фибробластов по сравнению с применением EGF в свободной форме [36]. Впоследствии другая группа исследователей разработала многослойную липосомную композицию, содержащую EGF. Через 14 суток у группы крыс с хирургическими ранами, для заживления которых применяли липосомную композицию, наблюдали повышенную пролиферацию фибробластов и восстановление эпителия в большей степени по сравнению с контролем [37].

Также для облегчения введения липосомы включали в гель на основе хитозана [38, 39].

К основным недостаткам таких СДФР можно отнести относительно низкую стабильность и степень контроля высвобождения препарата, а также неравномерное распределение ФР в их объеме и на поверхности.

Твердые липидные наночастицы (SLN) и наноструктурные липидные носители (NLC) позволяют контролировать высвобождение в большей степени, а их малый размер обеспечивает тесный контакт с кожей. Они представляют собой наночастицы, состоящие из липидов, стабилизированных оболочкой поверхностно-активных веществ. Использование SLN и NLC в составе СДФР представляется перспективным из-за легкости получения и их свойств. Gainza и соавт. инкапсулировали EGF в NLC и SLN и при использовании в лечении ран отметили нормализацию течения раневого процесса и более быструю эпителизацию раны по сравнению с контролем [40].

Использование наночастиц из синтетических полимеров – полимолочной кислоты (PLA), поликапролактона (PCL), полигликолевой кислоты (PGA) и их комбинаций (PLGA и PLCL) – позволяет получать материалы с лучшими механическими свойствами, контролируемые физико-химическими параметрами и четкой структурой. Примерами могут служить микрочастицы PLGA, содержащие EGF, наночастицы PLGA, содержащие EGF [41, 42].

Вместе с тем использование наночастиц подразумевает их предварительное внедрение в инертную основу, это дополнительно усложняет процесс их получения. Разработаны подходы, в которых сама основа является частью СДФР. К таким типам матриц относятся гидрогели и биопластические материалы.

Гидрогели

Гидрогелевые раневые покрытия являются одним из наиболее перспективных материалов для ухода за ранами. перевязочные материалы на основе гидрогелей уменьшают боль при перевязках благодаря охлаждающему эффекту и низкой адгезии к поврежденной ткани. Гидрогели состоят, как правило, из 60–75 мас.% воды и 25–40 мас.% натуральных или синтетических полимеров. Высокое содержание воды делает гидрогелевые покрытия подходящими для ведения раны во влажной среде. Гидрогелевые материалы обеспечивают эффективное удаление некротизированных тканей и инородных материалов. Проницаемые гидрогелевые структуры дополнительно обеспечивают возможность обмена газообразными CO_2 , O_2 и H_2O , что позволяет тканям раны «дышать».

Для получения гидрогелей, содержащих ФР, используют различные синтетические и природные полимеры.

Коллаген – один из наиболее часто используемых материалов в раневых повязках и тканевой инженерии. Коллагеновые повязки отличаются высокой способностью к абсорбции жидкости и механической прочностью. Коллаген также играет активную роль в заживлении ран, способствует образованию грануляционной ткани. В работе Bhang S. H. и соавт. было продемонстрировано создание наномодифицированных коллагеновых гидрогелей, которые обеспечивают контролируемое высвобождение ФР [43]. Choi M. и соавт. коллагеновые губки модифицировали ФР и пептидами [44]. Однако у коллагена были выявлены существенные недостатки: ферментативная деградация, приводящая к быстрой потере устойчивости, и риск передачи патогенов (зависит от источника коллагена). Это значительно ограничивает его применение на практике.

Для гидрогелей (а также и других типов СДФР) часто используется хитозан – природный полисахарид с гемостатическими и бактериостатическими свойствами. Присутствие хитозана в раневом ложе стимулирует пролиферацию клеток, а также образование коллагена и гиалуроновой кислоты [45]. Alemardo lu C. и соавт. разработали эффективную гелевую композицию хитозана, содержащую эпидермальный фактор роста (EGF), продемонстрировали увеличение пролиферации клеток и высокую скорость эпителизации ожоговых ран второй степени у крыс [46]. Yenilmez E. и соавт. показали, что скорость эпителизации выше при применении EGF, включенного в гель хитозана, по сравнению EGF в свободной форме [47]. Для гидрогелей используются и другие биополимеры, например гепарин. Человеческий EGF, включенный в состав гепарина/ПЭГ значительно улучшал заживление ран у мышей, что приводило к увеличению скорости пролиферации, эпителизации и васкуляризации по сравнению с контролем [48].

К преимуществам СДФР на основе гидрогелей можно отнести следующее:

- гидрогель принимает форму раны и обеспечивает влажную среду, необходимую для заживления;
- гидрогели относительно легки в получении, большинство используемых препаратов, содержащих ФР, на сегодняшний день – гидрогели.

К недостаткам гидрогелей можно отнести такие факторы, как:

- низкая степень контроля высвобождения и адресной доставки ФР;
- низкая кинетическая стабильность многих гидрогелей.

Таким образом, СДФР на основе гидрогелей являются перспективными средствами для лечения хронических ран. Особый интерес представляют гидрогели на основе хитозана. Он дополнительно способствует заживлению раны за счет мукоадгезивных

и антибактериальных свойств и уже широко используется в изделиях для ухода за ранами и является компонентом многих предложенных СДФР.

Биопластические материалы

Биопластические материалы – это биоинженерные конструкции, отвечающие следующим критериям:

- морфологическое сходство с тканями реципиента (например, если материал предназначен для пластики дефектов покровных тканей, то он имеет пластинчатую структуру);
- заданный период биодеградации, совпадающий с временем тканевой и органной регенерации;
- способность поддерживать ключевые физико-химические параметры газообмена и гидробаланса, защищать рану от инфицирования;
- стимуляция эффективной гисто- и органоспецифической репарации;
- способность создавать оптимальные условия для первичной адгезии, миграции и пролиферации алло- и аутоклеток.

Большинство биопластических материалов для лечения ран представляют собой 2D-изделия, среди которых преобладают пористые пленочные и губчатые материалы из биосовместимых полимеров. В оба типа материалов могут быть успешно внедрены ФР. В частности, была доказана стабильность и активность bFGF, включенного в пленку хитозана [49]. По прошествии 20 суток у обработанной таким материалом раны наблюдалась заметно большая степень эпителизации по сравнению с контролем. Предложен губчатый материал на основе хитозана, коллагена и FGF [50]. Такой материал обеспечивает ускоренное заживление хронической раны (14 суток по сравнению с 18–21 сутками для контрольных образцов).

Особое место среди биопластических материалов занимают нетканые материалы из биополимерных волокон – ввиду «технологичности» методов получения и производства таких материалов, в частности электроформования. Так, разработаны подходы к инкапсулированию/введению ФР в волокна, и такие покрытия могут служить как носитель ФР и обеспечивать их контролируемое высвобождение, что приводит более эффективному заживлению ран, например, применение покрытий на основе коллагена с EGF и bFGF способствует заживлению ран путем увеличения миграции и пролиферации клеток и эпителизации [51].

Наиболее перспективно использовать биопластические материалы из нано- и субмикронных волокон, так как их структура имитирует структуру внеклеточного матрикса. Нано- и микроволокна могут быть изготовлены с использованием двух или более природных или синтетических полимеров. Комбинация желатина с полимерами молочной кислотой и

капролактона (PLLCL) была использована для изготовления нановолокон с EGF, способствующих процессу заживления ран [52].

Таким образом, СДФР на основе биопластических материалов представляются эффективными для лечения хронических ран. Рассмотренные волокна, пленочные и губчатые материалы усиливают биологическую активность ФР за счет имитации структуры и функции внеклеточного матрикса. Однако их получение зачастую трудоемко, требуют наличия специального оборудования, что ограничивает их применение.

Другие типы матриц

Все рассмотренные выше СДФР обладают своими преимуществами и недостатками. Предложены гибридные СДФР, которые сочетают в себе преимущества нескольких рассмотренных выше типов. Например, пленочный материал, представляющий собой конъюгат производных гиалуроновой кислоты и EGF, существенно продлевает время выведения EGF и увеличивает эффективность восстановления тканей [53].

Особый интерес для использования в качестве компонента СДФР представляет гепарин. Это кислый серосодержащий гликозаминогликан, который обладает высокой специфичностью к гепарин-связывающим факторам роста. Гепарин обеспечивает равномерное контролируемое высвобождение в течение продолжительного времени за счет постепенной диссоциации такого комплекса [54]. Гепарин входит в состав внеклеточного матрикса и участвует в регуляции концентрации ФР в организме [55]. На основе гепарина предложено большое число СДФР [33, 48, 53, 56]. Наиболее перспективным нам представляется гидрогель на основе гепарина как сочетающий в себе ряд уникальных преимуществ:

- относительно прост в получении (как и многие гидрогели);
- обеспечивает продолжительное равномерное контролируемое высвобождение и повышенную устойчивость к протеолизу (как СДФР с химической иммобилизацией ФР);
- повышает эффективность использования ФР за счет имитации структуры и функций внеклеточного матрикса (преимущество, характерное для СДФР на основе биопластических материалов).

Заключение

Большинство средств для местного лечения обладают умеренной эффективностью из-за особенностей патофизиологии в хронических ранах. Эти особенности, в частности, связывают с пониженной концентрацией ФР в хронических ранах. Поэтому использование средств на основе ФР представляется перспективным, однако ряд недостатков ограничивает их эффективность. Для их преодоления предложены

различные СДФР, которые должны повышать устойчивость ФР к протеолизу и обеспечивать их контролируемое высвобождение. Наиболее перспективными СДФР представляются гидрогели и биопластические материалы на основе биосовместимых полимеров с физически иммобилизованными рекомбинантными ФР. В особенности стоит отметить такие полимеры, как хитозан и гепарин. Хитозан способствует заживлению раны. Гепарин придает СДФР ряд уникальных преимуществ: обеспечивает равномерное контролируемое высвобождение ФР, повышает устойчивость ФР к протеолизу, увеличивают эффективность использования ФР за счет имитации

структуры и функций внеклеточного матрикса. Наиболее перспективным для лечения хронических ран является использования коктейля рекомбинантных ФР вследствие эффекта их синергии. Наибольшей биологической активностью обладают ФР, полученные в культурах клеток млекопитающих. Для сравнения эффективности различных СДФР в лечении хронических ран необходима разработка методов исследования их безопасности для пациента и фармакокинетики ФР. Разработка таких систем, несомненно, повысит эффективность и безопасность средств на основе ФР для лечения хронических ран в ближайшем будущем.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Lazarus G. S., Cooper D. M., Knighton D. R., et al. Definitions and guidelines for assessment of wounds and evaluation of healing. *Wound Repair Regen.*, 1994; 2: 165–170.
- Abdullah K. M., Luthra G., Bilski J. J., et al. Cell-to-cell communication and expression of gap junctional proteins in human diabetic and nondiabetic skin fibroblasts. *Endocrine*. 1999; 10: 35–41.
- Schremel S., Szeimies R.-M., Prantl L., et al. Wound healing in the 21st century. *J Am Acad Dermatol*. 2010; 63: 866–881.
- Menke N. B., Wård K. R., Witten T. M., et al. Impaired wound healing. *Clin Dermatol*. 2007; 25: 19–25.
- Velnar T., Bailey T., Smrkolj V. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *J Int Med Res*. 2009; 37: 1528–1542.
- Braund R., Hook S., Medlicott N. J. The role of topical growth factors in chronic wounds. *Curr Drug Deliv*. 2007; 4: 195–204.
- Robson M. C., Mustoe T. A., Hunt T. K. The future of recombinant growth factors in wound healing. *Am J Surg*. 1998; 176: 80S–82S.
- Macri L., Clark R. Tissue engineering for cutaneous wounds: selecting the proper time and space for growth factors, cells and the extracellular matrix. *Skin Pharmacol Physiol*. 2009; 22: 83–93.
- Gainza G., Villullas S., Pedraz J. L., et al. Advances in drug delivery systems (DDSs) to release growth factors for wound healing and skin regeneration. *Nanomedicine*. 2015; 11: 1551–1573.
- Laiva A. L., O'Brien F. J., Keogh M. B. Innovations in gene and growth factor delivery systems for diabetic wound healing. *J Tissue Eng Regen Med*. 2018; 12: e296–e312.
- Briquez P. S., Hubbell J. A., Martino M. M. Extracellular matrix-inspired growth factor delivery systems for skin wound healing. *Adv Wound Care*. 2015; 4: 479–489.
- Quatresooz P., Henry F., Paquet P., et al. Deciphering the impaired cytokine cascades in chronic leg ulcers. *Int J Mol Med*. 2003; 11: 411–418.
- Han G., Ceilley R. Chronic wound healing: A review of current management and treatments. *Adv Ther*. 2017; 34: 599–610.
- Eaglstain W. H., Falanga V. Chronic wounds. *Surg Clin North Am*. 1997; 77: 689–700.
- Mekkes J., Loots M., Van Der Wal A., Bos J. Causes, investigation and treatment of leg ulceration. *Br J Dermatol*. 2003; 148: 388–401.
- Alba-Loureiro T., Hirabara S., Mendonca J., et al. Diabetes causes marked changes in function and metabolism of rat neutrophils. *J Endocrinol*. 2006; 188: 295–303.
- Blakytyn R., Jude E. The molecular biology of chronic wounds and delayed healing in diabetes. *Diabet Med*. 2006; 23: 594–608.
- Barrientos S., Stojadinovic O., Golinko M. S., Brem H., Tomic-Canic M. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair Regen*. 2008; 16: 585–601.
- Koria P. Delivery of growth factors for tissue regeneration and wound healing. *BioDrugs*. 2012; 26: 163–175.
- Werner S., Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev*. 2003; 83: 835–870.
- Losi P., Briganti E., Errico C., et al. Fibrin-based scaffold incorporating VEGF- and bFGF-loaded nanoparticles stimulates wound healing in diabetic mice. *Acta Biomater*. 2013; 9: 7814–7821.
- Traversa B., Sussman G. The role of growth factors, cytokines and proteases in wound management. Primary Intention: The Australian Journal of Wound Management. 2001; 9: 161.
- Gartner M. H., Benson J. D., Caldwell M. D. Insulin-like growth factors I and II expression in the healing wound. *J Surg Res*. 1992; 52: 389–394.
- Mansukhani A., Dell'Era P., Moscatelli D., et al. Characterization of the murine BEK fibroblast growth factor (FGF) receptor: activation by three members of the FGF family and requirement for heparin. *Proc Natl Acad Sci*. 1992; 89: 3305–3309.
- Wang X.-J., Han G., Owens P., et al. Role of TGF β -mediated inflammation in cutaneous wound healing. *J Invest Dermatol Symp Proc*. 2006; 11: 112–117.
- Butler M. Animal cell cultures: recent achievements and perspectives in the production of biopharmaceuticals. *Appl. Microbiol Biotechnol*. 2005; 68: 283–291.
- Gonchar I., Lipunov A., Afanasov I., et al. Platelet rich plasma and growth factors cocktails for diabetic foot ulcers treatment: state of art developments and future prospects. *Diabetes Metab Syndr*. 2018; 12: 189–194.
- Park J. W., Hwang S. R., Yoon I.-S. Advanced growth factor delivery systems in wound management and skin regeneration. *Molecules*. 2017; 22: 1259.
- Lee K., Silva E. A., Mooney D. J. Growth factor delivery-based tissue engineering: general approaches and a review of recent developments. *JR Soc Interface*. 2011; 8: 153–170.
- Kuhl P. R., Griffith-Cima L. G. Tethered epidermal growth factor as a paradigm for growth factor-induced stimulation from the solid phase. *Nat Med*. 1996; 2: 1022.

31. Mann B. K., Schmedlen R. H., West J. L. Tethered-TGF- β increases extracellular matrix production of vascular smooth muscle cells. *Biomaterials*. 2001; 22: 439–444.
32. Chiu L. L., Weisel R. D., Li R. K., Radisic M. Defining conditions for covalent immobilization of angiogenic growth factors onto scaffolds for tissue engineering. *J Tissue Eng Regen Med*. 2011; 5: 69–84.
33. Ho Y.-C., Mi F.-L., Sung H.-W., Kuo P.-L. Heparin-functionalized chitosan–alginate scaffolds for controlled release of growth factor. *Int J Pharm*. 2009; 376: 69–75.
34. Eckhardt S., Brunetto P. S., Gagnon J., et al. Nanobio silver: its interactions with peptides and bacteria, and its uses in medicine. *Chem Rev*. 2013; 113: 4708–4754.
35. Ahn J., Ko J., Lee S., et al. Microfluidics in nanoparticle drug delivery; From synthesis to pre-clinical screening. *Adv Drug Deliv Rev*. 2018; 128: 29–53.
36. Brown G. L., Curtsinger L. J., White M., et al. Acceleration of tensile strength of incisions treated with EGF and TGF- β . *Ann Surg*. 1988; 208: 788.
37. Alemdaroglu C., Degim Z., Celebi N., et al. Investigation of epidermal growth factor containing liposome formulation effects on burn wound healing. *J Biomed Mater Res A*. 2008; 85: 271–283.
38. Ishihara M., Ono K., Sato M., et al. Acceleration of wound contraction and healing with a photocrosslinkable chitosan hydrogel. *Wound Repair Regen*. 2001; 9: 513–521.
39. Degim Z., Celebi N., Alemdaroglu C., et al. Evaluation of chitosan gel containing liposome-loaded epidermal growth factor on burn wound healing. *Int Wound J*. 2011; 8: 343–354.
40. Gainza G., Bonafonte D. C., Moreno B., et al. The topical administration of rhEGF-loaded nanostructured lipid carriers (rhEGF-NLC) improves healing in a porcine full-thickness excisional wound model. *J Control Release*. 2015; 197: 41–47.
41. Dong X., Xu J., Wang W., et al. Repair effect of diabetic ulcers with recombinant human epidermal growth factor loaded by sustained-release microspheres. *Sci China C Life Sci*. 2008; 51: 1039–1044.
42. Chu Y., Yu D., Wang P., et al. Nanotechnology promotes the full-thickness diabetic wound healing effect of recombinant human epidermal growth factor in diabetic rats. *Wound Repair Regen*. 2010; 18: 499–505.
43. Bhang S. H., Lee T.-J., Lim J. M., et al. The effect of the controlled release of nerve growth factor from collagen gel on the efficiency of neural cell culture. *Biomaterials*. 2009; 30: 126–132.
44. Choi M., Chung J.-H., Cho Y., et al. Nano-film modification of collagen hydrogels for controlled growth factor release. *Chem Eng Sci*. 2015; 137: 626–630.
45. Gohil S., Padmanabhan A., Deschamps J., Nair L. Chitosan-based scaffolds for growth factor delivery. In *Chitosan Based Biomaterials Volume 2*, 175–207 pp.
46. Alemdaroglu C., Degim Z., Celebi N., et al. An investigation on burn wound healing in rats with chitosan gel formulation containing epidermal growth factor. *Burns*. 2006; 32: 319–327.
47. Yenilmez E., Başaran E., Arslan R., et al. Chitosan gel formulations containing egg yolk oil and epidermal growth factor for dermal burn treatment. *Pharmazie*. 2015; 70: 67–73.
48. Goh M., Hwang Y., Tae G. Epidermal growth factor loaded heparin-based hydrogel sheet for skin wound healing. *Carbohydr Polym*. 2016; 147: 251–260.
49. Mizuno K., Yamamura K., Yano K., et al. Effect of chitosan film containing basic fibroblast growth factor on wound healing in genetically diabetic mice. *J Biomed Mater Res A*. 2003; 64: 177–181.
50. Wang W., Lin S., Xiao Y., et al. Acceleration of diabetic wound healing with chitosan-crosslinked collagen sponge containing recombinant human acidic fibroblast growth factor in healing-impaired STZ diabetic rats. *Life Sci*. 2008; 82: 190–204.
51. Yu A., Niiyama H., Kondo S., et al. Wound dressing composed of hyaluronic acid and collagen containing EGF or bFGF: comparative culture study. *J Biomater Sci Polym Ed*. 2013; 24: 1015–1026;
52. Jin G., Prabhakaran M. P., Ramakrishna S. Photosensitive and biomimetic core–shell nanofibrous scaffolds as wound dressing. *Photochem Photobiol*. 2014; 90: 673–681.
53. Wu J., Ye J., Zhu J., et al. Heparin-based coacervate of FGF2 improves dermal regeneration by asserting a synergistic role with cell proliferation and endogenous facilitated VEGF for cutaneous wound healing. *Biomacromolecules*. 2016; 17: 2168–2177.
54. Sakiyama-Elbert S. E., Hubbell J. A. Development of fibrin derivatives for controlled release of heparin-binding growth factors. *J Control Release*. 2000; 65: 389–402.
55. Mahoney D. J., Whittle J. D., Milner C. M., et al. A method for the non-covalent immobilization of heparin to surfaces. // *Anal Biochem*. 2004; 330: 123–129.
56. Lee K., Yoon J., Lee J., et al. Sustained release of vascular endothelial growth factor from calcium-induced alginate hydrogels reinforced by heparin and chitosan. *Transplant Proc*. 2004; 36: 2464–2465.