

Н.В. Зеленин¹, Н.Е. Мантурова², М.Г. Шурыгин¹, Г.Б. Гранина¹,
В.А. Уманец¹, И.А. Шурыгина¹

ИНГИБИРОВАНИЕ СИГНАЛЬНОГО КАСКАДА МИТОГЕНАКТИВИРОВАННЫХ ПРОТЕИНКИНАЗ ГРУППЫ P38 КАК НОВАЯ ПЕРСПЕКТИВА ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ КАЧЕСТВА ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫХ РУБЦОВ

¹ ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», г. Иркутск
² ФГБОУ ВО «Российский государственный медицинский университет им. Н.И. Пирогова»
Минздрава России, г. Москва

N.V. Zelenin¹, N.E. Manturova², M.G. Shurygin¹, G.B. Granina¹,
V.A. Umanets¹, I.A. Shurygina¹

INHIBITION OF SIGNALING CASCADE OF GROUP P38 MITOGEN-ACTIVATED PROTEIN KINASE AS A NEW PROMISE FOR IMPROVEMENT OF QUALITY OF POSTOPERATIVE SCARS

¹ Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology, Irkutsk, Russian Federation
² N. I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

Статья посвящена проблеме образования рубцов в практике пластического хирурга. Очевидно, что совершенствование хирургической техники не приведет исчезновению проблемы заметных рубцов, и для качественного скачка нужны новые фундаментальные знания о механизмах воспаления и формирования соединительной ткани. В статье приведены данные о путях активации и функционирования MAPK. Основное внимание уделено семейству p38 MAPK. Влияние на данные сигнальные каскады рассмотрено как перспективное направление воздействия на рост соединительной ткани. Доказана возможность управления ростом соединительной ткани при воздействии на MAP-киназные каскады. Пролонгированная блокада p38 MAPK снижает ширину и плотность коллагеновых волокон в зоне формирования послеоперационного рубца. Использование стимуляторов и блокаторов MAP-киназных механизмов перспективно как новое направление в пластической хирургии.

Ключевые слова: митогенактивируемая протеинкиназа, p38 MAPK, ингибитор p38 MAPK, соединительная ткань.

The paper is devoted to the problem of scar formation in the practice of a plastic surgeon. It is obvious that progress in surgical technology will not lead to disappearance of the problem of marked scars. To achieve a quantum leap, new fundamental knowledge about mechanisms of inflammation and formation of connective tissue is needed. The paper presents data on the ways of activation and functioning of mitogen-activated protein kinase (MAPK). The particular attention is paid to the p38 MAPK family. The influence on these signaling cascades is considered as a promising action on the growth of connective tissue. The possibility of controlling the growth of connective tissue by affecting MAP-kinase cascades is proved. Prolonged blockade of p38 MAPK decreases the width and density of collagenous fibers in the zone of formation of a postoperative scar. The use of stimulators and blockers of MAP-kinase mechanisms is promising as a new field in plastic surgery.

Key words: mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK, p38 MAPK inhibitor, connective tissue.

УДК 616-089.168.1-036.864:577.21
doi 10.17223/1814147/67/02

ВВЕДЕНИЕ

Проблема образования рубцов имеет особое значение в практике пластического хирурга, где

результат операции во многом определяется качеством послеоперационных рубцов.

Пока остается мечтой заживление раны без образования рубца, или чтобы такой рубец

формировался бы с заданными свойствами. Очевидно, что совершенствование хирургической техники не приведет исчезновению проблемы заметных рубцов, и для качественного скачка нужны новые фундаментальные знания о механизмах воспаления и формирования соединительной ткани [1].

Процесс заживления раны требует сложного взаимодействия между клетками воспаления, биохимическими посредниками и внеклеточным матриксом. Эти реакции регулируются митогенами и хемоаттрактантами, а различные факторы роста обеспечивают клеточные и молекулярные сигналы, необходимые для нормального заживления раны [2–5].

МАР-киназы (mitogen activated protein kinases) – большая группа протеинкиназ, сформированных в процессе эволюции в мощные сигнальные пути, которые в ответ на внеклеточные стимулы (митогены) участвуют в регуляции клеточной активности [6–8].

После воздействия на рецепторы мембраны клетки начинают развиваться МАРК-каскады реакций фосфорилирования протеинкиназ, в результате чего обеспечивается передача полученного сигнала в ядро клетки. Это, в свою очередь, приводит к активации или подавлению активности определенных генов. В результате запускаются воспалительный ответ, апоптоз, деление клеток.

Цель исследования: изучить возможности управления процессом образования послеоперационного рубца путем снижения активности митогенактивируемой протеинкиназы группы р38.

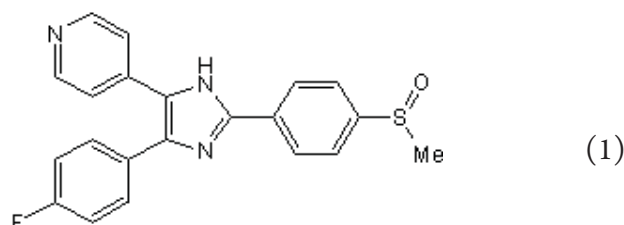
МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперимент проведен на 63 крысах-самцах линии Wistar, у которых изучали местное действие блокатора р38 МАР-киназы на заживление кожно-мышечной раны, нанесенной в асептических условиях, и последующее образование рубца. Масса тела животных составляла 220–250 г, возраст – 9 мес. Крысы содержались в стандартных условиях вивария без ограничения доступа к воде и пище. Содержание и экспериментальные действия с животными осуществляли по правилам, принятым Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных целей (Страсбург, 1986).

Животные были разделены на две группы по 30 особей: контрольную (нанесение раны, нанесение в рану лекарственной пленки без активного вещества [9]) и основную (изучение воздействия блокатора р38 МАР-киназы SB 203580 (Tocris Bioscience, кат. № 1202 Bath № 4 A/95665) на заживление раны (нанесение раны,

введение в рану блокатора р38 МАР-киназы в составе лекарственной пленки [9], наблюдение за заживлением раны), доза на одно животное – 1,05 мкг (4,2 мкг/кг)).

Расчет дозы препарата (1) на одно животное проводили на основании IC_{50} [10]. Как известно, для блокатора р38 МАР-киназы SB 203580 IC_{50} составляет 50 и 500 нМ для р38 и р38 β 2 соответственно [11].



В качестве контроля для оценки механических свойств неизменной кожи служили исследования, выполненные на трех интактных животных.

Моделировалась линейная кожно-мышечная рана в стерильных условиях операционной вивария. Останавливали кровотечение и помещали в рану лекарственную пленку с медленной резорбцией, содержащую для крыс основной группы блокатор р38 МАРК SB203580, для контрольной группы животных – пленку без активного ингредиента [9]. Кожу и подкожную клетчатку зашивали однорядным узловым швом нитью пролен 4/0 (Ethicon) на атравматичной круглой игле. Снятие швов осуществляли через 7 сут.

В сроки 2 ч, 6 ч, 12 ч, 1, 3 (по 3 животных в группе), 7, 14 и 30 сут (по 5 животных в группе) крыс выводили из эксперимента передозировкой раствора тиопентала натрия, введенного внутривенно. Для исследования забирали ткани из области раны, фиксировали раствором FineFix (Milestone, Италия) для последующего гистологического исследования. На нефиксированных фрагментах послеоперационного рубца на 7-е, 14-е и 30-е сут методом тензиометрии проводили определение механических характеристик рубца.

Сразу после выведения животного из эксперимента скальпелем вырезали участок ткани в области ранее нанесенной кожно-мышечной раны шириной 1 см, который включал в себя по 1 см ткани с каждой стороны от формирующегося рубца.

Ткань фиксировали зажимами в тензиометре, и к образцу ткани прикладывали усилие в направлении, перпендикулярном плоскости раны. Нагрузку увеличивали дискретно, начиная с 50 грамм-сил (гс) с шагом 50 гс (от 0,4903 Н, шаг 0,4903 Н) и доводили до достижения разрыва образца.

В области пластической деформации скорость нарастания нагрузки до достижения разрыва составляла 5 гс/с.

Измеряли удлинение в ответ на прилагаемую нагрузку. Вычисляли относительное удлинение как отношение длины при приложении силы к начальной длине образца. Определяли предел прочности образца, точку перехода упругой деформации в пластическую деформацию. После определения значения усилия, вызывающего разрыв образца, вычисляли значение разрушающей нагрузки как отношение приложенной разрушающей силы к площади поперечного сечения образца по формуле:

$$\text{Разрушающая нагрузка} = F/S,$$

где F – сила, Н; S – площадь поперечного сечения, перпендикулярного направлению действия силы.

В зоне упругой деформации рассчитывали модуль упругости Юнга – коэффициент, характеризующий сопротивление материала растяжению/сжатию при упругой деформации:

$$E = F/S \cdot L/\Delta L,$$

где E – модуль упругости, Па; F – сила, Н; S – площадь сечения; L – длина деформируемого образца; ΔL – модуль изменения длины образца в результате упругой деформации.

Сравнение показателей проводилось между группами, а также по отношению к поведению на нагрузку интактной кожи в сроки 7, 14, 30 сут после операции.

Препараты окрашивали гематоксилином и эозином, по методу Ван Гизона (на выявление коллагеновых волокон) [12, 13]. Исследование проводили методом световой микроскопии с использованием микроскопа «Nikon 80i» (Япония).

Морфометрические исследования выполняли с использованием программы ImageJ (Национальный институт здоровья, США).

Для оценки формирования грубоволокнистой соединительной ткани на микрофотографиях при использовании окраски по методу Ван Гизона определяли соотношение площади, занимаемой окрашенными волокнами коллагена, к общей площади ткани на срезе [14].

Электронно-микроскопические исследования выполняли на образцах ткани из области послеоперационного рубца, взятых на 3-е и 7-е сут, фиксировали в 2,5%-м глutarовом альдегиде на 0,1 М какодилатном буфере (pH 7,4) в течение 2 ч. Тщательно отмывали 0,1 М какодилатным буфером (pH 7,4), проводили дофиксацию образцов в 1%-м растворе черырехокси осмия, обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации, пропиленоксиде, пропитывали и зали-

вали в Embed 812 (Electron Microscopy Sciences, США) [3]. На ультратоме «LKB» (LKB, BROMMA, Швеция) изготавливали ультратонкие срезы, контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца. Образцы исследовали на электронном микроскопе «ТЕМ-410» (Нидерланды).

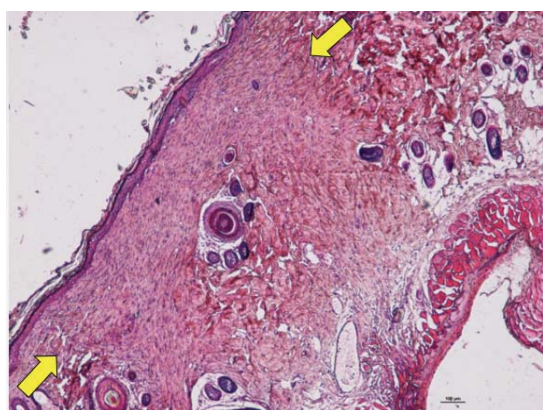
Нормальность распределения количественных показателей определяли по W-критерию Шапиро–Уилка (Shapiro–Wilk's test). Для оценки значимости различий в попарно сравниваемых группах использовали критерий Манна–Уитни; при оценке механических свойств применяли метод множественных сравнений Шеффе. При проведении всех видов статистического анализа критический уровень значимости критериев принимали равным 0,05. При нормальном распределении данные представлены в виде $M \pm SE$, где M – среднее значение; SE – ошибка среднего. При несоответствии распределения критериям нормальности данные записаны в виде $Me [Q25–Q75]$, где Me – медиана, $[Q25–Q75]$ – 25% квартиль и 75% квартиль соответственно.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

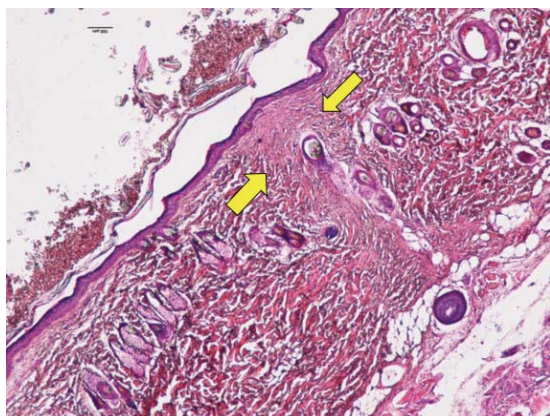
У крыс контрольной группы (введение лекарственной пленки без активного действующего вещества) процесс формирования послеоперационного рубца соответствовал канонам заживления асептической раны. Так, через 2 ч после моделирования раны отмечался отек подкожной клетчатки, дермы, начиналась нейтрофильная инфильтрация в зоне раны. Через 6, 12 ч и 1 сут после повреждения отек и нейтрофильная инфильтрация сохранялись, при этом максимальная выраженность нейтрофильной инфильтрации приходилась на срок 12 ч. С 3-х сут у животных контрольной группы начиналась фибробластическая фаза воспаления: отмечалось формирование молодой грануляционной ткани, плотность фибробластов нарастала к 7-м сут после моделирования. В дальнейшем при морфологическом исследовании регистрировалось созревание соединительной ткани, и к концу наблюдения (30-е сут) на месте раны формировался хорошо выраженный рубец, при этом плотность фибробластов в области раны снижалась.

У животных, которым вводили блокатор p38, через 2 ч после нанесения травмы наблюдался умеренный отек подкожной клетчатки в области раны, но нейтрофильной инфильтрации не отмечалось. Через 6 ч имели место умеренная нейтрофильная инфильтрация и отек области раны. К концу 1-х сут эксперимента выраженность нейтрофильной инфильтрации достигала максимума, однако была значительно менее выраженной, как по площади зоны инфильтрации, так и по плотности клеточных элементов по сравнению

с показателями в контрольной группе. К 3-м сут наступала фибробластическая фаза воспаления с началом формирования молодой грануляционной ткани. Однако и на 7-е сут развитие соединительной ткани в области раны отставало от такового у животных контрольной группы, зона формирования соединительной ткани была очень узкой, с низкой плотностью клеточных элементов. К 14-м сут формировался узкий аккуратный рубец в области раны, наблюдалась полная ее эпителизация. К 30-м сут на месте раны наблюдался зрелый узкий соединительнотканый рубец, малозаметный на коже (рис. 1).



а



б

Рис. 1. Ширина рубца (показана стрелками) в области кожной раны на 30-е сут у животных контрольной группы (а) и животных, получавших блокатор p38 (б)

У крыс основной группы на 30-е сут ширина сформированного рубца составляла 157,8 [120,11–206,45] мкм, в то время как у животных контрольной группы – 763,47 [334,1–1285,31] мкм. Различия статистически значимы – по критерию Манна–Уитни, $Z = 6,073$, $p = 0,00001$ (рис. 2).

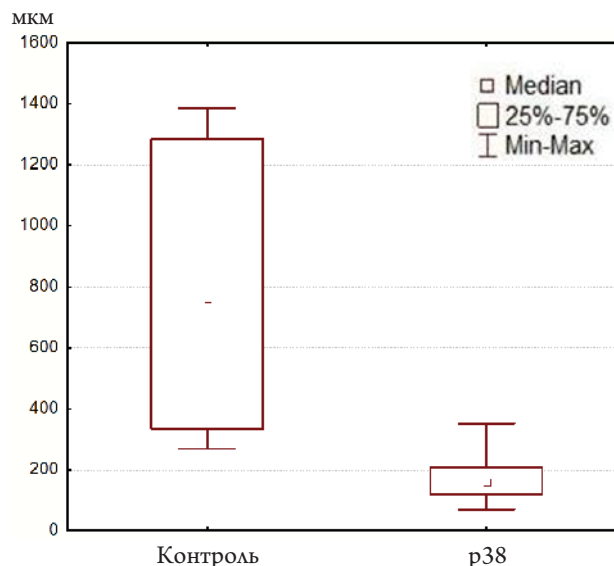


Рис. 2. Ширина рубца в области кожной раны на 30-е сут у животных основной и контрольной групп

У крыс контрольной группы относительная площадь, занятая волокнами коллагена в зоне послеоперационной раны, закономерно увеличивалась от 3-х до 30-х сут, достигнув максимальных значений к 30-м сут – 73,54 [66,87–78,01] %. При этом в интактной дерме изменений не наблюдалось, а в дерме рядом с травматическим повреждением плотность коллагена статистически значимо повышалась на 14-е сут ($p = 0,029$).

Применение блокатора p38 SB 203580 приводило к значительному снижению интенсивности коллагенообразования в зоне формирующегося рубца. В течение всего срока наблюдения отмечалось статистически значимое снижение коллагенообразования в сравнении с группой контроля (таблица).

Количество коллагена в зоне формирующегося рубца при подавлении активности p38 MAP-киназы

Срок	Группа						Z	p
	Контрольная			Основная				
	Me	25% кв.	75% кв.	Me	25% кв.	75% кв.		
3-и сут	11,57	8,53	27,85	4,53	0,89	9,81	2,49	0,011000
7-е сут	25,21	15,61	36,92	1,78	1,09	2,80	5,20	0,000001
14-е сут	55,41	41,10	74,38	31,54	23,15	40,24	4,49	0,000007
30-е сут	73,54	66,87	78,01	43,60	41,05	60,15	3,14	0,001700

Исследование механических свойств рубца показало, что при низких нагрузках поведение образцов соответствовало закону Гука. При больших нагрузках наблюдался переход упругой деформации в пластическую. Точка перехода упругой деформации в пластическую в срок 7 сут после моделирования раны у экспериментальных животных значительно снижалась по сравнению с таковой на интактной коже. В дальнейшем наблюдалось постепенное повышение этого показателя. На 30-е сут в группе животных, которым в рану вводили блокатор p38, данный показатель был статистически значимо выше, чем в контрольной группе – (8417 ± 503) и (5623 ± 164) кПа соответственно ($p = 0,0016$).

Разрушающая нагрузка, измеренная как отношение силы, приведшей к разрушению образца, к площади его поперечного сечения, для интактной кожи превышала 12 МПа. Эта величина была значительно ниже у животных экспериментальных групп в ранние сроки раневого процесса и постепенно повышалась по мере созревания формирующегося рубца. После введения в рану блокатора p38 значения данного показателя были выше во все сроки наблюдения по сравнению с контролем, различия становились статистически значимыми к 30-м сут – (9130 ± 341) против (7872 ± 237) кПа ($p < 0,05$) (рис. 3)

Предел прочности кожи, кПа

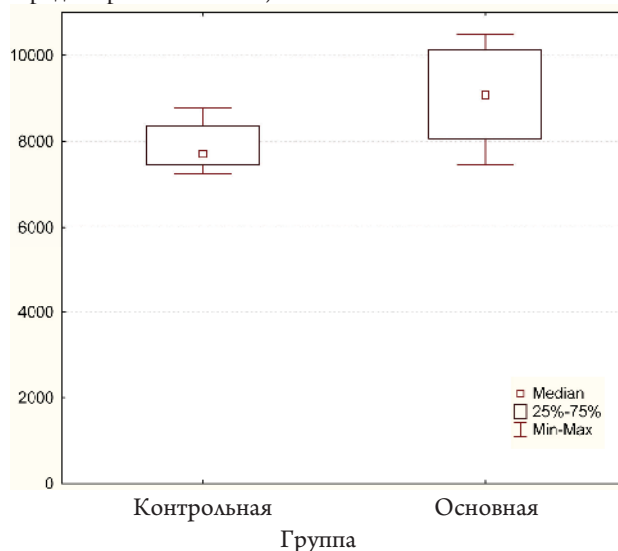


Рис. 3. Предел прочности образцов на 30-е сут

Изучение ультраструктуры клеток фибробластического ряда при подавлении активности p38 МАРК показало, что у крыс при применении блокатора p38 резко снижается количество фибробластов в зоне формирующегося послеоперационного рубца. При этом фибробласты не имеют морфологических признаков активации: ядрышки не выражены, слабо развита эндоплазматическая сеть. Данная картина наблюдалась весь период фибробластической фазы воспаления,

начиная с 3-х сут. Отражением низкой плотности клеток в очаге образования соединительной ткани и их невысокой функциональной активности является низкая плотность формирующегося коллагена. При этом коллагеновые волокна рыхлые, неплотно упакованы, в отличие от контрольной группы не образуют больших полей. На 3-и и 7-е сут после моделирования раневого процесса при искусственном подавлении активности p38 МАРК каскада нами отмечена деструкция митохондрий, их отек, набухание крист. У животных контрольной группы митохондрии были сохранены. Таким образом, изучение ультраструктуры фибробластов показало значительное влияние ингибитора p38 МАРК на функциональную активность клеток фибробластического ряда, что выражалось в снижении активности фибробластов.

Таким образом, локальная блокада p38 МАРК-киназного каскада в ранние сроки раневого процесса в значительной степени модифицирует воспалительный процесс, влияя на различные его фазы. При этом снижается выраженность нейтрофильной инфильтрации, подавляется интенсивность фибробластической фазы воспаления, что в итоге приводит к формированию достоверно более узкого послеоперационного рубца по сравнению с таковым у животных контрольной группы.

Кроме того, результаты наших исследований показывают, что блокада p38 МАРК приводит к значительному изменению механических характеристик формирующегося рубца при кожно-мышечной ране. Локальное введение блокатора p38 позволяет к 30-м сут раневого процесса добиться формирования рубца, при котором механические свойства кожи в области раны (разрушающая нагрузка и точка перехода упругой деформации в пластическую) приближаются к показателям интактной кожи.

Таким образом, путем местного применения блокаторов p38 МАРК-киназного сигнального каскада возможно добиться заживления кожно-мышечной раны с образованием более тонкого рубца без увеличения сроков заживления раны.

Лечение различных травм или ран, возникших вследствие заболеваний, привело к накоплению бесценного хирургического опыта. Пластическая хирургия определила правила нанесения разрезов и их зашивания, а также сформулировала принципы замещения дефектов тканей. Однако приходится констатировать, что пока мы только хотели бы добиться естественного неосложненного хода событий и, не мечтаем усовершенствовать природу, чтобы иметь возможность формирования рубцов с заданными свойствами в заданные сроки или заживления раны без образования рубца.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенного исследования показали, что существуют хорошие перспективы улучшения качества послеоперационного рубца. Они заключаются в использовании достижений молекулярной медицины – создании новых материалов (лекарственных пленок, шовного материала и т.д.) с заданными свойствами – с включением в состав данных материалов блокаторов p38 MAPK. Установлено, что блокатор p38 MAP-киназы SB 203580, который мы помещали внутрь полимерной рассасывающейся пленки, приводит к неосложненному заживлению кожно-мышечной раны с образованием достоверно

более тонкого рубца, чем в контрольных опытах. Мы надеемся, что понимание роли MAPK-каскадов в этих процессах открывает перспективу для разработки новых способов воздействия на рост соединительной ткани, что приведет к качественному скачку в пластической хирургии.

Конфликт интересов. Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Rohrich R.J. The "Current Concepts in Wound Healing: Update 2016" Supplement. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2016; 138 (3S): 7–8. doi: 10.1097/PRS.0000000000002693.
2. Boo S., Dagnino L. Integrins as modulators of transforming growth factor beta signaling in dermal fibroblasts during skin regeneration after injury. *Adv. Wound Care (New Rochelle)*. 2013; 2(5): 238–246.
3. Greaves N.S., Ashcroft K.J., Baguneid M., Bayat A. Current understanding of molecular and cellular mechanisms in fibroplasia and angiogenesis during acute wound healing. *J. Dermatol. Sci.* 2013; 72 (3): 206–217.
4. Marshall C.D., Hu M.S., Leavitt T. et al. Cutaneous scarring: basic science, current treatments, and future directions. *Adv. Wound Care (New Rochelle)*. 2018; 7 (2): 29–45. doi: 10.1089/wound.2016.0696.
5. Wang P.H., Huang B.S., Horng H.C., Yeh C.C. et al. Wound healing. *J. Chin. Med. Assoc.* 2018; 81 (2): 94–101. doi: 10.1016/j.jcma.2017.11.002.
6. Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г., Зеленин Н.В., Гранина Г.Б. Роль MAP-киназных механизмов в регуляции клеточного роста (обзор литературы). *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2009; 89 (6): 36–40. [Shurygina I.A., Shurygin M.G., Zelenin N.V., Granin G.B. Rol' MAP-kinaznyh mekhanizmov v regulyatsii kletochного rosta (obzor literatury). [Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk). 2009;89 (6):36–40 (in Russian)].
7. Greenblatt M.B., Kim J.M., Oh H. et al. P38 MAPK is required for tooth morphogenesis and enamel secretion. *J Biol Chem*. 2015; 290 (1): 284–295.
8. Dong S., Sun Y. MicroRNA-22 may promote apoptosis and inhibit the proliferation of hypertrophic scar fibroblasts by regulating the mitogen-activated protein kinase kinase/extracellular signal-regulated kinase/p21 pathway. *Exp. Ther. Med*. 2017; 14 (4): 3841–3845. doi: 10.3892/etm.2017.4942.
9. Лекарственная пленка пролонгированного действия, способ изготовления и способ ее применения: Пат. 2445074 Рос. Федерация; МПК A61K 9/00 (2006.01), A61K 47/10 (2006.01), A61K 47/38 (2006.01), A61P 17/02 (2006.01). М.Г. Шурыгин, И.А. Шурыгина; заявитель и патентообладатель Учреждение Российской академии медицинских наук Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии Сибирского отделения РАМН. № 2010127029/15, заявл. 01.07.2010; опубл. 20.03.2012. Бюл. № 8. [Lekarstvennaya plyonka prolongirovannogo deystviya, sposob izgotovleniya i sposob eyo primeneniya: Pat. no. 2445074 Ros. Federaciya; МРКА61К 9/00 (2006.01), A61K 47/10 (2006.01), A61K 47/38 (2006.01), A61P 17/02 (2006.01) M.G. Shurygin, I.A. Shurygina; zayavitel' ipatentoobladatel' Uchrezhdenie Rossijskoj akademii meditsinskih nauk Nauchnyj centr rekonstruktivnoy i vosstanovitel'noj hirurgii Sibirskogo otdeleniya RAMN. No. 2010127029/15, zayavl. 01.07.2010; opubl. 20.03.2012. Byul. no. 8. (in Russian)].
10. Cheng Y., Prusoff W.H. Relationship between the inhibition constant (K_i) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition (I₅₀) of an enzymatic reaction. *Biochem. Pharmacol.* 1973; 22(23): 3099–3108.
11. Davies S.P., Reddy H., Caivano M., Cohen P. Specificity and mechanism of action of some commonly used protein kinase inhibitors. *Biochem. J.* 2000; 351 (Pt 1): 95–105.
12. Волкова О.В., Елецкий Ю.К. Основы гистологии с гистологической техникой. М.: Медицина. 1982. 302 с. [Volkova O.V., Eleckiy Yu.K. *Osnovy gistologii s gistologicheskoy tekhnikoy*. Moscow, Medicina, 1982: 302 (in Russian)].
13. Bancroft J.D., Gamble M. Theory and practice of histological techniques. *Elsevier Health Sciences*. 2008: 725 p.
14. Способ определения относительной площади волокон коллагена в гистологическом препарате: Пат. 2332665 Рос. Федерация; МПК G01N33/48 (2006.01). М.Г. Шурыгин, Н.Н. Дремина, И.А. Шурыгина, И.Н. Мачхин, С.А. Антипина; заявитель и патентообладатель ГУ Науч. центр реконструктивной и восстановительной

хирургии ВСНЦ СО РАМН. № 2006142273/15; заявл. 29.11.06; опубл. 27.08.08. Бюл. № 24 [*Sposob opredeleniya odnositel'noy ploshchadi volokon kollagena v gistologicheskom preparate*. Pat. 2332665 Ros. Federaciya: MPK G01N33/48 (2006.01). Shurygin M.G., Dremina N.N., Shurygina I.A., Machkhin I.N., Antipina S.L.; заяvitel' ipatentoobladatel' GU Nauch. centr rekonstruktivnoy i vosstanovitel'noy khirurgii VSNC SO RAMN. No. 2006142273/15; zayavl. 29.11.06; opubl. 27.08.08. Byul. no. 24 (in Russian)].

15. Миронов А.А., Комиссарчик Я.Ю., Миронов В.А. *Методы электронной микроскопии в биологии и медицине*. СПб.: Наука, 1994. 400 с. [Mironov A.A., Komissarchik Ya.Yu., Mironov V.A. *Metody elektronnoy mikroskopii v biologii i medicine*. St. Petersburg, Nauka, 1994: 400 p. (in Russian)].

Поступила в редакцию 30.08.2018

Утверждена к печати 25.10.2018

Авторы:

Зеленин Николай Вадимович – пластический хирург, аспирант ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (г. Иркутск).

Мантурова Наталья Евгеньевна – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой пластической, реконструктивной хирургии, косметологии и клеточных технологий ФГБОУ ВО «Российский государственный медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России (г. Москва).

Шурыгин Михаил Геннадьевич – д-р мед. наук, зав. научно-лабораторным отделом ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (г. Иркутск).

Гранина Галина Борисовна – канд. мед. наук, мл. науч. сотрудник лаборатории клеточных технологий и регенеративной медицины ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (г. Иркутск).

Уманец Виталий Алексеевич – канд. хим. наук, ст. науч. сотрудник лаборатории клеточных технологий и регенеративной медицины ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (г. Иркутск).

Шурыгина Ирина Александровна – д-р мед. наук, профессор РАН, зам. директора по научной работе, заведующая лабораторией клеточных технологий и регенеративной медицины ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (г. Иркутск).

Контакты:

Зеленин Николай Вадимович

тел.: +7-964-111-1999

e-mail: Zelenin.med@gmail.com

Conflict of interest

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this paper.

Source of financing

The authors state that there is no funding for the study.

Information about authors:

Zelenin Nikolay V., Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology, Irkutsk, Russian Federation.

Manturova Natalia E., Dr. Med. Sci., Professor, head of the Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Cosmetology of Cell Technologies, N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation.

Shurygin Mikhail G., Dr. Med. Sci., head of the Scientific and Laboratorial Department, Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology, Irkutsk, Russian Federation.

Umanets Vitaliy A., Cand. Med. Sci., Laboratory of Cell Technologies and Regenerative Medicine, Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology, Irkutsk, Russian Federation.

Granina Galina B., Cand. Med. Sci., Laboratory of Cell Technologies and Regenerative Medicine, Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology, Irkutsk, Russian Federation.

Shurygina Irina A., Dr. Med. Sci., Professor of RAS, head of the Laboratory of Cell Technologies and Regenerative Medicine, Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology, Irkutsk, Russian Federation.

Corresponding author:

Zelenin Nikolay V.

Phone: +7-964-111-1999

e-mail: Zelenin.med@gmail.com