

# Оценка ранозаживляющего действия металлокомплекса цинка производного N-изопропенилимидазола на модели линейной кожной раны у крыс

С.А. Лебедева<sup>1</sup>, П.А. Галенко-Ярошевский (мл.)<sup>2</sup>, С.И. Мельник<sup>1</sup>, С.В. Козин<sup>1</sup>,  
Т.А. Демура<sup>1</sup>, Я.Р. Аршинов<sup>1</sup>, О.Н. Гулевская<sup>3</sup>, П.А. Галенко-Ярошевский<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет),  
Российская Федерация, 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2;

<sup>2</sup>ГБУЗ «Ленинградская центральная районная больница» Министерства здравоохранения  
Краснодарского края, Российская Федерация, 353740, Краснодарский край,  
Ленинградский район, станица Ленинградская, ул. им. 302 Дивизии, д. 24;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России,  
Российская Федерация, 350063, Краснодарский край, Краснодар, ул. Митрофана Седина, д. 4

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Лебедева Светлана Анатольевна** – профессор кафедры фармакологии Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет). Доктор биологических наук, доцент. Тел.: +7 (958) 832-29-77. E-mail: lebedeva502@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-8769-1040

**Галенко-Ярошевский Павел Александрович (мл.)** – врач хирург-онколог, заместитель главного врача по поликлиническому разделу работы ГБУЗ «Ленинградская центральная районная больница» Министерства здравоохранения Краснодарского края. Тел.: +7 (861) 453-02-03. E-mail: Pavelgalenko@bk.ru. ORCID: 0000-0002-6279-024

**Мельник Станислав Игоревич** – аспирант кафедры фармакологии Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет). Тел.: +7 (964) 639-54-45, E-mail: stanmelniwork@gmail.com. ORCID: 0000-0003-4972-941X

**Козин Сергей Валерьевич** – доцент кафедры фармакологии Института фармации им. А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет). Кандидат биологических наук. Тел.: +7 (916) 273-62-26. E-mail: enfadado@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-4722-8315

**Демура Татьяна Александровна** – профессор кафедры патологической анатомии им. акад. А.И. Струкова Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет). Доктор медицинских наук, профессор. Тел.: +7 (926) 342-91-97, E-mail: demura-t@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-6946-6146

**Аршинов Ярослав Романович** – студент 4 курса Института фармации ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет). Тел.: +7 (985) 974-14-56. E-mail: yarik0707@list.ru. ORCID: 0000-0003-4213-4683

**Гулевская Ольга Николаевна** – старший преподаватель кафедры фармакологии Кубанского государственного медицинского университета. Тел.: +7 (918) 684-35-33. E-mail: olga.stoyalova@bk.ru. ORCID: 0000-0001-7205-2473

**Галенко-Ярошевский Павел Александрович** – заведующий кафедрой фармакологии ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет». Доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН. Тел.: +7 (928) 429-21-22. E-mail: galenko.yarochevsky@gmail.com. ORCID: 0000-0003-0873-284X

## РЕЗЮМЕ

**Введение.** Поиск средств, обладающих выраженным ранозаживляющим действием, является одной из актуальных задач современной фармакологии и медицины в целом. В многокомпонентном каскадном механизме ранозаживления важную роль играют эссенциальные элементы, среди которых цинк представляет особый интерес. В настоящее время доказано, что этот микроэлемент обладает противовоспалительным, антибактериальным, мембраностабилизирующим, антиоксидантным действием, а также является незаменимым участником процессов миграции, пролиферации и дифференцировки кератиноцитов.

**Цель исследования** – оценить ранозаживляющее действие 1% геля металлоорганического комплекса цинка с N-изопропенилимидазолом на течение раневого неинфицированного процесса при моделировании линейной кожной раны у крыс.

**Материал и методы.** Объект исследования – 1% гель (N-изопропенилимидазола) цинкдиацетата (Пилим-1) на основе натрий карбоксиметилцеллюлозы (Na-KMЦ). В качестве референтных препаратов были выбраны 10% мазь метилурацила для местного применения и 0,5%

гель цинка сульфата на основе Na-KМЦ. Модель «линейной кожной раны» воспроизводили на наркотизированных крысах. Течение раневого процесса оценивали по скорости эпителизации раны, а также по характеру заживления, репарации, зрелости грануляционной ткани, степени ангиогенеза, наличию гнойного процесса и другим критериям, выявляемым при гистологическом исследовании раневых образцов кожи.

**Результаты.** Установлено, что при наружном применении 1% геля Пилим-1 уменьшаются сроки заживления раны по сравнению с референтными препаратами. Гистологические исследования показали полную эпителизацию и реорганизацию раны без дефектов.

**Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют о перспективности разработки 1% геля Пилим-1 в качестве эффективного ранозаживляющего средства.

**Ключевые слова:** кожа, линейная рана, производное N-изопропенилимидазола, ранозаживление, репаративная регенерация, цинк.

**Для цитирования:** Лебедева С.А., Галенко-Ярошевский П.А. (мл.), Мельник С.И., Козин С.В., Демур Т.А., Аршинов Я.Р., Гулевская О.Н., Галенко-Ярошевский П.А. Оценка ранозаживляющего действия металлокомплекса цинка производного N-изопропенилимидазола на модели линейной кожной раны у крыс. Фармация, 2021; 70 (6): 49–55. <https://doi.org/10.29296/25419218-2021-06-09>

### EVALUATION OF THE WOUND-HEALING EFFECT OF AN N-ISOPROPENYLIMIDAZOLE ZINC METAL COMPLEX DERIVATIVE ON A LINEAR SKIN WOUND MODEL IN RATS

S.A. Lebedeva<sup>1</sup>, P.A. Galenko-Yaroshevsky (Jr.)<sup>2</sup>, S.I. Melnik<sup>1</sup>, S.V. Kozin<sup>1</sup>, T.A. Demura<sup>1</sup>, J.R. Arshinov<sup>1</sup>, O.N. Gulevskaya<sup>3</sup>, P.A. Galenko-Yaroshevsky<sup>3</sup>

<sup>1</sup>I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Ministry of Health of Russia, 8, Trubetskaya St., Build. 2, Moscow, 119991, Russian Federation;

<sup>2</sup>State Budgetary Health Care Institution «Leningrad Central District Hospital» of the Ministry of Health of the Krasnodar Territory, 302 Divisii str., 24, Leningradskaya stanitsa, Leningradsky district, Krasnodar Territory, 353740, Russian Federation;

<sup>3</sup>Kuban State Medical University, 4, Mitrofan Sedin St., Krasnodar, 350063, Russian Federation

#### INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Lebedeva Svetlana Anatolievna** – professor of Department of Pharmacology, A.P. Neljubin Institute of Pharmacy, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University). Doctor of Biological Sciences, tel.: +7 (958) 832-29-77. E-mail: lebedeva502@yandex.ru. *ORCID: 0000-0001-8769-1040.*

**Galenko-Yaroshevsky Pavel Alexandrovich (Jr.)** – surgeon-oncologist, deputy chief physician for the polyclinic section of the work of the State Budgetary Healthcare Institution «Leningrad Central District Hospital» of the Ministry of Health of the Krasnodar Territory. Tel.: +7 (861) 453-02-03. E-mail: Pavelgalenko@bk.ru. *ORCID: 0000-0002-6279-024.*

**Melnik Stanislav Igorevich** – graduate student of Department of Pharmacology, A.P. Neljubin Institute of Pharmacy, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University). Tel.: +7 (964) 639-54-45. E-mail: stanmelniwork@gmail.com. *ORCID: 0000-0003-4972-941X.*

**Kozin Sergej Valerievich** – docent of Department of Pharmacology, A.P. Neljubin Institute of Pharmacy, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University). Candidate of Biological Sciences. Tel.: +7 (916) 273-62-26. E-mail: enfadado@yandex.ru. *ORCID: 0000-0002-4722-8315*

**Demura Tatiana Alexandrovna** – professor of A.I. Strukov Department of Pathological Anatomy, N.V. Sklifosovsky Institute of Clinical Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University). Professor, Doctor of Medical Sciences. Tel.: +7 (926) 342-91-97. E-mail: demura-t@yandex.ru. *ORCID: 0000-0002-6946-6146.*

**Arshinov Jaroslav Romanovich** – student of I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University). Tel.: +7 (985) 974-14-56. E-mail: yarik0707@list.ru. *ORCID: 0000-0003-4213-4683*

**Gulevskaya Olga Nikolaevna** – senior lecturer, Department of Pharmacology, Kuban State Medical University. Tel.: +7 (918) 684-35-33. E-mail: olga.stoyalova@bk.ru. *ORCID: 0000-0001-7205-2473.*

**Galenko-Yaroshevsky Pavel Aleksandrovich** – head of department of pharmacology, Kuban State Medical University, professor, corresponding member of RAS. Doctor of Medical Sciences. Tel.: +7 (928) 429-21-22. E-mail: galenko.yarochevsky@gmail.com. *ORCID: 0000-0003-0873-284X.*

#### SUMMARY

**Introduction.** To search for drugs that have a pronounced wound-healing effect is one of the urgent tasks of modern pharmacology and medicine in general. The essential elements, among which zinc is of particular interest, play an important role in the multicomponent cascade mechanism of wound healing. It has been presently proven that this trace element has anti-inflammatory, antibacterial, membrane-stabilizing, and antioxidant activities, and is also an indispensable participant in the processes of keratinocyte migration, proliferation, and differentiation.

**Objective:** to evaluate the wound-healing effect of 1% N-isopropenylimidazole zinc organometallic complex gel on the course of a non-infected wound process when modeling a linear skin wound in rats.

**Material and methods.** The investigation object was 1% (N-isopropenylimidazole) zinc diacetate gel (Pilim-1) based on sodium carboxymethylcellulose (NaCMC). 10% methyluracil ointment for topical application and 0.5% zinc sulfate gel based on NaCMC were selected as reference agents. The linear skin wound model was reproduced on anesthetized rats. The course of a wound process was assessed by the rate of wound epithelialization, as well as by the nature of granulation tissue healing, repair, and maturity, the degree of angiogenesis, the presence of a purulent process and other criteria identified while histologically examining the wound skin samples.

**Results.** The morphological and anatomical signs of the leaves of *Gledichia vulgaris* have been established. The main diagnostic microscopic signs are: the anomocytic type of the stomatal apparatus; simple single-celled thick-walled simple hairs with a folded cuticle on the upper side of the epidermis; the presence of druses in the mesophyll, the largest number of which is located in the central part of the plate; crystal-bearing lining of leaf veins; the presence of clusters of extractive substances in mesophyll cells; reduced denticles along the edge of the leaf plate.

**Conclusion.** The findings suggest that there are prospects for designing 1% gel Pilim-1 as an effective wound healing agent.

**Key words:** skin, linear wound, N-isopropenylimidazole derivative, zinc, wound healing, reparative regeneration.

**For reference:** Lebedeva S.A., Galenko-Yaroshevsky P.A. (Jr.), Melnik S.I., Kozin S.V., Demura T.A., Arshinov Ya.R., Gulevskaya O.N., Galenko-Yaroshevsky P.A. Evaluation of the wound-healing effect of an N-isopropenylimidazole zinc metal complex derivative on a linear skin wound model in rats. *Farmatsiya*, 2021; 70 (6): 49–55. <https://doi.org/10.29296/25419218-2021-06-09>

## Введение

Современный фармацевтический рынок представлен достаточно широким арсеналом средств с ранозаживляющим действием. Однако поиск репаративных и регенеративных, обладающих высокой эффективностью и скоростью заживления ран, остается актуальным в современной медицине. Разработка и внедрение в медицинскую практику лекарственных препаратов на основе координационных соединений жизненно важных микроэлементов с достаточно высокой активностью лигандной системы, упрощающей реализацию физиологического эффекта препарата на молекулярном уровне, – одно из перспективных направлений фармакологии. Многообещающими являются металлокомплексы с производными имидазола, так как они представляют структурные фрагменты многих природных физиологически активных соединений, играющих важную роль в многочисленных процессах живого организма [1].

Важнейшим эссенциальным микроэлементом является цинк, дефицит и нарушения метаболизма которого – важное патогенетическое звено ряда кожных болезней [2]. Цинк обладает противовоспалительным действием, доказанным эпителизирующим свойством и принимает важное участие в процессах заживления ран [3, 4]. Исключительную роль в физиологии кожи человека играют цинксодержащие ферменты – матриксные металлопротеиназы (ММП), необходимые для нормального процесса заживления [5]. ММП способны гидролизовать практически все белки внеклеточного матрикса, отвечают за структурную организацию и регенерацию дермы и эпидермиса, обеспечивают очистку раны от тканевого детрита, модулируют процессы миграции клеток и реконструкцию внеклеточного матрикса [6, 7]. Искусственное ингибирование активности ММП приводит к значительному увеличению времени, необходимого для заживления раны [8].

Цинк модулирует процессы кератинизации и миграции кератиноцитов в фазу заживления, а также их дифференцировку и пролиферацию [9], способствует прохождению воспалительной и пролиферативной фазы процесса заживления, индуцируя более интенсивное образование и структурирование дермы [10].

Учитывая сказанное, комплексные соединения цинка с производными имидазола представляют особый интерес для изучения в качестве ранозаживляющих средств.

Цель исследования – оценить ранозаживляющее действие 1% геля металлоорганического комплекса цинка с N-изопротенилимидазолом на те-

чение раневого неинфицированного процесса при моделировании линейной кожной раны у крыс.

## Материал и методы

В качестве перспективного химического соединения с ранозаживляющим действием исследован (N-изопротенилимидазол) цинкдиацетат под лабораторным шифром Пилим-1, синтезированный в Иркутском институте химии СО РАН. Структурная формула металлоорганического комплекса представлена на рис. 1. Для исследования применяли лекарственную форму в виде 1% геля Пилим-1 на основе Na-КМЦ. В качестве референтных препаратов использовали 10% мазь метилурацила для местного применения (АО «Нижфарм», Россия) и 0,5% гель цинка сульфата на основе Na-КМЦ.

Для исследования ранозаживляющего действия было отобрано 30 аутбредных белых крыс-самцов массой 250–370 г, доставленных из питомника лабораторных животных «КролИнфо» (Московская область, Орехово-Зуевский район). Животные содержались в виварии в индивидуальных клетках на стандартном рационе питания. Световой режим составлял 12 ч света и 12 ч темноты. Температура воздуха в помещении поддерживалась в пределах 18–22°, относительная влажность воздуха составляла 50–70%.

Все эксперименты были проведены с обязательным соблюдением положений Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2013) [11] в соответствии с Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств [12]. Дизайн исследования одобрен Локальным этическим Комитетом ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет).

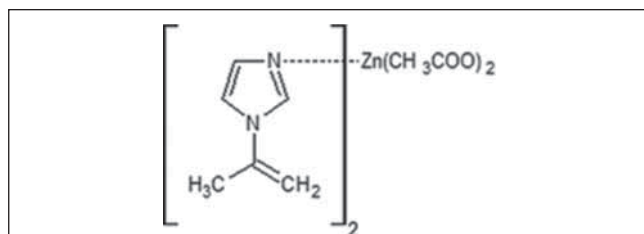
Животные были рандомизированы и разделены на 5 групп по 6 крыс в каждой: 1-я группа – интактные (негативный контроль), 2-я группа – контроль (гидрофильная основа), животные 3-й группы получали лечение 1% гелем Пилим-1, 4-й группы – метилурацилом, 5-й группы – цинка сульфатом. У всех животных на участке спины шириной 20 мм и длиной 50 мм, недоступном для вылизывания, удаляли шерсть. Затем наркотизированным животным обрабатывали место нанесения раны 70% раствором этилового спирта и наносили рану длиной 30,0±1,0 мм до собственной фасции при помощи скальпеля. После нанесения раны на расстоянии 10,0 мм от ее краев накладывали 2 шва шелковой нитью таким образом, чтобы боковые края не соприкасались и эпителизация проходила от конечных участков раневой поверхности (рис. 2).

Животным 3–5-й групп сразу после наложения швов и далее в течение последующих 7 сут наносили на область раны 0,2 г Пилим-1 или препарата сравнения, животным контрольной группы – такую же навеску гидрофильной основы. В интактной группе раны заживали естественным путем.

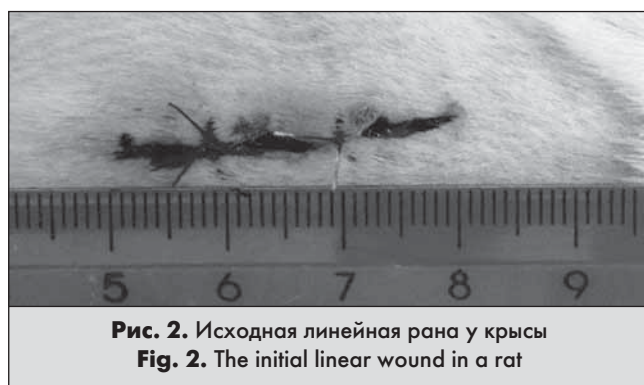
Эпителизацию рассчитывали по формуле:

$$(A - B) / A \times 100\%,$$

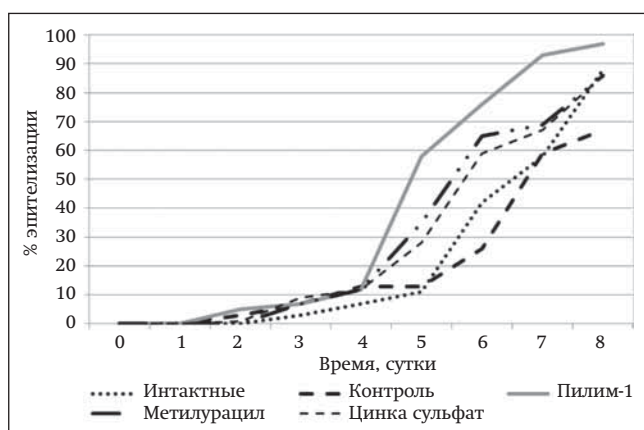
где: А – исходная длина раны (мм), В – длина эпителизированной раны (мм) [13].



**Рис. 1.** Структурная формула (N-изопрпенилимидазола) цинкдиацетата  
**Fig. 1.** The structural formula of (N-isopropenylimidazole) zinc diacetate



**Рис. 2.** Исходная линейная рана у крысы  
**Fig. 2.** The initial linear wound in a rat



**Рис. 3.** Динамика изменения длины раны у экспериментальных животных на модели линейной раны (n=6)  
**Fig. 3.** The time course of wound length changes in experimental animals on a linear wound model (n=6)

Гистологический материал раневых биоптатов забирали на 8-е сутки от начала лечения после проведения процедуры эвтаназии животных путем помещения их в CO<sub>2</sub>-камеру. Забор материала осуществляли при помощи иссечения кожи с подкожной клетчаткой из области раны до собственной фасции. После фиксации образцов в 10% растворе нейтрального формалина и дегидратирования проводили заливку парафином и нарезку парафиновых срезов толщиной 3 мкм с последующим окрашиванием гематоксилином и эозином. Готовые образцы оценивались по степени воспалительной реакции, эпителизации, выраженности грануляционной ткани и ее зрелости, наличию некроза и ангиогенеза.

Нормальность выборок проверяли с помощью критерия Шапиро–Уилка. Так как выборки имели близкое к нормальному распределение, значимость различий между экспериментальными группами определяли с помощью одномерного дисперсионного анализа с дальнейшей обработкой методом множественных сравнений Стьюдента с поправкой Бонферрони. Статистический анализ проводили с использованием программного пакета Statistica 12, разработанного компанией StatSoft (США). Различия были определены при 0,05 уровне значимости.

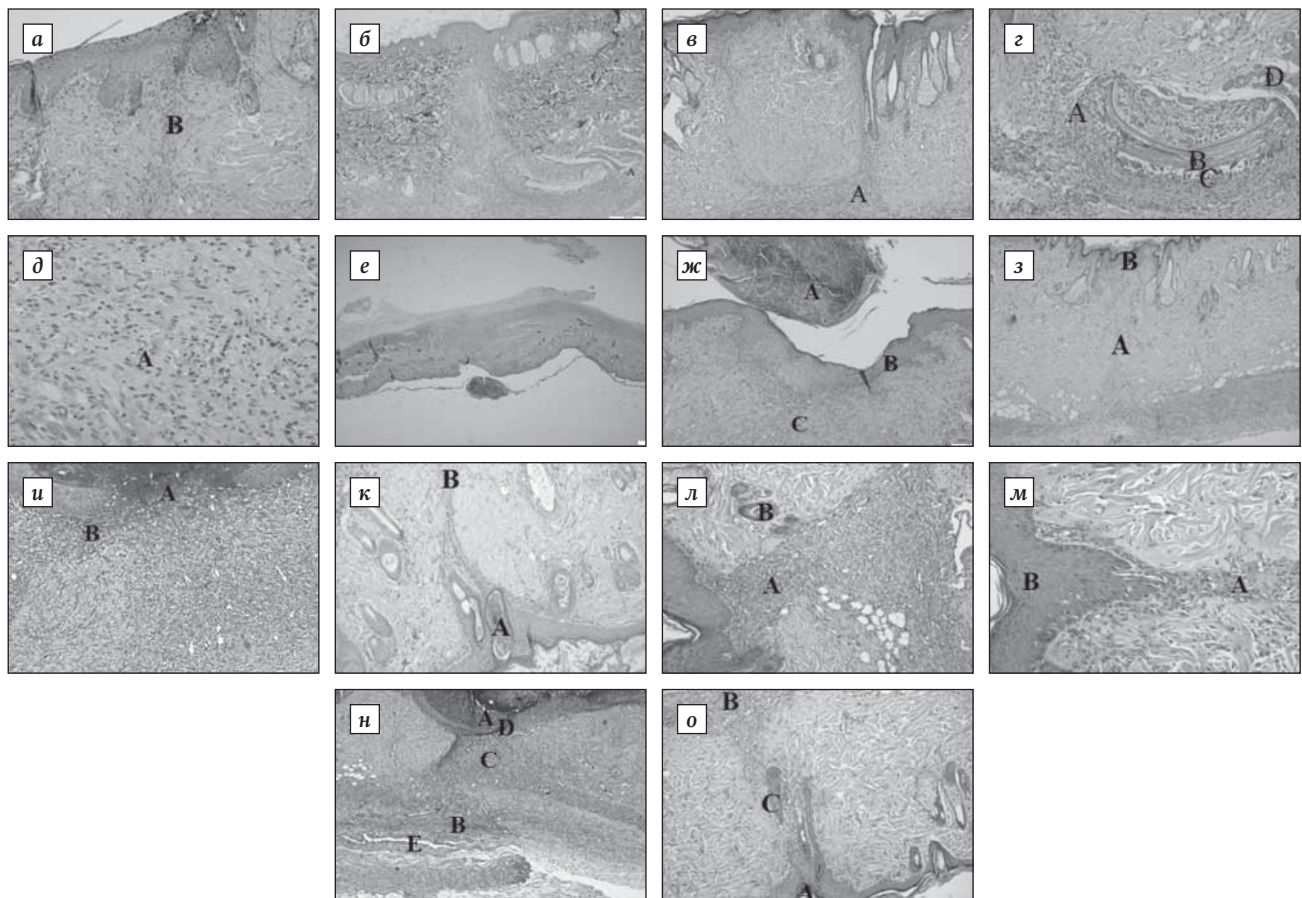
### Результаты и обсуждение

Регенеративные процессы оценивали по суточному изменению размера раны. В группе животных, получавших лечение Пилим-1, начиная с 5-х суток, отмечали статистически значимое уменьшение длины ран по сравнению с контрольными животными. Практически полная реорганизация раны (97% от исходных размеров) наблюдалась на 8-е сутки, в то время как у животных контрольной группы размеры раны уменьшались на 67% от начальной длины.

У животных, получавших лечение цинка сульфатом и метилурацилом, заживление ран к концу лечения составило 86% (p≤0,05). В группе интактных животных размеры ран уменьшались на 88%. Статистически значимые различия между интактной группой и животными, получавшими метилурацил, наблюдали на 5 и 6 сутки лечения. Заживление ран в этих группах составило 35 и 65% соответственно от исходного размера раны. В интактной группе животных отмечалось заживление ран на 11 и 42% соответственно на 5-е и 6-е сутки наблюдения (рис. 3).

Гистологическое исследование ран позволяет оценить характер заживления, процессы репара-





**Рис. 4.** Микропрепараты кожи крыс (окраска гематоксилином и эозином)

а. Кожа крысы контрольной группы ( $\times 200$ ). Грануляционная ткань (В); б. Кожа крысы контрольной группы ( $\times 100$ ). Грануляционная ткань (А); в. Кожа крысы контрольной группы ( $\times 100$ ). Грануляционная ткань (А); г. Кожа крысы контрольной группы ( $\times 200$ ). Грануляционная ткань (А). Остатки волоса (В). Гигантоклеточная реакция (С). Гладкомышечные клетки (D); д. Кожа крысы опытной группы (Пилим-1) ( $\times 250$ ). Грануляционная ткань (А); е. Кожа крысы опытной группы (Пилим-1) ( $\times 15$ ). Полная эпителизация; ж. Кожа крысы опытной группы (Пилим-1) ( $\times 100$ ). Некротический детрит (А). Полная эпителизация раневого дефекта (В). Грануляционная ткань (С); з. Кожа крысы опытной группы (Пилим-1) ( $\times 200$ ). Грануляционная ткань (А). Полная эпителизация (В); и. Кожа интактной группы ( $\times 200$ ). Очаг некроза (А). Диapedезные кровоизлияния, новообразованные сосуды (В). Грануляционная ткань (С); к. Кожа интактной группы ( $\times 100$ ). Некротический детрит, дистрофические изменения эпителия (А). Зрелая грануляционная ткань (В); л. Кожа опытной группы (метилурацил) ( $\times 200$ ). Большое количество незрелой грануляционной ткани, диapedезные кровоизлияния (А); м. Кожа крыс опытной группы (метилурацил) ( $\times 250$ ). Малое количество грануляционной ткани с признаками зрелости (А). Полная эпителизация (В); н. Кожа опытной группы (Цинка сульфат) ( $\times 150$ ). Некротический детрит (А). Дистрофические изменения мышечных волокон (В). Незрелая грануляционная ткань, ангиогенез, диapedез, лейкоцитарная инфильтрация (С). Отсутствие эпителизации, выраженный некроз (D). Лимфостаз в глубоких слоях кожи (E); о. Кожа опытной группы (Цинка сульфат) ( $\times 100$ ). Дефект эпителизации (А). Большое количество незрелой грануляционной ткани в глубоких слоях кожи, диapedез (В). Зрелая грануляционная ткань (С)

**Fig. 4.** Rat skin microspecimens (H&E)

a. The skin of a rat in the control group ( $\times 200$ ). Granulation tissue (B); b. The skin of a rat in the control group ( $\times 100$ ). Granulation tissue; c. The skin of a rat in the control group ( $\times 100$ ). Granulation tissue (A); d. The skin of a rat in the control group ( $\times 200$ ). Granulation tissue (A). Hair remains (B). Giant cell reaction (C). Smooth muscle cells (D); e. The skin of a rat in the experimental (Pilim-1) group ( $\times 250$ ). Granulation tissue (A); f. The skin of a rat in the experimental (Pilim-1) group ( $\times 15$ ). Complete epithelialization; g. The skin of a rat in the experimental (Pilim-1) group ( $\times 100$ ). Necrotic detritus (A). Complete epithelialization of wound defect (B). Granulation tissue (C); h. The skin of a rat in the experimental (Pilim-1) group ( $\times 200$ ). Granulation tissue (A). Complete epithelialization (B); i. The skin in the intact group ( $\times 200$ ). The focus of necrosis (A). Diapedetic hemorrhages, newly formed vessels (B). Granulation tissue (C); j. The skin in the intact group ( $\times 100$ ). Necrotic detritus, epithelial dystrophic changes (A). Mature granulation tissue (B); k. The skin in the experimental (Methyluracil) group ( $\times 200$ ). Large amount of immature granulation tissue, diapedetic hemorrhages (A); l. The skin of rats in the experimental (Methyluracil) group ( $\times 250$ ). A small amount of granulation tissue with the signs of maturity (A). Complete epithelialization (B); m. The skin in the experimental (Zinc sulfate) group ( $\times 150$ ). Necrotic detritus (A). Dystrophic changes in muscle fibers (B). Immature granulation tissue, angiogenesis, diapedesis, leukocyte infiltration (C). Lack of epithelialization, obvious necrosis (D). Lymphostasis in the deep layers of the skin (E); n. The skin in the experimental (Zinc sulfate) group ( $\times 100$ ). Epithelialization defect (A). A large amount of immature granulation tissue in the deep layers of the skin, diapedesis (B). Mature granulation tissue (C)

ции, наличие гнойного воспаления и другие важные критерии.

В контрольных образцах линейной раны обнаруживали некротический детрит, окружённый вырванной лейкоцитарной инфильтрацией. В подлежащих слоях грануляционная ткань представлена новообразованными сосудами и клеточными инфильтратами, между которыми наблюдались тонкие прослойки коллагеновых волокон (рис. 4а).

Обнаруживали участки эпителизации в ранах, при этом в эпителии наблюдались дистрофические изменения в виде паракератоза. В дерме присутствует грануляционная ткань, которая замещает поврежденную мышечную ткань (рис. 4б). В разных образцах отмечали как полную эпителизацию, так и ее отсутствие.

В одном случае в ране обнаружены остатки волоса, вокруг которого отмечается гигантоклеточная реакция (рис. 4в-г). Гигантские клетки инородных тел развиваются в ответ на появление чужеродных компонентов, что характерно для гранулематозного воспаления.

При лечении животных 1% гелем Пилим-1 с помощью морфологического исследования установили, что процесс эпителизации ран завершился полностью. В подлежащих тканях отмечали небольшое количество грануляционной ткани разной степени зрелости с наличием коллагеновых волокон.

При изучении образцов кожи, полученных у животных интактной группы, в области ран обнаруживали некротический детрит, лейкоцитарные инфильтраты и грануляционную ткань с выраженным ангиогенезом, диапедезными кровоизлияниями, что указывает на выраженность воспалительных процессов в тканях, а также на незавершенный процесс репарации в ране (рис. 4и-к). Эпителизация раны в данной группе практически отсутствовала.

В группе животных, получавших лечение метилурацилом, наблюдали незначительную эпителизацию, эпителий был с дистрофическими изменениями, в подлежащих тканях обнаруживали грануляционную ткань разной степени зрелости. В некоторых образцах выявлялись признаки воспалительного процесса – лейкоцитарная инфильтрация и лейкопедез. Для этой группы был характерен незавершенный процесс репарационного ранозаживления (рис. 4л-м).

В группе животных, получавших лечение цинка сульфатом, эпителизация отсутствовала, обнаруживали крупные очаги некроза, грануляционную ткань, ангиогенез, кровоизлияния, лейкоцитарную инфильтрацию лейкоцитами, полнокровные сосуды, дистрофические изменения мышечных волокон в глубоких слоях (рис. 4н-о).

Качественные и количественные характеристики процесса ранозаживления оценивали по таким признакам, как зрелость грануляционной ткани, степень эпителизации и ангиогенеза, выраженность лейкоцитарной реакции, наличие кровоизлияний с оценкой каждого показателя по баллам. Зрелость грануляционной ткани и степень ангиогенеза оценивали по 3-балльной шкале: 0 – нет, 1 – слабо выражена, 2 – умеренно выражена, 3 – выражена. Полную эпителизацию оценивали в 3 балла, неполную – 0 баллов. Выраженность лейкоцитарной реакции оценивали по наличию (0 баллов) или отсутствию нагноения (1 балл), отсутствие кровоизлияний – 1 балл, наличие – 0 баллов.

Основные показатели ранозаживления были сведены в единую таблицу и проведена их балльная оценка (см. таблицу).

Из таблицы видно, что по гистологическим критериям ранозаживления образцы кожи крыс,

**Балльная оценка гистологических критериев образцов кожи крыс**

**Scoring of histological criteria in the rat skin samples**

Гистологические критерии	Группы животных				
	Интактные	Контроль	Пилим-1	Метилурацил	Цинка сульфат
Зрелость грануляционной ткани	1	0	3	2	2
Степень эпителизации	0	3	3	3	0
Степень ангиогенеза	3	2	3	2	2
Выраженность лейкоцитарной реакции	0	0	1	1	0
Наличие кровоизлияний	0	1	0	0	0
Мак количество баллов – 11	4	6	10	8	4

получавших лечение Пилим-1, соответствуют наибольшему количеству баллов. У животных данной группы отмечалась выраженная зрелость грануляционной ткани, полная эпителизация, умеренно выраженный ангиогенез, отсутствовали нагноения и кровоизлияния. Балльная оценка этих критериев показывает 10 баллов из 11 возможных. В интактной и контрольной группах, а также в группах животных, получавших лечение метилурацилом и цинка сульфатом, выбранные критерии ранозаживления соответствуют 4, 6, 8 и 4 баллам соответственно.

### Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о том, что местное применение 1% геля цинкового комплекса N-изопропенилимидазола значительно сокращает сроки заживления ран, а также способствует уменьшению количества соединительной ткани в области раны, что приводит не только к более качественному процессу ранозаживления, но и уменьшает видимые последствия нанесения раны. Выявленное регенерирующее действие представляет интерес для дальнейшего изучения с целью разработки эффективного средства, стимулирующего репаративную регенерацию ран.

Дерматотропное действие цинкового комплекса на модели линейной раны реализуется, вероятно, за счет высокой биодоступности, обеспечивающей фармакологическую эффективность, направленную на патогенетические механизмы раневого процесса: устранение гипоксии, улучшение микроциркуляции, нормализацию процессов свободно-радикального окисления и пролиферации клеток.

\*\*\*

Авторы выражают благодарность **Тарасову Владимиру Владимировичу** – директору Института трансляционной медицины и биотехнологии, Сеченовского Университета и **Недурубову Андрею Анатольевичу** – руководителю Центра доклинических исследований Института трансляционной медицины и биотехнологии Сеченовского Университета за предоставленную возможность проведения экспериментальных работ на базе Центра доклинических исследований.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

### Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

### Литература/References

1. Шахмарданова С.А., Галенко-Ярошевский П.А. Металлокомплексные производные 1 алкенилимидазола. Антигипоксические свойства, механизмы действия, перспективы клинического применения. Краснодар: Просвещение-Юг, 2015; 267. [Shakhmardanova S.A., Galenko-Yaroshevskiy P.A. Metal complex derivatives of 1-alkenylimidazole. Antihypoxic properties, mechanisms of action, prospects for clinical use. Krasnodar: Education-South, 2015; 267 (in Russian)]
2. Kogan S., Sood A., Garnick M.S. Zinc and Wound Healing: a review of zinc physiology and clinical applications. *Wounds*. 2017; 29 (4): 102–6.
3. Lansdown A.B., Mirastschijski U., Stubbs N. et al. Zinc in wound healing: theoretical, experimental, and clinical aspects. *Wound Repair and Regeneration*. 2007; 15: 2–16.
4. Prasad A.S. Zinc is an antioxidant and anti-inflammatory agent: its role in human health. *Front. Nutr.* 2014; 1: 14. DOI: 10.3389/fnut.2014.00014
5. Michopoulou A., Rousselle P. How do epidermal matrix metalloproteinases support re-epithelialization during skin healing? *Eur. J. Dermatol.* 2015; 1: 33–42. DOI: 10.1684/ejd.2015.2553
6. Ravanti L., Kahari V.M. Matrix metalloproteinases in wound repair. *Int. J. Mol. Med.* 2000; 6 (4): 391–407. DOI: 10.3892/ijmm.6.4.391
7. Soo C., Shaw W.W., Zang X. et al. Differential expression of matrix metalloproteinases and their tissue-derived inhibitors in cutaneous wound repair. *Plast. Reconstr. Surg.* 2000; 105 (2): 638–47. DOI: 10.1097/00006534-200002000-00024
8. Mirastschijski U., Haaksma C.J., Tomasek J.J. et al. Matrix metalloproteinase inhibitor GM 6001 attenuates keratinocyte migration, contraction and myofibroblast formation in skin wounds. *Exp. Cell. Res.* 2004; 299 (2): 465–75. DOI: 10.1016/j.yexcr.2004.06.007
9. Inoue Y., Hasegawa S., Ban S. et al. ZIP2 protein, a zinc transporter, is associated with keratinocyte differentiation. *J. Biol. Chem.* 2014; 289 (31): 21451–62. DOI: 10.1074/jbc.M114.560821
10. Luong D., Yergeshov A.A., Zoughaib M. et al. Transition metal-doped cryogels as bioactive materials for wound healing applications. *Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol.* 2019; 103: 109759. DOI: 10.1016/j.msec.2019.109759
11. WMA Declaration of Helsinki, 64th WMA General Assembly, Fortaleza, Brazil. 2013.
12. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1. (под ред. А.Н. Миронова). М.: Гриф и К, 2013; 944. [Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part 1. (ed. by A.N. Mironov). Moscow: Grif and K, 2013; 944 (in Russian)]
13. Larsen H.F., Ahlström M.G., Gjerdrum L.M. R. et al. Noninvasive measurement of reepithelialization and microvasculature of suction-blister wounds with benchmarking to histology. *Wound Repair and Regeneration*. 2017; 25 (6): 984–93. DOI:10.1111/wrr.12605

Поступила 15 июня 2021 г.

Received 15 June 2021

Принята к публикации 01 сентября 2021 г.

Accepted 01 September 2021