



Научная статья

DOI: 10.15593/RZhBiomeh/2022.2.03

УДК 531/534: [57+61]

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ПРОИЗВОДНОГО 1,2,3-ТРИАЗОЛО-[5,1-b]-1,3,4-ТИАДИАЗИНА НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ ВОЛОКНИСТОГО КОМПОНЕНТА КОЖИ В УСЛОВИЯХ ЗАЖИВЛЕНИЯ ОЖОГОВОЙ РАНЫ

И.М. Петрова¹, Д.В. Зайцев^{1,2,3}, А.В. Жданова⁴, С.Л. Хацко¹, О.А. Высокова¹,
Т.А. Калинина¹, Т.В. Глухарева^{1,5}

¹ Уральский Федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия

² Уральский государственный горный университет, Екатеринбург, Россия

³ Институт высокотемпературной электрохимии, Екатеринбург, Россия

⁴ Городская клиническая больница № 40, Екатеринбург, Россия

⁵ Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН, Екатеринбург, Россия

О СТАТЬЕ

Получена: 11 августа 2021

Одобрена: 29 июня 2022

Принята к публикации: 01 июля 2022

Ключевые слова:

биомеханика кожи, механическое исследование, 1,2,3-триазолы, коллагеновые волокна, регенерация кожи.

АННОТАЦИЯ

Целью исследования является оценка влияния производного 1,2,3-триазоло-1,3,4-тиадиазина на восстановление волокнистого компонента кожи в условиях заживления ожоговой раны. В качестве экспериментальных животных использовали самцов белых беспородных лабораторных крыс. Были проведены морфологические и механические исследования. Животных опытных групп выводили из эксперимента на 14-е и 21-е сутки для оценки течения регенераторного процесса. Опытным животным моделировали ожоговую рану кожи IIIA степени. Лечение осуществлялось нанесением на пораженный участок мази, содержащей исследуемое вещество. Данные морфологического анализа свидетельствуют о стимулирующем влиянии 1,2,3-триазоло-1,3,4-тиадиазина на регенерацию кожи, в частности, восстановление волокнистого компонента. К 14-м суткам эксперимента все образцы имеют слабые механические характеристики. Однако на 21-е сутки эксперимента образцы из группы с тестируемым веществом демонстрируют более высокие прочностные свойства, растягиваясь на $28,893 \pm 4,548$ % при максимальной нагрузке в $0,804 \pm 0,129$ МПа. Достоверное различие с интактным значением (кожа до разрыва растягивается на $31,434 \pm 4,921$ % при нагрузке в $5,082 \pm 0,060$ МПа) связано, вероятно, с тем, что механические свойства кожи определяются не только толщиной коллагеновых волокон, но и способом укладки волокон в пучки, взаимным расположением и взаимодействием с другими структурными компонентами ткани.

© ПНИПУ

© Петрова Ирина Михайловна – старший преподаватель, e-mail: irina.petrova@urfu.ru ID: 0000-0002-4358-5219

© Зайцев Дмитрий Викторович – д.ф.-м.н., профессор, заведующий кафедрой, e-mail: dmitry.zaytsev@urfu.ru ID: 0000-0002-8045-5309

© Жданова Алёна Васильевна – сотрудник лаборатории, e-mail: alena.zhdanova.1996@mail.ru ID: 0000-0001-8374-2242

© Хацко Сергей Леонидович – зав. лабораторией, e-mail: sergey.khatsko@urfu.ru ID: 0000-0001-5921-6680

© Высокова Ольга Александровна – м.н.с., e-mail: o.a.vysokova@urfu.ru ID: 0000-0002-6114-6957

© Калинина Татьяна Андреевна – инженер, e-mail: t.a.kalinina@urfu.ru ID: 0000-0002-7549-686X

© Глухарева Татьяна Владимировна – к.х.н., доцент, e-mail: t.v.glukhareva@urfu.ru ID: 0000-0002-5231-9879



Эта статья доступна в соответствии с условиями лицензии Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0)

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0)

Введение

Заживление ожоговой кожной раны является сложным процессом, в комплексной терапии которого особое значение придается разработке ранозаживляющих средств, обладающих широким спектром фармакологических действий и оказывающих влияние на различные звенья раневого процесса. Особенно востребованным является поиск новых препаратов для местного лечения кожных ожогов, обладающих стимулирующим эффектом на пролиферативную и синтетическую деятельность клеток.

В данной работе нами было оценено влияние этилового эфира 5-(4-этоксibenзоил)-5,7-дигидроspиро[циклопентан-1,6-[1,2,3]триазоло[5,1-b][1,3,4]тиадиазин]-3-карбоновой кислоты (далее триазола) [5] на восстановление волокнистого компонента кожи в условиях заживления ожоговой раны.

Ранее было показано, что производные 1,2,3-триазоло-1,3,4-тиадиазина [6] способны оказывать стимулирующее влияние на пролиферацию фибробластов [20], в том числе в условиях регенерации кожных ран [5].

Фибробласты играют ключевую роль при восстановлении целостности кожного покрова, прежде всего за счет активного синтеза компонентов межклеточного вещества, в частности различных типов коллагенов и эластинов, из которых впоследствии формируются волокна [22].

Волокнистый компонент межклеточного вещества обеспечивает механические характеристики кожи, такие как прочность и эластичность, а также участвует в определении и поддержании архитектоники дермы. Важно отметить, что среди физических характеристик биологических тканей важнейшими являются именно их механические свойства. Исследование механических характеристик тканей может дать важную информацию об их свойствах. Знание биомеханических свойств мягких тканей важно для индивидуализированного выбора рациональных приемов пластических и реконструктивно-восстановительных операций [8].

Важно понимать, что механические свойства кожи определяются не волокнами отдельного вида, а их взаимным расположением и влиянием друг на друга. Эти свойства динамичны и изменяются по мере перестройки соединительнотканых волокон под действием внешних и внутренних сил. Но так как около 60 % кожи составляет коллаген, который, в первую очередь, отвечает за его механические свойства, роль эластина обычно рассматривается только при низких напряжениях [24].

В нормальной коже коллаген присутствует обширной сетью отдельных пучков, расположенных параллельно эпидермису [3]. После повреждений кожи на месте ее глубоких дефектов, сопровождавшихся разрушением дермы, формируется новообразованная со-

единительная ткань – рубец [17]. Структура коллагеновых волокон в рубце отличается от нормальной кожи, что приводит к значительным функциональным нарушениям [14]. Волокна в рубце обладают меньшей дифференцированностью; наблюдается количественный дисбаланс: в келоидных рубцах обилие коллагена отмечается не только в сетчатом, но и в сосочковом слое [3; 17]. Кроме того, в рубцовой ткани коллагеновые волокна резко утолщенные, беспорядочно расположенные, эозинофильные, нередко фрагментированные, захватывают всю толщину рубца [3]. В последующем ремоделировании рубцовой ткани и восстановлении функций кожи активное участие принимают фибробласты [10; 21].

Известно, что биомеханические показатели, такие как прочность и упругая пластичность рубцовой ткани, в совокупности свидетельствуют о зрелости соединительной ткани рубца, накоплении коллагена, зрелости коллагеновых волокон и их упорядоченности. Главной причиной механических различий является архитектура тканей, то есть способы укладки волокон и пучков, а также характер взаимодействия коллагеновых волокон с другими компонентами ткани, в том числе клеточными [7; 23; 24]. Понимание этих причин может в конечном счете детальнее объяснить роль клеток в процессах регенерации кожи, и улучшить терапевтические подходы.

Характеристики кожи, такие как сопротивление деформации или разрушение под действием приложенных нагрузок, могут быть определены из механических испытаний. Самыми распространенными являются статические испытания, когда к испытываемому образцу прикладывается нагрузка с постоянной скоростью.

У испытаний на растяжение есть преимущества: они показывают относительно простые зависимости напряжения от деформации, которые можно легко смоделировать и количественно оценить [15]. Испытание на одноосное растяжение является рекомендуемым механическим испытанием на основании простоты, небольшого размера образца и доступности коммерческих одноосных устройств [19].

Методами измерения прочности на разрыв можно систематическим, воспроизводимым и стандартизированным способом оценивать биомеханическое качество рубцовой ткани, образовавшейся после различных курсов лечения ран [18]. Тензиометрические испытания способны показать целостную картину изменений биомеханических свойств раневой ткани на различных этапах заживления раны, так как при таких испытаниях рубцовая ткань и неповрежденная кожа демонстрируют значительные различия в биомеханических свойствах [12; 13; 24].

Изучение биомеханики как здоровой кожи, так и шрамов дает представление о направленности здоровой ткани и о том, как она изменяется при травме. По механическим свойствам кожа является материалом,

поведение которого соответствует вязкоупругому композиционному материалу, допускающему большие деформации. Ввиду наличия неоднородных слоев, характеристики которых различаются, крайне важно проводить комплексную оценку не только функциональных, но и морфологических особенностей кожи [1; 4]. Более полное понимание того, как ранение влияет на физиологические свойства кожи и ее механические характеристики, может облегчить поиск терапевтических агентов и процедур, направленных на стимуляцию восстановительных процессов в поврежденных тканях [14], а также прогнозировать их эффективность и безопасность [2].

Материалы и методы

Характеристика экспериментальных групп.

Моделирование ожоговой раны

В качестве экспериментальных животных использовали 100 белых беспородных лабораторных крыс-самцов.

Условия работы с животными соответствовали правилам Европейской конвенции *ET/S 129* (1986) и директивам 2010/63/*EU*.

Для оценки общего состояния лабораторных животных, участвующих в эксперименте, производили их взвешивание, анализировали внешний вид (состояние глаз, кожных покровов, шерсти и др.) и поведение (аппетит, двигательную активность). Взвешивание животных проводили до моделирования ожоговой раны (табл. 1).

В работе оценивалось влияние 1,2,3-триазоло-1,3,4-тиадиазина на восстановление волокнистого компонента кожи в условиях заживления ожоговой раны.

Таблица 1

Масса тела экспериментальных животных разных групп (среднее \pm ошибка среднего)

Группа	Масса животного, г	
Морфологические исследования		
Интакт	314 \pm 16,42	
Срок эксперимента, сутки	14	21
Контроль	261,85 \pm 18,71	341,76 \pm 20,06
Ланолин	286,62 \pm 18,91	288,43 \pm 7,6
Триазол	369,8 \pm 13,6	391,8 \pm 13,02
Пантенол	390,95 \pm 14,41	389,13 \pm 12,61
Тензиометрические исследования		
Интакт	308 \pm 18,47	
Срок эксперимента, сутки	14	21
Контроль	360,47 \pm 15,52	336,96 \pm 14,44
Ланолин	354,2 \pm 23,41	361,5 \pm 23,39
Триазол	387,84 \pm 16,91	311 \pm 20,53
Пантенол	398,66 \pm 14,98	286,68 \pm 9,51

Для оценки ранозаживляющего эффекта мази с добавлением триазола был выбран препарат сравнения, широко применяющийся в клинической практике для местного лечения ожогов кожи до III степени – пантенол («Пантенол-Тева», «Меркле ГмбХ», Германия).

Для экспериментов было сформировано 5 групп животных по 6 (морфологические исследования) и 4 (тензиометрические исследования) особей в каждой. В пределах каждой группы (кроме интактной) животных выводили из эксперимента на 14-е и 21-е сутки:

1. «Интакт» – интактные крысы (0).

2. «Контроль» – крысы, не подвергавшиеся лечению ожоговой раны (I).

3. «Ланолин» – крысы, на раны которых наносилась мазевая основа, содержащая ланолин (II).

4. «Триазол» – крысы, подвергавшиеся лечению ожоговой раны тестируемым веществом (III).

5. «Пантенол» – крысы, на раны которых наносился препарат «Пантенол-Тева» (IV).

Для моделирования ожоговых ран шерсть на дорсальной поверхности животных выщипывалась вдоль позвоночника на ширину 300 мм и длину 400 мм. Ожог наносился в межлопаточной области путём прикладывания к депилированному участку кожи (3×3 см) раскаленных гирек из медицинской стали размером 2×2 см на 30 с, что позволило воспроизвести стандартный по размеру и глубине ожог IIIA степени. Перед нанесением ожога крысам вводился анальгин в количестве 0,2 мл в мышцу бедра.

Мазь для накожного нанесения, содержащую 0,1 % (масс.) тестируемого 1,2,3-триазола, готовили растворением 400 мг вещества в 200 мкл диметилсульфоксида и добавлением этого раствора к 200 г ланолина, расплавленного при 50°C на водяной бане. К полученной мази при интенсивном перемешивании постепенно добавили 200 г стерильной воды и размешали до однородной консистенции. Чтобы избежать эффектов мазевой основы, в эксперимент была введена группа животных, на кожные раны которых наносилась мазевая основа. Основа готовилась аналогично тестируемой мази, но без добавления 1,2,3-триазола.

Препараты наносили на область раны в течение 14 дней, один раз в день в количестве 0,2 г.

Вывод животных из эксперимента (умерщвление) производили передозировкой диэтилового эфира.

Гистологические и морфометрические исследования

Биологический материал забирали таким образом, чтобы захватывалась область раны и неизмененных тканей. Для гистологического исследования кожу фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине, затем промывали в проточной воде, обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и в хлороформе, затем пропитывали парафином и готовили парафиновые блоки. Толщина гистологических срезов составляла 3–5 мкм.



Рис. 1. Трафарет для изготовления образцов



Рис. 2. Испытание на растяжение



Рис. 3. Образец кожи после испытания на растяжение

Для оценки изменений волокнистого компонента соединительной ткани применяли окраску пикрофуксином по Ван-Гизону. Коллагеновые волокна после окраски пикрофуксином имеют ярко-красный цвет, представляют собой извитые тяжи, идущие в различных направлениях или одинаково, или соединяясь в пучки.

Оценку проводили с помощью светового микроскопа *Olympus* при увеличении в 200 или 400 раз. Для получения цифровых фотографий гистологических препаратов использовали микроскоп *Olympus*. С помощью программы *TourView* измеряли толщину и площадь коллагеновых волокон.

Морфоколичественный анализ включал в себя оценку таких показателей, как ширина пучков коллагеновых волокон (мкм) и площадь коллагеновых волокон (%).

Механические испытания

Оборудование

Механические испытания осуществлялись на разрывной машине *Shimadzu AGX 50 kN*, Япония, максимальная нагрузка машины 50 000 Н. Испытания прово-

дились при комнатной температуре и со скоростью 10 мм/мин. Результаты обрабатывались на стандартном программном обеспечении для разрывной машины *Shimadzu Trapezium X*. Анализ механической прочности образцов проводили с использованием методики оценки деформационного поведения материала при одноосном сжатии.

Подготовка образцов

По специально заготовленному картонному трафарету (рис. 1) длиной 4 см и шириной 2 см вырезались образцы кожи так, чтобы пораженный участок соответствовал наиболее тонкому участку (середине) образца. Образцы должны иметь круглое или прямоугольное сечение, а на концах утолщаться для предотвращения их разрушения в захватах при испытании. Образцы изготавливались в соответствии с описанными в литературе методами [11; 16].

Испытания на растяжение

Края образцов (самые широкие участки) фиксировались в держатели, изготовленные заранее из абразив-

ной бумаги. При испытании на одноосное растяжение, концы образца жёстко закреплялись в захватах испытательной машины. После чего к образцу прикладывалась одноосная растягивающая нагрузка (рис. 2).

Время одного испытания в среднем составило $66,573 \pm 3,601$ с. По достижении точки максимального механического напряжения и наступления необратимой деформации (разрывы) испытания останавливали. После проведения испытания образцы изымались из держателей. Оценивали место и характер разрыва кожного лоскута (рис. 3).

Статистическая обработка результатов

Статистическую обработку результатов проводили, используя компьютерные программы *Microsoft Excel* и *Statistica 10.0*. Вычислялось среднее и стандартное отклонение. Для оценки значимости различий между группами использовали критерий Манна–Уитни. При вероятности ошибки $p < 0,05$ различия между средними значениями считались достоверными.

В программном пакете *Wolfram Mathematica* написаны программы для визуализации полученных данных по механическим исследованиям. Вычислялось среднее значение по группе и соответствующее стандартное отклонение.

Результаты

Коллагеновые волокна – это основной компонент межклеточного вещества соединительной ткани кожи, образованный фибриллярным белком коллагеном. Они обеспечивают механические характеристики кожи, такие как прочность и эластичность, а также участвуют в определении и поддержании архитектоники дермы. Синтез коллагена дермы осуществляется фибробластами.

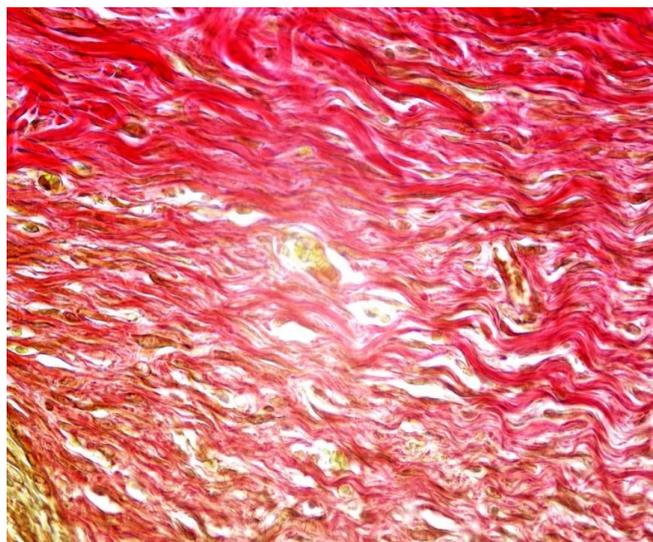


Рис. 4. Волокнистый компонент в интактной коже, окраска – Ван-Гизон; $\times 400$

Общее содержание коллагена в дерме составляет до 70 % от сухой массы, причем содержание коллагена I типа составляет 80 % от совокупного объема коллагена. Коллаген I типа образует прочные фибриллы и обеспечивает механическую прочность дермы, причем большая его часть содержится в сетчатом слое [9].

В нормальной коже коллаген присутствует обширной сетью отдельных пучков, которые идут параллельно выраженному эпидермису (рис. 4). Пучки коллагена дискретны, но между ними существуют случайные коллагеновые или эластиновые связи [3].

На 14-е сутки эксперимента в группах «контроль» и «ланолин» в рубце преобладает клеточный элемент: новообразованные коллагеновые волокна разной степени зрелости, собраны в тонкие пучки, имеющие прямой ход и образующие мелко петлистую сеть. В группе «триазол» пучки коллагеновых волокон толстые, извитые, сложены в массивные тяжи. В группе «пантенол» пучки толще, чем в контрольной группе, однако они не образуют оформленных массивных тяжей и располагаются неравномерно (рис. 5).

При анализе площади, занимаемой коллагеновыми волокнами, выявили, что на 14-е сутки эксперимента во всех группах она достоверно ниже интактного значения.

В группах «контроль» и «ланолин» волокна занимают не более 55 % площади дермы. В группах «триазол» и «пантенол» волокнистый компонент приобретает тенденцию к превалированию в рубцовой ткани, в связи с чем показатели площади коллагеновых волокон достоверно повышаются (рис. 6). К 21-м суткам эксперимента во всех группах сформирован рубец с развитым волокнистым компонентом. Тем не менее имеются отличия в наблюдаемых фазах регенерации.

Так, в группах «контроль» и «ланолин» активно протекает фаза пролиферации, переходящая в фазу рубцевания, что выражается в повышении зрелости рубца и появлении в нем большого количества коллагеновых волокон. Волокна разной степени зрелости собраны в пучки, имеют прямой ход, раздвинуты матриксом, содержащим функционально активные фибробласты. В группе «пантенол» волокна собраны в массивные толстые пучки, следующие параллельно друг другу. В группе «триазол» большую часть дермы занимают сильно извитые коллагеновые волокна, собранные в толстые массивные пучки. Окраска волокон намного интенсивнее, чем в группах сравнения. Основного вещества и клеток мало (рис. 7).

К 21-м суткам эксперимента во всех группах наблюдается достоверное увеличение площади занимаемой волокнистым компонентом. В группе «триазол» значение приближается к интактному (рис. 8). Стоит отметить, что данный параметр достоверно изменяется во всех группах в сторону увеличения к позднему сроку. Исключение составляет группа «пантенол», где статистически данная закономерность не подтвердилась.

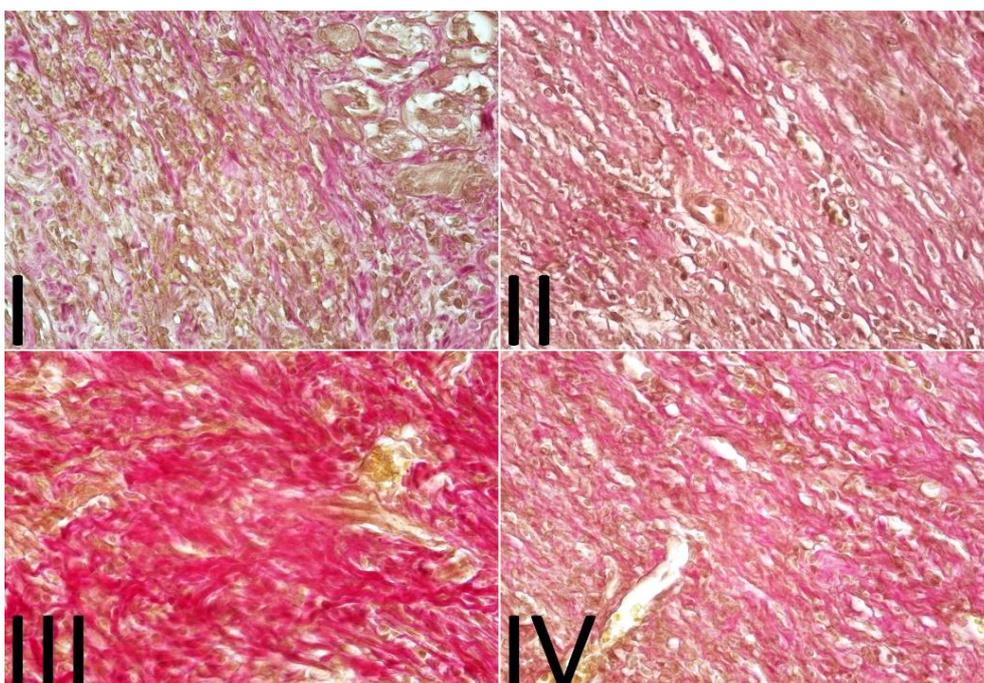


Рис. 5. Волокнистый компонент на 14-е сутки эксперимента, окраска – Ван-Гизон; $\times 400$;
 I– «контроль», II– «ланолин», III– «триазол», IV– «пантенол»

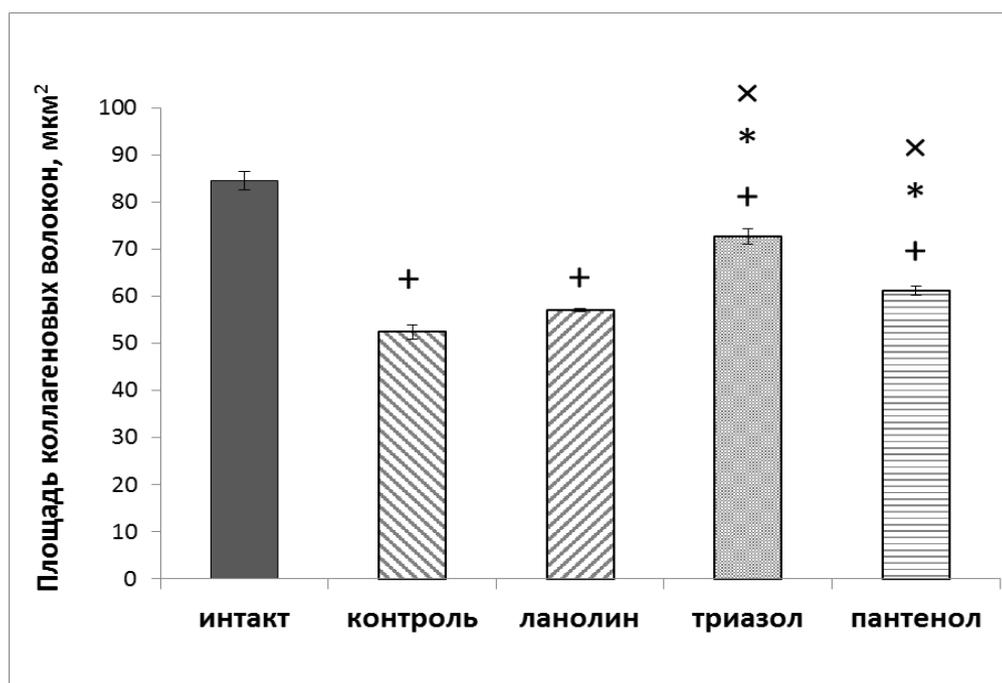


Рис. 6. Площадь коллагеновых волокон на 14-е сутки эксперимента:
 × – различие с контрольной группой достоверно ($p < 0,05$),
 * – различие с группой «ланолин» достоверно ($p < 0,05$),
 + – различие с интактной группой достоверно ($p < 0,05$), на доверительных интервалах отложена величина ошибки среднего

Толщина пучков коллагеновых волокон на обоих сроках эксперимента во всех группах достоверно меньше интактного значения. Во всех группах наблюдается односторонняя тенденция к утолщению пучков к более позднему сроку. Следует отметить, что в группе «триазол» толщина пучков волокон достоверно выше, чем в группах сравнения, что подтверждается гистологической

картиной (рис. 9). Механические испытания выявили общую тенденцию зависимости толщины коллагеновых волокон от прочностных свойств кожи. Так, на 14-е сутки эксперимента все образцы имели слабые механические характеристики, достоверно отличающиеся от интактного значения (кожа до разрыва растягивается на $31,434 \pm 4,921\%$ при нагрузке в $5,082 \pm 0,060$ МПа).

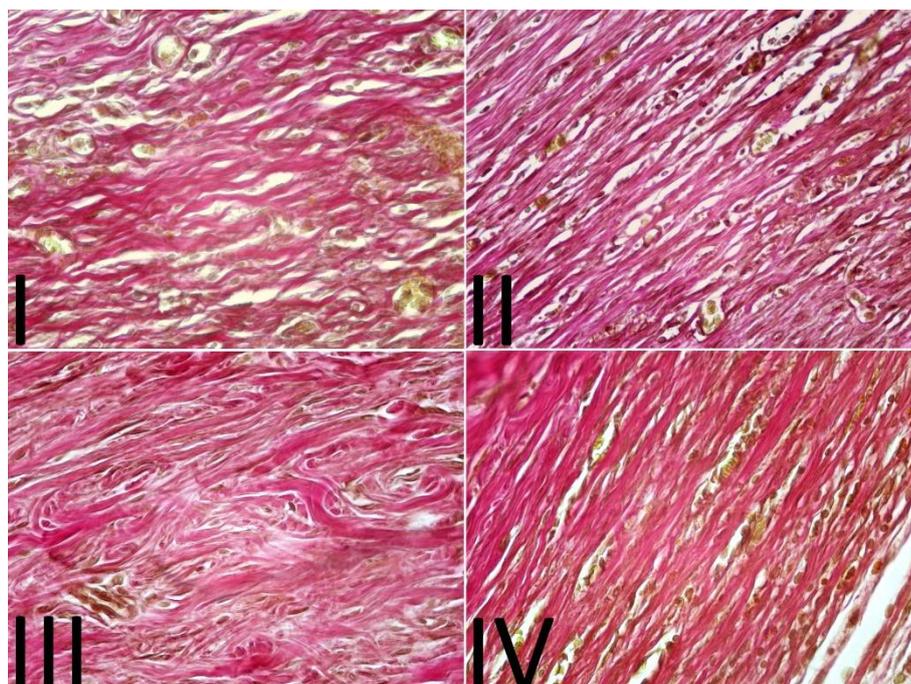


Рис. 7. Волокнистый компонент на 21-е сутки эксперимента, окраска – Ван-Гизон; $\times 400$; I– «контроль», II– «ланолин», III– «триазол», IV– «пантенол»

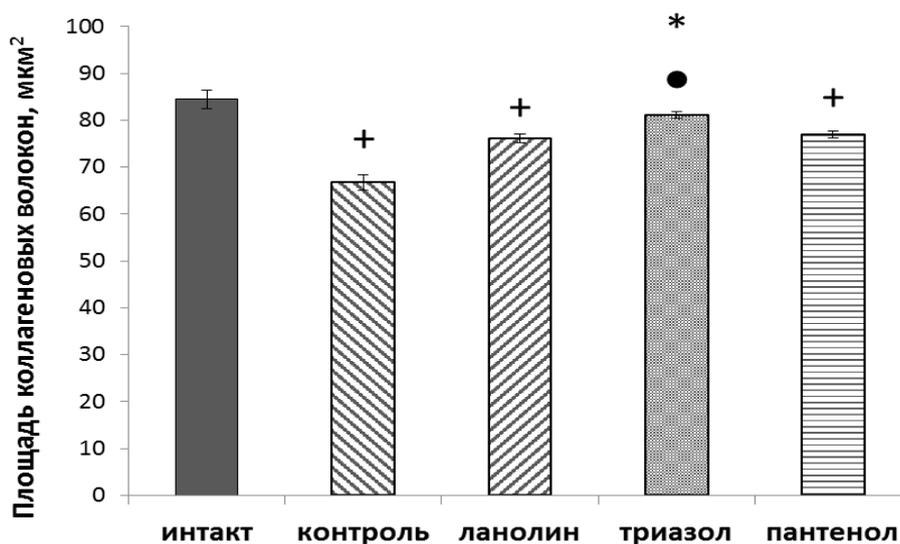


Рис. 8. Площадь коллагеновых волокон на 21-е сутки эксперимента:
 × – различие с контрольной группой достоверно ($p < 0,05$),
 ● – различие с группой «пантенол» достоверно ($p < 0,05$),
 * – различие с группой «ланолин» достоверно ($p < 0,05$),
 + – различие с интактной группой достоверно ($p < 0,05$), на доверительных интервалах отложена величина ошибки среднего

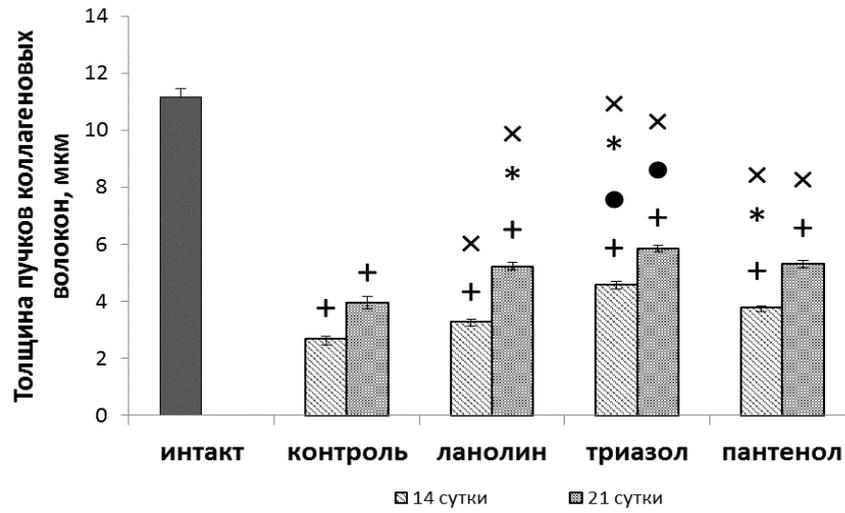


Рис. 9. Толщина пучков коллагеновых волокон на 14-е и 21-е сутки эксперимента:
 × – различие с контрольной группой достоверно ($p < 0,05$),
 • – различие с группой «ланолин» достоверно ($p < 0,05$),
 * – различие с группой «пантенол» достоверно ($p < 0,05$),
 + – различие с интактной группой достоверно ($p < 0,05$), на доверительных интервалах отложена величина ошибки среднего

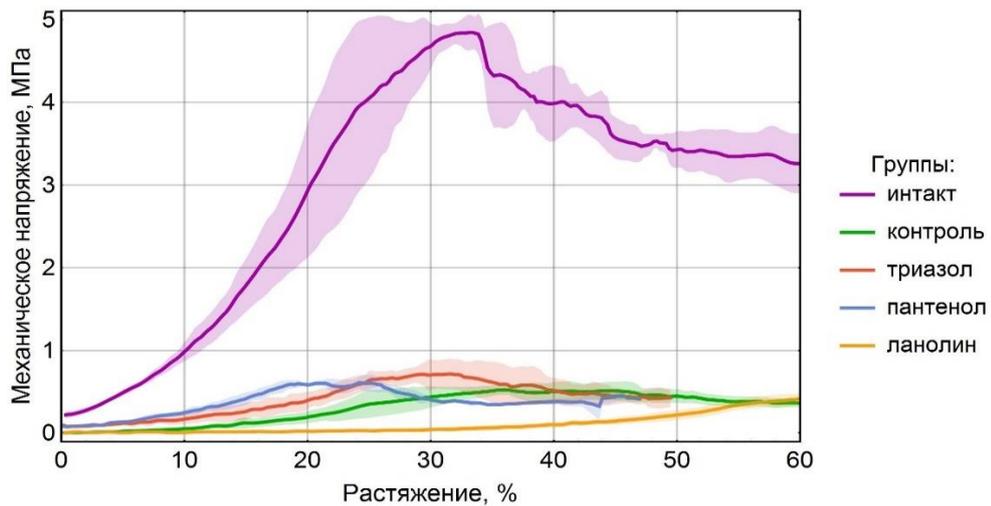


Рис. 10. Механические измерения на 14-е сутки эксперимента: на доверительных интервалах отложена величина ошибки среднего

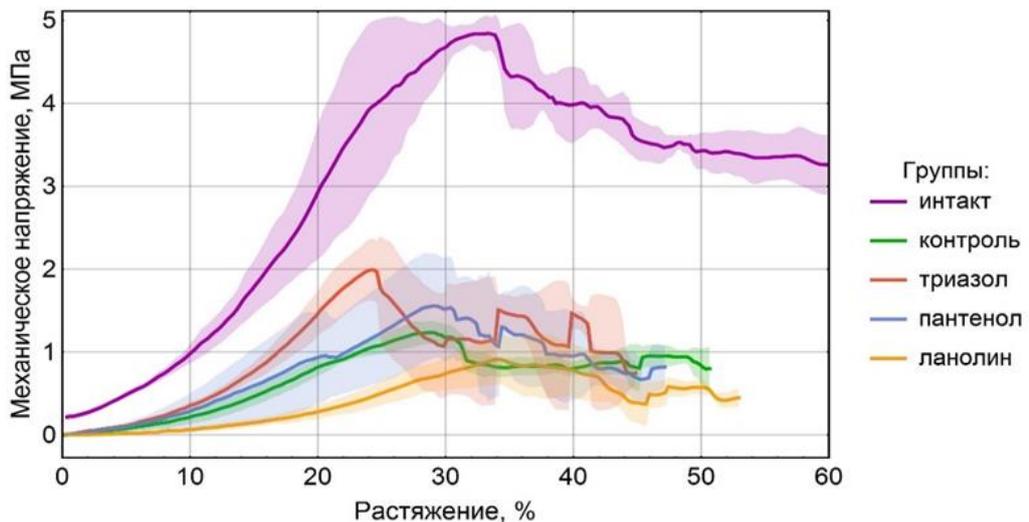


Рис. 11. Механические измерения на 21-е сутки эксперимента: на доверительных интервалах отложена величина ошибки среднего

Из всех опытных групп более высоким прочностным свойствам соответствовали образцы из группы «триазол»: в среднем при максимальной нагрузке в $0,804 \pm 0,129$ МПа образец растягивался на $28,893 \pm 4,548$ %. В группе «контроль» среднее значение максимальной нагрузки, при котором кожа до разрыва растягивалась на $37,751 \pm 8,437$ %, составило $0,582 \pm 0,032$ МПа.

В группе «ланолин» кожа растягивалась на $37,680 \pm 4,131$ % при нагрузке в $0,756 \pm 0,187$ МПа. В группе «пантенол» данные показатели равны $21,875 \pm 3,12$ % и $0,668 \pm 0,024$ МПа, соответственно (рис. 10).

К 21-м суткам эксперимента механические свойства образцов кожи улучшаются, что связано со значительным развитием волокнистого компонента в рубцовой ткани.

Наибольшими прочностными характеристиками обладают образцы из группы «триазол»: при максимальной нагрузке в $2,077 \pm 0,274$ МПа, при которой в коже образовывались разрывы, образец растягивался на $27,264 \pm 6,319$ %. В группах «контроль» и «ланолин» определены худшие механические свойства: разрывы при нагрузке в $1,281 \pm 0,125$ МПа и $0,996 \pm 0,317$ МПа, при этом проценты растяжения равны $29,431 \pm 1,353$ и $39,844 \pm 14,312$, соответственно. В группе «пантенол» образец растягивался на $31,879 \pm 3,289$ %, после чего разрывался при нагрузке в $1,879 \pm 0,411$ МПа (рис. 11).

Обсуждение

Морфологические исследования свидетельствуют об интенсификации коллагеногенеза в случае использования триазолотиадиазина. Толщина пучков коллагеновых волокон, а также площадь, занимаемая ими, достоверно выше в группе «триазол». Вероятно, данный феномен связан с прямым влиянием триазолотиадиазина на пролиферативную активность фибробластов. Чем больше фибробластов оказывается в зоне рубца, тем больше компонентов межклеточного вещества они синтезируют. Однако тот факт, что на более поздних сроках эксперимента (21-е сутки), когда количество фибробластов невелико и их популяция заменяется фиброцитами, увеличение волокнистого компонента продолжается, возможно, свидетельствует о стимуляции триазолом еще и синтетической активности клеток.

Результаты механических испытаний свидетельствуют, что рубцовая ткань имеет слабые механические свойства. Кожа животных всех экспериментальных групп демонстрирует слабые механические характеристики, достоверно отличающиеся от показателей здоровой кожи. Однако, к 21-м суткам эксперимента в группе с тестируемым веществом механические свойства образцов кожи улучшаются, что коррелирует с данными гистологического анализа: коллагеновые волокна обра-

зуют массивные толстые тяжи, представляют большую часть дермы. Вероятно, ввиду стимуляции триазолотиадиазином фибробластов в поврежденной коже в более быстрые сроки формируется зрелый рубец с превалированием волокнистого компонента. Формирующиеся волокна образуют оформленные тяжи, занимают значительную площадь в дермальном слое кожи и обладают высокими механическими характеристиками.

Заключение

Таким образом, при оценке волокнистого компонента и его механических свойств выявлено, что при использовании триазолотиадиазина уже на 14-е сутки эксперимента в рубцовой ткани формируются толстые коллагеновые волокна, сложенные в оформленные тяжи. Морфологическая картина коррелирует с механическими показателями, указывающими на более высокие прочностные свойства у образцов кожи из группы «триазол».

К 21-м суткам во всех опытных группах формируется грануляционная ткань с развитым волокнистым компонентом. Также во всех группах наблюдается тенденция к увеличению площади, занимаемой коллагеновыми волокнами, и утолщение пучков в более поздние сроки. Особенно это характерно для группы «триазол», где коллагеновые волокна обладают значительной зрелостью. Данные морфологического анализа соотносятся с тем, что на 21-е сутки механические свойства образцов кожи улучшаются, что наиболее выражено в группе с тестируемым веществом – производным 1,2,3-триазоло-1,3,4-тиадиазина.

Список литературы

1. Адамов А.А., Федоров А.Е. Моделирование поведения кожи человека при больших деформациях // Российский журнал биомеханики. – 2007. – Т. 11, № 1. – С. 76–84.
2. Афиногенов С.Б., Курек М.Ф., Шилько С.В., Черноус Д.А. Механические и фрикционные свойства биоэластомеров. Ч. 1: Описание релаксационных зависимостей кожи человека при растяжении // Российский журнал биомеханики. – 2008. – Т. 12, № 3. – С. 44–51.
3. Байтингер В. Ф., Пайтян К. Г. Морфофункциональные особенности патологических кожных рубцов: состояние вопроса // Вопросы реконструктивной и пластической хирургии. – 2013. – Т. 1, №. 44. – С. 28–34.
4. Богачев И. В., Недин Р. Д. Идентификация характеристик предварительно напряженного кожного покрова. – 2021. – Т. 25, № 3. – С. 331–342.
5. Высокова О.А., Жданова А.В., Петрова И.М., Медведева С.Ю., Калинина Т.А., Хацко С.Л., Колесникова Т.О., Глухарева Т.В., Моржерин Ю.Ю. Оценка ранозаживляющего действия спироочлененного 1,2,3-триазоло[5,1-b][1,3,4]тиадиазина на модели линейной кожной раны

- // Химико-фармацевтический журнал. – 2019. – Т. 53, № 7. – С. 41–44.
6. Калинина Т.А., Быстрых О.А., Поздина В.А., Улитко М.В., Глухарева Т.В., Моржерин Ю.Ю. Синтез и биологическая активность спиропроизводных 1,2,3-триазоло[5,1-b][1,3,4]тиадиазинов // Химия гетероциклических соединений. – 2015. Т. 51, № 6. – С. 589–592.
 7. Курек М.Ф., Аничкин В.В., Шилько С.В., Дорошенко Р.В. Механические свойства кожи: сократимость и растяжимость, их взаимосвязь, гистологическая основа и возможность прогнозирования // Проблемы здоровья и экологии. – 2009. – Т. 21, № 3. – С. 89–94.
 8. Фёдоров А. Е., Самарцев В. А., Кириллова Т. А. О механических свойствах кожи человека // Российский журнал биомеханики. – 2006. – Т. 10, № 2. – С. 29–42.
 9. Целуйко С.С., Малюк Е.А., Корнеева Л.С., Красавина Н.П. Морфофункциональная характеристика дермы кожи и ее изменения при старении (обзор литературы) // Бюллетень. – 2016. – № 60. – С. 111–116.
 10. Шмакова Т.В., Кананыхина Е.Ю., Большакова Г.Б. Клеточные механизмы безрубцового заживления кожи млекопитающих // Научно-практический рецензируемый журнал Клиническая и экспериментальная морфология. – 2019. – Т. 8, № 2. – С. 5–11.
 11. Ankerson J., Birkbeck A. E., Thomson R. D., Vanezis P. Puncture resistance and tensile strength of skin simulants // Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine. – 1999. – Vol. 213, No. 6. – P. 493–501.
 12. Chao C.Y.L., Ng G.Y.F., Cheung K.-K., Zheng Y.-P., Wang L.-K., Cheing G.L.Y. In vivo and ex vivo approaches to studying the biomechanical properties of healing wounds in rat skin // Journal of biomechanical engineering. – 2013. – Vol. 135, No. 10. – P. 101009-1–101009-8.
 13. Corr D.T., Gallant-Behm C.L., Shrive N.G., Hart D.A. Biomechanical behavior of scar tissue and uninjured skin in a porcine model // Wound Repair and Regeneration. – 2009. – Vol. 17, No. 2. – P. 250–259.
 14. Corr D.T., Hart D.A. Biomechanics of scar tissue and uninjured skin // Advances in wound care. – 2013. – Vol. 2, No. 2. – P. 37–43.
 15. Gallagher A. J., Anniadh A.N., Bruyere K., Ottenio M., Xie H., Gilchrist M.D. Dynamic tensile properties of human skin // International Research Council on the Biomechanics of Injury Conference. – Dublin, Ireland., 2012. – P. 494–502.
 16. Griffin M., Premakumar Y., Seifalian A., Butler P. E., Szarko M. Biomechanical characterization of human soft tissues using indentation and tensile testing // Journal of visualized experiments. – 2016. – No. 118. – P. e54872.
 17. Haydont V., Bernard B.A., Fortunel N.O. Age-related evolutions of the dermis: Clinical signs, fibroblast and extracellular matrix dynamics // Mechanisms of ageing and development. – 2019. – No. 177. – P. 150–156.
 18. Hollander D. A., Erli H.J., Falk S., Kreck Th., Müller S. Standardized qualitative evaluation of scar tissue properties in an animal wound healing model // Wound repair and regeneration. – 2003. – Vol. 11, No. 2. – P. 150–157.
 19. Karimi A., Rahmati S. M., Navidbakhsh M. Mechanical characterization of the rat and mice skin tissues using histostructural and uniaxial data // Bioengineered. – 2015. – Vol. 6, No. 3. – P. 153–160.
 20. Obydenov K.L., Kalinina T.A., Vysokova O.A., Slepukhin P.A., Pozdina V.A., Ulitko M.V., Glukhareva, T.V. The different modes of chiral [1,2,3]triazolo[5,1-b][1,3,4]thia-diazines: crystal packing, conformation investigation and cellular activity // Acta Crystallographica Section C: Structural Chemistry. – 2020. – Vol. 76, No. 15. – P. 795–809.
 21. Sandulache V. C., Zhou Z., Sherman A., Dohar J.E., Hebda P.A. Impact of transplanted fibroblasts on rabbit skin wounds // Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery. – 2003. – Vol. 129, No. 3. – P. 345–350.
 22. Stunova A., Vistejnova L. Dermal fibroblasts–A heterogeneous population with regulatory function in wound healing // Cytokine & growth factor reviews. – 2018. – No. 39 – P. 137–150.
 23. Wilhelmi B. J., Blackwell S.J., Mancoll J.S., Phillips L.G. Creep vs. stretch: a review of the viscoelastic properties of skin // Annals of plastic surgery. – 1998. – Vol. 41, No. 2. – P. 215–219.
 24. Yang W., Sherman V.R., Gludovatz B., Schaible E., Stewart P., Ritchie R.O., Meyers M.A. On the tear resistance of skin // Nature communications. – 2015. – Vol. 6, No. 1. – P. 1–10.

Благодарности. Работа выполнена при поддержке ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина».

Синтез 1,2,3-триазоло-1,3,4-тиадиазина был осуществлен на кафедре технологии органического синтеза ХТИ УрФУ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

THE ASSESSMENT OF 1,2,3-TRIAZOLO-[5,1-b]-1,3,4-THIADIAZINE DERIVATIVE INFLUENCE ON RESTORATION OF THE FIBROUS SKIN COMPONENT DURING REGENERATION CAUSED BY BURN INJURY

I.M. Petrova¹, D.V. Zaitsev¹⁻³, A.V. Zhdanova⁴, S.L. Khatsko¹, O.A. Vysokova¹,
T.A. Kalinina¹, T.V. Glukhareva^{1,5}

¹ Ural Federal University, Ekaterinburg, Russia

² Ural State Mining University, Ekaterinburg, Russia

³ Institute of High-Temperature Electrochemistry, Ekaterinburg, Russia

⁴ City Clinical Hospital No. 40, Ekaterinburg, Russia

⁵ Institute of Organic Synthesis, Ural Branch of Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia

ARTICLE INFO

Received: 11 August 2021
Approved: 29 June 2022
Accepted for publication: 01 July 2022

Key words:

skin biomechanics; tensile tests;
1,2,3-triazoles; collagen fibers; skin
regeneration.

ABSTRACT

In this study, the stimulating effect of the 1,2,3-triazolo-1,3,4-thiadiazine derivative on the restoration of the fibrous skin component was evaluated on the burn cutaneous wound model of white male rats. The experiment included morphological and mechanical investigations. The animals of the experienced groups were taken out of the experiment on the 14th and 21st days to assess the regenerative process. Experimental animals received a third A grade burn injury. Treatment was carried out by applying an ointment containing the test substance to the affected area. Morphological analysis data indicate the stimulating effect of 1,2,3-triazolo-1,3,4-thiadiazine on the skin regeneration, particularly, the fibrous component restoration. By the 14th day of the experiment, all samples have weak mechanical characteristics. However, on the 21st day, samples from the "triazole" group demonstrate higher strength properties, stretching by $28,893 \pm 4,548$ % at a maximum load of $0,804 \pm 0,129$ MPa. Significant difference from the intact value ($31,434 \pm 4,921$ % extension at a load of $5,082 \pm 0,060$ MPa) is probably associated with the contribution to the mechanical properties not only of the fibers thickness, but also the ways of fibers stacking in bundles, arrangement and interaction with other structural components of the tissue.