

УДК 61.615.46

Изучение влияния соединений церия на послеожоговый рубец в эксперименте *in vivo* методом трансмиссионной электронной микроскопии

© 2020 И.А. ЧЕКМАРЕВА¹, О.А. ЛЕГОНЬКОВА^{1*}, А.И. КОРОТАЕВА¹, О.В. ПАКЛИНА¹, С.А. УХИН¹, П.В. САРЫГИН¹, И.О. ТИНЬКОВА¹

¹ ФГБУ «НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России 117997, г. Москва,

*e-mail: Legonkova@ixv.ru

Поступила в редакцию 04.03.2020 г.

После доработки 24.03.2020 г.

Принята к публикации 24.07.2020 г.

Изучено влияние нанодисперсного диоксида церия и раствора хлорида церия (III) на состояние послеожогового рубца в эксперименте *in vivo* методом трансмиссионной электронной микроскопии. Показано, что после 4-х кратного инъекционного введения нанодисперсного диоксида церия или раствора хлорида церия (III) в концентрациях 0,5 и 0,05% в область сформировавшегося рубца происходит внутриклеточное накопление соединений церия с образованием агрегатов с цитоплазматической и/или лизосомальной локализацией. Применение препаратов церия как в нанодисперсной форме (золя), так и в виде раствора хлорида церия (III) не вызывало воспалительной реакции, деструкции клеток и положительно влияло на регенераторный процесс, т. к. способствовало формированию полноценного регенерата в более ранние сроки и меняло характеристики рубца в лучшую сторону.

Ключевые слова: золь, нанодисперсный диоксид церия (НДЦ), раствор хлорида церия (III), электронная микроскопия, послеожоговый рубец, функциональная активность клеток

doi: 10.21519/0234-2758-2020-36-4-99-105

Рубцовая патология — одна из самых распространенных в мире. Согласно статистике аналитического отдела ВОЗ, более 100 млн человек ежегодно подвергаются хирургическим вмешательствам, среди которых от 4 до 10% склонны к образованию келоидных и гипертрофических рубцов. Рубцы кожи развиваются также после различных травмирующих факторов (механические, химические, температурные, ионизирующее излучение, глубокое деструктивное воспаление и т. д.), при некоторых хронических заболеваниях кожи и подкожной жировой клетчатки [1,2,3]. Неосложненная эпителизация ран является обязательным фактором для предотвращения образования рубцов, а замедленная (свыше 10–14 дней) значительно увеличивает частоту гипертрофического рубцевания. Предпосылки для формирования рубца возникают на стадиях грануляции и ремоделирования (2 и 3 фазы раневого процесса) [4,5]. На стадии ремоделирования рекомендованы к применению антиоксиданты, в качестве наружных лекарственных средств для улучшения

обменных процессов и регенерации тканей [6,7]. К ним относятся витамины, нестероидные анаболические средства, иммуномодуляторы, биогенные стимуляторы, неспецифические стимуляторы регенерации (масло облепихи, масло шиповника, апилак, актовегин, солкосерил и др.). Очевидно, что профилактике образования патологического рубца будут способствовать препараты, обладающие противовоспалительным, антиоксидантным, иммуностимулирующим, ранозаживляющим действием, позволяющие оказывать сочетанное действие на все звенья процесса заживления раны.

На протяжении нескольких десятилетий внимание ученых направлено на изучение медико-биологических свойств различных соединений церия. Достижения в области нанотехнологии привели к получению нанодисперсного диоксида церия, обладающего уникальной окислительно-восстановительной активностью и антиоксидантными свойствами, которые обуславливают существенное преимущество перед традиционными антиоксидантами (аскорбиновая кислота,

токоферол, β-каротин, ликопин, метионин, флавины и флавоноиды, танины, антоцианы и др.). Наночастицы диоксида церия способны восстанавливать свою антиоксидантную активность, что позволяет им многократно участвовать во внутриклеточных редокс-реакциях, инактивируя широкий спектр свободных радикалов и активных форм кислорода [8,9,10]. Биологическое значение нанодисперсного диоксида церия проявляется также в способности ускорять пролиферацию фибробластов человека и снижать системную иммуносупрессию [11,12]. Низкая токсичность нанодисперсного диоксида церия обеспечивает сравнительную безопасность его применения *in vivo*, что позволяет рассматривать данный материал как потенциальный лекарственный препарат для терапии ожоговых ран.

Цель работы заключалась в изучении ультраструктурных изменений в клетках послеожоговой рубцовой ткани после инъекционного введения в область рубца нанодисперсного диоксида церия или водного раствора хлорида церия (III).

УСЛОВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

Объекты исследования

В работе использовали: 1. Золи нанодисперсного диоксида церия (НДЦ) с концентрацией НДЦ 0,5 и 0,05% масс, стабилизированные цитратом аммония и приготовленные путем смешения водной суспензии цитрата церия (III) с водным раствором аммиака [7]. Цитрат церия предварительно синтезировали взаимодействием лимонной кислоты и хлорида церия (III) в водно-спиртовом растворе.

2. Водные растворы хлорида церия (III) в концентрациях 0,5 и 0,05% масс.

Все использованные в работе объекты исследования были изготовлены и любезно предоставлены Институтом общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова

Группы животных

В зависимости от вводимого в область рубца препарата экспериментальные животные разделены на следующие группы:

I — золь НДЦ с концентрацией 0,05% масс.

II — золь НДЦ с концентрацией 0,5% масс.

III — раствор хлорида церия (III) с концентрацией 0,05% масс.

IV — раствор хлорида церия (III) с концентрацией 0,5% масс.

V — контрольная группа животных — ожоговые раны заживали без применения антисептических, регенеративных и исследуемых материалов.

Модель термического ожога

В экспериментальном исследовании по моделированию термического ожога, соответствующего II степени глубины ожогового поражения кожи по МКБ-10, в условиях *in vivo* было задействовано 50 лабораторных животных — однопометных крыс породы Wistar массой 450–500 г и возрастом 6 месяцев (по 10 животных в каждой группе). Ожоговую травму наносили на ранее депилированную область бедра без повреждения эпидермиса. Площадь ожога составляла 5–6% от всей поверхности тела животного. Степень глубины ожога подтверждена гистологически. Общее обезболивание проводили под ингаляционной анестезией севораном. Все манипуляции проводили в соответствии с правилами гуманного обращения с лабораторными животными: Приказ № 724 от 1984 г. Министерства высшего образования СССР «Правила проведения работ с экспериментальными животными»; Хельсинкская декларация Всемирной медицинской ассоциации о гуманном отношении к лабораторным животным (2000 г.), директива Европейского сообщества (86/609 ЕС) и Правила лабораторной практики в Российской Федерации (Приказ Минздрава России № 267 от 19.06.2003 г.).

Сроки введения препаратов церия в область рубца и забора материала

Введение исследуемых образцов в область сформировавшегося рубца осуществляли на 26 сутки после нанесения термической травмы. Всего было выполнено 4 инъекции по 0,5 мл с интервалом 3–5 сут. Забор материала для морфологического исследования (светооптического и электронно-микроскопического) проводили через 3 сут после первой инъекции, что соответствовало 29 суткам процесса заживления, и через 4 сут после 4-ой инъекции — на 42 сутки процесса заживления.

Световая и электронная микроскопия

Для проведения электронно-микроскопического исследования вырезали кусочки рубца размером около 1 мм³, фиксировали в 2,5% растворе глутарового альдегида и 1% растворе оксида осмия (VIII). Затем материал обезжизивали в спиртах при возрастающем градиенте концентраций (50, 70, 96 и 100%), после чего пропитывали смесью окиси пропилена и аралдитовой смолы. После пропитки материал помещали в капсулы и заливали аралдитовой смолой, затем помещали в термостат при температуре 60 °С на двое сут. Проводили анализ и регистрацию изображения светооптических препаратов (толщина среза 1,0–1,5 мкм,

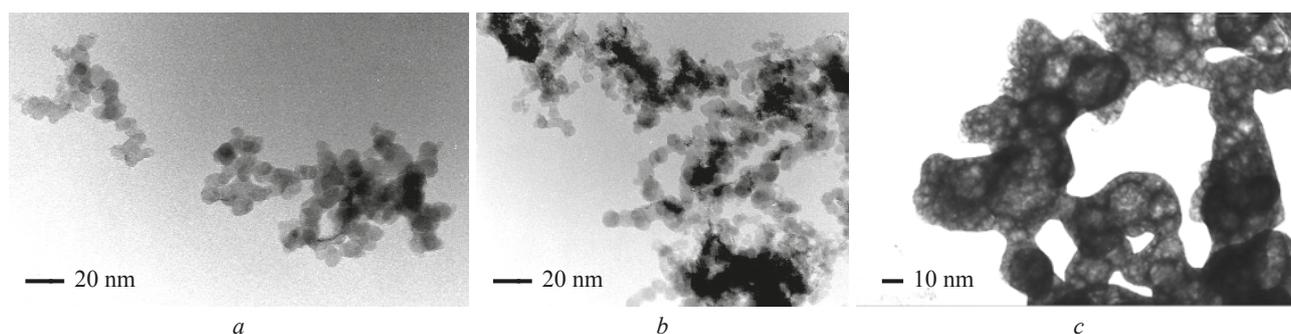


Рис. 1. Микрофотографии агрегатов церия: *a* — в водном растворе хлорида церия (III); *b* — в золе НДЦ; *c* — в водном растворе хлорида церия (III) с кристаллитами (округлые образования на поверхности). Трансмиссионная электронная микроскопия.

Fig. 1. Photomicrographs of cerium aggregates: *a* — in an aqueous cerium chloride (III) solution; *b* — in a NCD Sol; *c* — in an aqueous cerium (III) chloride solution with crystallites (rounded formations on the surface). Transmission electron microscopy.

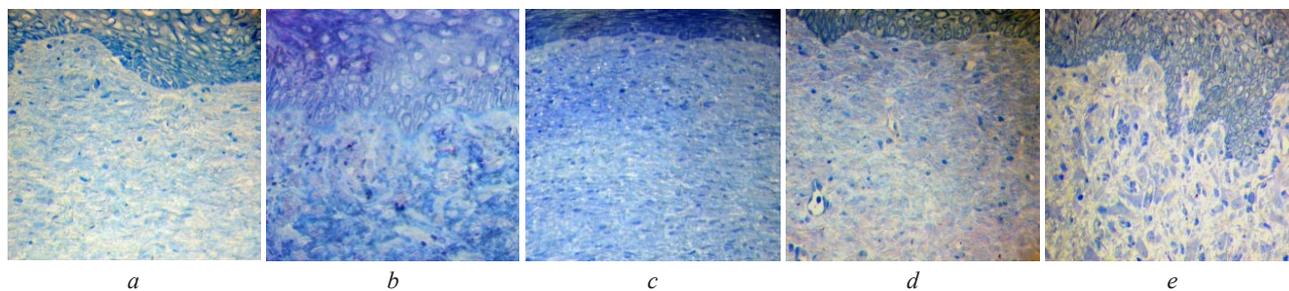


Рис. 2. Рубцовая ткань в контрольной и опытных группах животных на 29 сутки заживления после однократного введения исследуемых препаратов: *a* — 0,05% золя НДЦ; *b* — 0,5% золя НДЦ; *c* — 0,05% водный раствор хлорида церия (III); *d* — 0,5% водный раствор хлорида церия (III); *e* — контроль. Окраска толуидиновым синим. Увеличение 200

Fig. 2. Scar tissue of control and experimental animal groups on the 29th day of healing after studied drugs single injection: *a* — 0,05% NCD Sol; *b* — 0,5% NCD Sol; *c* — 0,05% aqueous cerium (III) chloride solution; *d* — 0,5% aqueous cerium (III) chloride solution; *e* — control group. The coloring is done by toluidine blue. Magnification: 200 \times .

окраска толуидиновым синим) и прицельно выбирали участки для ультратомии. Ультратонкие срезы толщиной 100–120 нм готовили на ультратоме фирмы LKB (Швеция). Срезы окрашивали ацетатом уранила и цитратом свинца и просматривали в электронном микроскопе JEM 100-CX (JEOL, Япония) в трансмиссионном режиме при ускоряющем напряжении 80 кВ.

Методы статистического анализа

Проведена ультраструктурная морфометрия агрегатов соединений церия. Результаты представлены в виде среднего количества гранул или агрегатов в μm^2 цитоплазмы соответствующей клетки ($M \pm m$). Обработка результатов осуществлена с помощью пакета программ Statistica 10. Поскольку распределение соответствовало нормальному (критерий Шапиро-Уилка), то для выяснения достоверности различий средних значений морфометрических показателей использовали *t* тест для зависимых выборок. Различия считались достоверными при значении $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании *in vitro* соединения церия в золе НДЦ и в водном растворе хлорида церия (III) представляли собой ассоциаты с размерами от 3 до 10 нм преимущественно сферической формы (рис. 1*a,b*), были склонны к агрегации, взаимно ориентируясь друг относительно друга, образуя цепочечные агрегаты, размер которых достигал 80 нм. При изучении морфологии агрегатов церия, на их поверхности были отмечены округлые образования — кристаллиты (рис. 1*c*).

Светооптическое исследование

На 29 сутки после нанесения ожоговой травмы (3 сут после введения препаратов церия) во всех группах животных образовался мягкий белый рубец с четкими границами. Эпидермис был представлен многослойным эпителием, который плотно прилегал к поверхности рубца. Эти признаки указывали на завершённый процесс эпителизации рубца во всех группах животных. В опытных

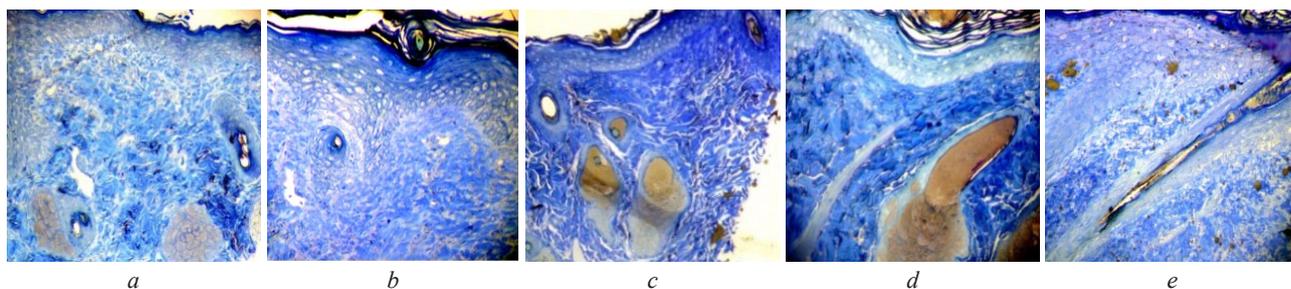


Рис. 3. Рубцовая ткань в контрольной и опытных группах животных на 42 сутки заживления после 4-х кратного введения исследуемых препаратов: *a* — 0,05% золь НДЦ; *b* — 0,5% золь НДЦ; *c* — 0,05% раствор хлорида церия (III); *d* — 0,5% раствор хлорида церия (III); *e* — контроль. Окраска толуидиновым синим. Увеличение 200

Fig. 3. Scar tissue of control and experimental animal groups on the 42nd day of healing after studied drugs fourfold injection: *a* — 0,05% NCD Sol; *b* — 0,5% NCD Sol; *c* — 0,05% aqueous cerium (III) chloride solution; *d* — 0,5% aqueous cerium (III) chloride solution; *e* — control group. The coloring is done by toluidine blue. Magnification: 200 \times .

группах животных непосредственно под базальной мембраной эпидермиса отмечали фиброзирующую соединительную ткань, где коллагеновые волокна образовывали сеть. Более глубокий слой состоял из толстых коллагеновых волокон с небольшим количеством фибробластов и сосудов (рис. 2*a,b,c,d*). Степень зрелости рубцовой ткани в опытных группах животных была одинаковой. Признаков воспаления не обнаружено.

В контрольной группе животных степень зрелости рубцовой ткани была ниже, чем в опытных группах, на что указывает преобладание клеточных элементов над волокнистыми (рис. 2*e*). Так, количество фибробластов в поле зрения в контрольной группе по сравнению с опытными было больше: в 2 раза — после введения золя НДЦ ($23,2 \pm 1,4$ и $11,2 \pm 0,9$, соответственно; $p < 0,05$) и в 1,5 раза — после введения раствора хлорида церия (III) ($23,2 \pm 1,4$ и $15,3 \pm 0,4$, соответственно; $p < 0,05$).

На 42 сутки раневого процесса (4 сут после 4-ой инъекции препарата церия) в опытных группах животных степень зрелости рубцовой ткани была одинаковой. Слои эпидермиса во всех группах животных были ярко выражены, в большей части клеточный состав эпидермиса имел обычную форму и размеры. Наблюдалась активная кератинизация и десквамация рогового слоя эпидермиса. Процесс регенерации кожи носил полноценный органотипический характер, о чем свидетельствовало появление волосяных сумок с волосяным стержнем и сальных желез с ростковым слоем и сальными клетками (себоцитами) небольших размеров. Волосяные фолликулы, расположенные в непосредственной близости к базальной мембране, являются одним из источников репаративной регенерации эпидермального пласта. В глубоких слоях рубца в опытных группах животных коллагеновые волокна были упорядоченно ориентированы, плотно упакованы,

относительно равномерно окрашены, что свидетельствовало о снижении процессов образования нового коллагена. Процесс инволюции сосудов был практически завершен (рис. 3*a,b,c,d*).

В контрольной группе животных степень зрелости рубцовой ткани была ниже, чем в опытных группах животных, на что указывало рыхлое расположение коллагеновых волокон без выраженной ориентации в верхних отделах рубца. В глубоких отделах отмечали грубые коллагеновые волокна соединительной ткани, идущие в различных направлениях, иногда образующие причудливый рисунок, между ними были расположены фибробласты и единичные капилляры. Подобное строение рубцовой ткани может указывать на преобладание гиперпластических процессов над инволютивными, что может привести к формированию гипертрофической рубцовой ткани (рис. 3*e*).

Дальнейшее исследование было направлено на электронно-микроскопическое изучение механизмов поглощения агрегатов церия клетками рубцовой ткани и их влияния на активность клеток *in vivo*.

При светооптическом и электронно-микроскопическом исследовании биоптатов рубцовой ткани не было различий между препаратами золя с разными концентрациями (группы I и II) и между растворами с разными концентрациями (группы III и IV). Поэтому при описании клеточных и внутриклеточных изменений группы животных, которым вводили 0,5 или 0,05% золь НДЦ были объединены так же, как и группы животных, которым вводили раствор хлорида церия (III) в концентрациях 0,5 или 0,05%.

Электронно-микроскопическое исследование

На 29 сутки раневого процесса (3 сут после первой инъекции) отмечено накопление агрегатов церия в клетках рубцовой ткани после

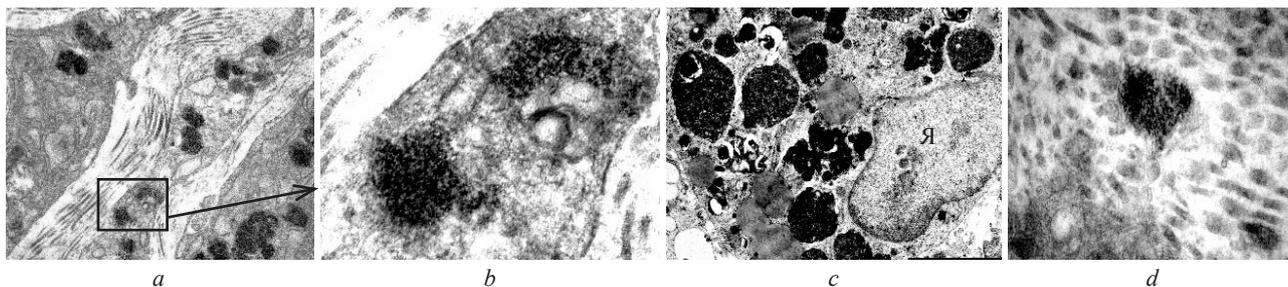


Рис. 4. Ультраструктурная организация соединительнотканного регенерата на 29 сутки после нанесения ожога и однократного введения исследуемых препаратов: *a* — 0,5% золь НДЦ; скопления церия в фибробластах; *b* — фрагмент рис.4*a*; *c* — 0,5% раствор хлорида церия (III); скопления церия в макрофаге; *d* — внеклеточно расположенные агрегаты церия после однократного введения 0,5% золя НДЦ. Трансмиссионная электронная микроскопия: $\times 12000$ (*a*); $\times 60000$ (*b*); $\times 17000$ (*c*); $\times 56000$ (*d*).

Fig. 4. Ultrastructural organization of connective tissue regenerate on the 29th day of healing after studied drugs single injection: *a* — 0,5% NCD Sol; cerium accumulations in fibroblasts; *b* — Fig. 4*a* fragment; *c* — 0,5% aqueous cerium (III) chloride solution; cerium accumulations in macrophage; *d* — extracellularly located cerium aggregates after 0,5% NCD Sol single injection. Transmission electron microscopy: $12000\times$ (*a*); $60000\times$ (*b*); $17000\times$ (*c*); $56000\times$ (*d*).

введения золя НДЦ и раствора хлорида церия (III) в различных концентрациях. При введении в область рубца золь НДЦ скопления церия обнаружены как внутри фибробластов, макрофагов (рис. 4*a,b*), так и внеклеточно (рис. 4*c*). После введения раствора хлорида церия (III) в область рубца макрофаги также содержали агрегаты церия (рис. 4*c*). После однократного введения золя НДЦ и раствора хлорида церия (III) в область сформировавшегося рубца значимых различий в размерах агрегатов церия и их удельного количества в клетках не было ($p > 0,5$). Размеры агрегатов составляли 60–90 нм, их удельное количество в клетках 6–8 шт/мкм². Внутриклеточное содержание агрегатов церия не привело к деструктивным изменениям клеточных органелл. Клетки сохраняли жизнеспособность и функциональную активность. Ультраструктурная организация фибробластов, содержащих церий, указывала на их функциональную активность, на что указывала хорошо выраженная гранулярная цитоплазматическая сеть с расширенными канальцами и большим количеством рибосом на них, крупные митохондрии с просветленным матриксом и сохранными кристами. Клетки, не включающие соединения церия, также были функционально активны, имели выраженную горизонтальную ориентацию среди коллагеновых волокон.

При электронно-микроскопическом исследовании на 42 сутки раневого процесса (4 сут после 4-ой инъекции) в рубцовой ткани животных опытных групп обнаружены агрегаты церия высокой электронной плотности неправильной формы. Удельное количество агрегатов после введения золя НДЦ или раствора хлорида церия (III) составило 9–11 шт/мкм², размер агрегатов не превышал 100 нм. Значимых отличий в количестве

и размерах агрегатов церия в клетках рубцовой ткани после 1-й и 4-ой инъекций золя НДЦ или раствора хлорида церия (III) не было выявлено ($p > 0,5$). Накопление церия во всех опытных группах происходило в фибробластах, макрофагах и эндотелиоцитах, причем клетки сохраняли жизнеспособность. Проникновение соединений церия в клетку происходило с формированием, в большинстве случаев, фаголизосом, количество которых в клетке составляло от 2 до 10 штук. Нередко отмечали слияние нескольких фаголизосом с образованием более крупных, занимающих значительную часть цитоплазмы. Наличие внутриклеточных агрегатов церия, без образования биологических мембран вокруг них, указывает на их возможное проникновение в клетку через поры, каналы, с помощью других механизмов трансмембранного транспорта. Физико-химические свойства агрегатов церия обуславливают различные механизмы их поглощения клетками. Макрофаги, моноциты, нейтрофилы способны поглощать относительно крупные частицы посредством фагоцитоза, более мелкие частицы размером до 5 мкм поглощаются клетками путем пиноцитоза, до 120 нм — микропиноцитоза [13].

При исследовании влияния золя НДЦ на живой организм, одни авторы утверждают, что с уменьшением размера частиц золя диоксида церия токсичность увеличивается [14,15], другие — снижается [16], третьи считают, что токсичность не зависит от размера наночастиц [17,18]. А.Б. Щербаков и соавт. [19] сообщают, что размерные диапазоны частиц диоксида церия, связанные с токсичностью, весьма условны. В ряде случаев частицы размером 15 нм оказывались менее токсичными по сравнению с частицами размером 5–6 нм.

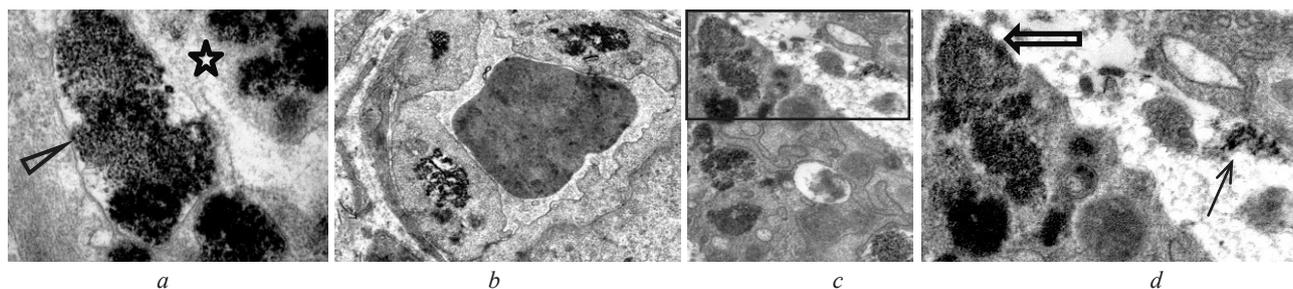


Рис. 5. Ультраструктурная организация соединительнотканного регенерата на 42 сутки после нанесения ожога и 4-х кратного инъекционного введения исследуемых препаратов: *a* — 0,05% золь НДЦ; скопления агрегатов церия в цитоплазме фибробласта; *b* — 0,05% раствор хлорида церия (III); скопления агрегатов церия в эндотелиоцитах; *c* — 0,5% раствор хлорида церия (III); скопления агрегатов церия в цитоплазме фибробласта; *d* — фрагмент рис. 5с. Белая стрелка — отсутствие плазмолеммы в месте проникновения агрегатов церия в цитоплазму; стрелка — внеклеточное скопление агрегатов церия; треугольник — скопления агрегатов церия в вакуоли; звезда — скопления агрегатов церия в цитоплазме без образования вакуоли. Трансмиссионная электронная микроскопия: $\times 56000$ (*a*); $\times 12000$ (*b*); $\times 23000$ (*c*); $\times 17000$ (*d*).

Fig. 5. Ultrastructural organization of connective tissue regenerate on the 42nd day of healing after studied drugs fourfold injection: *a* — 0,05% NCD Sol; cerium aggregates clusters in fibroblast cytoplasm; *b* — 0,05% aqueous cerium (III) chloride solution; cerium aggregates clusters in endothelial cells; *c* — 0,5% aqueous cerium (III) chloride solution; cerium aggregates clusters in fibroblast cytoplasm; *d* — Fig. 5c fragment. White arrow — plasmolemma absence at the site of cerium aggregates penetration into cytoplasm; arrow — extracellular cerium aggregates accumulation; triangle — cerium aggregates clusters in a vacuole; star — cerium aggregates clusters in cytoplasm without vacuole formation. Transmission electron microscopy: $56000\times$ (*a*); $12000\times$ (*b*); $17000\times$ (*c*), $23000\times$ (*d*).

На рис. 5с,д представлен момент фагоцитоза агрегата церия из раствора хлорида церия (III). Ни в одном случае агрегаты церия не проникали в ядро, что подтверждает отсутствие генотоксического эффекта и способности вызывать повреждение ДНК. Агрегаты церия из золя НДЦ и из раствора хлорида церия (III) проникали в клетки рубцовой ткани, при этом подтверждена их цитоплазматическая и лизосомальная локализация (рис. 5а,б,с,д).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам 4-х кратного инъекционного введения золя НДЦ или раствора хлорида церия (III) в концентрациях 0,5 и 0,05% в область сформировавшегося рубца отмечено проникновение агрегатов церия в клетки и их внутриклеточное накопление с цитоплазматической и лизосомальной локализацией. Применение препаратов церия как в виде золя НДЦ, так и в виде раствора хлорида церия (III) не вызывало воспалительной реакции, деструкции клеток. Агрегаты церия не проникали в ядро, что подтверждает отсутствие генотоксического эффекта, и положительно влияли на регенераторный процесс — способствовали формированию полноценного регенерата в более ранние сроки и меняли характеристики рубца в лучшую сторону. Таким образом, золь НДЦ и раствор хлорида церия (III) в концентрациях 0,5 и 0,05% можно рассматривать как перспективный антиоксидант для создания препаратов с целью профилактики и лечения рубцов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белоусов А.Е. Рубцы и их коррекция. СПб, Россия: Командор-SPB, 2005, 128 с.
2. Владимирова О.В. Комплексный подход к первичной и вторичной профилактике посттравматических рубцов: автореф. дис. канд. мед. наук. Ставропольская гос. мед. академия", Ставрополь, 2011.
3. Gold M. H., McGuire M., Mustoe T. A., et al. International Advisory Panel on Scar Managements. Updated international clinical recommendations on scar management: part 2-algorithms for scar prevention and treatment. *Dermatol. Surg.*, 2014, 40 (8), 825–831. doi: 10.1111/dsu.0000000000000050.
4. Marjan Nassiri Asl, Hossein Hosseinzadeh. Review of Pharmacological Effects of Glycyrrhiza sp. and its Bioactive Compounds. *Phytother. Res.*, 2008, 22, 709–724. doi: 10.1002/ptr.2362.
5. Lorenz Mario, Wessler Silja, Follmann Elena, et al. A Constituent of Green Tea, Epigallocatechin-3-gallate, Activates Endothelial Nitric Oxide Synthase by a Phosphatidylinositol-3-OH-kinase-, cAMP-dependent Protein Kinase-, and Akt-dependent Pathway and Leads to Endothelial-dependent Vasorelaxation. *J. Biol. Chem.*, 2004, 279 (7), 6190–6195. doi: 10.1074/jbc.m309114200.
6. Абаев Ю.К. Справочник хирурга. Раны и раневая инфекция. Ростов-на-Дону, Россия: Феникс, 2006, 427 с.
7. Алексеева И.В., Олешко Л.Н., Малкова Т.Л., Панцуркин В.И. Разработка состава и технологии мази для лечения II фазы раневого процесса. *Фармация*, 2004, (1), 34–37.

8. Иванов В.К., Щербakov А.Б., Баранчиков А.Е., Козик В.В. Нанокристаллический диоксид: свойства, получение, применение [Под редакцией член-корр. НАНУ Спивака Н.Я. и акад. РАН Третьякова Ю.Д.]. Томск, Россия: Изд-во Томского университета, 2013. 283 с.
9. Щербakov А.Б., Жолобак Н.М., Иванов В.К., и др. Наноматериалы на основе диоксида церия: свойства и перспективы использования в биологии и медицине. *Biotechnologia Acta*, 2011, 4 (1), 9–28.
10. Hirst S.M., Karakoti A., Singh S., et al. Bio-distribution and In Vivo Antioxidant Effects of Cerium Oxide Nanoparticles in Mice. *Environmental Toxicology*, 2011, 26, 107–118. doi: 10.1002/tox.20704.
11. Lansdown A.B.G., Myers S.R., Clarke J.A., O’Sullivan P. A reappraisal of the role of cerium in burn wound management. *Journal of wound care*, 2003, 12 (3), 113–118. doi: 10.12968/jowc.2003.12.3.26480.
12. Ramenzoni L. L., Weber F. E., Attin Th., Schmidlin P.R. Cerium Chloride Application Promotes Wound Healing and Cell Proliferation in Human Foreskin Fibroblasts. *Materials*, 2017, 10 (6), 573. doi: 10.3390/ma10060573.
13. Verma A., Stellacci F. Effect of surface properties on nanoparticle-cell interactions. *Small*, 2010, 6 (1), 12–21. doi: 10.1002/sml.200901158.
14. Limbach L.K., Li Y., Grass R.N., et al. Oxide nanoparticle uptake in human lung fibroblasts: Effects of particle size, agglomeration, and diffusion at low concentrations. *Environ. Sci. Technol.*, 2005, 39 (23), 9370–9376. doi: 10.1021/es051043o.
15. Ma J.Y., Zhao H., Mercer R.R., et al., Cerium oxide nanoparticle-induced pulmonary inflammation and alveolar macrophage functional change in rats. *Nanotoxicology*, 2011, 5 (3), 312–325. doi: 10.3109/17435390.2010.519835.
16. Shcherbakov A.B., Zholobak N.M., Ivanov V.K., et al. Synthesis and antioxidant activity of biocompatible maltodextrin-stabilized aqueous sols of nanocrystalline ceria. *Russ. J. Inorg. Chem.* 2012, 57 (11), 1411–1418. doi: 10.1134/s0036023612110137.
17. Park B., Martin P., Harris C., et al. Initial in vitro screening approach to investigate the potential health and environmental hazards of envirox trade mark — A nanoparticulate cerium oxide diesel fuel additive. *Part. Fibre Toxicol.*, 2007, 4 (1), 12. doi: 10.1186/1743-8977-4-12.
18. Park B., Donaldson K., Duffin R., et al., Hazard and risk assessment of a nanoparticulate cerium oxide-based diesel fuel additive — A case study. *Inhal. Toxicol.*, 2008, 20 (6), 547–566. doi: 10.1080/08958370801915309.
19. Щербakov А.Б., Иванова О.С., Спивак Н.Я., Козик В.В., Иванов В.К. Синтез и биомедицинские применения нанодисперсного диоксида церия. Томск, Россия: Издательский Дом Томского государственного университета, 2016, 476.

Effect of Cerium Compounds on Post-Burn Scar Studied *in vivo* by Transmission Electron Microscopy

I.A. CHEKMAREVA¹, O.A. LEGONKOVA^{1*}, A.I. KOROTAEVA¹, O.V. PAKLINA¹, S.A. UKHIN¹, P.V. SARYGIN¹, and I.O. TINKOVA¹

¹ National Medical Research Center of Surgery named after A.V. Vishnevsky, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, 117997, Russia

e-mail: Legonkova@ixv.ru

Received March 4, 2020

Revised March 24, 2020

Accepted July 24, 2020

Abstract—The effect of nanosized cerium dioxide and a solution of cerium (III) chloride on the state of a post-burn scar was studied in an *in vivo* experiment via transmission electron microscopy. The intracellular accumulation of cerium compounds with their agglomeration with cytoplasmic and/or lysosomal localization was observed after 4 injections of nanodispersed cerium dioxide or cerium (III) chloride solution at concentrations of 0.5% and 0.05% in the formed scar area. The application of the cerium preparations both in nanodisperse form (sol) and in solution did not cause inflammatory reactions or cell destruction and had a positive effect on a regenerative process; it contributed to the full-fledged tissue regeneration in a shorter time and changed the scar characteristics for the better.

Key words: sol, nanodispersed cerium dioxide, cerium (III) chloride solution, electron microscopy, post-burn scar, functional activity of cells

doi: 10.21519/0234-2758-2020-36-4-99-105