

**УДК 616-001.17 - 577.152.34**

**ДИНАМИКА БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ТКАНЯХ ПРИ РЕГЕНЕРАЦИИ  
ТЕРМИЧЕСКИХ ОЖОГОВ КОЖИ КРЫС**

Е.Н. Егорова, М.Б. Петрова, Е.В. Андрианова

*ФГБОУ ВО Тверской государственный медицинский университет Министерства здравоохранения  
России*

**Резюме.** В статье приведены результаты определения уровней биохимических показателей в гомогенатах тканей в динамике регенерации термических ожогов кожи у 60 крыс. Изучена динамика площадей ран, индекса окислительного стресса и соотношения металлопротеиназы 9 типа и тканевого ингибитора металлопротеиназ 1 типа у животных, получавших курс аппликаций ран мазью с 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиния N-ацетил-6-аминогексаноатом и в контрольных группах. Определены значения изученных биохимических показателей в гомогенатах тканей для оценки и прогнозирования эффективности репарации ожоговых ран кожи крыс. Рассчитаны индексы корреляции между размером площади рубца и биохимическими показателями в гомогенатах тканей кожи.

**Ключевые слова:** *регенерация, ожоговая рана, окислительный стресс, металлопротеиназа 9 типа, тканевой ингибитор металлопротеиназ 1 типа, 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиния N-ацетил-6-аминогексаноат.*

**DYNAMICS OF BIOCHEMICAL PARAMETERS IN TISSUES DURING REGENERATION OF  
THERMAL SKIN BURNS IN RATS**

E.N. Egorova, M.B. Petrova, E.V. Andrianova

*Tver State Medical University*

**Abstract.** The article presents the results of determining the levels of biochemical parameters in tissue homogenates in the dynamics of regeneration of thermal skin burns in 60 rats. The dynamics of wound areas, oxidative stress index and the ratio of metalloproteinase type 9 and tissue inhibitor of metalloproteinase type 1 were studied in animals that received a course of wound applications with ointment with 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridinium N-acetyl-6-aminohexanoate and in the control groups. The values of the studied biochemical parameters in tissue homogenates were determined to assess and predict the efficiency of burn wounds reparation in rat skin. The correlation indices between the size of the scar area and biochemical parameters in skin tissue homogenates were calculated.

**Keywords:** *regeneration, burn wound, oxidative stress, metalloproteinase type 9, metalloproteinase type 1, 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridinium N-acetyl-6-aminohexanoate.*

**Введение.** Вопрос повышения эффективности регенерации тканей является нерешенным до настоящего времени [3, 5]. Постоянно происходит поиск и синтез перспективных в этом направлении веществ. В частности, одними из таких средств являются производные N-ацетил-6-аминогексановой кислоты [1, 2, 6].

Известно, что морфофункциональные изменения в тканях обусловлены биохимическими процессами, протекающими в поврежденных структурах [4]. В связи с этим представляется актуальным изучение в эксперименте протеолитической и окислительной активности в гомогенатах тканей из области раневых дефектов кожи.

**Цель.** Изучить у крыс, получающих курс аппликаций термических ожогов кожи мазью с 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиния N-ацетил-6-аминогексаноатом динамику площадей ран, индекса окислительного стресса и соотношения металлопротеиназы 9 типа и тканевого ингибитора металлопротеиназ 1 типа, а также корреляционные связи между ними.

**Материалы и методы.** Эксперимент выполнен на 60 неинбрендных самках крыс массой 180-200 г и возраста 2-3 месяца. В межлопаточной области дорзальной поверхности тела животных наносили полнослойные дефекты кожи площадью 225 мм<sup>2</sup> в условиях анестезии («Золетил-100» в дозе 20 мг/кг внутримышечно) путем контакта в течение 8 секунд стального трафарета температурой 240°C, при этом в месте воздействия формировался термический ожог III Б степени. Проведение настоящего исследования одобрено Этическим комитетом ФГБОУ ВО Тверского ГМУ Минздрава России. Животные были разделены на три группы по 20 особей. Крысам опытной группы ежедневно после нанесения ожога наносили на раны мазь, содержащую 2% 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиния N-ацетил-6-аминогексаноата (2-Э-6-М-3-ГП N-A-6-АГ), предоставленного профессором С.Я. Скачиловой (АО «ВНЦ БАВ», г. Старая Купавна). Животным контрольной группы 1 обработку ожогового дефекта не проводили, крысам контрольной группы 2 на область поражения наносили только мазевую основу (полиэтиленгликоль). На 7, 14 и 21 сутки исследования измеряли площади ран и из области раневых дефектов получали биоптаты тканей стандартного объема и массы, освобожденные от струпа и подкожной жировой клетчатки, из которых готовили гомогенаты. В супернатантах гомогенатов определяли индекс оксидативного стресса (ИОС), рассчитанный как отношение общей оксидантной активности к общей антиоксидантной активности, определенных фотометрическим методом, используя тест-системы «Total Oxidative status/capacity PerOx (TOS) Kit» и «Total Antioxidative status/capacity PerOx (TAS) Kit» производства «Immundiagnostik AG» (Германия). Методом иммуноферментного анализа и

тест-систем «Quantikine® Rat Total MMP-9» производства «R&D Systems» (США) определяли уровни металлопротеиназы 9 типа (ММР-9) и тканевого ингибитора металлопротеиназ 1 типа (ТИМР-1), рассчитывали их соотношение. Результаты в таблице представлены в виде среднего арифметического значения и стандартного отклонения. Достоверность межгрупповых различий определяли по критерию Манна-Уитни и критерию Крускала-Уоллиса. Различия значений между группами считали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ . Для оценки зависимости между показателями использовали ранговый коэффициент корреляции Спирмена ( $r_s$ ).

**Результаты.** В группе животных, получающих аппликации мази, на всех этапах наблюдения средняя площадь ожогов была статистически значимо меньше (таблица 1) и рубцевание раневых дефектов произошло достоверно быстрее, чем в обеих контрольных группах. Причем статистически значимых различий значений площади ожоговых ран между 1 и 2 контрольными группами на всех стадиях раневого процесса и сроков рубцевания не наблюдалось, это позволяет утверждать, что аппликация на ожоговые дефекты только мазевой основы не оказывает стимулирующего эффекта на регенерацию. В стадию воспаления к 7 суткам эксперимента сокращение площади ожогов в опытной группе крыс составило 21,7%, а в 1 и 2 контрольных группах – соответственно 4,4% и 7,1% от их исходной величины. На 14 сутки наблюдения, в стадию пролиферации, площади ожоговых дефектов животных сократились относительно их исходной площади в опытной группе на 78%, а в 1 и 2 контрольных группах – на 44% и 47% соответственно. В опытной группе животных в среднем на 19-е ( $19,1 \pm 0,6$ ) сутки эксперимента наблюдалось отторжение струпа, тогда как в контрольных группах регистрировали наличие ран под струпом, площади которых сократились соответственно на 62% и 65% от их исходного размера. Полное же заживление с формированием соединительнотканного рубца у животных контрольных групп 1 и 2 отмечали в среднем на 23-е ( $23,4 \pm 1,0$ ) и 22-е ( $22,1 \pm 0,9$ ) сутки эксперимента соответственно, в среднем на 3,5 суток позже, чем в опытной группе.

Таким образом, исследование подтвердило у 2-Э-6-М-3-ГП N-A-6-АГ наличие прорегенераторных свойств при его местном использовании в виде 2% мази на экспериментальные термические ожоги кожи у крыс на стадиях воспаления и пролиферации. Прорегенераторный потенциал исследуемого вещества проявился в достоверном ускорении заживления ожоговых ран кожи у опытной группы животных в среднем на 3,5 суток раньше, чем у крыс контрольных групп.

Сопоставляя динамику сокращения площадей раневых дефектов с изученными биохимическими показателями, можно проследить некоторые закономерности (табл. 1).

Таблица 1

Площадь дефектов и биохимические показатели в гомогенатах тканей в динамике регенерации термического ожога кожи крыс

Группы животных	Показатели		
	Площадь ожога, мм <sup>2</sup>	ИОС, ед.	ММР-9/ТИМР-1, ед.
7 суток			
Контрольная 1	215,5±3,74	7,09±0,80	70,3±4,83
Контрольная 2	209,8±2,37	6,84±0,94	65,0±5,28
Опытная	176,0±12,62*	3,93±0,57*	48,2±1,84*
14 суток			
Контрольная 1	126,1±3,50	5,96±0,83	78,9±3,24
Контрольная 2	120,6±2,37	4,72±0,52	72,5±2,20
Опытная	48,5±6,71*#	2,75±0,26*#	35,7±1,05*#
21 сутки			
Контрольная 1	43,3±5,49#	0,92±0,04#	49,0±0,84#
Контрольная 2	38,1±5,01#	0,86±0,07#	46,8±1,96#
Опытная	0 (рубец)* #	0,66±0,05*#	22,5±0,70*#

Примечание: \* – различие статистически значимо ( $p < 0,05$ ) между показателями у животных опытной группы и 1 и 2 контрольных групп в тот же срок наблюдения, # – различие статистически значимо ( $p < 0,05$ ) между соответствующими показателями у животных группы по сравнению с предыдущим сроком эксперимента.

По мере заживления ожогов во всех обследованных группах наблюдалось уменьшение выраженности ОС и соотношения ММР-9/ТИМР-1, но в разной степени, в зависимости от вида воздействия на зону экспериментального ожога. Так, индекс ОС в гомогенатах регенерирующих тканей животных опытной группы, получавших местную обработку ран 2% мазью с 2-Э-6-М-3-ГП N-A-6-АГ, во все сроки наблюдения был достоверно ниже, чем в обеих контрольных группах, между которыми различия по данному показателю были статистически не значимыми.

Результаты эксперимента свидетельствуют, что при благоприятном и ускоренном заживлении ожогов ран кожи в опытной группе животных биохимические показатели ИОС и ММР-9/ТИМР-1 демонстрируют значимую динамику, следовательно, могут быть использованы в качестве показателей для оценки и прогнозирования эффективности репарации ожоговых ран кожи у крыс. Также установлены оптимальные значения ИОС и ММР-9/ТИМР-1 для успешного протекания процесса регенерации в гомогенатах тканей –  $0,66 \pm 0,05$  и  $22,5 \pm 0,70$  соответственно. Результаты проведенного корреляционного анализа между изученными биохимическими маркерами и площадями ожоговых ран показали, что только у крыс опытной группы в гомогенатах тканей из области ожогов, полученных на 7 и 14 сутки эксперимента, имеется взаимосвязь средней

силы между ИОС и MMP-9/TIMP-1 ( $r_s = 0,56$  и  $0,64$ ), а также между площадями термических дефектов (S) и MMP-9/TIMP-1 ( $r_s = 0,66$  и  $0,53$  соответственно).

Учитывая патогенез раневого процесса и причинно-следственные связи между его факторами можно предложить следующую логическую цепочку взаимосвязи изученных в данном исследовании параметров. Термическое воздействие вызывает повреждение эпидермиса, дермы и подкожной клетчатки, формируя раневой дефект, при этом развивается местное воспаление. Стандартным типовым патологическим процессом в фазу воспаления является оксидативный стресс, в отношении которого и протеолитической активности MMP-9 (MMP-9/TIMP-1) в гомогенатах тканей крыс опытной группы обнаружена корреляции средней силы.

В свою очередь, в данной группе животных между уровнем MMP-9/TIMP-1 в гомогенатах тканей и площадями раневых дефектов также выявлена корреляция средней силы, свидетельствующая о том, что площадь заживающего ожога зависит, в том числе, от соотношения MMP-9 и TIMP-1, характеризующего активность MMP-9. Подобная ситуация (влияние ОС и протеолитической активности MMP-9) наблюдается и на стадии пролиферации, когда преимущественно происходят процессы морфогенеза тканей кожи, но исчезает на последней стадии раневого процесса – эпителизации.

**Выводы.** Результаты проведенного исследования показали, что репарация термических ожогов при местном лечении мазью, содержащей 2% 2-Э-6-М-3-ГП N-A-6-АГ, протекает на фоне нормализации свободнорадикальных процессов и протеолитической активности MMP-9 в тканях. В связи с этим биохимические показатели ИОС и MMP-9/TIMP-1 целесообразно использовать для оценки и прогнозирования эффективности репарации ожоговых ран кожи у крыс и считать оптимальными для успешного протекания процесса регенерации значения ИОС и MMP-9/TIMP-1 в гомогенатах тканей их значения –  $0,66 \pm 0,05$  и  $22,5 \pm 0,70$  соответственно.

### **Список литературы**

1. Андрианова Е.В., Егорова Е.Н., Петрова М.Б., Пахомов М.А. Биохимические аспекты прорегенераторного действия 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиния N-ацетил-6-аминогексаноата // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова. – 2021. – Т. 17, № 1. – С. 12-16.
2. Галиченко К.А., Блинова Е.В., Симакина Е.А. и др. Изучение процессов заживления послеоперационной раны при Z-образной пластике кожи в эксперименте на фоне применения церийсодержащего соединения N-ацетил-6-аминогексановой кислоты // Оперативная хирургия и клиническая анатомия (Пироговский научный журнал). – 2022. – Т. 6, № 3. – С. 5-11.
3. Литвицкий П.Ф. Патифизиология: Учебник. 7-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2023. 864 с.

4. Макаревич П.И., Ефименко А.Ю., Ткачук В.А. Биохимическая регуляция регенеративных процессов факторами роста и цитокинами: основные механизмы и значимость для регенеративной медицины // Биохимия. – 2020. – Т. 85, № 1. – С. 15-33.
5. Патологическая физиология: Учебник. 2-е изд., перераб. и доп. / Под ред. Г.В. Порядина. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2022. 688 с.
6. Петровская М.А., Петрова М.Б., Андрианова Е.В., Егорова Е.Н. Особенности морфологии фаз регенерации и динамика уровней факторов роста при применении 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиния N-ацетил-6-аминогексаноата для заживления ожогов кожи крыс // Медицинский академический журнал. – 2023. – Т. 23, № 3. – С. 21-29.