

Корреляция металлопротеиназной активности и выраженности оксидативного стресса в процессе регенерации термических ожогов кожи крыс при лечении новым производным N-ацетил-6-аминогексановой кислоты

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

ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России, г. Тверь, andrianovaalenav@mail.ru



Введение: N-ацетил-6-аминогексановая (ацексамовая) кислота и ее производные обладают прорегенераторной активностью в отношении повреждений кожи, слизистых и костной ткани (Скачилова С.Я., с соавт 2018). Биохимические механизмы прорегенераторного действия данных веществ окончательно не установлены. В этом аспекте представляет интерес влияние производных ацексамовой кислоты на металлопротеазную активность и выраженность оксидативного стресса в регенерирующих тканях.

Цель исследования: определить соотношение матриксной металлопротеиназы 9 типа и тканевого ингибитора металлопротеиназ 1 типа, индекс оксидативного стресса, а также рассчитать степень их корреляции в регенерирующих тканях в процессе заживления при лечении термических ожогов кожи крыс мазью с новым производным N-ацетил-6-аминогексановой кислоты.

Материалы и методы исследования:

Экспериментальное исследование проведено на 45 беспородных крысах, у которых по стандартной методике были смоделированы термические ожоги. Животные были разделенных на три группы по 15 особей. Крысам опытной группы ежедневно после нанесения ожога наносили на раны мазь, содержащую 2% производного N-ацетил-6-аминогексановой кислоты (N-ацетил-6-АК), синтезированного и предоставленного АО «ВНЦ БАВ», г. Старая Купавна. Животным первой контрольной группы обработки ран не проводили, крысам второй контрольной группы на раны 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. Биоптаты тканей помещали в изотонический раствор натрия хлорида в соотношении 1:10 (масса:объем) и готовили из них гомогенаты с помощью гомогенизатора. В супернатантах гомогенатов методом иммуноферментного анализа проводили количественное определение металлопротеиназы 9 типа (ММП-9) и тканевого ингибитора металлопротеиназ 1 типа (ТИМП-1). Рассчитывали отношение ММП-9/ТИМП-1, которое использовали для оценки результатов эксперимента, поскольку именно соотношение фермента и его ингибитора характеризует частично протеолитическую активность в тканях ран и влияет на процесс репарации. Индекс оксидативного стресса (ИОС) в супернатантах гомогенатов рассчитывали, как отношение общей оксидантной активности к общей антиоксидантной активности, определенных фотометрическим методом. Для оценки зависимости между показателями использовали ранговый коэффициент корреляции Спирмена (R_s).

Результаты исследования:

Планиметрическое изучение показало, что средняя площадь ран животных опытной группы на всех стадиях репарации была достоверно меньше ($p<0,05$), чем обеих контрольных групп, различия площадей ран между которыми не были статистически значимыми. Полное рубцевание ожоговых ран у крыс опытной группы произошло на $2\pm0,37$ дня раньше, чем в контрольных группах. Тенденция к снижению активности оксидативного стресса в опытной группе животных наметилась на 7 сутки эксперимента, а на 14 и 21 сутки установлено достоверное уменьшение показателя ИОС по сравнению с контрольными группами. Показатели ИОС в трех временных точках составили $3,93\pm0,57$, $2,75\pm0,26$ и $0,66\pm0,05$ ед. соответственно (все $p<0,05$), что свидетельствует о статистически значимом снижении активности оксидативного стресса в процессе репарации термического ожога (табл. 1).

Таблица 1. Биохимические показатели в исследуемых образцах

Группы животных	Показатели , (М±m)	
	ММП-9/ТИМП-1 в гомогенатах, Ед.	ИОС в гомогенатах (TOS/TAS), Ед.
7 суток		
без мази (n=15)	70,3±4,83	7,09±0,80
мазевая основа (n=15)	65,0±5,28	6,84±0,94
мазь (n=15)	48,2±1,84	3,93±0,57
14 суток		
без мази (n=15)	78,9±3,24	5,96±0,83
мазевая основа (n=15)	72,5±2,20	4,72±0,52
мазь (n=15)	35,7±1,05	2,75±0,26
21 сутки		
без мази (n=15)	49,0±0,84	0,92±0,04
мазевая основа (n=15)	46,8±1,96	0,86±0,07
мазь (n=15)	22,5±0,70	0,66±0,05

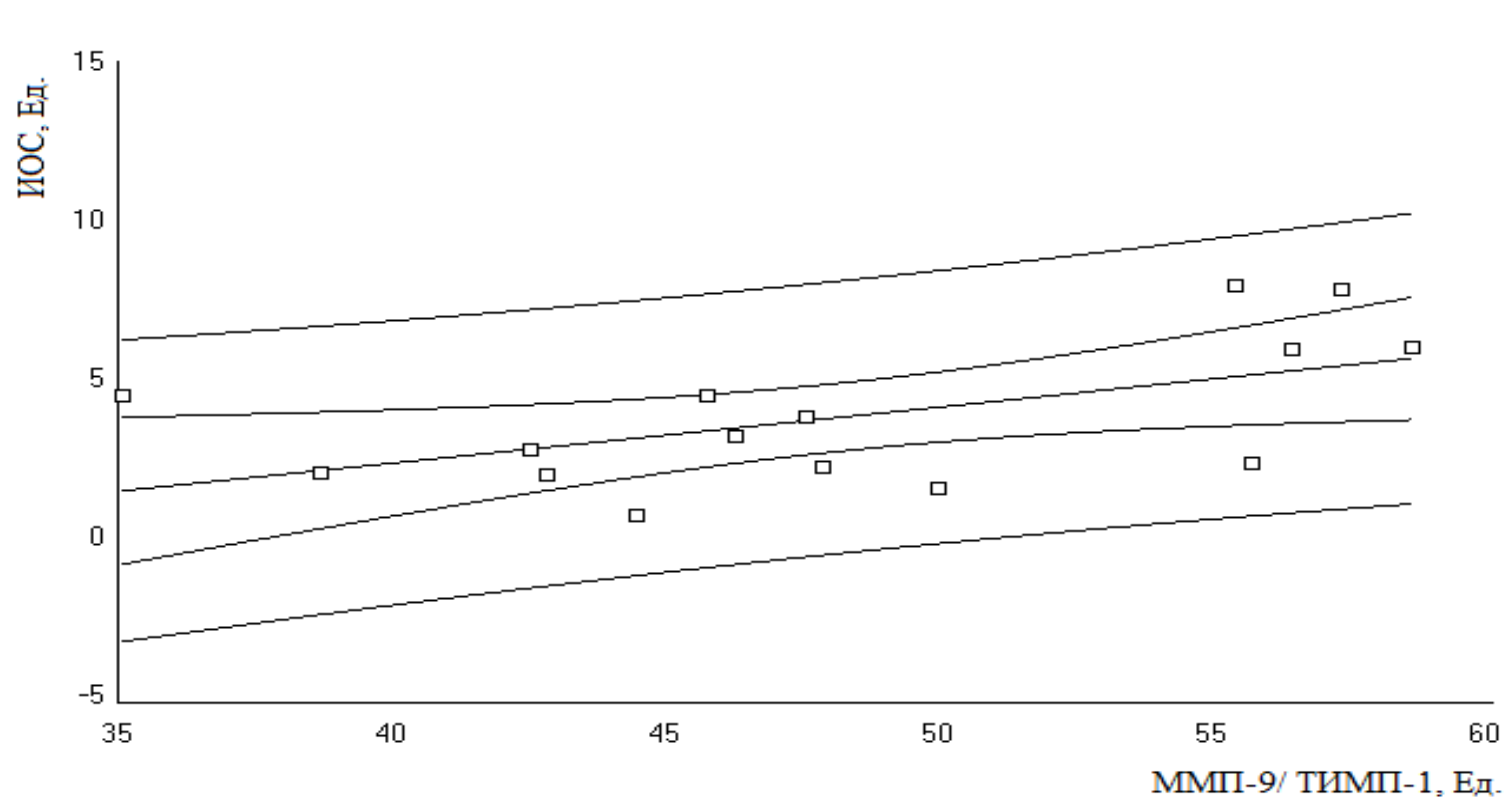


Рисунок 1. График корреляции ММП-9/ТИМП-1 и ИОС на 7 сутки эксперимента

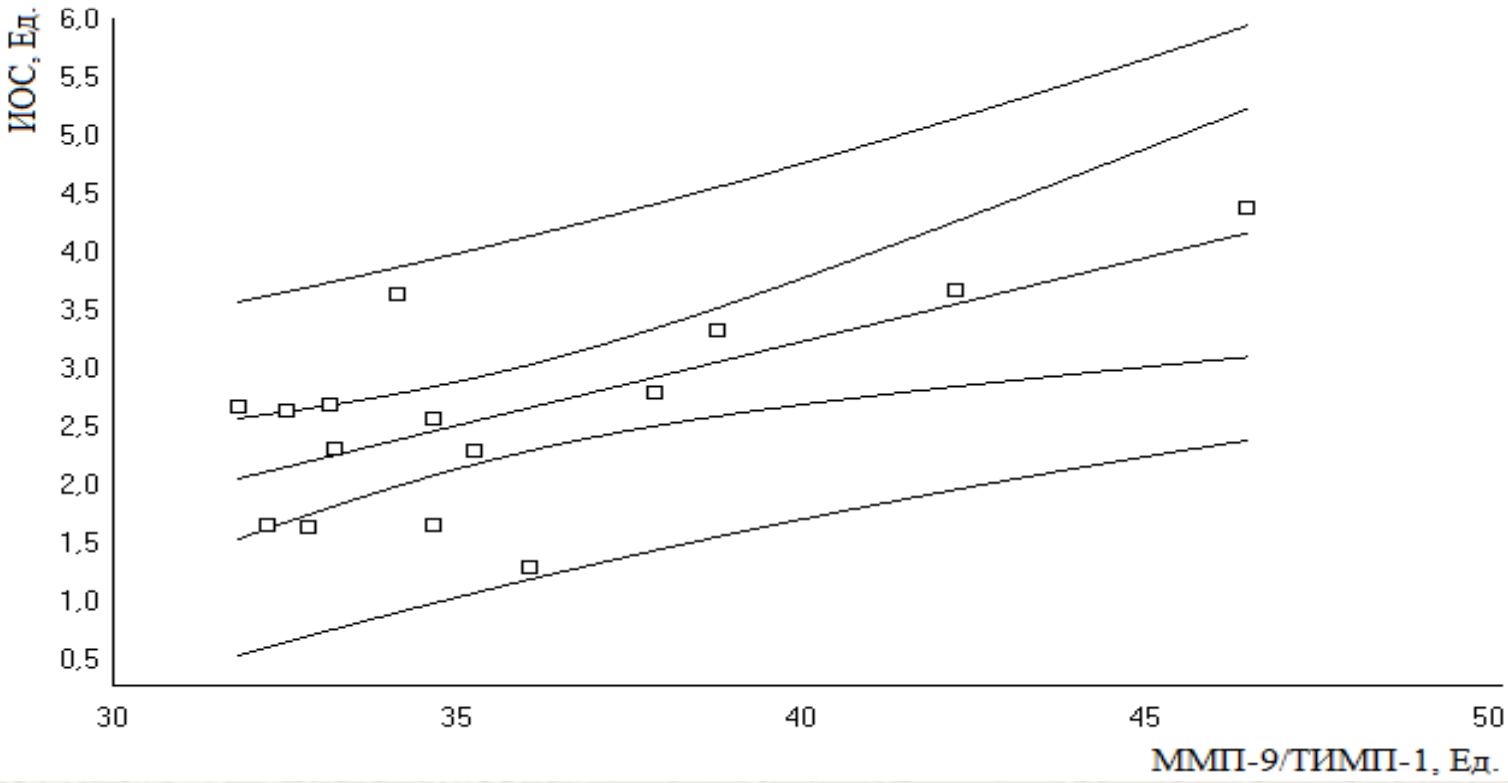


Рисунок 2. График корреляции ММП-9/ТИМП-1 и ИОС на 14 сутки эксперимента

Соотношение ММП-9/ТИМП-1 у животных опытной группы во все сроки наблюдения было достоверно ниже ($p<0,05$) по сравнению с показателями крыс контрольных групп, между которыми различия не были выявлены. Значение ММП-9/ТИМП-1 у животных опытной группы составило $48,2\pm1,84$, $35,7\pm1,05$ и $22,5\pm0,70$ ед. соответственно (все $p<0,05$), то есть снижение активности ММП-9 происходило статистически значимо в ходе заживления ожога. Корреляционный анализ зависимости ММП-9/ТИМП-1 от ИОС в гомогенатах тканей из области ран показал наличие корреляции средней степени между ними только среди крыс опытной группы на 7 и 14 сутки эксперимента – 0,56 и 0,64 ($p<0,05$) соответственно (рис.1, 2).

Заключение:

Местная обработка термических ожогов кожи крыс мазью, содержащей 2% нового производного N-ацетил-6-аминогексановой кислоты, сокращает сроки их заживления и происходит на фоне снижения выраженности оксидативного стресса и протеолитической (ММП-9) активности в тканях раневого дефекта, достоверная корреляция между которыми выявлена на 7 и 14 сутки эксперимента.