

УДК: 616 - 001.17

**ДОКЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ РЕПАРАТИВНЫХ  
СВОЙСТВ 2-ЭТИЛ-6-МЕТИЛ-3-ГИДРОКСИПИРИДИНИЯ N-АЦЕТИЛ-6-  
АМИНОГЕКСАНОАТА**

М.А. Петровская  
ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России, г. Тверь  
Кафедра биологии

**Резюме.** Репаративные свойства 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиния N-ацетил-6-аминогексаноата – нового производного ацексамовой кислоты – оценивались по морфологии стадий заживления ожоговых ран кожи у крыс.

**Ключевые слова:** термический ожог кожи, регенерация, фазы заживления, грануляционная ткань.

**PRECLINICAL EVALUATION OF REPARATIVE EFFECTIVENESS OF 2-  
ETHYL-6-METHYL-3-HYDROXYPYRIDINIUM N-ACETYL-6-AMINOHEXOATE**

М.А. Petrovskaya  
Tver State Medical University, Tver, Russia  
Department of Biology

**Abstract.** The reparative properties of 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridinium N-acetyl-6-aminohexanoate, a new derivative of acexamic acid, were evaluated by the morphology of the stages of healing of skin burn wounds in rats.

**Keywords:** skin burn, regeneration, healing phases, granulation tissue.

**Введение.** Сохранение целостности кожного покрова и его оптимальное восстановление при различных повреждениях является важным звеном поддержания гомеостаза внутренней среды организма. Одной из перспективных разработок в поиске эффективных репарантов является создание препаратов на основе ацексамовой кислоты (АК). Преимуществом известных и вновь синтезированных производных АК – серебра, церия, пиридиния – являются низкая токсичность и способность стимулировать регенерацию различных тканей [1-5]. Вместе с тем до настоящего времени остается не решенным вопрос о влиянии одного из новых производных АК 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридиния N-ацетил-6-аминогексаноата (2-Э-6-М-3-ГП N-А-6-АГ) на кинетику стадий раневого процесса при заживлении термических ожогов кожи.

**Цель работы** – доклиническая оценка регенераторного потенциала 2-Э-6-М-3-ГП N-А-6-АГ на модели заживления ожоговых ран кожи у крыс, основанная на морфологических характеристиках фаз процесса репарации.

**Материалы и методы исследования.** Исследование после получения разрешения локального Этического комитета ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России (протокол № 4 от 09 марта 2023 года) проводилось с соблюдением требований гуманного обращения с лабораторными животными [6-8]. В межлопаточной области 63 крысам моделировали термический ожог площадью 225 мм<sup>2</sup> контактным способом (анестетик – «Золетил-100» в дозе 8 мг/кг внутримышечно) [6] с помощью стального трафарета (температура 240°C, экспозиция 8 сек). В зависимости от местного воздействия были выделены три группы животных: в контрольной 1 область ожога не обрабатывали, но имитировали аппликации мази, наблюдая спонтанное течение заживления кожи; крысам контрольной 2 группы на дефект ежедневно наносили мазевую основу (полиэтиленгликоль, поливиниловый спирт, вода); животным опытной группы на ожог ежедневно наносили 2% мазь с 2-Э-6-М-3-ГП N-А-6-АГ. Вещество синтезировано в АО «ВНЦ БАВ» (г. Старая Купавна) лауреатом Государственной премии РФ,

д.х.н., профессором С.Я. Скачиловой. Аппликации мази и мазевой основы выполняли, начиная со вторых суток до завершения эксперимента.

Регенерирующие ткани для морфологического исследования иссекали из зоны термического ожога на 7, 14 и 21 сутки эксперимента и подвергали пробоподготовке по стандартным протоколам общепринятых методик [8, **Ошибка! Источник ссылки не найден.**]. Количественная оценка структур регенерата проводилась путем микроскопической морфометрии.

Статистический анализ полученных данных выполняли с помощью программы IBM® SPSS® Statistcs 23.0 IBM Corporation (USA). Количественные данные представлены в виде среднего арифметического и стандартного отклонения. Статистическую значимость разности средних в двух группах оценивали с помощью критериев Стьюдента или Манна – Уитни. Различия между показателями в группах считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты исследования. Гистологический анализ микропрепаратов тканей из области термического повреждения показал, что смена фаз регенерационного гистогенеза у животных трех изучаемых групп носила стереотипный характер, однако морфологически и морфометрически были выявлены отличия в их осуществлении.**

У животных опытной группы было установлено ускоренное, по сравнению с контрольными, течение всех фаз репарации. На 7-е сутки наблюдения (фаза воспаления) толщина струпа была значительно меньше, чем у животных контрольных групп 1 и 2 и составляла  $257,3 \pm 1,2$  мкм против  $368,5 \pm 19,7$  мкм и  $310,6 \pm 5,6$  мкм соответственно (табл. 1). Лейкоцитарный вал почти не определялся, его толщина в 1,3 раза меньше, чем у крыс обеих контрольных групп, что свидетельствует о стихании воспалительного процесса.

Таблица 1

**Морфометрические параметры структур регенерата кожи крыс в динамике эксперимента**

Группы животных (по n=21)	Показатели, $\bar{X} \pm SD$				
	толщина струпа	лейкоцитарный вал	грануляционная ткань	эпителий	
				протяженность	на границе
7 суток					
Контрольная 1	$367,9 \pm 15,7$	$142,8 \pm 7,4$	$484,7 \pm 12,9$	$386,3 \pm 14,4$	$20,5 \pm 6,6$
Контрольная 2	$325,1 \pm 14,7$	$131,2 \pm 6,1$	$501,5 \pm 14,0$	$401,3 \pm 15,7$	$22,6 \pm 6,4$
Опытная	$233,5 \pm 14,4^{* \#}$	$117,7 \pm 12,2^{*}$	$604,2 \pm 13,0^{* \#}$	$568,1 \pm 22,2^{* \#}$	$35,0 \pm 7,2$
14 суток					
Контрольная 1	$213,7 \pm 13,6$	$88,1 \pm 10,5$	$786,1 \pm 14,6$	$601,2 \pm 15,0$	$38,7 \pm 7,1$
Контрольная 2	$203,8 \pm 10,2$	$79,9 \pm 7,4$	$798,2 \pm 10,2$	$610,9 \pm 19,3$	$42,8 \pm 11,5$
Опытная	$56,1 \pm 12,1^{* \#}$	$20,1 \pm 6,4^{* \#}$	$904,5 \pm 12,0^{* \#}$	$715,9 \pm 14,5^{* \#}$	$61,7 \pm 10,2$

Примечание: \* – различие статистически значимо ( $p < 0,05$ ) между показателем у животных опытной и контрольных групп 1 и 2;

# – различие статистически значимо ( $p < 0,05$ ) между соответствующими показателями у животных группы по сравнению с предыдущим сроком эксперимента

Под действием мази морфологические изменения характеризовались активной миграцией клеток в область раны и последующей интенсификацией процессов дифференцировки клеточного компонента. К этому сроку наблюдения раневой дефект практически полностью заместился грануляционной тканью, отмечалось появление краевой эпителизации. На высокую степень зрелости грануляционной ткани указывало присутствие помимо популяции клеток воспаления, горизонтально ориентированных фибробластов и интенсивное новообразование капилляров.

Область ожоговой травмы к 14 суткам эксперимента у животных опытной группы сохраняла тонкий струп (толщина  $172,7 \pm 4,12$  мкм, что достоверно меньше, чем в обеих

контрольных группах), под который нарастал пролиферирующий пласт эпителия. Область дефекта была заполнена грануляционной тканью, с признаками преобладания пролиферативных процессов и активной перестройки в развитую соединительную ткань, а именно, резорбцией капилляров, значительным ростом фибробластов, более ранним появлением коллагеновых волокон и преобладанием среди них горизонтально направленных.

Морфометрически были выявлены статистически значимые различия между сравниваемыми группами и в фазу пролиферации (14 суток). Причем, в ходе смены фаз посттравматической регенерации значения толщины струпа и лейкоцитарного вала уменьшались, а грануляционной ткани, новообразованного эпителия и его протяженности увеличивались (табл. 1).

Эпителизация области бывшего ожога у мазь-индуцированных животных завершилась в среднем на 2,2 суток раньше в сравнении контрольными группами. Микроскопически на 21-е сутки наблюдался рост регенерирующего эпителия по всей площади дефекта с образованием производных кожи, в отличие от слабо дифференцированного эпителия в группах контроля. У крыс контрольных групп к этому же сроку место дефекта еще хорошо просматривалось, сохранялись фрагменты струпа, тогда как у животных опытной группы этот участок практически неотличим от неповрежденной кожи.

Проведенное исследование планиметрически и морфологически подтвердило наличие прорегенераторного потенциала у мази с 2-Э-6-М-3-ГП N-A-6-АГ. Этот факт подтверждается тем, что у животных, получавших аппликации мази, заживление ожогового дефекта осуществлялась в среднем на 2,2 суток ранее, чем в контрольных группах.

**Выводы.** 1. В проведенных нами исследованиях морфология раневого процесса в контрольных группах не имела существенных различий, следовательно, обнаруженный эффект индукции заживления ожогов определяется действием мази с 2-Э-6-М-3-ГП N-A-6-АГ, которое особенно выражено в фазы воспаления и пролиферации.

2. Дебютная фаза (воспаления) морфологически характеризовалась активным неангиогенезом в новообразованной грануляционной ткани, а также достоверными различиями показателей толщины грануляционной ткани у крыс опытной группы.

3. В фазу пролиферации особенностями морфогенеза у крыс опытной группы являлись более ранняя замена клеток воспалительного ряда на фибробласты, активация их дифференцировки, что повлекло ускоренную трансформацию грануляционной ткани в зрелую соединительную, характеризующейся редукцией капилляров.

4. В финишной фазе регенерации ожога кожи перестройка грануляционной ткани в зрелую соединительную стимулировала репарацию эпителия, что подтверждалось морфометрическими и планиметрическими данными.

Таким образом, 2% мазь с 2-Э-6-М-3-ГП N-A-6-АГ обладает репаративным потенциалом, о чем свидетельствует ускоренное сокращение, как площади ожоговых дефектов, так и средних сроков их заживления в опытной группе по сравнению с контрольными.

### Список литературы

1. Hadj A.N. The effect of zinc acexamate on oxidative stress, inflammation and mitochondria induced apoptosis in rat model of renal warm ischemia / A.N. Hadj, A. Baulies, A. Bouhleb – Text: visual // Biomed. Pharmacother. – 2018. – № 105. – P. 573-581.
2. Blinova E. Cerium-containing n-acetyl-6-aminohexanoic acid formulation accelerates wound reparation in diabetic animals / E. Blinova, D. Shimanovsky, Y. Mazov [et al.] – Text: visual // Biomolecules. – 2021. – Vol. 11, №. 6. P. 834. – DOI 10.3390/biom11060834.
3. Патент № 2731175 С1 Российская Федерация, МПК А61К 31/195, А61К 31/4412, А61К 47/00. Мазь для лечения ожогов 1-3 степени : № 2019131604 : заявл. 08.10.2019 : опубл. 31.08.2020 / С. Я. Скачилова, Г. А. Ермакова, Е. В. Блинова [и др.] ; заявитель Акционерное общество "Всесоюзный научный центр по безопасности биологически активных веществ" АО "ВНЦ БАВ". – Текст: непосредственный.

4. Пахомов, Д.В. Доказательные аспекты стимулирования заживления неосложненной раны при локальном применении серебряной соли ацесамовой кислоты. Оперативная хирургия и клиническая анатомия. / Д.В. Пахомов, Е.В. Блинова, Д.Н. Шимановский [и др.] – Текст: непосредственный // Оперативная хирургия и клиническая анатомия. – 2020. – Т. 4. – № 1. – С. 19-25.
5. Андрианова Е.В. Биохимические аспекты прорегенераторного действия 2-этил-6-метил-3- гидроксипиридиния N-ацетил-6-аминогексаноата / Е.В. Андрианова, Е.Н. Егорова, М.Б. Петрова, М.А. Пахомов – Текст: непосредственный // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова. – 2021. – Т. 17. – № 1. – С. 12–16.
6. Лабораторные животные в экспериментальной медицине / С. П. Перетягин, А. К. Мартусевич, А. А. Гришина [и др.] ; Нижегородский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии. – Нижний Новгород : Нижегородский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии, 2011. – 300 с. – Текст: непосредственный
7. Огнева Е.С. Анестезия самок мышей при хирургической трансплантации эмбрионов / Е.С. Огнева, Е.С. Савченко, Л.А. Таболякова. – Текст: непосредственный // Биомедицина. – 2021. – Т. 17. – № 3Е. – С. 64–69. – DOI: 10.33647/2713-0428-17-3Е-64-69
8. Файн А.М. Сравнительная оценка двух схем внутримышечного наркоза у лабораторных крыс в эксперименте / А.М. Файн, М.Н. Петухова, И.Ю. Мигулева, А.М. Савотченко. – Текст: непосредственный // Вопросы реконструктивной и пластической хирургии. – 2019. – Т. 22. – № 2. – С. 53–61. – DOI: 10.17223/1814147/69/07
9. Гистологическая техника: учебное пособие для студентов медицинских вузов / В. В. Семченко, С. А. Барашкова, В. И. Ноздрин, В. Н. Артемьев – 3-е изд., доп. и перераб. – Омск-Орел: Омская областная типография, 2006 – 289 с. – Текст: непосредственный.
10. Руководство по работе с лабораторными животными для сотрудников ГБОУ ВПО РНИМУ имени Н.Н. Пирогова, занятых проведением доклинических испытаний. Москва, 2015. – 14 с. – Текст: непосредственный