

УДК 615.27.451.1:546.57-022.532:616-001.17-092.9-078:57.083.185

І. В. Гринь,

Т. В. Звягінцева, д-р мед. наук, проф.,

С. І. Миронченко, канд. мед. наук, доц.,

В. В. Гринь, канд. мед. наук

ВПЛИВ МАЗІ ТІОТРИАЗОЛІНУ З НАНОЧАСТИНКАМИ СРІБЛА НА ЦИТОКІНОВИЙ БАЛАНС У ВОГНИЩІ УШКОДЖЕННЯ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ТЕРМІЧНОМУ ОПІКУ

Харківський національний медичний університет, Харків, Україна,

Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна

УДК 615.27.451.1:546.57-022.532:616-001.17-092.9-078:57.083.185

І. В. Гринь, Т. В. Звягінцева, С. І. Миронченко, В. В. Гринь

ВПЛИВ МАЗІ ТІОТРИАЗОЛІНУ З НАНОЧАСТИНКАМИ СРІБЛА НА ЦИТОКІНОВИЙ БАЛАНС У ВОГНИЩІ УШКОДЖЕННЯ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ТЕРМІЧНОМУ ОПІКУ

Харківський національний медичний університет, Харків, Україна,

Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна

Вивчено вплив мазі тіотриазоліну з наночастинками срібла на рівень ІЛ-1 β та ІЛ-10 у вогнищі ушкодження при експериментальному термічному опіку у щурів. Встановлено, що мазь тіотриазоліну з наночастинками срібла зменшує різко зростаючий внаслідок термічного опіку вміст прозапального цитокіну ІЛ-1 β , відновлюючи його на 28-му добу та збільшує/нормалізує вміст протизапального цитокіну ІЛ-10, дефіцит якого спостерігається внаслідок термічного опіку. За впливом на відновлення цитокінового балансу мазь тіотриазоліну з наночастинками срібла перевершує ефект препаратів порівняння («Мазь тіотриазоліну 2%», «Мазь метилурацилова 10%», «Сульфатіазол срібла»).
Ключові слова: мазь тіотриазоліну, наночастинки срібла, термічний опік, цитокіновий баланс.

UDC 615.27.451.1:546.57-022.532:616-001.17-092.9-078:57.083.185

I. V. Grin, T. V. Zvyagintseva, S. I. Myronchenko, V. V. Grin

INFLUENCE OF THIOTRIAZOLINE OINTMENT WITH SILVER NANOPARTICLES ON CYTOKINE BALANCE IN FOCUS OF DAMAGE IN EXPERIMENTAL THERMAL BURNS

Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine,

National Pharmaceutical University, Kharkiv, Ukraine

We studied influence of Thiotriazoline ointment with silver nanoparticles on IL-1 β and IL-10 level in the focus of damage in experimental thermal burns. We found Thiotriazoline ointment with silver nanoparticles reduces proinflammatory cytokine IL-1 β content and restores it on the 28th day. We also found that Thiotriazoline ointment with silver nanoparticles increases/normalizes content of anti-inflammatory cytokine IL-10 (IL-10 deficiency is observed as a result of thermal burn). The effect of Thiotriazoline ointment with silver nanoparticles on cytokine balance recovery is superior to the effect of referent drugs ("Thiotriazoline Ointment 2%", "Methyluracylum ointment 10%", ointment "Silver sulfatiazol").

Key words: Thiotriazoline ointment, silver nanoparticles, thermal burn, cytokine balance.

У зв'язку з підвищенням частоти виникнення термічних уражень шкіри й смертності пацієнтів лікування опікових ран залишається глобальною медичною й соціальною проблемою [1].

Опікова рана характеризується персистуючим неконтрольованим запальним процесом, високою протеолітичною активністю й порушенням цитокінового профілю з переважанням прозапальних і дефіцитом протизапальних цитокінів [2; 3]. Важливе значення в розвитку запалення мають прозапальний інтерлейкін-1 β (ІЛ-1 β) — багатofункціональний цитокін з широким спектром дії, який відіграє ключову роль у розвитку й регуляції неспецифічного захисту й специфічного імунітету [4], та інтерлейкін-10 (ІЛ-10) — ключовий протизапальний цитокін, який пригнічує продукцію прозапальних цитокінів, інтерферону, пролі-

феративну відповідь Т-клітин на антигени й мітогени [5].

Незважаючи на те, що арсенал сучасних мазевих лікарських засобів налічує кілька десятків найменувань, проблема лікування ран після термічного ушкодження далека від свого рішення, тому актуальним є пошук і створення нових препаратів з протизапальною й репаративною активністю. Перспективним напрямом фармакології є посилення вже відомих властивостей препаратів шляхом включення наночастинок, зокрема наночастинок срібла (НЧС), які мають імунomodуючий, протимікробний, протизапальний ефекти [6; 7]. Нещодавно створена нова субстанція, яка містить тіотриазолін і НЧС [8; 9]. Субстанція отримана в Міжнародному центрі електронно-променевих технологій Інституту елек-

трозварювання імені Є. О. Патона НАН України (метод отримання НЧС, запропонований академіком Б. А. Мовчаном [11], полягає в електронно-променевому випаровуванні й конденсації речовин у вакуумі). На основі субстанції спільно з ОАО «Хімфармзавод “Червона зірка”» виготовлена мазь тіотриазоліну, яка містить НЧС [8; 9].

З огляду на те, що однією з умов успішного загоєння термічного опіку є нормалізація цитокінового профілю, метою нашої роботи стало вивчення впливу мазі тіотриазоліну з НЧС на вміст прозапального цитокіна — ІЛ-1 β та протизапального цитокіна — ІЛ-10 у вогнищі ушкодження.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проводилися на 126 щурах популяції WAG масою 200–250 г. Тварини були розділені на 6 груп, у кожній групі по 6 щурів: 1 — інтактні; 2 — експериментальний опік (без лікування, контроль), 3 — опік + «Мазь тіотриазоліну 2 %» (ОАО «Хімфармзавод “Червона зірка”», Україна), препарат порівняння 1; 4 — опік + «Мазь метилурацилова 10 %» (ОАО «Нижфарм», Російська Федерація), препарат порівняння 2; 5 — опік + мазь «Сульфатіазол срібла» (Фармзавод Ельфа А. О., Польща), препарат порівняння 3; 6 — опік + мазь тіотриазоліну з НЧС (0,00081 %) [9], основна група. Дана концентрація отримана в результаті скринінгових досліджень протизапальної дії мазі з різною концентрацією НЧС. Тваринам 2–6-ї груп на попередньо поголеній ділянці спини викликали термічний опік III В ступеня [12]. Мазі наносили відразу після термічного ушкодження та щодня протягом наступних 28 діб. Тварин виводили з експерименту відповідно до правил біоетики на 7-му, 14-ту, 21-шу і 28-му добу. ІЛ-1 β і ІЛ-10 у вогнищі визначали імуноферментним методом за допомогою тест-системи фірми "Bender MedSystem" (Німеччина) відповідно до наданої до набору інструкції на імуноферментному аналізаторі "Labline-90" (Австрія) [13]. Отримані дані оброблялися статистично методом варіаційної статистики, при порівнянні вибірок — за допомогою критерію Стьюдента [14].

Результати дослідження та їх обговорення

У групі без лікування показники ІЛ-1 β у вогнищі були вище норми протягом усього експерименту (табл. 1).

Під впливом мазі тіотриазоліну вміст ІЛ-1 β знижувався й досягав показників інтактних тварин на 28-му добу (див. табл. 1).

На 7-му добу при використанні лікарських засобів «Мазь метилурацилова 10 %» й «Сульфатіазол срібла» рівень ІЛ-1 β достовірно не відрізнявся від контролю (групи без лікування). Таким чином, усі препарати порівняння «Мазь тіотриазоліну 2 %», «Мазь метилурацилова 10 %» й «Сульфатіазол срібла» надають приблизно однаковий, але недостатній вплив на рівень прозапального ІЛ-1 β (знижуючи його вміст у вогнищі, але відновлюючи лише на 28-му добу).

Найбільш виражену дію на вміст ІЛ-1 β надавала мазь тіотриазоліну з НЧС. Спостерігалось достовірне зниження вмісту ІЛ-1 β у шкірі на 7-му, 14-ту, 21-шу і 28-му добу порівняно з референт-препаратами (див. табл. 1).

Наші дослідження показали, що термічний опік супроводжується різким падінням вмісту ІЛ-10 з поступовим його підвищенням, але не відновленням, в усі досліджувані терміни. Так, вміст ІЛ-10 у вогнищі ураження в групі без лікування був знижений на 7-му добу — на 43 %, на 14-ту добу — на 23 % і достовірно не відрізнявся від норми на 21-шу і 28-му добу (табл. 2).

Під впливом мазі тіотриазоліну й мазі метилурацилової на 7-му добу вміст ІЛ-10 у шкірі практично не змінювався, тобто був таким, як у групі без лікування (удвічі нижчий за норму). При застосуванні мазі «Сульфатіазол срібла» концентрація ІЛ-10 підвищувалася, порівняно з контролем, на 22 % (див. табл. 2). На 14-ту добу вміст ІЛ-10 достовірно не відрізнявся від контролю (усі препарати порівняння).

На 21-шу добу рівень ІЛ-10 у вогнищі був вищим порівняно з контролем при використанні засобів: «Мазь тіотриазоліну 2 %» — на 49 %, «Мазь

Таблиця 1

Вплив мазі тіотриазоліну з наночастинками срібла на рівень ІЛ-1 β (пг/г білка) у вогнищі ушкодження щурів при термічному опіку, $M \pm m$

Група	Терміни спостереження, доба			
	7-ма	14-та	21-ша	28-ма
Інтактні	33,91 \pm 4,42			
Контроль	79,21 \pm 4,85*	91,26 \pm 6,21*	78,23 \pm 3,55*	42,24 \pm 2,65*
Мазь тіотриазоліну	81,71 \pm 3,72*^	70,40 \pm 3,50*#^	51,07 \pm 2,33*#^	35,33 \pm 1,95#^
Мазь метилурацилова	83,20 \pm 3,25*^	73,06 \pm 2,70*#^	57,78 \pm 2,53*#^	34,76 \pm 2,17#^
Мазь сульфатіазол срібла	80,24 \pm 4,48*^	67,79 \pm 3,48*#^	52,50 \pm 2,70*#^	34,92 \pm 1,96#^
Мазь тіотриазоліну з НЧС	71,54 \pm 2,38*#	46,37 \pm 3,27*#	40,60 \pm 2,39*#	32,05 \pm 1,96#

Примітка. У табл. 1 і 2 достовірність відмінностей порівняно: * — з інтактними ($p \leq 0,05$); # — з контролем ($p \leq 0,05$); ^ — з маззю на основі тіотриазоліну і НЧС ($p \leq 0,05$).

**Вплив мазі тіотриазоліну з наночастинками срібла на рівень ІЛ-10 (пг/г білка)
у вогнищі ушкодження шкурів при термічному опіку, М±m**

Група	Терміни спостереження, доба			
	7-ма	14-та	21-ша	28-ма
Інтактні	21,38±2,34			
Контроль	12,12±1,63*	16,37±1,72*	17,81±3,47	20,37±2,9
Мазь тіотриазоліну	14,44±2,76*	18,60±2,50^	26,58±3,41*#	21,71±3,67
Мазь метилурацилова	14,69±2,47*	18,65±2,67^	26,14±2,12*#	21,39±3,14
Мазь сульфатіазол срібла	14,81±1,24*#	18,13±2,94^	25,84±2,86*#	22,65±3,07
Мазь тіотриазоліну з НЧС	16,06±1,88*#	22,66±1,48#	25,94±2,38*#	22,76±2,89

метилурацилова 10 %» — на 47 %, мазь «Сульфатіазол срібла» — на 45 %.

На 28-му добу всі референт-препарати нормалізували вміст ІЛ-10 у шкірі шкурів, які зазнали термічного опіку (див. табл. 2).

Найбільш виражену дію на вміст ІЛ-10 мала мазь тіотриазоліну, що містить НЧС. Застосування досліджуваної мазі приводило до більш швидкого й значного підвищення вмісту ІЛ-10 у шкірі порівняно з контролем протягом усього дослідження. Мазь тіотриазоліну з НЧС виявилася ефективнішою щодо всіх препаратів порівняння. Досліджувана мазь збільшувала вміст ІЛ-10 на 14-ту добу (відносно мазі тіотриазоліну — на 22 %, мазі метилурацилової — на 22 %, мазі сульфатіазол срібла — на 25 %).

Таким чином, мазь тіотриазоліну з НЧС надавала найбільш вираженого фармакологічного ефекту щодо відновлення цитокінового балансу, тому що активніше знижувала вміст ІЛ-1β й підвищувала рівень ІЛ-10 у вогнищі ушкодження шкіри.

Висновки

1. Мазь тіотриазоліну з НЧС зменшує різко зростаючий внаслідок термічного опіку вміст прозапального цитокіна ІЛ-1β у вогнищі, відновлюючи його на 28-му добу.

2. Мазь тіотриазоліну з НЧС збільшує (нормалізує) вміст протизапального цитокіна ІЛ-10, дефіцит якого спостерігається внаслідок термічного опіку.

3. За впливом на відновлення цитокінового балансу мазь тіотриазоліну з НЧС перевершує ефект препаратів порівняння.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Ожоги* // Информационный бюллетень № 365 ВОЗ, апрель 2014 г. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs365/ru/>
2. *Звягинцева Т. В.* Провоспалительные цитокины в развитии экспериментального ожога / Т. В. Звягинцева, А. В. Кривошапка, С. И. Миرونченко // Актуальні проблеми сучасної медицини : Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2010. – Т. 10, № 4. – С. 78–82.
3. *Имашева А. К.* Особенности регенераторных процессов кожи при термических ожогах / А. К. Имашева, М. В. Лазько // Фундаментальные исследования. – 2009. – № 5. – С. 22–24.

4. *Assessment of IL-6, IL-8 and TNF-α levels in the gingival tissue of patients with periodontitis* / Min Ki Noh, Min Jung, Soo Hwan Kim [et al.] // *Experimental and therapeutic medicine*. – 2013. – № 6. – P. 847–851.

5. *Белова О. В.* Роль цитокинов в иммунологической функции кожи / О. В. Белова, В. Я. Арион, В. И. Сергиенко // *Иммунология, аллергология, инфектология*. – 2008. – № 1. – С. 41–55.

6. *Negligible particle-specific antibacterial activity of silver nanoparticles* / Xiu Z-M [et al.] // *Nano Lett.* – 2012. – Vol. 12, N 8. – P. 4271–4275.

7. *Фотопротекторное действие мази тиотриазолина с наночастицами серебра при ультрафиолетовом облучении кожи морских свинок* / В. Н. Лесовой, Т. В. Звягинцева, В. В. Гринь, С. И. Миرونченко // *Фундаментальные исследования*. – 2013. – № 9 (часть 3). – С. 396–399.

8. *Пат. 77777* Україна, МПК А61К 9/06 (2006.01) А61К 33/38 (2006.01) А61Р 29/00 Спосіб підвищення протизапальної активності фармацевтичних засобів у м'якій лікарській формі / Лісовий В. М., Звягинцева Т. В., Трутаєв І. В., Миرونченко С. І.; заявник та власник Трутаєв І. В. – № u201210159; заявл. 27.08.2012; опубл. 25.02.2013; Бюл. № 4/2013.

9. *Пат. 77770* Україна, МПК А61К 9/06 (2006.01) А61К 33/38 (2006.01) А61Р 29/00 Фармацевтичний засіб з протизапальною активністю, виконаний у м'якій лікарській формі / Лісовий В. М., Звягинцева Т. В., Трутаєв І. В., Миرونченко С. І.; заявник та власник Трутаєв І. В. – № u201210131; заявл. 23.08.2012; опубл. 25.02.2013; Бюл. № 4/2013.

10. *Гринь И. В.* Влияние мази тиотриазолина с наночастицами серебра на заживление термического ожога у крыс [Электронный ресурс] / И. В. Гринь, С. И. Миرونченко, В. В. Гринь // *Международный студенческий научный вестник*. – 2014. – № 2. – Режим доступа: www.eduherald.ru/119-11847.

11. *Мовчан Б. А.* Электронно-лучевая гибридная нанотехнология осаждения неорганических материалов в вакууме / Б. А. Мовчан // *Актуальные проблемы современного материаловедения*. – 2008. – Т. 1. – С. 227–247.

12. *Кривошапка А. В.* Роль провоспалительных цитокинов в механизмах хронизации ожоговой раны: дис. ... канд. мед. наук: 14.03.04 / Кривошапка Александр Викторович. – Х., 2012. – 150 с.

13. *Сенников С. В.* Методы определения цитокинов / С. В. Сенников, А. Н. Силков // *Цитокины и воспаление*. – 2005. – Т. 4, № 1. – С. 22–27.

14. *Гланц С.* Медико-биологическая статистика / С. Гланц. – М.: Практика, 1998. – 459 с.

Надійшла 2.03.2017

Рецензент д-р мед. наук, проф. Р. С. Вастьянов