

УДК 615.27:615.454.1:615.31:546.57-022.532:616-001.17-092.9:57.083.3.

ВЛИЯНИЕ МАЗИ ТИОТРИАЗОЛИНА С НАНОЧАСТИЦАМИ СЕРЕБРА НА СОДЕРЖАНИЕ IL-10 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И ОЧАГЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ТЕРМИЧЕСКОМ ОЖОГЕ

Гринь И.В., Звягинцева Т.В.

*Харьковский национальный медицинский университет, Харьков,
iscil9uwa9@mail.ru*

Изучено влияние мази тиотриазолина с наночастицами серебра на уровень IL-10 в сыворотке крови и очаге повреждения при экспериментальном термическом ожоге у крыс. Установлено, что мазь тиотриазолина с наночастицами серебра увеличивает / нормализует содержание противовоспалительного цитокина IL-10 в очаге и крови, дефицит которого наблюдается вследствие термического ожога. По влиянию на цитокиновый профиль мазь тиотриазолина с наночастицами серебра превосходит эффект препаратов сравнения («Мазь тиотриазолина 2%», «Мазь метилурациловая 10%» и мазь «Аргосульфан»).

Ключевые слова: мазь тиотриазолина, наночастицы серебра, термический ожог, интерлейкин-10.

В связи с повышением частоты возникновения термических поражений кожи и смертности пациентов актуальной остается проблема лечения ожоговых ран [1].

Термический ожог сопровождается гипериндукцией функционирования цитокиновой системы в организме [2]. IL-10 является ключевым противовоспалительным цитокином, который подавляет продукцию провоспалительных цитокинов, интерферона, пролиферативный ответ Т-клеток на антигены и митогены [3].

Хотя арсенал современных мазевых лекарственных средств насчитывает несколько десятков наименований, проблема лечения ран после термического повреждения далека от своего решения, поэтому актуальным является поиск и создание новых препаратов с противовоспалительной и репаративной активностью. Перспективным направлением фармакологии является усиление уже известных свойств препаратов путем включения наночастиц, в частности наночастиц серебра (НЧС), обладающих иммуномодулирующим,

противомикробным, противовоспалительным эффектами [4, 5]. Недавно создана новая субстанция, содержащая тиотриазолин и НЧС [6, 7]. Ранее мы обнаружили положительный эффект мази, созданной на основе новой субстанции, на заживление ожоговой раны [8]. Субстанция получена в Международном центре электронно-лучевых технологий Института электросварки им. Е.О. Патона НАН Украины (метод получения НЧС, предложенный академиком Б.А. Мовчаном [9], состоит в электронно-лучевом выпаривании и конденсации веществ в вакууме). На основе субстанции совместно с ОАО «Химфармзавод «Червона зірка» изготовлена мазь тиотриазолина, которая содержит НЧС [6, 7].

Материалы и методы

Исследования проведены на 126 крысах популяции WAG массой 200–250 г. Животные были разделены на 6 групп, в каждой группе по 6 крыс: 1 – интактные; 2 – экспериментальный ожог (без лечения, контроль), 3 – ожог + «Мазь тиотриазолина 2%» (ОАО «Химфармзавод «Червона зірка», Украина),

препарат сравнения 1; 4 – ожог + «Мазь метилурациловая 10%» (ОАО «Нижфарм», Российская Федерация), препарат сравнения 2; 5 – ожог + мазь «Аргосульфан» (Фармзавод Ельфа А.О., Польша), препарат сравнения 3; 6 – ожог + мазь тиотриазолина с НЧС (0,00081%, концентрация определена в результате скрининговых исследований противовоспалительного действия мази) [7], основная группа. Данная концентрация получена с разной концентрацией НЧС. Животным всех групп на предварительно выстриженном участке спины вызывали термический ожог III В степени [10]. Мази наносили сразу

после термического воздействия и ежедневно в течение последующих 28 суток. Животных выводили из эксперимента в соответствии с правилами биоэтики на 7, 14, 21 и 28 сутки. Содержание IL-10 в крови и очаге определяли иммуноферментным методом с помощью тест-системы фирмы «Bender MedSystem» (Германия) согласно прилагаемой к набору инструкции на иммуноферментном анализаторе «Labline-90» (Австрия) [11]. Полученные данные обрабатывались статистически методом вариационной статистики, при сравнении выборок – с помощью критерия Стьюдента [12].

Таблица 1

Влияние мази тиотриазолина с НЧС на уровень IL-10 (пг/мл) в сыворотке крови крыс при термическом ожоге (M±m)

Группы	Сроки наблюдения (сутки)			
	7-е	14-е	21-е	28-е
Интактные	52,72±2,61			
Контроль	24,68±2,10*	34,59±3,88*	42,23±4,18*	46,19±3,50*
Мазь тиотриазолина	23,45±3,16*^	50,38±2,55#^	64,83±3,35*#^	52,79±3,07#
Мазь метилурациловая	23,74±3,01*^	51,67±2,30#^	62,96±4,46*#^	51,71±3,27#
Мазь аргосульфана	23,08±3,60*^	50,12±2,73#^	62,80±4,40*#^	52,36±3,24#
Мазь тиотриазолина с НЧС	29,40±2,26*#	56,83±2,11*#	72,21±2,81*#	55,00±3,64#

Примечания:

* - p < 0,05 – достоверность отличий по сравнению с интактными

- p < 0,05 – достоверность отличий по сравнению с контролем

^ - p < 0,05 – достоверность отличий по сравнению с мазью на основе тиотриазолина и НЧС

Таблица 2

Влияние мази тиотриазолина с НЧС на уровень IL-10 (пг/г белка) в очаге поражения у крыс при термическом ожоге (M±m)

Группы	Сроки наблюдения (сутки)			
	7-е	14-е	21-е	28-е
Интактные	21,38±2,34			
Контроль	12,12±1,63*	16,37±1,72*	17,81±3,47	20,37±2,9
Мазь тиотриазолина	14,44±2,76*	18,60±2,50^	26,58±3,41*#	21,71±3,67
Мазь метилурациловая	14,69±2,47*	18,65±2,67^	26,14±2,12*#	21,39±3,14
Мазь аргосульфана	14,81±1,24*#	18,13±2,94^	25,84±2,86*#	22,65±3,07
Мазь тиотриазолина с НЧС	16,06±1,88*#	22,66±1,48#	25,94±2,38*#	22,76±2,89

Примечания:

* - p < 0,05 – достоверность отличий по сравнению с интактными

- p < 0,05 – достоверность отличий по сравнению с контролем

^ - p < 0,05 – достоверность отличий по сравнению с мазью на основе тиотриазолина и НЧС

Результаты и их обсуждение

Наши исследования показали, что термический ожог сопровождается резким падением содержания IL-10 в сыворотке крови и в коже с постепенным его повышением, но не восстановлением, во все изучаемые сроки. Так, концентрация IL-10 в крови крыс контрольной группы была достоверно ниже нормы на 7 сутки – на 53%, на 14 сутки – на 34%, на 21 сутки – на 20%, на 28 сутки – на 12% (табл. 1). В очаге поражения в группе без лечения содержание IL-10 было снижено на 7 сутки – на 43%, на 14 сутки – на 23% и достоверно не отличалось от нормы на 21 и 28 сутки (табл. 2).

Под влиянием мази тиотриазолина и мази метилурациловой на 7 сутки содержание IL-10 в крови и коже практически не изменялось, то есть было как в группе без лечения (вдвое ниже нормы). При применении мази аргосульфана уровень IL-10 в крови также достоверно не отличался от группы без лечения, а в коже повышался по сравнению с контролем на 22% (табл. 1, табл. 2).

На 14 сутки все референт-препараты повышали концентрацию IL-10 в крови до нормы. Под влиянием мази тиотриазолина уровень IL-10 в крови был выше по сравнению с контрольной группой на 46%, мази метилурациловой – на 49%, аргосульфана – на 45%; содержание IL-10 в коже достоверно не отличалось от контроля (все препараты сравнения).

На 21 сутки концентрация IL-10 в крови и коже была выше в сравнении с контролем при использовании «Мазь тиотриазолина 2%» на 54% и 49%, «Мазь метилурациловая 10%» – на 49% и 47%, «Аргосульфана» – на 49% и 45% соответственно.

На 28 сутки все референт-препараты нормализовали содержание IL-10 в крови и коже крыс, подвергшихся термическому ожогу (1-й препарат

сравнения повышал концентрацию IL-10 в крови на 14%, 2-й – на 12%, 3-й – на 13% относительно контроля; в коже изучаемый показатель достоверно не отличался от группы без лечения при использовании всех референт-препаратов).

Наиболее выраженное действие на содержание IL-10 в крови и очаге оказала мазь тиотриазолина, содержащая НЧС. Применение изучаемой мази приводило к более быстрому и значительному повышению содержания IL-10 в крови и коже по сравнению с контролем в течение всего времени исследования. Мазь тиотриазолина с НЧС оказалась эффективнее относительно всех препаратов сравнения. Под ее влиянием на 7, 14 и 21 сутки концентрация IL-10 в крови была выше по сравнению с мазью тиотриазолина на 25%, 13% и 11% соответственно; с мазью метилурациловой – на 24%, 10% и 15% соответственно; с аргосульфанами – на 27%, 13% и 15% соответственно. На 28 сутки уровень IL-10 в крови достоверно не отличался от референт-препаратов. В очаге изучаемая мазь увеличивала содержание IL-10 на 14 сутки (относительно мази тиотриазолина – на 22%, мази метилурациловой – на 22%, мази аргосульфана – на 25%).

Таким образом, мазь тиотриазолина с НЧС оказывает наиболее выраженный фармакологический эффект в отношении IL-10, увеличивая его содержание в крови и очаге термического ожога. О восстановлении цитокинового баланса под влиянием изучаемой мази можно судить после исследования ее влияния на ключевые провоспалительные цитокины, что и составит задачу наших будущих исследований.

Выводы

1. Мазь тиотриазолина с НЧС увеличивает (нормализует) содержание противовоспалительного цитокина IL-10 в очаге и крови, дефицит которого наблюдается вследствие

термического ожога.

- По влиянию на цитокиновый профиль мазь тиотриазолина с НЧС превосходит эффект препаратов сравнения: мазь тиотриазолина 2%», мазь метилурациловая 10% и мазь аргосульфан.

Литература

- Theron A. Comparison of three techniques using the Parkland Formula to aid fluid resuscitation in adult burns / A. Theron, O. Bodger, D. Williams // *Emerg. Med. J.* – 2014. – № 31 (9). – P. 730–735.
- Симбирцев А. С. Цитокиновая система регуляции защитных реакций организма / А. С. Симбирцев // *Цитокины и воспаление.* – 2002. – Т. 1, № 1. – С. 9–16.
- Regulation of T-cells and cytokines by the interleukin-10 (IL-10)-family cytokines IL-19, IL-20, IL-22, IL-24 and IL-26 / H. B. Oral, S. V. Kotenko, M. Yilmaz [et al.] // *Eur J Immunol.* – 2005. – № 36 (2). – P. 380–388.
- Negligible particle-specific antibacterial activity of silver nanoparticles / Xiu Z-M [et al.] // *Nano Lett.* – 2012. – Vol. 12, № 8. – P. 4271–4275.
- Лесовой В. Н. Фотопротекторное действие мази тиотриазолина с наночастицами серебра при ультрафиолетовом облучении кожи морских свинок / В. Н. Лесовой, Т. В. Звягинцева, В. В. Гринь, С. И. Миронченко // *Фундаментальные исследования.* – 2013. – №9 (часть 3). – С. 396–399.
- 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., Звягінцева Т. В., Трутаєв І. В., Миронченко С. І.; заявник та власник Трутаєв І. В. – № u201210159 ; заяв. 27.08.2012 ; опуб. 25.02.2013 ; бюл. № 4/2013.
- 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., Звягінцева Т. В., Трутаєв І. В., Миронченко С. І.; заявник та власник Трутаєв І. В. – № u201210131 ; заяв. 23.08.2012 ; опуб. 25.02.2013 ; бюл. № 4/2013.

- Гринь И. В. Влияние мази тиотриазолина с наночастицами серебра на заживление термического ожога у крыс [Электронный ресурс] / И. В. Гринь, С. И. Миронченко, В. В. Гринь // *Международный студенческий научный вестник.* – 2014. – №2. – Режим доступа: www.eduherald.ru/119-11847.
- Мовчан Б. А. Электронно-лучевая гибридная нанотехнология осаждения неорганических материалов в вакууме // *Актуальные проблемы современного материаловедения.* – 2008. – Т. 1. – С. 227–247.
- Кривошапка А. В. Роль провоспалительных цитокинов в механизмах хронизации ожоговой раны: дис. ... канд. мед. наук. – Х., 2012. – 150 с.
- Сенников С. В. Методы определения цитокинов / С. В. Сенников, А. Н. Силков // *Цитокины и воспаление.* – 2005. – Т. 4, № 1. – С. 22–27.
- Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. – М.: Практика, 1998. – 459 с.

References

- Theron A. Comparison of three techniques using the Parkland Formula to aid fluid resuscitation in adult burns / A. Theron, O. Bodger, D. Williams // *Emerg. Med. J.* – 2014. – № 31 (9). – P. 730–735.
- Simbirtsev A. S. Cytokine regulation system of host defense reactions / A. S. Simbirtsev // *Cytokines and inflammation.* – 2002. – Vol. 1, № 1. – P. 9–16. (in Russian)
- Regulation of T-cells and cytokines by the interleukin-10 (IL-10)-family cytokines IL-19, IL-20, IL-22, IL-24 and IL-26 / H. B. Oral, S. V. Kotenko, M. Yilmaz [et al.] // *Eur. J. Immunol.* – 2005. – № 36 (2). – P. 380–388.
- Negligible particle-specific antibacterial activity of silver nanoparticles / Xiu Z-M [et al.] // *Nano Lett.* – 2012. – Vol. 12, № 8. – P. 4271–4275.
- Lesovoy V. N. The photoprotective effect of ointment with Thiotriazoline silver nanoparticles in experimental ultraviolet irradiation / V. N. Lesovoy, T. V. Zvyagintseva, V. V. Grin, S. I. Mironchenko // *Basic research.* – 2013. – № 9 (Part 3). – P. 396–399. (in Russian)
- Ukraine Patent 77777, IPC A61K 9/06 (2006.01) A61K 33/38 (2006.01) A61P 29/00

- 00 Method of anti-inflammatory activity increasing in pharmaceutical dosage soft form / Lesovoy V. N., Zvyagintseva T. V., Trutayev I. V., Mironchenko S. I.; applicant and owner Trutayev I. V. – № u201210159; applications 27.08.2012; published 02/25/2013; newsletter № 4/2013. (in Ukrainian)
7. Ukraine Patent 77770, IPC A61K 9/06 (2006.01) A61K 33/38 (2006.01) A61P 29/00 Pharmaceutical agent with anti-inflammatory activity, made in soft dosage form / Lesovoy V. N., Zvyagintseva T. V., Trutayev I. V., Mironchenko S. I.; applicant and owner Trutayev I. V.– № u201210131 ; applications 23.08.2012 ; published 25.02.2013 ; newsletter № 4/2013. (in Ukrainian)
 8. Grin I. V. Influence of ointment with Thiotriazoline and silver nanoparticles on the thermal burns healing at rats [Electronic resource] / I. V. Grin, S. I. Mironchenko, V. V. Grin // International student research messenger. – 2014. – № 2. – Access mode: www.eduherald.ru/119-11847. (in Russian)
 9. Movchan B. A. Cathode ray hybrid nanotechnology deposition of inorganic materials in a vacuum // Actual problems of modern materials. – 2008. – Vol. 1 – P. 227-247. (in Russian)
 10. Krivoshapka A.V. The role of inflammatory cytokines in the mechanisms of burn wound chronicity: the dis. ... the candidate of medical sciences : 14.03.04 / Krivoshapka Alexander. – Kh., 2012. – 150 p. (in Russian)
 11. Sennikov S. V. Methods for determination of cytokine / S. V. Sennikov, A. N. Silkov // Cytokines and inflammation. – 2005. – Vol. 4, № 1. – P. 22–27. (in Russian)
 13. Glantz S. Biomedical statistics / S. Glantz. – M. : Practice, 1998. – 459 p. (in Russian)

Резюме

ВПЛИВ МАЗІ ТІОТРИАЗОЛІНУ З НАНОЧАСТКАМИ СРІБЛА НА ВМІСТ ПРОТИЗАПАЛЬНОГО ЦИТОКІНУ IL-10 В СИРОВАТЦІ КРОВІ Й ВОГНИЩІ ПОШКОДЖЕННЯ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ТЕРМІЧНОМУ ОПІКУ

Гринь І.В., Звягінцева Т.В.

Вивчено вплив мазі тіотриазоліну з наночастками срібла на рівень IL-10

в сироватці крові й вогнищі пошкодження при експериментальному термічному опіку у щурів. Встановлено, що мазь тіотриазоліну з наночастками срібла збільшує / нормалізує вміст протизапального цитокіну IL-10 у вогнищі й крові, дефіцит якого спостерігається внаслідок термічного опіку. За впливом на цитокіновий профіль мазь тіотриазоліну з наночастками срібла перевершує ефект препаратів порівняння («Мазь тіотриазоліну 2%», «Мазь метилурацилова 10%» і мазь «Аргосульфан»).

Ключові слова: мазь тіотриазоліну, наночастки срібла, термічний опік, інтерлейкін-10.

Summary

EFFECT OF THIOTRIAZOLINE OINTMENT WITH SILVER NANOPARTICLES ON THE CONTENT OF ANTI-INFLAMMATORY CYTOKINE IL-10 IN SERUM AND FOCUS OF DAMAGE AT EXPERIMENTAL THERMAL BURNS

Grin I.V., Zvyagintseva T.V.

The effect of Thiotriazoline ointment with silver nanoparticles on the level of IL-10 in serum and focus of damage at experimental thermal burns in rats was study. It was found that Thiotriazoline ointment with silver nanoparticles increases / normalizes the content of anti-inflammatory cytokine IL-10 in focus and blood which deficiency occurs as a result of thermal burn. The effect of Thiotriazoline ointment with silver nanoparticles on the cytokine profile is superior to the effect of comparator drugs («Thiotriazoline Ointment 2%», «Methyluracilum Ointment 10%» and ointment «Argosulfan»).

Key words: *Thiotriazoline ointment, silver nanoparticles, thermal burn, interleukin-10.*

Впервые поступила в редакцию 17.04.2015 г. Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования