

УДК 615.27:615.454.1:615.31:546.57-022.532:616-001.17-092.9-018:546.172.6

ВЛИЯНИЕ МАЗИ ТИОТРИАЗОЛИНА С НАНОЧАСТИЦАМИ СЕРЕБРА НА МЕТАБОЛИТЫ ОКСИДА АЗОТА ПРИ УЛЬТРАФИОЛЕТ-ИНДУЦИРОВАННЫХ ПОВРЕЖДЕНИЯХ КОЖИ МОРСКИХ СВИНОК

Миронченко С. И.

*Харьковский национальный медицинский университет,
s.mironchenko@ukr.net*

Исследовано влияние мази, содержащей тиотриазолин и наночастицы серебра, на метаболиты оксида азота (суммарные, нитрит-анион, нитраты) и активность индуцибельной NO-синтазы в крови морских свинок в эритемные сроки после локального ультрафиолетового облучения кожи. Противовоспалительное действие мази тиотриазолина сопровождается уменьшением изучаемых показателей на 3-и сутки. Включение наночастиц серебра в субстанцию тиотриазолина усиливает иммунопротекторное действие мази (уменьшение концентрации всех метаболитов оксида азота и активности индуцибельной синтазы в крови через 4 часа после облучения с нормализацией данных показателей к 3-м суткам).

Ключевые слова: метаболиты оксида азота, ультрафиолетовое облучение кожи, мазь тиотриазолина, наночастицы серебра

Современная концепция патогенеза ультрафиолетового облучения (УФО) кожи предусматривает ведущую роль иммунных нарушений [1]. Однако представления об обеспечивающих их механизмах и пути коррекции продолжают активно изучаться. Важным медиатором воспаления и иммунной системы, с которым связано регуляторное и защитное действие на организм, является оксид азота (NO) [2]. Малые количества NO, образующиеся под влиянием конститутивной NO-синтазы (c-NOS), участвуют в поддержке гомеостатических параметров организма. Под воздействием воспалительных цитокинов и активных форм кислорода, бактериальных продуктов, экспрессируется индуцибельная NO-синтаза (i-NOS), обеспечивая синтез большого количества NO, способного оказывать токсическое, повреждающее действие на клетку [3]. Поэтому изучение содержания метаболитов NO в сыворотке крови представляется перспективным в плане уточнения патогенеза и обоснования методов лечения УФ-индуцированных повреждений кожи.

Харьковским национальным медицинским университетом предложена новая субстанция, содержащая тиотриазолин (обладает антиоксидантным действием) и наночастицы серебра (НЧС) [4]. Субстанция получена в Международном центре электронно-лучевых технологий Института электросварки им. Е.О. Патона НАН Украины, возглавляемого академиком Б.Е. Патонем. Метод получения НЧС, предложенный академиком Б. А.Мовчаном [5], состоит в электронно-лучевом выпаривании и конденсации веществ в вакууме и отличается от других методов вакуумного выпаривания универсальностью, технологической гибкостью, производительностью и экономичностью. На основе субстанции совместно с ОАО «Химфармзавод «Красная звезда» изготовлена мазь метилурацила, которая содержит НЧС [4].

Цель исследования – изучение влияния мази, содержащей тиотриазолин и наночастицы серебра, на метаболиты NO и активность индуцибельной NO-синтазы в крови морских свинок в эритемные

сроки после локального ультрафиолетового облучения кожи.

Материалы и методы

Исследования были выполнены на 42 морских свинок, разделенных на 4 группы: 1 – интактные; 2 – контроль, без лечения (УФО); 3 – препарат сравнения (УФО+мазь тиотриазолина 2 % (ОАО «Химфармзавод «Красная звезда», Украина)); 4 – основная (УФО+мазь, содержащая тиотриазолин и НЧС (0,00081 %)). Данная концентрация получена в результате скрининговых исследований противовоспалительного действия мази с разной концентрацией НЧС [4].

Фотопротекторную активность лекарственных средств изучали на модели острого экссудативного воспаления – УФ-эритемы [6]. Уровень повреждающего действия оценивали по интенсивности и длительности эритемной реакции. Эритему учитывали через 1, 2, 4 часа и 3 суток после облучения и оценивали в баллах для каждого пятна: 0 – отсутствие эритемы, 1 – слабая эритема, 2 – четко выраженная эритема. Суммировали интенсивность трех пятен [6]. Мази наносили на поврежденный участок кожи за 1 час до и через 2 часа после облучения, а затем ежедневно в течение 3-х суток. Эксперименты на животных проведены в соответствии с требованиями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, использующихся в экспериментальных и других научных целях, законом Украины «О защите животных от жестокого отношения». Через 4 часа и на 3-и сутки в сыворотке крови определяли содержание общих метаболитов NO, нитрит-аниона, нитратов спектрофотометрическим методом [7], концентрацию индуцибельной NO-синтазы [8].

Результаты исследований обрабатывали стан-

дартными методами вариационной статистики [9].

Результаты исследования и их обсуждение.

Динамика эритемной реакции представлена в табл. 1.

У всех морских свинок после локального УФО развивалась эритема. Через 1 час после облучения суммарная эритема составляла 3,5 балла, через 2 часа – 4,8 балла. Через 4 часа после облучения регистрировался максимум, когда суммарная интенсивность 5-и пятен возрастала до 9,2 балла. На 3-и сутки интенсивность суммарной эритемы была выраженной, составляя 7,7 баллов (табл.1).

Исследования содержания метаболитов NO в крови морских свинок показали, что через 4 часа после облучения содержание всех метаболитов значительно превышало показатели у интактных морских свинок: суммарные метаболиты – в 1,6 раза (рис. 1,а), нитраты – в 1,5 раза (рис. 1,б), нитрит-анион – в 2,6 раза (рис. 1,в).

На 3-и сутки уровень метаболитов NO оставался по-прежнему высоким: суммарных метаболитов превышал норму в 2 раза (рис. 1,а), нитратов – в 1,9 раза (рис. 1,б), нитрит-аниона – в 2,6 раза (рис. 1,в). Активность iNOS через 4 часа после облучения увеличивалась в 2,1 раза, на 3-и сутки – в 3,1 раза по сравнению с интактными животными (рис. 1,г).

При применении мази тиотриазолина суммарная эритема через 1 час составляла 2,5 балла, через 2 часа – 3,5 балла. Через 4 часа после облучения

Таблица 1

Суммарная интенсивность в баллах эритемной реакции кожи морских свинок, подвергшихся локальному УФО

Группа животных	Время после облучения			
	1 час	2 часа	4 часа	3 суток
УФО	3,5 (2-5)	4,8 (4-6)	9,2 (8-10)	7,7 (7-8)
УФО+мазь тиотриазолина	2,5 (2-3)	3,5 (3-4)	4,8 (4-6)	4,2 (4-5)
УФО+ мазь тиотриазолина, содержащая НЧС	1,5 (1-2)	2,2 (2-3)	3,8 (3-5)	3,0 (2-4)

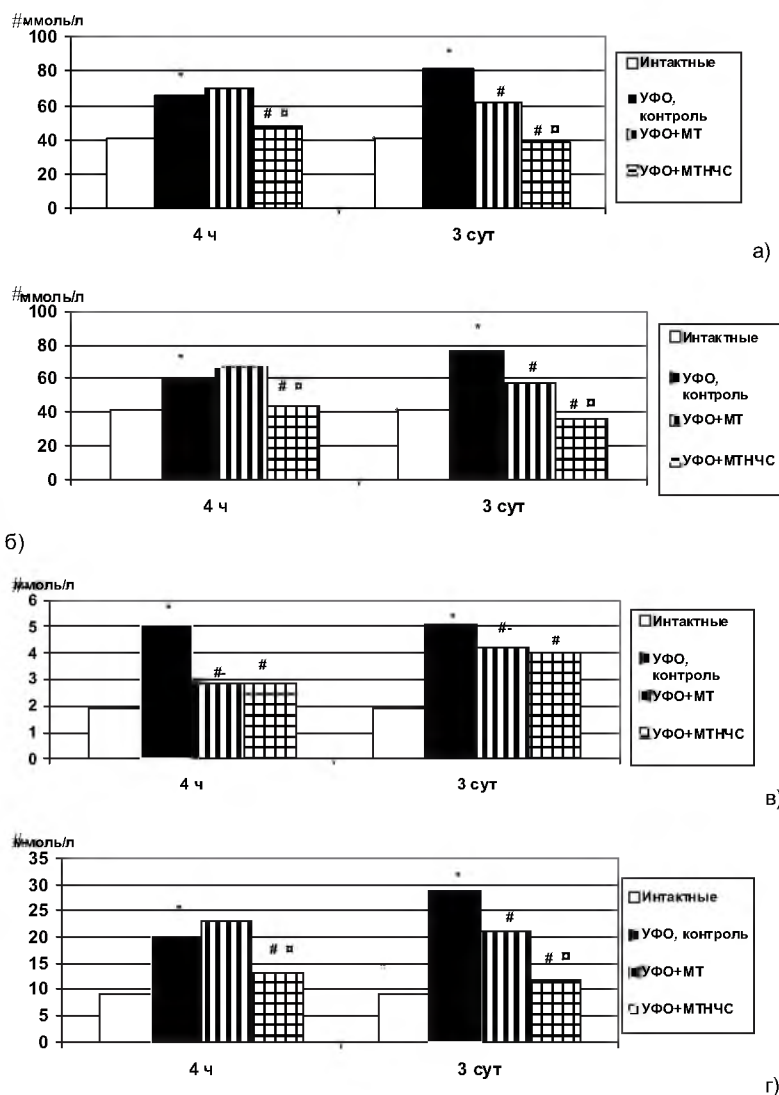


Рис. 1. Содержание суммарных метаболитов NO (а), нитратов (б), нитрит-аниона (в) и активность индуцибельной синтазы (г) в крови морских свинок при УФО

*-достоверно относительно интактных ($p < 0,05$)

#-достоверно относительно контроля без лечения ($p < 0,05$)

□-достоверно относительно мази тиотриазолина ($p < 0,05$)

наблюдалось снижение гиперемии на 44,9 % (суммарная эритема 4,8 баллов) в сравнении с группой 2. На 3-и сутки интенсивность эритемной реакции (4,2 балла) была меньше по сравнению с контролем на 45,5 % (табл. 1).

Под влиянием мази тиотриазолина через 4 часа после облучения снижался только уровень нитрит-аниона в 1,5 раза относительно контроля. Концентрация суммарных метаболитов NO, нитратов, а также активность iNOS достоверно не отличалась по сравнению с группой без лечения. Однако на 3-и сутки после об-

лучения содержание всех метаболитов NO и активность iNOS были ниже в 1,3 раза (суммарные метаболиты и нитраты), 1,2 раза (нитрит-анион) и 1,4 раза (iNOS) относительно контроля (рис. 1,а,б,в,г).

Мазь, содержащая тиотриазолин и НЧС, показала более высокую фармакологическую активность, чем мазь тиотриазолина. Суммарная интенсивность эритемы через 1 час после УФО составляла 1,5 балла, что меньше на 57,1 % по сравнению с контролем и на 40 % по сравнению с группой, получавшей мазь тиотриазолина. Через 2 часа выраженность эритемной реакции была меньше на 54,2 %, чем в контрольной группе, и на 37,1 %, чем в группе с использованием мази тиотриазолина. Через 4 часа интенсивность эритемы достигала 3,8 балла, что - меньше на 58,7 % по сравнению с группой без лечения и на 20,8 % по сравнению с группой, получавшей мазь тиотриазолина. На 3-и сутки интенсивность эритемной реакции (3,0 балла) была меньше по сравнению с контролем и группой, получавшей мазь тиотриазолина, на 61 % и 28,6 % соответственно.

О высоком фото-и иммунопротекторном действии мази свидетельствует снижение в крови содержания всех метаболитов NO и iNOS уже через 4 часа после облучения в 1,4 раза (суммарные метаболиты и нитраты), 1,7 раза (нитрит-анион), 1,5 раза (iNOS) в сравнении с контролем (рис. 1,а,б,в,г). Также концентрация суммарных метаболитов и нитратов в 1,4 раза, iNOS – в 1,8 раза была ниже уровня этих показателей в

группе с применением мази тиотриазолина. На 3-и сутки направленность изменений уровня метаболитов NO была сходна с наблюдаемой через 4 часа: содержание всех метаболитов NO и iNOS уменьшалось по сравнению с группой контроля, достигая уровня интактных животных, и препаратом сравнения (суммарные метаболиты и нитраты – в 1,6 раза, iNOS – в 1,8 раза) (рис. 1,а,б,в,г).

Таким образом, при местном УФО кожи у морских свинок наблюдается выраженная эритема, сопровождающаяся иммунными нарушениями, что подтверждается повышением в крови концентрации всех метаболитов оксида азота (суммарных, нитрит-аниона, нитратов) и индуцибельной синтазы. Защитное влияние мази тиотриазолина, содержащей НЧС, по вышеуказанным показателям превышало действие мази тиотриазолина.

Следовательно, изучение патофизиологических механизмов действия NO является перспективным направлением для исследований и позволит в дальнейшем не только расширить представления о патогенезе УФ-индуцированных повреждений кожи, но и патогенетически обосновать терапию таких повреждений кожи.

Выводы

1. Локальное ультрафиолетовое облучение кожи морских свинок вызывает повышение в крови концентрации всех метаболитов оксида азота (суммарных, нитрит-аниона, нитратов) в течение 3 суток. Параллельно накоплению метаболитов NO в крови возрастает активность индуцибельной синтазы (iNOS) в течение 3 суток.
2. Противовоспалительное действие мази тиотриазолина при ультрафиолетовом облучении, проявляющееся в снижении интенсивности эритемной реакции, сопровождается уменьшением всех метаболитов оксида азота и активности индуцибельной синтазы в крови на 3 сутки.

3. Включение наночастиц серебра в субстанцию тиотриазолина усиливает противовоспалительное (снижение интенсивности эритемной реакции) и иммунопротекторное действие мази (уменьшение всех метаболитов оксида азота и активности индуцибельной синтазы в крови через 4 часа после облучения с нормализацией данных показателей к 3-м суткам.).

Литература

1. Schwarz T. Mechanisms of UV-induced immunosuppression / T. Schwarz // Keio J Med. – 2005 Dec. – № 54(4). – P. 165–171.
2. Kazan M. The role of nitric oxide in health and diseases. / M. Kazan, M. Hdayaty. / Scimetr. – 2015 January. – 3 (1). – p. e20987.
3. Imaging Pulmonary Inducible Nitric Oxide Synthase Expression with PET / Howard J. Huang, Warren Isakow, Derek E. Byers [et al.] // J Nucl Med. – 2015. – Vol. 56, № 1. – P. 76–81
4. Пат 77777 Україна, МПК А61К9/06, А61К33/38, 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 патентовласник Трутаєв І. В. – № u 2012 10159 ; заявл. 27.08.2012 ; опубл. 25.02.2013, Бюл. № 4.
5. 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.
6. Стефанов А. В. Биоскрининг. Лекарственные средства / А. В. Стефанов – К. : Авиценна, 1998. – 189 с.
7. Метельская В. А. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота / В. А. Метельская, Н. Г. Гуманова / Клини. лаб. диагностика. – 2005. – № 6. – С 15–18.
8. Вплив ентеросорбентів на активність NO-синтази у клітинах щурів за умов введення афлатоксину В1 / Х. М. Головчак, І. В. Панчук, Г. Л. Антоняк, О. Є. Возна // Біологія тварин. – 2014. – Т. 16, № 1. – С. 55–62.
9. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. – М. : Практика, 1998.

– 459 с.

References

1. Schwarz T. 2005. Mechanisms of UV-induced immunosuppression, *Keio J Med*, No 54(4), pp. 165–171.
2. Kazan M., Hdayaty M. 2015, The role of nitric oxide in health and diseases, *Scimetr.*, No 3 (1); e20987.
3. Howard J. Huang, Warren Isakow, Derek E. Byers, Jacquelyn T. Engle, Elizabeth A. Griffin, 2015, Imaging Pulmonary Inducible Nitric Oxide Synthase Expression with PET, *J Nucl Med*, Vol. 56, No. 1, pp. 76–81.
4. Pat. 77777 Ukraina, MPK A61K 9/06 (2006.01) A61K 33/38 (2006.01) A61P 29/00, Sposib pidvyschennya protyzapalnoi aktivnosti farmatsevtichnykh zasobiv u myakii likarskii formi / Lisovyi V. M., Zvyagintseva T. V., Trutaev I. V., Myronchenko S. I.; zayavnyk ta patentovlasnyk Trutaev I. V. – № u201210159 ; zayav. 27.08.2012 ; opub. 25.02.2013 ; byul. № 4/2013. (in Ukrainian).
5. Movchan B. A. 2008, Jelektronno-luchevaya gibridnaya nanotekhnologiya osazhdeniya neorganicheskikh materialov v vakuume, *Aktualnye problemy sovremennogo materialovedeniya*, Vol. 1, pp. 227–247. (in Russian).
6. Stefanov A. V. 1998, Bioskrining. Lekarstvennye sredstva, K.: Avitsenna, 189 p. (in Russian).
7. Metelskaya V. A., Gumanova N.G. 2005, Skrining-metod opredeleniya urovnya metabolitov oksida azota v syvorotke krovi, *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*, № 6, pp. 15–18. (in Russian).
8. Holovchak M. Kh., Panchuk I. V., Antonyak H. L., Vozna O. Ye. 2014, Vplyv enterosorbentiv na aktivnist NO-syntazy u klitynakh shchuriv za umov vvedennya aflatoksinu B1, *Biologiya tvaryn*, Vol. 16, No. 1, pp. 55–62. (in Ukrainian).
9. Glants S. 1998, *Mediko-biologicheskaya statistika*, M.: Praktika, 459 p. (in Russian).

Резюме

ВПЛИВ МАЗІ ТІОТРИАЗОЛІНУ З НАНОЧАСТКАМИ СРІБЛА НА МЕТАБОЛІТИ ОКСИДУ АЗОТУ ПРИ УЛЬТРАФІОЛЕТ-ІНДУКОВАНИХ УШКОДЖЕННЯХ ШКІРИ МОРСЬКИХ СВИНОК

Миرونченко С. І.

Досліджено вплив мазі, що містить тіотриазолін і наночастки срібла, на ме-

таболіти оксиду азоту (сумарні, нітрит-аніон, нітрати) і активність індукцибельної NO-синтази в крові морських свинок в еритемні терміни після локального ультрафіолетового опромінення шкіри. Протизапальна дія мазі тіотриазоліну супроводжується зменшенням показників, що вивчаються, на 3-ю добу. Включення наночасток срібла в субстанцію тіотриазоліну підсилює іммунопротекторну дію мазі (зменшення концентрації всіх метаболітів оксиду азоту і активності індукцибельної NO-синтази в крові через 4 години після опромінення з нормалізацією даних показників до 3-ї доби).

Ключові слова: метаболіти оксиду азоту, ультрафіолетове опромінення шкіри, мазь тіотриазоліну, наночастки срібла

Summary

THE EFFECT OF THIOTRIAZOLINE OINTMENT WITH SILVER NANOPARTICLES ON NITROGEN OXIDE METABOLITES IN ULTRAVIOLET-INDUCED SKIN LESION IN GUINEA PIGS

Myronchenko S.I.

The research deals with the study of effect exerted by ointment containing thiotriazoline and silver nanoparticles on nitrogen oxide metabolites (total, nitrite-anion, nitrates) and inducible NO-synthase activity in blood of guinea pigs in erythema terms following local ultraviolet exposure of the skin. Anti-inflammatory effect of thiotriazoline ointment is accompanied by a decrease in indices under investigation at the 3rd day. Silver nanoparticles incorporation into thiotriazoline substance enhances immunoprotective effect of the ointment (a decrease in all nitrogen oxide metabolites concentration and inducible synthase activity in blood in 4 hours following the exposure with normalization of these indices by the 3rd day).

Keywords: Nitrogen oxide metabolites, ultraviolet exposure of skin, thiotriazoline ointment, silver nanoparticles

Впервые поступила в редакцию 03.05.2015 г. Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования