

Відзив

офіційного опонента професора Горчакової Надії Олександрівни
на дисертаційну роботу Гринь Ірини Василівни
"Фармакологічна ефективність мазі на основі тіотриазоліну та наночасток
срібла при експериментальному термічному ушкодженні шкіри",
представленої до спеціалізованої вченої ради Д 26.550.01
при ДУ "Інститут фармакології та токсикології НАМН України"
на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук
за спеціальністю 14.03.05 фармакологія

Актуальність обраної теми дисертації. Поширеність термічних опіків в побуті та під час військових дій, збільшення при цьому кількості постраждалих від опіків, які потребують тривалого лікування, вимагає від дослідників створення нових лікарських форм для місцевого застосування, які підвищують ефективність схем лікування, лікувальний ефект та скорочують термін лікування. В зв'язку з тим, що при опіковій рані виникає неконтрольований запальний процес, відбувається активація утворення вільних радикалів і оксиду азоту, розвивається вторинний імунодефіцитний стан, доцільним можна вважати розробку топічних лікарських форм, що будуть впливати саме на ці патогенетичні мішені. В зв'язку з вищезазначеним, дисертаційна робота Гринь І. В "Фармакологічна ефективність мазі на основі тіотриазоліну та наночасток срібла при експериментальному термічному ушкодженні шкіри" є актуальною і своєчасною, тому що в ній на підставі отриманих здобувачем результатів встановлюється доцільність використання мазі тіотриазоліну і наночасток срібла для лікування термічних ушкоджень шкіри.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків, рекомендацій, сформованих в дисертації, достовірність, новизна. Робота виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт Харківського національного медичного університету МОЗ України " Механізми і фармакологічна

корекція УФ-індукованих пошкоджень шкіри (N держреєстрації 0113U 002281). Робота побудована за вимогами, а саме включає в себе зміст, анотацію, кількість опублікованих робіт за темою, перелік умовних позначок, символів, одиниць, огляд літератури, матеріали і методи дослідження, 5 розділів власних досліджень, аналіз і узагальнення результатів дослідження, висновки, список використаних джерел, 2 додатки – список праць, опублікованих за темою дисертації та 5 актів впровадження. В роботі присутні рисунки та таблиці. Огляд літератури складається з трьох підрозділів "Сучасні уявлення про механізми ушкоджень шкіри", " Основні принципи патогенетичної фармакотерапії термічних ушкоджень шкіри" та "Сучасні дані про механізми дії наночасток срібла та доцільність їх використання для фармакотерапії термічних ушкоджень". Для виконання дисертації використані фармакологічні, імуноферментні, біохімічні, морфологічні, планіметричні, статистичні методи дослідження.

Розділ 3 присвячений впливу мазі на основі тіотриазоліну та наночасток срібла на динаміку місцевих проявів загоєння й загальних реакцій організму при експериментальному термічному опіку. Дисертант вказала вид опікової рани на шкірі задньої поверхні стегна тварин після термічної дії та перетворення тканини. Вказано, що тканини навколо опіку набрякли та гіперемовані. На другу добу закінчилося формування опікової рани, на третю добу почалося розсмоктування її центральні частини (зона глибокого некрозу) та серозно-гнійного ексудату. Протягом наступних двох тижнів у центрі опікової ями зменшилася зона некрозу і епітелізація раньового дефекту. Мазь тіотриазоліну мала хороший ранозагоюючий ефект (гіперемія з тонким струпом коричневого кольору). Протягом наступних двох тижнів зменшилася зона некрозу в центрі опікової рани, набряк, гіперемія стали менш вираженими, ніж в контролі, і до 28 діб рана повільно епітелізується. Порівняно з контролем площа рани зменшилась на 7 добу на 34 %, на 14-у на 62%, на 21-у - 73%, на 28-у - на 98%. Мазь метилурацилова діяла ранозагоююче в тому ж напрямку, що і мазь тіотриазоліну, але дещо

поступалася. Так, раньовий дефект зменшився на 7 добу на 17%, на 14 добу на 25%, на 21 добу на 47%, на 28 добу на 91%. На 7 добу зона некрозу була заповнена серозним некрозом, до 21 доби зона некрозу зменшилася, струп розплавився, епітелізація відбулася швидше. При застосуванні мазі "Сульфатіазол срібла" порівняно з контролем покращився репараційний процес. До 7 доби поверхню вкривав щільний струп, ексудат був відсутній, до 9-10 доби струп відшарувався, і з'явився новий, наступні два тижні в центрі опікової рани зменшилася зона некрозу. До 28 доби рана повністю епітелізувалася. Площа опіку скоротилася до 7 доби на 32%, до 14 доби – на 58%, до 21 – на 59%, 28 доби – на 97%. При термічному опіку найбільш ефективною була мазь тіотриазоліну з наночастками срібла, раньовий дефект зменшився на 7 добу на 56%, на 14 добу на 75%, на 21 добу на 99%, на 28 добу на 100%. Більш виражена тенденція до зменшення поверхні рани спостерігалася під впливом мазі тіотриазоліну з наночастками срібла. Тобто мазь тіотриазоліну з наночастками срібла мала виражені ранозагоюючі властивості при термічному опіку, тому що зменшувала запальні процеси, зменшувала площу опіку та терміни загоєння.

В розділі 4 розкривається вплив мазі на основі тіотриазоліну та наночасток срібла на вміст IL-1 β , TNF α , IL- 10 у крові і вогнищі ушкодження. У групі тварин без лікування у сироватці крові рівень IL-1 β підвищувався протягом спостереження, зростає на 14 добу в 2 – 3 рази вище норми, але поступово знижується, не досягаючи контрольних значень(вище контролю на 27%). У вогнищі запалення показник IL-1 β вище контролю на 7 добу у 2,3 рази, на 14 добу у 2,7 рази, на 21 добу у 2,3 рази, на 28 добу на 25%. Мазь тіотриазоліну знижувала рівень у сироватці крові та шкіри. В сироватці крові концентрація IL-1 β знизилася на 7 добу на 8%, на 14 добу на 59%, на 21 добу на 21%, на 28 добу на 19%. У вогнищі запалення на 7 добу вміст IL-1 β залишився без змін, на 14 добу знизився на 23%, на 21 добу на 35%, на 28 добу на 18%. В тому ж напрямку змінювалися показники IL-1 β при застосуванні "Мазі метилурацилової 10%" та мазі "Сульфатіазол срібла".

В крові під впливом метилурацилової мазі та мазі сульфатіазолу срібла в крові вміст IL-1 β знизився на 7 добу на 8% та 14%, на 14 добу на 37 % та 40%, на 21 добу на 19% та 21%, на 28 добу на 21% та 16% відповідно. У шкірі при застосуванні вищезазначених мазей відбулися аналогічні зміни: на 7 добу вміст IL-1 β в шкірі достовірно не відрізнявся, на 14 добу рівень IL-1 β знизився на 20% і 26%, на 21 добу на 26% 33%, на 28 добу на 18% і 17% відповідно. Обидві мазі нормалізували вміст IL-1 β як в сироватці крові, так і в шкірі. Мазь тіотриазоліну з наночастками срібла знижувала до норми концентрацію IL-1 β в крові щурів до показників у інтактних тварин до 21 доби, в шкірі до 28 доби, перевищуючи ефективність інших мазей.

Таким чином, мазь тіотриазоліну, мазь метилурацилова та сульфатіазолу срібла мали приблизно однаковий, але недостатній вплив на рівень прозапального IL-1 β , а найбільш виражену дію на цей показник мала мазь тіотриазоліну з наночастками срібла. Аналогічно зміні рівня IL-1 β при дії протизапальних мазей спостерігалася динаміка рівня TNF α . В цій групі без лікування вміст TNF α в сироватці крові та шкірі був більшим у крові і вогнищі запалення – на 7 добу у 3,2 та 3,4 рази, на 14 добу у 3 та 1,6 рази, на 21 добу у 2,2 та 2,1 рази, на 28 добу на 82% та 84%. Препарати знижували відповідно концентрацію TNF α в крові: мазь тіотриазоліну – на 46%, 52%, 52%, 38%, мазь метилурацилова – на 45%, 51%, 50%, 36%, сульфатіазол срібла – на 45%, 50%, 52%, 35% відповідно; в осередку мазь тіотриазоліну знизила показник на 37%, 25%, 28%, 43%, мазь метилурацилова – на 37%, 28%, 28%, 41%, мазь сульфатіазолу срібла – на 38%, 29%, 28%, 36% відповідно. Препарати "Мазь тіотриазоліну", "Мазь метилурацилова 10%" нормалізували рівень TNF α в сироватці крові та шкірі при термічному опіку на 28 добу. Тобто, всі референтні препарати нормалізували рівень TNF α в крові і вогнищі запалення. Застосування мазі тіотриазоліну з наночастками срібла виявилось найбільш ефективним. Вона знижувала вміст TNF α в сироватці крові і вогнищі запалення порівняно з маззю тіотриазоліну: на 7 добу на 17% і 19%, на 14 добу на 18% і 19%, на 21 добу 21% і 13%, на 28

добу на 27% та 15%, порівняно з маззю сульфатіазолу срібла – на 7 добу на 18% і 19%, на 14 добу на 19% та 15%, на 21 добу на 20% і 13% на 28 добу на 28% та 22 %. Мазь тіотриазоліну з наночастками срібла нормалізувала рівень TNF α в сироватці крові і осередку на 28 добу і взагалі мала більший вплив на прозапальні цитокіни порівняно з референтними препаратами. Дослідженнями встановлено, що при термічному опіку в крові і шкірі падає рівень протизапального цитокіну IL-10. Так в крові щурів контрольної групи вміст IL-10 падав нижче контролю на 7 добу на 53 %, на 14 добу на 34 %, на 21 добу на 2% і не нормалізувався до 28 доби. В осередку ураження без лікування вміст IL-10 був меншим на 7 добу на 43 %, на 14 добу на 23 % і достовірно не відрізнявся від норми на 21 та 28 добу. Під впливом мазі тіотриазоліну та мазі метилурацилової у крові та шкірі щурів вміст IL-10 практично не змінювався на 7 добу. При застосуванні мазі сульфатіазолу срібла вміст IL-10 в крові не змінився, в шкірі зріс на 22%. На 14 добу всі референтні препарати підвищували концентрацію IL-10 в крові до норми. На 21 добу концентрація IL-10 у крові і шкірі була вищою порівняно з контролем при застосуванні мазі тіотриазоліну на 54 % та 49 % , мазі метилурацилової на 49% та 47 % , мазі сульфатіазолу срібла на 49 % та 45% відповідно. На 28 добу всі референтні препарати нормалізували вміст IL-10 в крові і шкірі щурів, що зазнали термічного контролю.

Найбільш виражену дію на вміст IL-10 в крові і вогнищі мали мазь тіотриазоліну з наночастками срібла. На 7, 14, 21 добу під впливом мазі тіотриазоліну з наночастками срібла концентрація IL-10 в крові була вищою порівняно з маззю тіотриазоліну на 25%, 13 % , 1%, порівняно з маззю метилурацилу на 24 %, 10%, 15% , порівняно з маззю сульфатіазолу срібла на 27 % , 13 % , 15%. На 28 добу при використанні мазі тіотриазоліну з наночастками срібла рівень IL-10 в крові тварин не відрізнявся від рівня IL-10 при застосуванні референтних препаратів. В осередку мазь тіотриазоліну з наночастками срібла зменшувала вміст IL-10 на 14 добу відносно мазі тіотриазоліну на 22%, мазі метилурацилової на 22%, мазі сульфатіазолу

срібла на 25%, тобто мазь тіотриазоліну з наночастками срібла надає найбільш виражений порівняно з референт-препаратами фармакологічний ефект щодо IL-10 в крові і вогнищі термічного опіку в дослідженні.

В розділі 5, що розкриває вплив мазі на основі тіотриазоліну та наночасток срібла на рівень метаболітів оксиду азоту в сироватці крові і вогнищі ушкодження зазначено, що у групі тварин без лікування вміст сумарних метаболітів NO як в крові, так і в вогнищі ушкодження був достовірно підвищений порівняно з іншими тваринами протягом усього часу експерименту. Рівень сумарних метаболітів NO перевищував норму на 7 добу у 2,2 рази, на 14 добу на 85%, на 21 добу 44 %, на 28 добу на 15%; у шкірі на 7 добу у 3,2 рази, на 14 добу у 2,1 рази, на 21 добу на 92 %, на 28 добу на 51%. Аналогічна тенденція спостерігалася щодо нітрит-аніонів та нітратів. У групі контролю порівняно з іншими тваринами реєстрували підвищену концентрацію нітрит-аніонів у сироватці крові на 7 добу у 5,71 рази, на 14 добу у 4,4 рази, на 21 добу у 2,7 рази, на 28 добу на 43 %. У вогнищі ураження вміст нітрит-аніонів був більшим ніж у інтактних тваринах за терміни спостереження: на 7 добу у 4,16 рази, на 14 добу у 2,81 рази, 21 добу у 2,56 рази, на 28 добу на 93 %. Динаміка змін рівня нітратів у групі без лікування була односпрямована із змінами сумарних метаболітів NO та нітрит-аніонів. Вміст нітратів у сироватці крові і вогнищі ураження був вищим на 7 добу на 74 % та 200 % , на 14 добу на 52 % та 86 % , на 21 добу на 34 % і 72 %, на 28 добу на 17% та 39 % , що свідчить про підйом всіх метаболітів при термічному ураженні без нормалізації навіть на 28 добу.

Під впливом мазі тіотриазоліну спостерігається поступове зниження вмісту всіх метаболітів оксиду азоту в крові та шкірі тварин і нормалізація до 28 доби. Мазь тіотриазоліну знижувала рівень сумарних метаболітів оксиду азоту, нітрит-аніонів, нітратів у сироватці крові порівняно з групою без лікування на 7 добу на 26 % , 43 % і 18% відповідно, на 14 добу на 34% ,52%, 27% відповідно, на 21 добу на 20%, 30%, 18 % відповідно, на 28 добу на 11%, 17%, 11% відповідно. Мазь тіотриазоліну проявила аналогічну дію в

осередку ураження стосовно вмісту сумарних метаболітів оксиду азоту нітрит-аніонів та нітратів, знижуючи їх порівняно з контролем на 7 добу на 33%, 49%, 27%, на 14 добу на 27%, 44%, 19% , на 21 добу на 28%, 44%, 20%, на 28 добу на 29 %, 43%, 23%. Мазь метилурацилова знижувала вміст сумарних метаболітів оксиду азоту в сироватці крові і шкірі на 7 добу на 33 % та 28 % , на 14 добу на 37 % та 20%, на 21 добу на 22 % та 26 % , на 28 добу на 12% та 32% відповідно. Вміст нітрит-аніонів в сироватці крові та шкірі щурів знизився на 7 добу на 52 % та 43 %, на 14 добу на 61% і 30%, на 21 добу на 36 % та 41%, на 28 добу на 21% та 49% відповідно. Мазь метилурацилова знижує концентрацію нітратів в крові і шкірі на 7 добу на 25% і 22%, на 14 добу на 29 % і 15%, на 21 добу 19 % та 19 %, на 28 добу на 11% та 25%. Мазь метилурацилова знижує рівень всіх метаболітів оксиду азоту в сироватці крові і вогнищі уражених щурів при термічному опіку відновлюючи лише до 28 доби. Мазь сульфатіазолу срібла має аналогічну дію, знижуючи в сироватці крові концентрацію сумарних метаболітів оксиду азоту в сироватці крові на 7, 14, 21, 28 добу на 30%, 31%, 15%, 11%, нітрит-аніонів на 52 %, 48 %, 25% , 22%, нітратів на 20%, 25%, 17 %, 10% відповідно. В осередку ураження під впливом мазі сульфатіазолу срібла вміст всіх метаболітів оксиду азоту був менше ніж у інших групах референт-препаратів. На 7 добу вміст сумарних метаболітів оксиду азоту знизився на 26 %, нітрит аніонів на 43 %, нітратів на 18%. На 14 добу рівень сумарних метаболітів оксиду азоту та нітриту аніонів був нижче ніж у групі без лікування на 17% та 34 % відповідно, рівень нітратів достовірно не відрізнявся від контролю. На 21 та 28 добу вміст сумарних метаболітів оксиду азоту, нітрит-аніонів та нітратів був знижений порівняно з контролем на 29 % , 27 %, 50% та 44 % 19% та 20% відповідно.

Найбільш виражений вплив на рівень усіх метаболітів оксиду азоту в сироватці крові та вогнище мала мазь тіотриазоліну з наночастками срібла. Її дія нормалізувала вміст сумарних метаболітів оксиду азоту в крові і в шкірі вже до 21 доби і знижувала цей показник порівняно з референтними

препаратами. Мазь тіотриазоліну з наночастками срібла знижувала вміст сумарних метаболітів оксиду азоту в шкірі порівняно з маззю тіотриазоліну, маззю метилурациловою та з маззю сульфатіазолу срібла. Під впливом мазі тіотриазоліну з наночастками срібла до 21 доби відновлювався вміст нітрит-аніонів в сироватці крові і вогнищі ураження. Мазь тіотриазоліну з наночастками срібла знижувала концентрацію нітрит-аніонів у крові порівняно з маззю тіотриазоліну на 7 добу на 21%, на 21 добу на 21%, на 28 добу на 18%. Достовірні відмінності між групою із застосуванням мазі тіотриазоліну з наночастками срібла та з застосуванням мазі метилурацилу були виявлені на 28 добу (менше на 15%), щодо групи застосування сульфатіазолу срібла на 21 добу (менше на 26%). Використання мазі тіотриазоліну з наночастками срібла призводило до достовірного зниження вмісту нітрит-аніонів у шкірі щурів при термічному опіку щодо всіх референтних препаратів. Мазь тіотриазоліну, метилурацилова мазь, мазь сульфатіазолу срібла змінювала показники тільки на 21 добу на 23 % 27 % 15% відповідно. Найбільш виражений вплив мазь тіотриазоліну з наночастками срібла мала на рівень нітратів в сироватці крові, нормалізуючи його вже на 14 добу. Ця мазь виявила більшу активність ніж препарати порівняння, тому що знижувала концентрацію нітратів у крові на 7, 14, 21 добу порівняно з маззю тіотриазоліну – на 19 % , 9%, 9%, з маззю метилурацилу – на 12% на 7 добу, на 8% на 21 добу, щодо мазі сульфатіазолу срібла – на 17 %, 11% та 10% відповідно. В осередку ураження застосування мазі тіотриазоліну за наночастками срібла привело до відновлення вмісту нітратів на 21 добу. На 14 добу спостерігалися достовірні відмінності цього показника щодо групи із застосуванням сульфатіазолу срібла – менше на 19%. Мазь тіотриазоліну, мазь метилурацилова та мазь сульфатіазолу срібла достовірно знижувала вміст нітратів в осередку ураження на 21 добу на 18%, 20%, 15% відповідно. Тобто, мазь тіотриазоліну з наночастками срібла дає найбільш виражену дію порівняно з референтними препаратами на динаміку всіх метаболітів оксиду азоту.

Розділ 6 присвячений впливу мазі на основі тіотриазоліну та наночасток срібла на стан окиснювально-антиоксидантного гомеостазу у вогнищі ушкодження. Аналіз результатів дослідження стану перекисного окиснення ліпідів у щурів з термічним опіком без лікування показав активацію вільнорадикальних процесів в осередку ушкодження протягом усього часу дослідження. Так, вміст дієнових кон'югатів (ДК) та ТБК-активних продуктів перевищував норму на 7 добу на 77% та 52%, на 14 добу – на 54% і 74%, на 21 добу – на 49% і 36%, на 28 добу на 36% та 15%. Обидва показники не нормалізувалися на 28 добу. Всі препарати порівняння – мазь тіотриазоліну, мазь метилурацилова, мазь сульфатіазолу срібла стримували процеси перекисного окиснення ліпідів, нормалізували вміст первинних продуктів (ДК) у шкірі щурів з опіковою травмою до 28 доби, а вторинних (ТБК-АП) до 21 доби. Мазь тіотриазоліну знижувала вміст ДК та ТБК-АП в осередку ураження порівняно з контролем на 7 добу на 21% і 18%, на 14 добу – на 18% та 35%, на 21 добу на 21% та 22%, на 28 добу на 21% та 18%. Використання мазі метилурацилової призводило до зниження вмісту ДК і ТБК-АП у шкірі щодо групи без лікування на 19% та 14% (7 доба), 14% та 31% (14 доба), 15% та 21% (21 доба), 24% та 20% (28 доба). Аналогічно впливала мазь сульфатіазолу срібла. Вміст ДК зменшився на 21% (7 доба), 17% (21 доба), 21% (28 доба); вміст ТБК-АП знизився на 15% (7 доба), 36% (14 доба), 33% (21 доба), на 24% (28 доба). Застосування мазі тіотриазоліну з наночастками срібла мала найвищу ефективність, нормалізувала вміст ДК та ТБК-АП у шкірі тварин вже на 14 добу. Вміст ДК на 7 та 14 добу достовірно не відрізнявся від груп з референт-препаратами, на 21 добу був меншим на 16% порівняно з маззю метилурациловою та на 14% порівняно з маззю сульфатіазолу срібла. На 28 добу достовірно відмічають зміни щодо всіх препаратів порівняння: вміст ДК знизився на 23% (мазь тіотриазоліну), 20% (мазь метилурацилова), 23% (мазь сульфатіазолу срібла). Вміст вторинних продуктів ПОЛ у зазначеній групі був достовірно менше ніж у групі з використанням мазі тіотриазоліну, мазі метилурацилової, мазі сульфатіазолу

срібла на 14 добу: 13%, 15%, 11% відповідно. Паралельно встановлено, що у щурів з термічним опіком активність антиоксидантних ферментів у шкірі нижче порівняно з інтактними тваринами. Активність каталази і СОД не відновлювалася навіть до 28 доби експерименту та знижувалася порівняно з інтактними тваринами на 7 добу на 38% та 28% відповідно, на 14 добу на 34% та 31%, на 21 добу на 27% та 26%, на 28 добу на 19% та 17%.

Мазь тіотриазоліну, метилурацилова мазь та мазь сульфатіазолу срібла мають односпрямований вплив на антиоксидантну систему. У порівнянні з контролем мазь тіотриазоліну підвищує активність каталази в шкірі на 21-у і 28-у добу на 16% та 24% відповідно, мазь метилурацилова на 30% та 29%, мазь сульфатіазолу срібла на 35% та 22%. Нормалізація активності каталази при використанні мазі метилурацилової та сульфатіазолу срібла спостерігалася на 21 добу, при застосуванні мазі тіотриазоліну – на 28 добу. Більш виражену дію всі три мазі мали стосовно активності СОД на 14 добу. Мазь тіотриазоліну, мазь метилурацилова і сульфатіазолу срібла підвищували активність СОД порівняно з групою без лікування на 14 добу на 27%, 29%, 27% відповідно, на 21 добу – на 27%, 25%, 21% відповідно, на 28 добу на 22%, 24%, 19% відповідно. Максимальна активність антиоксидантної системи спостерігалась при застосуванні мазі тіотриазоліну з наночастками срібла, про що свідчило відновлення активності каталази у шкірі на 14 добу, СОД вже на 7 добу. Використання мазі тіотриазоліну з наночастками срібла призводило до збільшення активності каталази порівняно з маззю метилурациловою та сульфатіазолу срібла на 14 добу на 44% та 26% відповідно, порівняно з маззю тіотриазоліну на 30% на 14 добу та 20% на 21 добу. Більш виражено порівняно з референт-препаратами мазь тіотриазоліну з наночастками срібла підвищувала активність СОД. У порівнянні з маззю тіотриазоліну активність СОД у шкірі щурів з термічним опіком збільшувалася на 23% (7 доба) і 14% (21 доба) порівняно з маззю метилурациловою – 21% (7 доба), 16% (21 доба), щодо мазі сульфатіазолу срібла – на 21% (7 доба), 17% (14 доба) і 20% (21 доба). Тобто мазь

тіотриазоліну з наночастками срібла має найбільш ефективну дію щодо нормалізації окиснювально-антиоксидантного гомеостазу в осередку ушкодження при термічному опіку ніж референтні препарати.

Розділ 7 "Вплив мазі на основі тіотриазоліну та наночасток срібла на морфологічні зміни шкіри при термічному ушкодженні". В роботі подаються результати мікроскопічного дослідження шкіри епідермісу, дерми, підшкірної клітковини. Надалі надана мікроскопічна картина. На 7 добу експерименту в ділянці термічного опіку виявляється зона некрозу шкіри, шкірної клітковини. Дано опис дерми, нижніх шарів гіподерми і периферичних відділів з проліферацією фібробластів. У прилеглих до зони некрозу ділянках шкіри епідерміс потовщений за рахунок збільшення кількості рядів клітин шипуватого шару та їх розмірів. Дається опис країв епітеліального пласту, периваскулярного простору судин, м'язових волокон, нервових стовбурів в глибоких відділах, проліферація фібробластів. Мікроскопічно до 14 доби експерименту в більшості зразків спостерігається сформований струп з некротизованих тканин шкіри, пронизаний нитками фібрину. Під струпом визначається лейкоцитарно-фібринозний шар, під яким візуалізується велика ділянка некрозу тканини між зоною грануляційної тканини. Центральна зона грануляційної тканини представлена численними нитками фібробластів, що врастають між некротизованих тканинними структурами дерми, тонкими функціональними колагеновими волокнами та тонкостінними судинами практично одного діаметру з переважно вертикальною орієнтацією.

Розподіл судин по грануляційній тканини нерівномірний. В нижніх відділах грануляційної тканини кількість судин і клітинних елементів зменшується, вміст колагенових волокон, що складається в фуксинофільні пучки, наростає. У 70% спостережень на дні рани грануляційна тканина слабо розвинена. На краях ранового дефекту спостерігається зростання епідермального пласта під струп. До 21 доби експерименту у всіх спостереженнях у зоні попереднього термічного опіку сформована зона

регенерату, в одному спостереженні з її повною епідермізацією, в інших – периферичних відділів. Центральний відділ зони регенерату покритий лейкоцитарно-фібринозним шаром, місцями з уривками струпа, місцями з пластами, що відторглися від новоствореного епідермісу. Зона регенерату в центральному відділі представлена дрібнопористою мережею з тонких колагенових волокон, серед яких переважно вертикально орієнтовані судини, тяжі фібробластів, нечисленні макрофаги, нейтрофіли, лімфоцити, тучні тканини. У периферичних відділах зони регенерату візуалізуються пучки фуксинофільних колагенових волокон що лежать паралельно поверхні шкіри. Тобто у щурів з термічним опіком шкіри, які не отримували лікування протягом експерименту, спостерігається послідовна зміна фаз репаративного процесу з формуванням і перебудовою рубця. У групі, що одержали лікування тіотриазоліном, мікроскопічно до 7 доби експерименту в препаратах шкіри щурів у ділянці термічного опіку некротизованих тканин епідермісу дерми та гіподерми формують струп, що підноситься над поверхнею шкіри. Некротизована дерма візуалізується у вигляді фуксинофільних, гіподерма – у вигляді еозинофільних тканинних дендритів, у яких визначаються склеєні між собою фібринами, уривки колагенових волокон. Навколо зони некрозу визначений шар грануляційної тканини, який в 70% має безперервний характер. Навколишні тканини помірно набряклі з дрібновогнищевою лімфоцитарною з домішкою поліморфноядерних лейкоцитів інфільтрацією, колагенові волокна незначно набряклі. Артерії з добре вираженим просвітом, вени розширені, повні крові. До 14 доби експерименту у всіх спостереженнях має місце епідермізація бічних відділів зони термічної дії. У всіх спостереженнях сформований струп, що підноситься над поверхнею шкіри, під якій виростає новостворений епідермальний пласт. Центральний відділ зони регенерату багатий рівномірно розташованими вертикальними судинами капілярного типу приблизно одного діаметру. Між судинами визначаються хаотично розташовані нижні помірнофуксинофільні колагенові волокна, що

складаються в тонкі пучки фібробластів, макрофаги, поодинокі поліморфноядерні лейкоцити. На 21 добу експерименту зона регенерату покрита епідермальним пластом, в інших 20% у центральній ділянці зберігається струп з нижнім лейкоцитарно-фібринозним шаром. На 28 добу експерименту у всіх спостереженнях закінчена епідермізація зони регенерату, що представлена головним чином пучками колагенових волокон. У судинах відзначається дія диференціювання стінки на шари, частина судин з явищами загустівання. У групі із застосуванням метилурацилової мазі мікроскопічне дослідження препаратів шкіри щурів виявило, що на 7 добу експерименту в зоні термічного впливу сформована зона коагуляційного некрозу, захоплюючого епідерміс, дерму і підшкірну клітковину. Навколо зони некрозу візуалізуються численні островці грануляційної тканини. У периферичних відділах зони ушкодження спостерігається новоутворення епідермісу більш протяжного порівняно з групою контролю. На 14 день спостереження мікроскопічно у зоні термічного впливу візуалізується струп, сформований з уривків некротизованих тканин шкіри, фібрину, гемолізованих еритроцитів. На 21 добу експерименту у 30% спостережень відзначається повна епідермізація зони регенерату. Зона регенерату представлена дрібнопористою мережею з фуксинофільних колагенових волокон у нижніх відділах, орієнтованих паралельно поверхні шкіри. Прилеглі до регенерату тканини звичайної будови. До 28 доби експерименту зона регенерату у всіх спостереженнях повністю епідермізована. Верхній відділ зони регенерату візуалізується у вигляді дрібнопористої мережі, слабо та помірнофуксинофільних пучків колагенових волокон різної товщини. Нижній рівень регенерату представлений фіброзною тканиною.

У групі із застосуванням мазі сульфатіазолу срібла на 7 добу в зоні термічного впливу виявили некротичні зміни епідермісу, дерми та гіподерми. Дерма візуалізується у вигляді еозинофільних, фуксинофільних щільних мас, що складаються зі склеєних між собою уривків пучків колагенових волокон. На 14 добу експерименту мікроскопічно в препаратах шкіри в ділянці

попереднього термічного впливу з некротизованих тканин фібрину сформований струп, під яким знаходився лейкоцитарно-фібринозний шар. На поверхні периферичних відділів регенерату спостерігається новоутворення епідермісу. У прилеглих до зони регенерату тканинах у 40% спостережень зустрічаються вогнища вторинних стромальних некрозів, стромальні кісти. Мікроскопічно в препаратах шкіри на 21 добу експерименту в 60% спостережень зона регенерату повністю епідермізована, в останніх випадках периферичні відділи регенерату вкриті епідермісом, центральні відділи – струпом. На 28 добу експерименту у всіх спостереженнях зона регенерату повністю епідермізована. У зоні регенерату домінують фуксинофільні колагенові волокна. У групі з застосуванням мазі тіотриазоліну з наночастками срібла у препаратах шкіри щурів до 7 доби експерименту мікроскопічна картина характеризується наявністю зони коагуляційного некрозу епідермісу, дерми та гіподерми, які входять до складу, підносяться над поверхнею шкіри струпа. Грануляційна тканина у 90% сформована. До 14 доби експерименту у всіх спостереженнях підноситься над поверхнею шкіри струп, що складається з некротизованих тканин шкіри, гемолізованих еритроцитів, пронизаних нитками фібрину, відділяється лейкоцитарно-фібринозним шаром від зони регенерату. До 21 доби експерименту повна епідермізація відзначається у більшості спостережень, лише в одному випадку центральний відділ у невеликій ділянці покритий струпом, який відділений від зони регенерату лейкоцитарно-фібринозним шаром. Зона регенерату представлена в центральному відділі дрібнопористою мережею з тонких помірнофуксинофільних пучків колагенових волокон, у якій закладені судини, фібробласти, макрофаги, лімфоцити, поліморфноядерні лейкоцити, огрядні клітини. До 28 доби експерименту у всіх спостереженнях зона регенерату повністю вкрита епідермісом, рівномірно потовщена за рахунок гіпертрофії та гіперплазії клітин шипуватого шару, кількість рядів їх становить 2-3, клітини більш базальних епідермоцитів містять помірнобазофільне ядро округлої форми та слабкобазофільну цитоплазму.

Таким чином, при застосуванні мазі тіотриазоліну з наночастками срібла у більшості спостережень деструктивний процес не має тенденції до поглиблення, сприяє більш ранньому загоєнню запалення та початку репаративного процесу порівняно з попередніми групами тварин. На більш ранніх термінах формується молода грануляційна тканина, починається епітелізація зони регенерату. При лікувальному застосуванні референтних препаратів до 7 доби перебігу опіку спостерігалось зниження виразності травматичного запалення, перш за все за рахунок зменшення інтенсивності дисциркуляційних змін. До 14 доби експерименту відбувалося явище другої фази раньового процесу з формуванням зони регенерату. До 21 доби у всіх групах була сформована безперервна зона регенерату, в якій визначалися морфологічні ознаки третьої фази раньового процесу. До 28 доби експерименту у всіх досліджуваних групах була закінчена епідермізація зони регенерату, однак зустрічалися осередки дистрофії.

В розділі "Узагальнення та аналіз отриманих результатів" диференційовано обговорюються результати досліджень мазі тіотриазоліну з наночастками срібла, розкриваються механізми дії комбінованого нанозасобу та його ефективність при термічному опіку. Повний зміст роботи висвітлений у висновках.

Наукова новизна отриманих результатів. Уперше теоретично обґрунтовано й експериментально підтверджено, що введення наночастинок срібла у мазь тіотриазоліну підвищує її протизапальні, регенеративні та антиоксидантні властивості. Встановлено, що мазь на основі тіотриазоліну з включенням наночастинок срібла має виражену ранозагоювальну дію при термічному опіку у щурів, що сприяє скороченню термінів загоєння термічного опіку. За рівнем терапевтичної ефективності мазь виявляє переваги перед референтними препаратами: маззю метилурациловою та маззю сульфатіазолу срібла. Доведено, що застосування мазі тіотриазоліну з наночастками срібла веде до більш інтенсивного перебігу репаративних процесів, ніж при використанні препаратів порівняння, що підтверджується

морфологічними дослідженнями: обмеженням деструктивного процесу в межах епідермісу та дерми, відсутністю гнійно-некротичних ускладнень, прискоренням епітелізації та повним закриттям дефекту у процесі загоєння термічного опіку. Показано, що мазь тіотриазоліну, що містить наночастки срібла, зменшує різке зростання (внаслідок термічного опіку) концентрації прозапальних інтерлейкінів – IL-1 β та TNF α – у вогнищі й крові та збільшує і нормалізує вміст протизапального цитокіну IL-10, дефіцит якого спостерігається при опіковій травмі. За впливом на цитокіновий профіль мазь, що досліджується перевершує препарати порівняння. Виявлено, що мазь тіотриазоліну з наночастками срібла надає стабілізуючий ефект у системі оксиду азоту, дисбаланс якої відзначається внаслідок термічного опіку. Застосування мазі тіотриазоліну з наночастками срібла виявляється більш ефективним порівняно з референс-препаратами щодо нормалізації метаболізму NO, в сироватці крові та у вогнищі ураження, що підтверджується відновленням загальних метаболітів оксиду азоту, нітрит-аніонів і нітратів у більш ранні післяопікові терміни. Експериментально підтверджено, що додавання наночасток срібла у мазь тіотриазоліну підсилює її антиоксидантні процеси у вогнищі термічного ушкодження. Це підтверджується активним відновленням балансу ПОЛ-АОС у вогнищі термічної травми у більш ранні терміни ніж при застосуванні препаратів порівняння. Встановлено, що комплексний механізм ранозагоювальної дії мазі тіотриазоліну з включенням наночасток срібла обумовлений модулюючим впливом на цитокіновий каскад, стабілізацією системи оксиду азоту, обмеженням наростання процесів ПОЛ, активацією антиоксидантної системи.

Практичне значення результатів. На підставі проведених експериментальних досліджень обґрунтовано можливість застосування мазі тіотриазоліну з наночастками срібла для лікування термічних опіків шкіри і профілактики відстрочених ускладнень і хронізації процесу. Після подальших доклінічних і клінічних досліджень результати роботи

відкривають перспективи впровадження в медичну практику нового протиопікового препарату, що впливає на ключові ланки патогенезу термічного враження. Отримані дані дають підстави для створення принципово нового лікарського засобу – ефективної, безпечної, недорогої, оригінальної вітчизняної мазі з ранозагоювальною дією. За матеріалами дисертаційної роботи отримано інформаційний лист №148-2014 про нововведення в сферу охорони здоров'я.

Матеріали дисертації впровадженні у педагогічний процес 4 кафедр вищих медичних навчальних закладів України та у науково-дослідний процес роботи лабораторії лікарської та промислової токсикології ДП "ДНЦЛЗ" МОЗ України (м. Харків).

Повнота викладення матеріалу в опублікованих роботах. За результатами досліджень опубліковано 14 наукових праць, у тому числі 8 статей у спеціалізованих наукових фахових виданнях, рекомендованих ДАК України і інших держав, з них дві статті у наукових виданнях іноземних держав в напрямку, якому відповідає дисертація, 6 статей у виданнях України, які включені до міжнародної наукометричної бази, а також 6 тез у матеріалах конгресів, з'їздів, конференцій.

Зауваження щодо змісту і оформлення дисертації та автореферату. Текст дисертації та автореферату написаний літературною мовою, викладений грамотно і логічно, з дотриманням існуючих вимог щодо структури, змісту, технічного оформлення. Суттєвих зауважень до змісту та форми подання матеріалу немає, але хотілося б відмітити наступне:

1. В розділі огляду літератури «Фармакотерапія термічних ушкоджень шкіри 1.1. Сучасні уявлення про механізми термічних ушкоджень шкіри» доречно було б збільшити посилання на зарубіжні джерела літератури.

2. Досліджувані препарати мають антиексудативний вплив. Варто було б привести літературні дані що до впливу цих препаратів при набряках.

3. Для повного сприйняття впливу досліджуваних препаратів на вивчаємі показники: прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу, цитокіни та метаболіти оксиду азоту доцільно було б їх об'єднати.

4. Недостатньо конкретні висновки що до зміни морфологічних показників.

Незважаючи на повноту викладання матеріалу, до дисертації виникли наступні питання, на які треба дати відповіді:

1. Для лікування термічних опіків необхідно застосування препаратів з протимікробною дією. Чи вивчали і чи порівнювалися досліджувані засоби за протимікробним ефектом?
2. Чи є Ваші або літературні дані щодо порівняння протизапальної дії досліджуваних препаратів, можливий вплив на фосфоліпазу A2?
3. Чи є вітчизняні або зарубіжні літературні дані щодо створення інших композицій протизапальних засобів з наночастками металу?

Висловлені зауваження та запитання не є принциповими та не понижують наукову і практичну цінність дисертації.

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам. Дисертація Гринь Ірини Василівни "Фармакологічна ефективність мазі на основі тіотриазоліну та наночасток срібла при експериментальному термічному ушкодженні шкіри" являє собою закінчену роботу, виконана на хорошому методичному рівні з залученням достатньої кількості тварин. Робота має наукову новизну, тому що в ній вперше встановлена протиопікова, репаративна, імуномодуюча дія при термічних опіках мазі, що містить тіотриазолін та наночастки срібла у порівнянні з активністю референт-препаратів. Дисертація також має практичне значення, тому що отримані експериментальні результати обґрунтовують доцільність застосування мазі тіотриазоліну з наночастками срібла після завершення експериментальних і клінічних досліджень. при термічних опіках Таким чином, за актуальністю проблеми, новизною, практичним значенням, ступенем опублікування та

загальним науковим рівнем робота повністю відповідає вимогам п.11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженим Постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013р. №567 (зі змінами), які ставляться до кандидатських дисертацій, а її автор Гринь Ірина Василівна заслуговує на присудження ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.05 – «фармакологія».

Професор кафедри фармакології
Національного медичного
університету ім. О.О. Богомольця,
доктор медичних наук, професор

