

# Теоретична медицина

УДК 616.5-001.17-001.2-085.454.1-091-092.9

DOI: 10.21802/2304-7437-2019-6(58)-64-72

## ВПЛИВ МАЗЕЙ З АНТИОКСИДАНТНОЮ АКТИВНІСТЮ НА МОРФОЛОГІЧНІ СТРУКТУРИ ШКІРИ МОРСЬКИХ СВИНОК, ЯКІ ЗАЗНАЛИ ЛОКАЛЬНОГО УЛЬТРАФІОЛЕТОВОГО ОПРОМІНЕННЯ

Т. В. Звягінцева<sup>1</sup>, С. І. Миронченко<sup>2</sup>, Н. І. Кицюк<sup>3</sup>, О. В. Наумова<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України;

<sup>2</sup>Національний фармацевтичний університет;

<sup>3</sup>Український науково-дослідний інститут медицини транспорту  
Міністерства охорони здоров'я України;

<sup>4</sup>Харківський національний медичний університет;

e-mail: s.mironchenko@ukr.net

З огляду на особливу небезпеку віддалених реакцій шкіри на ультрафіолетове опромінення (УФО), для зниження його негативного впливу на шкіру доцільним є застосування мазей, що володіють антиоксидантною активністю. Обґрунтуванням вибору мазей з антиоксидантною активністю послужив той факт, що вони знижували шкідливу дію ультрафіолету в еритемний і ранній постеритемний період. Наявність законмірного зв'язку між розвитком раннього і пізнього періодів дала підставу припустити протективний ефект мазей на віддалені реакції шкіри.

**Мета роботи** – вивчити вплив мазі тіотриазоліну і мазі тіотриазоліну з наночастками срібла на стан морфологічних структур шкіри морських свинок після локального УФО.

**Матеріал і методи дослідження.** Дослідження проведені на 132 морських свинках-альбіносах масою 400-500 г, розділених на 4 групи: 1 – інтактна, 2 – контрольна (морські свинки, які зазнали локального УФО), 3 і 4 – основні. В 3-ю основну групу входили морські свинки, які зазнали УФО, із застосуванням у лікувально-профілактичному режимі мазі тіотриазоліну, в 4-ю основну – морські свинки, які зазнали УФО, із застосуванням в аналогічному 3-й групі режимі мазі тіотриазоліну з наночастками срібла. Ультрафіолетову еритему викликали опроміненням в 1 мінімальній еритемній дозі. Мазі наносили за 1 годину до опро-

мінення і щодня до моменту зникнення еритеми. Через 2, 4 години, на 3-тю, 8-му, 15-ту, 21-шу, 28-му добу досліджували фрагменти опромієної шкіри за допомогою гістохімічних і морфометричних методів (щільність фібробластів і товщину епідермісу).

**Результати роботи.** Морфологічні зміни шкіри при застосуванні мазей з антиоксидантною активністю носять односпрямований характер. Виявлено, що в ранні терміни після опромінення мазь тіотриазоліну і мазь тіотриазоліну з наночастками срібла не впливають на зміни товщини епідермісу, проте статистично значимо зменшують щільність фібробластів у дермі на 3-ю добу експерименту в порівнянні з групою контролю.

У пізні терміни під впливом мазі тіотриазоліну відзначається поступове зниження товщини епідермісу, яка досягає норми до кінця експерименту. На 8-му добу реєструється максимальне значення щільності фібробластів, у наступні терміни експерименту показник поступово знижується, що супроводжується колагенізацією сосочкового шару в локусах ушкодження колагенових і еластичних волокон, що виявляються в 50% спостережень.

У пізні терміни під впливом мазі тіотриазоліну з наночастками срібла процеси відновлення морфологічних структур шкіри відбуваються швидше. Паралельно зниженню щільності фібробластів у локусах попереднього ушкодження колагенових і еластичних волокон сосочкового шару спостерігається потовщення колагенових волокон із заміщенням ними ділянок деструкції еластичних волокон. У цій групі до кінця експерименту локуси колагенізації дрібні, поодинокі, трапляються в 16,7% спостережень.

### **Висновки.**

1. Мазі з антиоксидантною активністю надають позитивний вплив на стан морфологічних структур шкіри, ушкоджених внаслідок локального УФО, в еритемний і постеритемний періоди.

2. У ранні терміни після локального УФО відзначається загальна тенденція дії обох мазей, яка полягає в тому, що вони знижують щільність фібробластів на 3-тю добу, але не нормалізують повністю.

3. У пізні після локального УФО терміни під впливом мазі тіотриазоліну і мазі тіотриазоліну з наночастками срібла знижується до норми товщина епідермісу (до 21-ї і 15-ї доби відповідно) і щільність фібробластів (до 28-ї доби), в той час як без лікування обидва показники в рази перевищують норму протягом 28 діб експерименту.

**Ключові слова:** ультрафіолетове опромінення шкіри, мазі з антиоксидантною активністю, щільність фібробластів, товщина епідермісу.

Як показали наші дослідження, локальне ультрафіолетове опромінення (УФО) шкіри морських свинок призводить до порушення морфологічного функціонального стану шкіри не тільки в еритемний і ранній постери-

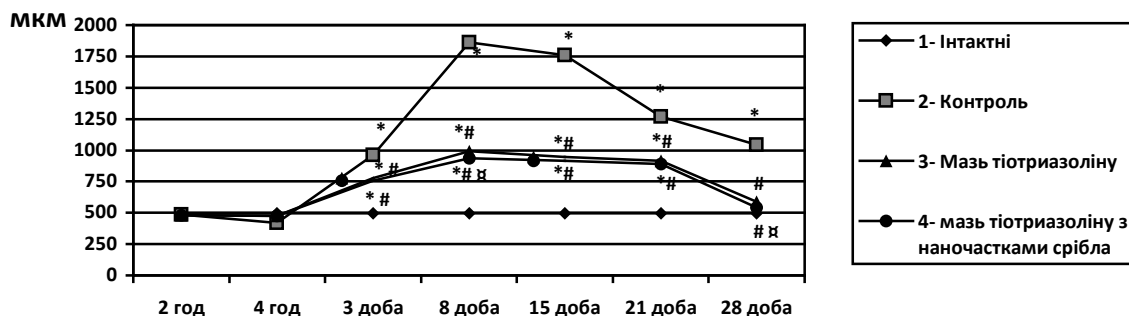
темний період, але й у віддалені після опромінення терміни при відсутності клінічних місцевих і загальних реакцій на опромінення в пізні терміни [9, 10]. З огляду на особливу небезпеку віддалених реакцій шкіри на УФО [8], ми поставили завдання знизити негативну дію УФО на шкіру шляхом місцевого застосування 2-х мазей, що володіють антиоксидантною активністю. Це мазь тіотриазоліну і мазь тіотриазоліну з наночастками срібла. Остання є нашою розробкою і за нашими даними перевершує активність мазі тіотриазоліну. Обґрунтуванням вибору мазей з антиоксидантною активністю послужив той факт, що вони знижували шкідливу дію ультрафіолету в еритемний і ранній постеритемний період [3, 5]. Наявність закономірного зв'язку між розвитком раннього і пізнього періодів дала підставу припустити протективний ефект мазей на віддалені реакції шкіри. Оскільки в пізні терміни після опромінення на перший план виступають явища фіброзу і склерозування, ми зосередили увагу на показниках щільності фібробластів і товщини епідермісу.

**Мета** – вивчити вплив мазі тіотриазоліну і мазі тіотриазоліну з наночастками срібла на стан морфологічних структур шкіри морських свинок після локального УФО.

**Матеріали та методи.** Дослідження проводилися на 132 морських свинках-альбіносах масою 400-500 г, розділених на 4 групи: 1 – інтактна, 2 – контрольна (морські свинки, які зазнали локального УФО), 3 і 4 – основні. У 3 основну групу входили морські свинки, які зазнали УФО, із застосуванням в лікувально-профілактичному режимі мазі тіотриазоліну, у 4 основну – морські свинки, які зазнали УФО, із застосуванням в аналогічному 3 групі режимі мазі тіотриазоліну з наночастинками срібла. Еритему викликали опроміненням в 1 мінімальній еритемній дозі (1 МЕД) виголеної ділянки шкіри за допомогою ртутно-кварцового опромінювача ОКН-11-М (УФ-променями А і В), який міститься на відстані 10 см від тваринного, протягом 2 хвилин. При цьому ділянку шкіри екранувати круглою платівкою, яка має п'ять отворів діаметром 6 мм. Ступінь реакції оцінювали через 2, 4 години, 3 доби після опромінення до моменту зникнення еритеми в балах для кожного плями: 0 – відсутність еритеми, 1 – чітке почервоніння, 2 – інтенсивна еритема. Підсумовували інтенсивність 5-ти плям. Рівень шкідливої дії оцінювали за інтенсивністю і тривалості еритемної реакції, набрякості, ущільнення, болісності шкіри опроміненої зони [7]. Мазі наносили за 1 годину до опромінення і щодня до моменту зникнення еритеми. Для дослідження особливостей морфологічних змін шкіри після локального УФО тварин всіх груп виводили з експерименту під загальним наркозом (тіопентал-натрій у дозі 60 мг/кг) на різних термінах експерименту (2 години, 4 години, 3-тю добу, 8-му добу, 15-ту добу, 21-шу добу, 28-му добу) з дотриманням вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей. Фрагменти шкіри фіксували в 10% нейтральному формаліні, після чого січуть ділянки товщиною близько 4 мм. Матеріал

піддавали спиртовій проводці і заливці парафіном, виготовляли зрізи товщиною 5-6 мкм. Оглядові препарати, забарвлені гематоксиліном і еозинном, використовувалися для загальної оцінки стану досліджуваних тканин. Фарбування препаратів фукселіном на еластичні волокна по Вейгерту із забарвленням пікрофусіном по ван Гізон використовувалося для виявлення і диференціювання сполучнотканинних структур [4, 6]. Для об'єктивізації отриманих даних використовували морфометричні методи дослідження товщини епідермісу і щільності фіброblastів у дермі [9]. Вивчення мікропрепаратів, а також морфометричні дослідження проводилися на мікроскопі Olympus BX-41 з використанням програм Olympus DP-Soft (Version 3: 1) і Microsoft Excel [2].

**Результати дослідження та обговорення.** Обидві мазі впливають на щільність фіброblastів у дермі і товщину епідермісу. Цей вплив односторонній, але ефективність мазей різна. У ранній еритемний період через 2 і 4 години щільність фіброblastів під впливом УФО (контрольна група) не змінена (рис. 1).



*Примітки:* 1. \* -  $p < 0,05$  (у порівнянні з групою інтактних тварин); 2. # -  $p < 0,05$  (у порівнянні з контрольною групою у відповідному терміні); 3. □ -  $p < 0,05$  (у порівнянні з маззю тіотриазоліну).

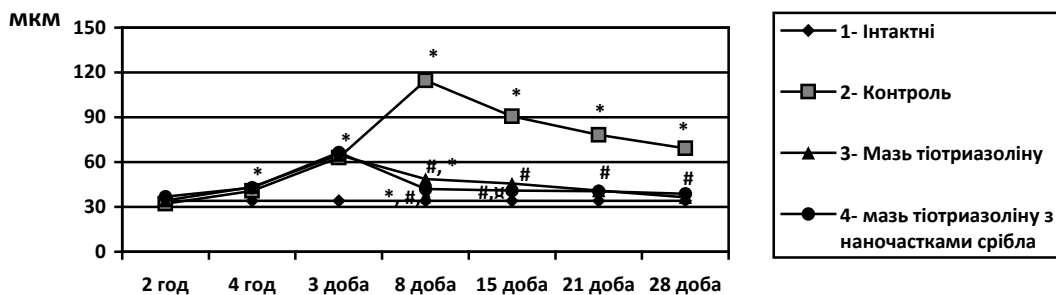
Рис. 1. Щільність фіброblastів у дермі морських свинок, які зазнали локального УФО

Відповідно обидві мазі не впливають на цей показник. Зміни починаються на 3-тю добу, коли щільність фіброblastів у групі контролю збільшується в 1,9 рази порівняно з інтактними тваринами. В цей термін під впливом обох мазей щільність фіброblastів знижується у порівнянні з контролем, хоча і залишається вище, ніж в інтактних тварин (рис. 1).

На 8-му добу щільність фіброblastів у 3-х досліджуваних групах досягає максимуму, проте показник в 1,8 рази менше при застосуванні мазі тіотриазоліну і в 2 рази – при застосуванні мазі тіотриазоліну з наночастками срібла відносно групи без лікування. На 15-ту і 21-шу добу щільність фіброblastів залишається зниженою в 1,8 і 1,4 рази під впливом мазі тіотриазоліну та в 1,9 і 1,4 рази – мазі тіотриазоліну з наночастками срібла в порівнянні з контролем, але достовірно перевищує норму. В цей час у групі без лікування щільність фіброblastів перевищує

норму в 3,6 рази і 2,6 рази відповідно. Відновлення щільності фіброblastів під впливом обох мазей настає на 28-му добу. У групі без лікування щільність фіброblastів збільшена в 2,1 рази. При цьому в динаміці дослідження, як видно з рис. 1, мазь тіотриазоліну з наночастками срібла проявляє велику ефективність. Достовірні відмінності між основними групами фіксуються на 8-му і 28-шу добу.

Епідерміс починає потовщуватись уже через 4 години в усіх досліджуваних групах, достовірно перевищуючи товщину епідермісу в інтактних морських свинок. На 3-тю добу епідерміс продовжує потовщуватись у рівній мірі як у групі без лікування, так і в групах з використанням мазей. На 8-у добу відзначається перелом у динаміці показника в різних групах. У контролі він досягає максимуму, перевищуючи норму в 3,4 рази; у 2 і 3 групах починає знижуватись в порівнянні з попередніми термінами, і тим більше з групою контролю, але залишається вище норми (рис. 2).



Примітки: 1. \* -  $p < 0,05$  (у порівнянні з групою інтактних тварин); 2. # -  $p < 0,05$  (у порівнянні з контрольною групою у відповідному терміні); 3. □ -  $p < 0,05$  (у порівнянні з маззю тіотриазоліну).

Рис. 2. Товщина епідермісу морських свинок, які зазнали локального УФО

На 15-ту добу товщина епідермісу в групі із застосуванням мазі тіотриазоліну залишається вище норми, а під впливом мазі тіотриазоліну з наночастками срібла відновлюється до норми. На 8-15-ту добу перевага мазі тіотриазоліну з наночастинками срібла підтверджується достовірністю відмінностей показника товщини епідермісу між двома основними групами. На 21-28-му добу в обох групах із застосуванням мазей товщина епідермісу не відрізняється від такої в групі інтактних морських свинок, а в групі без лікування – до кінця дослідження товщина епідермісу вища, ніж у інтактних (на 21-шу добу перевищує норму в 2,3 рази, на 28-му добу – в 2 рази) (рис. 2).

Отже, обидві мазі нівелюють негативний вплив УФО. При цьому мазь тіотриазоліну з наночастинками срібла проявляє більшу ефективність.

Таким чином, комплексне морфологічне дослідження препаратів шкіри морських свинок показало, що в ранні терміни (на 3-ю добу ек-

перименту) при застосуванні мазі тіотриазоліну щільність фібробластів у дермі була нижча, ніж у групі контролю, але вище ніж у інтактних. Вплив на товщину епідермісу мазь не чинить: показник залишається на рівні контролю, перевищуючи відповідний показник в інтактних тварин.

Під впливом мазі тіотриазоліну з наночастками срібла в ранні терміни спостерігається аналогічна закономірність. У дермі проліферативні процеси розвиваються в осередках ушкодження колагенових волокон, що морфометрично також характеризуються зниженням щільності фібробластів на 3-тю добу в порівнянні з контролем (проте показник залишається вище норми). В епідермісі відзначається нерівномірно виражена гіперплазія і гіпертрофія кератиноцитів, що морфометрично підтверджується достовірним потовщенням епідермісу в порівнянні з показником в інтактних тварин.

У пізні терміни під впливом мазі тіотриазоліну відзначається поступове зниження товщини епідермісу, яка досягає норми до кінця експерименту. На 8-му добу реєструється максимальне значення щільності фібробластів, у наступні терміни експерименту показник поступово знижується, що супроводжується колагенізацією сосочкового шару в локусах ушкодження колагенових і еластичних волокон, що виявляються в 50% спостережень.

У пізні терміни під впливом мазі тіотриазоліну з наночастками срібла процеси відновлення морфологічних структур шкіри відбуваються швидше. Паралельно зниженню щільності фібробластів у локусах попереднього ушкодження колагенових і еластичних волокон сосочкового шару спостерігається потовщення колагенових волокон із заміщенням ними ділянок деструкції еластичних волокон. У цій групі до кінця експерименту локуси колагенізації дрібні, поодинокі, трапляються в 16,7% спостережень.

#### **Висновки:**

1. Мазі з антиоксидантною активністю надають позитивний вплив на стан морфологічних структур шкіри, ушкоджених внаслідок локального УФО, в еритемний і постеритемний періоди.

2. У ранні терміни після локального УФО відзначається загальна тенденція дії обох мазей, яка полягає в тому, що вони знижують щільність фібробластів на 3-тю добу, але не нормалізують повністю.

3. У пізні після локального УФО терміни під впливом мазі тіотриазоліну і мазі тіотриазоліну з наночастинками срібла знижується до норми товщина епідермісу (до 21-ї і 15-ї доби відповідно) і щільність фібробластів (до 28-ї доби), у той час як без лікування обидва показники в рази перевищують норму протягом 28 діб експерименту.

#### *Література*

1. Автандилов Г. Г. Основы количественной патологической анатомии. Москва: Медицина, 2002. – 240 с.

2. Атраментова Л. А., Утевская О. М. Статистические методы в биологии. Горловка, 2008. – 247 с.
3. Звягинцева Т. В., Миронченко С. И., Наумова О. В. Морфологические изменения кожи морских свинок в эритемный период после локального ультрафиолетового облучения при применении мази тиотриазолина с включением наночастиц серебра // *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. – 2018. – № 3 – С. 156–162.
4. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. М.: Мир; 1960: 648.
5. Миронченко С. И., Звягинцева Т. В., Мишина М. М. Механизмы ультрафиолет-индуцированных повреждений кожи и их фармакологическая коррекция // *Експериментальна і клінічна медицина*. – 2016. – № 2 (71). – С. 127–132.
6. Пирс Э. Гистохимия (теоретическая и прикладная). М.: Иностранная литература, 1962. – 962 с.
7. Стефанов А. В. Биоскрининг. Лекарственные средства. К.: Авиценна, 1998. – 189 с.
8. Mechanisms of photoaging and cutaneous photocarcinogenesis, and photoprotective strategies with Phytochemicals. R. Bosch, N. Philips, J.A. Suarez-Perez [et al.] // *Antioxidants*. 2015. № 4: 248-268.
9. Mironchenko S. I., Naumova O. V., Zvyagintseva T. V. Morphological changes in the skin of guinea pigs in local exposure to ultraviolet irradiation. // *European Journal of Natural History*. 2016. № 6: 28-31
10. Myronchenko S. I., Zvyagintseva T. V., Naumova O. V. The impact of ultraviolet irradiation on morpho-functional state of the skin in guinea pigs // *Georgian Medical News*. 2016. N11 (260), November: 95-100

*Стаття надійшла до редакційної колегії 26.11.2019 р.  
Рекомендовано до друку д.м.н., професором Матейком Г.Б.,  
д.м.н., професором Копчею В.С. (м. Тернопіль)*

## THE EFFECT OF OINTMENTS WITH ANTIOXIDANT ACTIVITY ON THE MORPHOLOGICAL STRUCTURES OF SKIN OF GUINEA PIGS EXPOSED TO LOCAL ULTRAVIOLET IRRADIATION

**T. V. Zvyagintseva<sup>1</sup>, S. I. Myronchenko<sup>2</sup>, N. I. Kytsyuk<sup>3</sup>,  
O. V. Naumova<sup>4</sup>**

*<sup>1</sup>Romodanov Institute of Neurosurgery of NAMS of Ukraine;*

*<sup>2</sup>National University of Pharmacy;*

*<sup>3</sup>Ukrainian Research Institute of Transport Medicine of the Ministry  
of Health of Ukraine;*

*<sup>4</sup>Kharkiv National Medical University;*

*e-mail: s.mironchenko@ukr.net*

*Considering the particular danger of remote skin reactions to ultraviolet irradiation (UVI), it is advisable to use ointments with antioxidant activity to reduce its negative effect on the skin. The rationale for the choice of ointments with antioxidant activity was the fact that they reduce the damaging effect of ultraviolet radiation in the erythematous and early post-erythematous period. The presence of a regular connection between the development of the early and late periods has given reason to assume the protective effect of ointments on the remote skin reactions.*

**Objective:** *to study the effect of thiotriazoline ointment and thiotriazoline ointment with silver nanoparticles on the state of the morphological structures of the skin of guinea pigs after local UVI.*

**Material and methods of research.** *The study involved 132 albino guinea pigs weighing 400-500 g, divided into 4 groups: 1 - intact, 2 - control (guinea pigs subjected to local UVI), 3 and 4 main ones. The third main group included guinea pigs that after UVI were administered thiotriazoline ointment in the treatment and prophylactic regime, the fourth main group included guinea pigs that after UVI were administered thiotriazoline ointment with silver nanoparticles in the same mode as Group 3. Ointments were applied 1 hour before irradiation and daily until erythema disappeared. Ultraviolet erythema was caused by irradiation in 1 minimum erythematous dose. After 2, 4 hours, on the 3rd, 8th, 15th, 21st, 28th day, the fragments of irradiated skin were investigated using histochemical and morphometric methods (fibroblast density and epidermis thickness).*

**Results.** *Morphological changes in the skin after applying ointments with antioxidant activity were unidirectional. It was revealed that in the early periods after irradiation, thiotriazoline ointment and thiotriazoline ointment with silver nanoparticles do not affect changes in the thickness of the epidermis, but statistically significantly reduce the density of fibroblasts in the dermis on the 3rd day of the experiment compared to the control group.*

*In the later periods, under the influence of thiotriazoline ointment, a gradual decrease in the thickness of the epidermis, which reached the norm by the end of the experiment, was observed. On the 8th day, the maximum density of fibroblasts was recorded, in the subsequent periods of the experiment, the index gradually decreased, which was accompanied by collagenization of the papillary layer in the loci of damage to collagen and elastic fibers detected in 50% of cases.*

*In later times, under the influence of thiotriazoline ointment with silver nanoparticles, the processes of restoring the morphological structures of the skin occurred faster. In parallel with the decrease in the density of fibroblasts in the loci of the previous damage to the collagen and elastic fibers of the papillary layer, thickening of collagen fibers was observed, replacing them with segments of destruction of elastic fibers. In this group, at the end of the experiment, the collagenization locus was small, single, occurring in 16.7% of cases.*



**Conclusions**

1. *Ointments with antioxidant activity exert a positive effect on the state of morphological structures of the skin, damaged as a result of local UVI, in erythematous and post-erythematous periods.*

2. *In the early periods after the local UVI, there was a general tendency for the effect of both ointments, as they reduced the density of fibroblasts on the 3rd day, but did not result in complete normalization.*

3. *In the late period after local UVI, under the influence of thiotriazoline ointment and thiotriazoline ointment with silver nanoparticles, thickness of the epidermis (by 21st and 15th day, respectively) and density of fibroblasts (by the 28th day) decreased to normal while without treatment both indicators exceeded the norm by several times for 28 days of the experiment.*

**Key words:** *ultraviolet skin irradiation, ointments with antioxidant activity, fibroblast density, epidermis thickness.*