**УДК 615.27:612.017:616-001.17-092.9**

**ВЛИЯНИЕ ДОКСИЦИКЛИНА НА ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ТЕРМИЧЕСКОГО ОЖОГА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

Александрова А. В., кафедра фармакологии и медицинской рецептуры, Харьковский национальный медицинский университет, г. Харьков, Украина

Научный руководитель - д. мед. наук, проф. Т.В. Звягинцева

**Актуальность.** Термические поражения кожи представляют собой серьёзную медицинскую, социальную и экономическую проблему и занимают третье место в структуре травматизма мирного времени [1, 2]. Важным моментом в лечении термических ожогов является предупреждение развития тяжелых деструктивных процессов, последствиями которых может быть переход раны в хроническую [3]. Ожоговая рана в большинстве случаев склонна к хронизации в связи с длительным воспалительным процессом, высокой протеолитической активностью и дисбалансом между про- и противовоспалительными цитокинами [4]. Одним из негативных последствий избыточного протеолиза является разрушение продуктов синтеза фибробластов, факторов роста, фибронектина, α1-антипротеаз, α2-макроглобулина [5]. Исход патологического процесса в незаживающей ране – персистирующее воспаление Неконтролируемая воспалительная реакция приводит к изменению цитокинового профиля с преобладанием провоспалительных и дефицитом противовоспалительных цитокинов [6]. В низких концентрациях цитокины стимулируют антимикробные функции организма и заживление ран, активируют гуморальное и клеточное звено иммунитета. Высокие концентрации провоспалительных цитокинов, наоборот, вызывают значительные изменения в метаболизме клеток, ведя к повреждению тканей [7]. Наибольшее значение имеет фактор некроза опухолей-α (ФНО-α), как первый проксимальный медиатор, запускающий цитокиновый каскад. ФНО-α стимулирует выделение интерлейкинов, простагландинов, оксида азота и др., каждый из которых представляет важный фактор на своем участке каскада. Вследствие этого чрезмерная аккумуляция в крови ФНО-α вызывает переход локального воспаления в генерализованный сепсис и тяжелую полиорганную недостаточность [8]. Экспериментальные данные показывают, что синтетический тетрациклиновый антибиотик доксициклин является ингибитором матричних металлопротеиназ (ММП), т. е. способен подавлять чрезмерный протеолиз [9].

Учитывая, что одним из условий успешного заживления термического ожога, на ряду с подавлением протеолиза, является нормализация цитокинового профиля, целью нашей работы стало изучение влияния ингибитора ММП доксициклина на уровень провоспалительного цитокина – ФНО-α и противовоспалительного – интерлейкина-4 (ИЛ-4).

**Материалы и методы:** Исследования проведены на 96 крысах популяции WAG массой 200–250 г. Животные были разделены на 5 групп: интактные (1 группа), с экспериментальным ожогом без лечения (2 группа), лечение тиотриазолином (препарат сравнения) в дозе 30 мг/кг (3 группа), лечение метилурацилом (препарат сравнения) в дозе 2,5 мг/кг (4 группа), лечение доксициклином в дозе 30 мг/кг (5 группа). Препараты вводили внутрижелудочно в крахмальной взвеси однократно с первого дня ожога и на протяжении 28 суток. Животных выводили из эксперимента в соответствии с правилами биоэтики на 7,14, 21 и 28 сутки. Определение уровня ИЛ-4 в крови определяли иммуноферментным методом с помощью тест-системы фирмы “Bender MedSystem” (Германия) согласно прилагаемой к набору инструкции на иммуноферментном анализаторе «Labline-90» (Австрия [10].

**Результаты и их обсуждение:**

Изучение уровня ФНО-α в периферической крови крыс без лечения выявило его повышение на протяжении всего периода эксперимента в сравнении с нормой (рис. 1). Максимальные показатели были зарегистрированы в первые две недели наблюдений. В эти сроки уровень ФНО-α превышал уровень интактных животных в 2,5 раза (7-ые сутки) и 2,1 раза (14 сутки). Затем содержание цитокина постепенно снижалось по сравнению с предшествующими сроками, но оставалось значительно выше нормы. Под воздействием тиотриазолина уровень ФНО-α снижался во все сроки исследования по сравнению с контролем, но на протяжении всего эксперимента оставался достоверно выше, чем в группе интактных животных (на 7-ые сутки – в 2,1 раза, на 14-ые – в 1,7 раза, на 21-ые – в 1,4 раза, на 28-ые – в 1,2 раза). Наиболее эффективным оказывался доксициклин. На протяжении всего времени эксперимента было зарегистрировано достоверное снижение уровня ФНО-α в сравнении с контролем и референтным препаратом (тиотриазолином). К 28-ым суткам наблюдений происходило снижение провоспалительного цитокина до нормы.



***\****

***\****

***#***

***#***

***\****

***^***

***\****

***#***

***#***

***\****

***^***

***\****

***\****

***\****

***#***

***#***

***^***

***\****

***\****

***#***

***#***

***\****

***^***

Рис. 1. Уровень ФНО-α в периферической крови крыс при термическом ожоге.

\*- достоверность различий по сравнению с интактными животными, р≤0,05; #- достоверность различий по сравнению с контролем, р≤0,05; ^- достоверность различий по сравнению с тиотриазолином, р≤0,05;

Изучение уровня ИЛ-4 в периферической крови контрольных животных выявило его снижение на протяжении всего периода наблюдений в сравнении с интактными крысами, с минимальными значениями в первые две недели (рис. 2).

***\****

***#***

***\****

***\****

***#***

***\****

***\****

***\****

***#***

***#***

***\****

***#***

***\****

***#***

***#***

***\****

Рис. 2. Уровень ИЛ-4 в периферической крови крыс при термическом ожоге.

\*- достоверность различий по сравнению с интактными животными, р≤0,05; #- достоверность различий по сравнению с контролем, р≤0,05;

В эти сроки уровень этого цитокина был ниже нормы в 2,2 раза (7-ые сутки) и в 1,7 раза (14-ые сутки). Под влиянием тиотриазолина уровень ИЛ-4 повышался. Достоверные отличия по сравнению с контролем отмечались на 14-ые сутки (на 17%), на 21 сутки (на 21%), на 28 сутки (на 18%). К 28-ым суткам уровень противовоспалительного цитокина достигал нормы. Наиболее интенсивно повышался уровень ИЛ-4 под воздействием доксициклина. Только в этой группе животных уже с 21-ых суток его уровень повышался до физиологических значений, т.е. достоверно не отличаясь от уровня ИЛ-4 интактных крыс.

Таким образом, синтетический ингибитор ММП доксициклин наиболее эффективно подавляет активность провоспалительного цитокина ФНО-α в периферической крови и наиболее интенсивно повышает уровень противовоспалительного – ИЛ-4. Препарат сравнения тиотриазолин уступает ему по своей эффективности.

**Список использованной литературы:**

1. Звягинцева Т.В. Влияние ранозаживляющих лекарственных средств с разными механизмами действия на уровень провоспалительных цитокинов при ожоговой травме у крыс / Т.В. Звягинцева, А.В. Кривошапка, Е.В. Желнин – Екпериментальна і клінічна медицина, 2011. - № 1(50).-С.57-60.

2. Имашева А. К. Особенности регенераторных процессов кожи при термических ожогах /А. К. Имашева, М. В. Лазько – Фундаментальные исследования, 2009. – № 5. – С. 22–24.

3. Орехович В. Н. Роль протеолитических ферментов в регуляции физиологических процессов / В. Н. Орехович, JI. А. Локшина, Ю. Е. Елисеева // Вестник АМН СССР. – 1984. – № 8. – С. 3-11.

4. Page-McCaw A. Matrix metalloproteinases and the regulation of tissue remodelling / A. Page-McCaw, A.J. Ewald, Z. Werb // Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. – 2007. – Vol. 8, № 3. – P. 221 – 233.

5. Grinell F. Fibronectin degradation in chronic wounds depends on the relative levels of elastase, a1 – proteinase inhibitor, and a2 – macroglobulin / F. Grinell, M. Zhu // J. Invest. Dermatol. – 1996. – Vol. 106. – P. 335 – 341.

6. Mast B. Interactions of cytokines, growth factors, and proteases in acute and chronic wounds / B. Mast, G. Schultz // Wound Repair Regen. – 1996. – Vol. 4. – P. 420 – 441.

7. Протизапальний вплив N-стеароїлетаноламіну на експериментальну опікову травму в щурів / Н. М. Гула, А. А. Чумак, А. Г. Бердишев [та ін.] // Укр. Біохім. Журн. – 2009. – Т. 81, № 2. – С. 107 – 116.

8. Кулинский В. И. Система глутатиона II. Другие ферменты, тиол- дисульфидный обмен, воспаление и иммунитет, функции / В. И. Кулинский, Л. С. Колесниченко // Биомед. химия. – 2009. – Т. 55, № 4. – С. 365 – 379.

9. Sreekanth W.R. Doxycycline in the treatment of rheumatoid arthritis – a pilot study/W.R. Sreekanth, R. Handa, P. Aggarwal, [et al.] – Assoc. Physicians India, 2000. - Vol. 48 (8). – P.804-807.

10. Орехович В. Н. Современные методы в биохимии / [Под ред. В. Н. Ореховича] – М. : Медицина, 1977. – С. 63 – 66.