

## ФАРМАКОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ РАНОЗАГОЮВАЛЬНОЇ ДІЇ КРЕМУ «ДЕКСПАНТЕНОЛ З КЕРАМІДАМИ» НА МОДЕЛІ ПЛОЩИННИХ РАН

**Я.О. Бутко, Т.В. Деева, М.О. Ляпунов, О.В. Цулун**

*Національний фармацевтичний університет (Харків)*

*Харківський національний медичний університет*

*Державний науково-дослідний центр лікарських засобів (Харків)*

### Вступ

Стимуляція загоєння ран залишається актуальною проблемою у хірургії, комбустіології та дерматології. Незважаючи на постійне удосконалення методів лікування ран частота ускладнень їх загоєння у хірургії, за даними окремих авторів, досягає 30 %, в комбустіології – 40 %, а в дерматології – 7 % [1, 3, 5]. Поширеність серед населення ускладнення загоєння ран, тривалість їх перебігу, недостатньо ефективна терапія, економічний збиток, викликаний тимчасовою втратою працездатності хворих, змушують поглиблено вивчати дану патологію та створює необхідність подальшого пошуку нових методів лікування [2].

Одним з методів підвищення лікування ран є вдосконалення існуючих ранозагоювальних препаратів [2]. Декспантенол – відомий ранозагоювальний засіб, що широко використовують для лікування II-III фази ранового процесу. Однак, більшість препаратів із декспантенолом, зареєстрованих в Україні [2], не відповідають сучасним вимогам, так як вони створені на гідрофобній основі, яка порушує відходження ексудату з рани. Це створює сприятливі умови для активізації запалення і розвитку інфекції, а також викликає мацерацію шкіри навколо рани, що порушує газообмінні процеси і призводить до гіпоксії тканин [1, 3]. Процеси запалення і гіпоксії сприяють надмірній активації фібробластів, які активно продукують колаген, надлишок якого може порушувати природний процес загоєння і створювати неякісний рубець [1, 9-11]. Тому, вдосконалення ранозагоювальних препаратів із декспантенолом на гідрофільній основі є актуальним.

У зв'язку з сучасними вимогами при пораненні шкіри приділяють увагу стану вологого середовища у рановому дефекті, так як

воно попереджає надлишкове висихання тканин та поглиблення їх некрозу, що запобігає розвитку рубцевих деформацій [1, 2]. Тому, перспективним напрямом удосконалення ранозагоювальних засобів є введення речовин, що сприяють зволоженню ранової поверхні та прискорюють проліферацію тканин. Із цією метою під керівництвом проф. Ляпунова М.О. запропоновано крем на гідрофільній основі, що містить декспантенол та кераміди, що застосовують в косметології для зволоження шкіри та покращення її еластичності [8].

**Метою** даної роботи стало вивчення ранозагоювальної дії комбінації речовин декспантенол з керамідами на моделі площинних ран у щурів та оцінити їх вплив на якість утвореної рубцевої тканини на місці дефекту.

### Матеріали та методи дослідження

Об'єктом дослідження став комбінований крем на гідрофільній основі «Декспантенол з керамідами». В якості препарату порівняння використовували ранозагоювальний крем «Бепантен», що містить декспантенол (виробник Байер Консьюмер Керр АГ, Швейцарія).

Дослід проводили на 30 щурах вагою 190-240 г. Площинні рани відтворювали на депільованій ділянці шкіри у наркотизованих тварин – вирізали ділянку шкіри площею 400 мм<sup>2</sup> [2]. Лікування препаратами починали через добу після відтворення рани і до повного загоєння. Тварини були розподілені на три групи: перша група – контрольна патологія (тварин не лікували), друга – тварини, яких лікували кремом «Декспантенол з керамідами», третя – кремом «Бепантен». Площу ран вимірювали через день і до повного загоєння ран. В ці терміни розраховували коефіцієнт швидкості загоєння ран за формулою:  $V = [S_{\text{вихід}} - S_{(t)}] / S_{(t)}$ , де V – коефіцієнт швидкості загоєння ран;  $S_{\text{вихід}}$  – вихідна площа рани, мм<sup>2</sup>;  $S_{(t)}$  – площа рани в день вимірювання, мм<sup>2</sup>.

Морфологічні дослідження проводили на базі ХНМУ під керівництвом доц. Деевої Т.В.. Коли у тварин почали загоюватися рани (на 14-й день досліду) брали зразки з області ранового дефекту та прилеглою шкірою. Зрізи фарбували гематоксиліном і еозином (оглядова мікроскопія) та пікрофуксином за Ван-Гізоном (для виявлення колагенових волокон) [4, 6]. Світлооптичне дослідження мікропрепаратів проведено під мікроскопом "Бімам Р-12".

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою t-критерію Ст'юдента [7]. Вірогідність отриманих результатів оцінювали на рівні значущості не менше 95 % (p<0,05).

## Отримані результати та їх обговорення

Аналіз их даних показав, що у щурів контрольної групи, яких не лікували, загоєння ран протягом 7-ми діб відбувається повільно, про що свідчить скорочення площі ран і коефіцієнт швидкості загоєння ран: на 3-ю добу площа ран складала 273,4 мм<sup>2</sup> і коефіцієнт швидкості загоєння склав 0,39; на 5-у – 239,2 мм<sup>2</sup> і 0,58, відповідно; на 7-у добу – 194,8 мм<sup>2</sup> і 0,95, відповідно (табл. 1). Починаючи з 9-ї доби загоєння ран іде більш інтенсивно і до 25-ї доби реєструється повне загоєння ран у 100 % тварин.

Таблиця 1

Динаміка площі ран та коефіцієнту загоєння під впливом досліджуваних кремів на моделі площинних ран, (n=5)

Дні лікування	Показники	Групи досліджу, креми		
		Контрольна патологія	Декспантенол з керамідами	«Бепантен»
Вихідні дані	S, мм <sup>2</sup>	378,8±21,9	360,6±18,9	333,6±8,5
3-й	S, мм <sup>2</sup>	273,4±27,9*	251,8±24,0*	197,6±20,2 <sup>*/**</sup>
	V	0,39	0,43	0,69
5-й	S, мм <sup>2</sup>	239,2±17,7*	172,8±20,0 <sup>*/**</sup>	153,4±13,5 <sup>*/**</sup>
	V	0,58	1,09	1,18
7-й	S, мм <sup>2</sup>	194,8±16,2*	89,6±16,7 <sup>*/**</sup>	90,2±8,1 <sup>*/**</sup>
	V	0,95	3,03	2,70
9-й	S, мм <sup>2</sup>	145,0±13,5*	55,6±16,7 <sup>*/**</sup>	57,4±5,7 <sup>*/**</sup>
	V	1,61	5,49	4,81
11-й	S, мм <sup>2</sup>	106,0±14,2*	23,4±7,7 <sup>*/**</sup>	38,8±4,6 <sup>*/**</sup>
	V	2,57	14,4	7,60
15-й	S, мм <sup>2</sup>	55,0±13,9*	1,8±0,6 <sup>*/**</sup>	5,8±4,2 <sup>*/**</sup>
	V	5,89	199,3	56,5
17-й	S, мм <sup>2</sup>	39,6±12,7*	-	3,0±2,8 <sup>*/**</sup>
	V	8,57	-	110,2

Примітка: S – площа ран, мм<sup>2</sup>; V – коефіцієнт швидкості загоєння ран; \* – достовірне відхилення по відношенню до вихідних даних, p<0,05; \*\* – достовірне відхилення по відношенню до контрольної патології, p<0,05; n – кількість тварин в дослідних групах.

При лікуванні тварин кремами «Декспантенол з керамідами» і «Бепантен» встановлено, що вони значно прискорюють початок та

інтенсивність процесу епітелізації достовірно зменшуючи площу рани в порівнянні з щурами, яких не лікували протягом всього експерименту. Скорочення площі ран у тварин дослідних груп відбувається вже на 3-ю добу: середня площа ран зменшується в порівнянні з вихідною в 1,4-1,7 рази (при лікуванні «Декспантенол з керамідами» з 360,6 мм<sup>2</sup> до 251,8 мм<sup>2</sup>, при лікуванні «Бепантен» з 333,6 мм<sup>2</sup> до 197,6 мм<sup>2</sup>), а на 5-у добу – в 2,1-2,2 рази (до 172,8 мм<sup>2</sup> і 153,4 мм<sup>2</sup>, відповідно).

Значне прискорення швидкості загоєння ран відбувається вже на 7-у добу у лікованих тварин в порівнянні з нелікованими тваринами. Так, швидкість загоєння ран при лікуванні кремом «Декспантенол з керамідами» перевищувала в 3,2 рази, а при лікуванні кремом «Бепантен» в 2,8 рази; на 9-у добу – в 3,4 рази і в 3,0 рази, відповідно. В подальшому швидкість загоєння ран відбувається більш інтенсивно. Повну епітелізацію ран у всіх тварин (100 %) в групі, яку лікували кремом «Декспантенол з керамідами» спостерігали на 17-у добу, а в групі, яких лікували кремом «Бепантен» – на 19-у добу. Таким чином, крем «Декспантенол з керамідами» сприяв скороченню термінів загоєння ран на 8 днів, крем «Бепантен» на 6 днів, в порівнянні з контрольною патологією.

Морфологічне вивчення стану шкіри з ранами у щурів показало, що на 14-у добу в групі контрольної патології у 80 % спостережень рана прикрита малорухливим струпом неправильної форми, у 20 % – дефект являє собою вузький рівний шов. У 40 % тварин виявляється широкий дефект, прикритий масивним струпом, щільно зрощений (рис. 1 а). У решти – дефект менше. Під струпом незріла грануляційна тканина з вертикальними судинами і великою кількістю клітин: хаотично розташованих фібробластів і нейтрофілів (рис. 1 б-г).

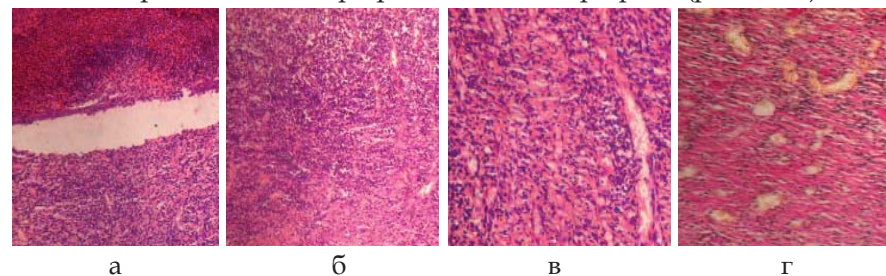
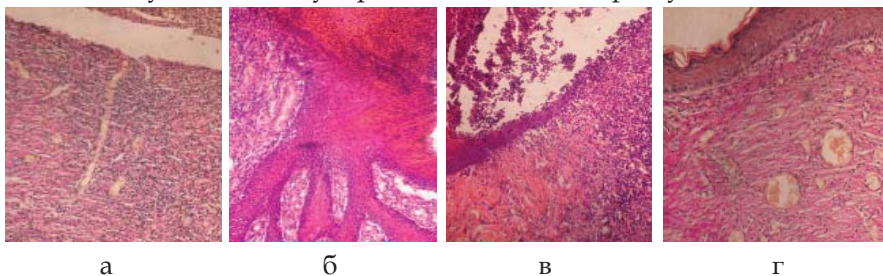


Рис. 1. Шкіра щурів з площинними ранами, яких не лікували, 14-а доба. Масивний струп, що прикриває широкий дефект, знизу – незріла грануляція (а). Незріла грануляційна тканина, хаотично розташовані фібробласти, лейко-

цити, малочисельні волокна (б). Гематоксилін і еозин x 200. Крайова ділянка дефекту – більш зріла грануляція (в). Гематоксилін і еозин x 250. Інтенсивне волокнуотворення в крайовій зоні (г). Пікрофуксин за по Ван-Гізоном x 250.

Крайова ділянка дефекту представлена більш зрілими грануляціями в поверхневих і пухкої волокнистої тканиною (приблизно 1/3 дефекту) на дні рани (рис. 2 в). Волокнуотворення в них же досить інтенсивне, з'являються пучки волокон. У центральних зонах волокна малочисельні і неправильно орієнтовані (рис. 2 а). У підшкірно-жировій клітковині на відстані від зони дефекту збережені вогнища запалення. Відбувається васкуляризація в області дефекту.



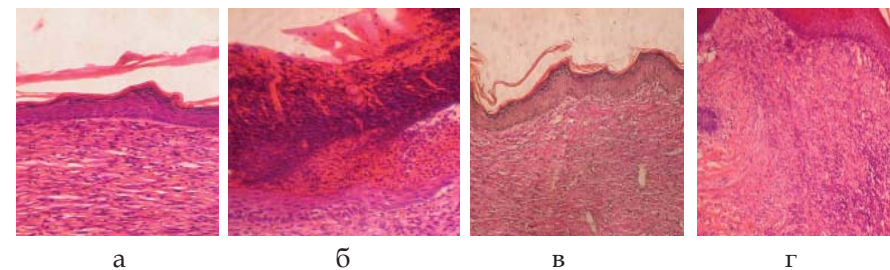
**Рис. 2.** Шкіра щурів з площинними ранами, яких не лікували, 14-а доба. Нечисленні, різноспрямовані волокна в центральній зоні дефекту (а). Дефект заповнений волокнистої тканиною (г) Пікрофуксин за Ван-Гізоном x 150. Гіпертрофічне розростання крайового епідермісу, епітелій лише починає наростати під струп (стрілка) (б). Гематоксилін і еозин x 200. Наростання вузького малодиференційованого епітеліального пласта на незрілу грануляцію (стрілка) (в). Гематоксилін і еозин x 150.

У прикордонних з дефектом ділянках шкіри відзначено гіпертрофічне розростання епітелію (рис. 2 б), однак, крайова епітелізація тільки починається. Епітелій вузьким пластом починає підповзати під струп, лягаючи на незрілу грануляційну тканину, чіткого диференціювання шарів не простежується (рис. 2 в). Лише у 20 % спостережень відзначається епітелізація дефекту (контракція добре виражена), дефект в цьому випадку заповнений досить зрілою пухкої тканиною, волокна лежать паралельно поверхні, утворюють пучки (рис. 2 г).

При лікуванні кремом «Декспантенол з керамідами» у 60 % тварин рана являє собою невеликий рівний вузький шов, у 20 % – має невеликі розміри, округлу форму, у 20 % – форма неправильна. Рани прикриті струпом, шкіра в області дефекту тонка і рухома. У 60 % тварин відбулася повна епітелізація рани, дефект покритий іноді потовщеним епітелієм, в якому виразна диференціювання шарів (рис. 3 а). Починаєть-

ся процес ремоделювання – заміни грануляційної тканини на рубцеву – змінюється співвідношення між клітинами фібробластичного ряду і волокнами на користь останніх. Новостворена тканина повсюдно носить волокнистий характер, з'являються пучки (рис. 3 в). Волокна і пучки горизонтально орієнтовані. Дефект добре васкуляризований.

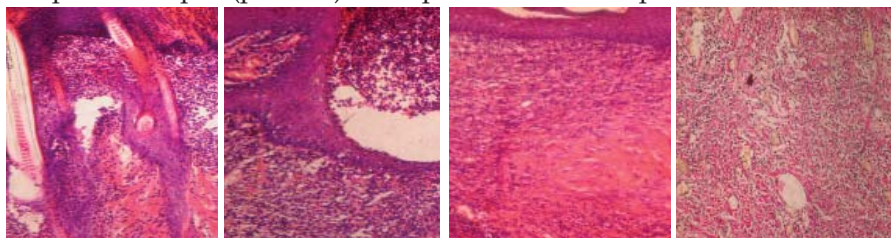
У решти тварин збережений невеликий (20 %) або великий (20 %) дефект з активним зростанням епітелію з обох країв. Тканина волокниста в донних і крайових областях, але зберігає певну клітковість і високу васкуляризацію в центральних. У великій рані ще видна лимфоїдна інфільтрація (рис. 3 б). Контракція здорової дерми в область дефекту добре виражена (рис. 3 г).



**Рис. 3.** Шкіра щурів з площинними ранами, яких лікували кремом «Декспантенол з керамідами», 14-а доба. Повна епітелізація дефекту, зниження кількості судин, збільшення числа волокон (а). Крайовий ріст епітелію, зріла грануляція, лімфоїдна інфільтрація (б). Гематоксилін і еозин x 200. Волокнистий характер новоствореної тканини, у верхніх шарах видно тонкі пучки волокон (в). Пікрофуксином по Ван-Гізоном x 200. Добре виражена контракція здорової шкіри в область дефекту (г). Гематоксилін і еозин x 150.

Після нанесення крему «Бепантен» ранові поверхні в 80 % випадків прикриті струпом неправильної або прямокутної форми, шкіра в області дефекту малорухлива. В одного щура поруч з раною виявляється підшкірна гранульома. У однієї тварини дефект являє собою вузький малопомітний шов. У 40 % тварин рановий дефект ще досить обширний, рановий канал заповнений незрілою грануляційної тканиною з численними вертикальними судинами і великою кількістю клітин: фібробластами, гістіоцитами, лімфоцитами і нейтрофілами. Багато гранулоцитів визначається і в масивному струпи, що прикриває рану. Демаркаційний вал погано виражений. Всі ці фактори свідчать про те, що процес очищення ранового каналу не був завершений: ще видно залишки старої дерми і її дериватів, скупчення нейтрофілів (рис. 4 а). У цих випадках навіть в крайових ділян-

ках новостворена тканина не носила волокнистий характер (рис. 4 б). У 40 % щурів дефект мав невеликі розміри, був виконаний незрілими грануляціями, вміст нейтрофілів було невелике, в донних областях є волокниста тканина. Епітелізація ран не завершена, вертикальна анізоморфність пласта, що наповзає не завжди виражений, регенеруючий епітелій буває потовщений за рахунок збільшення числа клітин в середніх шарах (рис. 4 б). Контракція погано виражена.



**Рис. 4.** Шкіра щурів з площинними ранами, яких лікували кремом «Бепантен», 14-а доба. Обширний рановий канал із залишками старої дерми і її дериватів, великою кількістю нейтрофілів (а). Крайова ділянка рани. Погано диференційований епітеліальний пласт наповзає на незрілу грануляцію (стрілка) (б). Добре видима контракція, волокнистий характер тканини (в). Гематоксилін і еозин x 150. Різноспрямовані волокна в центральній частині ранового каналу, залишки жирової клітковини (г). Пікрофуксином по Ван-Гізоном x 250.

Під впливом крему «Бепантен» також відбувається посилення васкуляризації проте не настільки значне, як після впливу крему «Декспантенол з керамідами». В центральних областях волокна ще до кінця не впорядковані, є ще залишки жирової клітковини, навколо якої відбувається волокноутворення (рис. 4 г), в крайових – волокон більше і вони орієнтовані горизонтально. Лише в 20 % спостережень дефект покритий епітелієм, тканина у рані носить волокнистий характер, контракція добре виражена (рис. 4 в).

Отже, на основі проведених досліджень впливу крему «Декспантенол з керамідами» на морфологічні зміни площинних ран шкіри у щурів можна зробити висновок, що досліджуваний препарат значно прискорює проліферативно-регенераційні процеси в рані, сприяє дозріванню грануляційної тканини та утворенню рухливого рубця (шляхом концентричного рубцювання).

Таким чином, результати планіметричного та морфологічного дослідження ранозагоювальної дії крему «Декспантенол з керамі-

дами» показали, що даний крем володіє вираженою ранозагоювальною дією про що свідчить стимуляція епітелізації з утворенням якісного рубця та скорочення термінів загоєння поверхні рани. Порівняння виразності лікувальної дії препаратів показав, що загоєння в групі, яку лікували кремом «Декспантенол з керамідами», відбулося на 2 дні раніше, ніж у групі, яку лікували кремом «Бепантен». Тобто, додавання керамидів до складу крему з декспантенолом сприяло підвищенню виразності ранозагоювальних властивостей останнього, що підтверджує доцільність даної комбінації.

#### Висновки

1. На моделі площинних ран встановлено, що використання крему на гідрофільній основі, що містить комбінацію речовин декспантенол та кераміди сприяє загоєнню шкірних ран у щурів.

2. За результатами планіметричного дослідження встановлено, що крем «Декспантенол з керамідами» володіє вираженою ранозагоювальною дією, про що свідчить прискорення швидкості загоєння ран, зменшення площі рани й терміни загоєння в порівнянні з контрольною групою. Результати морфологічного дослідження підтвердили, що цей крем прискорює проліферативно-регенераційні процеси в рані, сприяє дозріванню грануляційної тканини та утворенню якісного рубця. За результатами даних досліджень лікувальна дія крему «Декспантенол з керамідами» перевищує дію препарату порівняння.

3. Отже, крем «Декспантенол з керамідами» створює сприятливі умови для успішного загоєння ран та утворення якісного рубця, що є перспективним напрямом для подальшого фармакологічного дослідження препарату з метою впровадження його в клінічну практику.

#### Література

1. Абаев Ю.К. Справочник хирурга. Раны и раневая инфекция / Ю.К. Абаев. – Ростов н/Д: Феникс, 2006. – 427 с.
2. Експериментальне вивчення нових препаратів для місцевого лікування ран: метод. рекомендації ДЕЦ МОЗ України / Л.В. Яковлева, О.В. Ткачова, Я.О. Бутко, Ю.Б. Пар'яновська – Харків: НФаУ, 2013. – 52 с.
3. Еремеев С.А. Сравнительная оценка эффективности способов лечения пострадавших с поверхностными ожогами кожи в условиях влажной среды / С.А. Еремеев, О.В. Чичиков, А.В. Коваленко [и др.] // Науч. журнал. – 2010. – № 10. – С. 288-294.
4. Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники / Г.А. Меркулов. – М.: Медицина, Ленингр. отд-ние, 1969. – 424с.

5. Потеекаев Н.Н. Наружная терапия гнойных осложнений в косметологии / Н.Н. Потеекаев, Н.И. Индилова, Е.Е. Румянцева // *Клин. дерм. та венер.* – 2010. – № 6. – С. 55-61.
6. Фенчин К.М. *Заживление ран* / Фенчин К.М. – Київ: Здоров'я, 1979. – С. 43-44.
7. Халафян А.А. STATISTICA 6. Статистический анализ данных: учебник / А.А. Халафян. – [3-е изд.]. – М.: Бином-Пресс, 2007. – 512 с.
8. Ceramides and barrier function in healthy skin // Mutanu Jungersted, L.I. Hellgren, J.K. Høgh [et al.] // *Acta Derm. Venereol.* – 2010. – Vol. 4, № 90. – P. 350-353.
9. Use of gene-modified keratinocytes and fibroblasts to enhance regeneration in a full skin defect / J.A. Lohmeyer, F. Liu, S. Kruger [et al.] // *Langenbecks Arch. Surg.* – 2011. – Vol. 2, № 3. – P. 76-79.
10. Velnar T. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms / T. Velnar, T. Bailey, V. Smrkolj // *J. Int. Med. Res.* – 2009. – Vol. 37, № 5. – P. 1528-1542.
11. Wound healing activity of human urine in rats / H.A. Ramesh, M. Azmathulla, M. Baidya [et al.] // *RJPBCS.* – 2010. – Vol. 1, № 3. – P. 750-758.

#### Резюме

**Бутко Я.О., Деева Т.В., Ляпунов М.О., Цулун О.В.** Фармакологічне дослідження ранозагоювальної дії крему «Декспантенол з керамідами» на моделі площинних ран.

Досліджено ефективність лікування площинних ран кремом на гідрофільній основі, що містить комбінацію речовин декспантенол та кераміди. Результати дослідження показали, що крем «Декспантенол з керамідами» сприяє загоєнню площинних ран та зменшує строки лікування, у порівнянні з контрольною патологією. Порівняння виразності лікувальної дії препаратів показав, що загоєння, в групі яку лікували кремом «Декспантенол з керамідами» відбулося на 2 дні швидше ніж у груп, яку лікували кремом «Бепантен». Тобто, додавання керамідів до складу крему з декспантенолом сприяло підвищенню виразності ранозагоювальних властивостей останнього, що підтверджує доцільність даної комбінації. При лікуванні ран кремом «Декспантенол з керамідами» морфологічно також спостерігали найбільшу епітелізацію ранової поверхні, сприяння дозрівання грануляційної тканини та утворення якісного рубця. Отже, перспективним є подальше фармакологічне дослідження комбінації речовин декспантенол з керамідами з метою вивчення їх механізмів впливу на процеси загоєння.

**Ключові слова:** крем, кераміди, декспантенол, площини рани, ранозагоювальні властивості.

#### Резюме

**Бутко Я.А., Деева Т.В., Ляпунов Н.А., Цулун Е.В.** Фармакологическое исследование ранозаживляющего действия крема «Декспантенол с керамидами» на модели плоскостных ран.

Исследована эффективность лечения плоскостных ран кремом, который содержит комбинацию веществ декспантенол и керамиды. Результаты иссле-

дования показали, что крем «Декспантенол с керамидами» способствует заживлению плоскостных ран и уменьшает сроки лечения, в сравнении с контрольной патологией. Сравнение выраженности лечебного действия препаратов показал, что заживление раны, в группе, которую лечили кремом «Декспантенол с керамидами» состоялось на 2 дня быстрее, чем у группы, которую лечили крем «Бепантен». То есть, добавление керамидов в состав крема с декспантенолом способствовало повышению выраженности ранозаживляющих свойств последнего, что подтверждает целесообразность данной комбинации. При лечении ран кремом «Декспантенол с керамидами» морфологически также наблюдали наибольшую эпителизацию раневой поверхности, способствование созреванию грануляционной ткани и образования качественного рубца. Поэтому, перспективным является дальнейшее фармакологическое исследование комбинации веществ декспантенол с керамидами с целью изучения их механизмов влияния на процессы заживления.

**Ключевые слова:** крем, керамиды, декспантенол, плоскостные раны, ранозаживляющее действие.

#### Summary

**Butko Y.O., Deeva T.V., Lyapunov N.O., Tsulun O.V.** Wound-healing properties of cream "dexpanthenol with ceramides" on excisional wound model: pharmacological study.

The efficiency of excisional wounds treatment with cream containing combination of dexpanthenol with ceramides has been studied. The results of the study have shown that cream "Dexpanthenol with ceramides" promotes healing of excisional wounds and reduces the terms of healing, compared to the control pathology. While comparing expression of preparations' therapeutic activity it has been established that wound healing occurred 2 days earlier in the group treated with cream "Dexpanthenol with ceramides" than in the group treated with cream "Bepanthen". Meaning that adding of ceramides to the cream containing dexpanthenol promoted increase of wound-healing properties of the latter, confirming the expediency of this combination. While treating with cream "Dexpanthenol with ceramides" morphologically we also observed the highest epithelization of wound surface, promotion of granulation tissue maturation and formation of qualitative scar. Therefore, further pharmacological study of combination dexpanthenol with ceramides is prospective in order to examine mechanisms of their influence on wound-healing processes.

**Key words:** cream, ceramides, dexpanthenol, excisional wounds, wound-healing action.

**Рецензент:** д.мед.н., проф. Л.В. Деримедвідь