

Міністерство охорони здоров'я України  
Національний фармацевтичний університет

БУТКО ЯРОСЛАВА ОЛЕКСАНДРІВНА

УДК:615:454.1:615.357:616-001.4:616.5

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ СТВОРЕННЯ М'ЯКИХ  
ЛІКАРСЬКИХ ФОРМ ІЗ КЕРАМІДАМИ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ЗАПАЛЬНИХ  
ЗАХВОРЮВАНЬ ШКІРИ ТА РАНОВОГО ПРОЦЕСУ

14.03.05 – фармакологія

Автореферат  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
доктора фармацевтичних наук

Харків – 2016

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі фармакології та лікарської токсикології Національного фармацевтичного університету МОЗ України, м. Харків.

Наукові консультанти: доктор фармацевтичних наук, професор  
**ЛЯПУНОВ Микола Олександрович**,  
ДНУ «НТК «Інститут монокристалів» НАН України»,  
заслужений науковий консультант

доктор медичних наук, професор  
**ДРОГОВОЗ Світлана Мефодіївна**,  
Національний фармацевтичний університет  
МОЗ України,  
професор кафедри фармакології

Офіційні опоненти: доктор фармацевтичних наук, професор  
**ПОДПЛЕТНЯ Олена Анатоліївна**,  
ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»,  
завідувач кафедри загальної та клінічної фармації

доктор фармацевтичних наук, професор  
**СИРОВА Ганна Олегівна**,  
Харківський національний медичний університет  
МОЗ України,  
завідувач кафедри медичної та біоорганічної хімії

доктор медичних наук, професор  
**РОЖКОВСЬКИЙ Ярослав Володимирович**,  
Одеський національний медичний університет  
МОЗ України,  
завідувач кафедри фармакогнозії і технології ліків

Захист відбудеться «27» травня 2016 року о 10<sup>00</sup> год на засіданні спеціалізованої вченої ради Д.64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4).

Автореферат розісланий «21» квітня 2016 р.

Учений секретар  
спеціалізованої вченої ради  
д. фарм. н., професор

Т. С. Сахарова

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Порушення цілості шкіри, її нормального функціонування та здатності до репарації є причиною різних захворювань у дерматології (E. Proksch, 2008; D. Sajić et al., 2012). Бар'єрні функції шкіри можуть порушуватися в зв'язку з дефіцитом керамідів, що призводить до сухості шкіри, зниження її еластичності, утворення гіперкератозів і тріщин. Це, в свою чергу, робить шкіру вразливою до дії алергенів, токсинів і мікроорганізмів, що можуть викликати запалення та інфікування (B. Breiden, K. Sandhoff 2014; A. Sugiura et al., 2014; D. Falcone et al., 2015).

Щороку в світі захворюваність на дерматози збільшується на 5 % (Л. А. Болотная, 2012; E. Siegfried, A. Hebert, 2015). До найпоширеніших дерматозів належать алергодерматози, що виникають у 45-50 % хворих дерматологічного профілю, екзема, що зустрічається у 8-31 % хворих, та псоріаз (2-4 %) (В. М. Волкославська, О. Л. Гутнев, 2010; А. М. Біловол, 2012; L. Guenther, 2015). За даними статистики МОЗ України, в структурі загальної захворюваності населення країни поширеність захворювань шкіри у 2008-2012 рр. складала 2,72-2,63 %, а травм – 2,86-2,69 % (Р. В. Богатирьова та співавт., 2013). Захворюваність на дерматити серед дітей у 2 рази вища, ніж серед дорослих (К. G. Bergstrom, 2012; В. В. Чикин, 2014). Також збільшилась частота переходу гострих форм захворювань у хронічні, що викликає деструкцію шкіри та призводить до її глибокого рубцювання (Я. Ф. Кутасевич, И. А. Маштакова, 2012; Л. Д. Калюжна, К. О. Бардова, 2014).

У дерматологічній практиці для місцевого лікування запальних захворювань шкіри традиційно застосовують м'які лікарські засоби (МЛЗ) з глюкокортикостероїдами (ГКС), що мають протизапальну, протисвербіжну, антипроліферативну дію (L. F. Eichenfield et al., 2014; Е. В. Дворянкова, 2015; В. В. Думченко и соавт., 2015). Найбільшу активність виявляють фторовані ГКС (наприклад, бетаметазону валерат, бетаметазону дипропіонат та ін.), однак вони мають виражені побічні ефекти при тривалому застосуванні (S. K. Rathi, 2012; Н. Н. Филимонкова, Е. А. Бахлыкова, 2015). Безпечнішим виявляється зовнішнє застосування препаратів мометазону фууроату та метилпреднізолону ацепонату, що не містять у молекулах атомів фтору, але належать до сильних ГКС (група III) за класифікацією АТС ВООЗ (О. Ю. Туркевич, 2012; Ю. Г. Левина и соавт., 2014; Е. В. Дворянкова, 2015). Не зважаючи на постійне удосконалення МЛЗ з ГКС, при їх застосуванні зберігається ризик виникнення місцевих побічних ефектів, зокрема, зниження бар'єрних функцій та розвиток атрофії шкіри (Е. В. Дворянкова, 2015; L. F. Eichenfield et al., 2014). Саме тому в терапії дерматозів приділяється увага стану шкіри й лікувальним заходам, спрямованим на її відновлення (Л. Д. Калюжна, К. О. Бардова, 2014; K. Vávrová, 2015). Але на фармацевтичному ринку України відсутні препарати з ГКС для зовнішнього застосування, що поряд із протизапальною дією одночасно відновлюють структуру та порушену бар'єрну функцію шкіри. Привертають увагу кераміди, від наявності яких залежать бар'єрні властивості шкіри та її нормальне функціонування (J. M. Jungersted et al., 2010).

Однією з актуальних проблем хірургії та комбустіології залишається ефективність та безпечність терапії ран і опіків у різних фазах ранового процесу. Зокрема, в сучасній номенклатурі лікарських засобів для місцевого лікування ран фактично відсутні ефективні препарати для фази епітелізації та реорганізації рубця, для якої характерне таке ускладнення, як утворення келоїдних рубців. Дані літератури свідчать про постійне збільшення кількості грубих рубців внаслідок операцій, опіків, травм, виразок, а також вогнепальних поранень (Л. А. Болотная, 2012; Ю. А. Борзых, 2013; Н. Л. Короткова, М. Г. Воловик 2015; F. Ghieh et al., 2015). За даними військово-медичного департаменту МО України, за період проходження АТО в Збройних силах України (2014-2015 рр.) зареєстровано 60 % випадків вогнепальних поранень м'яких тканин.

В сучасній комбустіології та хірургії, у тому числі в пластичній хірургії, для загоєння ран застосовують лікувальні методи, що спрямовані на стимуляцію проліферації та/або на заміщення шкірного дефекту новоутвореним епідермісом (I. Pastar et al., 2014; Н. Л. Короткова, М. Г. Воловик, 2015). У зв'язку з цим нові перспективи можуть відкривати препарати з лікарськими речовинами, що стимулюють репаративні процеси (наприклад, з декспантенолом), у сполученні з пластичним матеріалом для реконструкції епідермісу (M. Ungureanu, 2014). Таким пластичним матеріалом можуть бути кераміди, що за умов II та III фази ранового процесу сприятимуть регенерації та епітелізації.

За сучасними уявленнями (O. Pacha, 2012, A. Sugiura, 2014), кераміди ендogenous походження вбудовуються до міжклітинного компоненту рогового шару. Вони відіграють важливу роль у нормальному функціонуванні шкіри й утворенні бар'єра, що захищає її від впливу патогенних факторів. Все це обґрунтовує перспективність розробки і застосування лікарських препаратів із керамідами для місцевого лікування як дерматитів, так і ран. На цей час кераміди відносять до допоміжних речовин і їх використовують, головним чином, у складі косметичних засобів для зволоження шкіри (O. A. Притуло, А. В. Горбенко, 2012). Систематизована інформація про специфічну фармакологічну дію керамідів, що дозволяла б віднести їх до лікарських речовин, у науковій літературі відсутня.

Таким чином, актуальними виявляються дослідження, присвячені вивченню специфічної фармакологічної дії природних компонентів шкіри керамідів, а також експериментальному обґрунтуванню доцільності створення МЛЗ із сильними ГКС (мометазону фууроатом і метилпреднізолону ацепонатом) та МЛЗ із стимулятором репаративних процесів (декспантенолом) спільно з керамідами з метою підвищення ефективності та безпеки місцевого лікування відповідно дерматитів і ран у II та III фазах ранового процесу.

**Зв'язок роботи із науковими програмами, планами, темами.** Дисертація виконана за планом, затвердженим МОЗ України, науково-дослідних програм Національного фармацевтичного університету «Фармакологічні дослідження біологічно активних речовин і лікарських засобів синтетичного та природного походження, їх застосування у медичній практиці» (номер держреєстрації 0103U000478) та «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (номер держреєстрації 0114U000956), в яких автор є співвиконавцем.

**Мета і задачі дослідження.** *Мета* роботи – фармакологічне обґрунтування доцільності створення м'яких лікарських засобів, що містять сильні глюкокортикостероїди чи декспантенол спільно з керамідами, для зменшення місцевих побічних ефектів та підвищення якості або ефективності лікування запальних захворювань шкіри та ранового процесу.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі *задачі*:

1. Дослідити протизапальну та ранозагоювальну дію керамідів у складі м'яких лікарських засобів та у композиції з глюкокортикостероїдами на моделях гострого запалення та ранового процесу.

2. Провести скринінгові дослідження з вибору оптимальної концентрації керамідів у складі м'яких лікарських засобів із глюкокортикостероїдами чи декспантенолом.

3. Оцінити вплив керамідів на фармакологічну дію глюкокортикостероїдів на моделях гострого запалення (зимозановий і декстрановий набряки) та хронічного запалення (неспецифічний і специфічний контактний дерматит та асептичне запалення шкіри).

4. Порівняти вираженість впливу щодо відновлення морфофункціональних властивостей ушкодженої шкіри за умов запального процесу під дією м'яких лікарських засобів, що містять глюкокортикостероїди та глюкокортикостероїди з керамідами.

5. Оцінити вплив керамідів на антипроліферативні властивості глюкокортикостероїдів та дослідити механізм проліферативної дії м'яких лікарських засобів із мометазону фууроатом чи метилпреднізолону ацепонатом і керамідами.

6. Вивчити здатність керамідів попереджати розвиток атрофічних змін шкіри при тривалому нанесенні м'яких лікарських засобів із сильними глюкокортикостероїдами (фторованими і нефторованими).

7. Провести токсикологічні дослідження з визначення сенсibiliзуючої, імунотоксичної та місцевопоздразнювальної дії м'яких лікарських засобів, що містять глюкокортикостероїди із керамідами за умов тривалого застосування.

8. Поглиблено дослідити ранозагоювальну дію та механізм дії крему з керамідами на моделях ранового процесу різного генезу (хімічна та опікова рани).

9. Оцінити вплив керамідів на ефективність ранозагоювальної дії і механізм дії декспантенолу та обґрунтувати доцільність сумісного застосування декспантенолу з керамідами в кремах з метою підвищення ефективності ранозагоювальної дії та якості загоєння ран.

*Об'єкт дослідження* – запальні захворювання шкіри та рановий процес різної етіології.

*Предмет дослідження* – фармакологічні властивості МЛЗ, що містять ГКС із керамідами та декспантенол із керамідами.

**Методи дослідження:** фармакологічні, планіметричні, тензіометричні, біохімічні, імунобіохімічні, фізичні, гематологічні, імунологічні, імуногістохімічні, гістохімічні, гістологічні, цитофотометричні, токсикологічні та статистичні.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше запропоновано новий підхід до створення МЛЗ для місцевого лікування різних ушкоджень шкіри, заснований на сумісному використанні сильних ГКС із керамідами та декспантенолу

з керамідами. Доведено, що кераміди, які включені до МЛЗ, що містять мометазону фууроат чи метилпреднізолону ацепонат, при місцевому лікуванні запальних захворювань шкіри сприяють зменшенню місцевих побічних ефектів препаратів із ГКС. Отримано нові дані, що кераміди при місцевому лікуванні ран у II і III фазах ранового процесу (РП) підвищують ефективність ранозагоювальної дії крему з декспантенолом та якість загоєння ран.

На моделях РП встановлено, що кераміди мають ранозагоювальну активність (на рівні 76,2 %) та скорочують терміни загоєння ран (на моделі площинних ран на 6 днів, хімічних і опікових ран – на 4 дні). З'ясовано, що механізм їх дії полягає в пригніченні запально-деструктивних процесів, зокрема, в зниженні рівня прозапальних цитокінів (інтерлейкіну IL-1 $\alpha$  – на 62,8 %, фактору некрозу пухлин TNF $\alpha$  – на 61,6 %), білків гострої фази запалення (С-реактивного білка (СРБ) – на 55,8 %), процесів перекисного окиснення білків (ПОБ) (альдегідфенілгідразонів (АФГ) – на 22,9 %, кетофенілгідразонів (КФГ) – на 30,4 %) та ліпідів (на 16,8 %) і підвищенні ступеня зрілості грануляційної тканини (на 45,5 %). Встановлено, що кераміди стимулюють проліферацію епітеліальних клітин шкіри за рахунок підвищення рівня гістонного білка Ki-67 (на 69,3 %).

На моделях запалення показано, що кераміди не виявляють протизапальної активності, а введення керамідів до складів МЛЗ із ГКС не впливає на ефективність їх протизапальної, антиексудативної, антиальтеративної, протиалергічної та цитопротекторної дії. Це свідчить про відсутність антагонізму між ГКС та керамідами, внаслідок чого МЛЗ із мометазону фууроатом і керамідами та МЛЗ із метилпреднізолону ацепонатом і керамідами за ефективністю протизапальної дії не поступаються препаратам порівняння (ПП) Елоком<sup>®</sup> крем 0,1 % і Адвантан<sup>®</sup> мазь 0,1 %. Кераміди здатні попереджати розвиток атрофічних змін шкіри, що виникають під дією МЛЗ з сильними ГКС. Уточнено наукові дані щодо механізму розвитку антипроліферативної дії ГКС при нашкірному застосуванні, що асоціюється з пригніченням синтезу білка Ki-67 у періоді мітотичного поділу клітин (на 51,7 %). Встановлено, що кераміди здатні нівелювати цю дію за рахунок підвищення рівня Ki-67 (на 76,6 %). З'ясовано, що кераміди стримують розвиток атрофії тканин шкіри під впливом ГКС, а також не виявляють, сенсibiliзуючої, імунотоксичної та місцевоподразнювальної дії.

Встановлено, що кераміди посилюють ранозагоювальну дію крему декспантенолу 5 % та скорочують терміни загоєння площинних, опікових і хімічних ран на 2 дні порівняно з кремом без керамідів. Крем декспантенолу 5 % із керамідами порівняно з препаратом Бепантен<sup>®</sup> крем 5 % більш виражено знижує рівень маркерів цитокінової активності (IL-1 $\alpha$  на 83,7 %, TNF $\alpha$  на 45,2 %), що свідчить про синергізм дії цих речовин та їх здатність позитивно модулювати цитокінові механізми ранового запалення. Доповнено наукові дані щодо механізму ранозагоювальної дії крему декспантенолу з керамідами, що полягає у пригніченні рівня прозапальних цитокінів (IL-1 $\alpha$  на 22,6 % нижчий, ніж у ПП), підвищенні рівня рибонуклеїнової кислоти (РНК) у цитоплазмі фібробластів (на рівні ПП) та експресії Ki-67 епітеліоцитами (на 36 % вища, ніж у ПП), що сприяє швидкому загоєнню ран без утворення грубих рубців.

**Практичне значення одержаних результатів.** Експериментально обґрунтовано склади 4 препаратів, що містять кераміди сумісно з декспантенолом у формі крему, метилпреднізолону ацепонатом у формі крему та мазі, а також мометазону фуроатом у формі крему. Результати проведених фармако-токсикологічних досліджень розроблених препаратів включені до звітів щодо їх фармацевтичної розробки та доклінічного вивчення, які долучені до складу реєстраційних дос'є на ці препарати: препарат Пантекрем крем 5 % зареєстровано в Україні (реєстраційне посвідчення на лікарський засіб № UA/10978/01/01) та впроваджено у серійне промислове виробництво на ПАТ «Фітофарм»; препарат Комфодерм® К крем для зовнішнього застосування 0,1 % зареєстровано в РФ (реєстраційне посвідчення лікарського препарату для медичного використання № ЛП-003211 від 22.09.2015) та впроваджено у серійне промислове виробництво на ВАТ «Хіміко-фармацевтичний комбінат «АКРИХІН»; наказом МОЗ України від 24.06.2015 р. № 374 (додаток 7) затверджені клінічні випробування препарату Стерокорт® мазь 0,1 % (ПАТ «Фітофарм»).

Запропонована нова фармацевтична композиція для лікування дерматозів та спосіб її отримання (патент РФ на винахід № 2482852 від 27.05.2013 р.).

Рекомендований новітній підхід до підвищення безпечності місцевої глюкокортикостероїдної терапії (інформаційний лист про нововведення у сфері охорони здоров'я № 9–2013, 2013 р.).

Удосконалені методичні підходи до оптимізації доклінічних досліджень лікарських засобів для місцевого лікування ран, що підтверджено методичними рекомендаціями (протокол ДЕЦ МОЗ України № 7 від 25.07.2013 р.; протокол Укрмедпатентінформу МОЗ України № 69.13/224.13 від 12.08.2013 р.).

Результати роботи впроваджено в науково-педагогічний процес кафедр клінічної фармації Тернопільського державного медичного університету (протокол № 5 від 17.12.2015 р.), дерматовенерології Харківської медичної академії післядипломної освіти (протокол № 8 від 09.10.2015 р.), в науковий процес Центральної науково-дослідної лабораторії Національного фармацевтичного університету (протокол № 10 від 16.10.2015 р.), Центральної науково-дослідної лабораторії Харківського національного медичного університету (протокол № 8 від 11.12.2015 р.), Харківського обласного шкірно-венерологічного диспансеру № 1 (протокол № 10 від 15.10.2015 р.), відділу загальної токсикології ДУ «Інституту фармакології та токсикології НАМН України» (протокол № 5 від 4.12.2015 р.).

**Особистий внесок здобувача.** Автор особисто провів патентно-інформаційний пошук, самостійно здійснив аналіз даних літератури з досліджуваної проблеми, обґрунтував актуальність проблеми і обсяг експериментальних досліджень. Самостійно виконав експериментальну частину, статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, сформулював основні положення і висновки дисертаційної роботи, підготував матеріали до впровадження та публікації. Робота виконана на базі кафедри фармакології та лікарської токсикології та ЦНДЛ НФаУ. Імуногістохімічні дослідження виконані на базі ХНМУ у співробітництві з к. біол. н., доц. каф. біохімії Т. В. Горбач і д. мед. н., проф. каф. патологічної анатомії Г. І. Губіною-Вакулик. Гістологічні дослідження проведені на кафедрі гістології, цитології та ембріології ХНМУ у співробітництві з к. біол. н., доц. Т. В. Деєвою і

к. біол. н., ст. н. співроб. ЦНДЛ НФаУ Ю. Б. Лар'яновською. Токсикологічні дослідження проведені на базі лабораторії промислової та лікарської токсикології ДП «ДНЦЛЗ» під керівництвом зав. лаб., к. біол. н., ст. н. співроб. Н. С. Нікітіної.

**Апробація результатів дисертації.** Результати роботи викладені та обговорені на: IV Національному з'їзді фармакологів України (Київ, 2011); Всеукраїнській науково-практичній конференції студентів та молодих вчених «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (Харків, 2012, 2013); Національному конгресі «Клінічна фармація: 20 років в Україні» (Харків, 2013); науково-практичній конференції «Інтеграція образования, науки и производства в фармации» (Ташкент, 2012); the 7-th Lviv-Lublin conference of Experimental and Clinical Biochemistry (Львів-Люблін, 2013); X міжнародній науково-практичній конференції «Найновите постиження на европейската наука – 2014» (Софія, 2014); X міжнародній науково-практичній конференції «Aktuální vymoženosti vědy – 2014» (Прага, 2014); X міжнародній науково-практичній конференції «Modern European Science» (Шеффілд, 2014).

**Публікації.** За темою дисертації опубліковано 40 наукових праць: 27 статей (з них 18 – у виданнях, рекомендованих МОН України, 4 – у закордонних виданнях), 9 тез доповідей, 2 методичних рекомендацій, 1 інформаційний лист, отримано 1 патент на винахід.

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертація викладена на 269 сторінках друкованого тексту і містить вступ, огляд літератури, опис матеріалів і методів дослідження, 6 розділів власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, висновки та перелік використаних джерел літератури у кількості 375 найменувань, з них 185 кирилицею, 190 – латиницею. У додатки окремо винесено ілюстративний матеріал – 40 рисунків й 60 таблиць.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Матеріали та методи дослідження.** Об'єктами досліджень були препарати, що містять мометазону фураат 0,1 % із керамідами у формі крему, метилпреднізолону ацепонат 0,1 % із керамідами у формі крему та мазі, бетаметазону дипропіонат 0,1 % із керамідами у формі крему, декспантенол 5 % із керамідами у формі крему. На всіх моделях досліджувані препарати наносили на поверхню шкіри тонким шаром в умовно-терапевтичній дозі 15 мг/см<sup>2</sup> (для кремів) і 20 мг/см<sup>2</sup> (для мазей) (Л. В. Яковлева та співавт., 2008).

Дослідження виконані на 979 тваринах, з них 840 статевозрілих білих щурів масою 170-255 г, 79 мурчаків масою 600-850 г і 60 статевозрілих білих мишей масою 18-22 г, вирощених у розпліднику ЦНДЛ НФаУ. Дослідження проведені на базі ЦНДЛ НФаУ, що сертифікована ДЕЦ МОЗ України (посвідчення № 21 від 30.04.2009 р.), згідно з загальноприйнятими біоетичними нормами відносно дотримання відповідних міжнародних положень щодо проведення експериментальних досліджень з використанням лабораторних тварин, що засвідчено висновком комісії з біоетики НФаУ (протокол № 2 від 19.02.2014 р.).

Етапи дослідження препаратів наведено на рис. 1.



ГКС із керамідами	Декспантенол із керамідами
<b>I. Проведення скринінгових досліджень</b>	
1. Вивчення дії досліджуваних препаратів та їх складових за умов:	
запального та ранового процесу	ранового процесу
2. Дослідження впливу керамідів на:	
протизапальну дію ГКС	ранозагоювальну дію декспантенолу
3. Вплив різної концентрації керамідів на формування рубця	
<b>II. Фармакологічне вивчення дії препаратів</b>	
1. Антиексудативна дія при гострому запаленні	Ранозагоювальна дія за умов: – операційних ран – рваних ран – ускладненого ранового процесу – хімічних ран – опікових ран
2. Антиальтеративна дія при субхронічному запаленні з порушенням бар'єрної функції шкіри	
3. Протизапальна, протиалергічна, антиоксидантна, проліферативна дії при алергічному запаленні на шкірі	
<b>III. Дослідження механізму ранозагоювальної дії препаратів на моделях</b>	
запальних захворювань шкіри	поверхневих ран шкіри
<b>IV. Вивчення побічної і токсичної дії</b>	
Атрофічної, сенсibiliзуючої, імунотоксичної та місцевоподразнювальної дії	

Рис. 1. Етапи фармакологічного дослідження препаратів із керамідами

*Скринінгові дослідження МЛЗ, що містять ГКС із керамідами.* На даному етапі вивчали протизапальну дію препаратів на різних за етіологією моделях запалення: декстрановий та аеросильний набряки у щурів (О. В. Стефанов, 2001; Г. Я. Шварц, Р. Д. Сьюбаев, 2005). Для оптимізації досліджень з вивчення впливу складових (основа крему типу «масло у воді» (м/в), кераміди) на ефективність дії ГКС був обраний один об'єкт – крем мометазону фууроату 0,1 % із керамідами. Одночасно на цих моделях було проведено вивчення протизапальної дії керамідів та порівняння ефективності протизапальної дії кремів, що містять ГКС (мометазону фууроат, метилпреднізолону ацепонат, бетаметазону дипропіонат) та ці ГКС із керамідами.

Наступним етапом скринінгових досліджень стало вивчення ранозагоювальних властивостей керамідів та вплив їх на антипроліферативні властивості мометазону фууроату (далі – мометазону) на моделях площинних і лінійних ран (Л. В. Яковлева та співавт., 2013). Далі було досліджено вплив кремів мометазону 0,1 %, що містили кераміди у різних концентраціях (0,1 %, 0,25 %, 0,5 %, 0,75 %, 1,0 %), на формування рубця (на моделі лінійних різаних ран у щурів). Гістологічно досліджені мікропрепарати, які забарвлені гематоксилином і еозином, а також пікрофуксином за методом Ван-Гізона (Г. А. Меркулов, 1969).

*Етап фармакологічного вивчення протизапальної активності МЛЗ, що містять ГКС із керамідами.* З метою різнобічного вивчення впливу керамідів на дію ГКС було обрано дві субстанції нефторованих ГКС (мометазону фууроат і метилпреднізолону ацепонат) у двох лікарських формах: крем, що містив 0,1 % мометазону фууроату і 0,5 % керамідів, та мазь, що містила 0,1 % метилпреднізолону ацепонату і 0,5 % керамідів. ПП були обрані за діючою речовиною та лікарською

формою: Елоком® крем 0,1 % з мометазону фууроатом («Шерінг Плау», Бельгія) (далі – крем «Елоком»); Адвантан® мазь 0,1 % з метилпреднізолону ацепонатом («Шерінг АГ», Німеччина) (далі – мазь «Адвантан»).

При дослідженні препаратів були сформовані такі експериментальні групи тварин: інтактний контроль (ІК) – здорові тварини; контрольна патологія (КП) – тварини, у яких відтворювали патологію без подальшого лікування; групи тварин із патологією, яких у подальшому лікували досліджуваними препаратами і препаратами порівняння.

Для вивчення антиексудативного компонента механізму дії досліджуваних препаратів було обрано моделі гострого асептичного запалення: зимозановий та декстрановий набряки стопи у щурів (О. В. Стефанов, 2001).

Ефективність антиальтеративної дії досліджуваних препаратів вивчали на моделі асептичного запалення шкіри і підшкірної клітковини у щурів, що дозволяє оцінити зменшення площі виразки на шкірі (О. В. Стефанов, 2001). З метою оцінки впливу препаратів на процеси альтерації на біохімічному рівні у сироватці крові проводили визначення показників деструктивних процесів: рівня загального білка (ЗБ), що визначали за допомогою набору реактивів фірми «Філісіт-Діагностика» (Україна), та активності ПОЛ (рівень активних продуктів, що реагують з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК-АП), що визначали за допомогою набору фірми «ТБК-АГАТ» (Україна).

Одним із негативних факторів, що впливає на перебіг дерматозів, є зниження бар'єрних властивостей шкіри (К. Н. Монахов, С. А. Очеленко, 2009; О. Pacha, А. А. Nebert, 2012). З урахуванням цього, було досліджено лікувальну дію ГКС із керамідами за умов неалергічного контактного дерматиту (НКД) (Л. В. Яковлева та співавт., 2013). Оцінку ефективності препаратів проводили за такими показниками: стан ушкодження шкіри (бали), товщина шкірної складки (мм). Інтенсивність запально-деструктивного процесу в організмі тварин оцінювали також за біохімічними (ЗБ, ТБК-АП) та гематологічними (швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ) і кількість лейкоцитів) показниками, що вивчали за загальноприйнятими методиками (В. С. Камышников, 2009). Для підтвердження лікувальної дії препаратів проводили гістологічні дослідження біоптатів шкіри після лікування. Зрізи забарвлювали гематоксиліном і еозином та оглядали під мікроскопом «Micros 400» (Австрія). Фотографування мікроскопічних зображень виконано цифровим фотоапаратом «Nicon Col Pix 4500» та оброблено на комп'ютері «Pentium 2,4 GHz» за допомогою програми «NiconView 5». Інтенсивність запалення у дермі та епідермісу оцінювали за методом В. В. Соколовського (1971).

Враховуючи алергічну природу більшості дерматитів, було досліджено фармакологічну дію препаратів за умов алергічного запалення на моделі алергічного контактного дерматиту (АКД). Як сенсibilізатор використовували динітрохлорбензол (А. С. Рабен и соавт., 1970; Н. Д. Бунятян и соавт., 2004). Здійснювали оцінку проявів алергічної реакції візуально в балах (до та після лікування), а також проводили визначення гематологічних показників: кількість лейкоцитів, рівень ШОЕ та лейкоцитарну формулу за відомими методиками (В. С. Камышников, 2009); біохімічних показників: сечовини (набір фірми «Філісіт-Діагностика», Україна) та ТБК-АП (набір фірми «ТБК-АГАТ», Україна). Для оцінки стану імунної системи

визначали рівень циркулюючих імунних комплексів (ЦК) середнього (3,5 %) та великого розміру (7 %), використовуючи набори фірми «Гранум» (Україна).

Запальна реакція ініціюється внаслідок активації ключових прозапальних цитокінів TNF- $\alpha$  та IL-1 і залежить від їх вмісту: низькі концентрації регулюють розвиток місцевої запальної реакції, високі – системної реакції, що супроводжується лихоманкою, лейкоцитозом, підвищенням рівня білків гострої фази – СРБ та ін. (Н. П. Чеснокова, 2008; М. К. Oyoshi et al., 2009). Кількісне визначення IL-1 $\alpha$  і TNF- $\alpha$  проводили методом імуноферментного аналізу (ІФА) за допомогою аналізатора «Libline-90» (Австрія), використовуючи тест-системи фірми «Bender Medsystems» (США), СРБ – тест-систему фірми «Укрмедсервіс» (Україна).

*Дослідження механізму ранозагоювальної дії МЛЗ, що містять ГКС із керамідами за умов запальних захворювань шкіри.* Проліферативну активність досліджуваних препаратів вивчали на моделі АКД за допомогою імуногістохімічних досліджень з використанням антитіл до білка Ki-67 кролів (Г. І. Губіна-Вакулик та співавт., 2009). Для ідентифікації комплексу антиген-антитіло використовували вторинні антитіла мурчаків до імуноглобуліну G кролів, що мічені флюоресцеїнізоціанатом (ФІЦ). Інтенсивність світіння епітеліальних клітин оцінювали в умовних одиницях за комп'ютерними зображеннями, отриманими на мікроскопі «Axioscop-40» (Zeiss, ФРН).

Для підтвердження лікувальної дії досліджуваних препаратів на моделі АКД після лікування брали зразки шкіри для проведення гістологічних досліджень, які забарвлювали гематоксилином та еозином (Г. А. Меркулов, 1969). На мікропрепаратах визначали умовний ступінь вираженості гістологічних ознак патології в епідермісі (виразкові пошкодження, гіпертрофія, акантоз) та дермі (набряк, запальна та судинна реакції) за методом В. В. Соколовського (1971).

*Вивчення побічної і токсичної дії препаратів із ГКС і керамідами.* У розвитку стероїдної атрофії шкіри головне значення мають гальмування проліферативно-репаративних процесів, посилення дистрофічних змін колагенових і еластичних волокон (Г. А. Петрова, 2011; О. Pacha, А. А. Hebert, 2012). Доцільно було вивчити вплив керамідів на атрофічну дію фторованих (бетаметазону дипропіонат) і нефторованих ГКС (мометазону фуруат, метилпреднізолону ацепонат). Вплив препаратів на процеси природної регенерації шкіри вивчали шляхом їх щоденного нанесення тваринам на депільовану ділянку шкіри площею 1600 мм<sup>2</sup> (4 x 4 см) протягом 6 тижнів до появи ознак атрофії шкіри, яку оцінювали за допомогою макроскопічних (стан шкіри) (В. П. Адаскевич, 2004), фізичних (вологість шкіри – за допомогою приладу «Digital Moisture Monitor For Skin», Японія) і гістологічних досліджень (товщину епідермального шару (у.о.) вимірювали під мікроскопом «Micros 400» при збільшенні x 250).

Поряд із фармакологічними дослідженнями проведено вивчення деяких показників нешкідливості препаратів із використанням методичних рекомендацій ДЕЦ МОЗ України, а саме сенсibilізуючої (Г. М. Бутенко та співавт., 2002), імунотоксичної (Г. М. Бутенко та співавт., 2000) і місцевопоздразнювальної дії (В. М. Коваленко, А. Г. Ципкун, 2007).

Вивчення ефективності сумісного застосування декспантенолу з керамідами у формі крему було проведено на різних за етіологією (механічні, хімічні, термічні) і типом загоєння (первинним і вторинним натягом та під струпом) моделях РП.

На етапі скринінгових досліджень крему декспантенолу з керамідами було вивчено дію складових препарату (основа крему, декспантенол, кераміди) на загоєння ран та досліджено вплив різної концентрації керамідів (0,2 %, 0,5 %, 1,0 %) у складі крему з декспантенолом 5 % на утворення рубцевої тканини (модель лінійних різаних ран) (Л. В. Яковлева та співавт., 2013). Після лікування ран проводили оцінку міцності рубця за допомогою тензіометрії, а оцінку якості рубцевої тканини – за результатами гістологічних досліджень (оцінювали стан ранового каналу і ступінь зрілості новоутвореної сполучної тканини).

На етапі фармакологічного вивчення крему-лідера з декспантенолом 5 % і керамідами 0,2 % досліджено ефективність ранозагоювальної дії на різних моделях РП: площинних, хімічних та опікових ран, а також в умовах ускладненого РП (на тлі імуносупресії, яку викликали ін'єкціями гідрокортизону) (рис. 1) (Л. В. Яковлева та співавт., 2013). Як ПП було обрано крем Бепантен<sup>®</sup>, що містить 5 % декспантенолу («Байер Консьюмер Керр АГ», Швейцарія).

Основними показниками ранозагоювальної дії препаратів були: площа рани (S), коефіцієнт загоєння рани (k) та термін її загоєння. На біохімічному рівні визначали показники білкового обміну (ЗБ та сечовина крові), використовуючи набори реактивів фірми «Філісіт-Діагностика» (Україна). Активність процесів ПОЛ оцінювали за рівнем ТБК-АП (набір фірми «ТБК-АГАТ», Україна). Для підтвердження лікувальної дії препаратів були проведені гістологічні дослідження біоптатів ранових дефектів шкіри (Г. А. Меркулов, 1969; Г. М. Цветкова и соавт., 1981). Ступінь зрілості грануляційної тканини оцінювали за насиченістю клітинним матеріалом, вмістом фібробластів, ознаками волокноутворення та васкуляризації (щільності судин у рановому дефекті). Епітелізацію оцінювали за станом крайового регенерату та диференціювання шарів епідермісу.

Дослідження механізму ранозагоювальної дії керамідів та їх застосування сумісно з декспантенолом на моделі опікової травми. Процеси, що виникають у відповідь на термічне ушкодження, поєднують у собі стресову, імунну та запальну реакції з переходом у структурно-метаболічні порушення тканин і систем (А. В. Кривошапка, 2011; F. Ghieh et al., 2015). Для всебічного дослідження ранозагоювальної дії керамідів та декспантенолу сумісно з керамідами, а також вивчення механізму їх дії використовували модель опікової травми, що відповідає III-A ступеню опіків та дермальному поверхневому опіку за класифікацією Е. Я. Фісталя (2006) (Л. В. Яковлева та співавт., 2013). Лікувальну дію препаратів оцінювали за динамікою площі ран, коефіцієнтами швидкості загоєння і термінами їх загоєння. Інтенсивність запалення оцінювали за гематологічними показниками: ШОЕ, швидкість згортання крові (ШЗК), кількість лейкоцитів, які визначали у динаміці за загальноприйнятими методиками. Також проводили біохімічні та імунобіохімічні дослідження:

- рівня прозапальних цитокінів (IL-1 $\alpha$ , TNF $\alpha$ ), що визначали ІФА за допомогою тест-системи фірми «Bender Medsystems» (США);

- рівня продуктів ПОЛ (ТБК-АП) і ПОБ (АФГ та КФГ) (О. Ю. Чечет и соавт., 2010; К. В. Боев и соавт., 2014);

- рівня маркерів запалення та деструкції тканин у крові тварин: СРБ, ЗБ – за вищезазначеними методами; гаптоглобіну (набор реактивів фірми «Sentinel», Італія), сіроглікоїдів (набор фірми «Філісіт-Діагностика», Україна), ЦК 3,5 % і 7 % (набори фірми «Гранум» (Україна)).

Для вивчення проліферативно-репаративної активності препаратів при лікуванні опіків проводили імуногістохімічне визначення маркера проліферації Ki-67 у кролів за вищезазначеною методикою. Для оцінки вмісту РНК у цитоплазмі фібробластів грануляційної тканини зразки шкіри забарвлювали галоціаніном за Емерсоном (К. Ташке, 1980). Кількість РНК у цитоплазмі розраховували цитофотометрично з визначенням оптичної щільності цитоплазми при використанні комп'ютерного зображення мікропрепаратів, отриманих на мікроскопі Axiostar-plus (Zeiss, ФРН), та оцінювали в умовних одиницях оптичної густини. Гістоструктуру опікових тканин вивчали на мікропрепаратах, що забарвлювали гематоксиліном і еозином, а також пікрофуксином за методом Ван-Гізона (Г. А. Меркулов, 1969). Оцінку стану опікових ран на мікропрепаратах визначали за умовним ступенем вираженості ознак загоєння (стан некротичного шару, ступінь зрілості грануляцій та епітелізації поверхні).

Результати досліджень оброблені сучасними статистичними методами за допомогою програми «Statistica 6.0». Достовірність міжгрупової різниці встановлювали за допомогою параметричних та непараметричних методів. Рівень значущості відмінностей приймали при  $p < 0,05$  (А. А. Халафян, 2007).

**Результати та їх обговорення.** *Вивчення протизапальної дії керамідів та їх впливу на протизапальні властивості ГКС.* На моделях декстранового та аеросильного набряків лапи у щурів встановлено, що кераміди та кремове основа типу м/в не викликають достовірного зниження набряку (рис. 2), що свідчить про відсутність власної протизапальної дії, але вони не впливають на ефективність та динаміку протизапальної дії мометазону.

За результатами досліджень МЛЗ, що містять сильні ГКС (фторовані та нефторовані) сумісно з керамідами, виявляють протизапальну дію, за ефективністю якої не поступаються аналогічним препаратам без керамідів (рис. 2). Різниця в ефективності протизапальної дії досліджуваних препаратів, розрахована за допомогою пакета статистичних програм «MedCalc, v. 9.3.7.0» як величина інтегрального показника площини під кривою «година – протизапальний ефект (ПЕ)», не мала вірогідного характеру та на моделі декстранового набряку була в межах 2,8-6,6 %, а на моделі аеросильного набряку – 7,3-14,7 %. Слід зазначити, що більший протизапальний ефект креми з ГКС виявили на моделі аеросильного набряку, патогенез якого пов'язаний переважно з інтенсивним утворенням простагландинів (ПГ) (Г. Я. Шварц, Р. Д. Сьюбаев, 2005), і менший ефект – на моделі декстранового набряку, що супроводжується виділенням гістаміну та серотоніну (О. В. Стефанов, 2001; Г. Я. Шварц, Р. Д. Сьюбаев, 2005). Отже, введення керамідів до складу МЛЗ із сильними ГКС не привело до зменшення ефективності їх протизапальної дії, що свідчить про відсутність фармакологічної несумісності між ГКС і керамідами.

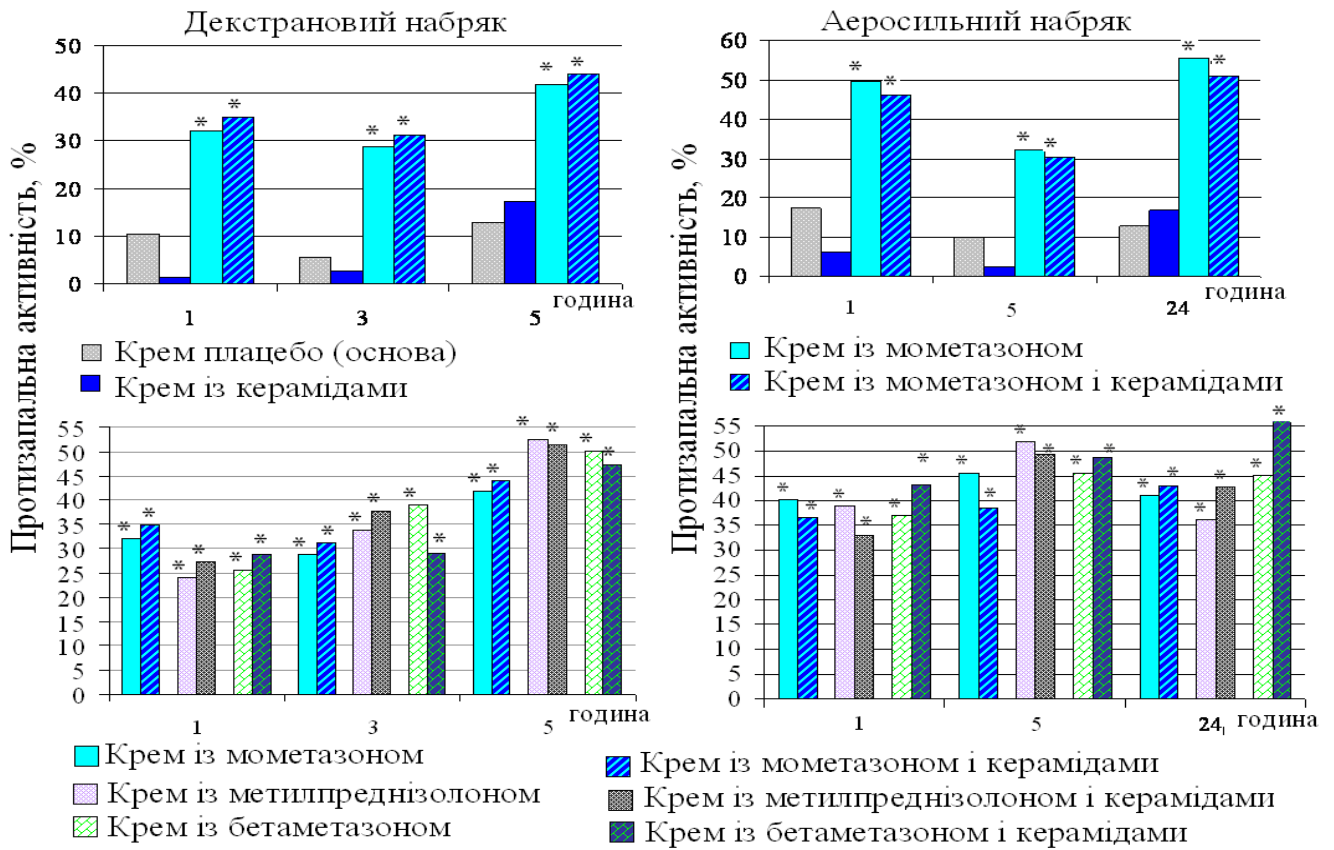


Рис. 2. Динаміка протизапальної активності кремової основи типу м/в, крему з керамідами, кремів із сильними ГКС, а також кремів із сильними ГКС і керамідами на моделях гострого запалення

Примітка. \* – відхилення достовірне по відношенню до групи КП,  $p < 0,05$ .

*Вивчення ранозагоювальної дії кремів із керамідами та кремів, що містять ГКС із керамідами, за умов ранового процесу.* Встановлено, що на моделі площинних ран кремова основа та крем із керамідами сприяють утворенню грануляційної тканини в рані та виявляють ранозагоювальні властивості, про що свідчить зменшення площі й строків загоєння ран. Крем із керамідами сприяє скороченню строків загоєння ран у тварин на 6 днів, а кремова основа – на 2 дні в порівнянні з КП. Різниця в ефективності загоєння ран між кремом із керамідами і кремом із декспантенолом є невірогідною і становить лише 4 %.

Крем із мометазоном виявив виражені антипроліферативні властивості, що підтверджує відсутність позитивної динаміки загоєння ран (площа рани до лікування становила  $390,0 \pm 25,2 \text{ мм}^2$ , а після лікування –  $385,0 \pm 43,7 \text{ мм}^2$ ), та імунодепресивні властивості (приєднання інфекції і загибелі 33,3 % тварин). Крем, що містить мометазон і кераміди, сприяв загоєнню ран: на 31 добу спостерігали повне загоєння ран у 50 % тварин. Тобто, введення керамідів сприяло зниженню негативного впливу мометазону на РП, про що свідчить помірна епітелізація ран та відсутність загибелі тварин.

На моделі лінійних ран встановлено, що основа крему не сприяє підвищенню міцності рубця, що підтверджує відсутність достовірних відмінностей тензіометричних показників у порівнянні з нелікованими тваринами. Крем із керамідами та крем

із мометазоном і керамідами виявили найбільшу ранозагоювальну дію, що була на рівні 76,2 % та 58,6 % відповідно. Гістологічні дослідження також підтверджують позитивний вплив керамідів на дозрівання новоутвореної сполучної тканини (на 45,5 %) та раціональність їх введення до крему з мометазоном (ступінь зрілості тканини збільшилась на 31,8 %). Отже, за результатами досліджень крем із керамідами чинить ранозагоювальну дію, що виявляється навіть за присутності у складі крему сильного ГКС мометазону.

*Вивчення впливу різної концентрації керамідів (0,1 %, 0,25 %, 0,5 %, 0,75 %, 1,0 %) у кремні з мометазоном на формування рубця.* В ході дослідження встановлено, що всі досліджувані креми сприяли достовірному підвищенню міцності рубця, однак вираженість дії була не однаковою: крем із мометазоном і 0,1 % керамідів виявив репаративну дію на рівні 35,9 %; крем із мометазоном і 0,25 % керамідів – 58,9 %; крем із мометазоном і 0,5 % керамідів – 65,9 %; подальше збільшення концентрації керамідів 0,75 % та 1,0 % у складі крему з мометазоном не приводить до підвищення репаративної дії (50,7 % і 47,1 % відповідно). Отже, виразнішу репаративну дію має зразок крему з мометазоном, який містить 0,5 % керамідів.

Таким чином, у ході скринінгових досліджень доведена раціональність розробки МЛЗ для на шкірного застосування, що містять ГКС (як фторовані, так і нефторовані) сумісно з керамідами на кремівій основі типу м/в. Встановлено, що кераміди в концентрації 0,5 % виявляють найбільшу ранозагоювальну дію.

*Дослідження фармакологічних властивостей МЛЗ, що містять ГКС із керамідами, та механізму їх дії за умов запального процесу.* У дерматології для на шкірного застосування використовують препарати в різних лікарських формах, зокрема, у формі кремів та мазей, що залежить від клінічних проявів дерматозів. Тому подальшими об'єктами наших досліджень стали крем із мометазоном і керамідами та мазь із метилпреднізолоном і керамідами.

Дослідження ефективності та механізму дії препаратів із ГКС і керамідами проводили на моделях ексудативного запалення (декстранового та зимозанового), що відрізняються за механізмом розвитку і тривалістю перебігу (О. В. Стефанов, 2001). За результатами досліджень крем із мометазоном і керамідами та мазь з метилпреднізолоном і керамідами за антиексудативною активністю не поступаються ПП – крему «Елоком» та мазі «Адвантан». На моделі зимозанового набряку різниця між сумарним протизапальним ефектом крему мометазону з керамідами та крему «Елоком» становила 2,9 %, а мазі метилпреднізолону з керамідами та мазі «Адвантан» – 5,5 %, на моделі декстранового набряку – 2,6 % та 3,4 % відповідно. Це свідчить про раціональність складу і типу основи розроблених препаратів, що забезпечують високу ефективність фармакологічної дії. Мометазону фураат і метилпреднізолону ацепонат однаковою мірою пригнічують запалення, спричинене медіаторами, що утворюються шляхом перетворення арахідонової кислоти. Це пояснюється механізмом протизапальної дії ГКС через пригнічення фосфоліпази А<sub>2</sub> (Г. Л. Вышковский, 2012).

Альтерація є пусковим механізмом будь-якого запалення. При надмірному розвитку вторинної альтерації порушується цілісність клітин, що спричиняє вивільнення медіаторів альтерації: серотоніну, гістаміну, лізосомальних ферментів,

продуктів протеолізу (кінінів) та ліполізу (ПГ, ПЦ), а також активацію процесів ПОЛ (Н. П. Чеснокова, 2008; T. Velnar et al., 2009; В. А. Бочаров, 2011).

Результати досліджень показали, що крем із мометазоном і керамідами та мазь з метилпреднізолоном і керамідами пригнічують розвиток альтеративного запалення на моделі асептичного запалення шкіри та підшкірної клітковини (достовірне зменшення площі виразкоутворення та ушкодження цілісності навколишніх клітин). Ця дія препаратів підтверджувалась також на моделі НКД (достовірне зменшення інтенсивності ураження шкіри і товщини шкірної складки). Антиальтеративна активність крему з мометазоном і керамідами та мазі з метилпреднізолоном і керамідами на моделі асептичного запалення шкіри та підшкірної клітковини становила 74,4 % та 76,7 % і дещо перевищувала ефективність дії крему «Елоком» (70,7 %) і мазі «Адвантан» (63,0 %); на моделі НКД – 69,3 % та 75 %, а ПП – 72,3 % та 83,3 % відповідно. Лікування кремом із мометазоном і керамідами та маззю з метилпреднізолоном і керамідами сприяло відновленню рівня ЗБ та ТБК-АП у порівнянні з групою КП, але рівня цих показників у інтактних тварин вони не досягли.

Застосування розроблених препаратів відновлювало рівень ШОЕ та кількість лейкоцитів до ІК, що характеризує протизапальні властивості досліджуваних препаратів. Ця нормалізація відбувалася приблизно на рівні ПП.

Гістологічні дослідження підтвердили ефективність препаратів із ГКС і керамідами. На моделі НКД за нормалізацією гістоструктури шкіри лікувальна дія крему з мометазоном і керамідами та мазі з метилпреднізолоном і керамідами значно перевищує дію ПП. Так, після застосування мазі з метилпреднізолоном і керамідами були практично відсутні прояви дерматиту, зокрема, виразкові ураження в епідермісі, а запальна реакція була в 4 рази меншою в порівнянні з ефектом мазі «Адвантан». Після застосування крему з мометазоном і керамідами в епідермісі спостерігали незначні виразкові порушення, що були в 2 рази меншими, ніж після застосування крему «Елоком».

Виражена лікувальна дія досліджуваних препаратів за умов альтеративного запалення обумовлена комплексним впливом їх компонентів. Так, антиальтеративний ефект виявляє мометазону фуроат чи метилпреднізолону ацепонат, механізм дії яких полягає у пригніченні вивільнення медіаторів запалення, зменшенні проникності капілярів та гальмуванні розвитку запального процесу (В. Г. Радіонов та співавт., 2012; В. В. Чикин, 2014). Цитопротекторна дія, що є наслідком проти-запального і мембраностабілізуючого ефектів ГКС, підсилюється дією керамідів, що сприяють відновленню клітинних мембран і структури поверхневих шарів епідермісу (J. Duan et al., 2012; M. Rabionet et al., 2014).

Відомо, що АКД є реакцією гіперчутливості сповільненого (клітинного) типу. В динаміці виходу медіаторів алергічного запалення ініціювальна роль належить гістаміну та ПГ, що індукують міграцію та продукцію цитокінів, макрофагів, впливають на імуногенез, модулюють проліферацію лімфоцитів, активацію ПОЛ, внаслідок чого відбувається пошкодження клітинних мембран і міжклітинних ліпідних шарів (Е. В. Степанова, 2009; Н. С. Григорян и соавт., 2011). Тому важливо було дослідити вплив МЛЗ із ГКС і керамідами на перебіг АКД, а також на процеси



деструкції тканин, стан імунної системи, реологічні властивості крові, на цитокіновий профіль і проліферацію клітин.

На моделі АКД встановлено, що крем із мометазоном і керамідами та мазь з метилпреднізолоном і керамідами за ефективністю протизапальної та антиалергічної дії не поступаються препаратам порівняння. Інтенсивність алергічного запалення на шкірі зменшилась при нанесенні крему з мометазоном і керамідами на 43,3 %, мазі з метилпреднізолоном і керамідами на 47,7 %, крему «Елоком» на 45,5 %, мазі «Адвантан» на 40,9 %.

Розвиток експериментального АКД також супроводжувався достовірною зміною системних показників, що підтверджувало тяжкість перебігу алергічного запалення. Відновлення біохімічних показників білкового обміну (сечовини) та ПОЛ (ТБК-АП) при нанесенні досліджуваних препаратів підтверджує пригнічення інтенсивності патологічного процесу на тлі їх лікувальної дії.

На моделі АКД у щурів розвиток алергічного дерматиту супроводжувався достовірним підвищенням рівня прозапальних цитокінів (TNF- $\alpha$ , IL-1) та білка гострої фази запалення (СРБ). При лікуванні тварин препаратами з ГКС і керамідами спостерігали достовірне зниження імунобіохімічних маркерів запалення у порівнянні з групою КП, що підтвердило виражену протизапальну дію крему з мометазоном і керамідами та мазі з метилпреднізолоном і керамідами. За нормалізацією рівня цитокінів досліджувані препарати були на рівні ПП; за впливом на рівень СРБ крем із мометазоном і керамідами достовірно перевищував дію крему «Елоком», а дія мазі з метилпреднізолоном і керамідами була на рівні мазі «Адвантан» (табл. 1).

Таблиця 1

**Вплив досліджуваних препаратів на зміну імунобіохімічних показників крові щурів із алергічним контактним дерматитом, n = 6**

Групи досліджу	TNF- $\alpha$ , пкг/мл	IL-1 $\alpha$ , пкг/мл	СРБ, мг/л	ЦІК, у.о.	
				3,5 %	7 %
Інтактний контроль	25,53 $\pm$ 2,58	3,25 $\pm$ 0,47	0,58 $\pm$ 0,24	0,093 $\pm$ 0,004	0,057 $\pm$ 0,003
Контрольна патологія	197,43 $\pm$ 14,57*	74,06 $\pm$ 4,69*	19,22 $\pm$ 0,78*	0,140 $\pm$ 0,009*	0,108 $\pm$ 0,005*
Патологія + крем МФ із К	84,30 $\pm$ 3,39 <sup>*/**</sup>	38,71 $\pm$ 2,80 <sup>*/**</sup>	2,09 $\pm$ 0,30 <sup>**/**</sup>	0,126 $\pm$ 0,003*	0,087 $\pm$ 0,007 <sup>*/**</sup>
Патологія + крем «Елоком»	90,17 $\pm$ 3,56 <sup>*/**</sup>	43,91 $\pm$ 2,60 <sup>*/**</sup>	3,51 $\pm$ 0,38 <sup>**</sup>	0,127 $\pm$ 0,006*	0,075 $\pm$ 0,008 <sup>**</sup>
Патологія + мазь МПА із К	76,97 $\pm$ 3,53 <sup>*/**</sup>	30,98 $\pm$ 3,34 <sup>*/**</sup>	1,15 $\pm$ 0,19 <sup>**</sup>	0,131 $\pm$ 0,006 <sup>*/**</sup>	0,085 $\pm$ 0,006 <sup>*/**</sup>
Патологія + мазь «Адвантан»	71,99 $\pm$ 4,80 <sup>*/**</sup>	28,20 $\pm$ 2,66 <sup>*/**</sup>	0,86 $\pm$ 0,10 <sup>**</sup>	0,103 $\pm$ 0,004 <sup>*/**</sup>	0,080 $\pm$ 0,003 <sup>*/**</sup>

Примітки:

1. \* – відхилення достовірне по відношенню до групи ІК,  $p < 0,05$ ;  
\*\* – до групи КП,  $p < 0,05$ ; \*\*\* – до групи ПП,  $p < 0,05$ ;

2. МФ – мометазону фураат, МПА – метилпреднізолону ацепонат, К – кераміди; n – кількість тварин у групі.

Розвиток запалення характеризується порушенням кровообігу, зміною реологічних властивостей крові та клітин кістково-мозкового походження. Так, підвищення рівня лейкоцитів при АКД свідчить про напруження імунних сил організму, що пов'язано з активацією процесів фагоцитозу та збільшенням кількості клітин, які продукують медіатори запалення та фактори гуморального і клітинного імунітету (С. И. Данилов и соавт., 2010; J. V. Barnett, K. M. Brundage, 2010; В. А. Бананин, 2013). Після лікування тварин із АКД кремом із мометазоном і керамідами та маззю з метилпреднізолоном і керамідами спостерігали поліпшення гематологічних показників відносно КП: ШОЕ ( $p < 0,05$ ), рівня лейкоцитів ( $p < 0,05$ ) і відновлення лейкоцитарної формули, що свідчить про зменшення запальних процесів та відновлення імунного захисту за умов патології.

Відомо, що ЦІК є продуктами взаємодії імуноглобулінів із відповідним антигеном. ЦІК сприяють дегрануляції клітин і викиду медіаторів алергії. За результатами імунобіохімічних досліджень (табл. 1) встановлено, що при лікуванні препаратами, що містять ГКС з керамідами, відбулось зниження рівня ЦІК 3,5 % та 7 % ( $p < 0,05$ ) відносно КП, що підтверджує поліпшення стану імунної системи внаслідок пригнічення алергічної реакції. За ефективністю крем із мометазоном і керамідами знаходився на рівні крему «Елоком», а мазь з метилпреднізолоном і керамідами дещо поступалася мазі «Адвантан».

Лікувальна дія препаратів на моделі АКД була підтверджена також гістологічними дослідженнями. Встановлено, що ГКС із керамідами достовірно пригнічують розвиток АКД та відновлюють нормальну гістоструктуру шкіри порівняно з групою КП. Так, при застосуванні крему з мометазоном і керамідами у 50 % щурів були відсутні деструктивні зміни в епідермісі, зона пошкодження обмежена, знижені ексудативні прояви та запальна реакція в дермі, присутні ознаки прискорення регенерації епітелію, у 33,3 % щурів гістоструктура шкіри була в нормі. При застосуванні крему «Елоком» у всіх щурів спостерігали більші зони пошкодження та помірну запальну реакцію в дермі, менш виражені ознаки проліферації та відсутність тварин із нормальною гістоструктурою шкіри. При застосуванні мазі з метилпреднізолоном і керамідами у 66,7 % щурів ознаки АКД були відсутні, а у 33,3 % виявлялися дрібні пошкодження шкіри, проліферація шарів шкіри не порушена. При застосуванні мазі «Адвантан» у 66,7 % тварин епітелій потовщений, з ознаками дистрофії епідермоцитів, екзоцитозу, у 16,7 % тварин стан шкіри на рівні групи КП, в останніх щурів ознаки дерматиту відсутні. Отже, за ефективністю лікувальної дії розроблені препарати перевищують ПП, що підтверджує доцільність керамідів у складі МЛЗ із сильними ГКС.

Незважаючи на ефективність ГКС при лікуванні дерматитів, термін їх застосування обмежений через прояви антипроліферативної дії та виникнення атрофічних змін (Н. Г. Кочергин, Д. Д. Петрунин, 2012). Відомо, що ГКС пригнічують розвиток проліферативної фази запалення за рахунок інгібування біосинтезу колагенових і неколагенових білків. Також вони знижують синтез ДНК і РНК, що призводить до зменшення проліферативних процесів і перешкоджає відновленню пошкодженої тканини (Ю. Г. Левина и соавт., 2012; S. K. Rathi, 2012). Оскільки кераміди були введені до складу МЛЗ із ГКС з метою зменшення вираженості їх антипроліферативної дії, досліджено вплив препаратів на процеси

проліферації у шкірі. Одним з найкраще вивчених молекулярних біомаркерів проліферації є показник Ki-67, антитіла до антигену якого реагують з проліферуючими клітинами (фібробласти, епітеліоцити та ін.), що перебувають в G<sub>1</sub>, S, M, G<sub>2</sub> стадіях клітинного циклу (Д. В. Прохоров, 2013; E. Sezer et al., 2015).

Результати імуногістохімічного дослідження експресії маркера проліферації Ki-67 на моделі АКД у тварин (рис. 3) показали, що крем із мометазоном і керамідами і мазь із метилпреднізолоном і керамідами виявляють проліферативні властивості. Так, при лікуванні кремом з мометазоном і керамідами відбулось достовірне збільшення рівня Ki-67-експресії епітеліоцитами в 1,8 разу порівняно з групою КП; при лікуванні маззю з метилпреднізолоном із керамідами проліферація закінчена через повне загоєння та відновлення нормальної будови шкіри. ПП виявили антипроліферативні властивості різною мірою: при застосуванні крему «Елоком» рівень Ki-67-експресії мав тенденцію до зниження в 1,2 разу, а при застосуванні мазі «Адвантан» достовірно зменшився у 2,1 разу в порівнянні з групою КП.

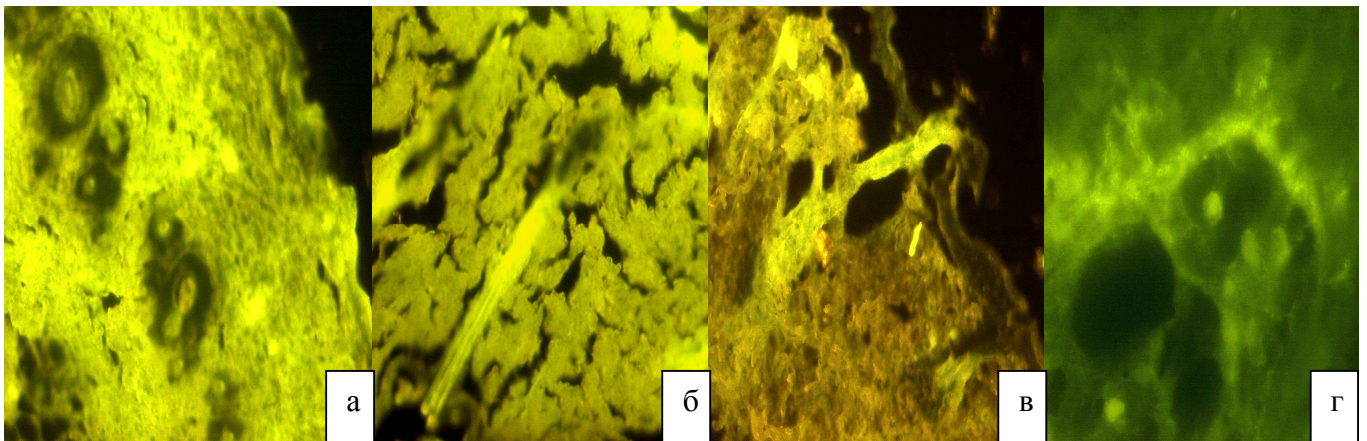


Рис. 3. Інтенсивність світіння Ki-67-експресивних клітин епідермісу на 7 день після моделювання АКД: а – у щурів групи КП; у щурів, яких лікували: б – кремом із мометазоном і керамідами; в – кремом «Елоком»; г – маззю «Адвантан». Імуногістохімічна реакція з використанням антитіл до Ki-67. Люмінесцентна мікроскопія. х 600.

Отже, за умов АКД встановлені такі види фармакологічної дії для крему з мометазоном і керамідами та мазі з метилпреднізолоном і керамідами: протизапальна та протиалергічна – за рахунок мометазону фуuratoу і метилпреднізолону ацепонату, що пригнічують синтез медіаторів алергії (гістаміну, серотоніну), цитокінів (IL-1 $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ), білків гострої фази запалення (СРБ), знижують рівень еозинофілів (маркера розвитку алергічного запалення) та утворюють комплекс «антиген-антитіло» (ЦК); проліферативна – за рахунок керамідів, що підвищують проліферативну активність клітин-продуцентів епідермісу (фібробластів, ендотеліоцитів, епітеліоцитів та ін.). Досліджувані препарати пригнічують процеси ПОЛ і сприяють нормальній імунній відповіді на пошкодження тканин (не зменшують рівень лейкоцитів), що обумовлено застосуванням сильних ГКС на раціональних типах основ, що містять кераміди і дозволяють максимально виявляти місцеву дію та запобігати розвитку системного впливу ГКС, а також їх супресорній дії на імунну систему.

Відомо, що при нанесенні ГКС на шкіру вони здатні гальмувати процес фізіологічної регенерації, що супроводжується розвитком метаболічних порушень і атрофічних процесів внаслідок утворення вільних радикалів, що сприяють поперечному зшиванню колагенових і еластинових волокон та зменшують їх еластичність, здатність до розтягування і скорочення (Г. А. Петрова, 2011; О. Pacha, А. А. Hebert, 2012). Шкіра стає в'ялою, сухою, стоншується, з'являються стрії, а також порушується її бар'єрна функція (К. Н. Монахов, С. А. Очеленко, 2009; А. Sugiura et al., 2014). Це супроводжується підвищеною проникністю епідермісу для токсинів, мікроорганізмів, що може призводити до вторинного запалення і виникнення рецидивів (D. Sajić et al., 2012).

Можливість проявів атрофії шкіри під впливом МЛЗ, що містять сильні ГКС із керамідами, вивчали при тривалому нанесенні препаратів протягом 6 тижнів на здорову шкіру мурчаків. У цьому досліді було порівняно безпечність застосування МЛЗ, що містять нефторовані та фторовані сильні ГКС, а також зазначені ГКС сумісно з керамідами.

За результатами макро- і мікроскопічних досліджень встановлено (рис. 4), що найвиразніша стероїдна атрофія шкіри спостерігається при нанесенні крему з бетаметазоном. Отримані результати узгоджуються з даними літератури про те, що фторовані ГКС більшою мірою здатні до побічних ефектів (Т. В. Проценко, 2009; О. Ю. Туркевич, 2012). При нанесенні крему з мометазоном атрофічної дії не спостерігали. Це також підтверджує дані літератури, що мометазону фуруат більшою мірою зв'язується з рецепторами клітин епідермісу, що обумовлює значно менший ризик розвитку поширеного побічного ефекту від нашкірного застосування ГКС – неповноцінну будову колагену дерми (M. Isogai et al., 1993).

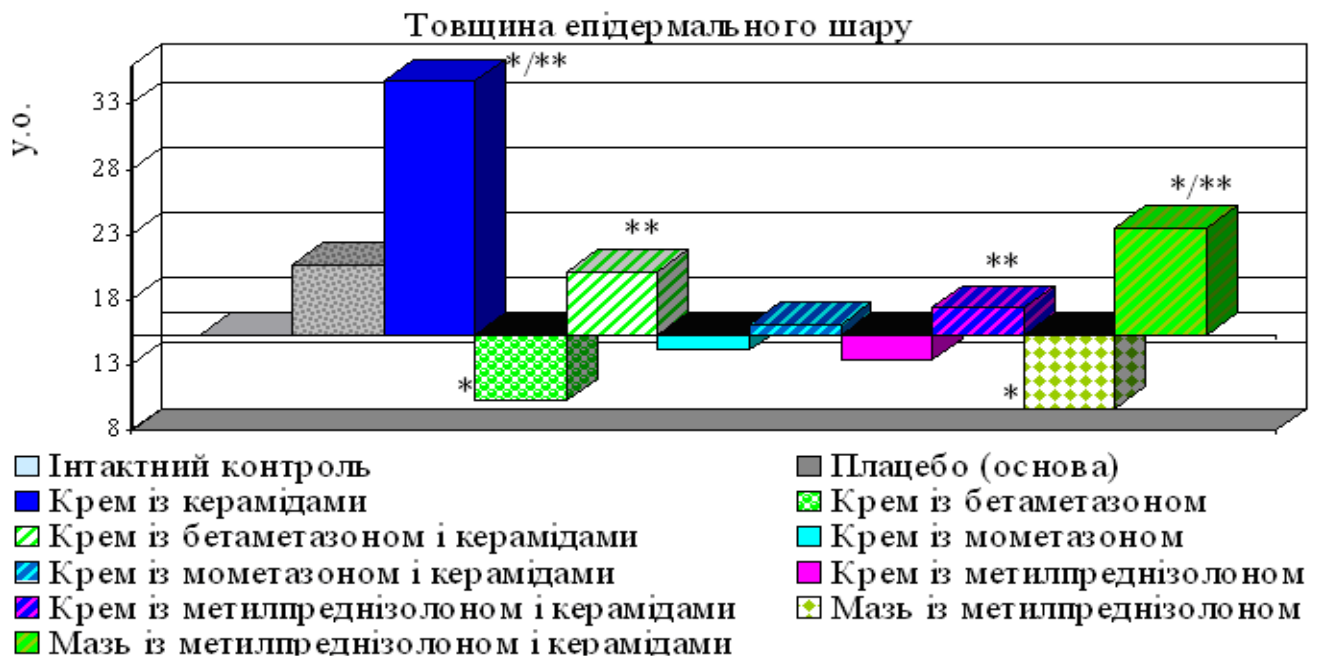


Рис. 4. Товщина епідермального шару шкіри мурчаків при тривалому нанесенні МЛЗ із сильними ГКС та МЛЗ із сильними ГКС і керамідами

Примітка. \* – відхилення достовірне по відношенню до групи ІК,  $p < 0,05$ ;  
 \*\* – до препарату-аналогу без керамідів,  $p < 0,05$ .

При тривалому нанесенні крему з керамідами у мурчаків на шкірі відбувається прискорення проліферативних процесів (посилений епідермопоез приводить до достовірного потовщення епідермального шару в 2,3 разу в порівнянні з ІК) та збільшення вологості шкіри (в 1,2 разу в порівнянні з вихідними даними). Це узгоджується з даними літератури, що кераміди підвищують проліферацію епідермісу, відновлюють гідроліпідний баланс шкіри і звожують її (О. Pacha, 2012).

Встановлено, що кераміди у складі МЛЗ із ГКС тим значніше посилюють проліферацію кератиноцитів і сприяють потовщенню епідермісу, чим істотніше атрофія шкіри, індукована ГКС (рис. 4).

Показано, що лікарська форма впливає на інтенсивність атрофічних змін шкіри під впливом сильних ГКС. Так, нанесення мазі з метилпреднізолоном призвело до виразнішої атрофії шкіри, ніж нанесення крему з метилпреднізолоном. Це узгоджується з даними літератури про те, що розвитку атрофії шкіри найбільше сприяють ГКС у формі мазей (Л. Д. Калюжная, 2010).

При тривалому використанні препаратів, що містять ГКС і кераміди, було також досліджено окремі види специфічної токсичності. Встановлено, що нанесення крему із мометазоном і керамідами та мазі з метилпреднізолоном і керамідами не викликає сенсibilізації тварин: препарати не провокують утворення специфічних антитіл, активність комплементу та рівень ЦІК відповідали значенням ІК. Досліджувані препарати не чинять імунотоксичної дії, не впливають на розвиток реакцій гуморальної (на тлі імунізації кількість антитілопродукентів у селезінці дослідних та контрольних тварин була однаковою) та клітинної (у тесті «Реакція гіперчутливості сповільненого типу» індекс реакції дорівнював значенням імунізованого контролю) ланок імунітету у відповідь на введення тимусзалежного антигену еритроцитів барана. Не було встановлено місцевоподразнювальної дії при дослідженні шкіри, на яку наносили досліджувані препарати, не виявлено видимі сліди ураження та гістологічно підтверджено нормальну будову епідермісу та дерми. Отже, крем із мометазоном і керамідами та мазь з метилпреднізолоном і керамідами не виявили сенсibilізуючої, імунотоксичної та місцевоподразнювальної дії.

Загальний механізм регенеративної дії більшості препаратів полягає у посиленні біосинтезу пуринових і піримідинових основ, ДНК, РНК, функціональних і ферментативних клітинних елементів, а також фосфоліпідів мембран. Процеси регенерації мають бути забезпечені не тільки незамінними кислотами, мікроелементами та вітамінами (субстратним матеріалом), але й пластичним матеріалом (зокрема, керамідами), що потрібен для відновлення шкірного бар'єру (R. V. Shevchenko et al., 2008). Тому був розроблений препарат, що поряд із стимулятором репаративних процесів декспантенолом містив також кераміди – пластичний матеріал, необхідний для загоєння ран.

У зв'язку з цим наступним етапом наших досліджень було поглиблене вивчення ранозагоювальних властивостей крему з керамідами та крему, що містить декспантенол сумісно з керамідами, на моделях різних пошкоджень шкіри тварин, адекватних таким у людини.

Загоєння з епітелізацією можливе при поверхневих ранах (виразки, поверхневі опіки, ерозії), а глибші пошкодження шкіри загоюються з формуванням сполучнотканинного рубця (Л. В. Яковлева та співавт., 2013). Проліферація епітелію

і сполучної тканини залежить від здатності препаратів впливати на метаболічні процеси, зокрема, на синтез білка і глікопротеїнів, покращувати процеси мікроциркуляції в пошкоджених тканинах, а також підтримувати в рані вологе середовище, оскільки при висиханні порушується міграція клітин та утворення грануляційної тканини, необхідної для заповнення ранового дефекту. Сухе середовище у рані спричиняє гіперпроліферацію клітин, внаслідок чого утворюється грубий рубець (Ю. К. Абаєв, 2006).

Вплив крему з керамідами та крему, що містить декспантенол сумісно з керамідами, на епітелізацію шкіри вивчали на моделях хімічних, опікових, площинних ран, а на формування рубця – на моделі лінійних різаних ран у тварин.

*Скринінгові дослідження щодо впливу кремової основи типу м/в, кремів із керамідами чи декспантенолу сумісно з керамідами, на утворення рубцевої тканини на моделі лінійних різаних ран.* За результатами тензіометричних досліджень встановлено, що гідрофільна кремova основа типу м/в не впливає на міцність рубця, а крем із 0,5 % керамідів, крем декспантенолу 5 % та крем декспантенолу 5 % з 0,5 % керамідів достовірно підвищують цей показник на 76,2 %, 76,5 % та 69,5 % відповідно. Лікувальна дія крему з декспантенолом і керамідами була на рівні дії крему із керамідами та крему із декспантенолом, що свідчить про відсутність фармакологічної несумісності між цими речовинами.

У наступній серії експериментів на моделі лінійних різаних ран було досліджено залежність ефективності ранозагоювальної дії кремів декспантенолу 5 % від концентрації керамідів (0,2 %, 0,5 % та 1,0 %). Оцінку ранозагоювальної дії препаратів проводили за тензіометричними та гістологічними показниками.

За результатами тензіометричних досліджень всі креми декспантенолу з різною концентрацією керамідів достовірно збільшували міцність новоутвореного рубця в 1,6-1,9 разу, однак найбільше зростання міцності рубцевої тканини на 91,1 % відбувалося при нанесенні крему декспантенолу 5 % з 0,2 % керамідів.

Гістологічні дослідження також підтвердили позитивний ефект від додавання керамідів до крему декспантенолу 5 %. При макроскопічному огляді виявлено, що рубці після застосування кремів декспантенолу з керамідами мали значно кращий вигляд за висотою країв, шириною та помітністю лінії розрізу, ніж рубці після нанесення крему декспантенолу 5 %. При мікроскопічному огляді виявлено, що крем декспантенолу 5 % з 0,2 % керамідів найефективніше прискорювали процес дозрівання сполучної тканини, що заповнювала рановий канал (рис. 5). За результатами напівкількісної оцінки ступінь зрілості новоутвореної тканини збільшувалась у порівнянні з групою КП у 2,8 разу ( $p < 0,05$ ), а в порівнянні з групою, де застосовували крем декспантенолу 5 %, – в 1,9 разу. Тканина, що утворилась в рані, містила достатню кількість мікросудин, що в сукупності з високим ступенем зрілості цієї тканини створювало сприятливі умови для успішного, з косметичної точки зору, загоєння рани та зменшувало ризик утворення патологічних рубців.

Слід зазначити, що поліпшення виду і текстури рубця, а також зниження його помітності відбувається за рахунок того, що кераміди впливають на секрецію різних цитокінів і факторів росту, які знижують інтенсивність надмірного утворення рубцевої тканини, а також сприяють упорядкованості (односпрямованості) волокон (H. S. Kim et al., 2013).

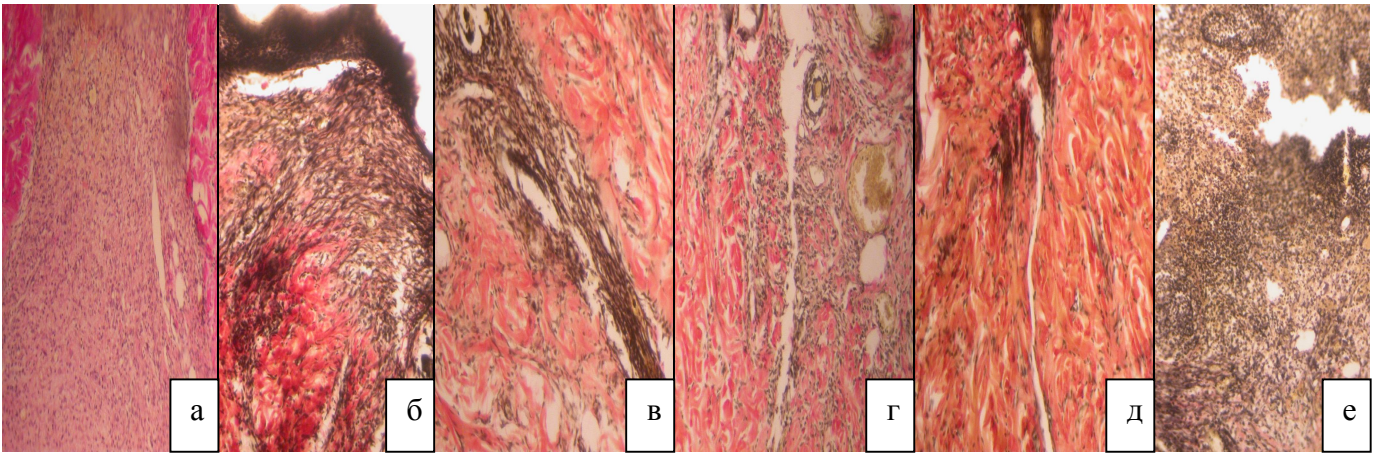


Рис. 5. Гістоструктура ранового дефекту шкіри після 5 днів моделювання лінійних різаних ран: а – незріла сполучна тканина з ранового каналу тварин з групи КП, хаотично розташовані клітини, волокна відсутні; б – широкий канал, заповнений тканиною клітинного типу, волокна поодинокі після лікування кремом декспантенолу 5 %; в – вузький рановий канал, заповнений волокнистою тканиною при нанесенні крему з 0,5 % керамідів; г – зріла сполучна тканина, що заповнює вузький рановий канал, після лікування кремом декспантенолу 5 % із 0,2 % керамідів; д – канал у вигляді вузької вертикальної смужки майже не відрізняється від навколишньої дерми після лікування кремом декспантенолу 5 % із 0,5 % керамідів; е – некротичні маси у рановому каналі, сполучна тканина містить мало волокон після нанесення крему декспантенолу 5 % із 1 % керамідів. Пікрофуксин за Ван-Гізоном. х 150.

Для подальшого фармакологічного дослідження було обрано крем декспантенолу 5 %, що містить 0,2 % керамідів – далі крем декспантенолу 5 % із керамідами.

*Дослідження лікувальної дії крему з керамідами та крему декспантенолу 5 % із керамідами, на різних моделях РП при загоєнні за різними типами.* Вивчення впливу крему декспантенолу 5 % із керамідами на процес загоєння ран вторинним натягом проводили на моделі площинних ран, що не мають суміщених країв між собою, внаслідок чого загоєння відбувається довше з утворенням епітеліальної тканини. Вторинним натягом загоюються рани рвані, колоті, вогнепальні тощо (Л. В. Яковлева та співавт., 2013). Встановлено, що за динамікою планіметричних показників та ефективністю репаративної дії розроблений крем знаходиться на рівні крему «Бепантен» (рис. 6). Значне прискорення швидкості загоєння ран відбувається вже на 7 добу у лікованих тварин у порівнянні з нелікованими. Так, коефіцієнт швидкості загоєння ран при лікуванні кремом декспантенолу 5 % із керамідами перевищував у 3,2 разу відповідний показник групи КП, а при лікуванні кремом «Бепантен» – у 2,8 разу; на 9 добу – у 3,4 разу і 3 рази відповідно. Різниця між сумарними репаративними ефектами досліджуваного препарату і ПП, розрахованими як площа під кривою «час – ефект», складає 0,65 %. Повне загоєння ран у тварин при лікуванні кремом декспантенолу 5 % із керамідами спостерігали на 17 добу, а кремом «Бепантен» – на 19 добу.

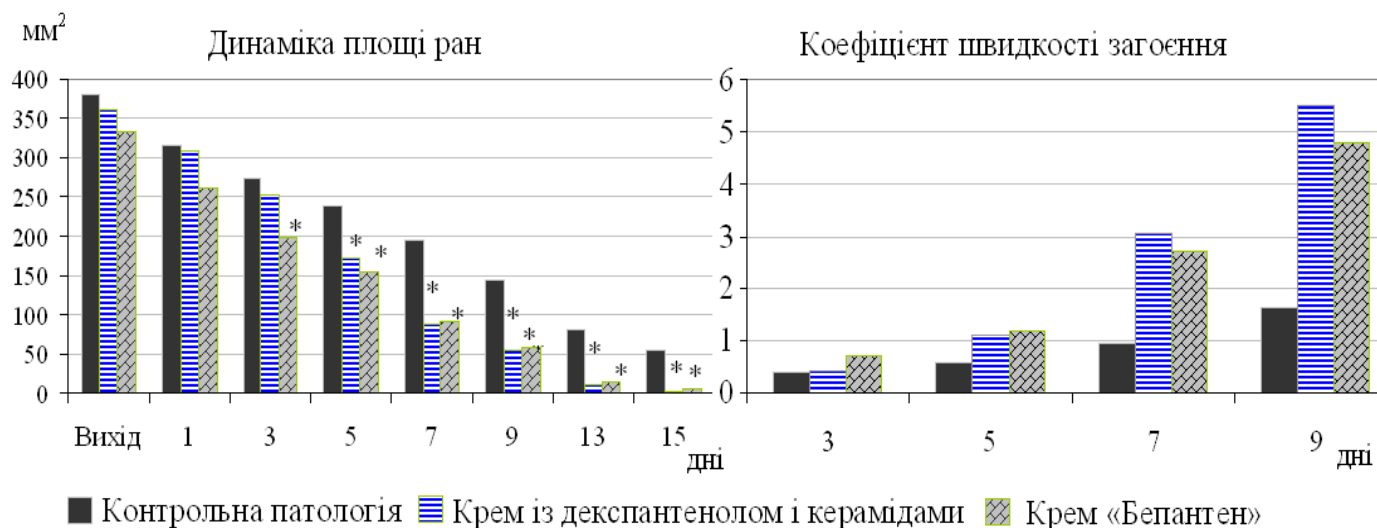


Рис. 6. Порівняльна динаміка планіметричних показників при лікуванні площинних ран кремом декспантенолу 5 % із керамідами

Примітка. \* – відхилення достовірне по відношенню до групи КП,  $p < 0,05$ .

За результатами гістологічних досліджень крем декспантенолу 5 % із керамідами оптимізував розвиток репаративно-запального процесу і позитивно впливав на ремоделювання рубця. Рана була очищена від некротичних мас, що сприяло прискоренню дозрівання грануляційної тканини. На 14 добу вираженість епітелізації дефекту під впливом крему декспантенолу 5 % із керамідами була достовірно вищою в 1,4 разу в порівнянні з кремом «Бепантен». Під дією досліджуваного препарату перебудова грануляцій у рубцеву тканину відмічена в усіх тваринах вже на 14 добу й успішно завершена на 21 добу, коли рановий канал мав конусоподібну форму, незначні розміри, був заповнений волокнистою тканиною, покритий міцним епітелієм, без ознак дистрофії, більша частина судин редуцірована. Утворився невеликий рухливий рубець як результат загоєння шляхом концентричного рубцювання, з регенератом шкірного типу – відновлена дерма з частково відновленими дериватами. Під дією крему «Бепантен» на 14 добу процес очищення ранового каналу був ще не закінчений, явищ ремоделювання рубця не виявлено, вираженість епітелізації практично знаходилась на рівні групи КП, ангіогенез уповільнений. До 21 доби епітелізація закінчувалась, але ще зустрічалися значні за протяжністю дефекти й лейкоцитарна інфільтрація центральних зон рани і підшкірної клітковини, кількість судин продовжувала збільшуватися, рану заповнював регенерат дермального типу.

Результати гістометричних досліджень на моделі площинних ран показали, що при нанесенні на рану крему декспантенолу 5 % із керамідами підвищувалась кількість функціонуючих капілярів (особливо на 14 добу, коли щільність судин була достовірно вищою в 1,8 разу в порівнянні з групою КП і в 1,4 разу – в порівнянні з кремом «Бепантен»), що приводило до прискорення дозрівання грануляційної тканини.

Загоєння шкіри – це складний процес, що полягає у взаємодії між різними типами клітин і факторами росту. При загоєнні шкірної рани запускається каскад різних імунологічних факторів, які сприяють міграції лейкоцитів у рану, активують



нейтрофіли в зоні запалення, стимулюють проліферацію фібробластів, а також сприяють епітелізації (Ю. К. Абаев, 2006; D. Wolfram et al., 2009; O. N. Bae et al., 2015). Низький імунний статус спричиняє додаткові труднощі для процесу загоєння ран, вивчення яких необхідно для досягнення оптимальних результатів лікування (Е. А. Варюшина и соавт., 2004; А. Г. Марков и соавт., 2010). Тому доцільно було дослідити вплив кремів із керамідами, декспантенолом та декспантенолом із керамідами на динаміку загоєння шкірних ран у щурів на тлі імуносупресії, яку викликали ін'єкціями гідрокортизону, оскільки така модель дозволяє знизити швидкість загоєння ран і оцінити вплив препарату на регенерацію шкіри при ускладненому РП (Л. В. Яковлева та співавт., 2013).

Планіметричний аналіз ран на тлі імуносупресії показав, що нанесення крему з керамідами сприяє прискоренню процесу загоєння в середньому в 3,3 разу, ніж в групі КП на тлі імуносупресії, але швидкість природної регенерації не досягається. Крем декспантенолу 5 % із керамідами сприяв загоєнню ран з перших днів лікування, а з 11 дня площа загоєння ( $141,7 \pm 9,52 \text{ мм}^2$ ) практично відповідала показнику у тварин з природною регенерацією ( $162,5 \pm 13,90 \text{ мм}^2$ ). При застосуванні крему «Бепантен» площа загоєння ран становила  $108,7 \pm 8,18 \text{ мм}^2$ , що в 1,5 разу ( $p < 0,05$ ) повільніше швидкості природного загоєння.

Вивчення впливу досліджуваних препаратів на процес загоєння ран під струпом проводили на моделях хімічних та опікових ран у щурів з вираженими процесами альтерації шкіри та підшкірної клітковини, внаслідок чого утворюються некротичні ділянки на шкірі, а їх загоєння відбувається під струпом (Л. В. Яковлева та співавт., 2013).

На моделі хімічних ран встановлено, що крем із керамідами і крем декспантенолу 5 % з керамідами виявляють виражену репаративну дію, про що свідчить достовірне зменшення площі ран з 5 дня лікування й скорочення термінів загоєння ран у порівнянні з групою КП. У тварин, яких лікували кремом декспантенолу 5 % з керамідами, повне загоєння ран відбувалося на 15 добу лікування, а іншими препаратами – на 17 добу. За ефективністю лікувальної дії крем із керамідами не поступався ПП (різниця сумарної репаративної дії склала 8,8 %), а крем декспантенолу 5 % з керамідами був дещо ефективніше крему «Бепантен» (різниця склала 13,5 %).

Опікова травма є однією з тяжких патологічних станів, що розвивається у людини, оскільки супроводжується опіковим шоком і токсемією (Г. П. Козинець и соавт., 2004; T. Velnar et al., 2009; I. B. Гунас та співавт., 2012). Динамічні процеси, що виникають у відповідь на термічне пошкодження, поєднують у собі стресову реакцію системи крові з активацією симпатoadреналової системи, розвиток неспецифічної запальної та імунної реакції з переходом у структурно-метаболічні порушення органів, тканин і систем, пошкодження клітинних мембран і посилення катоболічних процесів (С. В. Смирнов и соавт., 2008; H. Sayar et al., 2014). Аналогічні явища мали місце в наших дослідженнях. Так, після моделювання опікової травми у щурів на шкірі утворився щільний струп темно-бурого кольору з чітко обмеженою зоною некрозу ( $574,8\text{-}731,5 \text{ мм}^2$ ) і з вираженими запальними змінами навколишніх тканин. У перші дні після опікової травми тварини були неактивними і мали поганий апетит. Протягом усього досліджу загибелі тварин у

дослідних групах і групі КП не спостерігали. Результати показали, що досліджувані препарати виявляють виражені ранозагоювальні властивості, про що свідчить зменшення площі, зростання швидкості та скорочення строків загоєння ран у порівнянні з групою КП. Так, достовірно зменшення площі опіків у тварин при лікуванні кремом із керамідами і кремом декспантенолу 5 % з керамідами спостерігали вже з 3 дня лікування відносно вихідних даних і з 7 дня відносно групи КП, а під впливом крему «Бепантен» – з 5 дня лікування як відносно вихідних даних, так і групи КП. На 5 день лікування коефіцієнт швидкості загоєння ран у тварин, яким наносили крем із керамідами, крем декспантенолу 5 % з керамідами та крем «Бепантен», перевищував коефіцієнт швидкості загоєння в групі КП в 1,6, 2,1 та 1,9 разу відповідно. У всіх тварин повне загоєння опіків під впливом крему декспантенолу 5 % з керамідами спостерігали на 19 день лікування, а під впливом крему з керамідами і крему «Бепантен» – на 21 день лікування. Різниця в сумарних репаративних ефектах крему з керамідами і крему «Бепантен» склала лише 4,9 %, а крему декспантенолу 5 % з керамідами і крему «Бепантен» – 25,8 %.

Про перевагу ранозагоювальної дії крему декспантенолу 5 % з керамідами свідчить скорочення термінів загоєння ран: на 8 днів при лікуванні площинних ран і на 6 днів при лікуванні опікових і хімічних ран порівняно з групою КП, тоді як при лікуванні кремом із керамідами та кремом «Бепантен» опікових і хімічних ран термін загоєння скоротився на 4 дні, а при лікуванні кремом «Бепантен» площинних ран – на 6 днів порівняно з групою КП.

Розвиток опікових ран супроводжувався коагуляційним некрозом і порушенням реологічних властивостей крові, що призводило до зменшення ШЗК (в 1,7 разу), збільшення ШОЕ (у 2,9 разу) та кількості лейкоцитів (в 1,5 разу) ( $p < 0,05$ ). При лікуванні тварин кремом із керамідами і кремом декспантенолу 5 % з керамідами спостерігається нормалізація гематологічних показників, що свідчить про згасання патологічного процесу. Крем декспантенолу 5 % з керамідами виявив виразнішу лікувальну дію в порівнянні з ефектом крему з керамідами та крему «Бепантен» (рис. 7).

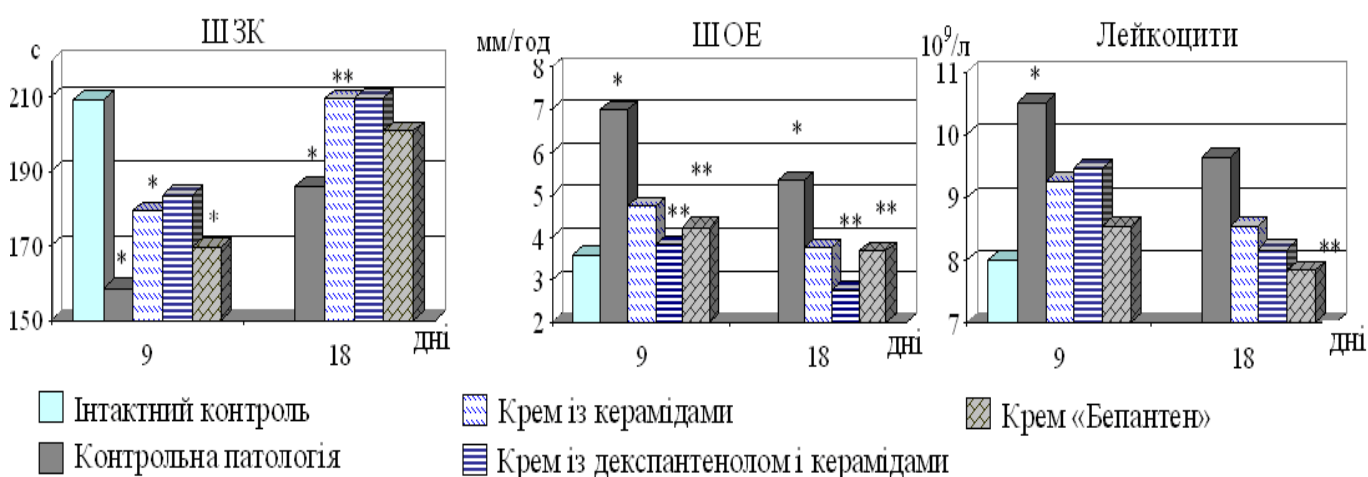


Рис. 7. Зміна гематологічних показників у щурів із опіковою травмою після лікування досліджуваними препаратами

Примітка. \* – відхилення достовірно по відношенню до групи ІК,  $p < 0,05$ ;  
\*\* – до групи КП,  $p < 0,05$ .

Відомо, що масивні травми тканин супроводжуються збільшенням утворення імунних комплексів (В. Н. Святецкая и соавт., 2010). У нашому дослідженні на моделі опікових ран також відбувалося достовірне збільшення рівня ЦК (середніх і великих молекул). Досліджувані препарати сприяли зниженню утворення ЦК. Найсильніший позитивний вплив виявили крем декспантенолу 5 % з керамідами та крем «Бепантен», що можна пояснити імуномодулюючими властивостями декспантенолу, що підвищує захисні властивості організму (Г. Л. Вышковский, 2012).

Ураження шкіри внаслідок опіку може бути причиною прямої втрати білка через крововтрату та некроз (Э. Я. Фисталь и соавт., 2006), що супроводжується підвищенням споживанням енергії та білка, в результаті чого відбувається зміна їх метаболізму. Значне порушення білкового обміну уповільнює загоєння ран та підвищує ризик виникнення ускладнень РП. Про стан білкового обміну судили за рівнем таких показників, як СРБ, ЗБ, гаптоглобін, сіроглікоїди (табл. 2).

Таблиця 2

**Вплив досліджуваних препаратів на вміст ЗБ та білків гострої фази запалення на моделі опікової травми у щурів, n = 6**

Дослідні групи	СРБ, мг/л (дні лікування)		ЗБ, г/л (дні лікування)	
	9 день	18 день	9 день	18 день
Інтактний контроль	0,51 ± 0,03		74,56 ± 2,63	
Патологія (2 день)	19,67 ± 0,31*		56,58 ± 4,59*	
Контрольна патологія	12,53 ± 0,81 <sup>*/@</sup>	1,65 ± 0,06 <sup>*/@</sup>	57,95 ± 4,33*	68,37 ± 4,28
Патологія + крем із керамідами	5,82 ± 0,30 <sup>*/@/#/\$</sup>	0,73 ± 0,04 <sup>*/@/#</sup>	67,43 ± 4,26	69,79 ± 5,10
Патологія + крем ДП із керамідами	1,84 ± 0,06 <sup>*/@/#/\$</sup>	0,49 ± 0,03 <sup>@/#/\$</sup>	67,27 ± 6,19	70,18 ± 5,34
Патологія + крем «Бепантен»	4,53 ± 0,32 <sup>*/@/#</sup>	0,83 ± 0,03 <sup>*/@/#</sup>	69,85 ± 3,72	70,12 ± 6,48
	Гаптоглобін, г/л		Сіроглікоїди, г/л	
	9 день	18 день	9 день	18 день
Інтактний контроль	0,64 ± 0,03		0,22 ± 0,01	
Патологія (2 день)	2,00 ± 0,12*		0,76 ± 0,06*	
Контрольна патологія	1,49 ± 0,06 <sup>*/@</sup>	1,03 ± 0,02 <sup>*/@</sup>	0,59 ± 0,05*	0,43 ± 0,02 <sup>*/@</sup>
Патологія + крем із керамідами	1,07 ± 0,06 <sup>*/@/#/\$</sup>	0,88 ± 0,04 <sup>*/@/#/\$</sup>	0,43 ± 0,02 <sup>*/@/#</sup>	0,30 ± 0,02 <sup>*/@/#</sup>
Патологія + крем ДП із керамідами	0,98 ± 0,04 <sup>*/@/#/\$</sup>	0,58 ± 0,02 <sup>@/#/\$</sup>	0,36 ± 0,02 <sup>*/@/#/\$</sup>	0,20 ± 0,01 <sup>@/#/\$</sup>
Патологія + крем «Бепантен»	1,26 ± 0,06 <sup>*/@/#</sup>	0,76 ± 0,02 <sup>*/@/#</sup>	0,47 ± 0,03 <sup>*/@</sup>	0,35 ± 0,02 <sup>*/@/#</sup>

Примітки:

- \* – відхилення достовірне по відношенню до групи ІК,  $p < 0,05$ ;  
@ – до 2 дня досліджу,  $p < 0,05$ ; # – до групи КП,  $p < 0,05$ ; \$ – до групи ПП,  $p < 0,05$ ;
- n – кількість тварин у групі; ДП – декспантенол.

Встановлено, що розвиток опікових ран у тварин супроводжувався достовірним зменшенням рівня ЗБ (в 1,3 разу) і підвищенням рівня білків гострої фази запалення: СРБ (у 38 разів), гаптоглобіну (у 3,1 разу), сіроглікоїдів (у 3,5 рази) порівняно з групою ІК (табл. 2), що свідчить про наявність запально-деструктивної фази перебігу РП. Досліджувані препарати зменшували деструктивні процеси в рані, що сприяло поліпшенню стану білкового обміну. Під дією крему декспантенолу 5 % із керамідами нормалізація рівня показників СРБ, гаптоглобіну, сіроглікоїдів була достовірно краща ніж при лікуванні кремом «Бепантен», що також підтверджувало раціональність введення керамідів до складу крему з декспантенолом.

Відомо, що негативні зміни, що відбуваються в епідермісі та дермі при опіках, ініціюються активними формами кисню (АФК), які запускають процеси окиснення ліпідних і білкових структур шкіри, що призводить до розвитку запального процесу та пригнічення синтезу колагену (С. В. Смирнов и соавт., 2008; О. Ю. Чечет и соавт., 2010). Результати вивчення процесів окисної модифікації білків (ОМБ) та ПОЛ за умов патології показали, що після моделювання опіків достовірно підвищується рівень АФГ в 1,8 разу і КФГ в 2,5 рази, а також ТБК-АП – в 2,2 разу. Всі ці зміни свідчать про підвищення інтенсивності процесів ОМБ та ПОЛ при опікових травмах. При лікуванні кремом із керамідами та кремом декспантенолу 5 % з керамідами спостерігали достовірне зниження продуктів ПОБ і ПОЛ, вміст яких виявлявся нижчим, ніж при лікуванні кремом «Бепантен». Отримані дані дозволяють припустити, що механізм ранозагоювальної дії досліджуваних препаратів пов'язаний також з пригніченням процесів утворення продуктів ОМБ та ПОЛ внаслідок стабілізації мембран. Одержані результати узгоджуються з даними літератури (Г. Л. Вышковский, 2012) про те, що метаболіт декспантенолу пантотенова кислота відіграє важливу роль у клітинному обміні й регенерації клітин. Кераміди сприяють клітинній проліферації, а також захищають клітини епідермісу від негативної дії вільних радикалів (А. М. Goldstein, W. Abramovits, 2003).

Цитокіни, зокрема прозапальні  $IL-1\alpha$  і  $TNF\alpha$ , посідають важливе місце у реалізації ранового запалення; вони утворюються у відповідь на пошкодження тканин і стимулюють розвиток місцевої запальної реакції, спрямованої на загоєння опікової травми (В. А. Кривошопка, 2011; Т. А. Ушакова и соавт., 2015). Ці дані підтверджували і наші імунобіохімічні дослідження на моделі опікових ран, розвиток яких супроводжувався достовірним підвищенням  $IL-1\alpha$  у середньому в 33 рази, а  $TNF-\alpha$  – у 15 разів, що доводить активацію імунної відповіді, пов'язаної з деструкцією тканин (рис. 9). На 18 день досліду в групі КП рівень прозапальних цитокінів залишався високим, що свідчило про уповільнення загоєння та порушення репаративних процесів. Застосування крему з керамідами і крему декспантенолу 5 % з керамідами достовірно знижувало рівень прозапальних цитокінів і скорочувало період цитокінової активності на відміну від групи КП і групи, що отримувала крем «Бепантен». Зниження рівня прозапальних цитокінів сприяло прискоренню загоєння ран, обмеженню деструктивних змін у шкірі та свідчило про виражену ефективність місцевого лікування опікових ран.

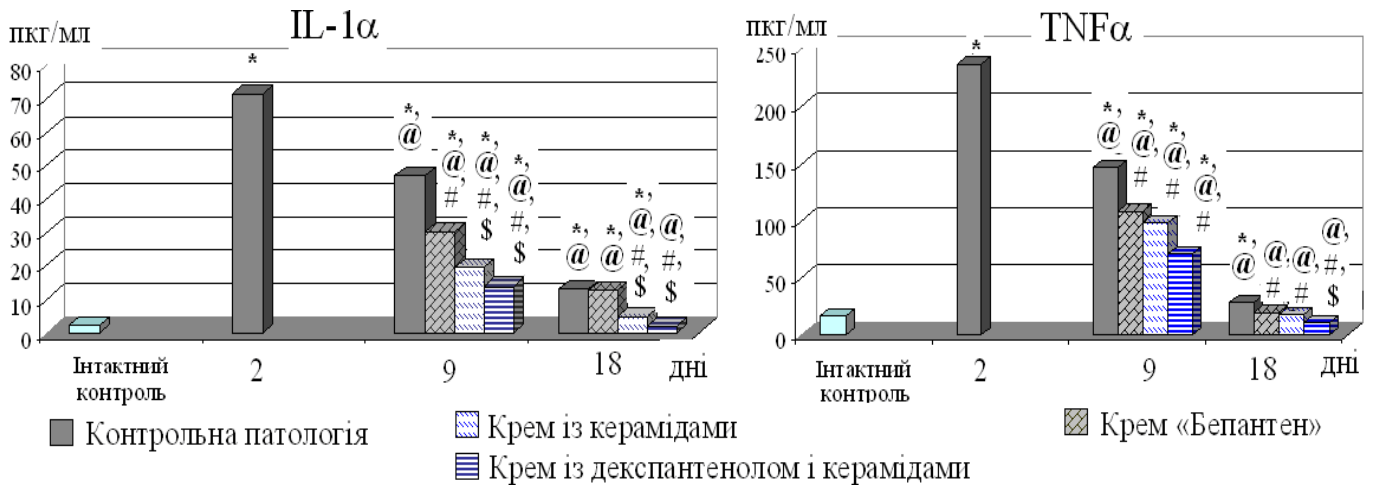


Рис. 9. Динаміка рівня ІЛ-1 $\alpha$  і TNF $\alpha$  у крові тварин із опіковою травмою під впливом досліджуваних препаратів

Примітка. \* – відхилення достовірно по відношенню до групи ІК,  $p < 0,05$ ; @ – до 2-го дня дослідження,  $p < 0,05$ ; # – до групи КП,  $p < 0,05$ ; \$ – до групи ПП,  $p < 0,05$ .

Імуногістохімічні дослідження рівня клітин-продуцентів ІЛ-1 $\alpha$  шкіри показали, що на 9 день спостережень кількість клітин-продуцентів була мінімальною, однак у подальшому вона зростала. Застосування досліджуваних препаратів приводило до достовірного збільшення кількості експресувальних клітин на 9 день лікування та їх зменшення на 18 день лікування у порівнянні з групами КП та ПП, що свідчить про зниження запалення та посилення репаративної фази РП. Найвиразнішу дію спостерігали при нанесенні крему декспантенолу 5 % з керамідами, що свідчить про синергізм між цими речовинами та їх здатність позитивно моделювати цитокінові механізми ранового запалення. Кераміди, що поліпшують бар'єрні функції шкіри, здатні зменшувати запалення, зокрема, знижувати рівень прозапальних цитокінів (А. Sugiura et al., 2014). Також існує думка, що для активації процесів проліферації епідермоцити змушені компенсаторно зменшувати експресію прозапальних цитокінів та активно синтезувати цитокіни, необхідні для проліферативних процесів (И. С. Чекман и соавт., 2010). Декспантенол за рахунок пантотенової кислоти нормалізує клітинний метаболізм, що перешкоджає подальшій деструкції тканин та вивільненню прозапальних цитокінів (F. Ebner et al., 2002).

З метою вивчення механізму ранозагоювальної дії препаратів із керамідами були проведені гістохімічні дослідження проліферації клітин в опіковій рані (за вмістом клітин-продуцентів Кі-67). На 9 день дослідження в усіх дослідних групах інтенсивність люмінесцентного світіння Кі-67-експресувальних епітеліальних клітин була достовірно вищою в порівнянні з групою КП. На 18 день при нанесенні крему декспантенолу 5 % з керамідами і крему з керамідами інтенсивність люмінесцентного світіння Кі-67-експресувальних епітеліальних клітин була достовірно вище в 1,4 та 1,3 рази в порівнянні з кремом «Бепантен», що свідчить про виражені проліферативні властивості керамідів. Це підтверджує дані літератури, що кераміди також є сигнальними молекулами, що беруть участь у таких клітинних процесах, як диференціювання та проліферація епітелію (Y. Uchida, 2014).

У фазі регенерації вирішальну роль у побудові грануляційної тканини відіграють фібробласти, оскільки вони синтезують компоненти проміжної речовини – сполучної тканини та протеїнових попередників колагену (С. Fathke et al., 2004; Ю. К. Абаев, 2006; Р. Syarina et al., 2015; F. Ghieh et al., 2015). Тому з метою дослідження механізму ранозагоювальної дії було вивчено вплив препаратів на синтез РНК у фібробластах при опіковій травмі. Встановлено, що крем декспантенолу 5 % з керамідами достовірно збільшує вміст РНК у цитоплазмі фібробластів порівняно з КП і діє на рівні ПП (рис. 10). Таким чином, кераміди не порушили здатність декспантенолу підвищувати синтез РНК, що підтверджує відсутність антагонізму між декспантенолом і керамідами.

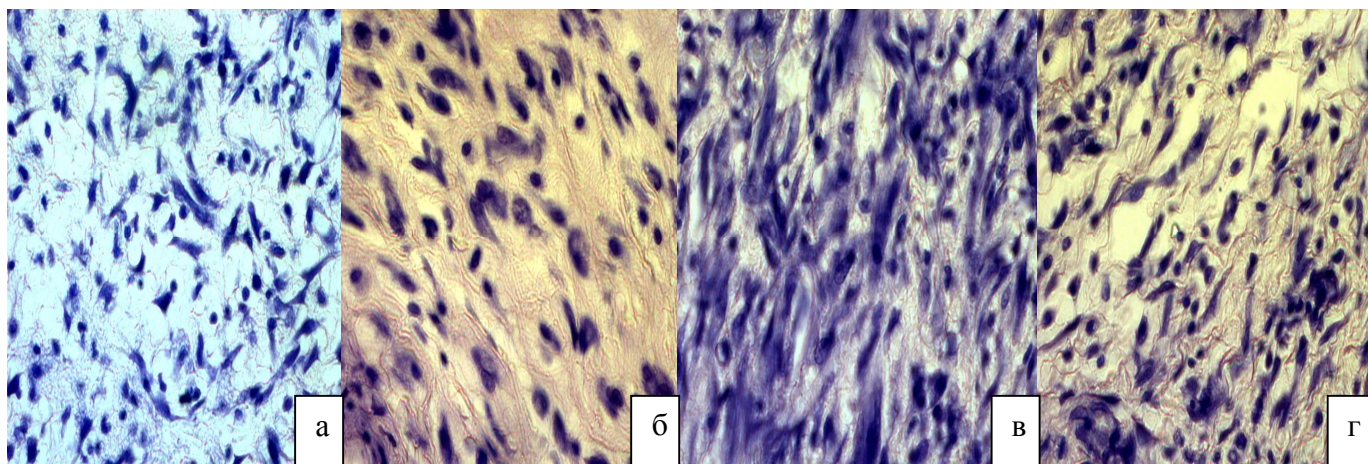


Рис. 10. Ділянки грануляційної тканини при термічному опіку шкіри на 9 день спостережень в групі КП (а) та групах, що отримували крем із керамідами (б), крем декспантенолу 5 % з керамідами (в), крем «Бепантен» (г). Галоціанінохромові галуни. x 400.

Гістологічні дослідження на моделі опікових ран показали, що крем із керамідами та крем декспантенолу 5 % з керамідами достовірно підвищували ступінь дозрівання грануляційної тканини та вираженість епітелізації ранового дефекту у порівнянні з групою КП. Лікувальна дія крему декспантенолу 5 % з керамідами достовірно перевищила дію крему «Бепантен». Ці дані підтверджують доцільність введення керамідів до складу крему з декспантенолом й узгоджуються з даними літератури, що кераміди та декспантенол сприяють клітинній проліферації за рахунок поліпшення метаболічних, енергетичних та імунних процесів в клітинах шкіри (J. Ishikawa et al., 2010; R. Heise et al., 2012; В. В. Чикин, 2014).

У результаті проведених досліджень встановлено, що кераміди виявляють специфічну фармакологічну дію – сприяють загоєнню ран. За механізмом та ефективністю ранозагоювальної дії декспантенол та кераміди відрізняються один від одного, що робить доцільним їх поєднання в складі крему для місцевого лікування ран. Це дозволяє одночасно впливати на різні ланки ранового процесу, скорочувати строки та підвищувати якість загоєння ран.

Отже, згідно з метою досліджень було проведено різнобічне експериментальне дослідження специфічної фармакологічної дії керамідів за умов запальних і ранових процесів шкіри та фармакологічно обґрунтована доцільність

створення МЛЗ, що містять сильні ГКС чи декспантенол спільно з керамідами, для зменшення місцевих побічних ефектів та підвищення якості або ефективності лікування запальних захворювань шкіри та ранового процесу. За результатами комплексних фармакологічних досліджень розроблено 4 лікарські препарати, два з яких впроваджено у виробництво та медичну практику, а один знаходиться на стадії клінічних випробувань.

## ВИСНОВКИ

Поширеність серед населення запальних захворювань шкіри та ускладнень загоєння ранового процесу, тривалість їх перебігу, недостатньо ефективна терапія, економічні збитки, викликані тимчасовою втратою працездатності хворих, змушують поглиблено вивчати такі патології та викликають необхідність подальшого удосконалення існуючих і пошук нових методів їх лікування. Одним зі шляхів вирішення цієї проблеми є створення, вивчення та впровадження високоефективних лікарських засобів, здатних пригнічувати перебіг патологічного процесу в шкірі, відновлювати її структуру і цілісність пошкоджених тканин, бути безпечними для організму людини, а також економічно доступними.

У дисертації наведено вирішення наукової проблеми, пов'язаної з підвищенням ефективності та безпеки місцевого лікування запальних захворювань шкіри та ранового процесу. Вперше запропоновано новий клас лікарських препаратів із керамідами для місцевого застосування. Завдяки фармакологічним властивостям керамідів експериментально обґрунтована доцільність створення МЛЗ, що містять сильні ГКС чи декспантенол із керамідами. Доведена перспективність подальшого вивчення і цілеспрямованого створення лікарських препаратів, що містять кераміди.

1. Встановлено відсутність достовірної протизапальної дії крему з керамідами, а також впливу керамідів на протизапальну дію різних глюкокортикостероїдів при сумісному застосуванні у формі крему. Різниця протизапальної дії кремів із глюкокортикостероїдами і керамідами та кремів із глюкокортикостероїдами на моделі декстранового набряку була в межах 2,8-6,6 %, а на моделі аеросильного набряку – 7,3-14,7 %. На моделях ранового процесу визначено, що крем із керамідами виявляє достовірну ранозагоювальну дію на рівні 76,2 % (на моделі лінійних різаних ран) і скорочує терміни загоєння ран на 6 днів (на моделі площинних ран) у порівнянні з групою контрольної патології. Доведено, що введення керамідів до крему мометазону 0,1 % сприяє достовірному зниженню негативного впливу мометазону на загоєння площинних ран, про що свідчить відсутність загибелі тварин і повне загоєння ран у 50 % тварин, а також лінійних різаних ран – міцність рубця збільшилась до 58,6 %.

2. На моделі лінійних різаних ран встановлено, що додавання керамідів у діапазоні концентрацій від 0,1 % до 1 % до кремів із мометазоном або декспантенолом сприяє підвищенню міцності рубця. Оптимальною концентрацією для крему мометазону 0,1 % є 0,5 % керамідів, що підтверджується підвищенням міцності рубця до 65,9 %, а для крему декспантенолу 5 % є 0,2 % керамідів – до 91,1 % ( $p < 0,05$ ).

3. Доведена відсутність впливу керамідів на ефективність фармакологічної дії глюкокортикостероїдів та наявність антагонізму між ними. Встановлено, що крем мометазону 0,1 % із керамідами та мазь метилпреднізолону 0,1 % із керамідами виявляють достовірну антиексудативну (наприкінці досліду дія препаратів становила на моделі зимозанового набряку 40 % та 39,4 %, декстранового набряку – 36,4 % та 31,3 % відповідно), антиальтеративну та цитопротекторну (на рівні 74,4 % та 76,7 %), протизапальну (на рівні 69,3 % та 75 %), протиалергічну (на рівні 43,3 % та 47,7 %) активність і за лікувальною дією не поступаються препаратам порівняння.

4. В умовах алергічного та неалергічного контактного дерматитів доведено, що кераміди у складі препаратів із глюкокортикостероїдами чинять виражений вплив на морфофункціональне відновлення шкіри та переважають дію препаратів порівняння, що підтверджується поліпшенням стану епідермісу відповідно під дією крему мометазону 0,1 % із керамідами на 66 % та 22 % порівняно з кремом «Елоком» та мазі метилпреднізолону 0,1 % із керамідами на 74,6 % і 80,2 % порівняно з маззю «Адвантан», а також зменшенням запалення у дермі на 100 % і 66,8 % та 74,6 % і 87,2 % відповідно.

5. Імуногістохімічними дослідженнями доповнено наукові дані про те, що механізм антипроліферативної дії глюкокортикостероїдів, пов'язаний, зокрема, з пригніченням проліферативного білка Ki-67 (при нанесенні крему «Елоком» на 14,2 %, мазі «Адвантан» на 51,2 %). Збільшення інтенсивності світіння маркера проліферації Ki-67 спостерігалось при нанесенні крему мометазону 0,1 % із керамідами на 105,6 % порівняно з кремом «Елоком», а також утворення зрілої тканини шкіри під впливом мазі метилпреднізолону 0,1 % із керамідами свідчило про зменшення антипроліферативної дії ГКС, що обумовлено складовим механізмом проліферативної дії препаратів із ГКС і керамідами – збільшенням рівня гістонного білка Ki-67.

6. В умовах тривалого нашкірного застосування м'яких лікарських засобів із глюкокортикостероїдами (фторованими і нефторованими) із керамідами показано, що кераміди знижують рівень розвитку атрофічних процесів шкіри на 146 % при нанесенні мазі метилпреднізолону 0,1 % ( $p < 0,05$ ), на 96 % – крему бетаметазону 0,1 % ( $p < 0,05$ ), на 14 % – крему мометазону 0,1 % відносно препаратів-аналогів без керамідів.

7. Токсикологічними дослідженнями доведено, що крем мометазону 0,1 % із керамідами та мазь метилпреднізолону 0,1 % із керамідами не виявляють сенсibiliзуючої, імунодепресивної та місцевоподразнювальної дії.

8. На моделях хімічних та опікових ран встановлено, що крем із керамідами скорочує терміни загоєння ран на 4 дні, а рани загоюються без утворення грубих рубців. За рівнем ранозагоювальної дії крем із керамідами був на рівні крему «Бепантен». З'ясовано, що механізм ранозагоювальної дії крему із керамідами полягає в пригніченні запально-деструктивних процесів, зокрема в зниженні рівня прозапальних цитокінів IL-1 $\alpha$  на 62,8 %, TNF $\alpha$  на 61,6 %, білків гострої фази запалення (СРБ – на 55,8 %), процесів перекисного окиснення білків (АФГ – на 22,9 %, КФГ – на 30,4 %) ( $p < 0,05$ ) та ліпідів (на 16,8 %) і підвищують ступінь зрілості грануляційної тканини (на 45,5 %) ( $p < 0,05$ ). Доповнено механізм щодо впливу керамідів на проліферацію клітин, зокрема, за рахунок достовірного підвищення



рівня гістонного білка Ki-67 (на 69,3 %). Доведена відсутність дії кераміди на рівень РНК у цитоплазмі фібробластів.

9. Встановлено, що кераміди посилюють ранозагоювальну дію крему декспантенолу 5 %, що підтверджується скороченням термінів загоєння площинних, опікових і хімічних ран на 2 дні порівняно з кремом «Бепантен». Доведено, що крем декспантенолу 5 % із керамідами порівняно з кремом «Бепантен» достовірно краще знижував рівень маркерів цитокінової активності (IL-1 $\alpha$  на 83,7 %, TNF $\alpha$  на 45,2 %), що свідчить про синергізм цих речовин та їх здатність позитивно впливати на цитокінові механізми ранового запалення. Показано, що механізм ранозагоювальної дії крему декспантенолу 5 % із керамідами полягає у пригніченні рівня прозапальних цитокінів (IL-1 $\alpha$  на 22,6 % нижчий, ніж у крему «Бепантен» ( $p < 0,05$ )), підвищенні рівня РНК у цитоплазмі фібробластів (на рівні препарату «Бепантен») та експресії Ki-67 епітеліоцитами (на 36 % вище, ніж у крему «Бепантен» ( $p < 0,05$ )), що сприяє швидкому загоєнню ран без утворення грубих рубців.

10. На підставі результатів експериментальних досліджень доведена виражена ранозагоювальна дія керамідів та доцільність створення МЛЗ, що містять сильні ГКС чи декспантенол спільно з керамідами, для зменшення місцевих побічних ефектів та підвищення якості або ефективності лікування запальних захворювань шкіри та ранового процесу. Кераміди є перспективними речовинами для застосування в складі МЛЗ як модифікаторів антипроліферативної дії глюкокортикостероїдів, а також у складі МЛЗ ранозагоювальної дії, що сприяють загоєнню ран без утворення грубих рубців. Такі препарати з керамідами перспективні для подальшого доклінічного вивчення, клінічного випробування та впровадження у медичну практику.

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Бутко Я. О. Перспективність створення вітчизняних топічних препаратів для лікування атопічного дерматиту / Я. О. Бутко, С. М. Дроговоз, Л. О. Булига // Український журн. клінічної та лабораторної медицини. – 2011. – Т. 6, № 3. – С. 135-140. *(Особистий внесок: аналіз і опрацювання даних літератури, підготовка статті)*.
2. Булига Л. О. Шляхи підвищення ефективності лікування дерматологічних захворювань з позицій фармакоєкономії / Л. О. Булига, Я. О. Бутко, О. В. Ткачова // Запорозький мед. журн. – 2011. – Т. 13, № 6. – С. 97-102. *(Особистий внесок: аналіз і опрацювання даних літератури, підготовка статті)*.
3. Вивчення впливу керамідів на протизапальну здатність глюкокортикостероїдів / М. О. Ляпунов, С. М. Дроговоз, Я. О. Бутко, А. М. Ляпунова, М. І. Руденко // Клінічна фармація. – 2011. – Т. 15, № 2. – С. 34-37. *(Особистий внесок: проведення експерименту, підготовка статті)*.
4. Булига Л. О. Порівняння протизапальної активності лосьйону, крему та мазі «Елоком» в умовах гострого ексудативного запалення шкіри в щурів / Л. О. Булига, Я. О. Бутко, Л. Б. Іванчик // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології. – 2012. – Вип. 2 (110). – С. 350-356. *(Особистий внесок: аналіз та узагальнення результатів, підготовка статті)*.

5. Бутко Я. О. Вплив крему «Мометазона фураат» на міцність рубця / Я. О. Бутко, А. М. Ляпунова // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології. – 2012. – Вип. 3 (111). – С. 261-266. *(Особистий внесок: проведення експерименту, підготовка статті)*.
6. Бутко Я. О. Вивчення можливого усунення побічної дії кремів з глюкокортикостероїдами на процес загоєння ран / Я. О. Бутко, С. М. Дроговоз, А. М. Ляпунова // Фармацевтичний часопис. – 2012. – № 4 (24). – С. 134-138. *(Особистий внесок: проведення експерименту, підготовка статті)*.
7. Морфологічна оцінка лінійних ран у щурів при лікуванні кремом з мометазоном та керамідами / Я. О. Бутко, Т. В. Деєва, М. О. Ляпунов, С. М. Дроговоз // Український мед. альм. – 2012. – Т. 15, № 5. – С. 50-52. *(Особистий внесок: проведення експерименту, підготовка статті)*.
8. Бутко Я. О. Вивчення протизапальної дії крему з мометазоном / Я. О. Бутко, С. М. Дроговоз, А. М. Ляпунова // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2012. – № 5 (30). – С. 26-30. *(Особистий внесок: проведення експерименту, підготовка статті)*.
9. Бутко Я. О. Визначення впливу різної концентрації керамідів на процес загоєння шкіри / Я. О. Бутко, М. О. Ляпунов, С. М. Дроговоз // Український біофармацевтичний журн. – 2012. – № 5-6 (22-23). – С. 38-40. *(Особистий внесок: проведення експерименту, підготовка статті)*.
10. Булига Л. О. Порівняння протизапальної активності лосьйону, крему та мазі «Елоком» за умов субхронічного запалення шкіри в щурів / Л. О. Булига, Я. О. Бутко, Л. Б. Іванчик // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2012. – № 6 (31). – С. 18-22. *(Особистий внесок: аналіз та узагальнення результатів, підготовка статті)*.
11. Бутко Я. О. Вплив крему «мометазон з керамідами» на морфоструктуру шкіри при алергічному дерматиті / Я. О. Бутко, Ю. Б. Лар'яновська // Український біофармацевтичний журн. – 2013. – № 1 (24). – С. 23-27. *(Особистий внесок: проведення експерименту, підготовка статті)*.
12. Бутко Я. О. Дослідження лікувальної дії препаратів з глюкокортикостероїдами та керамідами в умовах альтеративного запалення / Я. О. Бутко // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології. – 2013. – Вип. 1 (115). – С. 162-169.
13. Бутко Я. О. Ефективність лікування дерматиту препаратами з глюкокортикостероїдами та керамідами / Я. О. Бутко // Ліки України плюс. – 2013. – № 1 (14). – С. 50-52.
14. Бутко Я. О. Вивчення впливу препаратів з глюкокортикостероїдами та керамідами на гематологічні показники в щурів на моделі алергічного контактного дерматиту / Я. О. Бутко // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології. – 2013. – Вип. 2 (116). – С. 195-203.
15. Бутко Я. О. Оцінка ефективності лікування хімічних ран в умовах вологого середовища з використанням кремів, що містять кераміди / Я. О. Бутко // Український біофармацевтичний журн. – 2013. – № 3 (26). – С. 10-13.
16. Бутко Я. О. Вплив крему «Декспантенол з керамідами» на процес загоєння шкірних ран на тлі імуносупресії / Я. О. Бутко, С. М. Дроговоз, М. О. Ляпунов // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології. – 2013. – Вип. 3 (117). – С. 207-215. *(Особистий внесок: проведення експерименту, підготовка статті)*.

17. Бутко Я. О. Вивчення лікувальної дії мазі з метилпреднізолону ацепонатом і керамідами в умовах експериментального алергічного дерматиту / Я. О. Бутко, С. М. Дроговоз, М. О. Ляпунов // Ліки України. – 2013. – № 5 (171). – С. 39-41. *(Особистий внесок: проведення експерименту, підготовка статті)*.
18. Бутко Я. О. Дослідження впливу крему «Мометазон з керамідами» на перебіг алергічного контактного дерматиту / Я. О. Бутко // Український журн. клінічної та лабораторної медицини. – 2013. – Т. 8, № 2. – С. 55-58.
19. Фармакологічне дослідження ранозагоювальної дії крему «Декспантенол з керамідами» на моделі площинних ран / Я. О. Бутко, Т. В. Деева, М. О. Ляпунов, О. В. Цулун // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології. – 2013. – Вип. 5 (119). – С. 190-199. *(Особистий внесок: проведення експерименту, підготовка статті)*.
20. Бутко Я. А. Поиск и перспективы создания эффективных и безопасных препаратов для лечения дерматозов / Я. А. Бутко, С. М. Дроговоз, А. Н. Ляпунова // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2013. – № 1 (2). – С. 66-69. *(Особистий внесок: проведення експерименту, підготовка статті)*.
21. Исследование репаративных свойств кремов с декспантенолом и керамидами / Я. А. Бутко, С. М. Дроговоз, Т. В. Деева, Н. А. Ляпунов // Научные ведомости БГУ. Сер. «Медицина. Фармация». – 2013. – № 18 (161), вып. 23. – С. 176-181. *(Особистий внесок: проведення експерименту, підготовка статті)*.
22. Возможность предупреждения керамидами атрофии кожи, вызванной местным действием глюкокортикостероидов / Я. А. Бутко, С. М. Дроговоз, Н. А. Ляпунов, Т. В. Деева // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2013. – № 3 (4) – С. 80-83. *(Особистий внесок: проведення експерименту, підготовка статті)*.
23. Butko Y. Oxidizing modification of proteins in case of a burn injury in rats against the topical treatment with new wound healing preparations / Y. Butko, O. Tkacheva, T. Gorbach // Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences. – 2013. – Vol. 26, № 4. – P. 372-375. *(Особистий внесок: проведення експерименту, підготовка статті)*.
24. Butko Y. O. The studies on effect of wound-healing preparations on the protein metabolism indices and the circulating immune complex in burn trauma / Y. O. Butko, S. M. Drogovoz, N. O. Lyapunov // European Applied Sciences. – 2013. – № 6-1. – P. 52-54. *(Особистий внесок: проведення експерименту, підготовка статті)*.
25. Дослідження впливу глюкокортикостероїдів і керамідів на імунобіохімічні маркери запалення за алергічного дерматиту / Я. О. Бутко, С. М. Дроговоз, А. М. Ляпунова, Л. О. Булига // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2014. – № 1 (37). – С. 35-39. *(Особистий внесок: проведення експерименту, підготовка статті)*.
26. Бутко Я. А. Изучение сенсibiliзирующего и иммунотоксического действия препаратов с глюкокортикостероидами и керамидами / Я. А. Бутко, Н. А. Ляпунов // Фармация Казахстана. – 2014. – № 11 (162). – С. 26-29. *(Особистий внесок: аналіз та узагальнення результатів, підготовка статті)*.
27. Динамика уровня провоспалительных цитокинов при ожоговой травме у крыс под влиянием керамидов и их комбинации с декспантенолом / Я. А. Бутко, С. М. Дроговоз, Г. И. Губина-Вакулик, Т. В. Горбач // Вестник фармации. – 2015. – № 1 (67). – С. 101-106. *(Особистий внесок: проведення експерименту, підготовка статті)*.

28. Пат. на изобретение № 2482852 Российская Федерация, МПК А61К 31/573, К31/164, К9/06, К47/00, А61Р 17/00, Р31/00, Р29/00. Фармацевтическая композиция для лечения дерматозов, поддающихся глюкокортикостероидной терапии, и способ ее получения / Сомарев С. А., Ломакина В. Д., Ляпунов Н. А., Безуглая Е. П., Бутко Я. А. ; заявитель и патентообладатель ОАО «Акрихин» (RU). – № 2011120522/15 ; заявл. 24.05.11 ; опубл. 27.05.13, Бюл. № 15. – 2 с. (*Особистий внесок: проведення досліджень, оформлення патенту*).
29. Дослідження впливу керамідів на лікувальну дію глюкокортикостероїдів / Я. О. Бутко, М. О. Ляпунов, С. М. Дроговоз, А. М. Ляпунова // IV Нац. з'їзд фармакологів України : тези доповідей, м. Київ, 10-12 жовт. 2011 р. // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2011. – № 5 (24). – С. 42-43.
30. Булига Л. О. Фармакологічне обґрунтування створення комбінованих препаратів з мометазоном для лікування запальних захворювань шкіри / Л. О. Булига, Ю. В. Кравцова, Я. О. Бутко // Актуальні питання створення нових лікарських засобів : мат. Всеукр. наук.-практ. конф. студ. та мол. вчених, м. Харків, 19-20 квіт. 2012 р. – Харків, 2012. – С. 365.
31. Бутко Я. А. Изучение противовоспалительного действия крема с мометазона фураотом на эмульсионной основе I рода и керамидами в условиях острого воспаления / Я. А. Бутко, Л. А. Булыга, С. М. Дроговоз // Интеграция образования, науки и производства в фармации : мат. науч.-практ. конф., г. Ташкент, 19-20 нояб. 2012 р. – Ташкент, 2012. – С. 270-272.
32. Butko Y. A. The influence of "mometasone with ceramides" cream in the course of allergic contact dermatitis / Y. A. Butko, D. Mayko, A. Sheptunova / Actual questions of development of new drugs : book of abstracts of XX International scientific and practical conference of young scientists and students, Kharkiv, April 25-26, 2013. – Kharkiv, 2013. – P. 151.
33. Бутко Я. О. Дослідження впливу різної концентрації керамідів на міцність рубця / Я. О. Бутко, А. М. Ляпунова / Клінічна фармація: 20 років в Україні : мат. нац. конгр., м. Харків, 21-22 берез., 2013 р. – Харків, 2013. – С. 35-36.
34. The research of oxidizing modification of proteins of blood serum in rats with the third-degree burn under the influence of wound healing drugs / Y. Butko, O. Tkacheva, L. Iakovlieva, T. Horbach // Experimental and Clinical Biochemistry : abstract book of 7-th Lviv-Lublin conference, Lviv, May 23-24, 2013. – Lviv, 2013. – С. 20.
35. Бутко Я. О. Планіметричні дослідження вивчення ранозагоювальної дії кремів із керамідами за умов опікової травми / Я. О. Бутко // Найновітє постиження на європейската наука – 2014 : мат. X междунар. науч. практ. конф., г. София, 17-25 июня 2014 г. – София, 2014. – С. 23-25.
36. Butko Y. O. Effect of wound-healing drugs on TNF- $\alpha$  and IL-1 levels in a rat burn-injury model / Y. O. Butko, O. V. Tsulun // Aktuální vymoženosti vědy- 2014 : мат. X Mezinárodní vědecko – prakt. konf., Praha, 27.06.–30.06.2014. – Praha, 2014. – С. 54-56.
37. Butko Y. O. Effect of lotion with glucocorticosteroid and ceramides on skin morphostructure in allergic contact dermatitis / Y. O. Butko // Modern European Science – 2014 : materials of the X International scientific and pract. conf., Sheffield, June 30–July 7, 2014. – Sheffield, 2014. – P. 27-30.

38. Експериментальне вивчення нових препаратів для місцевого лікування ран : метод. рек. / Л. В. Яковлева, О. В. Ткачова, Я. О. Бутко, Ю. Б. Лар'яновська. – К. : ДЕЦ МОЗ України, 2013. – 52 с. (*Особистий внесок: аналіз і опрацювання даних літератури, підготовка методичних рекомендацій*).
39. Яковлева Л. В. Алгоритм доклінічного вивчення препаратів для місцевого лікування ранового процесу : метод. рек. / Л. В. Яковлева, О. В. Ткачова, Я. О. Бутко. – К. : Укрмедпатентінформ, 2013. – 32 с. (*Особистий внесок: аналіз і опрацювання даних літератури, підготовка методичних рекомендацій*).
40. Підвищення безпечності місцевої дії глюкокортикостероїдів : інформ. лист про нововведення в системі охорони здоров'я № 9–2013 / С. М. Дрогвоз, М. О. Ляпунов, Я. О. Бутко, А. М. Ляпунова. – К., 2013. – 5 с. (*Особистий внесок: проведення експерименту, підготовка листа*).

### АНОТАЦІЯ

**Бутко Я. О. Експериментальне обґрунтування створення м'яких лікарських форм із керамідами для лікування запальних захворювань шкіри та ранового процесу. – На правах рукопису.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора фармацевтичних наук зі спеціальності 14.03.05 – фармакологія. – Національний фармацевтичний університет МОЗ України, Харків, 2016.

Роботу присвячено експериментальному вивченню специфічної фармакологічної дії керамідів та фармакологічному обґрунтуванню доцільності створення МЛЗ, що містять сильні ГКС чи декспантенол сумісно з керамідами, для зменшення місцевих побічних ефектів та підвищення якості або ефективності лікування запальних захворювань шкіри та ранового процесу.

Вперше на моделях РП встановлено, що кераміди мають ранозагоювальну дію. З'ясовано, що механізм ранозагоювальної дії керамідів полягає в пригніченні запально-деструктивних процесів та активації проліферації у рані.

Доведено, що крем мометазону 0,1 % із керамідами і мазь метилпреднізолону 0,1 % із керамідами виявляють протизапальну, антиексудативну, антиальтеративну, цитопротекторну, протиалергічну, антиоксидантну, антицитокінову, помірну проліферативну дію і не чинять атрофічної дії. Встановлено, що за вираженістю лікувальної дії МЛЗ, що містять ГКС із керамідами, не поступаються препаратам порівняння Елоком<sup>®</sup> крем 0,1 % і Адвантан<sup>®</sup> мазь 0,1 %.

Доведено, що крем декспантенолу 5 % із керамідами виявляє ранозагоювальну, проліферативну, протизапальну, цитопротекторну, антиоксидантну, капіляроутворювальну дію. За вираженістю цих ефектів крем декспантенолу 5 % із керамідами перевищує дію препарату порівняння Бепантен<sup>®</sup> крем 5 %. Встановлено, що механізм ранозагоювальної дії крему декспантенолу із керамідами полягає у пригніченні рівня прозапальних цитокінів (IL-1 $\alpha$  і TNF $\alpha$ ), збільшенні рівня РНК у цитоплазмі фібробластів та експресії Ki-67 епітеліоцитами, що сприяє швидкому загоєнню ран без утворення грубих рубців.

*Ключові слова:* кераміди, глюкокортикостероїди, декспантенол, протизапальна дія, ранозагоювальна дія, антипроліферативна дія, побічна дія.

## АННОТАЦИЯ

**Бутко Я. А. Экспериментальное обоснование создания мягких лекарственных форм с керамидами для лечения воспалительных заболеваний кожи и раневого процесса. – На правах рукописи.**

Диссертация на соискание научной степени доктора фармацевтических наук по специальности 14.03.05 – фармакология. – Национальный фармацевтический университет МЗ Украины, Харьков, 2016.

Работа посвящена экспериментальному изучению специфического фармакологического действия керамидов и фармакологическому обоснованию целесообразности создания мягких лекарственных средств (МЛС), содержащих сильные ГКС или декспантенол совместно с керамидами для уменьшения местных побочных эффектов и повышения качества или эффективности лечения воспалительных заболеваний кожи и раневого процесса.

Впервые на моделях плоскостных и линейных резаных ран установлено, что керамиды обладают ранозаживляющим действием (сокращают сроки заживления ран на 6 дней и повышают прочность рубца на 76,2 % по сравнению с группой КП). Установлено, что механизм ранозаживляющего действия керамидов заключается в угнетении воспалительно-деструктивных процессов и активации пролиферации эпителиальных клеток в ране.

В результате скрининговых исследований установлено, что МЛС, которые содержат сильные ГКС с керамидами, обладают противовоспалительными свойствами. Доказано, что введение керамидов не оказывает значительного влияния на противовоспалительные свойства ГКС (на моделях декстранового и аэросильного отеков разница между суммарными эффектами кремов ГКС с керамидами и без керамидов была в пределах 7,3-14,7 % и 2,8-6,6 % соответственно). Отмечено, что керамиды в составе кремов с ГКС способствуют снижению негативного влияния последних на заживление ран: крем мометазона 0,1 %, содержащий 0,5 % керамидов, способствует эпителизации ран у 50 % животных и повышает прочность рубца на 19 % по сравнению с кремом мометазона 0,1 % без керамидов. На модели линейных резаных ран тензиометрические исследования показали, что керамиды рационально вводить в концентрации 0,2 % в состав крема декспантенола 5 %, репаративная активность которого повышается при этом до 91,1 %.

Установлено, что в условиях экссудативного, альтеративного и аллергического воспаления крем мометазона 0,1 % с керамидами и мазь метилпреднизолона 0,1 % с керамидами обладают антиэкссудативным действием (на модели зимозанового отека в конце опыта эффект препаратов было на уровне 40 % и 39,4 %, а на модели декстранового отека – 36,4 % и 31,3 % соответственно), антиальтеративным и цитопротекторным действием (74,4 % и 76,7 %), противовоспалительным (69,3 % и 75,0 %), противоаллергическим (43,3 % и 47,7 %) и антиоксидантным действием (20,7 % и 22,9 %) и по выраженности лечебного действия не уступают препаратам сравнения.

Установлено, что в условиях аллергического и неаллергического контактного дерматита керамиды в составе МЛС с ГКС положительно влияют на восстановление кожи: состояние эпидермиса при нанесении крема мометазона 0,1 % с керамидами лучше в 1,4 и 1,9 раза по сравнению с препаратом Элоком<sup>®</sup> крем 0,1 %, а мази

метилпреднизолона 0,1 % с керамидами – в 1,7 и 3,5 раза по сравнению с препаратом Адвантан® мазь 0,1 %; воспаление в дерме снижается больше в 4,5 и 2,8 раза и в 4,1 и 4,0 раза соответственно). Результаты иммуногистохимических исследований подтвердили, что керамиды уменьшают антипролиферативные свойства ГКС, о чем свидетельствует увеличение интенсивности свечения маркера пролиферации Ki-67 при нанесении крема мометазона 0,1 % с керамидами в 2,1 раза по сравнению с препаратом Элоком® крем 0,1 %, а также образование зрелой ткани на месте повреждения под влиянием мази метилпреднизолона 0,1 % с керамидами.

Установлено, что керамиды в составе МЛС с ГКС снижают риск развития атрофических процессов в коже за счёт повышения процессов пролиферации в эпидермисе. Результаты токсикологических исследований показали, что препараты с ГКС и керамидами не оказывают сенсibiliзирующего, иммунодепрессивного и местнораздражающего действия.

На моделях линейных, плоскостных, химических и ожоговых ран установлено, что крем декспантенола 5 % с керамидами обладает ранозаживляющим, пролиферативным, противовоспалительным, цитопротекторным, антиоксидантным и капиллярообразующим действием. По уровню ранозаживляющей активности крем декспантенола 5 % с керамидами превышает препарат Бепантен® крем 5 %, о чем свидетельствует сокращение сроков заживления плоскостных, химических, ожоговых ран на 2 дня. Показано, что декспантенола 5 % с керамидами достоверно превышает препарат сравнения по противовоспалительному действию (снижение уровня IL-1 $\alpha$  в среднем в 4,3 раза, TNF $\alpha$  в 1,6 раза, СРБ в 2,1 раза), антиоксидантному действию (снижение уровня ОМБ в 1,3 раза), капиллярообразующему действию (увеличение плотности сосудов в 1,4 раза) и пролиферативному действию (увеличение уровня Ki-67 в 1,4 раза). Гистологическими исследованиями доказано, что введение керамидов в крем декспантенола 5 % достоверно повышает степень дозревания грануляционной ткани и эпителизации в ожоговой ране (в 1,4 раза) по сравнению с препаратом сравнения, что способствует скорейшему и качественному заживлению ран. Установлено, что крем декспантенола 5 % с керамидами имеет полимодальный механизм ранозаживляющего действия, который заключается в угнетении воспалительно-деструктивных процессов, повышении уровня РНК в цитоплазме фибробластов и пролиферации эпителиальных клеток. Полученные результаты фармакологически обосновывают и подтверждают рациональность разработки препарата, который содержит декспантенол совместно с керамидами с целью усовершенствования эффективности местного лечения ран.

На основании результатов экспериментальных исследований доказано ранозаживляющее действие керамидов и целесообразность создания МЛС, содержащих сильные ГКС или декспантенол совместно с керамидами, что позволяет уменьшить местные побочные эффекты и повысить качество или эффективность лечения воспалительных заболеваний кожи и раневого процесса.

*Ключевые слова:* керамиды, глюкокортикостероиды, декспантенол, противовоспалительное действие, ранозаживляющее действие, антипролиферативное действие, побочное действие.

## ANNOTATION

**Butko Y. O. Experimental substantiation of the development of soft medicinal forms with ceramides for the treatment of inflammatory diseases of skin and wound healing process.** – The manuscript.

The thesis for a Doctor of Pharmaceutical Sciences scientific degree by the specialty 14.03.05 – Pharmacology. – National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2016.

The work is dedicated to the experimental study of ceramides specific pharmacological action as well as to the pharmacological substantiation of the expediency of the development of soft medicinal forms containing highly active corticosteroids or dexpanthenol combined with ceramides, in order to reduce the local side effects and to increase the quality or effectiveness of the treatment of inflammatory skin diseases and wound healing process.

For the first time on the models of wound healing process it has been found that ceramides exert a wound healing effect. It has been established that the mechanism of ceramides wound healing effect consists in inhibition of the inflammatory and destructive processes and in activation of proliferation within the wound.

It has been proven that the cream containing mometasone (0.1 %) with ceramides and the ointment containing methylprednisolone (0.1 %) with ceramides possess anti-inflammatory, antiexudative, antiulcerative, cytoprotective, antiallergic, antioxidant, anticytokine, moderate proliferative activity and do not cause dermal atrophy. It has been found that the soft medicinal forms containing corticosteroids with ceramides are not inferior to the reference drugs Elokomp<sup>®</sup> cream 0,1 % and Advantan<sup>®</sup> ointment 0.1 % by the therapeutic effect.

It has been established that the cream containing dexpanthenol (5 %) with ceramides exerts wound healing, proliferative, anti-inflammatory, cytoprotective, antioxidant, promoting capillary formation activity. By these effects degree the cream containing dexpanthenol (5 %) with ceramides surpasses the reference drug Bepanten<sup>®</sup> cream 0.1 %. It has been found that the mechanism of wound healing effect of this cream can be attributed to the reduction of the level of proinflammatory cytokines (IL-1 $\alpha$  and TNF $\alpha$ ), to the increase in the level of RNA in the cytoplasm of fibroblasts as well as Ki-67 expression by epitheliocytes, contributing to the rapid healing of the wound without scar formation.

*Key words:* ceramides, corticosteroids, dexpanthenol, antiinflammatory action, wound healing action, antiproliferative action side effects.



## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АКД	– алергічний контактний дерматит;
АФГ	– альдегідфенілгідрозони;
АФК	– активні форми кисню;
ГКС	– глюкокортикостероїди;
ДЕЦ	– Державний експертний центр МОЗ України;
ДНК	– дезоксирибонуклеїнова кислота;
ЗБ	– загальний білок;
ІІ	– інтерлейкін;
ІК	– інтактний контроль;
КФГ	– кетофенілгідрозони;
КП	– контрольна патологія;
МЛЗ	– м'які лікарські засоби
МО	– міністерство оборони;
МОЗ	– міністерство охорони здоров'я;
НКД	– неалергічний контактний дерматит;
ОМБ	– окиснювальна модифікація білків;
ПГ	– простагландини;
ПП	– препарат(и) порівняння;
ПЕ	– протизапальний ефект;
ПОБ	– перекисне окиснення білків;
ПОЛ	– перекисне окиснення ліпідів;
ПЦ	– простацикліни;
РНК	– рибонуклеїнова кислота;
РП	– рановий процес;
СРБ	– С-реактивний білок;
TNF $\alpha$	– фактор некрозу пухлин альфа;
ТБК–АП	– активні продукти, що реагують з 2-тіобарбітуровою кислотою;
ЦІК	– циркулюючі імунні комплекси;
ШЗК	– швидкість згортання крові.

Формат 60x84/16. Ум. друк. арк. 1.9. Тир. 100 прим. Зам. 188-16.  
Підписано до друку 18.04.16. Папір офсетний.

Надруковано з макету замовника у ФОП Бровін О.В.  
61022, м. Харків, вул. Трінклера, 2, корп.1, к.19. Т. (057) 758-01-08, (066) 822-71-30  
Свідоцтво про внесення суб'єкта до Державного реєстру  
видавців та виготовників видавничої продукції серія ДК 3587 від 23.09.09 р.

---

---

**СТИЛЬ** ®  
**ИЗДАТ**   
ТИПОГРАФИЯ  
[www.stil-izdat.com](http://www.stil-izdat.com)