

**ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ПРЕПАРАТІВ З
ГЛЮКОКОРТИКОСТЕРОЇДАМИ ТА КЕРАМІДАМИ НА
ГЕМАТОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ В ЩУРІВ НА МОДЕЛІ
АЛЕРГІЧНОГО КОНТАКТНОГО ДЕРМАТИТУ****Я.О. Бутко***Національний фармацевтичний університет (Харків)***Вступ**

Найбільш розповсюдженим хронічним захворюванням шкіри є алергічний контактний дерматит (АКД), який є реакцією гіперчутливості сповільненого (клітинного) типу, яка опосередкована сенсибілізованими лімфоцитами [4, 9]. Велике значення у патогенезі АКД належить антигенпрезентуючим клітинам – макрофагам, дендритним клітинам та клітинам Лангерганса, які сприймають антигенну інформацію та передають її лімфоцитам [9]. Активовані лімфоцити та клітини Лангерганса здатні посилювати імунну відповідь та запальну реакцію. В динаміці виходу медіаторів алергічного запалення ініціююча роль належить гістаміну та нейро-ліпідомедіаторам, які викликають виражену вазодилатацію, а також індують експресію молекул міжклітинної взаємодії на поверхні лейкоцитів та ендотеліальних клітин, стимулюючи тим самим їх міграцію та продукцію цитокінів, макрофагів, впливають на імуногенез, модулюють проліферацію лімфоцитів [4, 10]. Слід зазначити, що в еміграції клітин крові у вогнище запалення спостерігається послідовність: спочатку мігрують поліморфноядерні лейкоцити (нейтрофіли, еозинофіли та базофіли), потім моноцити та, наприкінці, лімфоцити. Після завершення запального процесу у вогнищі спостерігається зникнення цих клітин крові [4, 9].

Глюкокортикостероїди (ГКС) є препаратами вибору для лікування імунозалежних запальних захворювань шкіри, оскільки впливають на різні ланки патогенезу захворювання [2, 4]. Але слід зазначити, що вони володіють імуносупресивною дією за рахунок порушення міграції лейкоцитів, пригнічення проліферації лімфоцитів, та як наслідок зменшення синтезу імуноглобулінів, цитокінів, інтерлейкінів, інтерферону [2]. Тому, актуальним є пошук та розробка препаратів з ГКС, які б діяли локально в зоні запалення та

не проявляли супресорної дії на імунну та кровоносну системи, що дозволить уникнути тяжкі побічні ефекти.

Метою даної роботи стало вивчення впливу препаратів з ГКС та керамідами на гематологічні показники в щурів за умов АКД.

Матеріали та методи дослідження

Об'єктами дослідження були крем «Мометазон з керамідами» та мазь «Метилпреднізолон з керамідами», які розроблені під керівництвом проф. Ляпунова М.О. Препаратами порівняння були крем «Елоком» (містить мометазона фураат, виробник «Шеринг Плау», Бельгія) та мазь «Адвантан» (містить метилпреднізолон ацепонат, виробник «Шеринг АГ», Німеччина).

В експерименті було використано 36 щурів-самок масою 220-250 г, які були поділені на 6 груп: перша група – інтактні тварини; друга – контрольна патологія; третя – тварини, яких лікували кремом «Мометазон з керамідами», четверта – кремом «Елоком», п'ята – маззю «Метилпреднізолон з керамідами», шоста – маззю «Адвантан». Для відтворення патології щурам наносили на депільовані ділянки шкіри по 0,1 мл 5% спиртового розчину динітрохлорбензола (ДНХБ) [3]. Через 24 години після повторної аплікації алергену починали лікування. Для оцінки виразності системних проявів АКД визначали показники крові: ШОЕ, загальну кількість лейкоцитів та лейкоцитарну формулу.

За даними лейкограми розраховували інтегральні гематологічні індекси: індекс співвідношення лейкоцитів та ШОЕ (ІЛШОЕ), лейкоцитарний індекс (ЛІ), лімфоцитарно-грануляційний індекс (ЛГІ), індекс співвідношення нейтрофілів і моноцитів (ІСНМ), індекс співвідношення лімфоцитів і моноцитів (ІСЛМ), індекс співвідношення лімфоцитів і еозинофілів (ІСЛЕ), лейкоцитарний індекс інтоксикації (ЛІІ), індекс зсуву лейкоцитів крові (ІЗЛК), індекс співвідношення нейтрофілів і лімфоцитів (ІСНЛ) [1, 6]. Комплексна оцінка гематологічних індексів дозволяє оцінити розвиток, важкість та перебіг патологічного процесу, стан неспецифічної та специфічної ланок імунітету, а також оцінити ефективність терапії.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили методами варіаційної статистики з використанням критерію Мана-Уїтні, відмінності вважали достовірними при $p < 0,05$ [7].

Отримані результати та їх обговорення

В ході експерименту після повторної сенсibiliзації ДНХБ у тварин спостерігали розвиток дерматиту, який проявлявся гіперемією,

набряком та еритемою. Розвиток запалення характеризується порушенням кровообігу, зміною реологічних властивостей крові та участю клітин кістково-мозкового походження: поліморфноядерні лейкоцити (нейтрофіли та еозинофіли), лімфоцити та моноцити [4, 8].

Про достовірне відтворення патології АКД (під патології) свідчить динаміка гематологічних показників: підвищення рівня ШОЕ в 5-6 разів і лейкоцитів в 1,7-1,9 рази по відношенню до вихідних даних (табл. 1). Підвищення загальної кількості лейкоцитів свідчить про напруження імунних сил організму, що пов'язано з активізацією процесів фагоцитозу та збільшенням кількості клітин, які продукують медіатори запалення та фактори гуморального та клітинного імунітету.

На 7-й день спостереження в групі КП рівень ШОЕ достовірно знизився у 2,3 рази, а в групах, яких лікували кремами «Елоком» та «Мометазон з керамідами», мазями «Адвантан» та «Метилпреднізолон з керамідами» - в 3,1, 3,9, 3,6, та 3,7 рази, відповідно, по відношенню до піку патології. Слід зазначити, що нормалізація рівня ШОЕ в групах, яким наносили препарати з ГКС та керамідами, було дещо вищим ніж в групах, яким наносили референс-препарати, що свідчить про ефективність місцевої терапії.

Також спостерігали нормалізацію рівня лейкоцитів в усіх групах. В групі КП рівень лейкоцитів знизився в 1,2 рази, а в групах, яких лікували кремами «Елоком» та «Мометазон з керамідами» - в 1,3 рази, маззю «Метилпреднізолон з керамідами» - в 1,4 рази та маззю «Адвантан» - в 1,5 рази, відповідно, по відношенню до піку патології. Слід зазначити, що в групах, яких лікували препаратами, рівень лейкоцитів був достовірно нижчим ніж в групі КП, однак достовірно вищим в порівнянні з вихідними даними, що свідчить про поступове зменшення запального процесу.

Переважаання тих чи інших форм лейкоцитів в патологічному процесі обумовлено специфікою та етіологією захворювання. При розвитку АКД підвищення загального рівня лейкоцитів відбувається паралельно з підвищенням рівня еозинофілів, що згідно даних літератури є діагностичною ознакою алергічного запалення. Збільшення кількості моноцитів в лейкоформулі пов'язано з активацією фагоцитозу зруйнованих клітин у вогнищі запалення.

Аналіз результатів лейкоцитарної формули (табл. 1) показав, що на піку розвитку АКД відбулось достовірне підвищення еозинофілів в середньому у 2,8 разу, СЯН у 1,5 рази, моноцитів - в 2,0 рази та зниження

лімфоцитів в 1,2 разу, що свідчить про розвиток запалення та підвищення клітинної ланки імунітету. Достовірних змін у кількості ПЯН у лейкоцитарній формулі тварин в ході досліджень не спостерігали, що підтверджує відсутність інфекційного компоненту.

Таблиця 1

Вплив досліджуваних препаратів на гематологічні показники крові у щурів з АКД (n=6)

Показники	Дні лікування	Групи				
		КП	МФ+К	Елоком	МПА+К	Адвантан
ШОЕ, мм/год	Вихід	1,92±0,15	1,92±0,20	1,83±0,11	1,58±0,20	1,67±0,17
	Пік патології	10,92±0,58 ¹	10,33±0,67 ¹	10,50±0,56 ¹	10,58±0,58 ¹	10,75±0,63 ¹
	7-й день	4,83±0,44 ^{1/2}	2,67±0,46 ^{1/2/3}	3,42±0,65 ^{1/2}	2,83±0,46 ^{1/2/3}	3,00±0,59 ^{1/2}
Лейкоцити, 10 ⁹ /л	Вихід	7,92±0,25	7,21±0,19	7,58±0,33	7,00±0,14	7,75±0,26
	Пік патології	15,04±0,58 ¹	14,04±0,75 ¹	13,50±0,72 ¹	14,00±0,06 ¹	13,67±0,69 ¹
	7-й день	12,58±0,25 ^{1/2}	10,83±0,57 ^{1/2/3}	10,63±0,67 ^{1/2/3}	10,38±0,57 ^{1/2/3}	9,29±0,58 ^{1/2/3}
Еозинофіли, %	Вихід	2,00±0,37	1,67±0,33	1,50±0,22	1,67±0,33	2,00±0,52
	Пік патології	6,17±0,65 ¹	4,17±0,75 ¹	3,83±0,54 ¹	5,00±0,63 ¹	5,67±0,67 ¹
	7-й день	3,67±0,21 ^{1/2}	3,50±0,22	2,83±0,31	3,33±0,42 ²	3,67±0,33
ПЯН, %	Вихід	6,50±0,22	6,00±0,26	6,50±0,43	6,00±0,37	6,17±0,31
	Пік патології	6,83±0,31	6,17±0,60	5,83±0,31	6,50±0,43	5,50±0,43
	7-й день	6,33±0,33	6,17±0,31	5,67±0,56	6,33±0,33	6,00±0,45
СЯН, %	Вихід	17,67±0,80	17,00±0,26	16,67±0,56	16,83±0,48	16,33±0,33
	Пік патології	27,33±1,76 ¹	26,67±0,42 ¹	26,83±1,76 ¹	25,67±0,95 ¹	24,17±0,60 ¹
	7-й день	21,83±1,05 ^{1/2}	21,67±1,20 ^{1/2}	20,67±0,67 ^{1/2}	22,00±0,97 ^{1/2}	19,17±0,91 ^{1/2}
Моноцити, %	Вихід	2,00±0,26	1,67±0,21	2,17±0,31	2,17±0,31	2,33±0,21
	Пік патології	4,67±0,56 ¹	4,50±0,43 ¹	2,83±0,31	4,33±0,49 ¹	3,50±0,50
	7-й день	3,33±0,21 ¹	3,17±0,40	2,67±0,21	3,00±0,26	2,83±0,31
Лімфоцити, %	Вихід	71,83±0,48	73,83±0,31	73,17±0,70	72,83±0,60	73,00±0,37
	Пік патології	55,00±2,62 ¹	58,50±0,85 ¹	60,67±1,54 ¹	58,50±1,20 ¹	61,17±0,60 ¹
	7-й день	64,83±0,79 ^{1/2}	65,50±1,34 ^{1/2}	68,17±1,19 ^{1/2/3}	65,83±0,95 ^{1/2}	68,33±1,36 ^{1/2/3}

Примітки: ¹ – відхилення достовірні по відношенню до інтактних тварин (p<0,05, критерій Мана-Уїтні); ² – відхилення достовірні по відношенню до піку патології (p<0,05); ³ – відхилення достовірні по відношенню контрольної патології (p<0,05); СЯН – сегментоядерні нейтрофіли, ПЯН – паличкоядерні нейтрофіли; МФ – мометазону фураат, МПА – метилпреднізолну ацепонат, К – кераміди; n – кількість тварин у групі.

Наприкінці досліджу в усіх групах спостерігали нормалізацію показників лейкограми: рівень СЯН та лімфоцитів нормалізувався, але залишався високий рівень еозинофілів. Так, на 7-й день лікування в групах тварин, яким наносили креми «Елоком» та «Мо-

метазон з керамідами», мазі «Метилпреднізолон з керамідами» та «Адвантан» відбулось достовірне підвищення відсотка лімфоцитів (в 1,2 рази) та достовірне зниження рівня СЯН (в 1,2-1,3 рази), еозинофілів (в 1,4-1,6 рази) та моноцитів, в порівнянні з піком патології. Достовірно нижчим відсоток лімфоцитів був у групах, яким наносили мазь «Адвантан» та крем «Елоком» по відношенню до КП. Динаміка інших фракцій лейкоцитів була не суттєва.

Аналіз лейкоцитарних індексів у тварин з АКД показав, що ця патологія супроводжується запаленням та порушенням імунологічної реактивності.

Так, розвиток АКД (пік патології) у щурів в усіх групах супроводжувався достовірним збільшення ІЛШОЕ у 11,3 рази по відношенню до вихідних даних, що є наслідком лейкоцитозу та збільшення ШОЕ, що підтверджує інтенсивність запальної реакції при моделюванні дерматиту (рис. 1).

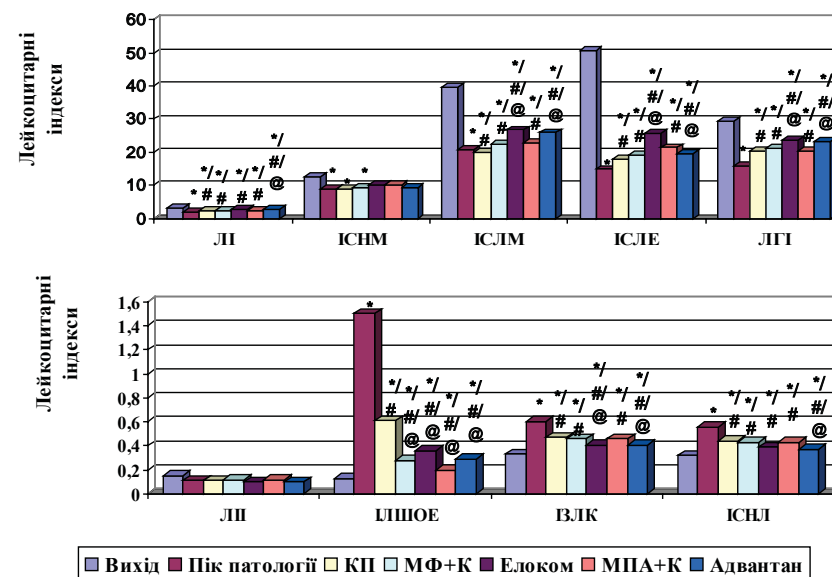


Рис. 1. Рівень гематологічних індексів у щурів з АКД при лікуванні препаратами.

Примітки: * – відхилення достовірні по відношенню до інтактних тварин (p<0,05, критерій Мана-Уїтні); # – відхилення достовірні по відношенню до піку патології (p<0,05); @ – відхилення достовірні по відношенню контрольної патології (p<0,05).

Також вірогідне збільшення ІЗЛК (в 1,8 разу) та зниження індексу ІСЛЕ (в 3,8 рази), що свідчить про активацію процесу запалення та розвиток реакції гіперчутливості сповільненого типу, що узгоджується з даними літератури [4, 9]. Перебіг АКД супроводжувався достовірним зменшенням ЛП (в 1,7 рази) та збільшення ІСНЛ (в 1,8 рази), що вказує про пригнічення гуморального та переважання клітинного рівня імунного захисту. Зменшення ІСЛМ (в 2,5 рази) вказує на переважання ефективного рівня імунного захисту над афективним і, як наслідок, зменшення ЛПІ (в 1,9 рази). Зниження ІСНМ (в 1,2 рази) свідчить про порушення макрофагального та мікрофагоцитарного рівня захисту в тварин. Слід зазначити, що внаслідок моноцитозу та еозинофілії мали тенденцію до зниженням ЛШ в середньому у 1,3 рази, що вказує на відсутність вираженої інтоксикації у щурів при ДНХБ дерматиті.

Наприкінці досліджу в усіх групах спостерігали нормалізацію гематологічних індексів у крові щурів з АКД відносно піку патології, що свідчить про зменшення запалення та нормалізацію імунітету у тварин.

Так, у тварин, яких не лікували, рівень ЛШШОЕ достовірно зменшився в 2,7 рази по відношенню до піку патології, але був достовірно високим по відношенню до вихідних даних, що свідчить про наявність вираженого запального процесу. У тварин, яких лікували, найбільшу нормалізацію рівня ЛШШОЕ спостерігали при нанесенні мазі «Метилпреднізолон з керамідами» (цей показник знизився у 7,5 рази) та крему «Мометазон з керамідами» (знизився у 5,2 рази) по відношенню до піку патології, що свідчить про ефективність місцевої терапії. За впливом на рівень ЛШШОЕ ефективність мазі «Метилпреднізолон з керамідами» була вищою у 1,5 рази по відношенню до мазі «Адвантан» та крему «Мометазон з керамідами» – в 1,3 рази, по відношенню до крему «Елоком».

Внаслідок пригнічення запалення та відновлення імунологічної реактивності в усіх групах спостерігали зменшення рівня ІЗЛК в середньому в 1,4 рази та збільшення рівня ІСЛЕ у 1,6 рази, по відношенню до піку патології.

Відбувалась також нормалізація індексів ЛП, ІСНЛ, ІСЛМ, ІСНМ, та ЛПІ, що вказує на відновлення рівноваги в імунному захисті. Так, групі КП та групах, яких лікували досліджуваними препаратами, достовірно підвищився індекс ЛП, ЛПІ та знизився ІСНЛ в середньому у 1,4 рази, по відношенню до піку патології.

Вплив вивчаємих препаратів на індекси ІСНМ та ІСЛМ був дещо неоднозначним. У тварин, яких не лікували, рівень ІСНМ практич-

но не змінювався. В групах, яких лікували маззю «Метилпреднізолон з керамідами» та кремом «Мометазон з керамідами» даний показник підвищувався в 1,2 рази, а при лікуванні маззю «Адвантан» та кремом «Елоком» спостерігали зниження рівня ІСНМ у 1,1 рази по відношенню до піку патології. Також спостерігали найбільше підвищення рівня ІСЛМ у групі тварин з КП та групах, яких лікували маззю «Метилпреднізолон з керамідами» та кремом «Мометазон з керамідами» в середньому в 1,5 рази по відношенню до піку патології. В групах, яких лікували маззю «Адвантан» та кремом «Елоком», рівень ІСЛМ підвищився лише в 1,2 рази по відношенню до піку патології, що може свідчити про системну дію референс-препаратів та прояву імунодепресивної дії ГКС.

Таким чином, на моделі АКД у щурів за гематологічними показниками та оцінкою лейкоцитарних індексів досліджуєми препарати крем «Мометазон з керамідами» та мазь «Метилпреднізолон з керамідами» пригнічують запалення, зменшують алергічну реакцію сповільненого типу, а також позитивно впливають на відновлення імунного захисту. Аналіз результатів гематологічних досліджень показав, що за показниками, які відображають ефективність проведеної протизапальної терапії (ШОЕ, загальна кількість лейкоцитів, ЛШШОЕ та ІЗЛК) крем «Мометазон з керамідами» та мазь «Метилпреднізолон з керамідами» не поступаються лікувальній дії та мають тенденцію до її перевищення крему «Елоком» та мазі «Адвантан». Цей факт підтверджує, що додавання керамідів до ГКС не призвело до зниження протизапальної дії останніх та відсутність між ними антагонізму. Також при лікуванні кремом «Мометазон з керамідами» та маззю «Метилпреднізолон з керамідами» спостерігали найбільшу нормалізацію показників імунного захисту (ЛП, ІСНЛ, ІСНМ та ІСЛМ), що може свідчити про зменшення супресорної дії ГКС на імунну систему. Даний факт можна пояснити тим, що за рахунок введення керамідів, які діють у поверхневих шарах шкіри та здатні концентрувати діючу речовину в епідермісі, зменшилось надходження ГКС до кровообігу та ризик виникнення їх побічної дії.

Висновки

1. На моделі алергічного контактного дерматиту у щурів проведено аналіз гематологічних показників. Встановлено, що розвиток експериментального дерматиту супроводжується запаленням, алергічною реакцією сповільненого типу та порушенням імунного захисту.

2. В ході лікування тварин кремом «Мометазон з керамідами» та маззю «Метилпреднізолон з керамідами» спостерігали нормалізацію гематологічних показників: ШОЕ, рівня лейкоцитів – лейкоформули та інтегральних показників (ЛШОЕ, ІСНЛ, ЛІ, ІСЛМ, ІСНМ, ІСЛЕ та ЛПТ), що свідчить про зменшення запальних процесів та відновлення імунного захисту за умов патології. За лікувальною дією дані препарати не поступаються референс-препаратам.

3. Перспективним є подальше фармакологічне вивчення препаратів з ГКС та керамідами з метою підвищення ефективності та безпечності лікування запальних захворювань шкіри.

Література

1. Бобров В.О. Значення гематологічних індексів у стратифікації груп ризику розвитку серцево-судинних подій / В.О. Бобров, О.В. Авдоніна, О.В. Боброва // Укр.мед.часопис. – 2007. – № 1(57). – С. 93-96.
2. Бунин С.А. Анализ структуры потребления лекарственных средств при лечении аллергических дерматитов / С.А. Бунин, С.З. Умаров, В.А. Моргунов // Вест.Росс.воен.-мед.академии. – 2008. – № 3. – С. 86-89.
3. Буянтян Н.Д. Эффективность 5% алтановой мази при контактном дерматите у крыс / Н.Д. Буянтян, В.В. Березнякова, Т.Ю. Глазкова // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2004. – № 1. – С. 160-162.
4. Григорян Н.С. Современные патогенетические подходы к терапии атопического дерматита / Н.С. Григорян, Н.Г. Кочергин, И.В. Кошелева // Прак.медицина. – 2011. – № 49. – С. 31-35.
5. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В.С. Камышников. – М.: МЕДпресс-информ, 2009. – 889 с.
6. Корекція густим екстрактом із листя берези бородавчатої порушень у системі гемостазу щурів за умов ураження нирок на тлі експериментального цукрового діабету / Л.В. Яковлева, Н.С. Чорная, Т.І. Дейнеко [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2012. – № 4 (29). – С. 61-66.
7. Халафян А.А. STATISTICA 6. Статистический анализ данных: учебник. / А.А. Халафян. - [3-е изд.]. - М.: Бином-Пресс, 2007. – 512 с.
8. Contact dermatitis and Allergy / M. Bock. A. Shmidt [et al.] // Br. J. Dermatol. – 2003. – Vol. 149. – P. 1165-1171.
9. Pacha O. Treating atopic dermatitis: safety, efficacy, and patient acceptability of a ceramide hyaluronic acid emollient foam / O. Pacha, A.A. Hebert // Clin. Cosmet. Investig. Dermatol. – 2012. – № 5. – P. 3.
10. Tanei R. Eczematous dermatitis in the elderly / R. Tanei // J. Jpn. Med. Assoc. – 2009. – № 137. – P. 2437-2441.

Резюме

Бутко Я.О. Вивчення впливу препаратів з глюкокортикостероїдами та керамідами на гематологічні показники в щурів на моделі алергічного контактного дерматиту.

Проведено вивчення впливу препаратів з глюкокортикостероїдами та керамідами на гематологічні показники за умов алергічного контактного дерматиту в щурів. Аналіз співвідношення клітинних елементів у лейкоцитарній формулі крові показав, що розвиток експериментального дерматиту супроводжується запаленням, алергічною реакцією сповільненого типу та порушенням імунного захисту. В ході лікування тварин кремом «Мометазон з керамідами» та маззю «Метилпреднізолон з керамідами» спостерігали нормалізацію гематологічних показників: ШОЕ, рівня лейкоцитів – лейкоформули та інтегральних показників, що свідчить про зменшення запальних процесів та відновлення імунного захисту за умов патології. За лікувальною дією розроблені препарати не поступалися референс-препаратам.

Ключові слова: глюкокортикостероїди, кераміди, алергічний дерматит, гематологічні показники.

Резюме

Бутко Я.А. Изучение влияния препаратов с глюкокортикостероидами и керамидами на гематологические показатели у крыс на модели аллергического контактного дерматита.

Проведено изучение влияния препаратов с глюкокортикостероидами и керамидами на гематологические показатели в условиях аллергического контактного дерматита у крыс. Анализ соотношения клеточных элементов в лейкоцитарной формуле крови показал, что развитие экспериментального дерматита сопровождается воспалением, аллергической реакцией замедленного типа и нарушением иммунной защиты. В ходе лечения животных кремом «Мометазон с керамидами» и мазью «Метилпреднизолон с керамидами» наблюдали нормализацию гематологических показателей: СОЭ, уровня лейкоцитов – лейкоформулы и интегральных показателей, что свидетельствует об уменьшении воспалительных процессов и восстановления иммунной защиты в условиях патологии. По лечебному действию разработанные препараты не уступали референс-препаратам.

Ключевые слова: глюкокортикостероиды, керамиды, аллергический дерматит, гематологические показатели.

Summary

Butko Y.O. The studying of medications with glucocorticosteroids and ceramides influence on rats hematological parameters on model of allergic contact dermatitis.

Studying of influence of medications with glucocorticosteroids and ceramides on rats hematological parameters in condition of allergic contact dermatitis was carried. Analysis of the ratio of cellular elements in leukocytic formula showed, that the development of the experimental dermatitis was accompanied with inflammation, delayed hypersensitivity and impairment of the immune protection. During animals treatment period with cream "Mometasone with Ceramides" and ointment "Methylprednisolone with Ceramides" the normalization of hematologic parameters was observed: ESR, the level of leukocytes (leukocytic formula) and integral indicators, that testifies reduction of inflammatory processes and restoration of immune protection in conditions of pathology. Developed medications didn't concede to reference preparations on therapeutic effect.

Key words: glucocorticosteroids, ceramides, allergic dermatitis, hematological parameters.

Рецензент: д.мед.н., проф. А.І. Березнякова