

УДК 615.015:615.454.122

Я.О. БУТКО¹, С.М. ДРОГОВОЗ¹, М.О. ЛЯПУНОВ²¹Національний фармацевтичний університет, Харків;²Державний науково-дослідний центр лікарських засобів, Харків/

Вивчення лікувальної дії мазі з метилпреднізолону ацепонатом і керамідами в умовах експериментального алергічного дерматиту

Резюме

Изучение лечебного действия мази с метилпреднизолона ацепонатом и керамидами в условиях экспериментального аллергического дерматита

Я.А. Бутко, С.М. Дрогвоз, Н.А. Ляпунов

Цель работы. Изучение лечебного действия мази, содержащей метилпреднизолон с керамидами, при экспериментальном аллергическом дерматите у крыс.

Материалы и методы. В эксперименте было использовано 72 крысы. Моделирование аллергического дерматита проводили по методу П.Н. Залкан. В ходе исследования оценивали клинические проявления дерматита на коже, а также определяли биохимические показатели (щелочная фосфатаза, мочевины, ТБК-реактанты, восстановленный глутатион и уровень циркулирующих иммунных комплексов).

Результаты и их обсуждение. Результаты проведенных исследований показали, что развитие аллергического дерматита сопровождалось гиперемией, диффузным отеком и эритемой кожи, а также повышением уровня биохимических показателей – мочевины, щелочной фосфатазы, ТБК-реактантов, циркулирующих иммунных комплексов и уменьшением уровня восстановленного глутатиона. Установлено, что применение мази, содержащей метилпреднизолон с керамидами, снижает интенсивность поражения кожи и способствует нормализации показателей цитолиза, перекисного окисления липидов, состояния антиоксидантной системы и уровня циркулирующих иммунных комплексов. По выраженности лечебного действия исследуемая мазь не уступает препарату сравнения.

Выводы. Перспективным является дальнейшее фармакологическое изучение мази, содержащей метилпреднизолона ацепонат и керамиды, с целью повышения эффективности и безопасности лечения аллергических заболеваний кожи.

Ключевые слова: аллергический дерматит, метилпреднизолон, керамиды, мазь

Summary

A study of the Therapeutic Influence of Ointment with Methylprednisolone Aceponate and Ceramides under the Conditions of Allergic Dermatitis

Y.A. Butko, S.M. Drogovoz, N.A. Lyapunov

Objectives. The aim of this work was to study therapeutic action of ointment «Methylprednisolone with ceramides» under the condition of allergic contact dermatitis.

Materials and methods. 72 rats were used in the experiment. To induce development of allergic dermatitis method of Zalkan P.M. was used. During the experiment clinical manifestations of dermatitis on the skin were assessed and also the biochemical parameters (alkaline phosphatase, urea, TBA-reactants, reduced glutathione and the level of circulating immune complex) were determined.

Results and discussions. The results of the conducted study have shown that development of allergic dermatitis manifested in hyperemia, diffuse edema and erythema, and increased levels of biochemical parameters – urea, alkaline phosphatase, TBA-reactants, circulating immune and complex decrease in the level of reduced glutathione. It was found that application of ointment «Methylprednisolone with ceramides» reduces skin lesions and promotes normalization of cytolysis, lipid peroxidation, state of antioxidant system and levels of circulating immune complexes. Therapeutic action expression of the study medication was consistent with the comparator drug.

Conclusions. Further pharmacological study of ointment «Methylprednisolone with ceramides» is perspective in order to improve the effectiveness and safety of the allergic skin diseases treatment.

Key words: allergic dermatitis, methylprednisolone, ceramides, ointment

Поширення алергічного контактного дерматиту (АКД) за останні роки сягнуло значних масштабів. Його тяжкий перебіг часто призводить до тривалої непрацездатності пацієнтів та погіршення якості їх життя, що визначає важливу медичну значимість проблеми його лікування [1, 5, 8].

Основними засобами для лікування АКД є топічні глюкокортикостероїди (ГКС). Однак, незважаючи на їх високу

ефективність, використання препаратів з ГКС значно обмежено через розвиток як системних, так і місцевих побічних ефектів, у тому числі атрофічних змін шкіри (шкіра втрачає тонус, стає сухою, тонкою тощо), телеангіоектазій, затримки регенерації та ін. [1, 7, 9]. Тому пошук та розробка ефективних і безпечних препаратів для лікування алергічних дерматитів є актуальним.

З метою зменшення можливості прояву атрофічних змін шкіри при лікуванні дерматитів під керівництвом професора М.О. Ляпунова було розроблено мазь, що містить нефторований ГКС (метилпреднізолон ацетонат, який є високоефективним та безпечним засобом) та кераміди (природні фосфоліпіди, що регулюють проліферацію та регенерацію тканин).

Мета роботи: дослідження лікувальної дії мазі, до складу якої входить метилпреднізолон і кераміди, при АКД у щурів.

Матеріали та методи дослідження

Об'єктом дослідження була мазь, що містить метилпреднізолон і кераміди. Як препарат порівняння використовували монокомпонентну мазь, що містить тільки метилпреднізолон.

У дослідженні було використано 72 щури, яких було розподілено на 4 групи: група 1 – інтактні тварини; група 2 – контрольна патологія; група 3 – щури, яких лікували маззю, що містить метилпреднізолон та кераміди; група 4 – щури, яких лікували маззю, до складу якої входить лише метилпреднізолон. Для розвитку АКД тварин сенсibiliзували 5% спиртовим розчином 2,4-динітрохлорбензолу за методом П.М. Залкан [2]. На 3-й день після сенсibiliзації (пік патології) розпочинали лікування. Оцінку проявів АКД здійснювали візуально у балах: 0,5 – поява ізольованих червоних плям; 1 – дифузна помірна гіперемія; 2 – чітка гіперемія та набряк; 3 – різке почервоніння та набряк; 4 – утворення невеликих ерозій; 5 – утворення геморагічних кірок та виразок. Проводили біохімічний аналіз крові та визначали рівні лужної фосфатази (ЛФ), сечовини, концентрацію ТБК-реактивних, відновленого глутатіону (ВГ) та рівень циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) [3, 4].

Статистичну обробку результатів проводили методами варіаційної статистики за допомогою критерію Мана-Уїтні при рівні значущості $p \leq 0,05$ [6].

Результати та їх обговорення

Результати проведених досліджень показали, що після повторної сенсibiliзації у тварин на шкірі розвивалися прояви АКД у вигляді гіперемії, дифузного набряку та еритеми. Рівень ураження шкіри для всіх груп становив – 3,75–3,92 бала (таблиця). На 4-й день спостереження у тварин, яких не лікували, спостерігали посилення ураження шкіри (4,17 бала), що характеризувалося появою ділянок некрозу та ерозій. На 7-й день дослідження в цій групі запалення на шкірі дещо зменшилось (3,67 бала), але було значно інтенсивнішим, ніж у групах тварин, яких лікували.

На 4-й день лікування у групах 3 та 4 спостерігали зниження візуальних проявів дерматиту в 1,3 та 1,2 рази відповідно та на 7-й день – достовірно в 1,8 та 2,0 рази відповідно порівняно з піком патології. Клінічні спостереження за розвитком алергічного дерматиту показали, що у тварин яких лікували, зменшилася гіперемія шкіри, зникли ерозії, спостерігалось відлучення пошкоджених шарів епідермісу та їх регенерація.

Результати біохімічних досліджень показали, що моделювання АКД у тварин супроводжувалося достовірним збільшенням рівня сечовини (в 1,5 рази) та активності ЛФ (2,1 разу) порівняно з інтактною групою (рис. 1).

На 4-й та 7-й дні спостереження в групі тварин, яких не лікували, рівень сечовини залишався високим (в 1,8 та 1,6 рази відповідно порівняно з інтактними тваринами), що свідчить про інтенсивність деструктивних змін у шкірі та руйнування білків (колагену, еластину тощо). В ході лікування тварин маззю рівень сечовини поступово знижувався. Так, на 7-й день лікування маззю, що містить метилпреднізолон та кераміди, рівень сечовини в крові знизився в 1,1 разу, а при лікуванні маззю, що містить лише метилпреднізолон, – достовірно в 1,3 разу по відношенню до піку патології, проте показник не набув нормальних значень.

На 4-й та 7-й дні спостережень перебіг АКД у тварин, яких не лікували, характеризувався достовірним підвищенням активності ЛФ в 2,3 разу, на 7-й день – в 2,2 разу відповідно до інтактних значень, що свідчить про високий рівень цитолізу кератиноцитів при даній патології. В групах тварин, яких лікували маззю, що містять метилпреднізолон з керамідами та лише метилпреднізолон, наприкінці дослідження спостерігали достовірне зниження рівня ЛФ в 1,3 разу порівняно з піком патології, однак достовірного зниження активності ферментів до інтактних значень не відбулося. Таким чином, завдяки лікуванню препаратами спостерігалось поступове зменшення системних маркерів запалення та деструкції тканин шкіри.

Інтенсивність запального процесу також оцінювали за загальним підвищенням рівня перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) та зміною стану антиоксидантного захисту (АОС). Так, в ході моделюван-

Таблиця. Вплив досліджуваних мазей на вираженість проявів алергічного контактного дерматиту у щурів (n=6)

Показник	Дні лікування	Контрольна патологія	Метилпреднізолон з керамідами	Метилпреднізолон
Інтенсивність ураження, бали	Пік патології	3,83±0,31	3,75±0,38	3,92±0,30
	4-й	4,17±0,31	3,25±0,28	3,08±0,27**
	7-й	3,67±0,33	1,92±0,20***	2,17±0,25***

Примітки: * – відхилення достовірні по відношенню до піку патології ($p \leq 0,05$, критерій Мана-Уїтні), ** – відхилення достовірні по відношенню до контрольної патології ($p \leq 0,05$), *** – відхилення достовірні по відношенню до 4-го дня лікування ($p \leq 0,05$); n – кількість тварин у групі.

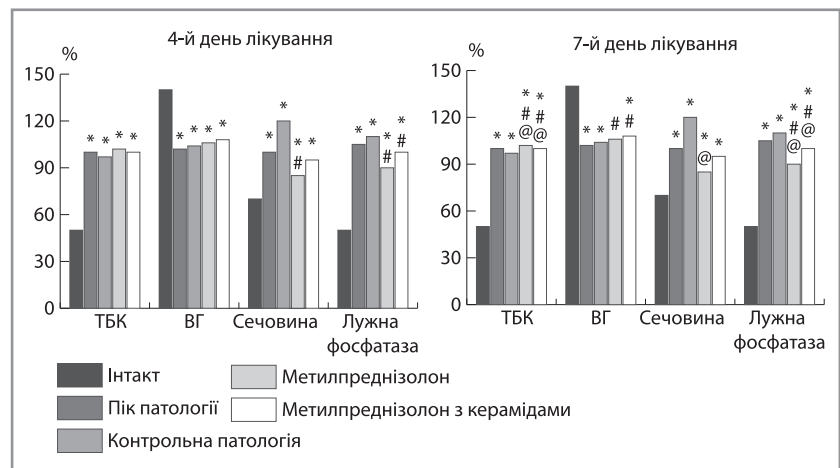


Рис. 1. Динаміка біохімічних показників у щурів з алергічним контактним дерматитом при лікуванні маззю, що містять метилпреднізолон і кераміди та лише метилпреднізолон

Примітки: значення показників на піку патології прийняті за 100%; * – відхилення достовірні по відношенню до інтактних тварин ($p \leq 0,05$, критерій Мана-Уїтні), # – відхилення достовірні по відношенню до контрольної патології ($p \leq 0,05$), @ – відхилення достовірні по відношенню до піку патології ($p \leq 0,05$).

ня АКД відзначено достовірну зміну співвідношення ПОЛ/АОС – рівень ТБК-реактантів підвищився в 1,9 разу, а рівень ВГ знизився в 1,4 разу порівняно з інтактними значеннями, що свідчить про виснаження АОС при запаленні (див. рис. 1). У групах тварин, яких лікували, спостерігали менш виражені зміни відповідних показників і тенденцію до нормалізації їх рівня до кінця експерименту. Так, на 7-й день лікування в групі тварин, яких лікували маззю, що містить метилпреднізолон і кераміди, рівень ТБК-реактантів достовірно знизився в 1,2 разу, та у групі тварин, яких лікували маззю, що містить метилпреднізолон, – в 1,3 разу по відношенню до піку патології. Рівень ВГ в цих групах рівномірно підвищувався відповідно в 1,1 та 1,2 разу по відношенню до піку патології.

ЦІК є продуктом взаємодії імунoglobulinів з відповідним специфічним антигеном (алергеном). Патологічні реакції зумовлені перевищенням процесів утворення ЦІК над процесами їх фагоцитозу. Середньомолекулярні ЦІК фіксуються на клітинах тканин та викликають їх дегрануляцію і викид медіаторів алергії. Тому чим вище рівень ЦІК – тим більше виражена алергічна реакція [4]. Так, після моделювання патології рівень ЦІК середнього та великого розміру достовірно зріс приблизно в 2,5 та 3,3 разу та до кінця експерименту не знизився до інтактних значень (рис. 2).

В групі тварин, яких не лікували, наприкінці дослідження рівень ЦІК середнього та великого розміру достовірно знизився в 1,6 та 1,9 разу по відношенню до піку патології. При лікуванні маззю, що містить метилпреднізолон і кераміди та лише метилпреднізолон, рівень середніх ЦІК достовірно знизився в 1,7 та 2,1 разу, а рівень ЦІК великих розмірів – в 2,1 та 2,3 разу відповідно по відношенню до піку патології. Слід зазначити, що зниження великих ЦІК було достовірним і по відношенню до контрольної патології на 4-й та 7-й дні терапії, тоді як зниження середньомолекулярних комплексів порівняно з контролем спостерігали лише в групі, в якій застосовували маззю, що містить метилпреднізолон, на 7-й день лікування.

Таким чином, на моделі дерматиту, викликаного динітрохлорбензолом, маззю, що містить метилпреднізолон і кераміди, виявила лікувальний ефект. За вираженістю протизапальної дії розроблена маззю не поступається препарату порівняння – мазі, яка містить метилпреднізолон, що свідчить про відсутність впливу керамідів на ефективність ГКС. Дія досліджуваних мазей виявляється не лише у пригніченні місцевих проявів дерматиту, але й у сприянні нормалізації системних показників запального процесу. За вираженістю місцевої дії маззю, що містить метилпреднізолон і кераміди, дещо перевищувала дію мазі, що містить лише метилпреднізолон, але за системною дією розроблена маззю поступалася препарату порівняння, що може свідчити про зниження проникнення ГКС у комбінації з керамідами до системного кровообігу та зменшення ризику виникнення їх токсичності.

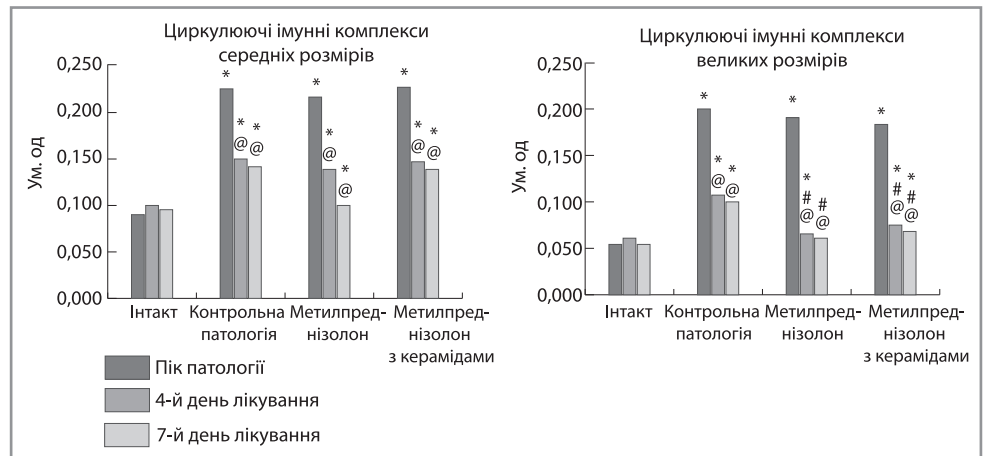


Рис. 2. Динаміка зміни рівня циркулюючих імунних комплексів у щурів з алергічним контактним дерматитом при нанесенні мазей, що містять метилпреднізолон і кераміди та лише метилпреднізолон

Примітки: * – відхилення достовірні по відношенню до інтактних тварин ($p \leq 0,05$, критерій Манна-Уїтні), # – відхилення достовірні по відношенню до контрольної патології ($p \leq 0,05$), @ – відхилення достовірні по відношенню до піку патології ($p \leq 0,05$).

Висновки

1. На моделі алергічного дерматиту маззю, що містить метилпреднізолон і кераміди, виявила лікувальний ефект та за вираженістю цього ефекту не поступалася препарату порівняння.
2. Встановлено, що при застосуванні досліджувана маззю сприяє нормалізації показників цитолізу, перекисного окиснення ліпідів, стану антиоксидантної системи та рівня циркулюючих імунних комплексів.
3. Перспективним є подальше фармакологічне вивчення дії мазі, що містить метилпреднізолон ацепонат та кераміди, з метою створення ефективного та безпечного лікарського засобу.

Список використаної літератури

1. Белоусова Т.А. Наружные глюкокортикостероидные препараты: критерии выбора с позиции эффективности и безопасности / Т.А. Белоусова, М.В. Горячина // Вест. дерматол. и венерол. – 2010. – №6. – С. 93–100.
2. Бунятян Н.Д. Эффективность 5% альтановой мази при контактном дерматите у крыс / Н.Д. Бунятян, В.В. Березнякова, Т.Ю. Глазкова // Вест. ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2007. – №1. – С. 160–162.
3. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В.С. Камышников. – М.: МЕДпресс-информ, 2009. – 889 с.
4. Святецкая В.Н. Уровень циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови экспериментальных животных с индуцированным инсультом / В.Н. Святецкая, Л.В. Гарманчук, Н.В. Сенченко // Укр. журн. гематол. и трансфузиол. – 2010. – Т. 10, №3. – С. 27–29.
5. Степанова Е.В. Аллергический контактный дерматит: основные подходы к диагностике, лечению и профилактике / Е.В. Степанова // Дерматовенерол. – 2009. – №10. – С. 37–39.
6. Халафян А.А. STATISTICA 6. Статистический анализ данных / А.А. Халафян. – М.: ООО «Бином-Пресс», 2007. – 512 с.
7. Loden M. Role of topical emollients and moisturizers in the treatment of dry skin barrier disorders / M. Loden // Am. J. Clin. Dermatol. – 2008. – Vol. 11, №4. – P. 771–788.
8. 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. – Vol. 5. – P. 3.
9. Sajic D. A look at epidermal barrier function in atopic dermatitis: physiologic lipid replacement and the role of ceramides / D. Sajic, R. Asiniwasis, S. Skotnicki-Grant // Skin Therapy Lett. – 2012. – Vol. 7, №17. – P. 6–9.