

УДК 615.322: 615.453.6

О. Є. Струс

Львівський державний медичний університет ім. Данила Галицького

ДОСЛІДЖЕННЯ ВЛАСТИВОСТЕЙ КРЕМУ ФОТОЗАХИСНОЇ ДІЇ

В результаті дослідження ранозагоювальної активності крему з каротином мікробіологічного походження показали, що він посилює процеси регенерації уражених УФ-променями ділянок шкіри піддослідних тварин, прискорює процес відновлення шкіри після дії УФ-променів та знижує термін епітелізації уражень. Експериментально підтверджено, що крем не проявляє токсичної дії, не володіє сенсibiliзуючою та шкірно-подразнювальною дією та відповідає вимогам діючої нормативної документації.

Ключові слова: фотозахисні засоби, каротин мікробіологічний, фармакологічні дослідження.

ВСТУП

Науково доведено, що сонячне випромінювання, що проникає у шкіру, може не тільки привести до появи сонячних опіків, прискорити появу зморшок і викликати її передчасне старіння, але й послабити імунну систему і спровокувати виникнення онкологічних захворювань шкіри. Ультрафіолетові (УФ) промені руйнівню впливають на цілий ряд важливих компонентів шкіри (білки, ліпіди, ДНК), викликаючи утворення продуктів окиснення. На молекулярному рівні ультрафіолет зумовлює ефект «оксидативного стресу», який полягає в утворенні надзвичайно реакційноздатних вільних радикалів, в результаті взаємодії УФ-променів з реакційноздатними молекулами кисню, що призводить до ефекту фотостаріння та, згідно однієї найбільш поширеної теорії, обумовлює передчасне старіння шкіри [1, 10, 13].

Для запобігання наслідків руйнівної дії сонця використовуються засоби, до складу яких входять сполуки із сонцезахисною дією, які носять назву фотозахисних засобів (ФЗЗ) [13]. Ефективність ФЗЗ залежить від їх здатності поглинати або розсіювати сонячні промені певної довжини хвилі. Для підвищення ефективності дії фотозахисних засобів в їх складі додатково застосовують речовини для профілактики опіків, спричинених сонячними променями, утворення вільних радикалів та попередження фотостаріння шкіри [2, 12].

Перспективним для використання в якості ефективних антиоксидантів, є каротиноїди, які діють на алоксильні та пероксидні радикали, синглетний кисень, NO-радикали, володіють антиканцерогенною дією, що робить їх важливим елементом захисту клітин від окиснювальних пошкоджень [2, 4, 11]. β -Каротин впливає на засвоєння вітаміну А, виконує важливу роль у формуванні епітеліальних тканин, знижує проникність слизової оболонки шлунково-кишкового тракту для токсичних речовин, підвищує резистентність до елементарних захворювань, а також приймає участь і в процесах фотосенсибілізації, знижуючи чутливість організму до світла [12].

Використання каротину в складі косметичних засобів забезпечує фото-захисну активність, попереджує появу сонячних опіків та проявів фотостаріння. Попередніми дослідженнями нами встановлена наявність протизапальної, антиоксидантної та геропротекторної дії каротину мікробіологічного [3, 5, 7-9]. Показано, що крем з 5 % олійного розчину каротину володіє фото захисними властивостями [9].

Метою наших досліджень було вивчення ранозагоюючих властивостей дослідного крему та дослідження його токсичності.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження ранозагоюючої дії та токсичності розробленого крему проведено на базі кафедри біохімії Харківського державного медичного університету під керівництвом професора Жукова В. І.

Вивчення епітелізуючої та ранозагоюючої дії досліджуваного крему, враховуючи його призначення, проводили на кроликах породи Шиншила білого кольору з середньою масою тіла $2,80 \pm 0,10$ кг на гіперемованих ділянках шкіри, які піддавалися УФ-опроміненню, в динаміці на 3, 7, 10 та 13 добу. Джерело УФ-променів – лампа ПРК-4. Морфологічне дослідження уражених ділянок шкіри проводили двом піддослідним тваринам, яким наносили досліджуваний зразок крему і двом інтактним кроликам, які були контролем для об'єктивної оцінки процесу загоєння.

Дослідження токсикологічних властивостей крему проводили згідно до вимог ДСанПіН 2.2.9.027-99 «Санітарні правила і норми безпеки продукції парфумерно-косметичної промисловості. Державні санітарні правила та норми» проводили за показниками: індекс гострої та хронічної токсичності при нанесенні на шкіру і при введенні у шлунок, індекс сенсibilізуючої та шкірно-подразнювальної дії [6].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При вивченні епітелізуючої та ранозагоюючої дії чотирьом піддослідним тваринам відтворювали ураження шкіри до стадії гіперемії при дії УФ-опромінення. Дефекти шкіри після відтворення були виражені у вигляді обширної гіперемії. Досліджуваний крем наносили відразу ж у перший день експерименту. На 3 добу уражені ділянки з оточуючими їх тканинами тіла опроміненних тварин були візуально однакові. На 7 добу дослідження опромінені ділянки шкіри, на які наносили крем, візуально не відрізнялися від ділянок шкіри, які не піддавалися опроміненню.

У таблиці 1 наведені результати зміни площі гіперемії піддослідної та контрольної груп кроликів в процесі спостереження протягом 13 днів після нанесення на опромінені ділянки шкіри досліджуваного крему, що містив 5 % олійного розчину каротину мікробіологічного.

З наведених результатів дослідження видно, що при нанесенні зразків крему на уражені ділянки шкіри піддослідних тварин площа гіперемії їх в процесі спостереження протягом 7 днів значно зменшується, що дає змогу нам зробити висновок про те, що розроблений крем посилює процеси регенерації уражених УФ-променями ділянок шкіри.

Вивчення гострої токсичності при нашкірному нанесенні проведено на 18 статевозрілих білих щурах самцях з масою тіла 170-190 г. Тварини були розділені на 3 групи по 6 в кожній з груп. Першій групі наносили 2,0 г крему; другій – 4,0; третя – контрольна група. Гостру токсичність дослідних зразків вивчали при нанесенні на попередньо вистрижену ділянку шкіри спини, яка становила не менше 10 % від загальної площі поверхні тварини.

Протягом 14-ти днів після нашкірних аплікацій тест-зразків щоденно реєстрували вплив крему на виживання, на зовнішній вигляд і прояви порушень фізіологічного стану тварин. Масу тварин визначали на 3, 7 та 14 добу від початку експерименту. Через 14 діб після нанесення тест-зразків тварин знеживлювали шляхом декапітації, проводили розтин та макроскопічне обстеження внутрішніх органів, розраховували їх масові коефіцієнти (МК).

Отримані результати досліджень, показали відсутність загибелі тварин при нанесенні до-

Таблиця 1

РЕЗУЛЬТАТИ ВИЗНАЧЕННЯ ПЛОЩІ ГІПЕРЕМІЇ У ПІДДОСЛІДНОЇ ТА КОНТРОЛЬНОЇ ГРУПИ ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИН, (N=5, P=95 %)

Дні спостереження	Площа гіперемії, мм ²	
	Піддослідна група	Контрольна група
1	$23,10 \pm 0,25$	$22,41 \pm 0,17$
3	$15,52 \pm 0,39$	$18,52 \pm 0,29$
7	$1,10 \pm 0,26$	$7,56 \pm 0,33$
10	–	$2,12 \pm 0, 21$
13	–	–

Таблиця 2

ДИНАМІКА МАСИ ТІЛА БІЛИХ БЕЗПОРІДНИХ ЩУРІВ (Г) ПІСЛЯ НАШКІРНОГО НАНЕСЕННЯ ДОСЛІДНОГО КРЕМУ ($\bar{X} \pm \Delta \bar{X}$), (N=6)

Група тварин	Вихідні дані	3 доба	7 доба	14 доба
Крем, в дозі 2,0 г	$175,0 \pm 9,2$	$188,3 \pm 11,4$	$192,0 \pm 7,5$	$201,7 \pm 12,0$
Крем, в дозі 4,0 г	$171,7 \pm 5,6$	$181,7 \pm 7,0$	$190,0 \pm 6,3$	$200,1 \pm 10,1$
Контрольна група	$181,3 \pm 8,6$	$192,0 \pm 6,1$	$198,7 \pm 5,2$	$206,0 \pm 5,3$

слідних зразків крему. Динаміка маси тіла тварин, які отримували протягом експерименту тест-зразок, за даними показниками не відрізнялися від контрольної групи тварин та не відрізнялись поміж собою (табл. 2).

Після закінчення дослідження на 14-ту добу, тварин виводили із експерименту і проводили огляд внутрішніх органів. Результати мікроскопічного дослідження свідчать, що зразки крему не ушкоджують внутрішні органи тварин. Внутрішні органи після введення зразків за розміром, кольором, консистенцією, а також розташуванням у тварин, які отримали дослідний зразок не виходили за межі фізіологічної норми.

Таким чином, LD₅₀ дослідного крему полягає поза межами 2810 мг/кг, що дозволяє віднести його до класу практично нетоксичних речовин (V клас токсичності).

Вивчення гострої токсичності крему при пероральному введенні проводили на 12 статевозрілих білих щурах самцях з масою тіла 180-190 г (дві групи по 6 у кожній: 1 – контрольна група; 2 – дослідна). Тваринам кожної групи внутрішньощлунково (ВШ) зондом одноразово вводили крем із розрахунку 36,3 г на кг маси тіла. Доза 36,3 г на кг, не перевищує дозу каротину, що застосовується на курс лікування. Спостереження за загальним станом тварин та їх поведінкою проводили протягом 14 днів. У результаті проведеного експерименту встановлено, що при застосуванні крему не спостерігалось жодного смертельного випадку тварин. Усі тварини приймали їжу, були активними. Загальна поведінка в піддослідній групі істотно не відрізнялася від поведінки тварин контрольної групи.

Таким чином, можна зробити висновок, що досліджуваний крем в об'ємі, що в 10 разів перевищує терапевтичну дозу, не викликає токсичної дії на організм досліджуваних тварин.

Крім того, нами було досліджено показники хронічної токсичності крему при нашкірному та пероральному застосуванні. Доведено, що про-

тягом всього періоду спостереження за поведінкою піддослідних тварин і тварин контрольної групи відхилень не зафіксовано. Стан волосяного покриву, рухливість, активність тварин не змінювались у порівнянні з контролем. У групі піддослідних тварин не відмічено зміни стану організму. Усі дані знаходяться в межах норми, характерної для даного виду тварин. За результатами патоморфологічних досліджень при визначенні хронічної токсичності встановлено, що крем не викликає патологічних змін у внутрішніх органах піддослідних тварин: селезінці, печінці, надниркових залозах, шлунку, тонкому та товстому кишківнику.

При визначенні сенсibiliзуючої та шкірно-подразнюючої дії досліджуваний крем наносили на шкіру морських свинок в дозі 0,5 г на тварину протягом 4-х тижнів по 5 разів на тиждень один раз на добу на вистрижену ділянку шкіри (правий бік) розміром 2x2 см. Реакцію шкіри правого боку оцінювали після 10-ї та 20-ї аплікацій до нанесення завершальної аплікації візуально за ступенем виразності еритеми та за допомогою штангенциркуля.

Результати вимірювань товщини шкірної складки подавали за різницю вимірювання в ході експерименту та вихідних даних. Визначення товщини шкірної складки правого боку показало, що тривале застосування препарату не викликає набряку тканин, зміни поведінки тварин, утруднення дихання (набряк гортані, легені), біохімічні показники піддослідних тварин не відрізняються від значень показників контрольної групи.

Проведене після 10-и аплікацій тестування показало відсутність проявів будь-якої подразнюючої дії (правий бік) крему, а також алергизуючої реакції з боку інтактної шкіри (лівий бік) у відповідь на нанесення завершальної аплікації засобу (табл. 3). Тому, відповідно до методичних рекомендацій, нашкірне нанесення продовжували до 20-ти аплікацій.

Таблиця 3

ВИВЧЕННЯ ПОДРАЗНЮЮЧОЇ ТА СЕНСIBILІЗУЮЧОЇ ДІЇ ДОСЛІДНОГО КРЕМУ

Групи тварин	n	Термін дослідю, доба			
		Після 10-ти аплікацій		Після 20-ти аплікацій	
		Різниця товщини шкірної складки, мм	Реакція шкіри, бали	Різниця товщини шкірної складки, мм	Реакція шкіри, бали
Подразнююча дія (нанесення на правий бік морських свинок)					
Контрольна група	6	0,05 (0,0÷0,2)	0 (0,0÷0,0)	0,25 (0,2÷0,4)	0 (0,0÷0,0)
Дослідний крем	6	0,15 (0,0÷0,3)	0 (0,0÷0,0)	0,3 (0,2÷0,5)	0 (0,0÷0,0)
Сенсibiliзуюча дія (нанесення завершальної аплікації на лівий бік морських свинок)					
Контрольна група	6	0,15 (0,0÷0,3)	0 (0,0÷0,0)	0,05 (0,0÷0,1)	0 (0,0÷0,0)
Дослідний крем	6	0,4(0,2÷0,6)	0(0÷0)	0,0(0,0÷0,1)	0(0÷0)

Як показало проведене тестування після нанесення 20-ти сенсibiliзуючих аплікацій (правий бік) подразнюючих властивостей не виявлено. Нанесення завершальної нашкірної аплікації досліджуваного крему не викликало явищ гіперемії на шкірі лівого боку ні в одній з тварин, що вказує на відсутність сенсibiliзуючої дії. Таким чином експериментально визначено, що досліджуваний крем не проявляє сенсibiliзуючих і місцево-подразнювальних властивостей.

Отже, отримані результати досліджень вказують на те, що розроблений крем з каротином мікробіологічним відповідає вимогам ДСанПіН 2.2.9.027-99 «Санітарні правила і норми безпеки продукції парфумерно-косметичної промисловості»

ВИСНОВКИ

Експериментально підтверджено ранозагоювальну активність крему на основі каротину мікробіологічного. Дослідний крем посилює процеси регенерації уражених УФ-променями ділянок шкіри.

Експериментальними дослідженнями підтверджено відсутність токсичної дії розробленого крему. Встановлено, що крем відповідає вимогам діючої нормативної документації.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ:

1. Бондаренко В. В. Передчасне старіння шкіри : причини виникнення та методи лікування / В. В. Бондаренко, Л. Я. Федорич // Укр. журн. дерматології, венерології, косметології. — 2000. — Т. 1, № 20. — С. 58—60.
2. Браун М. У. Каково значение антиоксидантов в средствах защиты от солнца / М. У. Браун, Л. Д. Хамилтон // SÖRW-Journal (русская версия). — 2003. — № 6. — С. 26—35.
3. Влияние микробиологического каротина на некоторые процессы старения / Л. В. Кричковская, О. Е. Струс, Т. И. Зекунова, Н. П. Половко // Мат. IX Укр. біохім. з'їзду. м. Харків, 24-27 жовт. 2006 р., — X., 2006. — Т. 2. — С. 240—241.
4. Окислительный стресс и антиоксиданты : организм, кожа, косметика. Сборник статей (под общ. ред. А. Петрухиной) — М. : ООО «Фирма КЛАВЕЛЬ», 2006. — 288 с.
5. Противовоспалительное действие каротинсодержащего крема при ультрафиолетовой эритеме / О. Е. Струс, Л. В. Кричковская, Н. П. Половко, А. А. Касаткина // Мат. VII Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю «Клінічна фармація в Україні», м. Харків, 15-16 лист. 2007 р. — X., 2007. — С. 172.
6. Державні санітарні правила та норми: ДСанПіН 2.2.9.027-99. — [Чинний від 1999-01-07]. — К. : Держстандарт України, 1999. — 116 с. — (Національний стандарт України).
7. Струс О. Е. Застосування натуральних каротиноїдів при створенні нових лікувально-профілактичних засобів / О. Е. Струс // Запорізький медичний журнал. — 2008. — № 1 (46). — С. 81—83.
8. Струс О. Е. Вплив мікробіологічного каротину на передчасне старіння на фоні УФ-опромінення / О. Е. Струс // Клінічна фармація. — 2008. — № 1. — Т. 12. — С. 45—48.
9. Струс О. Е. Перспективы применения каротина микробиологического в рецептуре солнцезащитного косметического крема / О. Е. Струс, Л. В. Кричковская, Н. П. Половко // Вестник фармации (Беларусь). — 2007. — № 2 (36). — С. 49—53.
10. Brneburg M. Photoaging of human skin / M. Brneburg, H. Plettenberg, J. Krutmann // Photodermatol. Photoimmunol. Photomed. — 2000. — Vol. 45, № 16. — P. 239—244.
11. Giacomoni P. U. Protection against indirect photodamage in human skin and in living skin equivalents / P. U. Giacomoni, D. Gan, M. Ingrassia // SOFW-Journal. — 2004. — Vol. 126, № 7. — P. 2—5.
12. Griffiths C. E. Topical retinoids for the treatment of photoaged skin / C. E. Griffiths // Clinical Dermatology 2006 — Vienna: abstracts, May 17-20, 2006. — Vienna, 2006. — P. 74—76.
13. Herrling Th. The Radical Protection Factor (RPF). A new feasible declaration form for cosmetic formulation / Th. Herrling, N. Groth // Modern Challenges to the Cosmetic Formulation. — 2007. — Vol. 8, № 2. — P. 150—155.

УДК 615.322: 615.453.6

О. Е. Струс

ИССЛЕДОВАНИЯ СВОЙСТВ КРЕМА ФОТО ЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ

В результате исследования ранозаживляющей активности крема с каротином микробиологического происхождения показали, что он усиливает процессы регенерации пораженных УФ-лучами участков кожи подопытных животных, ускоряет процесс восстановления кожи после воздействия УФ-лучей и снижает срок эпителизации пораженных участков кожи. Экспериментально подтверждено, что крем не проявляет токсического действия, не обладает сенсibiliзирующим и кожно-раздражающим действием и отвечает требованиям действующей нормативной документации.

Ключевые слова: фотозащитные средства, каротин микробиологический, фармакологические исследования.

UDC 615.322: 615.453.6

O. Ye. Strus

RESEARCH OF CREAM PROPERTIES WITH PHOTOPROTECTIVE ACTION

The results of studies of cream, containing carotene microbiological, on test animals' wound healing activity revealed the increasing regeneration of skin areas, associated with UV radiation-injures, induces the process of skin recrudescence after UV radiation exposure and reduces the duration of epitheliazitaion of lesions. Cream shows no toxic effect, has no sensitizing and skin-irritating action, which was confirmed by experiment data, and is in agreement with current regulatory documentation.

Key words: photoprotective agents, carotene microbiological, pharmacological research.

Адреса для листування:
E-mail: polovko.nat@mail.ru

Надійшла до редакції:
27.08.2013