

Я.О. Бутко, Ю.Б. Лар'яновська

## Вплив препаратів з глюкокортикостероїдами та керамідами на морфологічний стан шкіри щурів з неспецифічним дерматитом

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

**Ключові слова:** Мометазон, кераміди, морфоструктура шкіри, дерматит.

Мета дослідження полягала у вивченні впливу крему «Мометазон з керамідами» та мазі «Метилпреднізолон з керамідами» на морфологічний стан шкіри у щурів з неспецифічним дерматитом, індукованим скипидаром. Отримані морфологічні дані показали, що нашкірне втирання скипидару призводить до розвитку морфологічної картини неспецифічного контактного дерматиту. Лікування зазначеними препаратами практично повністю запобігає розвитку проявів дерматиту у щурів (використання мазі «Метилпреднізолон з керамідами» у 100% щурів нормалізує або практично нормалізує морфоструктуру шкіри) або сприяє зникненню його ознак у більшості тварин (крем «Мометазон з керамідами» – у 83,3% щурів шкіра в нормі, у 16,7% незначні виразкові порушення). За потужністю лікувальної дії препарати з глюкокортикостероїдами та керамідами значно перевищують препарати порівняння мазь «Адвантан» і крем «Елоком». Додавання керамідів до складу препаратів з глюкокортикостероїдами доцільне, оскільки вони сприяють регенерації та відновленню структури пошкодженого епітелію. Отже, перспективним є подальше вивчення комбінацій глюкокортикостероїдів з керамідами з метою впровадження їх у дерматологію.

### Влияние препаратов с глюкокортикостероидами и керамидами на морфологическое состояние кожи крыс с неспецифическим дерматитом

Я.А. Бутко, Ю.Б. Ларьяновская

Целью исследования было изучение влияния крема «Мометазон с керамидами» и мази «Метилпреднизолон с керамидами» на морфологическое состояние кожи у крыс с неспецифическим дерматитом, индуцированным скипидаром. Полученные морфологические данные показали, что накожное втирание скипидара приводит к развитию морфологической картины неспецифического контактного дерматита. Лечение исследуемыми препаратами практически полностью предотвращает развитие проявлений дерматита у крыс (использование мази «Метилпреднизолон с керамидами» у 100% крыс нормализует или практически нормализует морфоструктуру кожи) или способствует исчезновению его признаков у большинства животных (крем «Мометазон с керамидами» – у 83,3% крыс кожа в норме, у 16,7% незначительные язвенные нарушения). По выраженности лечебного действия препараты с глюкокортикостероидами и керамидами значительно превышают препараты сравнения мазь «Адвантан» и крем «Элоком». Следовательно, добавление керамидов в состав препаратов с глюкокортикостероидами целесообразно, т.к. они способствуют регенерации и восстановлению структуры поврежденного эпителия. Таким образом, перспективным является дальнейшее изучение комбинаций глюкокортикостероидов с керамидами с целью внедрения их в дерматологию.

**Ключевые слова:** Мометазон, керамиды, морфоструктура кожи, дерматит.**Патология.** – 2013. – №1 (27). – С. 77–81

### The influence of the preparations with glucocorticosteroids and ceramides on the morphological state of the rat's skin with the nonspecific dermatitis

Ya.O. Butko, Yu.B. Laryanovska

The aim of the research was studying of the effect of the cream «Mometasone with ceramides» and the ointment «Methylprednisolone with ceramides» on the morphological state of the rat's skin with the nonspecific turpentine induced dermatitis. Received morphological data show that application by rubbing in the skin leads to the development of the morphological picture of nonspecific contact dermatitis. The treatment with these preparations almost completely prevents the development of the dermatitis manifestations in rats ( the ointment «Methylprednisolone with ceramides» normalizes or almost normalizes skin morphostructure in 100% rats) or results in disappearance of signs in most animals (the cream «Mometasone with ceramides» application results in normalization of skin in 83,3% rats and 16,7% animals have insignificant ulcer disorders on the skin). By the therapeutic effect the preparations with GCS and ceramides considerably exceed preparations of comparison – the ointment «Advantan» and the cream «Elocom». Thus it is reasonable to add ceramides to the composition of the preparations with GCS, as they promote regeneration and restoration of the damaged epithelium structure. Therefore further studying of the combinations of glucocorticosteroids with ceramides for the purpose of their introduction in the dermatology is perspective.

**Key words:** mometasone, ceramides, morphological structure of the skin, dermatitis.**Pathologia.** 2013; №1 (27): 77–81

Місцева терапія є важливим методом лікування дерматитів, застосовуваним для пригнічення запалення шкіри та пов'язаних з ним головних симптомів: гіперемії, набряку, свербіжжю, ліхеніфікації тощо [1,4,7]. Однак сьогодні в терапії дерматитів дуже важливо приділяти увагу усуненню сухості шкіри, відновленню пошкодженого епітелію та покращенню стану і бар'єрних функцій шкіри [2,8,10].

Враховуючи наведені вимоги розроблено крем і мазь,

що відповідають сучасним вимогам місцевої терапії, зокрема сприяє зниженню запальних процесів у шкірі (мометазону фураат – сильний глюкокортикостероїд (ГКС) з протисвербіжною, протизапальною, судинозвужуючою, антипроліферативною та з мінімальною побічною дією), усуненню надлишкової сухості шкіри, відновленню пошкодженого епітелію, покращенню стану шкіри (вологість, пружність, еластичність, гладкість тощо) та нормалізуванню бар'єрних функцій шкіри (кераміди – аналоги природних керамідів шкіри людини) [1,9,10].

### Мета роботи

Морфологічне вивчення стану шкіри у щурів при лікуванні кремом «Мометазон з керамідами» та маззю «Метилпреднізолон з керамідами» в умовах контактного дерматиту, індукованого скипидаром.

### Матеріали і методи дослідження

Об'єктом дослідження була шкіра тварин після лікування кремом «Мометазон з керамідами» та маззю «Метилпреднізолон з керамідами», розробленими в ДНЦЛЗ під керівництвом проф. М.О. Ляпунова. Препарати порівняння – крем «Елоком» (діюча речовина – мометазону фуоат, виробник «Шеринг Плау», Бельгія) і мазь «Адвантан» (діюча речовина – метилпреднізолон ацепонат, виробник «Шеринг АГ», Німеччина).

У досліді використано 36 щурів, розподілених на групи: 1 – інтактна, 2 – позитивний контроль (контрольна патологія), 3 та 4 групи – щури, яких лікували кремами «Елоком» і «Мометазон з керамідами», 5 та 6 групи – мазями «Адвантан» і «Метилпреднізолон з керамідами». Для розвитку дерматиту тваринам протягом 10 днів у шкіру втирали скипидар [6]. Всі препарати наносили тонким шаром 1 раз на добу (5 днів) на ушкоджену шкіру. Після 5 дня лікування тварин виводили з досліді, весь тканинний матеріал (зразки шкіри) фіксували в 10% розчині формаліну для виконання морфологічних досліджень. Зрізи фарбували гематоксиліном та еозином [3,5]. Огляд мікропрепаратів проводили під мікроскопом Micros 400. Мікрофотографування мікроскопічних зображень здійснено цифровим фотоапаратом NikonColPix

4500. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4GHz за допомогою програми Nikon View 5.

### Результати та їх обговорення

У інтактних щурів шкіра мала типову гістологічну структуру (рис. 1а).

Через 5 днів після закінчення втирання скипидару у 66,7% щурів групи контрольної патології на місці контакту з подразником виявлено значні виразкові пошкодження шкіри. В одних випадках вони обмежувались тільки епідермісом, в інших зразках зачіпали дерму та підшкірну клітковину, на місці яких на 15 день досліді виявлено грануляційну тканину з ознаками волокноутворення. На поверхні виразок видно тісно спаяний з підлеглою тканиною некротизований шар-кірка з клітинного детриту, згорнутого фібрину, макрофагів (рис. 1б,в). Поза виразковими пошкодженнями спостерігали потовщення епідермального пласта, акантозні розростання епідермісу (подовження епітеліальних виростів, проникнення їх глибоко у шкіру), гіперкератоз (збільшення рогового шару), його підвищене розпушення та злушення, паракератоз (порушення роغوутворення – поява клітин, що містять ядра, у роговому шарі), рогові пробки у заглибинах епідермісу, кірки на поверхні (рис. 2а,б). У волосяних фолікулах визначено проліферацію епітеліальних клітин зовнішньої кореневої піхви з кістозним поширенням, фолікулярний гіперкератоз. У дермі часто виявляється запальна реакція, набряклість волокон. У 33,2% випадках у дермі та підшкірній клітковині спостерігали вогнища нагноєння з гнійним розплавленням кореневої піхви волосяних фолікулів (рис. 2в).

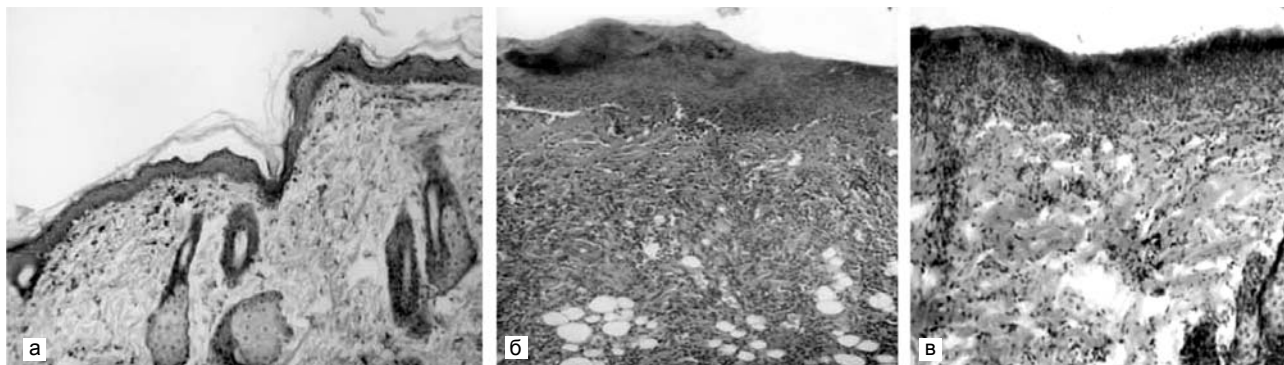


Рис. 1. Шкіра інтактних щурів. Нормальна гістологічна структура епідермісу та дерми (а). Шкіра щурів на 5 день після відтворення патології. На місці епідермісу некротизований шар-кірка прикриває грануляційну тканину (б) або набряклу дерму (в). Гематоксилін-еозин.  $\times 100$ .

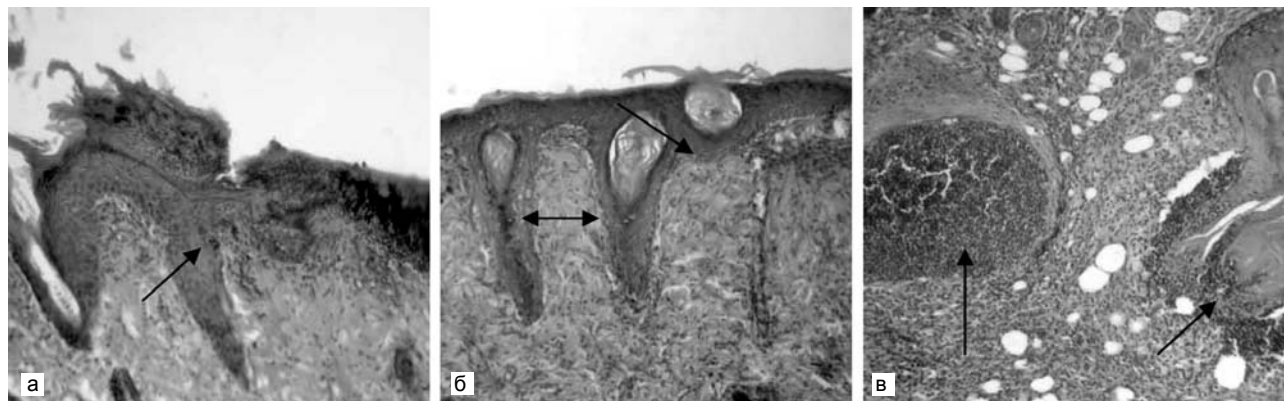


Рис. 2. Шкіра щурів на 5 день після відтворення патології: а – акантозні розростання епідермісу, шар-кірка на поверхні; б – рогові пробки у заглибинах епідермісу та волосяних фолікулах; в – нагноєння у дні грануляцій, гнійне розплавлення кореневої піхви волосяного фолікула. Гематоксилін-еозин.  $\times 100$ .

Після лікування кремом «Мометазон з керамідами» у 83,3% щурів на місцях контакту з подразником повністю відсутні морфологічні ознаки дерматиту. Товщина епідермального пласта помірно коливалась, в основному наближаючись до норми, диференціювання шарів епідермального пласта чітке. Явища акантозу відсутні. Процес рогоутворення не порушено, іноді спостерігали збільшення та «розпушеність» рогового шару. Кірочок на поверхні шкіри не визначено. У дермі стан колагенових волокон у межах норми, запальна клітинна реакція або не виявлено, або вона мала слабкий залишковий характер (рис. 3а,б). Лише у одного щура визначено дрібну виразку, що охоплювала сосочковий шар дерми. По її краях визначено активну крайову епітелізацію. Ознаки запалення у дермі не виражені (рис. 3в).

Лікувальні аплікації кремом «Елоком» неоднозначно впливали на стан шкіри щурів на місцях дії скипидару. У 33,2% тварин визначено обширі виразкові дефекти, що повністю руйнували епідермальний пласт і сосочковий шар дерми. Втім, поза зони виразки стан шкіри був наближеним до норми. У 16,7% тварин спостерігали поодинокі мікроабсцеси в паракератотичному шарі епідермісу, запальну клітинну реакцію на межі з дермою. У самій дермі стан колагенового матриксу та клітинної складової у межах норми. Ще у 16,7% тварин на поверхні епідермісу видно дрібні кірки, епідерміс під ними потоншений, без диференціювання шарів, на інших ділянках

виявлено ознаки паракератозу. У дермі підепітеліально місцями визначено слабку вогнищеву запальну реакцію (рис. 4а-в). У решти 33,2% тварин епідерміс не пошкоджено, спостерігали лише певне «розпушення», місцями злущення рогового слою, у дермі – помірний набряк волокон підепідермально, запальну вогнищеву реакцію у підшкірній клітковині (рис. 4г).

Лікування маззю «Метилпреднізолон з керамідами» призводить практично до нормалізації морфологічного стану шкіри переважної більшості щурів. Лише на окремих невеликих ділянках на поверхні шкіри визначено дрібні поодинокі залишки сухої кірочки, що легко злущувалась. Процес рогоутворення або не порушено, або ознаки паракератозу значно зменшені. Місцями спостерігали збільшення та «розпушеність» рогового шару. У всіх щурів товщина епідермального пласта наближалась до норми, диференціювання шарів у ньому чітке. У поверхневих шарах дерми деяких щурів спостерігали слабкі залишки запальної реакції. Судинна реакція не виражена, стан ендотелію капілярів звичайний (рис. 5а,б).

Після аплікацій мазі «Адвантан» у 66,8% щурів ознаки дерматиту відсутні. Епітеліальний пласт не пошкоджений, місцями помірно потовщений. Всі життєздатні шари клітин у ньому чітко видно. Рогоутворення у епідермісу іноді трохи збільшене, роговий шар часто розпушений, доволі легко відшаровується. У поверхневих шарах

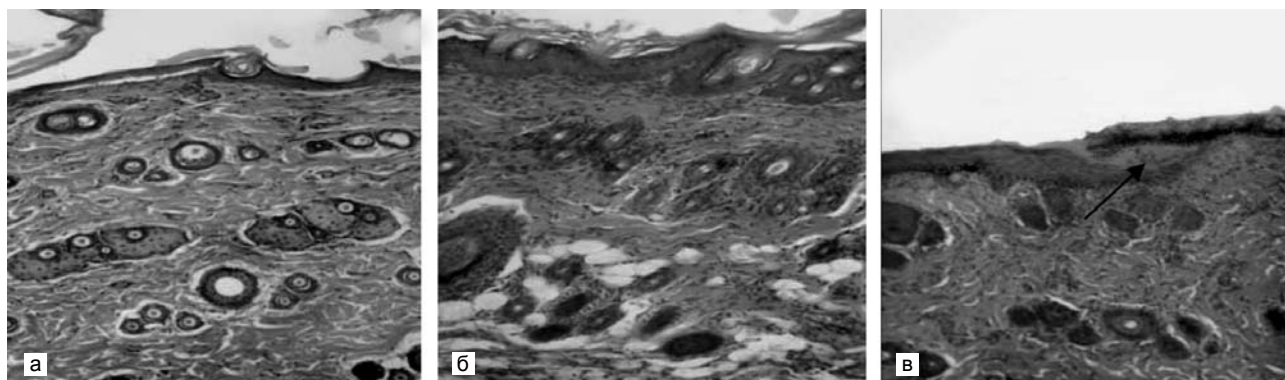


Рис. 3. Шкіра щурів, яких лікували кремом «Мометазон з керамідами»: а – морфологічна структура відповідає нормі; б – помірно підвищене рогоутворення; в – крайова епітелізація дефекту. Гематоксилін-еозин.  $\times 200$ .

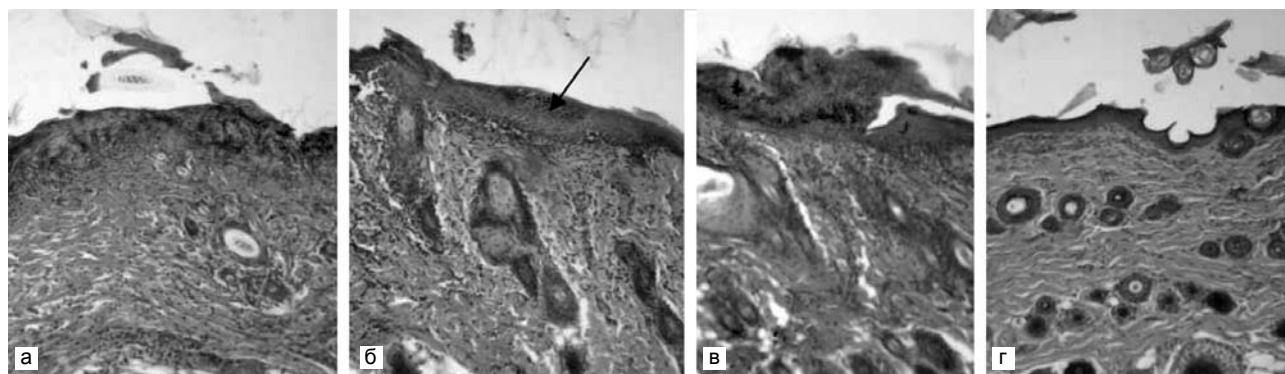


Рис. 4. Шкіра щурів, яких лікували кремом «Елоком»: а – виразка шкіри; б – мікроабсцес у паракератотичному шарі епідермісу; в – кірка на поверхні потоншеного епідермісу; г – відшарування рогового шару епідермісу, помірний набряк сосочкового шару дерми. Гематоксилін-еозин.  $\times 100$ .

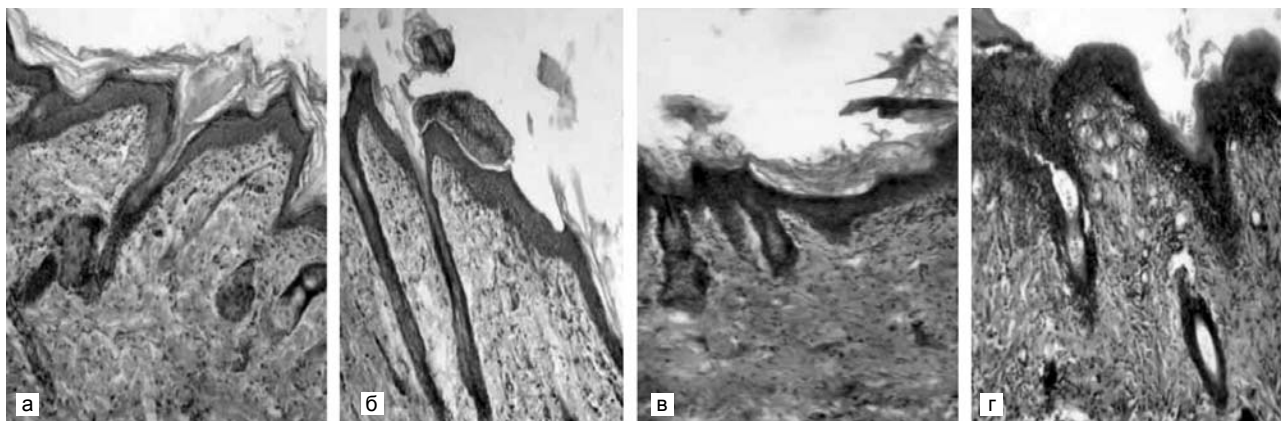


Рис. 5. Шкіра шурів, яких лікували маззю «Метилпреднізолон з керамідами»: а – слабкі залишки запальної реакції у сосочковому шарі дерми, помірне збільшення та «розпушення» рогового шару; б – поодинокі дрібні кірочки на поверхні шкіри. Гематоксилін-еозин.  $\times 200$ . Шкіра шурів, яких лікували маззю «Адвантан»: в – помірне збільшення та розпушення рогового шару, залишки запальної реакції у дермі субепітеліально; г – дрібна виразка шкіри, підепідермальний набряк. Гематоксилін-еозин.  $\times 200$ .

дерми помітні помірні залишки вогнищевої клітинної реакції. Іноді клітинні скупчення помічали навколо волосяних фолікулів. У 33,2% тварин спостерігали невеликі виразкові порушення епідермісу та сосочкового шару дерми, кірочки на поверхні, підепідермальний набряк (рис. 5 в, г).

Отримані дані дозволяють зробити наступні узагальнення:

- лікувальні аплікації досліджуваних препаратів дозволяють усунути прояви неспецифічного підгострого контактного дерматиту, який реєструють у переважній кількості шурів з контрольною патологією;

- лікувальна дія розроблених препаратів ГКС з керамідами значно перевищують препарати порівняння крем «Елоком» і мазь «Адвантан». Так, використання мазі «Метилпреднізолон з керамідами» практично повністю запобігає розвитку проявів дерматиту: у 100% шурів призводить до нормалізації або практично до нормалізації морфоструктуру шкіри; крем «Мометазон з керамідами» сприяє зникненню ознак дерматиту – у 83,3% шурів шкіра у нормі, у 16,7% незначні виразкові порушення. Під дією мазі «Адвантан» у 66% шурів шкіра відповідає нормі, у 33,3% були невеликі виразкові порушення епідермісу. Під впливом крему «Елоком» у 33,3% шурів шкіра у нормі, у 33,3% визначено значні виразкові дефекти шкіри, у 33,3% шурів – слабку вогнищеву запальну реакцію;

- виразний позитивний ефект мазі «Метилпреднізолон з керамідами» та крему «Мометазон з керамідами» пов'язаний з наявністю в їх складі керамідів. Відомо, що кераміди – це воскоподібні речовини ліпідної природи (сфінголіпіди), що заповнюють простір між загиблими клітинами рогового шару епідермісу, скріплюють їх, а також характеризуються оклюзійним ефектом (знижують проникність шкіри, трансдермальну втрату води та збільшують еластичність шкіри) [1,8]. Також до складу керамідів входять поліненасичені жирні кислоти, що підвищують проникність ліпідів і виконують роль провідників у підлеглих шари епідермісу, також вони є енерге-

тичним резервом для біохімічних процесів і нормалізації регенеративних процесів у клітинах шкіри [1,10]. Крім того, кераміди діють у поверхневих шарах шкіри та здатні концентрувати діючу речовину ліків в епідермісі, що зменшує навантаження ГКС до системного кровообігу та знижує ризик виникнення їх побічної дії.

#### Висновки

1. Встановлено, що крем «Мометазон з керамідами» і мазь «Метилпреднізолон з керамідами» характеризуються протизапальною дією (перешкоджають розвитку дерматиту) і відновлюють нормальну морфоструктуру шкіри. За виразністю ефекту крем «Мометазон з керамідами» і мазь «Метилпреднізолон з керамідами» перевищували лікувальну дію препаратів порівняння – крему «Елоком» та мазі «Адвантан».

2. Додавання керамідів до складу крему з мометазоном фууроатом і мазі з метилпреднізолоном доцільне, оскільки вони сприяють відновленню пошкодженого епітелію з нормальним диференціюванням шарів у структурі шкіри (процеси рогоутворення не порушені, товщина епідермального пласта майже відповідала нормі, диференціювання шарів у ньому чітке, у дермі стан колагенових волокон у межах норми).

**Перспективи подальших досліджень** полягають у фармакологічному вивченні препаратів з ГКС і керамідами з метою створення ефективного та безпечного препарату для лікування дерматитів різної етіології.

#### Список літератури

1. «Атопрел» – аргументований вибор при атопическом дерматите / В.А. Клименко, В.П. Кандыба, Л.М. Адарюкова и др. // Здоров'я України. – 2009. – №24 (1). – С. 39.
2. Нові дані про патогенетичне обґрунтування комплексної терапії хронічних дерматозів / В.А. Бочаров, С.К. Псюк, С.Г. Мазорчук [та ін.] // Вісн. Вінниць. держ. медуніверситету – 2002. – Т. 6, №1. – С. 250–251.
3. Меркулов Г.А. Курс патологогистологической техники / Г.А. Меркулов. – М.: Медицина, Ленингр. отд-ние, 1969. – 424 с.
4. Свирицкая Е.В. Сравнительный анализ эффективности и безопасности фторированных и хлорированных топических кортикостероидов // Журнал дерматологии и венерологии. – 2008. – №1. – С. 10–15.

- ческих глюкокортикостероидов / Е.В. Свирщевская, Е.В. Матушевская // Современные проблемы дерматовенерол., иммунол. и лечеб. косметол. – 2010. – №3. – С. 76–80.
5. *Цветкова Г.М.* Справочник по гистологической диагностике кожных заболеваний / Г.М. Цветкова, К.А. Калантаевская, Л.И. Сыч. – К.: Здоров'я, 1981. – 248 с.
  6. *Яковлева Л.В.* Вивчення ефективності нової мазі на моделі контактного дерматиту / Л.В. Яковлева, О.В. Ткачова // Клін.фармація. – 2010. – Т. 14, №4. – С. 66–70.
  7. *Lodén M.* Role of topical emollients and moisturizers in the treatment of dry skin barrier disorders / M. Lodén // Am J Clin Dermatol. – 2003. 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. 1, №5. – P. 3.
  9. *Proksch E.* The skin: an indispensable barrier / E. Proksch, J.M. Brandner, J.M. Jensen // Exp. Dermatol. – 2008. – Vol. 17, №12. – P. 1063–1072.
  10. *Sajić D.* A look at epidermal barrier function in atopic dermatitis: physiologic lipid replacement and the role of ceramides / D. Sajić, R. Asiniwasis, S. Skotnicki-Grant // SkinTherapyLett. – 2012. – Vol. 7, №17. – P.6–9.

**Відомості про авторів:**

Бутко Я.О., к. фарм. н., доцент каф. фармакології НФаУ.

Лар'яновська Ю.Б., к. біол. н., ст. наук. співробітник Центральної науково-дослідної лабораторії НФаУ.

Надійшла в редакцію 20.03.2013 р.