

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ ТА НАУКИ УКРАЇНИ  
ВОЛИНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ЛЕСІ УКРАЇНКИ  
Кафедра фізіології людини і тварин

На правах рукопису

БОСА ІННА ВАСИЛІВНА  
ВПЛИВ ГОРМОНАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ МІСЦЕВОЇ ДІЇ НА  
БАКТЕРИЦИДНІ ВЛАСТИВОСТІ ШКІРИ

Спеціальність: 091 «Біологія»

Освітньо-професійна програма Лабораторна діагностика

Робота на здобуття освітнього ступеня «Магістр»

Науковий керівник:

ПОРУЧИНСЬКА ТЕТЯНА ФЕДОРІВНА

кандидат біологічних наук, доцент

РЕКОМЕНДОВАНО ДО ЗАХИСТУ

Протокол № \_\_\_\_\_

Засідання кафедри \_\_\_\_\_

від «\_\_» \_\_\_\_\_ 2023 р.

Завідувач кафедри:

\_\_\_\_\_

Луцьк – 2023

## АНОТАЦІЯ

Гормональні препарати часто використовуються для лікування різних медичних станів, включаючи гінекологічні проблеми, акушерську практику та дерматологічні захворювання. Ця дослідницька робота спрямована на вивчення впливу гормональних препаратів на бактерицидні властивості шкіри. Сучасний ринок дерматологічної та косметичної продукції з антибактеріальним та протизапальним впливом на шкіру та слизові оболонки характеризується широким спектром та загальною доступністю для пересічного споживача, що є вкрай небезпечним за умов необдуманого використання таких препаратів, особливо якщо до їх складу входить гормональний компонент. Численні дослідження, присвячені перевагам та недолікам гормональних препаратів останнім часом тісно переплітаються з доказовістю їх безпечності, ефективності та переносимості, відповідно до європейських показників щодо стандартизації та їх сертифікації.

**Метою нашого** дослідження було дослідити вплив гормональних препаратів місцевої дії на бактерицидні властивості шкіри.

Висновки отриманого досвіду дозволяють зрозуміти, чи може застосування місцевих гормональних препаратів впливати на природні бактерицидні механізми шкіри, які важливі для її захисту від патогенної мікрофлори. У роботі досліджували вплив гормональних препаратів місцевої дії на бактерицидні властивості шкіри людини. Дослідження проводили у кілька етапів. Перший етап дослідження включав нанесення культури (непатогенного штаму *E.coli*) на здорову шкіру передпліччя. Наступні етапи включили в себе таку ж схему роботи, лише з впливом гормональних препаратів місцевої дії.

За результатами дослідження, яке ми провели після трьох днів гормональної терапії вдалось встановити, що застосування гормональних препаратів місцевої дії чинить короткочасний негативний вплив на бактерицидні можливості шкіри людини.

## **THE INFLUENCE OF LOCAL HORMONAL DRUGS ON THE BACTERICIDAL PROPERTIES OF THE SKIN**

### **Abstract**

Hormonal medications are often used to treat a variety of medical conditions, including gynecological problems, obstetrics, and dermatological conditions. This research work is aimed at studying the effect of hormonal drugs on the bactericidal properties of the skin. The modern market of dermatological and cosmetic products with antibacterial and anti-inflammatory effects on the skin and mucous membranes of the skin is characterized by a wide range and general availability for the average consumer, which is extremely dangerous in case of reckless use of such drugs, especially if they include a hormonal component. Numerous studies devoted to the advantages and disadvantages of hormonal drugs have recently been closely intertwined with the evidence of their safety, effectiveness and tolerability, according to European standards for standardization and their certification.

The effect of topical hormonal preparations on the bactericidal properties of the skin was investigated by our research method.

The conclusions of the obtained experience believe that the use of local hormonal drugs can affect the natural bactericidal mechanisms of the skin, which are important for its protection from pathogenic microflora. The work investigated the effect of topical hormonal preparations on the bactericidal properties of human skin. The research was conducted in several stages. The first stage of the study included applying a culture (a non-pathogenic strain of E.coli) to the health of the forearm. The following stages included the same scheme of work, only with the influence of local hormonal drugs. According to the results of the study, which we conducted after three days of hormonal therapy, it was possible to establish that the use of local hormonal drugs causes a short-term negative effect on the bactericidal capabilities of human skin

## ЗМІСТ

ВСТУП .....	
РОЗДІЛ I. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	
1.1. Бар'єрні властивості шкіри і слизових оболонок .....	
1.2. Неспецифічні клітинні та гуморальні захисні чинники шкіри та слизових оболонок.....	
1.3. Специфічні клітинні та гуморальні захисні чинники шкіри та слизових оболонок .....	
1.4. Запальні процеси шкіри, причини виникнення, діагностика, лікування .....	
РОЗДІЛ II. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	
2.1. Підготовка культури .....	
2.2. Підготовка середовищ.....	
2.3. Нанесення культури .....	
2.4. Нанесення гормональних препаратів місцевої дії.....	
2.5. Дослідження бактерицидних властивостей шкіри після впливу гормональних препаратів місцевої дії.....	
2.6. Статистична обробка результатів.....	
РОЗДІЛ III. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ АНАЛІЗ	
3.1. Кореляційний аналіз отриманих результатів .....	
ВИСНОВКИ.....	
СПИСОК ВКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ .....	
ДОДАТКИ.....	

**Актуальність.** Шкіра виконує низку важливих функцій, зокрема, вона є бар'єром, який захищає організм від зовнішніх агентів, включаючи бактерії та інші мікроорганізми. Гормональні препарати, які використовують для різних медичних цілей, можуть впливати на фізіологічні процеси, включаючи стан і функції шкіри. Гормональні препарати широко застосовуються для лікування різних дерматологічних проблем, від алергічних реакцій до захворювань, пов'язаних із запальними процесами.

**Мета** роботи - дослідити вплив гормональних препаратів місцевої дії на бактерицидні властивості шкіри.

Для досягнення мети роботи були поставлені наступні **завдання**:

1. Проаналізувати наукову літературу з проблеми дослідження.
2. Дослідити бактерицидні властивості шкіри (щодо *E.coli*).
3. Дослідити вплив гормональних кремів на захисний бар'єр шкіри.

**Об'єктом** дослідження є бактерицидні властивості шкіри.

**Предмет** дослідження – бактерицидні властивості шкіри щодо непатогенного штаму *E.coli* у контролі та після використання гормональних препаратів місцевої дії протягом трьох діб.

**База дослідження** – робота виконувалась на базі кафедри фізіології людини і тварин ВНУ імені Лесі Українки.

**Наукова новизна.** Отримані результати дослідження впливу гормональних мазей на захисний бар'єр шкіри, встановлено відмінності між дією двох популярних гормональних препаратів упродовж триденного застосування.

**Практичне значення.** Результати проведеного дослідження можуть бути використані під час призначення лікування гормональними препаратами місцевої дії.

## РОЗДІЛ I. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1. Бар'єрні властивості шкіри і слизових оболонок

Шкіра є покривним, складно влаштованим органом, безперервно здійснюючим і регулюючим змінювані взаємодії між організмом і зовнішнім середовищем [1]. Шкіра та її придатки (волосся, нігті, залози шкіри відносять до загального покриву (*integumentum commune*)).

Як відомо, шкіра складається з 3 основних шарів: епідермісу, дерми (сама шкіра), підшкірної жирової клітковини (рис. 1.1). Кожен шар має своє фізіологічне значення для нормальної життєдіяльності організму та виконує ряд функцій, які у сукупності характеризують основні властивості шкіри загалом.

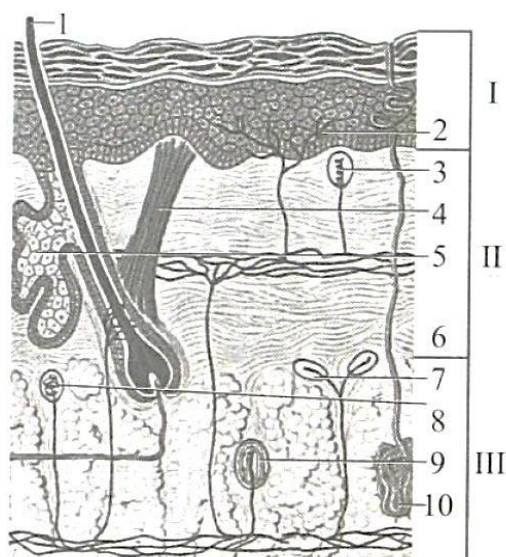


Рис. 1.1. Загальна будова шкіри [1]. I - надшкір'я; II – дерма; III – підшкірний прошарок; 1 – волосся; 2 – вільні нервові закінчення; 3 – тільце Мейснера; 4 – м'яз-випрямляч волосини; 5 – сальна залоза; 6 – цибулина волосини; 7 – тільце Руффіні; 8 – колбочки Краузе; 9 – тільце Фатера-Пачіні; 10 – потова залоза.

Шкіра виконує чимало функцій: захищає організм від механічних, хімічних і температурних подразнень; регулює теплообмін, обмін води, вітамінів. У шкірі багато нервових закінчень, які сприймають різні подразнення і передають їх у центральну нервову систему, де відбуваються їх синтез та аналіз. Тобто шкіра виконує захисну, терморегуляторну, сенсорну, секреторну, обмінну, дихальну та імунну функції. Здорова шкіра визначається правильною структурою і функціонуванням її складових [17].

Захисна функція шкіри проявляється в тому, що шкіра захищає внутрішні органи від фізичного, хімічного і біологічного впливу навколишнього середовища. Механічний захист організму від зовнішніх факторів забезпечується щільним роговим шаром епідермісу, еластичністю шкіри, її пружністю й амортизаційними властивостями підшкірної клітковини. Завдяки цим якостям шкіра здатна давати опір механічним впливам. Водночас вона захищає організм від радіаційного впливу. Інфрачервоні промені практично цілком затримуються роговим шаром епідермісу; ультрафіолетові (УФ) промені затримуються частково. Проникаючи в шкіру, УФ-промені стимулюють утворення захисного пігменту – меланіну, який поглинає ці промені.

Захист від мікроорганізмів забезпечується бактерицидними властивостями шкіри. Здорова шкіра непроникна для мікроорганізмів. З роговими лусочками епідермісу, шкірним салом і потом з поверхні шкіри видаляються мікроорганізми і різні хімічні речовини, які потрапляють на шкіру з навколишнього середовища. Шкірний жир, змащуючи шкіру, перешкоджає її розмоканню і утворенню тріщин, що захищає шкіру від шкідливих впливів води і різних хімічних сполук. Крім того, шкірне сало та піт утворюють на шкірі кисле середовище, несприятливе для розмноження мікробів. Роговий шар відіграє найбільш важливу роль в захисті від токсинів та зневодненні. Більшість токсинів представляють собою неполярні сполуки, які здатні відносно легко проходити через багаті на ліпіди міжклітинні простори рогового шару.

Окрім бактерицидної, шкіра проявляє терморегуляторну функцію. При збільшенні температури навколишнього середовища відбувається розширення кровоносних судин шкірних покривів – кровообіг шкіри посилюється. При цьому збільшується потовиділення з активним випаровуванням поту і посиленням тепловіддачі шкіри. При зниженні температури навколишнього середовища відбувається рефлекторне звуження кровоносних судин шкіри; діяльність потових залоз пригнічується, тепловіддача шкіри помітно зменшується. Шар підшкірної клітковини та ліпідний шар на поверхні шкіри є поганими провідниками тепла, тому перешкоджають надлишковому надходженню тепла або холоду ззовні, а також надлишковій втраті тепла.

Шкіра відповідальна за дотикову, температурну та больову чутливість (проявляє сенсорну функцію). Через шкіру виділяється жир, піт і продукти обміну речовин (секреторна функція). Видільна функція шкіри, яка безпосередньо контактує з зовнішнім середовищем великою площею поверхні, переважно здійснюється завдяки діяльності потових та, меншою мірою, сальних залоз. Шкіра забезпечує обмін речовин та енергії між організмом та навколишнім середовищем (обмінна функція). Дихальна функція шкіри проявляється в наступному: організм людини виділяє за добу через шкірний покрив 7 – 9 г вуглекислоти і поглинає 3 – 4 г кисню, що складає 2 % від загального газообміну. Клітини Лангерганса, а також тучні і плазматичні клітини, що знаходяться в шкірі є елементами імунної системи, тому шкіра має й імунні функції.

Об'єктом нашого дослідження були саме бактерицидні властивості шкіри та слизових оболонок, вплив на них факторів навколишнього середовища, токсичних сполук, гормональних препаратів.

Бактерицидні та інші бар'єрні функції шкіри зумовлені особливостями її будови на клітинному рівні:

- наявністю кератиноцитів.
- наявністю меланоцитів.



- наявністю клітин Лангерганса.
- наявністю клітин Меркеля.

Кератиноцити – основний тип клітин епідермісу (складають 85% від усіх клітин), які проходять послідовні стадії диференціювання (дозлущування рогових лусочок з поверхні шкіри), в процесі якого відбувається утворення рогових лусочок, які позбавлені всіх органел та заповнені кератиновими філаментами [1]. При цьому постійно відбувається не лише злущування рогових лусочок, але й включення до диференціювання нових стовбурових (зародкових) клітин. Тому склад кератиноцитів постійно оновлюється. Основними функціями кератиноцитів є створення бар'єру. Між собою кератиноцити зв'язані численними контактами, в т.ч. десмосомами. Завдяки цим контактам та гідрофобним властивостям рогових лусочок, епідерміс виконує бар'єрну функцію. До того ж, кератиноцити синтезують речовини (тирозин, тимопоетин та інші), які приманюють в епідерміс Т-лімфоцити та сприяють їх антигеннезалежній проліферації. А поглинаючи УФ–промені, кератиноцити перетворюють неактивний провітамін D-дегідрохолекальциферол у вітамін D.

Меланоцити розташовані в базальному шарі епідермісу (складають не менше 10% клітин цього шару), містять меланосоми – особливі мембранні органели, у яких з амінокислоти тирозину синтезуються та накопичуються у вигляді щільних гранул пігменти меланіну. Певна кількість меланосом може переходити з меланоцитів епідермісу в інші клітини – кератиноцити та макрофаги епідермісу, а також в меланоцити дерми. Меланін поглинає УФ–промені і таким чином захищає підлеглі тканини. При високій інтенсивності сонячного опромінення в меланоцитах епідермісу збільшується синтез меланіну (що зовнішньо сприймається як засмага).

Клітини Лангерганса, як і інші макрофаги, походять від моноцитів. Своїми вертикально орієнтованими відростками клітини Лангерганса сприяють правильній пошаровій організації кератиноцитів. Клітини Лангерганса поєднують кератиноцити, які їх оточують, в «епідермальні

проліферативні одиниці» (ЕПО), з яких складається епідерміс. Проліферативні одиниці мають форму вертикальних колонок, вони займають всю товщу епідермісу і складаються з клітини Лангерганса, яка розташована в центрі, та кератиноцитів усіх шарів епідерміса, які оточують її. В ЕПО клітини Лангерганса здійснюють регулюючий вплив на проліферацію (ділення) і диференціювання (ороговіння) кератиноцитів, за допомогою кейлонів, які виявлені в їх гранулах. Кейлони – тканинспецифічні гормони місцевої дії. Вони представлені білками або пептидами різної молекулярної маси. Це речовини, які гальмують проліферацію клітин за допомогою інгібування синтезу ДНК [18]. Водночас клітини Лангерганса сприймають антигенну інформацію та презентують її лімфоцитам, приймаючи в такий спосіб участь у реалізації цитотоксичного нагляду, чинять вплив на проліферацію та диференціацію Т-лімфоцитів, у тому числі детермінують перехід Th0- клітин у клітини I та II типів [18]. Дані функції клітин Лангерганса здійснюються завдяки синтезу інтерлейкінів, інтерферону та високому рівню активності антигенів головного комплексу гістосумісності, рецепторів для імуноглобулінів адгезивних молекул. Клітини Лангерганса секретують цілий ряд необхідних для життєдіяльності шкіри речовин, таких як  $\gamma$ -інтерферон, простагландини, фактори регуляції біосинтезу білків, фактори, які стимулюють ділення клітин тощо.

Клітини Меркеля – один з видів механорецепторів шкіри. Вони знаходяться в базальному шарі епідермісу (їх багато в кінчиках пальців) та в волосяних цибулинах. Клітини Меркеля утворюють десмосоми з сусідніми кератиноцитами. Вони контактують з закінченнями дендритів чуттєвих нейронів, утворюючи диски Меркеля. Ці клітини містять гранули з гормоноподібними факторами (бомбезином, енкефаліном, вазоінтестинальним пептидом тощо), які виділяються після подразнення клітин і впливають на регенерацію епітелію та тонус кровоносних судин [1].

З хімічної точки зору наша шкіра складається з жирів, білків, вуглеводів, які відповідають за її функції та властивості. Білки побудовані

переважно з амінокислот (АК). З 20-ти наявних в шкірі АК лише 8 належать до категорії «незамінних», оскільки не синтезуються організмом: Valine, Leucine, L-isoleucine, Tryptophan, Phenylalanine, Lysine, Methionine, Threonine. Ланцюги, які утворюють між собою АК, - пептиди - є біологічно активними речовинами (БАР), які зумовлюють специфічну антибактеріальну та ранозагоюючу дію. Наприклад, трипептид гліцил- L- гістидил-L-лізин – утворюється у ранах і сигналізує про активацію процесу загоєння ушкодженої тканини. Цей пептид у т.ч. впливає на фібробласти та стимулює синтез колагену та еластину.

Як відомо, в структурі шкіри виділяють три структурних білки – колаген, еластин, кератин – високомолекулярні сполуки зі специфічними властивостями. Так, колаген – основний білок сполучної тканини, сухожиль, хрящів та кісток, що складається з 3-х поліпептидних ланцюгів з понад 1000 АК-залишків. У структурі шкіри цей білок відповідає за пружність шкіри. Еластин – основна складова зв'язок, сухожиль, кровоносних судин, волосяної сумки. Як і колаген, синтезується фібробластами. Особливістю його є те, що здатний змінювати довжину молекули (скорочуватися), що зумовлює значення його для еластичності шкіри. Паралельно розташовані поліпептидні ланцюги кератину складають основу волосся, шкіри і нігтів. Характерною особливістю цього білка є здатність набухати та розм'якшуватись під впливом води, що зумовлює міцність і стабільність шкірних покривів.

Головними вуглеводнями шкіри є мукополісахариди (гіалуронова кислота), глікоген і глюкоза. Безпосередньо гіалуронова кислота виконує функції регулятора водного балансу [1], відповідаючи за утворення водно-ліпідної мантії, від неї залежність пружність та безпосередньо бар'єрна функція шкіри.

Водно-ліпідна мантія – плівка на роговому шарі епідермісу. Часто водно-ліпідну мантію називають «лінією першого контакту» або «першим шкірним бар'єром». Вона утворюється з продуктів діяльності сальних та потових залоз та поверхні рогового шару, що відлущується. Нормальна шкіра

вкрита плівкою, у складі якої є різноманітні речовини: амінокислоти, вільні жирні кислоти, кислотні продукти обміну речовин, включаючи молочну кислоту, лимонну кислоту та інші важливі компоненти. Завдяки високому вмісту ліпідів ця плівка носить назву водно-ліпідної мантії. Водна-ліпідна мантія шкіри повинна мати оптимальний баланс складових елементів, щоб з епідермісу не випаровувалося забагато вологи і щоб вона могла протидіяти небажаним зовнішнім чинникам. В той же час водно-ліпідна мантія утворює бар'єр, який має принципове значення і для зовнішнього вигляду шкіри. Вона забезпечує механічну стійкість шкіри, запобігає вимиванню гідрофільних речовин з епідермісу, забезпечує стійкість до зовнішніх подразників хімічного характеру, надає шкірі її гладкий, непрозорий, цілісний вид. Складові водно-ліпідної мантії утворюють специфічне пограничне середовище, яке має слабокислу реакцію (рН 4,5 – 5,5). У дітей, особливо грудного віку, водно-ліпідна мантія шкіри має нейтральну або слабо лужну рН (рН від 4,2-5,6 до 6,12-6,72).

Шкіра людини, яка вкрита шаром загиблих ороговілих клітин, вкрита ще й кислотною мантією, т.з. мантією Марк'юніні [1]. Деякі мікроорганізми надають перевагу саме кислому середовищу, тому постійно виявляються на поверхні здорової шкіри, наприклад *Staphylococcus epidermis*, лактобактерії. Вони навіть самі виробляють кислоти, вносячи свій вклад в утворення кислотної мантії шкіри. Бактерії *Staphylococcus epidermidis* виділяють токсини, які мають антибіотикоподібну дію та пригнічують життєдіяльність патогенної мікрофлори. Часте вмивання з лужним милом може зруйнувати кислотну мантію, що може призвести до розвитку запалення шкіри. Кислотність водно-ліпідної мантії порушується при деяких шкірних захворюваннях, наприклад при екземі рН збільшується до 6,5 (майже бі нейтральне середовище), при грибкових захворюваннях рН зростає до 6 (слабокисла реакція), а при вугревій хворобі - до 7 (нейтральне середовище)

Водночас, бар'єрну функцію виконує також миготливий епітелій слизової оболонки, наприклад, бронхів, щіткова облямівка епітелію слизової

оболонки кишечника. Певна захисна роль належить гістогематичним та гематоенцефалічним бар'єрам, мембранам клітин [3].

Доведено, що бактерицидні властивості шкіри та слизових оболонок обумовлені наявністю на їх поверхні секретів, що містять лізоцим, секреторні IgA та IgM, глікопротеїни [13]. Вони блокують сполучні ділянки на поверхні бактерій і таким чином створюють перешкоду для прикріплення бактерій до специфічних рецепторів на поверхні епітеліальних клітин. Потужним бар'єром для більшості мікроорганізмів є лейкоцити. Мононуклеари та гранулоцити (насамперед – нейтрофіли) проявляють неспецифічну бактерицидну дію на багато збудників інфекційних патологій, в т.ч. шкірних покривів, переважно за рахунок лейкокінів. Не слід забувати при цьому про фагоцитоз – захоплення та, як правило, внутрішньоклітинне руйнування мікробів фагоцитами (нейтрофільними лейкоцитами, а також клітинами фон Купффера, дендритними, альвеолярними та іншими макрофагами) [13]. Останні є одним з головних механізмів протиінфекційного захисту макроорганізмів, наприклад, при алергії. У процесі адгезії збудників і найбільше після поглинання їх фагоцитами в останніх активізується комплекс механізмів інактивації та деструкції мікробів. Цей комплекс отримав назву «мікробоцидної системи фагоцитів» (МСФ).

Основні компоненти МСФ представлені лізоцимом, лактоферином, катіонними білками, Н-гіперіонією, гідролазами лізосом, лізинами, факторами комплементу, системою ІФН. Лізоцим (мурамідаза) розщеплює разом з гідролазами лізосом мурамінову кислоту пептидогліканів оболонок бактерій. Найбільш чутливі до лізоциму грампозитивні мікроби: стафілококи, стрептококи. Коринобактерії та інші грамнегативні організми схильні до меншого бактеріолітичного впливу мурамідази. Лактоферин у ненасиченій іонами заліза формі чинить на мікроорганізми, укладені у фагосомах, бактеріостатичну дію. Останнє досягається за рахунок хелатного зв'язування заліза бактерій, який є для них важливим ростовим чинником. Катіонні білки

мають бактерицидну дію в основному на грампозитивні мікроби, укладені у фаголізосомах [11].

Окремо слід зацентувати увагу на процесі ацидозу, що має місце на слизових оболонках. У діапазоні рН 4,0-6,5 ацидоз має бактерицидну та бактеріостатичну дію. При рН 4-5 пригнічується процес формування поверхневого заряду бактеріальних клітин. Це супроводжується гальмуванням мембранних процесів, що призводить до загибелі бактерій. Накопичення надлишку  $H^+$  супроводжується утворенням у фагоцитах нітритів, хлорамінів, альдегідів, синглетного кисню ( $1O_2$ ) та інших факторів, що мають виражений бактерицидний ефект. В умовах ацидозу підвищується також проникність мембран лізосом та їх гідролітичні властивості. Гідролази знаходяться у первинних лізосомах у неактивному стані. Вони значно підвищують активність в умовах ацидозу, що розвивається у процесі фагоцитозу. Лізосомальні ферменти здійснюють деструкцію компонентів поглинених фагоцитами мікробів до пептидів, амінокислот, жирних кислот, нуклеотидів та інших елементарних сполук [9].

Науковцями було доведено, що в захисті слизових оболонок суттєву роль відіграє місцева імунна система, яка функціонує переважно незалежно від системного імунітету. Зокрема, N. Zhang et al. [15] досліджували залежність місцевої імунної реакції з розвитком алергічного компонента від порушення саме бар'єрної функції епітелію. Значення мікробіому як фізіологічної частини імунної системи було об'єктом нашого дослідження. Стан мікробного заселення слизової оболонки залежить від мукозального імунітету, що зумовлено бактерицидними властивостями. Велика кількість антибактеріальних протеїнів – лізоциму, лактоферрину, імуноглобулінів, аглютинінів, пептидів антимікробної дії – гістатинів, дефензинів, нейтрофільних гранулоцитів, безпосередньо лімфоїдних клітин – мають працювати як єдиний цілий механізм, у динамічній рівновазі.

Дослідниками останніх років все більше приділяється увага ролі білка філагрину в розвитку порушень бар'єрних властивостей шкіри та пов'язаних з цим патологічних станів.

Філагрин – білок, синтез якого відбувається клітинами зернистого шару, головною функцією якого є дотримання балансу між вологістю навколишнього середовища та глибоких шарів епідермісу. Дефіцит філагрину призводить до зниження гідратації шкіри, підвищення рівня рН і порушення епідермального бар'єру, а клінічно проявляється сухістю шкіри (генетично обумовленого ксерозу). Важлива роль філагрину відводиться в утворенні компонентів натурального зволожуючого фактора (NMF – Natural Moisturizing Factor). При протеолітичному розпаді філагрину в роговому шарі утворюється суміш полікарбосилових кислот та гігроскопічних амінокислот, сечовини, лактатних сполук та іонів металів, які зв'язують та зберігають воду у корнеоцитах. Ця вода є основною вологою пластин рогового шару. При розпаді філагрину в роговому шарі утворюється кілька активних сполук – глютамін, гістидин, сечовина, які грають важливу роль у підтримці гомеостазу рогового шару.

Таким чином, наведені вище складові та основні компоненти шкіри й слизових оболонок відповідають кожен поокремо і в комплексі в т.ч. за забезпечення структурної цілісності шкірного бар'єру, що являє собою складний багатокomпонентний механізм і порушення якого на будь-якому етапі призводять до загального дисбалансу та розвитку патології.

## **1.2. Неспецифічні клітинні та гуморальні захисні чинники шкіри і слизових оболонок**

Будь-який пошкоджуючий агент (фактор), який за потужністю й тривалістю перевершує бар'єрні можливості тканини, викликає захисну реакцію організму – запалення. При цьому організм людини на імунному рівні: спочатку розпізнає збудників; надає судинну реакцію з порушенням мікроциркуляції крові; і проявляє клітинну реакцію – міграцію клітин

імуноної системи у вогнище запалення. Основним завданням запальної реакції є знищення токсину та/або звільнення від власних зруйнованих клітин.

Як відомо, людський організм має три основні лінії захисту імуноної системи: фізичні та хімічні бар'єри, неспецифічні вроджені реакції та специфічні адаптивні процеси. Імунона система – це складне поєднання специфічних імуноних клітин і білків, спільна робота яких скерована в напрямку захисту організму від чужорідних речовин (антигенів) і шкідливих токсинів, що надходять із навколишнього середовища [6]. При цьому імунона система може бути активована для створення двох типів імуноних відповідей: неспецифічної відповіді (вродженого імунонitetу) і специфічної адаптивної відповіді (набутого імунонitetу) (рис. 1.2).

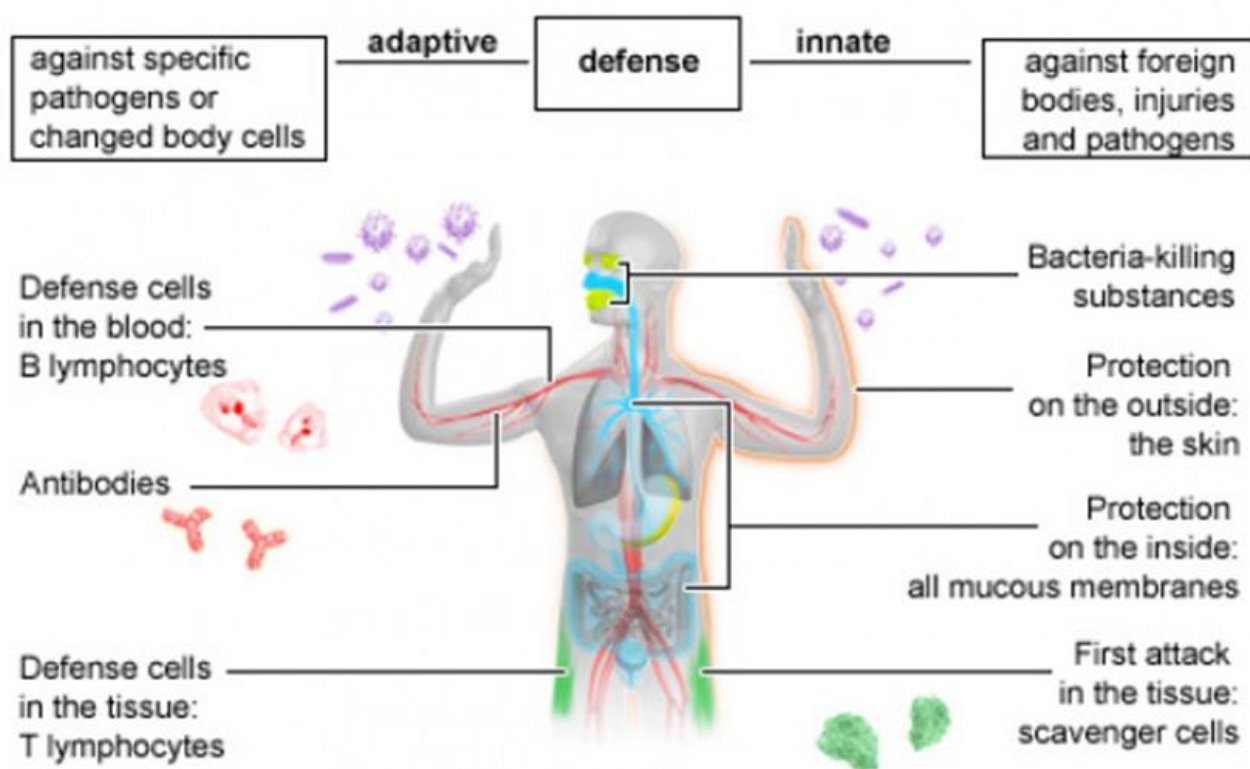


Рис. 1.2. Схематичне зображення захисних механізмів організму людини [4].



Вроджений імунітет забезпечує першу лінію захисту, яка поділяється на дві категорії – фізичні/хімічні бар'єри та неспецифічна стійкість. Вроджений імунітет однаково реагує на всі мікроби та сторонні речовини, тому його називають «неспецифічною» імунною системою.

Фізичні бар'єри, включаючи шкіру та слизову оболонку травного та дихального трактів, допомагають усунути патогенні мікроби та запобігти інфекціям тканин та/або крові. Крім того, компоненти, які виділяються шкірою або слизовою оболонкою: піт, слина, сльози, слиз, тощо, створюють основний бар'єр проти проникнення патогенних чинників. Так бактерії, що потрапили на шкіру, видаляються при злущуванні епідермісу (утворення лупи, лущення при деяких інфекційних захворюваннях). Слиз, що виділяється стінками багатьох внутрішніх органів, діє як захисний бар'єр, що перешкоджає прикріпленню бактерій до епітеліальних клітин. Мікроби та чужорідні частинки, захоплені слизом, видаляються механічним шляхом – за рахунок руху війок епітелію, з кашлем та чханням. Волоски всередині носової порожнини, а також серумен (вушна сірка) також затримують патогени та забруднювачі навколишнього середовища. Механічний захист доповнюється секреторною (видільною) діяльністю шкірних залоз: потових та сальних [5]. Молочна кислота поту і ненасичені жирні кислоти сальних залоз проявляють активну протимікробну дію. Багато рідин, вироблених організмом (секрети організму), містять бактерицидні компоненти: лізоцим у сльозах, носових виділеннях та слині, кислота в шлунковому соку, продукти розщеплення жирних кислот у тонкій кишці, спермін і цинк у спермі, лактопероксидаза у молоці. А, наприклад, сеча та вагінальні виділення, знищують мікроорганізми, створюючи умови низького рН.

На першому етапі імунної відповіді захоплений у процесі фагоцитозу збудник переробляється макрофагом та в імуногенній формі виводиться його антиген на поверхню (презентація антигену). При цьому фагоцити розпізнають і зв'язують патогени, а потім використовують плазматичну мембрану, щоб оточити і поглинути збудників всередині клітини. У

результаті утворюється окремий внутрішній відділ - фагосома, який згодом зливається з іншим типом клітинного відділу - лізосомаю. Травні ферменти, присутні всередині лізосом, остаточно знищують патогенні провокатори, розбиваючи їх на фрагменти. Перетравлення патогенів усередині фагосоми виробляє неперетравлені матеріали та антигенні фрагменти. Неперетравлені матеріали видаляються шляхом екзоцитозу [6]. Особлива роль надалі належить активації Т-хелперів, яка відбувається при розпізнаванні Т-хелпером відповідного антигенного комплексу на поверхні макрофагу (антиген-презентуючої клітини). Внаслідок цього контакту Т-хелпери починають ділитися і після кількох поділів поділяються на дві популяції. Одна активізує розвиток гуморальної імунної відповіді (вироблення імуноглобулінів та антитіл), а інша є необхідним компонентом активації клітинного імунітету (цитотоксичні Т-лімфоцити) [6]. Надалі цитотоксичні Т-лімфоцити постійно циркулюють по всьому організму, чому сприяє термін їхнього життя (місяці та роки). Завдяки постійній циркуляції лімфоцити дають швидку реакцію-відповідь у потрібному місці, здійснюючи руйнування клітин, інфікованих вірусами.

Класика імунології до клітинних неспецифічних факторів захисту відносить дві категорії клітин: фагоцити й природні кілери (ПК). Причому, розрізняють фагоцити професійні й факультативні. Професійні фагоцити - це поліморфноядерні нейтрофіли (мікрофаги), моноцити крові й макрофаги тканин (клітини мікроглії нервової тканини, макрофаги печінки, сполучної тканини, альвеолярні макрофаги легенів, остеобласти кісткової тканини). Мікрофаги забезпечують захист переважно від піогенних бактерій, макрофаги – від бактерій та вірусів, а також внутрішньоклітинних патогенних найпростіших. До факультативних фагоцитів належать фібробласти сполучної тканини, ендотеліоцити синусів селезінки та печінки, ретикулярні клітини кісткового мозку, селезінки, лімфатичних вузлів, клітини Лангерганса та еозинофіли крові. Ці клітини мають слабку фагоцитарну активність [5].

Тобто, фагоцитоз – процес активного поглинання чужорідного агента – здійснюється в 3 стадії:

1 - адгезія часточок або молекул на фагоциті;

2 - поглинання фагоцитом твердих або розчинених часточок, формування фагосоми, яка зливається з лізосомами клітини, утворюючи фаголізосому;

3 - стадія перетравлення, у якій поглинені речовини під впливом лізосомальних ферментів піддаються дезінтеграції [5].

Мікробні клітини зазвичай гинуть у фагоцитах протягом кількох хвилин.

### **1.3. Специфічні клітинні та гуморальні захисні чинники шкіри та слизових оболонок**

За реакціями запалення, якщо вони не змогли нейтралізувати збудників, розвивається спеціалізована захисна властивість організму – імунна відповідь, яка послідовно запускає багаторівневу імунну реакцію на збудника. В цьому полягає суть «специфічного імунного захисту» - імунна відповідь на конкретний збудник. Розвиток специфічних імунних реакцій потребує взаємодії практично всіх видів клітин імунної системи.

Специфічний захист відбувається за рахунок вироблення антитіл (гуморальний імунітет), або ефektorних імунокомпетентних клітин (клітинний імунітет).

Специфічні та неспецифічні механізми резистентності не існують ізольовано, вони тісно пов'язані між собою.

У світовій медицині останнім часом набуває розвитку знання про т.з.  $\beta$ -Т-лімфоцити, які відрізняються від «звичайних»  $\alpha$ -Т-лімфоцитів Т-клітинним рецептором (ТКР).  $\beta$ -Т лімфоцити вважаються лімфоцитами слизових оболонок. Вони, не відрізняючись специфічністю по відношенню до антигену, відіграють роль першого імунного бар'єру [6].

Природні кілери (ПК) займають активну позицію в неспецифічному захисті організму людини у вигляді прямої цитотоксичної дії – цитолізі клітин трансплантату, пухлинних клітин, клітин, які інфіковані вірусом.

Слід зауважити, що позаклітинні механізми захисту реалізуються кількома шляхами:

- Система білків комплементу є найважливішим чинником захисту серед циркулюючих білків крові. Цей комплекс у процесі низки каскадних реакцій набуває здатність «продірявлювати» клітинну мембрану бактерій і цим вбивати чужорідні клітини.

- Лізини (білки плазми крові), що вбивають переважно грам-позитивні бактерії, відносяться до гуморальних факторів захисту, проте активні лізини лише у присутності достатньої кількості іонів кальцію.

- Природні антитіла є в сироватці крові незалежно від проникнення в організм чужорідних мікробів. Ці антитіла, реагуючи з різними мікроорганізмами, спричиняють нейтралізацію їх токсинів.

- Інтерферони виробляються лейкоцитами та макрофагами у відповідь на вплив вірусів (а також деяких найпростіших, бактерій та рикетсій). Це антивірусні агенти широкого спектра дії. Синтезований інтерферон виділяється у міжклітинний простір, де зв'язується з рецепторами сусідніх клітин. Це стимулює синтез білків, які блокують розмноження вірусів [8].

Позаклітинне руйнування збудника може відбуватися під дією понад 60 активних білків, що входять до гранул лейкоцитів. Активні білки у процесі дегрануляції вивільняються у зовнішні тканини із гранул лейкоцитів.

У слизових оболонках знаходиться значна частка активованих В-лімфоцитів. Лімфоцити, які щойно сформувалися, т.з. «наївні» В-лімфоцити, несуть на своїй поверхні специфічні антигенрозпізнавальні рецептори М-імуноглобуліни, а також специфічний набір кластерів диференціювання (Cluster Differentiation, CD): CD19, CD20, CD21, CD22, CD23. З кісткового мозку наївні В-лімфоцити потрапляють у кров, а потім в периферичні органи

імуногенезу, де відбувається їх активація, бласттрансформація та проліферація. У ході подальшого диференціювання клітин утворюються плазмоцити, які продукують антитіла [16].

Отож, клітинну імунну відповідь забезпечують Т-лімфоцити (тимусні). Серед лімфоцитів є спеціальними «клітинами пам'яті», які після контакту з антигеном вертаються в неактивний стан, але зберігають інформацію (пам'ять) про чужорідну речовину, що подіяла. Вони постійно надходять у кров і лімфу.

Гуморальна імунна відповідь забезпечується імуноглобулінами або антитілами, що виробляються В-лімфоцитами. За рахунок гуморального імунітету відбувається знищення самих збудників та нейтралізація їх токсинів, що перебувають у міжклітинному просторі та на слизових. Специфічна нейтралізація здійснюється за рахунок приєднання антитіл до антигенів з утворенням розчинних і нерозчинних циркулюючих комплексів (ЦВК), які активують захисну систему білків комплементу, підвищують фагоцитарну активність макрофагів і нейтрофілів, посилюють специфічну цитотоксичну дію Т-лімфоцитів [16].

Встановлено низку закономірностей динаміки накопичення антитіл після першого та повторного впровадження антигену. Перший пік концентрації антитіл (з'являється через кілька днів) - прихований період імунної відповіді - зумовлений посиленням синтезом імуноглобуліну М (IgM). Після другого впровадження амплітуда антигену стає більшою, відповідь триває довше і пояснюється зростанням синтезу імуноглобуліну G (IgG). Формування стійкого імунітету до збудників пов'язані з утворенням антитіл імуноглобуліну класу G [16].

Клітинні та гуморальні фактори активно доповнюють один одного.

Останні 30-40 років інтенсивно розробляється концепція місцевого імунітету. Місцевий імунітет є складним комплексом специфічних захисних реакцій різної природи, який сформувався в процесі еволюції та спрямований на захист покривів організму, що безпосередньо сполучаються із зовнішньої

середовищем [13]. Місцевий імунітет є нерозривною та підпорядкованою частиною загального імунітету організму. Він є одним з механізмів гомеостазу, який забезпечує захист організму від чужорідних біологічних об'єктів, власних клітин із зміненою генетичною інформацією та аутоантигенів.

Адаптивна імунна система - це прямий спосіб боротьби з мікробами. Такий захист включається, коли вроджена імунна система не може впоратись з патогеном. Адаптивний імунний захист (АІЗ) спеціально націлений на тип мікроба, який викликає інфекцію. Але для цього даний патоген спочатку треба ідентифікувати. АІЗ реагує повільніше, ніж вроджена імунна система, але точніше. Він також має перевагу в здатності «запам'ятовувати» мікроби, тому наступного разу, коли відомий патогенний чинник зустрічається, адаптивна імунна система реагує швидше. Ця пам'ять є причиною того, що на деякі хвороби можна захворіти лише раз у житті, а повторна інфекція організму доволі часто навіть не помічається або протікає з легшою симптоматикою.

Механізми специфічного імунного захисту досить складні. Третя лінія захисту, спрямована на усунення специфічних патогенів, або адаптивна (набута) імунна відповідь, відбувається зусиллями двох типів білих кров'яних тілець (лімфоцитів) – В-лімфоцитами (В-клітини) і Т-лімфоцитами (Т-клітини). В-клітини беруть участь в опосередкованих антитілом імунних відповідях (гуморальний імунітет), тоді як Т-клітини - у клітинно-опосередкованих імунних відповідях. Складовим елементом специфічного імунного захисту є в т.ч. антитіла (крові та інших рідин організму).

Т-лімфоцити (Т-клітини, «Т» - «тимус») виробляються в кістковому мозку, через кровоток переміщуються до тимуса, де вони дозрівають. Т-клітини виконують три основні завдання:

- використовують хімічні носії для активації інших клітин імунної системи, для запуску АІЗ (Т-хелпери);

- виявляють клітини, інфіковані вірусами або пухлинними клітинами, і знищують їх (цитотоксичні Т-клітини);
- деякі Т-хелпери стають Т-клітинами пам'яті після контакту з інфекцією. Відбувається специфічне запам'ятовування конкретних патогенів з метою подальшого активування миттєвого адаптивного імунного захисту на них [5].

До Т-залежних антигенів належать більшість антигенів. Це такі антигени, які нездатні активувати В-лімфоцити за відсутності другого сигналу, який надходить від Т-хелперів. Тимус-незалежні антигени можуть активувати В-лімфоцити та викликати їх бласттрансформацію та поділ без участі іншого сигналу. До таких антигенів відносяться високомолекулярні полісахариди мікроорганізмів, які перехресно зв'язуються з поверхневими імуноглобуліновими рецепторами В-лімфоцитів.

В-лімфоцити (В-клітини, «В» - «brain», «кістковий мозок») утворюються в кістковому мозку, дозрівають там, стають спеціалізованими клітинами імунної відповіді. Як і Т-клітини, існує багато різних типів В-клітин, які відповідають певним мікробам. В-клітини активуються Т-хелперами: Т-хелпери контактують з В-клітинами, які відповідають тим самим мікробним агентам, що й вони. Це активує В-клітини до розмноження та трансформації в плазматичні клітини. Плазматичні клітини швидко виробляють дуже велику кількість антитіл і викидають їх у кров. Оскільки активуються лише В-клітини, які відповідають атакуючим мікробам, виробляються лише ті антитіла, в яких є потреба. Деякі з активованих В-клітин перетворюються на клітини пам'яті і стають частиною «пам'яті» адаптивної імунної системи. Різні клітини адаптивної імунної системи контактують або безпосередньо, або через розчинні хімічні комплекси - цитокіни (малі білки) [15].

Тобто при імунитеті, опосередкованому антитілами, В-клітини активуються, лише тоді, коли зіштовхуються з «відомим» антигеном. Далі активовані В-клітини поглинають і перетравлюють антиген, після чого на їх

поверхні з'являються антигенні фрагменти, пов'язані з МНС (основним комплексом гістосумісності). Комбінація антиген-МНС додатково активує Т-клітини-хелпери, які, у свою чергу, секретують цитокіни (інтерлейкіни), щоб ініціювати ріст і дозрівання антиген-презентуючих В-клітин у В-клітини, що продукують антитіла (плазматичні клітини) [15].

У клітинно-опосередкованому імунитеті Т-клітини активуються, коли вони зіштовхуються з антиген-презентуючими клітинами, такими як В-клітини або дендритні клітини. Далі активовані Т-клітини виділяють цитокіни, які додатково запускають виробіток та дозрівання Т-клітин. Т-клітини, які дозрівають у цитотоксичні або Т-клітини-кілери, переважно знищують клітини, інфіковані патогенами, пошкоджені клітини та ракові клітини, розриваючи клітинну мембрану. Тоді як Т-клітини, які дозрівають у хелперні Т-клітини, сприяють виконанню опосередкованих антитілом імунних відповідей В-клітинами.

Деякі Т-клітини, які дозрівають у регуляторні Т-клітини, допомагають припинити імунну відповідь і підтримувати гомеостаз імунної системи, коли загроза усунена. Крім того, деякі Т-клітини, які дозрівають у Т-клітини пам'яті, запам'ятовують патоген і починають негайну реакцію, коли організм стикається з тим самим патогеном вдруге [15].

Доволі цікаву специфічну функцію захисту у зовнішніх секретах організму виконує секреторний імуноглобулін А (IgA). Він міститься в секретах і на слизових оболонках слинних залоз, носа, рота, бронхів, піхви, кишківника, сечоводів, сечового міхура. Секреторний імуноглобулін А блокує накопичення та розмноження на слизовій оболонці бактерій шляхом блокади поверхневих антигенів бактерій, за допомогою яких вони прикріплюються до слизової оболонки органів.

Антитіла - це сполуки, які циркулюють у крові. Виробляються імунною системою для боротьби з мікробами та сторонніми речовинами. Зрозуміло, що антитіла швидко реагують на певні види токсинів і патогенів («антигени»), приєднуючись до них, та деактивуючи останніх, створюючи



міцні сполуки з іншими клітинами імунної системи, ініціюючи швидку відповідь адаптивної імунної системи.

Антитіла, що виробляються плазматичними клітинами, виділяються в кров, де виконують свої функції. Наприклад, утворюючи комплекс антиген-антитіло, антитіла можуть перешкоджати зв'язуванню антигенів з клітинами-господарями, що призводить до запобігання інфекції. Антитіла також зв'язують і позначають патогени для знищення шляхом фагоцитозу. Комплекс антиген-антитіло може ініціювати серію сигнальних подій для активації білків комплементу, які, у свою чергу, вбивають патогени, розриваючи їх клітинну мембрану. Білки комплементу також викликають запальну реакцію, що призводить до накопичення лейкоцитів у місці інфекції.

Антитіла виконують три основні функції:

- нейтралізують мікроби, наприклад, шляхом безпосереднього приєднання до поверхні клітин вірусів чи бактерій або шляхом приєднання до їхніх токсинів. Це запобігає закріпленню мікробів на звичайних клітинах тіла та інфікуванні їх;
- активують інші клітини імунної системи, прикріплюючись до їх поверхні;
- активують білки, які допомагають у відповіді імунної системи.

#### **1.4. Запальні процеси шкіри, причини виникнення, діагностика, лікування**

Шкіра може бути піддана різноманітним запальним процесам, які можуть виникати з різних причин. Ось деякі з найпоширеніших запальних процесів шкіри [1]:

- **Дерматит:** Це загальна назва для запальних захворювань шкіри, таких як контактний дерматит, atopічний дерматит тощо.
- **Акне:** Запальний процес, який відбувається в фолікулах волосся через забруднення пор, бактерії і надмірну продукцію себуму.

- Розацеа: Хронічне запалення, яке часто впливає на обличчя і викликає почервоніння шкіри, розширені капіляри і пухлини.
- Екзема (атопічний дерматит): Хронічне захворювання, що призводить до свербіжу, червоних плям і вологих висипів.
- Псоріаз: Хвороба, при якій відбувається швидке подрібнення клітин шкіри, що викликає висипання, які можуть бути білі, сріблясті або червоні.
- Фурункул: Запальний процес, який розвивається навколо волосяного фолікула і зазвичай викликає біль і нагноєння.
- Іритація і свербіж: Запалення, яке може виникнути від різних подразників, таких як хімічні речовини, тертя або алергії.
- Лупус: Аутоімунне захворювання, яке може впливати на різні органи, включаючи шкіру, і викликати запальні реакції.

Ці захворювання можуть мати різний характер і вимагати різної терапії. Тому якщо виникає підозра на запальний процес шкіри, важливо звернутися до лікаря для діагностики і призначення лікування.

Запальні процеси шкіри можуть виникати з різних причин, і їх виникнення може бути спричинене комбінацією генетичних, середовищних та імунологічних факторів. Ось деякі загальні причини виникнення запальних процесів шкіри:

- 1) Генетичні – схильність до різних захворювань шкіри, таких як atopічний дерматит чи псоріаз, може бути унаслідок генетичних факторів.
- 2) Імунологічні порушення – порушення імунної системи може призвести до неправильних реакцій на зовнішні подразники, що викликає запальну реакцію.
- 3) Алергії – взаємодія з алергенами, такими як хімічні речовини, рослини, їжа або деякі медикаменти, може викликати алергічні реакції і запальні процеси.

- 4) Інфекції – це бактеріальні, вірусні або грибкові інфекції шкіри, які можуть викликати запальні реакції.
- 5) Екологічні фактори – на стан шкіри людини також впливає діяльність екологічних факторів, таких як ультрафіолетове випромінювання, забруднення повітря або екстремальні погодні умови.
- 6) Стрес і психічний стан – фактори, які можуть впливати на фізіологічні процеси в організмі, включаючи стан шкіри.
- 7) Неправильний догляд за шкірою – однією із основних причин є використання агресивних чи несумісних з типом шкіри косметичних засобів або неправильний догляд за шкірою може викликати запальні реакції.
- 8) Хронічні захворювання – деякі хронічні захворювання, такі як лупус або ревматоїдний артрит, можуть впливати на шкіру та викликати запальні процеси.

Важливо визначити конкретну причину конкретного запального процесу, щоб ефективно лікувати та управляти захворюванням шкіри. Якщо у людини є проблеми із шкірою, краще консультуватися із лікарем чи дерматологом для отримання правильної діагностики та лікування [14].

Те, що стосується діагностики запальних процесів шкіри, то вона вимагає уважного клінічного огляду та іноді додаткових досліджень. Дерматолог, лікар, який спеціалізується на захворюваннях шкіри, може проводити такі діагностичні процедури.

Першочергово лікар проводить докладний огляд шкіри, оцінює розташування, розмір, форму та колір висипань, а також будь-які інші симптоми. Важливими є питання, які стосуються загального стану здоров'я, режиму дня, прийому ліків, контакту з алергенами, звичок догляду за шкірою та інших можливих факторів, що можуть впливати на стан шкіри.

У випадках, коли дерматолог потребує більше інформації про структуру тканин, може бути виконана біопсія, під час якої зразок тканини відсилається на лабораторне дослідження [11].

Деякі захворювання шкіри можуть вимагати аналізу крові для визначення рівня певних маркерів або антитіл. У випадках, коли є підозра на алергію, може бути проведено шкірні алергопроби або аналіз крові на алергію (наприклад, Алекс-тест).

Для візуального відстеження змін у стані шкіри можуть бути використані фотографії до і під час лікування.

Після отримання діагнозу лікар може призначити лікування, яке може включати місцеві ліки (креми, мазі), системні препарати (таблетки або ін'єкції), фізіотерапію або інші методи.

Сучасна практика свідчить про широке використання лікарських форм, що наносяться на шкіру і чинять не лише резорбтивну місцеву дію, але і локальну, завдяки удосконаленню реологічних властивостей дерматологічних та лікувальних кремів, мазей та гелів.

Згідно визначення, поданого у Фармацевтичній енциклопедії [16], мазі - (лат. *Unguenta*) – м'яка лікарська форма (ЛФ), призначена для нанесення на шкіру, рани або слизові оболонки. Основу мазі складають лікарська речовина (ЛР) (основний діючий активний фармакологічний інгредієнт), лікарська основа (вазелін, ланолін, нафталан, гліцерин тощо), в якій рівномірно розподілена лікарська речовина, та допоміжні (додаткові) речовини, консерванти, поверхнево-активні речовини (ПАР) та інші складові, дозволені до медичного використання. Мазі повинні відповідати певним показникам якості, безпеки відповідно до вимог сучасної стандартизації та сертифікації: мати певні консистентні властивості, які характеризуються реологічними показниками: пластичністю, в'язкістю, періодом релаксації, від яких значною мірою залежить ступінь фармакодинаміки; мати оптимальну дисперсність лікарських речовин та їх рівномірний розподіл, що гарантує максимальний терапевтичний ефект і незмінність складу при зберіганні; бути стабільними, без сторонніх домішок і з точною концентрацією лікарських речовин [16].

Згідно офіційних джерел інформації, креми (лат. *Cremores*) — це гетерогенні дисперсні системи на основі емульсій, які мають ньютонівський

тип течії та низькі значення реологічних параметрів [16]. За своєю суттю креми є мазями з рідкою дисперсною системою (рідкі за консистенцією мазі). На відміну від мазей, вони краще і скоріше всмоктуються при нанесенні, до їх складу можна вводити незмішувані рідини, в такій формі є можливість регулювання біологічної доступності (БД) складових та запобігти подразливого впливу на шкіру чи слизову оболонку окремих речовин.

Властивості кремів залежать від складу, співвідношення фаз олія/вода або вода/олія, кількості та наявного емульгатора і його хімічних властивостей, способу виготовлення та ін. При підвищенні концентрації дисперсної фази в'язкість системи різко зростає, система желатинується і набуває властивостей гелю.

Гелі (лат. Gela; Gelata – застигаю) [16] – зв'язнодисперсні ультра- та мікрогетерогенні дисперсні системи з газовим та рідким дисперсійним середовищем, які мають деякі властивості твердих тіл, зокрема здатність зберігати форму, деяку міцність, пластичність, частіше еластичність. Фармацевтичні гелі широко застосовують у медичній та косметичній практиці при ушкодженні слизової оболонки, опіках тощо. Їх часто ототожнюють із желе, які є гомогенними системами високомолекулярних речовин.

Усі вищеперелічені форми подачі лікарських засобів (ЛЗ) належать до категорії «космецевтики». Космецевтики займають проміжну ланку між косметичними продуктами та фармакологічними препаратами, отож містять висококонцентровані активні інгредієнти, які здатні проникати в глибокі шари шкіри та слизової оболонки й проявляти лікувальні властивості. Тому космецевтичні препарати часто ототожнюють з терміном «лікувальна косметика» (ЛК), або «лікарські косметичні засоби». Основна їх відмінність від звичайних косметичних засобів – наявність лікарських складових, що робить ЛК об'єктом аналізу фармацевтичного сектору відпускаються переважно з аптечних структур.

Гелі характеризуються: наявністю натуральних складників, належністю до професійних засобів, науково доведеною ефективністю, здатністю впливати на всі шари шкіри, лікувальними властивостями та гіпоалергенністю. Адже основною вимогою до будь-яких ЛК є безпека, а також наявність специфічної місцевої дії на непошкоджену шкіру. З цією метою до складу мазей та кремів доволі часто вводять різноманітні біологічно активні речовини (БАР) та їхні комплекси. Доведення гарантованого лікувального ефекту відбувається згідно зі спеціальним порядком проходження доклінічних вивчень та клінічних досліджень, під час яких визначають якість, безпеку, ефективність препарату відповідно до вимог європейської практики зі стандартизації та сертифікації мазей і кремів, особливо вважаючи на те, що до їх складу можуть входити «агресивні» чи токсичні для організму сполуки, зокрема, гормональні препарати. Проходження цих етапів є необхідною передумовою державної реєстрації засобу, а, отже, й вільного та законного обігу на території України.

Шкіра та слизові оболонки постійно потерпають від впливу різних ендогенних і екзогенних факторів, що призводить до розбалансування системи взаємодії мікрофлори та тканин людини. За сучасними даними доказової медицини, це може бути причиною запальних станів, інфекційних чи алергічних захворювань шкіри. Порушення мікробіому шкіри може бути наслідком інфекційних та запальних дерматозів та їх лікування антимікробними засобами, а також причиною шкірної екосистеми. Це призводить до активації умовно-патогенних мікроорганізмів з подальшим виникненням інфекційного захворювання [22].

У сучасній дерматологічній практиці при лікуванні дерматологічних захворювань широко використовують антимікробні та протизапальні засоби, лікування якими може бути тривалим, часто неефективним, із рецидивами. При лікуванні інфекційних процесів можливе використання антибіотиків (пеніциліни, цефалоспорини, макроліди, тетрациклін), які ще більше порушують природний мікробіом шкіри. Доволі часто розробники не

враховують значення рН шкіри в нормі та патології. Порушення мікробіому, відхилення від нормальних показників кислотності шкіри є причиною та наслідком порушень бар'єрної функції шкіри [17].

Для посилення лікувального ефекту, спричиненого внутрішніми змінами певних органів, систем, можемо використовувати гормоновмісні форми. Але самостійне використання таких засобів є недопустимим і має проводитись під пильним наглядом та згідно рекомендацій практикуючого лікаря певної спеціальності. В Україні гормональні мазі та креми наявні як лікарські засоби, косметичні лікарські форми та дієтичні добавки.

## РОЗДІЛ II. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У роботі досліджували вплив гормональних препаратів місцевої дії на бактерицидні властивості шкіри людини. Дослідження проводили у кілька етапів.

Перший етап дослідження включав нанесення культури (непатогенного штаму *E.coli*) на здорову шкіру передпліччя, яка була розділена на 4 квадрати однакової площі. Культуру вносили у II-IV квадрати, I квадрат був контрольним. Після цього здійснювали посів зі шкіри на чашку Петрі з середовищем Ендо: з I та II квадратів через 5 хв після нанесення культури, з III – через 15 хв, з IV – через 45 хв. Чашку залишали у термостаті на 24 години за температури 37 °С. Після цього II–IV квадрати шкіри протягом трьох діб обробляли двічі на добу гормональною маззю Синафлан/Адвантан згідно з інструкцією та повторювали аналогічні дії з нанесенням культури, як і на першому етапі дослідження. Аналізували чисельність колоній кишкової палички на кожному етапі дослідження.

### 2.1. Підготовка культури

Для збору культури використовували стерильні інструменти та посуд в умовах лабораторії. Під час роботи одягали лабораторний халат, рукавички, захисний екран та використовували ламінарний бокс для забезпечення максимально можливої стерильності умов [6].

Для забору матеріалу використовували стерильну ватну паличку, переносили зібраний матеріал на чашку Петрі з середовищем Ендо, яке ми підготували раніше.

За допомогою стерильної ватної палички розподіляли зібраний матеріал по поверхні середовища рівномірно. Після цього закривали чашку Петрі кришкою та поміщали її в термостат за температури 37 °С для росту кишкової палички. Намагались дотримуватись стерильних умов під час збору



та культивування культури для запобігання забрудненню та отримання надійних результатів.

Для зберігання культури ми використовували м'ясо-пептонний бульйон.

## **2.2. Підготовка середовищ**

М'ясо-пептонний бульйон допомагає створити оптимальні умови для зберігання кишкової палички в наукових дослідженнях.

М'ясо-пептонний бульйон готували за наступною методикою і послідовністю:

a) Вибір джерела м'ясного білка: вибирали м'ясний компонент (баранину, і розрізали його на невеликі шматки [28].

b) Автоклавовання м'яса: м'ясо розмістили в автоклаві, додали дистильовану воду і піддали високому тиску та температурі, щоб вимити з м'яса всі бактерії і мікроорганізми.

c) Фільтрація і стерилізація: відфільтрували отриманий м'ясний сік, щоб вилучити частки м'яса. Після цього стерилізували сік, використовуючи автоклав, щоб забезпечити відсутність бактерій.

d) Додавання пептону: додавали пептон, який є джерелом амінокислот, для забезпечення живлення кишкової палички.

e) Регулювання рН: налаштували рН середовища на оптимальне значення для росту кишкової палички, яке лежить в межах 6,8-7,2.

f) Стерилізація: стерилізували підготовлене середовище, використовуючи автоклав, щоб забезпечити відсутність забруднень.

Як вище було вказано, виконували дослід та вирощували культуру ми на середовищі Ендо, про нього можемо сказати, що це одне з популярних середовищ для культивування бактерій, зокрема кишкової палички (*Escherichia coli*).

Під час приготування середовища Ендо дотримувались наступного алгоритму:

- Приготування компонентів:

Зважили дистильовану воду відповідно до рецепту. Додали підходящі джерела вуглеводів, амінокислот, солей та інших необхідних компонентів в правильних пропорціях.

- Розчинення:

Добре змішали всі компоненти, та розчинили їх у воді. Для підтримання рівноваги рН нам знадобилась додаткова регулювання за допомогою лужного розчину.

- Автоклавування:

Автоклавували середовище при підвищеному тиску та температурі для стерилізації і знищення мікроорганізмів.

- Охолодження:

Охолоджували середовище до температури, при якій ми могли б внести культурну інокуляцію ( близько 45-50°C) [29].

Ось загальний рецепт для приготування середовища Ендо (Endo agar) для культивування бактерій, таких як кишкова паличка:

**Складники:**

-Пептон водний: 10 г

-Лактоза: 10 г

-Гідролізат печінки: 3 г

-Хлорид натрію (сіль): 5 г

-Зелений бромтимоловий лакмус: декілька зерен (для індикації рН)

-Агар-агар: 15 г (для твердого середовища)

-Дистильована вода: 1 л

**Інструкції:**

Підготували стерильні посудини та інструменти для роботи в лабораторії. Використовували ламінарний бокс для стерильної роботи.

Зважили необхідну кількість пептону, лактози, гідролізату печінки, солі і агару згідно зі складом і додали їх в дистильовану воду в підходящій посудині. Ретельно перемішали складники і нагрівали суміш до того часу,

поки вони не розчинились повністю. Додали кілька зерен зеленого бромтимолового лакмусу в суміш. Він використовувався для індикації рН середовища.

Так як ми готували середовище Ендо для культивування в твердій формі, додали агар і добре перемішали, щоб агар розповсюдився рівномірно.

Перевірили рівновагу рН середовища і налаштували її до потрібного діапазону, який зазвичай лежить в межах рН 7,2-7,4. Для цього використовували лужні розчини.

Перенесли суміш в чашки Петрі, дали їй затвердіти. Стерилізували чашки Петрі з середовищем в автоклаві

Готове середовище Ендо використовували для культивування бактерій.

### **2.3. Нанесення культури**

Для нанесення культури бактерій, таких як кишкова паличка, на середовище Ендо, слід дотримуватися наступних кроків:

- Підготовка культури:

Беремо культурний штамп бактерій кишкової палички. Для початку важливо переконатись, що культура бактерій знаходиться в активному фазі росту

- Перенесення культури на досліджувану ділянку та забір матеріалу:

За допомогою стерильного тампона брали культуру бактерій, яка зберігалась в холодильнику та наносили її на підготовлену ділянку тіла. В нашому випадку дослідження ми проводили на руці, яку попередньо розграфили на 4 частинки для того аби повторні дослідження проводились на одній і тій же ділянці для збереження точного результату. Одну з чотирьох частинок залишили контрольною та культуру не наносили, для порівняння результатів. На інші три ми рівномірно нанесли культуру. Забір матеріалу робили через 5, 15 та 45 хв після нанесення за допомогою ватної палички змоченої ізотонічним фізіологічним розчином. При цьому кожного разу

старались робити однакову кількість проходів по ділянці шкіри та таку ж по середовищу Ендо [31].

- Розподілення культури:

Чашки Петрі, у якій знаходиться середовище Ендо розділяємо на 4 частинки та робимо мітки контролю, 5 хв, 15 хв та 45 хв, розпроділяємо культуру бактерій рівномірно по поверхні середовища. Якщо говорити про середовище, то його ми зберігаємо у закритій чашці кришкою до низу, лише перед нанесенням культури ми перевертаємо його та легенько (ні в якому випадку не повністю) привідкриваємо кришку та наносимо культуру.

Важливо! Кожного разу при заборі матеріалу ми використовуємо іншу стерильну ватну паличку.

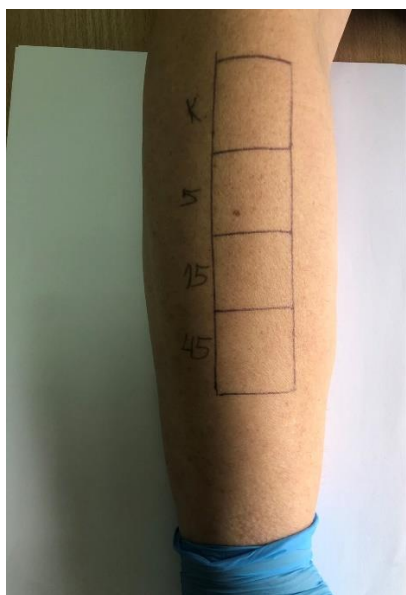


Рис. 2.1. Ділянка тіла на якій буде виконуватись дослідження



Рис. 2.2. Середовище Ендо

- Інкубація:

Після розподілення культури на середовище Ендо, закрили чашку Петрі і помістили її в термостат кришкою до низу на добу. Встановили підходящу температуру – у нас це 37°C.

- Оцінка росту:

Спостерігали за ростом бактерій на середовищі Ендо через 24 години за температури 37 °С. Підраховували чисельність колоній, оцінювали їх колір, розміри, характер поверхні.

#### **2.4. Нанесення гормональних препаратів місцевої дії**

Головною метою нашого дослідження було в'яснити як гормональні препарати впливають на захисні функції нашої шкіри, тому одна група осіб, які досліджувалась використовували такі препарати, як «Адвантан мазь» діючою речовиною якого є метилпреднизолон [35] та «Синафлану мазь», діючою речовиною якого є флуоцинолон ацетоніду [36]. Обидві речовини відносяться до ряду кортикостероїдів.

Тому за добу до проведення повторного дослідження ми нанесли мазь на три частини вже попередньо розграфленої ділянки руки, і лише одну ми знову залишили для контролю. Дослідження ми проводили аналогічно з попереднім ще 3 доби поспіль для того, аби спостерігати динаміку реакції нашої шкіри на вплив гормональних препаратів.

#### **2.5. Дослідження бактерицидних властивостей шкіри після впливу гормональних препаратів місцевої дії**

Бактерицидні властивості шкіри оцінювали за чисельністю колоній кишкової палички, які підраховували через 24 години інкубації у термостаті за температури 37 °С. Порівнювали динаміку росту у посівах, взятих з чотирьох квадратів шкіри упродовж трьох діб використання гормональних препаратів з першим, контрольним, днем. Аналізували також динаміку чисельності у посівах, взятих через 5, 15 і 45 хвилин після нанесення культури на шкіру та порівнювали з контрольним квадратом, на який культуру не наносили.

#### **2.6. Статистична обробка результатів**

Для статистичної обробки отриманих результатів використовували методи варіаційної статистики з визначенням середніх величин та їх похибок.

Аналізували динаміку росту колоній кишкової палички через 24 години культивування за температури 37 °С у контролі та упродовж трьох діб застосування гормональних препаратів місцевої дії.

Для встановлення статистично значущих відмінностей використовували Т-критерій Стьюдента, відмінності вважали достовірними при  $p \leq 0,05$ . Використовували також кореляційний аналіз за Пірсоном; кореляційні зв'язки вважали значимими при  $p \leq 0,05$ .

### РОЗДІЛ III. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ АНАЛІЗ

Початком нашої роботи був контроль середовища, для цього ми зробили посів культури *E.coli* на середовище Ендо і помістили чашку на 24 години у термостат за температури 37 °С. Через добу на агарі штамп кишкової палички утворював характерні з металевим блиском круглі опуклі колонії.

Наступним етапом нашої роботи було дослідження впливу захисних функцій шкіри на культуру без обробки ділянки шкіри будь якими препаратами, які могли б вплинути на її захисні властивості. Згідно з обраним алгоритмом, наносили культуру на три квадрати шкіри передпліччя стерильним тампоном, який занурювали у пробірку з культурою *E.coli* у м'ясо-пептонному бульйоні. Четвертий квадрат був контрольним. Через 5, 15 та 45 хвилин виконували забір зі шкіри стерильними тампонами, змоченими у стерильний ізотонічний фізіологічний розчин. З четвертого – контрольного квадрата виконували аналогічний забір без попереднього нанесення культури. Промарковану чашку з посівом залишали на 24 години у термостаті за температури 37 °С (рис. 3.1).

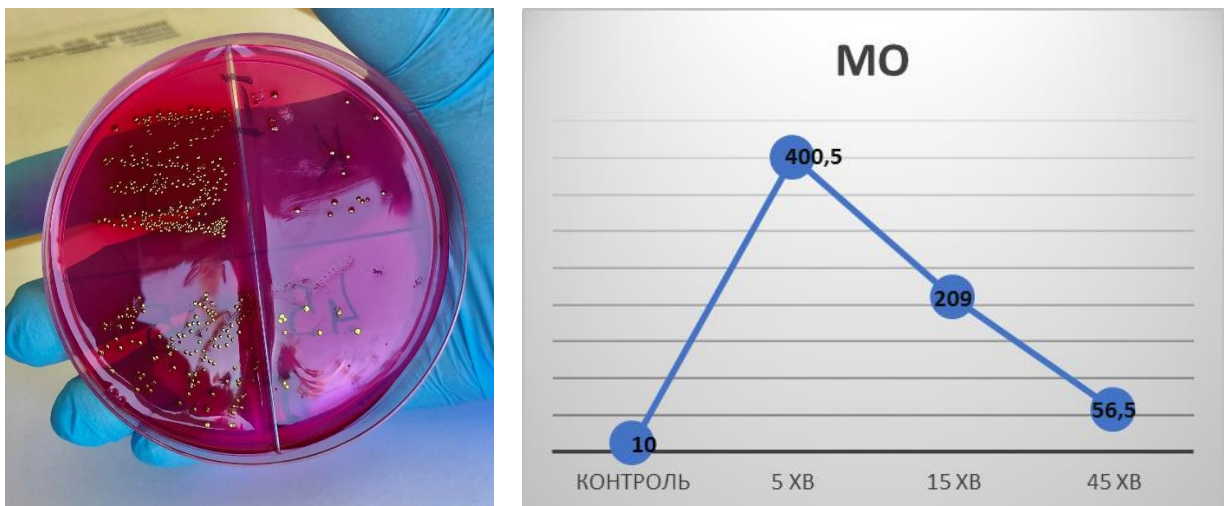


Рис 3.1. Приклад посіву культури з шкіри без обробки гормональним препаратом. На діаграмі показано середні значення кількості колоній (МО) у контролі, через 5, 15, 45 хв після нанесення культури.

Через добу, виконавши обрахунок колоній, отримали наступні результати. У контролі (ділянка шкіри без нанесення культури) виявлено в середньому  $10 \pm 0,87$  МО. Це були поодинокі колонії випуклої форми, круглі, з металевим блиском, що характерно для *E.coli*.

Такий вигляд колоній ми спостерігали на середовищі Ендо, хоча на середовищі ЕМС (Левіна) – колоніям характерний темно-фіолетовий колір, на середовищі Плоскірєва – червоний колір [14].

У наступному секторі чашки (5 хв) у всіх досліджуваних зразках спостерігали значне зростання чисельності колоній, що в середньому становило  $400,5 \pm 68$  МО. Колонії мали характерний, як описувалось вище, вигляд, дещо відрізнялись за розмірами. У цьому секторі спостерігали значну кількість більших за розміром (до 2 мм) колоній (рис. 3.1).

У зразках, взятих через 15 та 45 хвилин після нанесення культури, спостерігали значне зниження чисельності колоній. Так у зразку взятому через 15 хв було виявлено в середньому  $209 \pm 23$  МО. В останньому секторі чашки спостерігали ще більше зменшення чисельності колоній –  $56,5 \pm 4,3$  МО.

Отже, чим довше перебувала культура на шкірі, тим менший ріст колоній спостерігали через добу культивування. Така динаміка може свідчити про досить ефективний захист шкіри по відношенню до *E.coli*.

Подальша наша робота полягала в тому, щоб в'яснити як гормональні препарати місцевої дії впливають на захисні властивості шкіри людини, та чи пришвидшиться, чи, навпаки, сповільниться процес загибелі культури кишкової палички, якщо шкіра була попередньо оброблена цими препаратами.

Для чого одна група осіб які досліджувалися використовували мазь Адвантан, діючою речовиною якого є метилпреднізолон ацепонат. Інша група для застосування обрали мазь Синафлану, діючою речовиною якого є флуоцинолон ацетонід. Обидві діючі є кортикостероїдами, дію яких ми хочемо надалі встановити.



Першою розглянемо дію мазі Синафлану. Для цього, за добу до проведення дослідження, ми нанесли її згідно з інструкцією до застосування препарату, на ділянку шкіри, яку будемо досліджувати.

Результат який ми отримали внаслідок росту колоній під дією гормонального препарату через добу після нанесення мазі є наступним. У контролі (ділянка шкіри без нанесення культури) *E.coli* не виявлено (рис.3.2.).

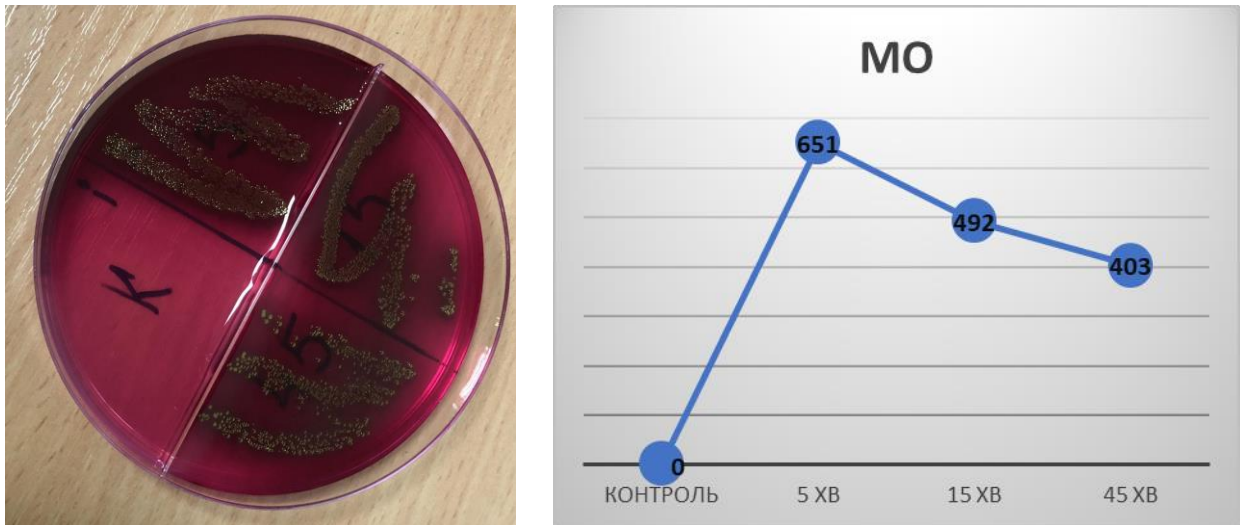


Рис 3.2. Приклад посіву культури з шкіри після першого дня використання мазі Синафлану. На діаграмі показано середні значення кількості колоній (МО) у контролі, через 5, 15, 45 хв після нанесення культури

У наступному секторі чашки (5 хв) у всіх досліджуваних зразках спостерігали значне зростання чисельності колоній, що в середньому становило  $651 \pm 74$  МО. Колонії мали типовий для даної культури вигляд, лише дещо відрізнялись за розмірами. У цьому секторі спостерігали значну кількість менших за розміром (до 1 мм) колоній (рис. 3.2).

У зразках, взятих через 15 та 45 хвилин після нанесення культури, спостерігали зниження чисельності колоній. Так у секторі з міткою 15 хв було виявлено в середньому  $492 \pm 48$  МО. В останньому зразку, який було

взяти через 45 хв після посіву спостерігали незначне зменшення чисельності колоній :  $404 \pm 41$  МО.

Динаміка, яку ми спостерігали, може свідчити про негативний вплив гормональних препаратів на захисні функції шкіри по відношенню до *E.coli*.

Після двох днів використання гормонального препарату, ми обрахували кількість колоній яка виросла, та отримали такі результати. У контролі росту колоній *E.coli* не виявлено (рис. 3.3.).

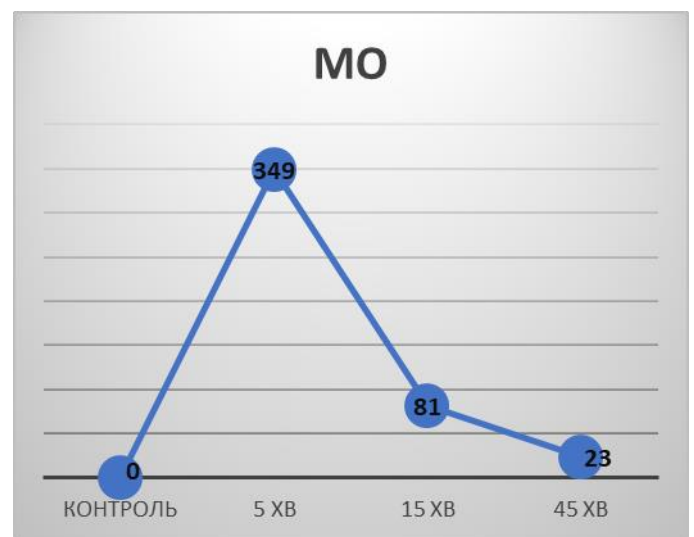
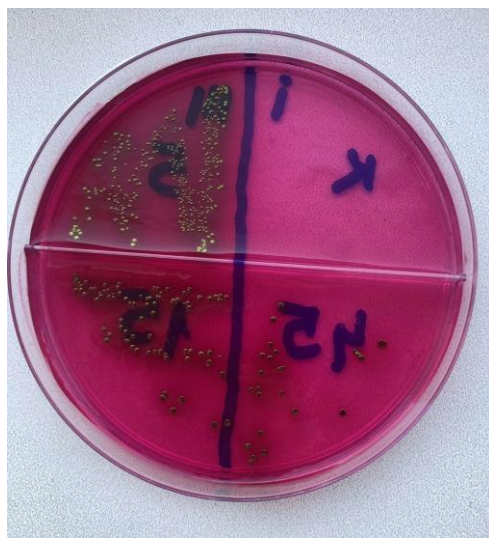


Рис 3.3. Приклад росту культури після другого дня використання мазі Синафлану. На діаграмі показано середні значення кількості колоній (МО) у контролі, через 5, 15, 45 хв після нанесення культури

Через 5 хв після нанесення культури спостерігали значне зростання чисельності росту колоній, що в середньому становило  $349 \pm 37$  МО. Колонії були характерної випуклої форми, з металевим блиском, приблизно однакові за розміром (до 2 мм).

У зразках взятих через 15 та 45 хв після нанесення культури, ми спостерігали різке зниження чисельності колоній. Так у зразку взятому через 15 хв в середньому виявлено  $81 \pm 6,8$  МО. В останньому зразку з міткою 45 хв було встановлено в середньому  $23 \pm 2,1$  МО.

Динаміка, яку ми спостерігали після двох днів використання мазі, може свідчити про те, що пригнічення бактерицидних властивостей шкіри унаслідок використання кортикостероїдів є тимчасовим.

За результатом дослідження, яке ми провели після трьох днів гормональної терапії, ми могли спостерігати, що на відміну від попередніх двох днів найбільший ріст колоній відбувся через 15 хв після нанесення культури (рис.3.4.).

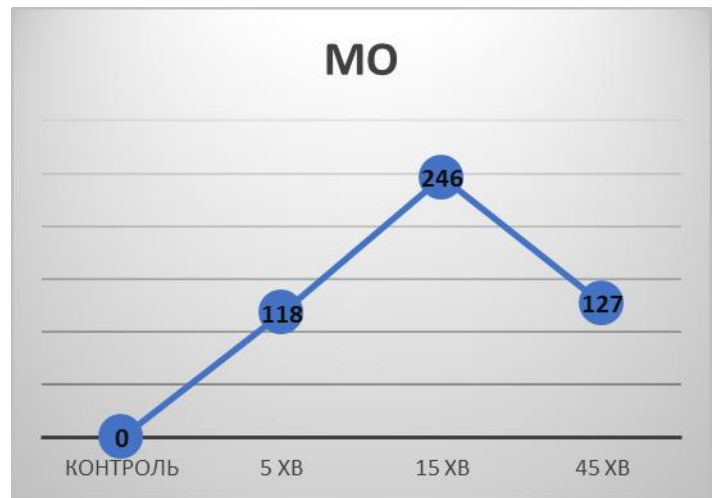
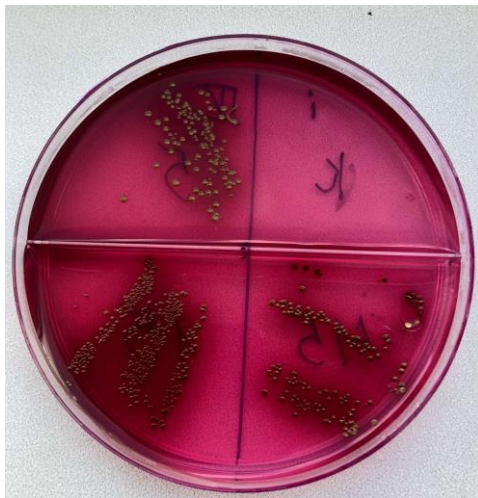


Рис 3.4. Приклад росту культури після третього дня використання гормонального препарату. На діаграмі показано середні значення кількості колоній (МО) у контролі, через 5, 15, 45 хв після нанесення культури

Загалом у секторі чашки з міткою 5 хв у всіх досліджуваних зразках спостерігали колонії, чисельність яких в середньому становила  $118 \pm 12$  МО.

Через 15 хв після посіву *E.coli* ми зафіксували найбільшу кількість колоній, які вирости, що становили в середньому  $246 \pm 32$  МО. А у зразку взятому через 45 хв після посіву культури ми могли спостерігати їх зменшення, що в середньому налічувало  $127 \pm 12$  МО.

Така динаміка може свідчити про те, що кортикостероїди приглушують бактерицидні властивості шкіри по відношенню до впливу мікроорганізмів.

Наступним етапом нашої роботи було дослідити вплив ще одного гормонального препарату місцевої дії – мазі Адвантан, діючою речовиною

якого є метилпреднізолон ацепонат, що також відноситься до групи кортикостероїдів.

Проаналізувавши діючу речовину Адвантану, варто зазначити, що препарат за класифікацією місцевих стероїдних препаратів за силою дії відноситься до класу слабких препаратів [12]. Застосовують його при слабо виражених запальних явищах.

Через добу, виконавши обрахунок колоній, отримали наступні результати. У контролі колоній *E.coli* не виявлено.

У наступному секторі чашки (5 хв) у всіх досліджуваних зразках спостерігали значне зростання чисельності колоній, що в середньому становило  $893 \pm 92$ МО. Колонії були випуклої форми, круглі, з металевим блиском. Спостерігалась значна кількість менших за розміром (до 1 мм) колоній (рис. 3.5).

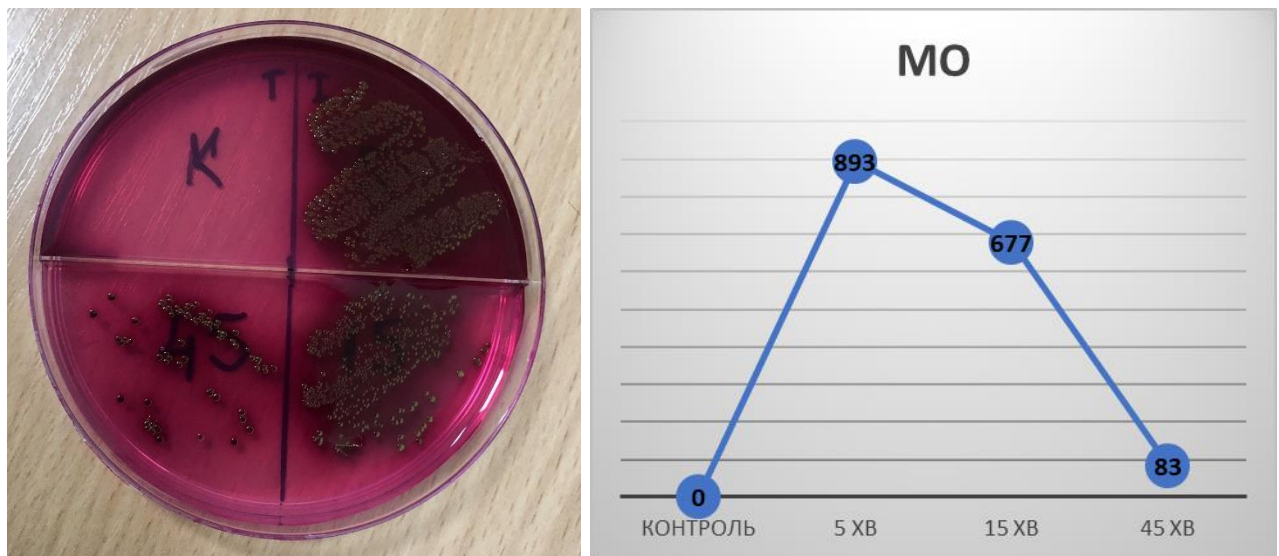


Рис 3.5. Приклад росту культури після першого дня використання Адвантану. На діаграмі показано середні значення кількості колоній (МО) у контролі, через 5, 15, 45 хв після нанесення культури

У зразку взятому через 15 хвилин після нанесення культури, спостерігали зниження чисельності колоній. Так у зразку взятому через 15 хв в середньому було виявлено  $677 \pm 71$  МО. В останньому секторі чашки на

якому був зроблений посів через 45 хв спостерігали значне зменшення чисельності колоній –  $83 \pm 6,2$  МО.

Така динаміка активного росту колоній в перші 5 хв може свідчити про негативний вплив гормонального препарату на захисні властивості шкіри по відношенню до *E.coli*.

Після двох діб користування Адвантаном, ми обрахували чисельність колоній яка виросла, та отримали такі результати. У контролі росту колоній *E.coli* не виявлено (рис. 3.6).



Рис 3.6. Приклад росту культури після другого дня використання гормонального препарату. На діаграмі показано середні значення кількості колоній (МО) у контролі, через 5, 15, 45 хв після нанесення культури.

Через 5 хв після нанесення культури спостерігали зростання чисельності росту колоній, що в середньому становило  $402 \pm 39$  МО. Колонії мали характерну форму та приблизно однакові за розміром (рис. 3.6).

У зразках взятих через 15 та 45 хв після нанесення культури, ми спостерігали активне зниження кількості колоній. Так у зразку взятому через 15 хв в середньому виявлено  $245 \pm 19$  МО. В останньому секторі з міткою 45 хв було встановлено в середньому  $75 \pm 6,3$  МО (рис. 3.6).

Динаміка, яку спостерігали, на другий день використання мазі може свідчити про негативну дію кортикостероїдів на захисний бар'єр шкіри.

Після трьох днів використання гормонального препарату ми могли спостерігати таку динаміку росту колоній *E.coli*. В контролі колоній кишкової палички не виявлено (рис. 3.7).

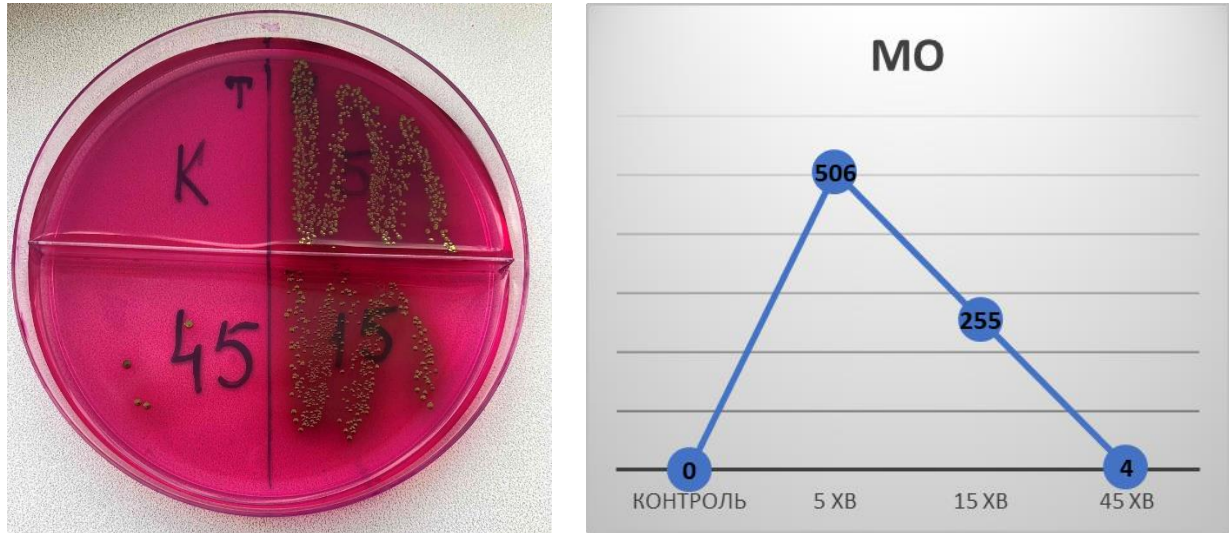


Рис 3.7. Приклад росту культури після третьої доби використання гормонального препарату. На діаграмі показано середні значення кількості колоній (МО) у контролі, через 5, 15, 45 хв після нанесення культури.

У посіві зробленому через 5 хв після нанесення культури спостерігали активний ріст чисельності колоній, який в середньому становив  $506 \pm 48$  МО.

У третьому секторі (15 хв) могли спостерігати зменшення кількості колоній *E.coli*, що в середньому нараховували  $255 \pm 18$  МО (рис. 3.7).

Вже через 45 хв після посіву ми могли зафіксувати активний спад чисельності колоній, в середньому виявлено  $4 \pm 0,36$  МО (рис. 3.7).

Таку динаміку можемо пояснити тим, що застосування гормональних препаратів місцевої дії чинить короточасний негативний вплив на бактерицидні властивості шкіри людини.

### 3.2. Кореляційний аналіз отриманих результатів

За допомогою кореляційного аналізу встановлювали закономірні значимі взаємозв'язки між отриманими результатами упродовж чотирьох діб досліджень (контроль та вплив гормональних препаратів), а також під час

порівняння впливу різних гормональних препаратів місцевої дії (синафлану та адвантану). Кореляції вважали значимими при  $p \leq 0,05$ .

Кореляційний аналіз, проведений у загальній вибірці, дозволив встановити значимі кореляційні зв'язки чисельності колоній у контролі з днем дослідження ( $R = -0,54$ ;  $p \leq 0,05$ ) (рис. 3.8.).

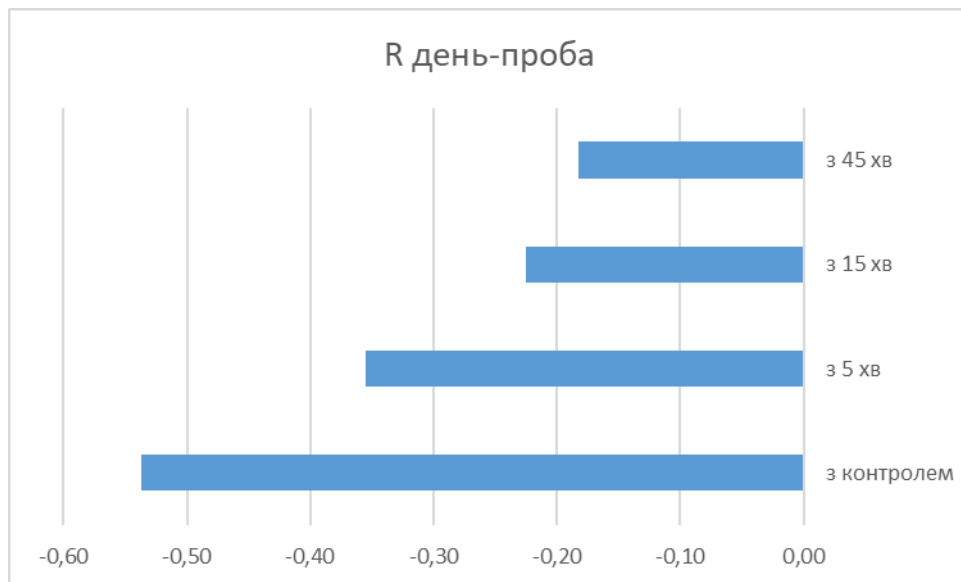


Рис. 3.8. Кореляційний аналіз показників чисельності колоній та етапу дослідження.

Аналізували за допомогою кореляційного аналізу залежність чисельності колоній у різних пробах упродовж всіх етапів дослідження. Встановили помірні ( $p \geq 0,05$ ) обернені кореляції між показниками контролю та посівах, взятих через 5, 15 та 45 хв (рис. 3.8).

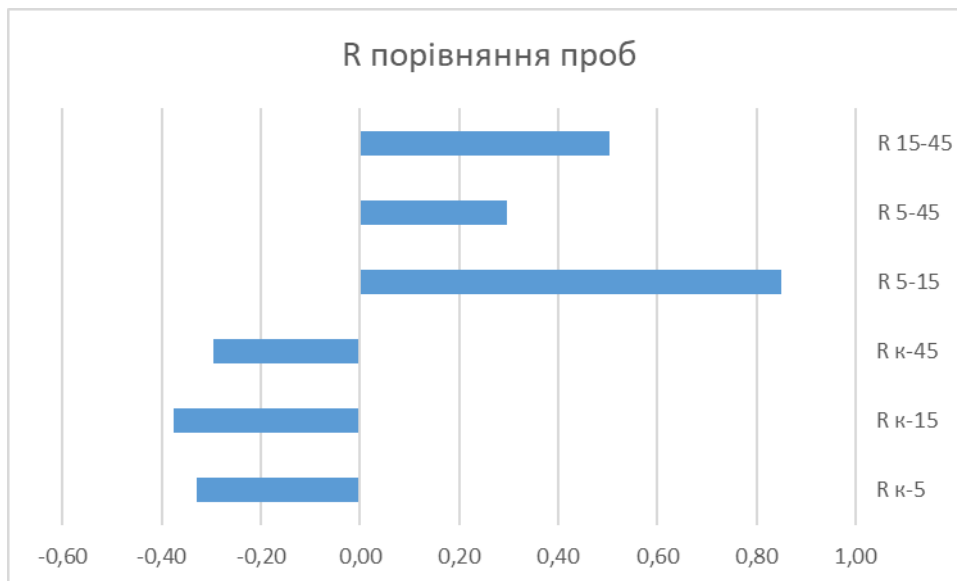


Рис. 3.9. Кореляційний аналіз показників чисельності колоній у різних пробах упродовж усіх етапів дослідження.

Виявлено значимі прямі кореляції ( $p \leq 0,05$ ;  $R = 0,85$ ) показників чисельності колоній з посівів, взятих через 5 хв та 15 хв; помірні прямі кореляції показників, отриманих з посівів взятих через 5 хв та 45 хв, а також через 15 хв та 45 хв (рис. 3.9).

Проводили кореляційний аналіз чисельності колоній, які отримали у результаті культивування протягом 24 годин за температури  $37^\circ\text{C}$  упродовж всіх етапів дослідження та при порівнянні впливу двох видів гормональних препаратів (рис. 3.9).

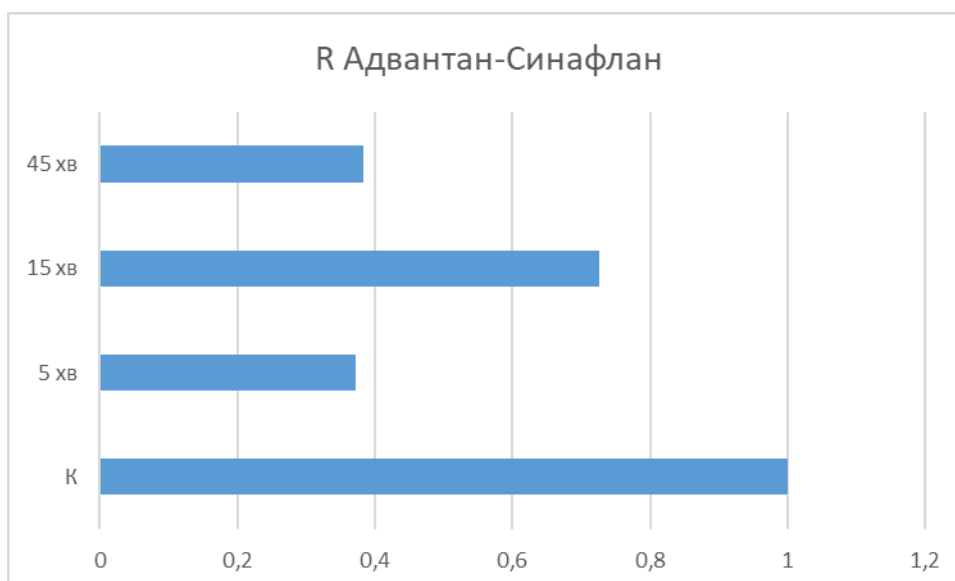




Рис. 3.10. Кореляційний аналіз показників чисельності колоній у різних пробах упродовж усіх етапів дослідження.

Встановили, що в обох випадках спостерігаються закономірні зміни показників у всіх тестових ситуаціях. Зокрема виявлено високі прямі кореляційні зв'язки у контролі та у пробах, взятих через 15 хв після нанесення культури на шкіру ( $p \leq 0,05$ ), а також помірні прямі кореляційні зв'язки у пробах, взятих через 5 та 45 хв після нанесення (рис. 3.10).

## ВИСНОВКИ

Досліджували вплив гормональних препаратів місцевої дії на бактерицидні властивості шкіри. Бактерицидні властивості шкіри оцінювали за її впливом на культуру *E.coli*, яку наносили на поверхню шкіри на 5, 15 та 45 хвилин.

1. Виконавши дослідження без дії гормонального препарату, у зразках, взятих через 15 та 45 хвилин після нанесення культури, спостерігали значне зниження чисельності колоній, порівняно з зразком, взятим через 5 хв – динаміку, яка свідчила про досить ефективний захист шкіри по відношенню до *E.coli*.

2. Після проведення гормональної терапії Синафланом, в першу добу ми спостерігали активний ріст колоній кишкової палички, що можемо пояснити тим, що дія гормонального препарату негативно впливає на захисні функції шкіри по відношенню до *E.coli*. Однак через дві доби динаміка вже нагадувала ситуацію у контролі. Після трьох діб використання мазі, найактивніший ріст колоній ми спостерігали через 15 хвилин після нанесення культури на шкіру. Така динаміка може свідчити про те, що даний гормональний препарат короткочасно знижує бактерицидні властивості шкіри.

3. Після першої доби використання Адвантану, ми спостерігали схожу динаміку: активний ріст колоній *E.coli*, що доводить негативну дію гормональних препаратів на захисні властивості шкіри. Після проведення триденної терапії Адвантаном, ми налічували велику кількість колоній кишкової палички, проте через 45 хв після нанесення культури відбувся активний спад чисельності колоній, що свідчить про короткочасний негативний вплив на шкіру людини.

4. Провівши кореляційний аналіз чисельності колоній, які отримали у результаті культивування протягом 24 годин за температури 37 °C упродовж всіх етапів дослідження, було виявлено значимі прямі кореляції ( $p \leq 0,05$ ;  $R = 0,85$ ) показників чисельності колоній з посівів, взятих через 5 хв

та 15 хв; помірні прямі кореляції показників, отриманих з посівів взятих через 5 хв та 45 хв, а також через 15 хв та 45 хв. Також провівши кореляційний аналіз чисельності колоній, у якому порівнювали два гормональних препарати місцевої дії, встановили, що в обох випадках спостерігаються закономірні зміни показників у всіх тестових ситуаціях.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Александрова К. В., Рудько Н. П., Макоїд О. Б., Черчесова О. Ю., Васильєв Д. А. Біохімія шкіри та її придатків: навчальний посібник для студентів 3 курсу спеціальності 226 «Фармація, промислова фармація». Запоріжжя: ЗДМУ, 2021. 96 с.
2. Біологічна хімія з біохімічними методами дослідження: підручник / О.Я. Склярів, Н.В. Фартушок, Л.Д. Сойка, І.С. Смачило. Київ : Медицина, 2009. 351 с.
3. Гонський Я. І., Максимчук Т. П., Калинський М. І. Біохімія людини: Підручник. Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. 744 с.
4. Зіменковський Б. С., Ніженковська І. В., Новіков, В. П., Черних, В. П., Калібабчук В. О. Біологічна і біоорганічна хімія: базовий підруч. для студ. вищ. мед. навч. закл. IV рівня акредитації, випр. Київ: Медицина, 2017. 272 с.
5. Імунна система організму. Імунна відповідь. Реакції імунітету. <https://repo.knmu.edu.ua/bitstream/123456789/602/4/662-14.pdf>
6. Клименко А. В., Гулевський С. М., Кіосов О. М., Вакуленко В. В. // Впровадження наукових досягнень університетських клінік у практику охорони здоров'я : зб. тез Всеукр. наук.-практ. конф. (м. Запоріжжя, 26-27 жовт. 2017 р.). – Запоріжжя : ЗДМУ, 2017. – С. 24-25.
7. Космецевтика в аптеці: престижно та прибутково. [http://irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis\\_nbuv/cgiirbis\\_64.exe?C21COM=2&I21DBN=UJRN&P21DBN=UJRN&IMAGE\\_FILE\\_DOWNLOAD=1&Image\\_file\\_name=PDF/farmpr\\_2015\\_12\\_17.pdf](http://irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?C21COM=2&I21DBN=UJRN&P21DBN=UJRN&IMAGE_FILE_DOWNLOAD=1&Image_file_name=PDF/farmpr_2015_12_17.pdf)
8. Кременчуцький Г. М. Крушинська Т. Ю., Степанський Д. О., Юргель Л. Г. та ін. Практичні заняття з медичної мікробіології, вірусології та імунології (Модулі 1, 2). Дніпропетровськ : ДДМА, 2010. 288 с.
9. Лаповець Л. Є., Луцик Б. Д. Посібник з лабораторної імунології. Львів, 2002. 173 с.

10. Люта В. А., Кононов О. В. Мікробіологія. К.: Медицина, 2008. 237 с.
11. Колесник Ю. М. Патогенна дія біологічних факторів на організм людини. Модуль № 1. Загальна патофізіологія. Змістовний модуль : Загальна нозологія : метод. рекомендації з самостійної підготовки для студентів 3 курсу медичного ф-ту спеціальності «Лікувальна справа»/ за ред. проф. Ю. М. Колесника. Запоріжжя, 2017. 71 с.
12. Короленко В. В. Комбіноване застосування топічного стероїду та нанокосметичного препарату в дерматологічній практиці. Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця, Київ
13. Михайловська Н. С., Кулинич Т. О., Стецюк І. О. Пропедевтика внутрішніх хвороб (за професійним спрямуванням). Модуль 1: навчально-методичний посібник для студентів 3-4 курсу медичного факультету: спеціальності «Фізична терапія, ерготерапія». Запоріжжя, 2019. 235 с.
14. Мінухін В. В., Коваленко Н. І., Замазій Т. М. Модуль 3. Частина 2. Родина кишкових бактерій : метод. вказ. з дисципліни "Мікробіологія, вірусологія та імунологія з мікробіологічною діагностикою" до практичних занять для студентів-бакалаврів III–IV курсу за спеціальністю "Лабораторна діагностика". Харків, ХНМУ, 2014. 44 с.
15. М'яделець О. Д., Кичигіна Т. М., Бобр О. Л. Морфофізіологічні основи бар'єрно-захисної функції ротової порожнини: навч.-метод. Посібник; ВДМУ, 2005. 120 с.
16. Ситник І. О., Климнюк С. І., Творко М. С. Мікробіологія, вірусологія, імунологія: підручник. Тернопіль: ТДМУ. 2017. 392 с.
17. Сметаніна К. І., Климишина С. О. Сучасні лікувальні косметичні засоби – космецевтики – як складова українського фармацевтичного ринку // INNOVATIVE SOLUTIONS IN MODERN SCIENCE № 1(10), 2017. С.150-159.
18. Степаненко В. І., Чоботарь А. І., Бондарь С. О. Дерматологія і венерологія: підручник. Київ, 2015. 336 с.

19. Технологія лікувально-косметичних засобів: навчальний посібник / упоряд.: Борисюк І. Ю., Фізор Н. С., Валіводзь І. П., Акішева А. С. Одеса: ОНМедУ, 2020. 52 с.
20. Філімонова Н. І., Сілаєва Л. Ф., Дика О. М. Мікробіологія : підруч. для студентів вищ. навч. закл. / за заг. ред. Н. І. Філімонової. 2-ге вид. Харків : НФаУ, 2019. 676 с.
21. Allam J.-P., Stojanovski G., Friedrichs N., Peng W., Bieber T., Wenzel J., Novak N. Distribution of Langerhans cells and mast cells within the human oral mucosa: new applications sites of allergens in sublingual immunotherapy? // *Allergy*. 2008; 63 (6): 720–727.
22. Austin Community College. Immune System. URL: <https://www.austincc.edu/apreview/EmphasisItems/Inflammatoryresponse.html>
23. Barcoa D, Gimenez-Arnaub Xerosis A. A dysfunction of the epidermal barrier. *Actas Dermosifiliogr*. 2008; 99: 671–682.
24. Let's talk science. 2019. The immune response. URL: <https://letstalkscience.ca/educational-resources/stem-in-context/immune-response>
25. Lora V., Hooper Dan R. Littman and Andrew J. Macpherson, Interactions between the microbiota and the immune system // *Science*. 2012; 336: 1268–1273.
26. NCBI. 2020. How does the immune system work? URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279364/>
27. Sanchari Sinha Dutta. What are the Three Lines of Defense?
28. URL: <https://www.news-medical.net/health/What-are-the-Three-Lines-of-Defense.aspx>
29. Science Olympiad. Immune System URL: [https://www.soinc.org/sites/default/files/uploaded\\_files/2018\\_IMMUNE\\_SYSTEM\\_HANDOUT.pdf](https://www.soinc.org/sites/default/files/uploaded_files/2018_IMMUNE_SYSTEM_HANDOUT.pdf)
30. The innate and adaptive immune systems. July 30, 2020. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279396/>

31. Zhang N., Crombruggen K. Van, Gevaert E., Bachert C. Barrier function of the nasal mucosa in health and type-2 biased airway diseases // Allergy. 2016; 71 (3): 295–304.
32. <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/1300/mazi>
33. <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/3729/kremi>
34. <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/3205/geli>
35. <https://e-apteka.com.ua/ua/382-dermatologicheskie-preparaty/214-protivomikrobnye-i-protivovirusnye-preparaty-dlya-lecheniya-zabolevanij-kozhi/>
36. <https://granum.ua/wp-content/uploads/2019/08/TM-372.pdf>
37. <https://mozdocs.kiev.ua/liki/view.php?id=933>
38. <https://helsi.me/liki/kyiv/sinaflan/69744/instruction>