

VIETIŠKAI NAUDOJAMŲ KREMŲ E-1 IR T-1 POVEIKIS SVEIKAI LABORATORINIŲ GYVŪNŲ ODAI

Algimantas Matusevičius¹, Marija Ivaškienė¹, Vytautas Špakauskas¹, Ramutė Mišeikienė², Alius Pockevičius³

¹*Eksperimentinės ir klinikinės farmakologijos laboratorija, Neužkrečiamųjų ligų katedra*

Veterinarijos akademija, LSMU

Tilžės g. 18, LT-47181 Kaunas, tel.(8-37) 36 30 41; el. paštas: amatusевичius@lva.lt

²*Gyvūnų mitybos ir biotechnologijų centras, Veterinarijos akademija, LSMU, Tilžės g. 18, LT-47181 Kaunas*

³*Užkrečiamųjų ligų katedra, Veterinarijos akademija, LSMU, Tilžės g. 18, LT-47181 Kaunas*

Santrauka. Sergančių šunų ir kačių mikroskopinių grybų sukeltiems dermatitams gydyti sukurti kremai E-1 ir T-1. Jų veiklioji medžiaga yra ekonazolas arba terbinafinas. Tyrimų rezultatai parodė, kad ilgai naudojami kremai E-1 ir T-1 alerginės ir uždegiminės reakcijos nesukelia. Odos sustorėjimas buvo trumpalaikis ir įvyko dėl vandens rezorbcijos iš kremų. Vandens rezorbcija į odą yra teigiamas veiksnys, nes, sergant mikroskopinių grybų sukeltu dermatitu, greičiau skatins uždegimo metu pažeistų audinių pasišalinimą ir klinikinių simptomų išnykimą, o kremuose esantis ekonazolas ar terbinafinas likviduos dermatito sukėlėjus – mikroskopinius grybus. Galima teigti, kad išoriškai ilgai naudojami E-1 ir T-1 kremai silpnai dirgina odą. Dirginimas pasireiškia odos paraudimu ir nežymiu odos raginio sluoksnio bei epidermio pabrinkimu. Nutraukus kremų naudojimą, odos pokyčiai greitai išnyksta. Išoriškai naudojami kremai yra saugūs, nes kontaktinio dermatito nesukelia ir gyvūnų gerai toleruojami.

Raktažodžiai: kremas, ekonazolas, terbinafinas, poveikis odai.

THE EFFECT OF LOCALLY APPLIED CREAMS E-1 AND T-1 ON THE HEALTHY SKIN OF LABORATORY ANIMALS

Algimantas Matusevičius¹, Marija Ivaškienė¹, Vytautas Špakauskas¹, Ramutė Mišeikienė², Alius Pockevičius³

¹*Laboratory of Experimental and Clinical Pharmacology, Department of Non-Infectious Diseases,*

Veterinary Academy, Lithuanian University of Health Sciences

Tilžės str. 18, LT-47181 Kaunas, Lithuania; Tel.(8-37) 36 30 41; E-mail: amatusевичius@lva.lt

²*The centre of animal nutrition and biotechnology, Veterinary Academy,*

Lithuanian University of Health Sciences, Tilžės str. 18, LT-47181 Kaunas, Lithuania

³*Department of Infectious Diseases, Veterinary Academy, Lithuanian University of Health Sciences*

Tilžės str. 18, LT-47181 Kaunas, Lithuania

Summary. Newly designed creams E-1 and T-1 were prepared for the treatment of dogs and cats suffering from dermatomycosis caused by a microscopic fungi – dermatophytes. Active ingredients of creams E-1 and T-1 are econazole and terbinafine, respectively. The results showed that prolonged use of the E-1 and T-1 creams did not raise an allergic or inflammatory reactions. The thickening of skin fold was transient and was due to the skin absorption of water from creams. Moisturisation of the skin is a positive factor, which helps to remove the damaged tissue from the surface of inflamed skin and to restore the barrier properties of the skin. Active agents, such as econazole and terbinafine, penetrate easier into the skin and eliminate dermatophytes. Prolonged use of topical E-1 and T-1 creams slightly irritates the skin. Irritation present as skin reddening and increase in thickness of skin epidermis. Discontinuance of application of creams results in rapid disappearance of the symptoms. Topically applied creams are safe, because they do not cause contact dermatitis and are well-tolerated by animal.

Keywords: cream, econazole, terbinafine, skin, laboratory animals.

Įvadas. Šunys ir katės dažnai serga odos ligomis, kurių klinikiniai požymiai panašūs, o etiologija skiriasi. Oda – sudėtingas gyvūno organas ir pagrindinis barjeras, saugantis organizmą nuo žalingo aplinkos poveikio. Ji jautriai reaguoja į teigiamus ar neigiamus aplinkos veiksnius ir skatina atitinkamą atsaką. Dažnai odą pažeidžia mikroskopiniai grybai (Scott et al., 2001; Patel et al., 2005), kurie sukelia uždegimą – dermatitą. Pats mikroskopinis grybas tik minimaliai pažeidžia odą. Ryškiausi patologijos požymiai randasi kaip organizmo reakcijos į patogeną padarinys. Odoje yra palankios sąlygos mikroskopiniams grybams augti ir vystytis.

Raginis odos sluoksnis yra nevaskuliarizuotas audinys, susidaręs iš negyvų ląstelių ir gerai aprūpinamas vandeniu. Odos temperatūra vėsesnė nei kūno. Raginiame sluoksnyje yra baltymų, aminorūgščių, lipidų, angliavandenių, mikroskopiniams grybams svarbaus mikroelemento geležies (Richardson, Edward, 2000). Mitybiniais poreikiais dermatofitai naudoja odoje esantį azotą, anglį ir sierą (Martinez-Rossi et al., 2008). Infekcijos metu dermatofitai išskiria fermentus, skaidančius kietą keratininį audinį į trumpus peptidus, aminorūgštis, kitus junginius, kuriuos dermatofitai lengvai įsisavina. Šių fermentų optimalus veikimo pH yra

6–9. Katės ir šuns odos pH yra atitinkamai 6,4 ir 7,4, todėl susidaro palankios sąlygos mikroskopinių grybų vystymuisi. Dermatofitų antigenai stimuliuoja IgE gamybą gyvūno organizme, dėl to išsivysto alerginė odos reakcija (Almeida, 2008). Oda, šalindama patogeną nuo savo paviršiaus, ima pleiskanoti, nes pagreitėja epidermio atsinaujinimas, todėl keratinocitai greičiau bręsta, ragėja ir atsiskiria nuo jos paviršiaus.

Gyvūnams, sergantiems grybų sukeltu dermatitu, gydyti naudojami įvairūs vaistai nuo grybų. Pastaruoju metu literatūroje diskutuojama (Belsito, 2000; Wolf et al., 2001) apie dermatito priežastis. Nurodoma, kad viena iš galimų priežasčių yra išoriškai ir ilgą laiką naudojami vaistai. Pirmą kartą ant odos patekusios vaistinės medžiagos gali susijungti su odos ląstelių baltymais ir sąveikauti su odos dendritinėmis ląstelėmis, kurios aktyvina T limfocitus. Kartotino sąlyčio su vaistinėmis medžiagomis iš aktyvintų T limfocitų metu gausiai išsiskiria mediatoriai, kurie skatina odos uždegimą. Dėl to, daug kartų panaudojus tepalus ar kremus, gali prasidėti odos uždegimas – kontaktinis dermatitas. Jo intensyvumas priklauso nuo dirgiklio stiprumo ir veikimo trukmės. Kontaktinis dermatitas gali būti dviejų tipų – alerginis ir iritacinis.

Alerginis kontaktinis dermatitas – tai odos uždegimas dėl lėtos (IV tipo) hiperjautrumo reakcijos. Jį sukelia tiesiogiai ant odos patekęs alergenai. Sensibilizacijos fazė prasideda po pirmo kontakto su alergenu ir trunka nuo 4 iki 20 dienų. Alergenas, patekęs į epidermį, sujungiamas su Langerhanso dendritinėmis ląstelėmis, nunešamas į limfmazgius ir pristatomas T limfocitams. Įjautrinti T limfocitai su krauju vėl grįžta į odą. Visa gyvūno oda tampa įjautrinta. Indukcijos fazė prasideda tada, kai bent mažiausias alergenų kiekis patenka ant odos. Per trumpą laiką (8–12 val., rečiau – 28–48 val.) prasideda odos uždegimas. Alerginį kontaktinį dermatitą gali sukelti cheminės medžiagos, vaistai, kosmetikos priemonės, augalai ir kt. Liga pasireiškia odos paraudimu, tinimu, bėrimu (mazgeliais, pūslelėmis), pleiskanojimu, niežuliu, deginimu.

Kontaktinis iritacinis dermatitas – odos uždegimas, sukeltas sąlyčio su medžiaga, žalingai veikiančia epidermio barjerinę funkciją nedalyvaujant imuniniams mechanizms. Šis dermatitas pasireiškia tuoj pat (ne vėliau kaip po 24 val.) po kontakto su dirgikliu. Dermatito klinika priklauso nuo dirgiklio ypatybių, poveikio trukmės ir atsakomosios organizmo reakcijos. Iritacinio dermatito ribos esti tik sąlyčio su dirginamąja medžiaga vietoje. Skiriama dermatito eriteminė, mazgelinė, pūslinė, šlapiavimo ir pleiskanojimo stadijos (Jacobs et al., 2006). Lokalaus veikimo vaistai nuo grybų naudojami ilgą laiką, todėl gali sukelti kontaktinį dermatitą, o tai yra viena priežasčių, skatinančių neagresyvių odai vaistų kūrimą.

Nustačius mikroskopinių grybų ląstelės struktūrą ir sudėtį bei išaiškinus jų ląstelės sudėties skirtumus nuo gyvūnų ląstelių, atsirado galimybė kryptingai sintezei naujų vaistinių medžiagų, kurios veiktų tik grybo ląstelę ir nebūtų toksiškos gyvūnui. Spartus mikroskopinių grybų sukeltų ligų plitimas skatina kurti naujas vaistines medžiagas ir ruošti naujas vaistų formas. Pastaraisiais

metais susintetinta nemažai naujų vaistinių medžiagų ir atrastos naujos vaistų grupės. Daug pasiekta sintetinant trečios kartos azolus, alilaminus, echinokandinus, pneumokandinus ir kt. (Rubin et al., 2002; Gallagher et al., 2004; Shilova et al., 2004; Cappelletty, Eiselstein-McKitrick, 2007). Sergantiems dermatofitija žmonėms gydyti pasiūlyta daug vaistų, tačiau veterinarinei medicinai skirtų vaistų nuo grybų pasiūla ribota. Daugelis medicinoje vartojamų vaistų mikroskopinių grybų sukeltiems susirgimams gydyti naudojami ir veterinarijoje, tačiau sisteminis jų poveikis dažnai daro neigiamą įtaką gyvūnui, o išorinio naudojimo preparatai nėra skirti gyvūno odai. Kadangi efektyvios ir saugios terapijos nuo mikroskopinių grybų poreikis veterinarijoje didėja, LSMU Veterinarijos akademijos Eksperimentinės ir klinikinės farmakologijos laboratorijoje paruoštos dvi kremų pavidalo vaistinės formos – E-1 ir T-1, skirtos šunų ir kačių, sergančių dermatofitija, paviršiniam (lokaliui, vietiniam) gydymui. Abiejų kremų pagrindas sudarytas iš vandenyje emulguoto aliejaus ir cheminių medžiagų, kurios yra saugios ir dažnai naudojamos išorinio (lokalaus) veikimo preparatuose, – salicilo rūgšties ir monoetanolamino. Krema E-1 sudėtyje veikioji vaistinė medžiaga yra ekonazolas (1 proc. ekonazolo natrio), o krema T-1 – terbinafinas (1 proc. terbinafino hidroklorido). Šios vaistinės medžiagos veterinarinės paskirties kremams ruošti pasirinktos dėl to, kad ekonazolas yra pirmos kartos imidazolas, fungistatiškai veikiantis dermatofitus, plačiai naudojamas gaminant paviršinius vaistus žmonėms, sergantiems, dermatomikozėmis, gydyti. Terbinafinas yra vienas efektyviausių alilaminų, fungicidiškai veikiantis dermatofitus ir dažnai naudojamas kremų, gelių, tepalų pavidalu žmonėms nuo dermatofitijos gydyti.

Šiuo metu kremų, turinčių veikliąsias medžiagas ekonazolą bei terbinafiną ir registruotų, veterinarijoje nėra (Rochette et al., 2003). Eksperimentiniais tyrimais su gyvūnais nustatyta, kad kremai E-1 ir T-1 efektyviai gydo dermatofitiją, pašalina ligos požymius ir sunaikina sukėlėją. Norint pasiekti teigiamą terapinį efektą, kremus reikia naudoti reguliariai, kol klinikiniai požymiai išnyks, o tai gali trukti iki kelių savaičių. Gydat jūrų kiaulytes, sergančias eksperimentiškai sukelta dermatofitija, pastebėta, kad visoms joms, gydytomis E-1 kremu, tepimo vietoje atsirado paraudimas. Paraudimas atsiradavo tuoj patepus kremu ir išnykdavo kremui rezorbavusis į odą ir tik tada, kai pažeista oda būdavo ūmaus uždegimo stadijos (Ivaškienė et al., 2011). Gyvūnų, sergančių mikroskopinių grybų sukeltais dermatitais, gydymui vaistai nuo grybų naudojami ilgai, iki 50–60 dienų, o kartais ir ilgiau (Plumb, 1999; Kotnik et al., 2001; Hector, 2005). Mikroskopinių grybų sukeltų dermatitų klinikiniai požymiai ir išoriškai naudojamų įvairių vaistų poveikis odai kartais panašus. Jis pasireiškia odos paraudimu, tinimu, bėrimu, pleiskanojimu ir pan. Norint išsiaiškinti, ar odos paraudimas yra reakcija į kremo sudėtinę dalį, ar yra odos uždegiminė reakcija į patogeną, būtina nustatyti mūsų paruoštų kremų poveikį sveikai gyvūno odai. Išoriškai naudojant E-1 ir T-1 kremus nuo grybų, svarbu žinoti, kokį poveikį odai jie daro, kad būtų galima

prognozuoti gydymo sėkmę ir žinoti, kokius nepageidaujamus pokyčius odoje gali sukelti vaistai nuo grybų.

Darbo tikslas – nustatyti kremų E-1 ir T-1 poveikį sveikai triušių ir jūrų kiaulyčių odai.

Medžiagos ir metodai. Kremų E-1 ir T-1 poveikį odai nustatėme atlikdami du bandymus su laboratoriniais gyvūnais (leidimas 2007-07-12, Nr. 0158, LR Valstybinės maisto ir veterinarijos tarnyba). Pirmuoju bandymu panaudojome dešimt kliniškai sveikų abiejų lyčių 2–2,5 mėn. Naujosios Zelandijos baltųjų triušių. Kairės ir dešinės jų šlaunies lateralinėje pusėje 5x5 cm plote nukirpome plaukus. Triušiai po penkis suskirstyti į dvi grupes. Pirmos grupės gyvūnų kairės šlaunies nukirptas odos plotas teptas kremu E-1, o antros grupės – kremu T-1. Vienam tepimui sunaudotas žirmio dydžio kremo kiekis, apie 25 mg. Dešinės šlaunies nukirptas odos plotas buvo kontrolinis ir neteptas jokiais medžiagomis. Triušiai laikyti narvuose po vieną, šerti visaverčiu pašaru ir girdyti vandeniu.

Antras bandymas atliktas su dešimčia kliniškai sveikų Dunkin Hartley veislės abiejų lyčių 2 mėn. jūrų kiaulyčių. Jų plaukai nukirpti kairiajame ir dešiniajame pilvo šonuose. Kiaulytės po penkis suskirstytos į dvi grupes. Pirmos grupės jūrų kiaulyčių nukirptas kairiojo šono odos plotas (5x3 cm) teptas kremu E-1, antros grupės – kremu T-1. Dešiniojo šono nukirptas odos plotas buvo kontrolinis ir neteptas jokiais medžiagomis. Jūrų kiaulytės laikytos narvuose po penkis, šertos visaverčiais pašarais ir girdytos vandeniu.

Kremai ant abiejų rūšių gyvulių odos tepti kasdien, 10 dienų iš eilės, švelniai įtrinami į odą. Kiekvieną dieną, prieš tepant kremą, slankmačiu išmatuota odos raukšlės apimtis, o baigus tepti, odos būklė tepimo vietose įvertinta praėjus 7 ir 14 dienų (tai yra 17 ir 24 bandymo dieną). Visą bandymo laikotarpį odos sudirgimo laipsnis įvertintas balais:

- 0 – odos sudirgimo nėra;
- 1 – nežymiai pakitusi odos spalva (nuo rožinės iki raudonos);
- 2 – vidutiniškai pakitusi oda (ryškiai raudonos spalvos, galima edema);
- 3 – ryškiai pakitusi oda (labai raudona, edemiška, su pūslelėmis arba be jų).

Po 10 bandymo dienų iš abiejų grupių jūrų kiaulyčių atrinktos po dvi ir eutanazuotos. Iš abiejų kiaulyčių šonų, kur tepti kremai, per valandą po gyvūnų eutanazijos išpjauta 1x1 cm odos mėginiai. Atskirta nuo poodinių audinių oda fiksuota 10 proc. buferiniu formalino tirpalu. Odos mėginiai įlieti parafine. Blokai pjaustyti rotaciniu mikrotomu 2–5 μm storio pjūviais, dažyti hematoksilinu ir eozinu, įvertinti šviesiniu mikroskopu (OLIMPUS BX 41, Japonija). Odos histopatologiniai tyrimai atlikti Veterinarijos akademijos Patologijos centre.

Statistinė duomenų analizė atlikta SPSS statistinio paketo Nr. 15 versija (SPSS for Windows 9.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA, 1989-1995). Apskaičiuota odos raukšlės apimtys aritmetiniai vidurkiai (\bar{X}), vidutiniai kvadratiniai nuokrypiai (SD). Buvo lyginti bandomųjų odos raukšlių apimtys aritmetiniai vidurkiai prieš tepant

kremu ir kiekvieną tepimo dieną. Vidurkių skirtumo patikimumas (p) nustatytas pagal Studentą. Rezultatai laikyti patikimais, kai $p < 0,05$.

Tyrimų rezultatai. Pirmasis bandymas. Prieš tepant kremu E-1, visų triušių abiejų šlaunų oda buvo šviesiai rausvos spalvos, elastinga, šilta ir įvertinta 0 balų. Pradėjus naudoti kremą, odos spalva pakito. Tepant pirmuosius tris kartus, vos tik įtrynus kremą, odos spalva tapdavo tamsiai rožinė. Po valandos odos spalva vėl atgaudavo šviesiai rausvą spalvą. Šiuo laikotarpiu odos sudirgimas įvertintas 0 balų. Kremu E-1 patepus ketvirtą kartą, oda paraudo intensyviau, ir paraudimas neišnyko praėjus kelioms valandoms. Palietus odą delnu, buvo jaučiama intensyvi šiluma. Tokį odos sudirgimą priskyrėme prie nežymaus ir įvertinome 1 balu. Panašiai oda sudirgusi buvo dar šešias dienas po kiekvieno tepimo. Nustojus tepti, po dviejų dienų paraudimas išnyko, oda įgavo šviesiai rausvą spalvą, tapo elastinga, paslanki. Taip ji atrodė bandymo pradžioje (prieš tepant kremu).

Triušių šlaunies odos raukšlės apimtis parodyta 1 pav. Pateikti duomenys rodo, kad, prieš tepant kremu E-1, bandomųjų triušių odos raukšlės storis buvo $0,15 \pm 0,036$ cm, kontrolinių – $0,17 \pm 0,04$ cm. Po pirmųjų trijų tepimų odos raukšlės apimtis išliko tokia pati, kaip iki tepant kremu. Raukšlė pradėjo storėti (1 pav.) patepus ketvirtą kartą ($0,17 \pm 0,025$ cm), o po šešto tepimo sustorėjo iki $0,22 \pm 0,033$ cm. Panašus odos raukšlės storis išliko po septintos, aštuntos, devintos dienos ($0,22-0,23$ cm; $p < 0,05$). Storiausia raukšlė buvo patepus 10 kartų ($0,23 \pm 0,036$). Praėjus 7 dienoms po paskutinio, dešimto tepimo, odos raukšlės apimtis sumažėjo iki $0,18 \pm 0,034$, o 14 dieną – iki $0,17 \pm 0,021$ cm.

Po kiekvieno tepimo kai kurie į narvelį gražinti triušai bandė kremą nusilaižyti, bet požymių, leidžiančių įtarti, kad gyvūnai jaučia niežulį ar skausmą, nepastebėta. Praėjus valandai, pateptas kremas E-1 visiškai rezorbavosi į odą.

Bandymo pradžioje, tai yra prieš tepant kremą T-1, visų triušių abiejų šlaunų oda buvo šviesiai rausvos spalvos, elastinga, šilta ir vertinta 0 balo. Vos tik įtrynus kremą, oda tapdavo tamsiai rožinė, bet po valandos oda vėl atgaudavo šviesiai rausvą spalvą. Per valandą kremas visiškai rezorbavosi į odą, kuri tapdavo tamsiai rausva, drėgna, blizganti. Viso bandymo metu oda išliko šviesiai rausvos spalvos, išskyrus vieną valandą po kremo panaudojimo, kai oda parausdavo. Nepastebėta, kad nuo tepimų skaičiaus odos paraudimas intensyvėtų. Viso tyrimo metu dirginančio bandomojo kremo T-1 poveikio triušių odai nenustatyta ir įvertinta 0 balo.

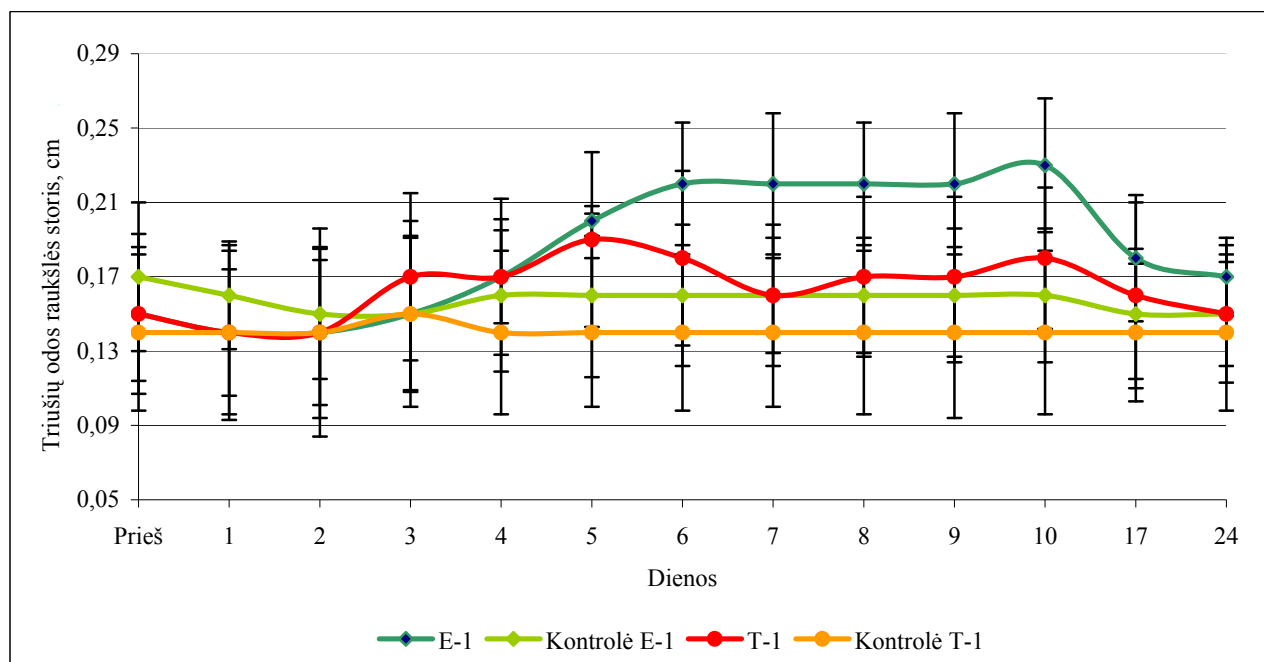
Bandymo pradžioje bandomųjų triušių šlaunies odos raukšlės storis prieš tepant T-1 kremu buvo $0,15 \pm 0,043$, o kontrolinių – $0,14 \pm 0,042$ cm (1 pav.). Patepus pirmą ir antrą kartą, odos raukšlės apimtis nepakito ir buvo panaši į pradinius duomenis. Raukšlė pradėjo storėti po trečio tepimo, o storiausia buvo po penkto ($0,19 \pm 0,047$ cm; $p < 0,05$). Panaši išliko ir po šešto tepimo ($0,18 \pm 0,047$ cm). Vėliau ji suplonėjo iki $0,16-0,17$ cm ir panaši išliko iki bandymo pabaigos. Odos raukšlės apimtis prie pradinių duomenų priartėjo praėjus 7 ir 14 dienų nuo paskutinio kremo T-1 tepimo ir buvo atitinkamai $0,16 \pm 0,050$ cm ir

0,15±0,037 cm. Viso bandymo metu kontrolinių triušių šlaunų odos spalva nekito – buvo šviesiai rausva, vidutinė odos raukšlės apimtis išliko 0,14–0,16 cm (1 pav.).

Reziumuojant pirmo bandymo metu gautus duomenis galima teigti, kad kremas E-1 sveiką triušių odą dirgina. Tą patvirtina ilgai išlikęs paraudimas. Tepant kremu T-1, nustatytas trumpalaikis triušių odos paraudimas.

Antrasis bandymas. Bandymo pradžioje visų jūrų kiaulyčių pilvo šonų oda buvo šviesiai pilkos spalvos, elastinga, įvertinta 0 balų. Prieš tepant kremu E-1, bandomojo šono vidutinis odos raukšlės storis buvo 0,20±0,011, o kontrolinio – 0,17±0,027 cm (1 lentelė). Skirtingai nuo triušių, įtrynus kremą E-1 į jūrų kiaulyčių odą, jos spalva nepakito ir liko pilka, šilta tiek, kiek

gyvūnas fiziologiškai išskiria šilumos. Patepus vieną kartą, bandomojo šono odos raukšlės apimtis siekė 0,19±0,008 cm. Patepus antrą kartą, odos spalva pasikeitė į tamsiai pilką, oda atrodė sudrėkusi, elastinga ir paslanki. Tokia ji išliko ir kitomis bandymo dienomis. Po antro tepimo odos raukšlė sustorėjo iki 0,22±0,028 cm, o po kitų tepimų išliko sustorėjusi nuo 0,21 iki 0,22 cm. Tepant E-1 kremu toliau, intensyvesnio paraudimo nepastebėta. Atlikus tepimo procedūrą ir grąžinus į narvelius, jūrų kiaulytės į užteptą kremą nereagavo. Per 30 min. kremas rezorbavosi į odą. Nepastebėjome, kad jis sukeltų niežulį. Praėjus savaitei po paskutinio tepimo, odos raukšlės storis grįžo į pradinį lygį.



1 pav. Triušių odos raukšlės apimties kaita tepant kremais E-1 ir T-1

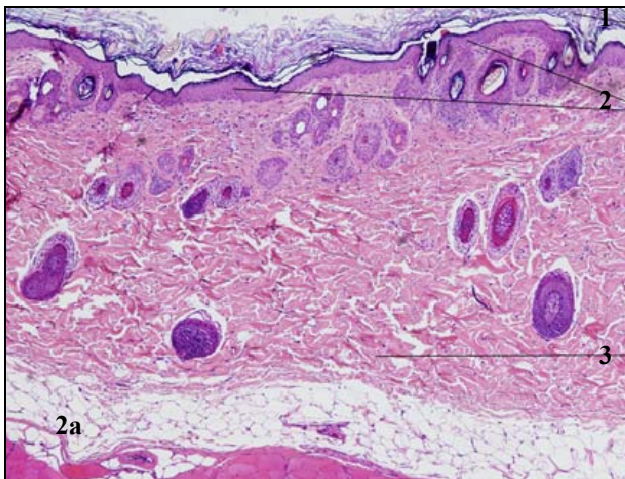
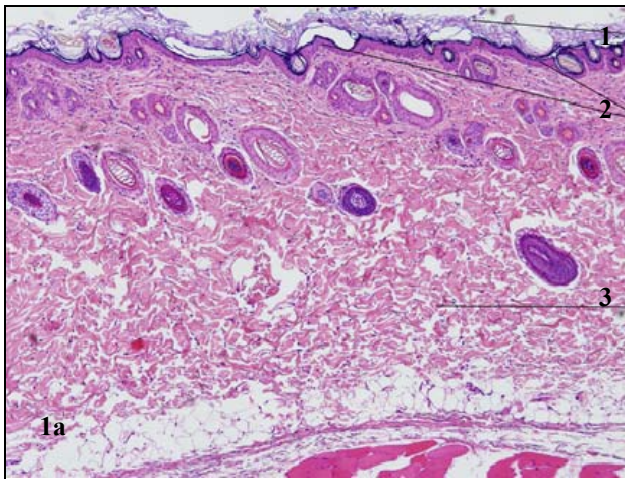
1 lentelė. Jūrų kiaulyčių odos raukšlės apimties (cm) kaita tepant kremais E-1 ir T-1

Įvertinta	Prieš bandymą	Bandymo dienos											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	17	24
Kremas E-1													
X	0,20	0,19	0,22	0,21	0,22	0,22*	0,21	0,22	0,21	0,21	0,21	0,20	0,20
SD	0,011	0,008	0,028	0,023	0,017	0,018	0,015	0,015	0,009	0,015	0,011	0,008	0,010
Kontrolė													
X	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,18	0,18	0,18	0,18	0,17	0,18
SD	0,027	0,027	0,027	0,023	0,022	0,028	0,023	0,019	0,011	0,021	0,015	0,024	0,027
Kremas T-1													
X	0,18	0,19	0,20*	0,21*	0,21*	0,21*	0,21*	0,22*	0,21*	0,21*	0,21	0,20	0,20
SD	0,022	0,026	0,021	0,014	0,010	0,008	0,008	0,019	0,014	0,008	0,011	0,011	0,009
Kontrolė													
X	0,15	0,15	0,15	0,15	0,16	0,16	0,16	0,15	0,16	0,16	0,15	0,15	0,15
SD	0,015	0,012	0,011	0,014	0,015	0,015	0,013	0,017	0,024	0,015	0,011	0,011	0,013

X – odos raukšlės apimties vidurkis, cm

* p<0,05

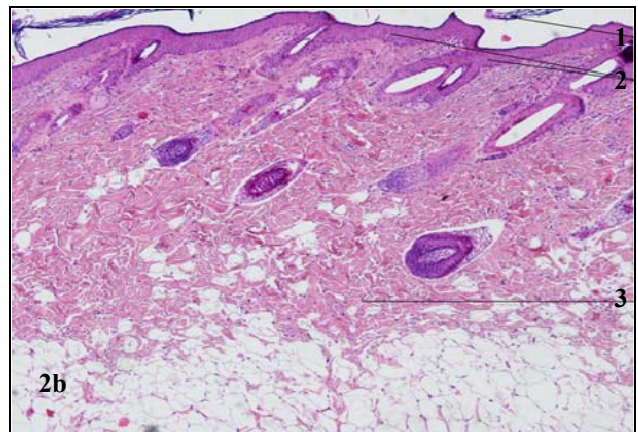
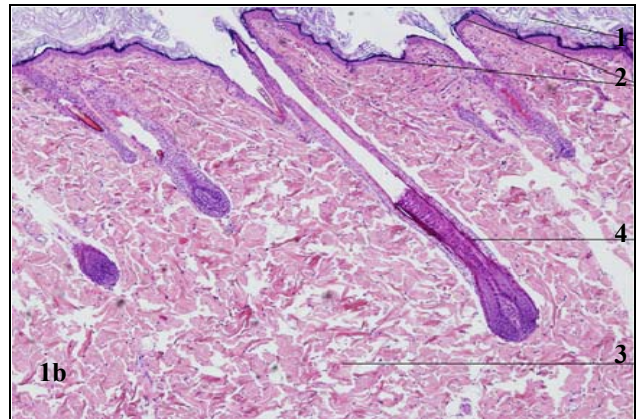
Prieš tepant kremu T-1, jūrų kiaulyčių pilvo šonų oda buvo šviesiai pilkos spalvos, elastinga, bandomosios odos raukšlės apimtis buvo $0,18 \pm 0,022$, o kontrolinės – $0,15 \pm 0,015$ cm. Pradėjus tepti bandomuosius šonus kremu T-1, oda neparaudo, bet patamsėjo, tapo tamsiai pilka. Gyvūnėliai jautėsi gerai, toleravo odos raukšlės matavimo procedūrą. Po kiekvieno tepimo ir iki bandymo pabaigos oda atrodė gerai sudrėkusi, elastinga, paslanki. Po dviejų tepimų jos raukšlė sustorėjo iki $0,20 \pm 0,021$ cm; patepus tris kartus – iki $0,21 \pm 0,014$ cm, ir tokia išliko iki bandymo pabaigos, tai yra po 4–10 tepimo dienų (1 lentelė). Lyginant odos raukšlės apimtį prieš T-1 tepimą kremu su duomenimis, gautais po 4–10 dienų tepimo, nustatytas statistiškai patikimas ($p < 0,05$) skirtumas. Viso bandymo metu kontrolinių šonų oda buvo šviesiai pilka, o vidutinis odos raukšlės storis išliko $0,15$ – $0,16$ cm. Gražintos į narvelius jūrų kiaulytės į užteptą kremą nereagavo. Per 30 min. kremas rezorbavosi į odą. Nepastebėta, kad vaistas būtų sukėlęs niežulį.



2 pav. Kontrolinės (1a) ir teptos kremu T-1 (2a) jūrų kiaulytės odos mėginių mikroskopiniai vaizdai (10x)
1a – kontrolė; 2a – bandomoji (1 – raginis sluoksnis, 2 – epidermis, 3 – derma, 4 – plauko folikulas)

Atlikę jūrų kiaulyčių bandomosios ir kontrolinės odos histopatologinius tyrimus nustatėme, kad ir kremu E-1, ir

kremu T-1 teptos odos epidermio storis skiriasi nuo neteptos kremu (2, 3 pav.). Paveiksluose (2a, 2b) matyti, kad kremu teptoje odoje raginis sluoksnis yra atsiskyręs nuo odos paviršiaus. Jūrų kiaulyčių dermoje, kurių oda buvo 10 kartų tepta kremu E-1 ir T-1, ryškių spongiozės ar edemos požymių, būdingų alerginiam kontaktiniam dermatitui, nerasta, tačiau nustatyta atskirų eozinofilų infiltracija. Kontrolinės odos dermoje eozinofilų nerasta.



3 pav. Kontrolinės (1b) ir teptos kremu E-1 (2b) jūrų kiaulytės odos mėginių mikroskopiniai vaizdai (10x)
1b – kontrolė; 2b – bandomoji

Rezultatų aptarimas. Tyrimo duomenys rodo, kad sveikų triušių oda, patepus vieną – tris kartus kremu E-1, paraudavo, bet praėjus valandai atgaudavo šviesiai rausvą spalvą. Patepus ketvirtą kartą oda įgijo tamsiai rožinę spalvą, ir tokia išliko iki bandymo pabaigos. Nustojus naudoti kremą E-1, po dviejų dienų odos spalva grįždavo į pradinę. Patepta kremu T-1, oda trumpam paraudavo, o po valandos paraudimas išnykdavo. Tepant kremu T-1, didžiausia triušių odos raukšlės apimtis buvo po 5 dienų. Per 5 tepimo dienas ji sustorėjo $0,04$ cm (nuo $0,15$ iki $0,19$). Vertindami kremų poveikį sveikai triušių odai matome, kad kremas E-1 sukėlė ryškesnį ir ilgiau trunkantį odos paraudimą nei kremas T-1. Paraudimas išnyko praėjus dviem dienoms po paskutinio tepimo. Mūsų nuomone, kremui E-1 sudirginus (1 balas) triušių odą, išsiplėtė joje esantys kapiliarai, ir pritekėjus daugiau kraujo oda įgijo raudoną spalvą. Manome, kad skirtingas

kremų E-1 ir T-1 poveikis triušių odai pasireiškė todėl, kad kremų sudėtyje yra skirtingos cheminės sudėties medžiagos – ekonazolas ir terbinafinas. Ekonazolas priklauso azolų grupei ir, literatūros duomenimis, šios vaistinės medžiagos kartais sukelia odos paraudimą gydymo metu (Plumb, 1999; Katzung, 2007).

Į kremus mažiausiai reagavo jūrų kiaulyčių oda. Manome, kad atsiradęs triušių, bet ne jūrų kiaulyčių odos paraudimas gali priklausyti nuo individualių fiziologinių organizmo savybių, nuo tepamos vietos, be to, triušių oda yra plonesnė nei jūrų kiaulyčių.

Atliktais tyrimais su žmonėmis, sergančiais pėdų dermatofitija, nustatyta, kad, gydant pėdų pažeistą odą 1 proc. terbinafino tirpalu, apie 5 proc. pacientų pasireiškė silpna odos reakcija, kaip antai niežėjimas, paraudimas, dilgčiojimas (Schopf et al., 1999), o gydant 1 proc. terbinafino kremu – šalutinio poveikio nenustatyta (Tanuma et al., 2000).

Triušių ir jūrų kiaulyčių odos raukšlė po tepimo kremais sustorėjo (1 pav., 1 lentelė.). Atlikę histologinius tyrimus nustatėme, kad kremais teptos odos epidermis yra šiek tiek storesnis nei neteptos dėl to, kad eksperimentiniai kremai yra pagaminti aliejus–vandenyje emulsijos pagrindu, kuri sudaro iki 90 proc. vandens. Tokios emulsijos atlieka vandens donorų vaidmenį, todėl intensyviai drėkina pažeistą odą. Oda sustorėjo dėl epidermio ir raginio odos sluoksnio paburkimo. Mūsų tirtų kremų sudėtyje yra daug vandens, kuris gerai drėkina odą, skatina joje vandens kaupimąsi, sukelia raginio sluoksnio rehidrataciją, minkština raginį odos sluoksnį, skatina senų ir uždegimo pažeistų ląstelių atsiskyrimą, pasišalinimą bei palengvina vaistų molekulių patekimą į odą (Barry, 2001; El Maghraby et al., 2008). Esant pakankamam vandens kiekiui odoje, greičiau atsinaujina ląstelės, atsistato odos apsauginės barjero funkcijos, oda tampa atsparesnė nepalankioms aplinkos sąlygoms bei mikroorganizmų invazijai (Benson, 2005). Sudrėkintoje odoje padidėja tarpai tarp keratinocitų, todėl vaistinės medžiagos lengviau prasiskverbia į gilesnius epidermio sluoksnius. Sudrėkintas paviršinis raginis odos sluoksnis, kuris yra gera terpė mikroskopiniams grybams augti ir daugintis, yra suminkštinamas, todėl lengvai atsiskiria nuo odos paviršiaus. Odos mikronuotrukose aiškiai matomas teptos kremais odos raginio sluoksnio atsiskyrimas.

Histologiniais tyrimais nustatėme, kad odos uždegiminių ar alerginių procesui būdingos eozinofilų, neutrofilų infiltracijos ir kitų požymių nebuvo. Dažniausiai alergines reakcijas sukelia vaistinės medžiagos, kurios lengvai tirpsta riebaluose, sugeba prasiskverbti pro raginį odos sluoksnį ir susijungti su baltymais. Kremai E-1 ir T-1 alerginio kontaktnio dermatito, mūsų nuomone, nesukėlė todėl, kad šiuose kremuose esančios vaistinės medžiagos ištirpintos vandenyje. Histologinėse nuotrukose (2 ir 3 pav.) matome, kad E-1 ir T-1 kremi skatina senų raginio odos sluoksnio ląstelių atsiskyrimą nuo epidermio.

Apibendrinami tyrimų rezultatus galime teigti, kad kremi E-1 ir T-1, naudoti 10 dienų iš eilės, sveikoje odoje alerginės ir uždegiminės reakcijos nesukėlė. Oda

sustorėjo neženkliai – dėl vandens rezorbcijos iš kremų. Vandens rezorbcija į odą yra teigiamas veiksnys, nes, sergant mikroskopinių grybų sukeltu dermatitu, skatinamas greitesnis pažeistų ląstelių pasišalinimas ir klinikinų simptomų išnykimas, o kremuose esantis ekonazolas ar terbinafinas sunaikina dermatito sukėlėjus – mikroskopinius grybus.

Išvados. Kremas E-1 silpnai sudirgino sveiką odą – ji trumpam paraudo. Požymių, leidžiančių įtarti kontaktnį dermatitą, nenustatyta. Kremas T-1 nesukėlė neigiamos reakcijos nei triušių, nei jūrų kiaulyčių odai. Išoriškai naudojami kremi yra saugūs, nes kontaktnio dermatito nesukelia ir gyvūnų yra gerai toleruojami.

Literatūra

- Almeida S. R. Immunology of dermatophytosis. *Mycopathologia*. 2008. 166. P. 277–283.
- Barry B. W. Novel mechanisms and devices to enable succesful transdermal drug delivery. *European Journal of Pharmaceutical sciences*. 2001. 14. P. 101–114.
- Belsito D. V. The diagnostic evaluation, treatment, and prevention of allergic contact dermatitis in the new millennium. *J. Allergy clin. immunol.* 2000. 105 (3). P. 409–420.
- Benson H. A. E. Transdermal drug delivery: Penetration enhancement techniques. *Current Drug Delivery*. 2005. 2. P. 23–33.
- Cappelletty D., Eiselstein-McKitrick K. The echinocandins. *Pharmacol.* 2007. 27. P. 369–388.
- El Maghraby G. M., Barry B. W., Williams A. C. Liposomes and skin: From drug delivery to model membranes. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2008. 34 (4–5). P. 203–222.
- Gallagher J. C., MacDougall C., Ashley E. S., Perfect J. R. Recent advances in antifungal pharmacotherapy for invasive fungal infections. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*. 2004. 2 (2). P. 253–268.
- Hector R. F. An overview of antifungal drugs and their use for treatment of deep and superficial mycoses in animals. *Clin. Tech. Small. Anim. Pract.* 2005. 20 (4). P. 240–249.
- Ivaškiene M., Matusevičius A., Grigonis G., Zamokas G., Šiugždaitė J. Establishing the efficacy of novel topical formulations in the treatment of experimental dermatophytosis in guinea pigs. *Veterinarija ir zootechnika (Vet Med Zoot)*. 2011. T. 54 (76). P. 26–34.
- Jacobs J. J. L., Lehe´ C. L., Hasegawa H., Elliott G. R., Das P. K. Skin irritants and contact sensitizers induce Langerhans cell migration and maturation at irritant concentration. *Experimental Dermatology*. 2006. 15. P. 432–440.
- Katzung B. G. Basic and Clinical Pharmacology.

10th Edition, McGraw-Hill Medical. 2007. P. 787–788.

Gauta 2011 03 04

Priimta publikuoti 2012 02 23

12. Kotnik T., Erzen N. K., Kuzner J., Drobnic-Kosorok M. Terbinafine hydrochloride treatment of *Microsporum canis* experimentally-induced ringworm in cats. *Veterinary Microbiology*. 2001. 83 (2). P. 161–168.

13. Martinez-Rossi N. M., Peres N. T. A., Rossi A. Antifungal resistance mechanisms in dermatophytes. *Mycopathologia*. 2008. 166. P. 369–383.

14. Patel A., Loyd D. H., Lamport A. I. Survey of dermatophytes on clinically normal cats in the Southeast of England. *Journal of Small Animal Practice*. 2005. 46. P. 436–439.

15. Plumb D. C. *Veterinary Drug Handbook*. PharmaVet Publishing, White Bear Lake (USA). 1999. 853 p.

16. Richardson M., Edward M. Model systems for the study of dermatophyte and nondermatophyte invasion of human keratin. – In: Kushwara, R. K. S. & Guarro, J. [eds.], *Biology of dermatophytes and other keratinophilic fungi*. *Revista Iberoamericana de Micología*. 2000. P. 115–121.

17. Rochette F., Engelen M., Vanden Bossche H. Antifungal agents of use in animal health-practical applications. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 2003. 26 (1). P. 31–53.

18. Rubin A. I., Bagheri B., Scher R. K. Six novel antimycotics. *American Journal of Clinical Dermatology*. 2002. 3 (2). P. 71–81.

19. Schopf R., Hettler O., Brautigam M., Weidinger G., Kaben U., Mayser P., Resl V. Efficacy and tolerability of terbinafine 1% topical solution used for 1 week compared with 4 weeks clotrimazole 1 % topical solution in the treatment of interdigital tinea pedis: a randomized, double-blind, multi-centra, 8-week clinical trial. *Mycoses*. 1999. 42. P. 415–420.

20. Scott D. W., Miller W. H., Griffin C. E. Fungal skin diseases. In: *Muller and Kirk's Small Animal Dermatology*, 6th edn. Philadelphia: W. B. Saunders. 2001. P. 336–361.

21. Shilova I. B., Guskova T. A., Glushkov R. G. Modern drugs for treating dermatomycosis. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2004. 38 (4). P. 175–180.

22. Tanuma H., Doi M., Ohta Y., Nishiyama S., Katsuoka K., Kaneko S., Mukai H., Abe M. Usefulness of 1% terbinafine HCl (Lamisil) cream for hyperkeratotic-type tinea pedis and its transfer into the horny layer. *Mycoses*. 2000. 43. P. 417–432.

23. Wolf R., Wolf D., Tuzun B., Tuzun Y. Contact Dermatitis to Cosmetics. *Clinics in Dermatology*. 2001. 19. P. 502–515.