

**М. М. Корда, О. О. Шевчук, Я. В. Панасюк,
І. І. Худан-Цільо**

ЗАСТОСУВАННЯ ПОЛІМЕРНИХ НАНОЧАСТИНОК ДЛЯ АДРЕСНОЇ ДОСТАВКИ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

Монографія

Тернопіль
ТНМУ
«Укрмедкнига»
2021

Рецензенти:

академік АН Вищої школи України, заслужений працівник освіти України д-р мед. наук, проф. **М. С. Регеда**;
президент наукової спілки патофізіологів України, президент-засновник Асоціації медичної науки України, заслужений діяч науки і техніки України д-р мед. наук, проф. **А. І. Гоженко**;
академік АН Вищої школи України д-р мед. наук, проф. **Л. Є. Лаповець**.

*Затверджено на засіданні вченої ради Тернопільського
національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського
МОЗ України (протокол № 6 від 25.05.2021 р.)*

З-36 Застосування полімерних наночастинок для адресної доставки лікарських засобів : монографія / М. М. Корда, О. О. Шевчук, Я. В. Панасюк, І. І. Худан-Цільо. – Тернопіль : ТНМУ, 2021. – 216 с.
ISBN 978-966-673-429-0

У монографії патогенетично обґрунтовано та експериментально підтверджено доцільність застосування хітозанових наночастинок з інкорпорованими лікарськими засобами та речовинами з антиоксидним і метаболотропним впливом для корекції біохімічних та морфологічних змін, що супроводжують патологічні процеси, які зумовлені розвитком системного запалення, оксидативного та нітрооксидативного стресу, змінами біохімічних показників і дисбалансом цитокінового профілю. Проведено порівняльне дослідження ефективності полімерних наночастинок лікарських засобів та їх типових форм.

Монографія адресована науковим аспірантам, докторантам, викладачам закладів вищої освіти.

УДК 615.032

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	5
ВСТУП	7
<i>Розділ 1. МЕТОДИКА ПРИГОТУВАННЯ ПОЛІМЕРНИХ НАНОЧАСТИНОК З ІНКАПСУЛЬОВАНИМИ ПРЕПАРАТАМИ</i>	<i>23</i>
<i>Розділ 2. ЕФЕКТИВНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ ПОЛІМЕРНИХ НАНОЧАСТИНОК З ІНКАПСУЛЬОВАНИМИ БЕТАМЕТАЗОНОМ, СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗОЮ ТА ІНГІБІТОРОМ iNOS 1400W ПРИ КОНТАКТНОМУ ДЕРМАТИТІ.....</i>	<i>25</i>
2.1. Сучасний стан проблеми контактних дерматитів.....	25
2.2. Принципи терапії контактних алергійних дерматитів	35
2.3. Вплив звичайних форм і нано-інкапсульованих бетаметазону, супероксиддисмутази та 1400W на інтенсивність запального синдрому і цитокіновий профіль при експериментальному контактному дерматиті	44
2.4. Ефективність наночастинок у корекції оксидативного та нітрооксидативного стресу при контактному дерматиті	67
2.5. Аналіз структурних та ультраструктурних компонентів шкіри тварин з експериментальним контактним дерматитом при його корекції за допомогою полімерних наночастинок	87
<i>Розділ 3. ОПТИМІЗАЦІЯ ПІСЛЯТРАВМАТИЧНОЇ РЕПАРАТИВНОЇ РЕГЕНЕРАЦІЇ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ЗА ДОПОМОГОЮ ПОЛІМЕРНИХ НАНОЧАСТИНОК З ІНКОРПОРОВАНИМ ЛОВАСТАТИНОМ.....</i>	<i>105</i>
3.1. Сучасні уявлення про механізми остеорегене- рації	105

3.2. Шляхи оптимізації післятравматичної репаративної регенерації кісткової тканини.....	109
3.3. Вплив інкапсульованого в полімерні наночастинки ловастатину і наноаквахелатів на метаболізм кісткової тканини на тлі скелетної травми	121
3.4. Структурні зміни кістки під впливом наноматеріалів.....	163
ВИСНОВКИ	186
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	189

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ГЗГ – глікозаміноглікани
ГКС – глюкокортикостероїди
ГМГ-КоА-редуктаза – 3-гідрокси-3-метилглутарил-коензим-А-редуктаза
ЗАА – загальна антиокиснювальна активність сироватки крові
ІЛ – інтерлейкін
ІМ – індекс мінералізації
КАП – колагенолітична активність плазми крові
КД – контактний дерматит
КЛ – клітини Лангерганса
КТ – комп'ютерна томографія
КФ – кисла фосфатаза
ЛВ – ловастатин
ЛФ – лужна фосфатаза
МЩК – мінеральна щільність кісток
НА – наноаквахелати
НЛВ – наночастинки хітозану з ловастатином
НЧ – наночастинки
ОКП – одиниці кінчика пальця
ОКС – оксипролін
ОР – остеорегенерація
ПЕГ – поліетиленгліколь
СК – сіалові кислоти
СОД – супероксиддисмутаза
СРБ – С-реактивний білок
ТБК-АП – ТБК-активні продукти
ТГКС – топічні глюкокортикостероїди
ТІК – топічні інгібітори кальциневрину
ТРР – триполіфосфат натрію

ФНП- α – фактор некрозу пухлин- α
BMP – bone morphogenetic protein (морфогенетичний кістковий білок)
G-SH – відновлений глутатіон
iNOS – індукцйбельна, або макрофагальна NO-синтаза
MHC – Main Histocompatibility Complex – головний комплекс гістосумісності
NO – оксид азоту
NOS – NO-синтаза
rhBMP – рекомбінований морфогенетичний кістковий білок
TRP – триполіфосфат натрію

Загальне поняття про нанотехнології та можливість їх застосування в медицині

Звичайні традиційні системи доставки лікарських засобів до органів/тканин/клітин-мішеней значно обмежені багатьма факторами: низька стабільність сполук, короткий період напіввиведення, низька проникність через біомембрани, низький терапевтичний індекс, імуногенність тощо. Сьогодні увага науковців у світі прикута до інноваційних технологій, зокрема нанотехнологій, спрямованих на одержання і застосування, в тому числі і в медицині, наночастинок. Економічно розвинені країни орієнтуються на розвиток і застосування нанотехнологій як на одну з найбільш перспективних галузей, обсяг фінансування на дослідження і розробки якої кожного року зростає. Нанотехнологія – це суміжна сфера, що знаходиться на межі прикладних і фундаментальних дисциплін науки і техніки, що дозволяє створювати, обробляти і маніпулювати наноматеріалами [1–4]. Наноматеріали – це дисперсні матеріали, що містять структурні елементи (зерна, кристаліти, блоки, кластери), геометричні розміри яких хоч би в одному вимірі не перевищують 100 нм, і які мають якісно нові властивості, функціональні й експлуатаційні характеристики [5, 6].

Сучасні можливості застосування наночастинок у біології, медицині, хімії, електроніці, термодинаміці та інших галузях визнаються вченими світу як технологія майбутнього [7–9]. Вважають, що розвиток нанонауки розпочався після доповіді американського фізика Річарда Феймана, лауреата Нобелівської премії, який у 1959 році вперше роз-

глянув перспективу створення та застосування речовин, розміри яких не перевищують 1 мкм [10, 11]. Термін був застосований вже у 1974 році японським фізиком Норіо Тянігучі [7, 12, 13].

Окремим розділом нанотехнології є наномедицина, яка вивчає використання наноматеріалів у медичній практиці з метою діагностики, профілактики та лікування захворювань. Враховуючи інтенсивні темпи досліджень у галузі нанотехнологій та велику кількість новостворених наноматеріалів, пильну увагу привертає вивчення біоактивності, фармакологічної та токсикологічної дії отриманих речовин [14–16]. Адже сьогодні наночастинки конструюють та застосовують як носій лікарських засобів, що дозволяє уникнути обмежень, які є типовими для звичного способу доставки. Наночастинки, порівняно з аналогічними макророзмірними речовинами, набувають нових фізико-хімічних властивостей. Зі зменшенням розмірів речовин збільшується роль поверхневої енергії [17], змінюється термостійкість, електропровідність, коефіцієнт оптичної щільності, магнітні властивості і відповідно змінюється вплив на біологічні об'єкти [18, 19].

Проникаючи у людський організм через органи дихання, шкіру, органи травлення, наночастинки характеризуються порівняно більшою біоактивністю за рахунок більшої площі поверхні на одиницю маси [18, 20]. Широкого застосування на сьогодні набувають комплекси уже добре відомих фармакологічних речовини та наночастинок для цільової доставки лікарських препаратів, що дозволяє доставити конкретний препарат у необхідне патологічне вогнище і зменшити дозу препарату [21].

У медицині вже добре зарекомендували себе такі наноматеріали, як ліпосоми, полімерні наночастинки, карбонові наноматеріали, наночастинки металів, керамічні наночастинки, квантові точки, нанокапсули, наноемulsії [22, 23]. Деякі з них застосовують у клінічній практиці, деякі ще у розробці. Наноносії здатні підвищити терапевтичну ефек-

тивність лікарських засобів та ефективність лікування в цілому, знизити частоту розвитку побічної дії ліків. Яскравим прикладом цього є ліпосомні форми доставки. Вивчені ліпосоми розміром від 100 до 500 нм мають стійку ліпідну оболонку, можуть переносити лікарські речовини, здатні до біодеградації та високо біоспоріднені. Проте їх використання обмежене через короткотривале перебування у судинному руслі, оскільки вони одразу захоплюються макрофагами [24, 25]. Описані випадки використання цитостатиків у ліпосомальній формі при лікуванні низки захворювань в онкології. Це стосується класичних протипухлинних лікарських засобів – антрациклінових антибіотиків, вінкристину, цитарабіну та інших [26, 27]. Характерною особливістю доксорубіцину та інших антрациклінів є те, що, окрім типової побічної дії, характерної для усіх цитостатиків, вони здатні пошкоджувати серцевий м'яз. Розвиток дозозалежної кардіотоксичності є найбільш суттєвим фактором, який обмежує застосування цієї групи препаратів [28–33]. Відомо, що хронічна доксорубіцинова кардіотоксичність може призводити до розвитку фатальної дилатаційної кардіоміопатії, яка в разі розвитку серцевої недостатності закінчується летально у приблизно 60 % пацієнтів [32, 34–36]. Враховуючи те, що, порівняно з рештою популяції, у людей з виживаністю більше п'яти років після лікування злоякісної патології із застосуванням антрациклінів ризик смертності, яка безпосередньо пов'язана з серцевою патологією, зростає у 10 разів [37]; а також те, що близько 60 % пацієнтів, які вижили після дитячої онкопатології, отримували препарати саме цієї групи [38, 39], пошук ефективних методів профілактики та пом'якшення кардіотоксичності антрациклінів вкрай актуальний. Застосування ліпосомальних форм у даному випадку дозволяє зменшити частоту розвитку та тяжкість побічної дії препаратів [40–42].

Носії лікарських засобів на основі наночастинок здатні покращити ефективність застосовуваної терапії за рахунок активного націлювання для таргетної доставки препара-

ту/активної сполуки, механізмів пасивного націлювання як підвищення проникності, до прикладу, чи покращення фармакокінетичних параметрів засобу. Начастіше сучасні вчені досліджують та використовують полімерні наночастинки. На сьогодні їх застосовують для покращання властивостей фармакологічних препаратів, створення комплексів із лікарськими речовинами [43]. На доклінічних етапах дослідження вивчено можливість використання поліглутамінової кислоти для «адресної» доставки препаратів [44, 45].

Наноматеріали відкривають широкі можливості для антибактеріальної терапії у багатьох галузях медицини [46]. У медичній практиці добре вивчений бактерицидний ефект срібла. При дослідженні наночастинок срібла встановлено збільшення цього ефекту порівняно зі звичайною формою застосування цього мікроелемента [47]. Проте при застосуванні наночастинок срібла виявлено порушення метаболічних процесів за рахунок підвищеної експресії протеїназа [48, 49]. Наночастинки золота можуть використовуватись для лікування синовітів при реактивному артриті. Поряд з цим, W.H. De Jong та P.J. Vorm показали підвищену токсичність наночастинок золота до ракових клітин [50]. Проведено дослідження з використання наночастинок оксиду цинку для стимуляції апоптозу ракових клітин [51].

Нанокапсули є сферичними контейнерами, що мають внутрішню порожнину, в якій можна розмістити молекули з заданим розміром та формою. Як правило, контейнери складаються із ліпідної чи полімерної оболонки [52, 53]. Ця форма адресної доставки дає змогу інтракапсульовано ввести ліки, гормони, цитокіни, генетичні конструкції [54, 55]. Перевага нанокапсул полягає у здатності переносити нестабільні та не розчинні у воді речовини.

Наноемульсії – це суміш двох рідин, які не змішуються, і одна з них представлена нанокраплинками [56, 57]. Амїї Mansoor довів інгібуючий вплив суміші паклітакселу та куркуміну на ракові клітини [58].

При створенні наноматеріалів для ортопедії, травматології та стоматології застосовують керамічні наночастинки, які складаються з кремнієвого ядра та оболонки, створеної атомами алюмінію чи титану [59].

У експериментальному дослідженні *in vivo* було створено наносистему, до складу якої входить кальцієве ядро з внутрішньою порожниною, де міститься інсулін. Ядро вкрите оболонкою з полімерами. Така система дозволяє ефективніше вводити інсулін в організм, на відміну від підшкірного введення [6, 60]. Недоліком керамічних наночастинок є здатність до акумулювання в організмі, що потребує їх більш ретельного вивчення [24, 61].

Підсумовуючи аналіз досліджень нанотехнологій, можна виділити основні завдання, які стоять сьогодні перед наномедициною:

- використання наноматеріалів для цільової доставки ліків;
- створення наноміметичних речовин, що покращили б остаточну верифікацію та діагностику захворювань;
- можливість прицільного впливу лише на уражений орган, без шкідливої дії на решту систем організму;
- створення нових біосумісних імплантів та трансплантатів;
- вивчення токсичності та можливого неопластичного впливу новостворених матеріалів.

Багато авторів допускають, що в майбутньому застосування лікувальної нанотехнології може бути розцінено як квантова комплексна етіотропно-патогенетична терапія [62–64].

При визначенні токсичності препаратів наночастинок використовують дослідження *in vitro* на культурах клітин для оцінки цитотоксичної дії та визначення параметрів гострої токсичності (IC_{50} , EC_{50}), органотоксичності, з'ясування механізмів взаємодії з рецепторами та білками та іншими структурними одиницями клітини, впливу наноматеріалів

на процеси апоптозу тощо. В експерименті на тваринах *in vivo* досліджують їх токсичність (гостру, підгостру та хронічну), визначають розподіл наноматеріалів в організмі та їх вплив на метаболічні процеси, оцінюють потенційні побічні ефекти та віддалені наслідки. Застосування експериментів на тваринах *in vivo* – один з основних методів оцінки ефективності різноманітних сполук, їх комбінацій та наночастинок, які містять лікарські засоби та активні компоненти. Основними природними полімерами у системах доставки ліків є колаген, желатин, фібрин, хітозан, альгінат тощо [65]. Для експериментальних досліджень ми обрали хітозанові наночастинок. Хітозан – натуральний, нетоксичний полісахарид, який біорозкладається та доступний для виробництва з хітину. Його переваги: висока біосумісність, здатність до деградації в організмі та подальшого виведення, подібність до позаклітинного матриксу. Полімери виступають у ролі своєрідних «скелетів» або «каркасів», які переносять активні біомолекули.

Таким чином, застосування наночастинок для адресної доставки лікарських засобів – надзвичайно перспективна галузь сучасної медицини та фармації.

Нанотехнології в дерматології

Контактний дерматит (КД) вважається одним з найбільш поширених серед хвороб шкіри [66–70]. На його частку припадає до 25 % всіх випадків звернення до лікаря-дерматолога [71–75]. Причому основна маса хворих – люди молодого і середнього віку, серед яких найбільше клінічних випадків припадає на жінок з чутливістю до нікелю (прикраси, пірсинг), парфумерії, косметики, засобів побутової хімії [76–78]. Питома вага дерматитів у структурі загальної захворюваності людини зросла останніми роками насамперед за рахунок лікарських токсикодермій та інших уражень шкіри неалергічної й алергічної природи [74, 79–85]. У зв'язку з розширенням використання побутової хімії, зростанням техногенності навколишнього середовища,

широким використанням імплантованих матеріалів серед захворювань шкіри велику питому вагу займають запальні контактні дерматити, які виникають при контакті шкіри з різними за хімічною структурою речовинами – кислотами, фенолами, детергентами, рослинами [27, 86–91]. Частота захворювань на контактний дерматит зростає з року в рік, що визначає медичну та соціально-економічну значимість цієї проблеми та передбачає актуальність і доцільність пошуку нових ефективних методів лікування даної патології [90–93].

Стратегія і тактика терапії контактних дерматитів, у тому числі топічної, повинні базуватися на розумінні патогенезу даного захворювання, який насамперед визначається механізмами розвитку запальної реакції в шкірі, яка, у свою чергу, залежить від інтенсивності утворення прозапальних факторів та імунної реактивності організму. Неспецифічним механізмом будь-якої запальної реакції є активація процесів вільнорадикального окиснення та розвиток незбалансованого надмірного окисного стресу. Надлишок вільних радикалів є тією біохімічною основою, через яку опосередковуються і підтримуються підвищення судинної проникності, посилення агрегаційної здатності тромбоцитів, запальний набряк та інші патогенетично значущі для розвитку дерматитів порушення гомеостазу [74, 83, 94, 95]. Відомо, що прозапальні цитокіни можуть призводити до гіперактивації індукцибельної форми синтази оксиду азоту. У свою чергу, оксид азоту, особливо його надмірна продукція індукцибельною NO синтазою, відіграє безпосередню роль в патогенезі запалення [70, 96, 105–113, 97–104]. З огляду на такі механізми патогенезу дерматиту, лікування цієї патології має бути комплексним і включати засоби, які були б здатні ефективно пригнічувати запальний процес, гальмувати реакції гіперпероксидації і моделювати функціональний стан системи синтезу оксиду азоту.

Як відомо, порушення рівноваги між про- та антиоксидантними процесами в бік активації пероксидного окис-

нення ліпідів є універсальним механізмом пошкодження мембран і розвитку токсичності ксенобіотиків [114–118]. Накопичення активних форм кисню, підвищення концентрації вільних радикалів стимулює прискорення пероксидних реакцій, що зумовлює дисбаланс у процесах енергопостачання клітин та ініціює запально-дистофічні зміни у клітинах [119–121].

Як показали наші дослідження, на тлі виражених шкірних змін при КД також зростає рівень метаболітів NO та сумарна активність NO-синтази. Це свідчить про те, що розвиток нітрооксидативного стресу також має значну вагу при розвитку нікель-індукованого контактного дерматиту (рис. 1.1).



Рисунок 1.1. Роль оксидативно-нітративного стресу в патогенезі пошкоджень структури шкіри при алергійному контактному дерматиті (адаптовано з [115, 130]).

Топічне застосування глюкокортикоїдів є основним методом антизапальної терапії при дерматитах [122–124]. Проте тривале застосування даних гормонів асоціюється з рядом локальних і системних побічних ефектів, що обмежує їх використання, особливо при хронічних запальних захворюваннях шкіри. Більше того, протизапальний ефект топічних глюкокортикоїдів (ТГКС) при їх самостійному застосуванні не забезпечує адекватний контроль тяжкості захворювання [125–128]. Відомо, що важливу роль у патогенезі запальних захворювань, у тому числі і дерматитів, відіграє оксидативний стрес [66, 70, 119, 120, 129].

Під впливом прозапальних цитокінів також відбувається гіперекспресія індуцибельної форми NO-синтази, що призводить до продукції надмірної кількості NO, який може відігравати роль важливого ефектора у механізмах розвитку запальних процесів у шкірі [74, 92, 96, 97, 131–136]. Тому можна передбачити, що спільне застосування глюкокортикоїдів з антиоксидантами та інгібіторами індуцибельної NO-синтази могло би бути ефективною комбінацією засобів при дерматитах різної етіології. Важливою проблемою лікування дерматитів є черезшкірна доставка ліків до глибоких шарів епідермісу та дерми. Поверхневий шар шкіри, *stratum corneum*, є основним бар'єром, що лімітує проникнення більшості лікувальних засобів [13, 66, 137]. Сильні ліпофільні властивості зроговілого шару епітелію перешкоджають проникненню гідрофільних молекул і утримують високоліпофільні лікарські засоби, що обмежує трансдермальну доставку сильно ліпофільних або гідрофільних молекул. Сучасним напрямком вирішення цієї проблеми є використання нанотехнологій з метою створення полімерних наночастинок з інкапсульованими в них препаратами [7, 13, 138–144]. Полімерні наночастинки придатні для трансдермальної доставки ліків завдяки їх особливим фармацевтичним властивостям, таким, як ефективність захоплення лікарського середника, контрольована швидкість його звільнення в тканинах, при-

гнічення деградації ензимами. Серед різних біосумісних полімерів особливої уваги заслуговує хітозан, оскільки він має мукоадгезивні властивості і тому здатний посилювати трансепідермальне проникнення шляхом розривів міцних міжклітинних з'єднань [85, 145–147]. На сьогодні можливість використання полімерних наночастинок для трансдермальної доставки препаратів з антизапальними й антиоксидними властивостями, а також інгібіторів індукцибельної NO-синтази, терапевтична ефективність такої технології при дерматитах не досліджена.

Оскільки шкіра має велику площу, це один із перспективних шляхів доставки ліків, що особливо актуально при її ураженнях, у тому числі при контактних та інших дерматитах. Через свою основну захисну функцію, головною перешкодою для всмоктування різних лікарських речовин через шкіру є *stratum corneum* – зроговілий шар, тоді як дерма, яка містить багато капілярів та лімфатичних судин, є структурою для дифундування різноманітних сполук [148]. Другою лінією захисту від екзогенних чинників, а особливо від проникнення антигенів, є щільні міжклітинні контакти зернистого шару *stratum granulosum*, які формуються специфічними білками клаудинами та оклюдинами [149].

Речовини можуть проходити як через міжклітинні простори (екстрацелюлярно), так і крізь клітини і клітинні мембрани (інтрацелюлярно). Ефективність усіх лікарських засобів, що наносяться на шкіру з лікувальною метою, залежить від механізму всмоктування їх крізь епідермальний бар'єр. Проникненню медикаментозних чинників сприяють мазеві основи, які можна розмістити в такій послідовності від більшого до меншого: гідрофільні гелі, емульсійні основи типу олія/вода, емульсійні основи типу вода/олія, абсорбційні, гідрофобні [147]. Тваринні та рослинні жири, жирні кислоти, холестерин, лецитин та інші речовини, що належать до групи стеринів, також можуть проникати крізь шкірний бар'єр.

Топічна доставка ліків первинно необхідна для локального, місцевого впливу [149]. Її переваги у тому, що знижується або зникає потреба у системному призначенні лікарських засобів, мінімізується сумарна терапевтична доза ліків завдяки їх таргетній цільовій доставці та достовірно знижуються ризики розвитку побічних ефектів на інші (нетаргетні) органи та системи. Найбільш популярні топічні дерматологічні лікарські препарати включають нашкірні протигрибкові препарати, сонцезахисні засоби, кератолітичні агенти, місцеві анестетики, антисептики та протизапальні засоби для лікування шкірних хвороб. Трансдермальна доставка ліків, на відміну від топічної, забезпечує системну резорбтивну дію. Наприклад, нікотинові пластирі для тих, хто кидає палити; фентанілові патчі – для зняття і запобігання хронічному болю тощо[150].

Місцева терапія з використанням кортикостероїдів – це патогенетично найбільш обґрунтований метод лікування КД [141, 147]. Проте тривале застосування даних гормонів асоціюється з рядом локальних і системних побічних ефектів, що обмежує їх використання, особливо при хронічних дерматитах. Більше того, протизапальний ефект топічних глюкокортикоїдів при їх самостійному застосуванні не забезпечує адекватний контроль тяжкості захворювання. Сучасним напрямком вирішення цієї проблеми є використання нанотехнологій з метою створення полімерних наночастинок розмірами від 1 до 100 нм з інкапсульованими в них препаратами [147]. Полімерні наночастинок прекрасно підходять для трансдермальної доставки ліків завдяки їх особливим фармацевтичним властивостям, таким, як ефективність захоплення лікарського середника, контрольована швидкість його звільнення в тканинах, пригнічення деградації ензимами [7]. Наночастинок легко проникають в організм людини і є біологічно активними внаслідок їхньої великої поверхні на одиницю маси [7].

До прикладу деякі розміри біологічних об'єктів та фізіологічно активних речовин [144]: нейтрофіли 10 000–15 000 нм; еритроцити 8000–10 000 нм, ядра клітин 4000–40 000 нм; бактерії 330–1000 нм; бактеріофаги 120–150 нм; віруси 100–200 нм; ліпосоми 50 нм; гемоглобін 7 нм; мембрана клітин (товщина) 6–10 нм; молекула ДНК (діаметр) 2,5 нм; інсулін 2,2 нм; кверцетин 1,2 нм; фулерен 1,0 нм; молекула води 0,3 нм; молекула кисню 0,12 нм; молекула азоту 0,11 нм; атом водню 0,1 нм. Найчастіше застосовують наночастинки таких речовин, як альбумін, ліпосоми, поліетиленгліколевмісні структури, фулерени, дендримери, хітозан, нанотрубки та інші. Відокремилася окрема галузь науки – нанотоксикологія, яка вивчає властивості наночастинок та можливості їх застосування [7, 13, 147, 151]. Існує кілька видів наночастинок [27]. Біологічні та біогенні – ферменти, молекули ДНК та РНК, рибосоми, віруси тощо. Полімерні наночастинки, основою яких є полімолочна та полігліколева кислоти, поліетиленгліколь (ПЕГ), полікапралактон. Найчастіше полімери використовують для підвищення стабільності молекулярних переносників (наприклад, ліпосоми). Дендримери – новий тип високомолекулярних сполук, назва якого власне вказує на специфічність його структури (деревоподібна). Вуглецеві наночастинки – це нанотрубки та фулерени. Ці структури створені лише атомами вуглецю за допомогою вольтової дуги, лазерної абляції, хімічним осадженням тощо. Неорганічні наночастинки – наноструктури, отримані на основі оксиду кремнію та різних металів (золото, срібло, платина). Вони мають кремнієве ядро та зовнішню оболонку сформовану атомами металу [145].

Серед різних біосумісних полімерів особливої уваги заслуговує хітозан. Похідні хітозану володіють сорбційними, протизапальними та імуномодулюючими властивостями [151]. Він має мукоадгезивні властивості і тому здатний посилювати проникнення ліків шляхом розривів тісних міжклітинних з'єднань. Відомо, що такі наночастинки, як кар-

бонові нанотрубки, діоксид титану, наночастинки срібла, можуть слугувати тригерами для розвитку реакцій гіперчутливості [27, 85, 146, 151], тоді як хітозан як основа для наночастинок, навпаки, сприяє зменшенню проявів алергізації [71].

Таким чином, зовнішні (топічні) глюкокортикостероїди (ГКС) є препаратами вибору для лікування різних шкірних захворювань, у тому числі дерматитів: псоріазу, atopічного дерматиту, т. зв. «нейродерматиту», контактних дерматитів тощо. Застосування сучасних препаратів із мінімальними системними резорбтивними ефектами привело до зниження частоти такої побічної дії ГКС, як стоншення та атрофія шкіри, синдром гіпоталамо-гіпофізарно-наднирниковозалозної недостатності, затримка росту у дітей тощо. Однак при хронічному перебізі дерматиту з частими загостреннями їх частота залишається досить високою. Окрім того, застосування топічних локальних ГКС не запобігає розвитку рецидивів та не забезпечує контроль за тяжкістю перебігу захворювання. Тому головним завданням науковців є максимальне зниження ризику виникнення побічних ефектів топічних стероїдів за збереження (посилення) їхньої ефективності.

Розробка новітніх лікарських форм, їх всебічне вивчення та впровадження у клінічну практику є важливим завданням сучасної медицини. Застосування нанотехнологій, які підвищують біодоступність та ефективність уже апробованих і перевічених лікарських засобів, дозволяють суттєво скоротити витрати порівняно з розробкою та впровадженням цілком нового препарату та набули популярності протягом останнього десятиліття.

Таким чином, можливість використання полімерних наночастинок для трансдермальної доставки препаратів з антизапальними й антиоксидними властивостями, а також інгібіторів індукцибельної NO-синтази та терапевтична ефективність такої технології при дерматитах залишаються недослідженими, що і стало нашим завданням.

Наноматеріали для остеорегенерації

Лікування хворих із фрактурною хворобою на сьогодні все ще залишається однією з найскладніших проблем сучасної травматології та ортопедії. За даними різних наукових джерел, переломи довгих трубчастих кісток супроводжуються порушенням остеорегенераторних процесів у 6–25 % пацієнтів, незважаючи на те, що для репаративного остеогенезу є всі передумови для відновлення структури кісткової тканини [152–154]. Післятравматична остеорегенерація – це відновлення кісткової тканини як відповідь на пошкодження цілісності кістки, що перебігає у вигляді каскаду багаторівневих патобіохімічних процесів. Дисбаланс на будь-якій стадії може викликати порушення остеорегенерації у вигляді сповільнення зрощення, формування псевдоартрозу, інфікування кісткової мозолі [155]. За даними різних авторів, порушення остеорегенерації при переломах кінцівок фіксується у 2,5–18 % випадків [17, 156], а незадовільні результати при лікуванні несправжніх суглобів досягають 31 % [156, 157]. Якщо врахувати, що протягом року у світі проводять більше двох мільйонів операційних втручань, де є потреба заміщення кісткових дефектів [158], то розробка нових матеріалів для кісткової пластики та медикаментозна стимуляція післятравматичної остеорегенерації залишається актуальним завданням ортопедії та травматології.

Для оптимізації післятравматичної репаративної регенерації кісткової тканини використовують різні методи впливу: фізичні, медикаментозні, застосування кісткової пластики [159–161]. Проаналізувавши спектр запропонованих методів впливу на остеорегенерацію, можна стверджувати про необхідність пошуку досконалих, доступних, економічно обґрунтованих методів доставки медикаментозних засобів до місця перелому чи кісткового дефекту, які б змогли максимально збільшити біодоступність вибраних ліків.

Останнім часом науковці все більше уваги приділяють новим підходам до стимуляції кісткової регенерації із застосуванням нанотехнологій, оскільки в основі росту та регенерації кісткової тканини лежать наномасштабні процеси [162–164]. Очікується, що саме нанотехнології здатні стати тією галуззю, яка здійснить науковий прорив у найрізноманітніших сферах медицини, дозволить краще зрозуміти патогенез післятравматичного остеогенезу та вирішить ряд нагальних завдань практичної медицини, в тому числі у травматології та ортопедії.

Основні тенденції досліджень світових науковців, що вивчають застосування наноматеріалів при переломах кісток, спрямовані на покращення властивостей ортопедичних імплантів, спрямування нанотехнологій на стимуляцію остеорегенерації та можливість інженерії кісткової тканини як альтернативу звичайним методам відновлення кісткових дефектів.

Zhou P., Cao L. та співавт. [165] в експериментальних і клінічних дослідженнях продемонстрували, що остеогенез прискорюється при місцевому застосуванні морфогенетичного білка кістки 2 (BMP₂). Проте BMP₂ не є ідеальним засобом для стимуляції остеогенезу [166–168], оскільки ряд проблем виникає при розробці відповідних переносників для цього білка [169, 170]. Як наслідок, актуальними є підходи з використанням фармакологічних стимуляторів ендогенного синтезу BMP₂. Доведено, що статини, препарати, які знижують вміст холестеролу в сироватці крові, можуть стимулювати експресію BMP₂ кістковими клітинами і тим самим, імітувати ефекти BMP₂ [171, 172]. Цей ефект не є міцним, коли статини призначаються перорально, тому що у цьому випадку вони первинно метаболізуються, проте є достатньо вираженим при місцевому застосуванні. Тому, очевидно, доцільно розробити методи місцевого введення статинів у ділянку перелому з метою локальної стимуляції BMP₂. Перспективним у цьому плані є місцеве введення в місце кісткового дефекту статинів, інкорпорованих у хітоза-

нові наночастинки, які б полегшили доставку даного фармакологічного препарату до місця дефекту чи перелому.

Борисевич В. Б. та співавт. [173] отримали перспективні результати при лікуванні відкритих переломів кісток гомілки у собак, застосовуючи наноаквахелати металів. Показано стимулюючий ефект наноаквахелатів металів на утворення кісткової мозолі. Процеси остеорегенерації вивчено на деяких біохімічних показниках, рентгенологічно та морфологічно.

Поширеність травматизму, тривалість та дороговартісність лікування переломів кісток, висока частота ускладнень визначають медичну та соціально-економічну значимість цієї проблеми і зумовлюють доцільність пошуку нових ефективних методів стимуляції репаративного остеогенезу, що може забезпечити адресна та точкова (цільова) доставка ліків.

**МЕТОДИКА ПРИГОТУВАННЯ
ПОЛІМЕРНИХ НАНОЧАСТИНОК
З ІНКАПСУЛЬОВАНИМИ
ПРЕПАРАТАМИ**

Наночастинки з інкапсульованими досліджуваними препаратами готували за методикою Hussain Z. et al. [174]. Процес їх отримання шляхом перехресного зв'язування між нитками полімерів не потребує застосування токсичних розчинників чи препаративної хімії. Полімерні хітозанові наночастинки готували шляхом іонного «зшивання» хітозану з триполіфосфатом натрію (TPP). Розчин хітозану (0,2 %) готували на 1% розчині оцтової кислоти (рН=5) й інкубували, перемішуючи з досліджуваними препаратами окремо та у поєднанні (бетаметазону дипропіонат – 1 мг/мл в 30:70 суміші етанол/вода; ПЕГ-СОД – 10 мг/мл; 1400W – 1 мг/мл, ловастатин) протягом 30 хв при кімнатній температурі. До 25 мл інкубаційної суміші по краплях додавали 10 мл 0,1 % водного розчину TPP. Суміш постійно перемішували за допомогою магнітної мішалки (700 об/хв). Отримані наночастинки відцентрифугували (28000 об/хв) протягом 30 хв у інституті біології тварин НААН України, співробітникам якого висловлюємо щирю подяку.

Наноаквахелати металів Ca, Fe, Cu, Co, Zn, Mg отримали у готовому вигляді у товариства з обмеженою відповідальністю «Наноматеріали і нанотехнології» за сприяння доктора фізичних наук Каплуненка Володимира Георгійовича,

співавтора винаходу отримання наноаквахелатів [173, 175], за що висловлюємо свою вдячність.

Наноаквахелати металів – це гідратовані наноматеріали, які створені в результаті ерозійно-вибухової технології [173, 175, 176]. У чомусь дані наноматеріали схожі на комплексні сполуки. Адже одна або декілька наночастинок металу є комплексоутворюючою, а як ліганди виступає вода. Кількість молекул води, що входить до такого складу визначає координаційне число сполуки. Гідратування наночастинок металів дає декілька переваг. Такі наноматеріали краще всмоктуються через шлунково-кишковий тракт, володіють кращою біодоступністю та легше проходять клітинні мембрани [173, 175]. Вважають, що наноаквахелати металів здатні повністю замінити аналогічні мікроелементи металів. На сьогодні наноаквахелати металів Mg, Fe, Co, Cu, Zn, Ag; виготовляється в Україні промислово у вигляді колоїдного розчину [177, 178]. На основі проведених клініко-лабораторних досліджень Телятніков А.В. створив препарат «Остіовет-І», до складу якого входять наступні наноаквахелати: Mg, Co, Cu, Zn, Ag. Підвищення метаболічної активності під впливом наноаквахелатів металів, найімовірніше, зумовлене їхнім впливом на системну відповідь під час травматичної хвороби та місцевими ефектами окремих металів.

Для електронномікроскопічних досліджень на плівку підложну, розташовану на електролітичній сіточці, наносили наночастинок з лікарськими засобами та активними компонентами і досліджували їх в електронному мікроскопі ПЕМ-125К при збільшеннях 60–140 тисяч. Розміри наночастинок визначали за допомогою морфометричної програми ВидеоТест – 5.0, КААРА ImageBase.

Розмір отриманих хітозанових наночастинок із лікарськими засобами та активними компонентами за даними електронної мікроскопії складав близько 40–100 нм.

**ЕФЕКТИВНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ
ПОЛІМЕРНИХ НАНОЧАСТИНОК
З ІНКАПСУЛЬОВАНИМИ БЕТАМЕТАЗОНОМ,
СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗОЮ
ТА ІНГІБІТОРОМ iNOS 1400W
ПРИ КОНТАКТНОМУ ДЕРМАТИТІ**

2.1. Сучасний стан проблеми контактних дерматитів

Сьогодні спостерігається прогресивний ріст захворюваності та розповсюдженості дерматозів, що пов'язано з широким використанням все більшої кількості різноманітних хімічних сполук у побуті, косметології та парфумерії, зі зростанням рівня забрудненості навколишнього середовища [73, 179, 180].

За даними Міністерства охорони здоров'я України контактні дерматити (КД) мають найбільшу питому вагу та є найрозповсюдженішими серед алергодерматозів у країні. Показник захворюваності на КД постійно зростає: 2003 р. – 717,5 на 100 000 населення; 2004 р. – 728,0; 2005 р. – 749,4; 2006 р. – 725,2; 2007 р. – 770,8; 2008 р. – 759,5; 2009 р. – 770,2; 2010 р. – 787,6; 2011 р. – 782,6; 2012 р. – 779,0. У 2017 році цей показник становив 557,0 на 100 тис. дорослого населення. Необхідно відмітити, що статистичні дані неповні, оскільки немає інформації по АР Крим та м. Севастополь, Донецькій та Луганській областях. Станом на 2012 рік показники, що перевищують середні по Україні, реєструвалися в таких областях, як Волинська (1043,7), Черкаська (983,8), Черні-

велька (940,2), Хмельницька (920,0), Луганська (837,5), Запорізька (803,2), м. Севастополь (954,1), АР Крим (1053,0) та у Харківському регіоні (1125,4) [181]. У 2017 році найвищий показник захворюваності на контактний дерматит був у Дніпропетровській – 895,8; Київській – 782,9 та Чернівецькій – 686,1 областях на 100 тис. дорослого населення.

За даними Lim H.W. et al. [182], щорічно прямі витрати охорони здоров'я США (безпосередньо пов'язані з наданням такої медичної допомоги, як лікування, діагностика, витрати на усунення побічної дії ліків у разі її виникнення, вартість професійних послуг медичних працівників та ін.) з приводу шкірних хвороб складають близько 74 млрд, тоді як непрямі (витрати, які пов'язані з непрацездатністю хворого під час лікування, а також із відсутністю на робочому місці його родичів, вимушених його доглядати) – близько 11 млрд доларів США. Ці суми прирівнюються до річних витрат на серцево-судинні захворювання та діабет. На четвертому місці серед звернень – контактні дерматити.

Фармакоеконімічний аналіз показує, що прямі витрати на КД займають 5 місце серед витрат на усі шкірні хвороби (включно з меланою), а ліків для терапії КД випикується кожного року майже на 800 млн доларів США. Така ситуація зберігається протягом останніх 15 років [182].

Шкіра – це бар'єр, який захищає організм від зовнішніх чинників різного генезу: механічних, фізичних, хімічних та біологічних. Середня площа шкіри дорослої людини складає приблизно 2 м² [149]. Гістологічно це багат шаровий складний утвір товщиною 50-150 мкм, який складається з епідермісу, дерми, гіподерми та містить багато спеціалізованих клітин і структур. Основна функція шкіри – захист тіла від зовнішніх патогенів. Окрім цього, це й сенситивний орган, який в тому числі підтримує і температурний гомеостаз та захищає від надмірних втрат рідини та солей. Кератиноцити шкіри «цементуються» ліпідами (цераміди, незамінні жирні кислоти, холестерол, сквален, тригліцериди). Гідроліпідна плівка, яка покриває шкіру, має кислу рН, за-

селена сапрофітами та захищає від розмноження патогенів [183]. За допомогою імуноцитохімічних та інших сучасних методик у шкірі людини виявлено більше 30 нейрогормонів та нейромедіаторів (табл. 2.1), що вказує на різноманітність її функцій [79, 184].

Зміни на шкірі, що виникають внаслідок перорального або парентерального шляху введення медикаментів, більш коректно називати токсидермією. Термін «дерматит» традиційно використовується у двох випадках: для характеристики будь-яких змін, що виникають в результаті контакту субстанції зі шкірою – так званий простий дерматит (токсичний), і як синонім контактних алергічних дерматитів.

У виникненні простого дерматиту алергічні механізми не беруть участі. Причиною його є так звані облігатні подразники, тобто такі, які викликають запальну реакцію у будь-якої людини. Це хімічні речовини (кислоти, луги), механічні (потертості) і фізичні фактори (температура, рентгенівські й ультрафіолетові промені), рослини (ідкий жовтець, ясенець, простріл, отруйний бад'ян, молочай, кропива, пастернак та ін.) [185, 186]. Причина алергічного контактного дерматиту – факультативні подразники, які зумовлюють запальну реакцію шкіри тільки в осіб з генетичною схильністю до розвитку цього захворювання і зміненим імунітетом.

Таблиця 2.1. Деякі нейромедіатори та нейрогормони шкіри

Нейромедіатори	Інші біологічно активні речовини
Адренкортикотропний гормон (АКТГ), Кальцитонін ген-подібний пептид (КГПП), Гастрин-релізінг гормон (ГРГ), Меланоцит-стимулювальний гормон (МСГ), Ендорфіни, Енкефаліни, Галанін, Нейрокініни А та В, Серотонін, Нейропептид Y, Нейротензин, Пролактин, Паратгормон, Соматостатин, Субстанція P, Вазоінтестинальний пептид (VIP)	Ацетилхолін, Ангіотензин, ДОФА, Дофамін, Гістамін, Норадреналін, Оксид азоту (NO)

КД розвивається у відповідь на контакт з різноманітними чинниками [90, 148]. Частота розвитку хвороби сягає 15–20 % серед дорослого населення [68, 179, 182], захворювання значно знижує якість життя пацієнта, негативно впливає на соціальну адаптацію та професійну діяльність [71, 180]. На епідеміологію КД впливає багато факторів: екологія та клімат, вік, професія, особливості харчування, наявність супутніх захворювань тощо [73, 187, 188]. Серед причин, які можуть провокувати розвиток КД (лікарські засоби, які застосовують місцево; косметика, парфумерія; деякі рослини; латекс та інші гумові вироби; синтетичні клеї, предмети побутової хімії тощо [72, 98, 109]), найбільш часто пусковими чинниками слугують метали – кобальт, хром, нікель, ванадій та інші [89, 90, 189]. Частота розвитку алергічних реакцій сповільненого типу зросла також і у зв'язку з широким впровадженням та використанням металевих імплантів у ортопедії, кардіології, гінекології, стоматології [187, 190].

Перелік речовин, здатних викликати контактний алергійний дерматит постійно розширюється, на сьогодні це більше 3000 найменувань [191]. Для різних регіонів планети характерні певні алергени, які викликають КД. Значну роль відіграють такі компоненти декоративної косметики, як ароматизатори, кватерній-15, парафенілдіамін, каніфоль, перуанський бальзам та інші [72, 98, 191]. Як правило, алергічні реакції розвиваються після контакту із засобами для висвітлювання волосся, фарбами для волосся, лаком для нігтів, пудрою, губною помадою, сухими парфумами і под. Позитивна алергічна проба на перуанський бальзам, віддушки та кватерній-15 відмічають у 11,6 %, 10,4 % та 9,3 % хворих на алергійний КД відповідно [191]. Часто провокуючими факторами виступають мийні засоби, шампуні та косметичні препарати, до яких входить формальдегід, а у більш ніж 10 % пацієнтів – тимеросал (суміш тіосаліцилової та етилмеркурової кислоти), який використовують як консервант у вакцинах, розчинах для контактних лінз, антисептиках та косметичних засобах [94, 191].

Однак найбільша частота припадає на нікель-індуковані КД через нікелевмісні та нікельовані прикраси, пірсінг, покриття окулярів, блискавок, прикрас, ґудзиків, пряжок, оправы окулярів тощо [88, 91, 148]. Цей метал у 2008 році було названо «контактним алергеном року» Американським товариством контактних дерматитів (American Contact Dermatitis Society (ACDS) [77, 78]. Позитивні шкірні проби на сульфат нікелю відмічають у 10–17 % хворих з КД [78, 191]. Для зменшення частоти розвитку алергічних реакцій з кінця 90-их – початку 2000 рр. у країнах Європи введено в дію EU Nickel Directive, яка різко обмежує використання нікелю та його солей у виробництві та побуті, однак навіть жорстке державне регулювання не було 100 % ефективним [93, 192, 193].

КД поділяють на 2 основних види: алергійний (allergic), який розвивається як реакція гіперчутливості, та власне контактний, запальний або простий (irritant), який виникає у відповідь на подразник; також виділяють гостру, підгостру та хронічну його форми [186].

При гострій формі дерматиту прояви запалення яскраво виражені, в той же час при хронізації процесу симптоми стають стертими. Прогнозувати наслідки можна за якісними характеристиками так званого «вторинного» висипання: виникнення атрофії – несприятливий наслідок; струп, тріщини, лусочки, садна, виразки, ерозії – сумнівний результат; загоєння без сліду, гіперпігментація, дисхромія, депігментація, ліхеніфікація, рубець – сприятливий результат [124]. При хронічному перебізі можуть запускатися процеси канцерогенезу [194].

Контактний алергійний дерматит розвивається як імуноопосередкована Т-лімфоцитами реакція організму в сенсibiliзованих осіб [195], це різновид реакції гіперчутливості сповільненого типу [80]. Шкіра – це також імунний орган, оскільки має уроджені імунні центри, які беруть безпосередню участь в реакціях гіперчутливості та у формуванні вогнищ запалення при КД [72, 96]. Пе-

реважно як алергени виступають сполуки, які не можуть бути повноцінними антигенами; вони виступають у ролі гаптенів. Це такі низькомолекулярні молекули, що можуть зв'язуватись з антигенним детермінантом/епітопом, але які самі не є антигенними (через малий розмір), аж поки не утворять комплекс з антигенним носієм [196]. Після контакту з алергеном гаптени запускають каскад реакцій, включно з Ig E-опосередкованою (реакції негайної гіперчутливості) та Т-клітинами опосередкованими реакціями (реакції гіперчутливості сповільненого типу) [197, 198].

У розвитку контактних дерматитів виділяють три стадії: імунологічну, патохімічну та патофізіологічну [72]. Імунологічна фаза характеризується тим, що проходить зв'язування гаптенів з антиген-презентуючими клітинами шкіри (клітини Лангерганса (КЛ)), які далі мігрують у регіонарні лімфатичні вузли. Вони є носіями антигену у складі молекул МНС (Main Histocompatibility Complex) 2-го класу, на який реагують CD4+-лімфоцити. Однак сьогодні вважають, що важливу роль у розвитку реакції гіперчутливості при КД відіграють і CD8+-клітини [148]. Також йде зсув диференціації та проліферації клітин у бік Th1-клітин. Активовані КЛ мігрують у регіонарні лімфовузли. Відомо, що активація та міграція КЛ залежить від ІЛ-1 β [133, 199].

Патохімічна фаза. При повторному контакті з алергеном сенсibilізовані Th1-лімфоцити мігрують у місце контакту з алергеном та активують резидентні місцеві, а потім і мігруючі макрофаги, що запускає процеси розвитку алергійного запального процесу з переважанням клітинної інфільтрації. Запускається каскад цитокінових реакцій: Th1-лімфоцити продукують інтерферон- γ (ІФН- γ), фактори некрозу пухлин α та β (ФНП- α та - β), гранулоцитарно-макрофагальний колоніестимулювальний фактор (ГМ-КСФ), макрофаги – ФНП- α , ІЛ-6, ІЛ-2, та α - і β -хемокіни.

Патофізіологічна фаза – розвивається клінічна симптоматика КД.

Інші автори виділяють такі три фази: сенсibiliзації (відповідає імунологічній фазі), транспорту (переносу або патохімічна) та ефекторну (патофізіологічну) [80, 148, 200].

Відомо, що розвиток оксидативного стресу відіграє важливу роль у розвитку запальних та алергічних захворювань шкіри [116, 201, 202], запускаючи розвиток запалення, що як патологічний процес є невід'ємною частиною патогенезу усіх алергодерматозів. У шкірі локалізовано багато клітин, які беруть безпосередню участь у запальних реакціях: лімфоцити, нейтрофіли, плазматичні клітини, власне й самі кератиноцити.

Активні форми кисню постійно утворюються в шкірі за аеробних умов в результаті різноманітних метаболічних реакцій, однак завжди підтримується баланс між про- та антиоксидантними впливами [117]. Виділяють кілька основних активних форм кисню: супероксидний аніон-радикал ($O_2^{\cdot-}$); перекис водню (H_2O_2) та органічні перекиси ($ROOH$); гідроксильні та пероксидні радикали ($HO\cdot$, $HO_2\cdot$, $RO_2\cdot$); синглетні форми кисню (1O_2) та іони HO_2^- [114, 203]. Незважаючи на їх цитотоксичність, вони відіграють важливу роль у функціонуванні нейтрофілів, макрофагів, синтезі ейкозаноїдів, редокс-регуляції експресії генів, процесах метаболізму, запалення та імунітету [114, 203, 204]. Відомо також, що активні форми кисню відповідають за такі процеси, як проліферація клітин, імунна відповідь, апоптоз, диференціація клітин [120, 205]. У разі дисбалансу розвивається оксидативний стрес, який запускає каскад патологічних процесів та провокує викид прозапальних цитокінів [99, 206].

В останні роки значна увага приділяється вивченню ролі оксиду азоту (NO) в регуляції різних систем організму та його участі у патогенезі більшості хронічних захворювань [95, 99, 100, 207]. NO синтезується в результаті реакцій метаболізму L-аргініну, які каталізуються NO -синтазою (NOS) у присутності O_2 з використанням НАДФН як джерела електронів [95]. Розрізняють її

три ізоформи, які названі відповідно до типу клітин, де вони були вперше виявлені: нейрональну, або мозкову, (nNOS), індуцибельну, або макрофагальну NOS (iNOS), та ендотеліальну NOS (eNOS) [95]. Хоча всі ізоформи NOS каталізують утворення NO, кожна з них має свої особливості механізму дії, локалізації та біологічного значення для організму. Вказані ізоформи NOS також прийнято поділяти на конститутивну (cNOS) та індуцибельну (iNOS) синтази оксиду азоту [132, 208]. Конститутивна NOS (nNOS та eNOS), продукує NO у невеликій кількості (пікомолях). Індуцибельна NOS (iNOS) з'являється у клітинах після індукції їх бактеріальними ендотоксинами, деякими медіаторами запалення, цитокінами (інтерлейкін-1, інтерлейкін-2, фактор некрозу пухлин) і синтезує NO у більшій кількості (нанолях), і саме вона відіграє важливу роль у розвитку багатьох патологічних процесів. Кінцевими стабільними продуктами метаболізму NO є нітрити/нітрати – $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ [95, 96].

Як внутрішньоклітинний і міжклітинний месенджер NO бере участь у регуляції низки метаболічних реакцій, відіграє важливу роль у синаптичній передачі нервового імпульсу, регуляції кровопостачання шлункового тракту, секреції інсуліну, розвитку діабету тощо [101, 132]. Активність NO-синтази зафіксовано у ендотелії, головному мозку, клітинах крові, у нирках, епітелії легеневого дерева, міокарді [95, 207]. Індукований синтез NO відіграє важливу роль у функціонуванні гепатоцитів і захищає печінку від септичної та ішемічної реперфузії. Оксид азоту виконує як прозапальну, так і протизапальну роль. Присутність iNOS у активованих макрофагах, лімфоцитах та нейтрофілах вказує на те, що NO відіграє важливу роль у запаленні та розвитку імунної відповіді.

Посилення синтезу NO спостерігається при багатьох патологіях, що сприяє формуванню адаптаційних процесів, однак надлишок його продукції призводить до вазодепресивних та цитотоксичних ефектів [209]. Цитотоксичні

властивості NO, як відомо, в більшості випадків реалізуються через утворення пероксинітриду (ONOO-) внаслідок взаємодії NO з активним радикалом кисню супероксид-аніоном (O_2^-). У разі високої концентрації ONOO- призводить до генерації каскаду високотоксичних прооксидантів, які можуть окиснювати ліпіди, тіолові групи та пошкоджувати клітинні мембрани [96, 207, 210].

Більшість клітин шкіри, які безпосередньо залучені до реакцій гіперчутливості сповільненого типу, які розвиваються при КД, включно кератиноцити, клітини Лангерганса, меланоцити, фібробласти та ендотеліоцити, може синтезувати NO під дією різних ізоформ NO-синтази у кількостях, які викликають пошкодження шкірних покривів [96]. Підвищену концентрацію NO було встановлено у біоптатах тканин пацієнтів з алергійним КД, а також зафіксовано підвищену активність iNOS серед тих, у кого були позитивні результати патч-тестів [102, 207].

Оксид азоту завдяки своїм властивостям сприяє запальній клітинній інфільтрації тканин та підтримує вазодилатацію, що сприяє розвиткові набряку та підтримує розвиток КД як у фазі сенсibiliзації (імунологічній, індукції, патохімічній), так і в ефекторній (патофізіологічній) фазі (рис. 2.1) [102].

Отже, ймовірно, модуляція активності індукцибельної NO-синтази має безпосередній вплив на розвиток запальних змін у шкірі при алергійному контактному дерматиті [72, 179].

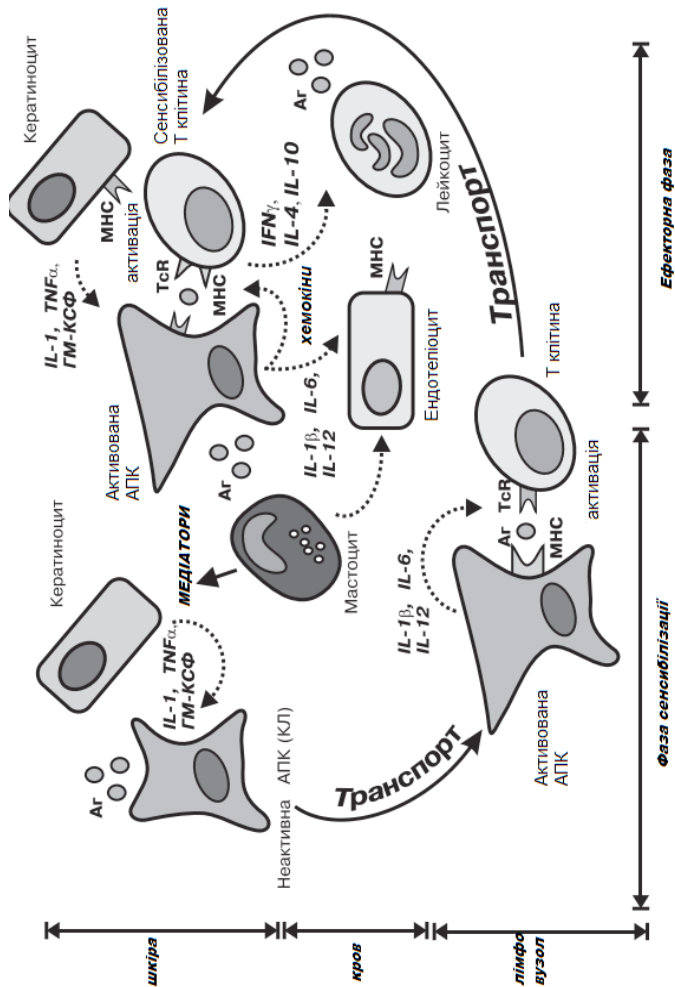


Рисунок 2.1. Роль цитокінів та оксиду азоту в патогенезі алергійного контактного дерматиту.

Примітки. IL – інтерлейкін, TNF α – tumor necrosis factor alpha – фактор некрозу пухлин альфа, IFN γ – інтерферон гамма, MHC – Main Histocompatibility Complex, головний комплекс гістосумісності, GM-CSF – гранулоцитарно-макрофагальний колоніестимулювальний фактор, АПК – антиген-презентуюча клітина, Ag – антиген, TcR – T cell receptor – рецептор T-клітини.

2.2. Принципи терапії контактних алергійних дерматитів

Головним принципом лікування КД є патогенетичний підхід, тобто вплив на усі механізми розвитку. Мова йде про уникнення контакту з алергенами, усунення неспецифічних тригерних факторів, боротьбу з клінічними проявами КД, протизапальну терапію, контроль супутніх хвороб та імунологічних порушень [211]. Лікування КД складається як з нефармакологічних рекомендацій (уникати контакту з чинниками, які його провокують; адекватне зволоження шкіри; припинення використання мила тощо), так і з місцевої та системної терапії з використанням в основному ТГКС [212, 213].

Основним методом підтвердження діагнозу та встановлення алергійного чинника при КД є патч-тести (patch-testing), які передбачають нанесення на неуражену шкіру пацієнтові різних алергенів [72, 179, 180]. Точне визначення провокуючого чинника дозволяє вжити максимально ефективних заходів для його уникнення.

Оскільки при КД порушуються усі функції шкіри, лікування повинне впливати на усі основні клінічні прояви: усувати свербіж, захищати від зовнішніх екзогенних чинників, відновлювати пошкоджений епітелій та усувати вторинну інфекцію [179, 214]. Обов'язковим є застосування захисних бар'єрних кремів, адже через порушення структури ліпідів рогового шару шкіри у хворих з КД відзначається підвищена її сухість, нерідко виникають мікро- і макротріщини, з'являються відчуття стягнення шкіри і свербіжу, а також знижується бар'єрна функція стосовно екзогенних алергенів [188]. Тому потрібен ретельний догляд за шкірою, її гідратація та регулярне використання препаратів, які звожують шкіру, так званих емолієнтів [110]. Емолієнти створюють необхідні умови та значно сприяють досягненню лікувального ефекту топічних засобів. Це великий клас дуже різноманітних засобів, який не має єдиної класифікації. За

природою та розчинністю виділяють ліпофільні, гідрофільні та амфифільні (змішані) емолієнти. За механізмами впливу на структури шкіри емолієнти/регідратанти поділяють на захисні та пом'якшувальні (олії, рідкий парафін, білий вазелін, ланолін та його похідні), відновні/замісні (кераміди, фосфоліпіди, тригліцериди, холестерол та його етери, сквален), власне регідративні (органічні спирти, гліцерин, сечовина, моно- та олігосахаридні компоненти натурального зволожувального фактора – NMF), спрямованої дії – протисверб'іжні (гліцин, бісаболол, агоністи канабіноїдних рецепторів – PEA (пальмітоїлетаноламін), з репаративним ефектом (декспантенол), поєднаної дії з протизапальним та імуномодулювальними ефектами (термальна вода, специфічні і безпротеїнові екстракти па ростків злаків) тощо [103, 110]. За натуральністю інгредієнтів емолієнти/регідратанти поділяють на природні (50 % інгредієнтів мають природне походження, з яких 5 % мають бути класифіковані як органічні) та органічні (95 % інгредієнтів мають природне походження, з яких 10 % мають бути класифіковані як органічні) [103, 215].

Останнім часом використовуються топічні інгібітори кальциневрину (ТІК) такролімус і пімекролімус, що особливо актуально для пацієнтів з контактною гіперчутливістю до ТГКС [215]. Ці препарати-імуносупресанти пригнічують активацію Т-клітин та викид цитокінів. Ефективність їх застосування була підтверджена рандомізованими дослідженнями на більш ніж 12 000 пацієнтів. ТІК не викликають атрофії шкіри і знижують потребу у застосуванні ТГКС. Однак немає даних щодо їх довготривалого застосування і віддалених побічних ефектів. Окрім того, існує великий ризик неконтрольованого всмоктування ТІК через пошкоджені шкірні бар'єри та розвиток системних побічних ефектів [75]. Також може застосовуватися фототерапія та системні імунодепресанти. Системні ГКС призначають у випадку ураження більше 20 % шкірного покриву та при неефективності локального лікування.

Місцеве лікування уражених ділянок ГКС, завдяки наявності у них виражених протизапальних, протисвербіжних та інших властивостей, є терапією вибору [72].

Основні фармакодинамічні ефекти ГКС включають проти-запальну, протишокову, антитоксичну, протиалергічну та імуносупресивну дії. Механізм протизапальної дії універсальний за рахунок пригнічення генів резидентних та мігруючих клітин шкіри, які беруть участь у запаленні. Внаслідок цього зникає свербіж, зменшується набряк, гіперемія та ексудація [75, 212]. Відомо, що ТГКС мають вплив на структури і епідермісу і дерми. Після проникнення всередину клітини вони реагують з білковими рецепторами, утворюючи комплекс «стероїд-рецептор». Цей комплекс потрапляє у ядерні структури клітини та зв'язується з ДНК, потім відбувається транскрипція месенджерної РНК (mRNA), через яку ГКС можуть стимулювати або пригнічувати синтез специфічних білків. Так, відомо, що стероїди стимулюють синтез ліпокортину, який пригнічує активність фосфоліпази A_2 , що відповідає за метаболізм арахідонової кислоти та є попередником простаноїдів і лейкотрієнів [75, 212].

ГКС пригнічують антиген-презентуючу функцію клітин Лангерганса, знижують синтез та секрецію цитокінів, ІЛ-1, ІЛ-2, ІФН- γ , ФНП- α , ГМ-КСФ [210]. ГКС також пригнічують mRNA, яка відповідає за синтез ІЛ-1. Такі ефекти на метаболізм арахідонової кислоти та цитокінів забезпечують протизапальну, імуносупресивну та антимітогенну дії.

Існує кілька класифікацій ТГКС: за силою дії за Miller та Munro, відповідно до вазоконстрикторного ефекту за McKenzie та Stoughton, за алергенним потенціалом тощо.

Класифікація ТГКС за силою дії за Miller та Munro:

I. Дуже сильні: клобетазолу пропіонат, бетаметазону дипропіонат.

II. Сильні: метилпреднізолону ацепонат, преднікарбат, гідрокортизон-17-бутират, флютиказону пропіонат, мометазону фураат, бетаметазону валерат, флуцинонід, гальцинонід.

III. Помірно сильні: флуоцинолону ацетонід, триамцинолону ацетонід, флуметазону півалат.

IV. Слабкі: дексаметазон, преднізолон, гідрокортизон, гідрокортизону ацетат.

Відповідно до класифікації ВООЗ [73, 123, 188], за силою свого впливу всі топічні ГКС поділяють на 4 основні групи, в межах яких їх підрозділяють на 7 підгруп (табл. 2.2).

Сила впливу ТГКС залежить від їх фармацевтичної форми та зростає при використанні оклюзійних пов'язок, а також від місця нанесення (волосиста частина, шкіра, складка тощо) (табл. 2.3) [138].

Таблиця 2.2. Класифікація топічних глюкокортикостероїдів, які застосовуються для лікування шкірних захворювань, за ВООЗ

Ультра-сильні	Підгрупа I	Клобетазолу пропіонат крем (0,05 %) та мазь (0,05 %)
Сильні	Підгрупа II	Амциноніду мазь (0,1 %), бетаметазону дипропіонату мазь (0,05 %), дексаметазону крем або мазь (0,025 %), флуоцинонід крем, мазь чи гель (0,05 %), галцинонід крем (0,1 %)
	Підгрупа III	Бетаметазону дипропіонату крем (0,05 %), бетаметазону валерат мазь (0,1 %), дифлоразону діацетат крем (0,05 %), тріамцинолону ацетонід мазь (0,1 %)
Середньої сили	Підгрупа IV	Дезоксиметазону крем (0,05 %), флуоциноніду ацетонід мазь (0,025 %), гідрокортизону валерат мазь (0,2 %), тріамцинолону ацетонід крем (0,1 %);
	Підгрупа V	Бетаметазону дипропіонат лосьйон (0,02 %), бетаметазону валерат крем (0,1 %), флуоциноніду ацетонід крем (0,025 %), гідрокортизону бутират крем (0,1 %), гідрокортизону валеріат крем (0,2 %), тріамцинолону ацетонід лосьйон (0,1 %)
Слабкі	Підгрупа VI	Бетаметазону валерат лосьйон (0,05 %), дезонід крем (0,05 %), флуоцинолону ацетонід розчин (0,01 %)
	Підгрупа VII	Дексаметазону натрію фосфат крем (0,1 %), гідрокортизону ацетат крем (1 %), метилпреднізолону ацетату крем (0,25 %)

Таблиця 2.3. Залежність ступеня проникнення в шкіру від лікарської форми топічних глюкокортикостероїдів

Лікарська форма	Ступінь проникнення в шкіру	Показання
Емульсія (лосьйон)	+	Мокнення, косметичні причини, непереносимість інших форм
Крем	++	Гостра стадія, підгостра стадія, мокнення, в складках
Мазь	+++	Підгостра стадія, хронічне запалення
Жирна мазь	++++	Хронічний процес, ліхеніфікація значний ксероз

Пасти, що містять багато підсушуючих компонентів, використовуються для зняття мокнення та при свербіжі. Мазь (діючі речовини на жировій основі (вазелін або ланолін) частіше використовують при хронічних процесах з сухістю шкіри; вона довго залишається на шкірі та добре проникає. Лінімент – завись на водно-жировій емульсії, добре всмоктується. Креми – повністю на водній основі, також добре всмоктуються. Аерозолі або спреї використовують для пошкоджених ділянок шкіри, при сонячних опіках, також на повністю водній основі. Гелі – субстанції на воді або спирті з охолоджуючим ефектом, які миттєво всмоктуються та доставляють діючу речовину відразу у кровотік, однак недовго затримуються на шкірі [123, 188].

Ультрасильні ТГКС (надактивні) мають коефіцієнт протизапальної активності >1500, сильні (високоактивні) – >1000, середньої сили (середньоактивні) – >10-100 і слабкі (низькоактивні) – 1-10.

Як традиційний режим, так і інтермітуюча терапія максимально ефективні у разі застосування ступінчастим методом: «Сходінка вниз» – терапію розпочинають

із сильнішого препарату з поступовим заміщенням його дещо слабшим за потреби, «Сходинка вгору» – навпаки [110, 216]. Режим ступінчастої аплікації ТГКС на уражені ділянки шкіри використовується при розповсюдженому запальному процесі (великій площі ураження) і полягає в почерговій аплікації ТГКС на різні ділянки протягом доби або іншого терміну. Режим штрихової аплікації ТГКС, як і попередній, застосовується у випадку великої площі ураження. Думка експертів щодо цього режиму є аналогічною. Режим «спаринг-терапії» (у пацієнтів від 1 року) полягає в призначенні ТГКС на осередки запалення шкіри після попереднього нанесення на всю поверхню тіла регідрантантів, що містять сечовину. Режими ступінчастої та штрихової аплікації ТГКС, а також спаринг-терапії можуть застосовуватись при великій площі ураження з метою зменшення частоти побічних ефектів. В аспекті ефективності ці режими не демонструють переваг над іншими режимами [179, 214, 217].

У випадку приєднання мікробних ускладнень застосовують комбіновані лікарські форми для зовнішнього застосування, які містять, окрім ТГКС, антибіотики (фузидова кислота, гентаміцин, неоміцин, окситетрациклін та інші) та протигрибкові компоненти (клотримазол, натаміцин тощо), саліцилову кислоту тощо.

Основні ефекти ГКС [126]:

- гальмування міграції нейтрофілів, моноцитів та еозинофілів у вогнище запалення;
- активація гістамінази та, відповідно, зниження рівня гістаміну у запальному вогнищі та зменшення свербіжжю;
- зниження чутливості нервових закінчень до гістаміну;
- посилення продукції білка ліпокортину, який пригнічує активність фосфоліпази А2 та призводить до зменшення синтезу медіаторів алергічного запалення (похідних арахідонової кислоти);

- зниження активності гіалуронідази та лізосомальних ферментів, що знижує проникність клітинної та судинної стінки і зменшує вираженість набряку;
- зменшення утворення вільних радикалів кисню;
- гальмування синтезу мукополісахаридів;
- зменшення кількості антигенпрезентуючих та опасистих клітин;
- гальмування синтезу нуклеїнових кислот.

Принципів точного дозування ТГКС немає. Для розрахунку оптимально необхідної кількості м'якої місцевої лікарської форми ТГКС (крему, мазі) використовується принцип «одиниці кінчика пальця» (ОКП), який є досить простим для пацієнтів (рис. 2.2).

Відповідно до цього принципу, для аплікації місцевої форми ТГКС на кисть або стопу необхідно 2 ОКП, на верхню кінцівку – 3 ОКП, на нижню кінцівку – 6 ОКП, на тулуб – 14 ОКП. Таким чином, для одноразового нанесення міс-



Рисунок 2.2. Принцип дозування топічних глюкокортикостероїдів за допомогою «одиниці кінчика пальця».

цевої форми ТГКС на всю поверхню тіла необхідно близько 20 г.

Введення у клінічну практику лікування дерматологічних захворювань ГКС у 1952 році Sulzberger and Witten [125, 126, 218, 219] стало однією з найбільш знакових подій. З того часу з'явилося багато нових лікарських засобів та фармацевтичних форм, в тому числі місцевих ТГКС, розроблено основні принципи та схеми застосування. Незважаючи на їх виражену лікувальну активність, розвиваються і побічні ефекти, які можна поділити на дві великі групи: місцеві та системні.

Місцеві побічні ефекти: стоншення та атрофія шкіри (найбільш часте ускладнення), поява стрий та телеангіоектазій, шкіра легко пошкоджується, спостерігається стійке розширення судин шкіри, еритема, розацеа, також може розвиватись контактний алергійний дерматит, гіпертрихоз або алопеція, фолікуліт, комедони, приєднання вторинної бактеріальної інфекції, сповільнення загоєння ран тощо [125, 126, 219].

До системних побічних ефектів, які розвиваються при всмоктуванні препаратів у кров (резорбтивна дія), належать: гіпоталамо-гіпофізарно-наднирниковозалозна недостатність, остеопороз, гіперглікемія та стероїдний діабет, підвищення артеріального тиску, підвищений ризик розвитку тромбозів, розвиток синдрому Кушінга, типового ожиріння та інші [127, 150, 179, 220]. Часто розвиваються небажані ефекти з боку шлунково-кишкового тракту (ульцерогенний ефект, диспепсичні явища), ендокринної, кісткової систем (глаукома, міопатія, розлади з боку психічної сфери, затримка росту у дітей та інші) [128].

Серед побічних фармакологічних ефектів також може розвиватися тахіфілаксія, синдром віддачі. Та все частіше обговорюється у літературі «steroid addiction syndrome» – розвиток залежності до ГКС [126, 219]. Цей симптомокомплекс розвивається на тлі синдрому відміни ТГКС (раптовому припиненні приймання ГКС без поступового зниження

їх дозування). Виділяють папуло-пустульозну та еритематозно-набрякову форми. Страждають переважно обличчя та область геніталій (99,3 %) у жінок (81 % зареєстрованих випадків) як наслідок тривалого неправильного та необґрунтованого застосування середньої сили, сильних та ультрасильних ТГКС.

Фактори ризику, які підвищують можливість виникнення побічних ефектів: молодий вік; сила ТГКС (чим сильніший, тим вищий ризик); використання оклюзійних пов'язок; нанесення ТГКС на ділянки обличчя, шиї, внутрішню поверхню стегна, пахвинну область, під пахви; атрофія шкіри [125, 126, 128]. Підвищений ризик розвитку алергічних реакцій спостерігається у пацієнтів з надмірною чутливістю або позитивними патч-тестами до нетопічних ГКС, наявною резистентною екземою, хронічного atopічного дерматиту. Також відсутність комплаєнсу є фактором, що сприяє розвитку ускладнень терапії.

Основні заходи для запобігання розвитку побічних ефектів: ступінчаста терапія за силою використовуваних ТГКС, альтернуюча схема застосування, обережне нанесення на певні ділянки (пахвинні ділянка, обличчя тощо), продовження терапії з найслабшим стероїдним засобом при потребі та інші [128]. Щоб уникнути розвитку тахіфілаксії, потрібно уникати оклюзійних пов'язок, використовувати альтернативні схеми лікування, наносити ТГКС вранці та використовувати якомога слабші засоби [126]. Для запобігання розвитку атрофії рекомендують використовувати третіноїн (метаболіт вітаміну А), а також для запобігання розвитку реактивних змін ураженої шкіри – топічні кератолітики (саліцилова кислота тощо) [127, 141, 150].

Враховуючи недоліки класичного лікування уражень шкіри глюкокортикоїдами, які залишаються препаратами вибору, надзвичайно актуальним є пошук способів підвищення ефективності лікування з одночасним зменшенням частоти розвитку та тяжкості побічних реакцій. У даному випадку з використанням нанотехнологій.

2.3. Вплив звичайних форм і нано-інкапсульованих бетаметазону, супероксиддисмутази та 1400W на інтенсивність запального синдрому і цитокіновий профіль при експериментальному контактному дерматиті

Зважаючи на частоту розвитку контактних дерматитів та поширеність нікель-індукованих уражень шкіри, враховуючи доведену роль оксидативного стресу та значущість порушень метаболізму NO у механізмах розвитку запального процесу в шкірі та побічні дії від «золотого стандарту» терапії – глюкокортикостероїдів – нашою метою було експериментальне дослідження та оцінка впливу топічного застосування полімерних наночастинок з інкапсульованим бетаметазоном, супероксиддисмутазою (СОД) та нано-інкапсульованого інгібітора iNOS N-(3-(Амінометил)бензил)ацетамідину (1400W) на морфологічні зміни в шкірі, інтенсивність запального процесу, оксидативного і нітрооксидативного стресу та цитокіновий профіль у щурів із контактним дерматитом.

Дослідження проводились на 180 білих нелінійних щурах-самцях масою 180-220 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Тварин було поділено на такі групи: контрольна група; група з контактним алергійним нікелевим дерматитом (КД), яких досліджували на 12-ту та 20-ту доби. З початку 12 доби після формування ознак дерматиту: тварини, які отримували, відповідно, бетаметазон, пегільовану супероксиддисмутазу, високоселективний інгібітор індуцибельної NO-синтази 1400W та вказані засоби корекції у вигляді наночастинок окремо та усіх трьох разом (наноконпозиція). Окремо група тварин отримувала лише полімерні хітозанові наночастинок (НЧ) для контрольного порівняння впливу власне НЧ.

Контактний дерматит моделювали за оригінальною апробованою методикою шляхом щоденного нанесення протягом 12 днів на ретельно вистрижену ділянку шкіри щурів в області спини (площею 3x3 см) 4 г водного ланоліну, що містив 5 % NiSO₄ (рис. 2.3). Інтенсивність розвитку дерматиту оцінювали візуально за виразністю запальної реакції шкіри в балах (0 – відсутність видимої реакції, 1 – слабка еритема, 2 – чітка еритема, 3 – чітка еритема з ущільненням, 4 – еритема з явищами геморагії, вираженою інфільтрацією та серозно-геморагічними кірками з виразками) та за динамікою товщини шкірної складки [221].

Препарати корекції змішували з водним ланоліном та наносили шляхом аплікації на уражену ділянку шкіри два рази на добу протягом семи днів, починаючи з 13 доби після формування ознак дерматиту. Тваринам контрольної серії наносили лише 4 г водного ланоліну.

Декапітацію тварин проводили під тіопенталовим наркозом на 20 день експерименту. Для дослідження брали кусочки шкіри, тканини печінки, сироватку крові. Вивчалися гематологічні, біохімічні та імунологічні показники у щурів, а саме: рівень лейкоцитів та ШОЕ (за загальноприйнятими методиками), концентрація ТБК-активних продуктів [222], активність супероксиддисмутази [223] та каталази [224], вміст відновленого глутатіону (G-SH), загальна анти-

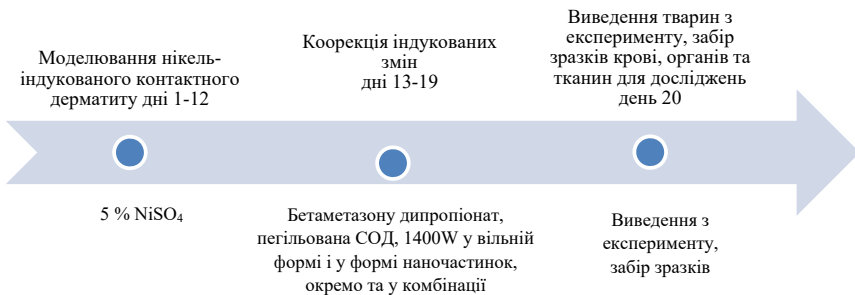


Рисунок 2.3. Дизайн дослідження.

окиснювальна активність сироватки крові, сумарна активність NO-синтази, загальний вміст нітратів і нітритів [104], концентрація цитокінів у сироватці крові. Проводили гістологічні й електронно-мікроскопічні дослідження структур шкіри [225].

Отриманий цифровий матеріал був оброблений методом варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента та однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA). Розраховували середні арифметичні величини (M), похибки середніх арифметичних (m), коефіцієнти варіації, а також середні квадратичні відхилення. Зміни вважали достовірними при $p \leq 0,05$. На рисунках і в таблицях рівень значимості вказували тільки для достовірних результатів. Для розрахунків використовували комп'ютерну програму Microsoft Excel XP (USA) та Statistica 10.0 (StatSoft, USA).

На 12 добу моделювання експерименту було констатовано наявність видимих змін шкірних покривів у експериментальних групах тварин. У місцях нанесення сульфату нікелю розвивалася виражена запальна реакція з характерними ознаками: почервоніння, набряк шкіри, місцеве підвищення температури та больовою реакцією у тварин на дотик. На ураженій ділянці шкіри спостерігалися гіперемія та геморагії з вираженою інфільтрацією, розвивалися виразки з геморагічними кірками. Значний набряк тканини призводив до потовщення шкірної складки у дослідних тварин порівняно з інтактними щурами у 2,4 раза на 12-ту добу експерименту (табл. 2.4).

Таким чином, через 12 днів щоденного нанесення 5 % сульфату нікелю ми отримали розвинутий контактний дерматит у всіх дослідних групах, тоді як у групі контролю (тварини, яким наносили на поголені ділянки шкіри лише водний ланолін) змін на шкірі не було, вона не відрізнялася від інших ділянок тіла.

На 20-ту добу експерименту інтенсивність ураження шкіри у нелікованих щурів незначно знижувалася.

У третини тварин все ще були зафіксовані виразки та геморагічні кірки, виражена еритема та набряк, візуальні показники все ще залишалися малозміненими, показник товщини шкірної складки мав незначну тенденцію до зниження (табл. 2.4). Розвиток контактного дерматиту супроводжувався підвищенням вмісту лейкоцитів у периферичній крові щурів у 1,77 рази (табл. 2.5) та зростанням ШОЕ – у 1,84 рази, що свідчить про розвиток системної запальної реакції.

Відомо, що засобом вибору при КД залишаються топічні глюкокортикостероїди, в тому числі бетаметазону дипропіонат. Його застосування з 12 по 20 день експерименту супроводжувалося вираженим видимим покращенням. На 7-у добу щоденних аплікацій бетаметазону не було виражених виразок та геморагічних кірок на уражених ділянках шкіри, також загоювалися ерозії. Явища гіперемії були значно менше виражені, однак ще зберігався набряк, інтенсивність якого була достовірно меншою.

Вираженість шкірних проявів у балах була меншою на 32,1 % порівняно з контрольною патологією на 20-у добу та достовірно відрізнялася (зменшення показника на 40,5 %) порівняно зі станом шкіри тварин на 12-ту добу експерименту.

Застосування СОД також супроводжувалося поліпшенням стану шкірних покривів у досліджуваних тварин. На 20-ту добу експерименту кількість виразок та геморагічних кірок зменшувалася, більшість ерозивних тканин була на різних стадіях загоювання. Явища гіперемії були менше виражені, однак все ще зберігалися, як і набряк тканин. Товщина шкірної складки зменшувалася на 17,5 % порівняно з нелікованим КД та на 21,2 % порівняно зі станом до корекції. Застосування СОД супроводжувалося тенденцією до зниження рівня лейкоцитів, швидкість осідання еритроцитів була нижчою на 13,8 % порівняно з контрольною патологією. Показник ШОЕ також достовірно відрізнявся від стану на 12-ту добу – знижувався на 19,0 %.

Таблиця 2.4. Вплив препаратів бетагемтазону, супероксиддисмутази та 1400W на вираження контактного нікелевого дерматиту в щурів (M ± m, n=10)

Показник	Термін спостереження	Дослідні групи										КД + нано-композиція
		конт-рольна група	КД	КД + бетагемтазон	КД + нано-бетагемтазон	КД + СОД	КД + нано-СОД	КД + 1400W	КД + нано-1400W	КД + НЧ	КД +	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Інтенсивність ураження шкіри, бали	12-та доба	0,0 ± 0	3,12 ± 0,38 p<0,001	3,06 ± 0,29 p<0,001 p1>0,05	3,18 ± 0,42 p<0,001 p1>0,05	3,10 ± 0,29 p<0,001 p1>0,05	3,16 ± 0,42 p<0,001 p1>0,05	3,17 ± 0,29 p<0,001 p1>0,05	3,22 ± 0,42 p<0,001 p1>0,05	3,20 ± 0,30 p<0,001 p1>0,05	3,14 ± 0,28 p<0,001 p1>0,05	
	20-та доба	0,0 ± 0	2,68 ± 0,43 p<0,001 p2>0,05	1,82 ± 0,18 p<0,001 p1<0,01 p2<0,01	1,17 ± 0,24 p<0,001 p1<0,05 p2<0,001 0,001 #1 ≤ 0,05	2,02 ± 0,12 p<0,001 p1<0,05 p2<0,01	1,67 ± 0,14 p<0,001 p1<0,001 p2<0,001 #2 ≤ 0,05	2,33 ± 0,28 p<0,001 p1>0,05 p2>0,05	2,02 ± 0,16 p<0,001 p1>0,05 p2>0,05 #3>0,05	2,56 ± 0,21 p<0,001 p1>0,05 p2>0,05	0,61 ± 0,05 p<0,001 p1<0,001 p2>0,001 Y1<0,05 Y 2,3,4<0,001	

Продовження табл. 2.4

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Товщина шкірної складки, мм	12-та доба	1,65 ± 0,07	4,02 ± 0,29 p<0,001	3,98 ± 0,30 p<0,001 p1>0,05	4,04 ± 0,38 p<0,001 p1>0,05	3,96 ± 0,30 p<0,001 p1>0,05	4,06 ± 0,38 p<0,001 p1>0,05	4,08 ± 0,36 p<0,001 p1>0,05	3,97 ± 0,29 p<0,001 p1>0,05	4,0 ± 0,40 p<0,001 p1>0,05	4,04 ± 0,34 p<0,001 p1>0,05
	20-та доба	1,71 ± 0,05	3,78 ± 0,19 p<0,001 p2>0,05	2,68 ± 0,12 p<0,001 p1<0,01 p2<0,01	2,12 ± 0,10 p<0,01 p1<0,05 0,001 p2<0,001 0,001 #1<0,01	3,12 ± 0,12 p<0,001 p1<0,05 p2<0,05	2,62 ± 0,10 p<0,001 p1<0,001 p2<0,001 #2<0,01	3,32 ± 0,32 p<0,001 p1>0,05 p2>0,05	2,76 ± 0,23 p<0,01 p1<0,01 p2<0,01 #3>0,05	3,58 ± 0,35 p<0,001 p1>0,05 p2>0,05	1,81 ± 0,09 p>0,05 p1<0,001 p2<0,001 y1<0,05 y2,3,4<0,001

Примітка. Тут і надалі у таблицях: p – вірогідно щодо значень контрольної групи; p1 – вірогідно щодо значень контрольної патології (шурів з КД); p2 – вірогідність різниці значень порівняно з 12-ю добою експерименту; #1 – вірогідно щодо значень групи, яка отримувала вільну форму бетаметазону; #2 – вірогідно щодо значень групи, яка отримувала вільну форму СОД; #3 – вірогідно щодо значень групи, яка отримувала вільну форму 1400W; y1 – вірогідно щодо значень групи, яка отримувала нано-бетаметазон, y2 – вірогідно щодо значень групи, яка отримувала наноСОД; y3 – вірогідно щодо значень групи, яка отримувала нано1400W, y4 – вірогідно щодо значень групи, яка отримувала хітозанові наночастинки.

Таблиця 2.5. Вплив препаратів бетаметазону, супероксиддисмутази та 1400W на вміст лейкоцитів і швидкість осідання еритроцитів у щурів із контактним нікелевим дерматитом (M ± m, n=10)

Порядковий номер	Термін спостереження	Дослідні групи									КД + на-ноком-позиція
		конт-рольна група	КД	КД + бетамета-тазон	КД + на-но-бета-метазон	КД + СОД	КД + на-ноСОД	КД + 1400W	КД + на-но-1400W	КД + НЧ	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Лейкоцити, 10 ⁹ /л	12-та доба	6,28 ± 0,29	11,12 ± 0,38 p<0,001	10,96 ± 0,29 p<0,001 p1>0,05	11,18 ± 0,42 p<0,001 p1>0,05	11,0 ± 0,22 p<0,001 p1>0,05	11,12 ± 0,36 p<0,001 p1>0,05	10,99 ± 0,33 p<0,001 p1>0,05	11,10 ± 0,44 p<0,001 p1>0,05	11,08 ± 0,42 p<0,001 p1>0,05	11,14 ± 0,44 p<0,001 p1>0,05
	20-та доба	6,24 ± 0,32	9,68 ± 0,33 p<0,001 p2>0,05	8,47 ± 0,28 p<0,001 p1<0,05 p2<0,001	7,17 ± 0,24 p<0,05 p1<0,001 p2<0,001 #1<0,001	9,10 ± 0,21 p<0,001 p1>0,05 p2>0,05	8,60 ± 0,18 p<0,001 p1<0,001 p2<0,001 #2>0,05	9,11 ± 0,36 p<0,001 p1>0,05 p2>0,05	8,53 ± 0,43 p<0,001 p1>0,05 p2<0,01 #3>0,05	9,38 ± 0,46 p<0,001 p1>0,05 p2>0,05	6,98 ± 0,54 p>0,05 p1<0,01 p2<0,001 y1>0,05 y2,3<0,05 y4<0,01

Продовження табл. 2.5

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
ШОЕ, мм/ год	12-та доба	4,25 ± 0,27	7,82 ± 0,39 p<0,001	7,98 ± 0,30 p<0,001 p1>0,05	8,04 ± 0,38 p<0,001 p1>0,05	7,88 ± 0,30 p<0,001 p1>0,05	8,0 ± 0,38 p<0,001 p1>0,05	7,77 ± 0,44 p<0,001 p1>0,05	8,0 ± 0,42 p<0,001 p1>0,05	8,02 ± 0,40 p<0,001 p1>0,05	7,86 ± 0,56 p<0,001 p1>0,05
	20-та доба	4,71 ± 0,25	6,98 ± 0,49 p<0,01 p2>0,05	6,38 ± 0,27 p<0,01 p1>0,05 p2<0,01	5,12 ± 0,20 p>0,05 p1<0,01 p2<0,001 #1<0,01	6,38 ± 0,28 p<0,01 p1>0,05 p2<0,01	6,02 ± 0,14 p<0,001 p1<0,01 p2<0,001 #2>0,05	6,43 ± 0,27 p<0,001 p1>0,05 p2<0,05	6,05 ± 0,22 p<0,001 p1>0,05 p2<0,001 #3>0,05	7,0 ± 0,40 p<0,01 p1>0,05 p2>0,05	5,02 ± 0,50 p>0,05 p1<0,05 p2<0,01 γ 1, 2, 3>0,05 γ 4<0,05

Нанесення високоселективного інгібітора індукцйбельної NO синтази N-(3-(Амінметил)бензил)ацетамідин (1400W) протягом 7 днів два рази на добу супроводжувалося певним покращанням стану шкірних покривів, однак все ще фіксувалися виразки та геморагічні кірки і ерозії. Явища гіперемії були менш виражені, зберігався набряк. Вираженість шкірних проявів за візуальною оцінкою у бальах мала тенденцію до зниження (див. табл. 2.4) [226].

Застосування наночастинок з інкапсульованим бетаметазону дипропіонатом супроводжувалося вираженими позитивними змінами з боку шкіри. За візуальною бальною шкалою інтенсивність ураження шкірних покривів зменшувалася на 56,3 % порівняно з контрольною патологією та на 35,7% – порівняно з тваринами, яким наносили звичайний бетаметазон (рис. 2.4).

Застосування СОД у вигляді нано-інкапсульованої форми також супроводжувалося більш вираженими позитивними змінами з боку шкіри, порівняно з корекцією вільною СОД. За візуальною бальною шкалою інтенсивність ураження шкірних покривів зменшувалася на 37,7 % порівняно з контрольною патологією та на 17,3 % – порівняно з тваринами, яким наносили вільну СОД.

При застосуванні нано-інкапсульованої форми 1400W за візуальною бальною шкалою інтенсивність ураження шкірних покривів зменшувалася на 24,6 % порівняно з контрольною патологією. Спостерігалася тенденція до зниження показника порівняно з тваринами, яким наносили звичайну форму 1400W.

Показник товщини шкірної складки у тварин, яким наносили на уражену шкіру наноформу бетаметазону, був нижчим на 43,9 % порівняно з нелікованими тваринами та на 20,9 % порівняно з групою тварин, яким наносили місцево вільну форму ГКС (рис. 2.5).

Показник товщини шкірної складки у тварин, яким наносили на уражену шкіру нано-СОД, був нижчим на 30,7 % порівняно з нелікованими тваринами та на 16,0 % порів-

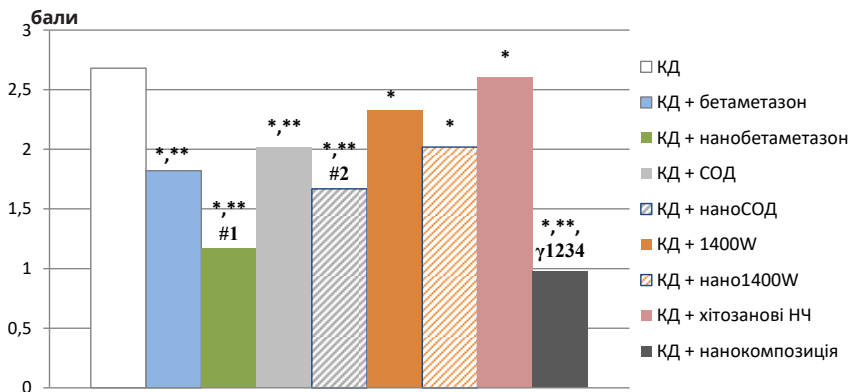


Рисунок 2.4. Візуальна шкала шкірних проявів контактного дерматиту при його корекції нано-інкапсульованими засобами та у звичайній вільній формі (у балах на 20-ту добу експерименту).

Примітка. Тут і надалі у розділі значення вірогідно відрізняються порівняно: * – з контрольною групою, ** – з контрольною патологією, #1 – з групою, яка отримувала вільну форму бетаметазону; #2 – з групою, яка отримувала вільну форму СОД; #3 – з групою, яка отримувала вільну форму 1400W; #4 – з групою, яка отримувала наночастинки хітозану, $p < 0,05$.

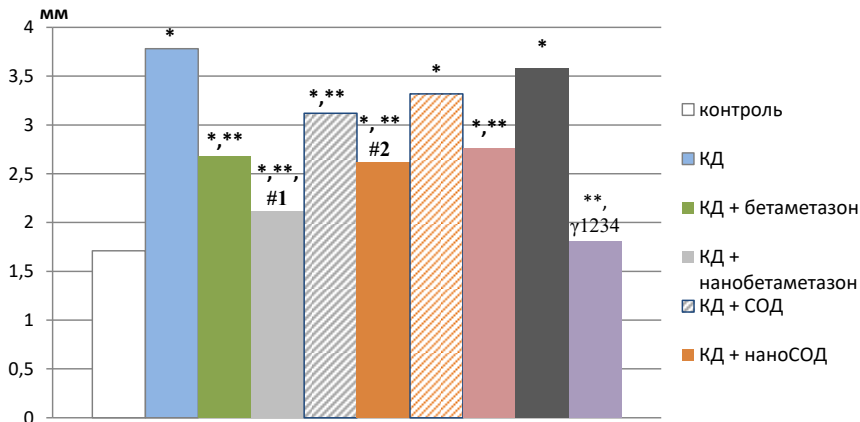


Рисунок 2.5. Товщина шкірної складки у тварин із контактним дерматитом та при його корекції (20-та доба експерименту).

няно з групою тварин, яким наносили місцево вільну форму СОД.

Товщина шкірної складки у тварин, яким наносили на уражену шкіру наноформу 1400W, була меншою на 34,9 % порівняно з нелікованими тваринами.

Застосування нано-інкапсульованої форми бетаметазону зменшувало рівень лейкоцитів на 26,1 % порівняно з контрольною патологією; швидкість осідання еритроцитів була нижчою на 26,6 %. При цьому вміст лейкоцитів при застосуванні наноформи ГКС був на 15,4 % нижчим, ніж при застосуванні його вільної форми.

У групі тварин, які отримували хітозанові наночастинки, не спостерігалось жодних достовірних відмінностей порівняно з контрольною групою та тваринами з КД, яким не проводилося жодне лікування. Спостерігалась деяка тенденція до зниження рівня та інтенсивності запального процесу у відповідь на контакт з алергеном на 20-ту добу експерименту.

Використання одночасно нано-інкапсульованих частинок бетаметазону, СОД та 1400W призводило до максимально вираженого покращання стану тварин та їх шкірних покривів на 20-ту добу експерименту.

Товщина шкірної складки (інтенсивність набряку) була достовірно нижчою при застосуванні комбінації усіх трьох препаратів у наноформі порівняно з їх монозастосуванням, а також з їх вільними формами. Так у групі тварин із застосуванням усіх трьох нано-інкапсульованих препаратів цей показник був нижчим на 52,1 % порівняно контрольною патологією; на 14,6 % – з групою, якій застосовували лише нано-бетаметазон; на 30,9 % – наноСОД та на 34,4 % – нано1400W. Цей показник знижувався на 49,4 % порівняно з тваринами, яким наносили на місце ураження суміш водного ланоліну з хітозановими наночастинками.

Застосування вільного бетаметазону зменшувало рівень лейкоцитів на 12,5 %, а його нано-інкапсульованої форми – на 26,1 % порівняно з контрольною патологією;

швидкість осідання еритроцитів була нижчою на 18,6 % та на 26,6 % відповідно. При цьому вміст лейкоцитів при застосуванні наноформи ГКС був на 15,4 % нижчим, ніж при застосуванні його вільної форми (рис. 2.6).

Застосування вільної СОД супроводжувалося вираженою тенденцією до зниження рівня лейкоцитів, а її наноформи – викликало достовірне зменшення показника на 11,1 %; швидкість осідання еритроцитів була нижчою на 13,8 %, відповідно, порівняно з контрольною патологією. При цьому при застосуванні наноформи СОД обидва показники мали чітку тенденцію до подальшого зниження.

Застосування 1400W супроводжувалося тенденцією до зменшення кількості лейкоцитів, а його наноінкапсульованої форми – достовірним зниженням їх на 11,9 % порівняно з контрольною патологією. Швидкість осідання еритроцитів була нижчою лише при застосуванні наноформи препарату – на 13,3 % (рис. 2.7).

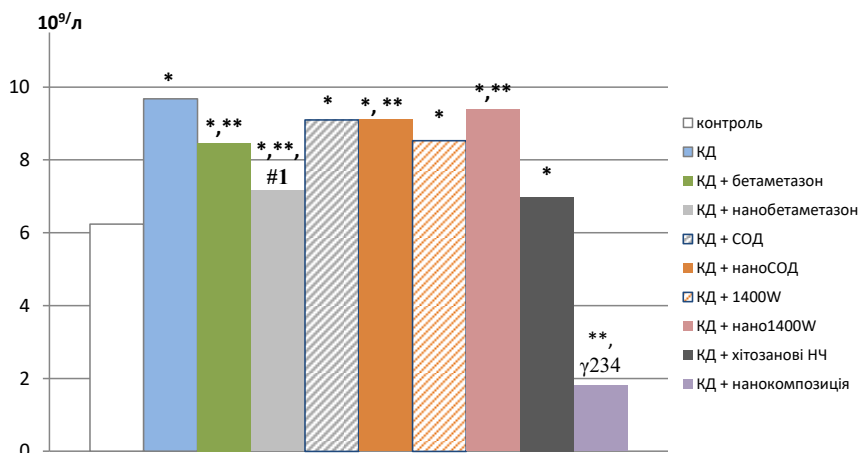


Рисунок 2.6. Рівень лейкоцитів у периферичній крові тварин із контактним дерматитом та при його корекції (20-та доба).

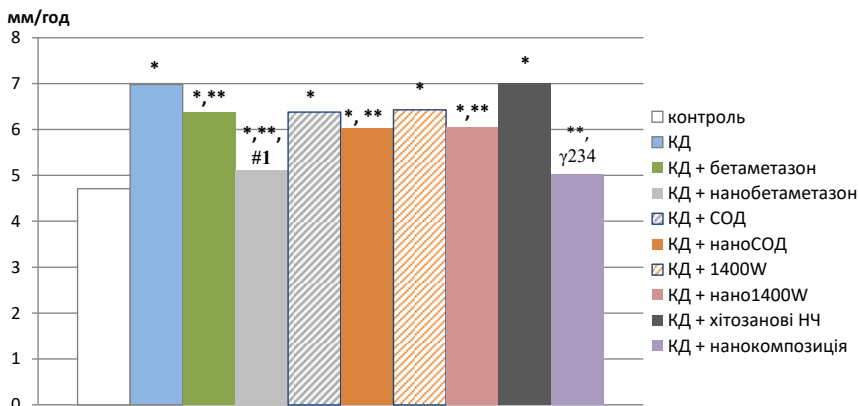


Рисунок 2.7. Динаміка змін швидкості осідання еритроцитів у тварин із контактним дерматитом та при його корекції (20-та доба).

Застосування нанокomпозиції усіх трьох засобів корекції з багатовекторним впливом на основні ланки патогенезу розвитку контактного нікель-індукованого дерматиту призводило до наступних змін. Показники рівня лейкоцитів у периферичній крові дослідних тварини зменшувалися на 27,9 % порівняно з контрольною патологією та наближались практично до рівня контрольної групи. Цей показник мав тенденцію до зниження порівняно з групою, яка отримувала нано-бетаметазон і був нижчим на 18,8 та 18,2 % порівняно з аплікаціями наноСОД та нано1400W відповідно. Аплікація нанокomпозиції достовірно знижувала рівень лейкоцитів на 25,6 % порівняно з групою щурів, які отримували для корекції хітозанові наночастинки.

Застосування усіх трьох засобів корекції у наноформі призводило до зниження ШОЕ на 28,1 % порівняно з контрольною патологією. Цей показник мав виражену тенденцію до зниження порівняно з монозастосуванням наноСОД та нано1400W і практично не відрізнявся від показника групи тварин, які отримували нано-бетаметазон. Аплікація нанокomпозиції достовірно знижувала рівень лейкоцитів

(на 28,3 %) порівняно з групою щурів, які отримували для корекції хітозанові наночастинки.

Таким чином, аплікація протягом 12 діб 5 % сульфату нікелю призводить до розвитку виражених ознак контактного дерматиту та пошкодження структур шкіри у досліджуваних тварин, що підтверджується візуальними змінами та потовщенням шкірної складки у 2,4 раза. Також зміни на шкірі супроводжуються підвищенням вмісту лейкоцитів у периферичній крові щурів у 1,77 раза та зростанням ШОЕ – у 1,84 раза, що свідчить про розвиток системної запальної реакції.

Аплікація протягом одного тижня після формування контактної алергійної дерматиту бетаметазону дипропіонату супроводжується вираженим видимим покращенням – загоєнням виразок та ерозій та зменшенням ступеня ураження на 32,1 % і зменшенням товщини шкірної складки на 29,1 % порівняно з контрольною патологією. Рівень лейкоцитів падав на 12,5 %, а швидкість осідання еритроцитів – на 18,6 %. Застосування пегільованої СОД також давало позитивні зрушення, які були дещо менш вираженими. Так, за візуальними ознаками показники покращувались на 24,6%, товщина шкірної складки була меншою на 17,5 %, ШОЕ – на 13,8 % порівняно з контрольною патологією. При аплікаціях високоселективного інгібітора індукцибельної NO синтази явища гіперемії також були менш виражені, проте зберігався значний набряк. Усі показники були достовірно кращими порівняно з досліджуваними показниками на 12-ту добу експерименту.

Застосування наночастинок з інкапсульованим бетаметазону дипропіонатом супроводжувалося зменшенням кількості балів інтенсивності запальних змін шкірних покривів на 56,3 % порівняно з контрольною патологією та на 35,7 % – порівняно з тваринами, яким наносили звичайний бетаметазон. Показник товщини шкірної складки у тварин, яким наносили на уражену шкіру наноСОД, був нижчим на 30,7 % порівняно з нелікованими тваринами; на 16,0 %

порівняно з групою тварин, яким наносили місцево вільну форму СОД, а при нанесенні наноформи 1400W – на 34,9 % порівняно з нелікованими тваринами.

Застосування нано-інкапсульованої форми бетаметазону зменшувало рівень лейкоцитів на 26,1 % порівняно з контрольною патологією, а ШОЕ – на 26,6 %. При цьому цей показник був на 15,4 % нижчим, ніж при застосуванні вільної форми ГКС. Застосування наноформ СОД та 1400W призводило до достовірних позитивних змін порівняно з контрольною патологією і мала місце чітка тенденція до поліпшення показників порівняно із застосуванням вільних форм препаратів.

Найбільш виражені позитивні зміни спостерігалися при застосування комбінації усіх трьох чинників корекції у нано-інкапсульованій формі. За візуальною бальною шкалою стан був кращим на 83,9 % порівняно з КД, на 77,2 % – порівняно з групою тварин, яким застосовували бетаметазон, на 71,2 % – його наноформу, порівняно із застосуванням СОД – на 80,4 % та на 76,7 % – з наноСОД. Показники рівня лейкоцитів у периферичній крові дослідних тварин зменшувалися на 27,9 % порівняно з контрольною патологією та наближалися практично до рівня контрольної групи. Цей показник мав тенденцію до зниження порівняно з групою, яка отримувала нано-бетаметазон, аплікації наноСОД та нано1400W. Таким чином, аплікації наноконпозиції бетаметазон+СОД+1400W були найбільш ефективними для корекції проявів нікель-індукованого алергійного контактного дерматиту.

Цитокіновий профіль при контактному нікелевому дерматиті та його корекції хітозановими наночастинками з інкорпорованими лікарськими засобами та активними компонентами

Посилений інтерес науковців до системи цитокінів пов'язаний з виключно важливою роллю цих молекул у розвитку патологічних процесів в організмі людини. Проведені нами дослідження вказують на активну участь ци-

токінового каскаду при розвитку та перебізі нікель-індукованого контактного дерматиту.

У тварин з КД на 20-ту добу експерименту спостерігалася підвищена концентрація прозапальних цитокінів ФНП- α та ІЛ-1 β у 5,5 та 3,7 раза, відповідно, порівняно з групою контролю. Водночас рівень протизапальних ІЛ-10 та ІЛ-4 був зниженим у 2,3 та 2,4 раза відповідно (табл. 2.6).

Застосування бетаметазону призводило до зниження рівня ФНП- α на 34,5%, при цьому цей показник залишався вищим у 3,6 раза порівняно з контролем. Вміст ІЛ-1 β у цій групі був нижчим на 34,8 %, залишався ще високим порівняно з контролем – у 2,36 раза. Спостерігалось також підвищення концентрації протизапальних цитокінів. Рівень ІЛ-10 зростав на 43,9 %, а ІЛ-4 – на 42,5 %. Однак їх рівень був все ще нижчим від групи контролю у 1,6 та 1,7 раза.

Аплікація препарату пегильованої СОД на водному ланоліні 2 рази протягом дня призводила до такої ж тенденції у зміні досліджуваних показників. Ми спостерігали зниження концентрації прозапальних цитокінів ФНП- α та ІЛ-1 β на 11,4 та 17,5 %. При цьому ці показники залишалися достовірно вищими порівняно з тваринами контрольної групи – рівень ФНП- α у 4,7 раза, а ІЛ-1 β – у 3,0 раза.

Рівень протизапальних інтерлейкінів зростав на 31,3 та 25,2 % (відповідно, ІЛ-10 та ІЛ-4) у групі тварин, які отримували СОД порівняно з тваринами з контактним дерматитом без корекції. Однак рівень ІЛ-10 був все ще нижчим у 1,75 раза, а ІЛ-4 – у 1,92 раза порівняно зі здоровими тваринами, яким наносили лише суміш водного ланоліну.

Високоселективний інгібітор iNOS 1400W при його застосуванні протягом семи днів призводив до зменшення рівня ФНП- α на 9,6 %. При цьому спостерігалася тільки тенденція до зниження концентрації іншого прозапального внутрішньоклітинного месенджера ІЛ-1 β . Обидва показники перевищували показники групи контролю у 4,8 та 3,1 раза (для ФНП- α та ІЛ-1 β відповідно).

Таблиця 2.6. Показники цитокінового статусу у щурів із контактним дерматитом при корекції бетаметазоном, супероксиддисмутазою і 1400W (M ± m, n=10)

Показник	Група									
	конт-рольна група	КД	КД + бетаметазон	КД + на-но-бета-метазон	КД + СОД	КД + на-ноСОД	КД + 1400W	КД + на-но1400W	КД + НЧ	КД + нано-композиція
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
ФНП-а, пг/мл	7,48 ± 0,56	41,16 ± 1,10 p<0,001	26,98 ± 2,30 p<0,001 p1<0,05	20,94 ± 1,16 p<0,001 p1<0,01 #1<0,05	35,48 ± 1,95 p<0,001 p1<0,05	30,22 ± 2,02 p<0,001 p1<0,01 #2 = 0,05	36,22 ± 1,78 p<0,001 p1<0,05	30,12 ± 1,56 p<0,001 p1<0,01 #3<0,05	40,54 ± 3,98 p<0,001 p1>0,05	12,88 ± 1,28 p<0,01 p1<0,001 γ ¹²³⁴ <0,001
ІЛ-1β, пг/мл	10,46 ± 0,88	37,98 ± 2,42 p<0,001	24,77 ± 1,75 p<0,001 p1<0,001	19,35 ± 1,28 p<0,001 p1<0,001 #1<0,05	31,32 ± 1,54 p<0,001 p1<0,05	26,45 ± 1,54 p<0,001 p1<0,01 #2 = 0,05	32,16 ± 1,98 p<0,001 p1>0,05	26,66 ± 1,38 p<0,001 p1<0,001 #3<0,05	35,88 ± 3,36 p<0,001 p1>0,05	14,48 ± 1,34 p<0,05 p1<0,001 γ ¹ <0,05 γ ²³⁴ <0,001

Продовження табл. 2.6

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
ІЛ-10, пг/мл	12,05 ±1,08	5,24 ± 0,42 p<0,001	7,54 ± 0,52 p<0,01 p1<0,01 p1<0,01	8,96 ± 0,32 p<0,05 p1<0,001 #1<0,05	6,88 ± 0,50 p<0,01 p1<0,05	7,88 ± 0,64 p<0,01 p1<0,01 #2>0,05	6,32 ± 0,44 p<0,001 p1>0,05	8,48 ± 0,46 p<0,01 p1<0,01 #3<0,01	5,15 ± 0,42 p<0,001 p1>0,05	10,33 ± 0,48 ***, γ^{123} p>0,05 p1<0,001 γ^{1234} < 0,05
ІЛ-4, пг/мл	19,26 ±1,88	8,02 ± 0,78 p<0,001	11,43 ± 0,45 p<0,01 p1<0,01	13,16 ± 0,58 p<0,01 p1<0,05 #1>0,05	10,04 ± 1,00 p<0,05 p1>0,05	11,25 ± 0,78 p<0,01 p1<0,05 #2>0,05	11,14 ± 0,32 p<0,001 p1<0,01	13,26 ± 0,44 p <0,01 p1<0,001 #3<0,01	7,68 ± 0,66 p<0,001 p1>0,05	15,68 ± 0,77 ***, γ^{123} p>0,05 p1<0,001 γ^{13} <0,05 γ^2 <0,01 γ^4 <0,001
Примітка. Тут і надалі у таблицях: p – вірогідно щодо значень контрольної групи; p1 – вірогідність щодо значень контрольної патології (шурів з КД); p2 – вірогідність різниці значень порівняно з 12-ю добою експерименту; #1 – вірогідно щодо значень групи, яка отримувала вільну форму бетаметазону; #2 – вірогідно щодо значень групи, яка отримувала вільну форму СОД; #3 – вірогідно щодо значень групи, яка отримувала вільну форму 1400W; #4 – вірогідно щодо значень групи, яка отримувала наноСОД; #5 – вірогідно щодо значень групи, яка отримувала нано1400W; #6 – вірогідно щодо значень групи, яка отримувала хітозанові наночастинки.										

Концентрація ІЛ-4 при застосуванні 1400W збільшувалася на 38,9 %, а рівень ІЛ-10 мав тенденцію до підвищення порівняно з контрольною патологією. При цьому останній показник був у 1,9 раза вищий порівняно з групою контролю, а рівень ІЛ-4 – у 1,7 раза.

При застосуванні нано-інкапсульованої форми бетаметазону зміни були більш суттєвими. Так, у цій групі рівень прозапальних цитокінів ФНП- α та ІЛ-1 β були достовірно нижчими відповідно на 49,1 та 49,05 % порівняно з контрольною патологією. Водночас ці показники перевищували ефективність застосування вільного бетаметазону на 22,4 та 21,9 % відповідно для ФНП- α та ІЛ-1 β . Ці показники також перевищували аналогічні у контрольних тварин у 2,8 та 1,8 раза.

Рівень протизапальних цитокінів ІЛ-10 та ІЛ-4 у групі тварин, які отримували для корекції нано-інкапсульований бетаметазон, підвищувався відповідно на 71,0 та 64,1 % порівняно з групою патології. Водночас концентрація ІЛ-10 була на 18,8 % вищою порівняно з групою тварин, які отримували звичайну форму бетаметазону. При цьому рівень ІЛ-4 мав лише тенденцію до зростання. Обидва показники були достовірно нижчими порівняно з контролем на 25,6 та 31,7 % відповідно.

При нанесенні на уражену шкіру нано-інкапсульованої форми пегильованої СОД статистично вірогідно знижувалася концентрація прозапальних цитокінів ФНП- α та ІЛ-1 β – на 26,6 та 30,4 % відповідно. Також ці показники були достовірно нижчими (на 17,2 та 15,5 % відповідно) порівняно з групою тварин, які отримували звичайну форму СОД. Водночас рівень ФНП- α та ІЛ-1 β все ще залишався достовірно вищим (у 3,0 та 2,5 раза) порівняно з контрольними тваринами.

При застосуванні нано-інкапсульованої СОД спостерігалася лише тенденція до зростання концентрації протизапальних цитокінів у сироватці крові порівняно з контрольною патологією.

Високоселективний інгібітор iNOS 1400W при його застосуванні у нано-інкапсульованому вигляді призводив до зниження рівня ФНП- α та ІЛ-1 β на 26,8 та 29,8 % порівняно з тваринами з некоригованим контактним дерматитом. Концентрація ФНП- α була достовірно нижчою на 19,1 %, а ІЛ-1 β – на 17,0 % відносно групи КД+1400W. Водночас необхідно відмітити, що обидва показники все ще залишалися статистично вірогідно вищими відносно контрольної групи тварин у 4,0 та 2,5 рази. Вміст протизапального цитокіну ІЛ-4 зростав на 65,3 % при застосуванні нано-інкапсульованого високоселективного інгібітора індукцибельної NO-синтази порівняно з контрольною патологією. Цей показник був також вищим на 19,0 % відносно групи КД + 1400W. Концентрація ІЛ-10 була вірогідно вищою (на 61,8 %) у цій групі порівняно з некоригованими тваринами та перевищувала на 34,2 % аналогічний показник групи тварин, які отримували вільну некапсульовану форму 1400W.

Для виключення можливого коригуючого впливу хітозанових наночастинок, які ми використали як провідник та переносник препаратів, ми окремо дослідили показники у групі тварин, які отримували лише вказані наночастинки без препаратів. Виявлено, що показники у цій групі практично не відрізнялися від групи щурів з контактним дерматитом, які не отримували жодного препарату для корекції. Досліджувані параметри достовірно відрізнялися від групи контрольних тварин: вміст ФНП- α та ІЛ-1 β був вищим у 5,4 та 3,4 рази, концентрація ІЛ-10 та ІЛ-4 падала на 57,3 та 60,1 % відповідно.

Аплікація комбінації з трьох нано-інкапсульованих препаратів (бетаметазону, пегильованої СОД та високоселективного інгібітора індукцибельної NO-синтази 1400W) максимально ефективно коригувала дисбаланс цитокінового статусу у щурів з контактним нікелевим дерматитом. Вміст прозапальних ФНП- α та ІЛ-1 β знижувався відповідно на 68,7 та 61,9 % порівняно з контрольною патологією. Рівень ФНП- α у цій групі був достовірно нижчим на 38,5 % віднос-

но групи тварин, які отримували для корекції проявів контактного дерматиту нано-інкапсульований бетаметазон; на 57, % – відносно групи КД+наноСОД та на 68,2 % – порівняно з групою КД+нано1400W. Цей показник був достовірно нижчим (на 68,2 %) відносно групи тварин, яким для корекції наносили хітозанові наночастинки (рис. 2.8).

При застосуванні нанокомпозиції усіх трьох препаратів достовірно підвищувався вміст протизапальних цитокінів. Рівень ІЛ-10 зростає на 97,1 %, а ІЛ-4 – на 95,5 % порівняно з групою тварин з некоригованим контактним дерматитом.

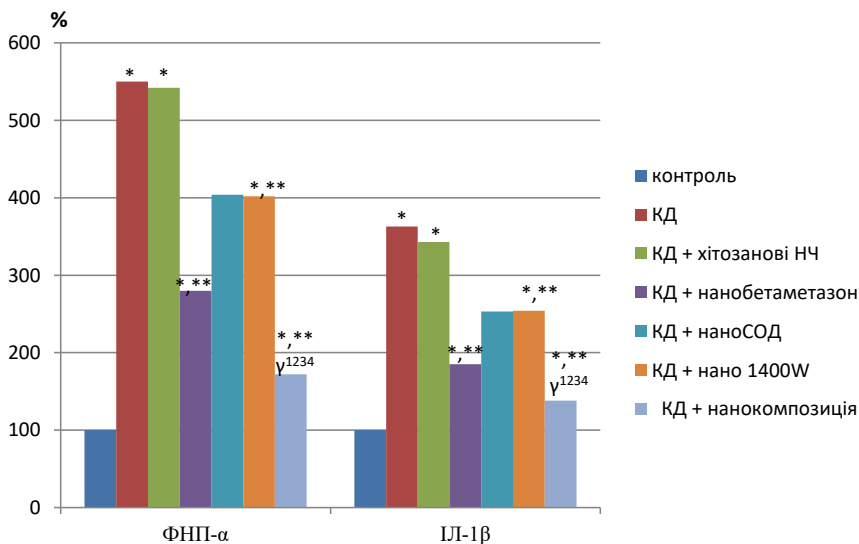


Рисунок 2.8. Вплив нано-інкапсульованих форм препаратів корекції на вміст прозапальних цитокінів при контактному нікель-індукованому дерматиті.

Примітка. Тут і надалі в рисунках: * – вірогідно щодо значень контрольної групи; ** – вірогідність щодо значень контрольної патології (щурів з КД); γ1 – вірогідно щодо значень групи, яка отримувала нано-бетаметазон, γ2 – вірогідно щодо значень групи, яка отримувала наноСОД; γ3 – вірогідно щодо значень групи, яка отримувала нано1400W, γ4 – вірогідно щодо значень групи, яка отримувала наночастинки хітозану.

Концентрація ІЛ-10 у цій групі була вищою від відповідного показника у групі КД+нано-бетаметазон на 15,3 %, у групі КД+наноСОД – на 31,1 % і у групі КД+нано1400W – на 21,8 %. Цей показник був також вищим на 100,6 % відносно групи тварин, які отримували пусті хітозанові наночастинки для корекції проявів КД.

Вміст ІЛ-4 при застосуванні нанокомпозиції був вищим на 19,1 % порівняно з групою тварин, які отримували нано-бетаметазон, на 39,4 % – відносно тих, які отримували наноСОД та на 18,3 % – щодо тих, які отримували нано1400W. Показник на 104,2 % перевищував аналогічний у групі тварин КД+хітозанові НЧ (рис. 2.9).

Продукція цитокінів має безпосередній вплив на розвиток та підтримку клінічної картини контактного нікелевого дерматиту у щурів. Так, на 20-ту добу експерименту концентрація прозапальних цитокінів ФНП-α та ІЛ-1β була

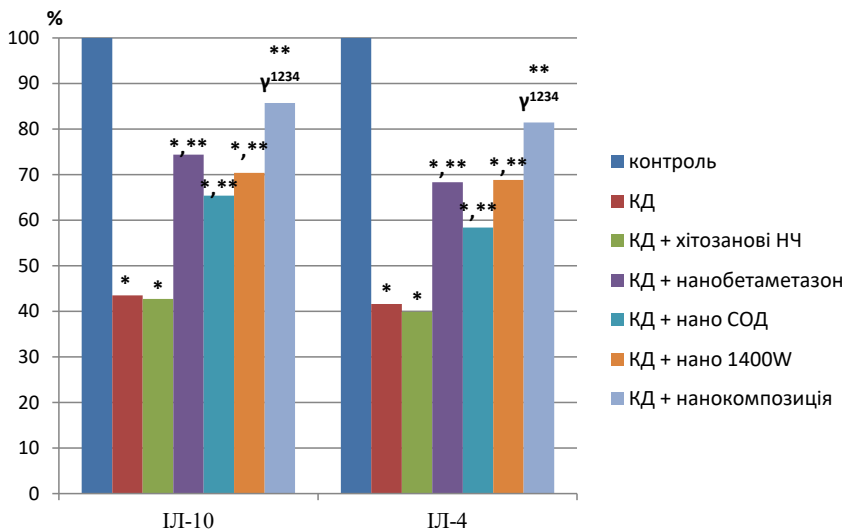


Рисунок 2.9. Вплив нано-інкапсульованих форм препаратів корекції на вміст протизапальних цитокінів при контактному нікель-індукованому дерматиті.

підвищена у 5,5 та 3,7 рази, рівень протизапальних ІЛ-10 та ІЛ-4 був зниженим у 2,3 та 2,4 рази, відповідно, порівняно з групою контролю. Застосування бетаметазону, СОД та 1400W супроводжувалося деяким відновленням цитокінового балансу. Однак нано-інкапсульовані форми препаратів були більш ефективними. Так, у групі КД+нанобетаметазон показники концентрації ФНП- α та ІЛ-1 β перевищували ефективність застосування вільного бетаметазону на 22,4 та 21,9 %, відповідно, а ІЛ-10 – на 18,8 % порівняно з групою тварин, які отримували звичайну форму бетаметазону. При застосуванні наноСОД рівень ФНП- α та ІЛ-1 β достовірно був нижчим на 17,2 та 15,5 %, відповідно, порівняно з групою тварин, які отримували звичайну форму препарату. У групі КД+нано1400W рівень ФНП- α був достовірно нижчим на 19,1 %, а ІЛ-1 β – на 17,0 % відносно групи КД+1400W. Вміст протизапального цитокіна ІЛ-4 у цій групі був вищим на 19,0 %, а ІЛ-10 на 34,2 % відносно групи КД+1400W.

Аплікація комбінації з трьох нано-інкапсульованих препаратів (бетаметазону, пегильованої СОД та високо-селективного інгібітора індучибельної NO-синтази 1400W) максимально ефективно коригувала дисбаланс цитокінового статусу у щурів з контактним нікелевим дерматитом. У цьому випадку досліджувані показники максимально наближалися до величин аналогічних показників групи контролю та достовірно відрізнялися від груп, які отримували нанокапсульовані препарати окремо.

Отримані результати дослідження свідчать про перспективність подальшого вивчення та впровадження у клінічну практику нано-інкапсульованих форм препаратів для лікування контактних дерматитів [86, 227].

2.4. Ефективність наночастинок у корекції оксидативного та нітрооксидативного стресу при контактному дерматиті

Незбалансовані та некеровані процеси надмірної ліпопероксидації є частиною патогенезу багатьох патологічних станів.

Як показують проведені нами експерименти, шкірні прояви контактного нікелевого дерматиту супроводжувалися розвитком оксидативного стресу, про що свідчили досліджувані показники сироватки крові та гомогенатів тканини печінки (табл. 2.7 і 2.8) зі зростанням рівня вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів – вміст ТБК-АП був вищим на 79,5 та 37,5 %, відповідно, порівняно з контрольною групою тварин. Одночасно спостерігалось зростання активності ферменту каталази на 72,6 та 96,0 %, яке супроводжувалося зниженням активності СОД на 44,0 та 37,0 % у сироватці крові та тканині печінки відповідно. Рівень відновленого глутатіону при цьому був нижчим на 51,1 % порівняно з тваринами контролю. Загальна антиокиснювальна активність сироватки крові при розвитку КД знижувалася у 1,4 раза. Отже, зростання рівня ТБК-АП у сироватці крові та тканинах печінки та компенсаторне підвищення активності ферменту каталази з одночасним падінням активності СОД і рівня відновленого глутатіону свідчить про розбалансованість прооксидантно-антиоксидантної рівноваги.

Одночасно зростали показники, які вказують на активацію нітрооксидативного стресу при нікель-індукованому контактному дерматиті. Спостерігалось зростання вмісту нітратів і нітритів у периферичній крові на 59,9 %. При цьому сумарна активність NO-синтази зростала на 95,1 % (табл. 2.9).

Наші дослідження показали, що на тлі виражених шкірних змін при КД також зростає рівень продуктів ПОЛ та метаболітів NO і має місце дезорганізація ендогенного антиоксидантного захисту. Це свідчить про те,

Таблиця 2.7. Показники прооксидантно-антиоксидантного балансу крові дослідних шурів із контактним дерматитом (M ± m, n=10)

Показник	Група										
	Конт-рольна група	КД	КД + бета-тазон	КД + на-но-бета-метазон	КД + СОД	КД + на-ноСОД	КД + 1400W	КД + на-но-1400W	КД + НЧ	КД + наноком-позиція	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
ТБК-АП, мкмоль/л	0,83 ± 0,04	1,49 ± 0,08 p<0,001	1,09 ± 0,04 p<0,001 p1<0,01	0,94 ± 0,02 p<0,05 p1<0,001 #1<0,01	1,25 ± 0,05 p<0,01 p1<0,01	1,12 ± 0,04 p<0,01 p1<0,01 #2≤0,05	1,29 ± 0,11 p<0,05 p1>0,05	1,04 ± 0,19 p>0,05 p1>0,05 #3 >0,05	1,45 ± 0,09 p<0,001 p1>0,05	0,85 ± 0,08 p>0,05 p1<0,001 γ1,3> 0,05 γ 2<0,05 γ 4<0,001	
Каталаза, мкат/л	8,61 ± 0,27	14,86 ± 0,11 p<0,001	11,54 ± 0,14 p<0,001 p1<0,01	10,02 ± 0,19 p<0,001 p1<0,01 # 1<0,001	13,14 ± 0,12 p<0,001 p1<0,01	11,02 ± 0,08 p<0,001 p1<0,001 #2<0,001	13,68 ± 0,17 p<0,001 p1<0,01	12,19 ± 1,09 p<0,001 p1<0,001 #3≤0,05	14,66 ± 2,15 p<0,001 p1>0,05	9,16 ± 0,08 p>0,05 p1<0,001 γ 1< 0,01 γ 2<0,001 γ 3,4<0,05	

Продовження табл. 2.7

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
СОД, ум. од./л	4,43 ± 0,08	2,79 ± 0,17 p<0,001	3,38 ± 0,26 p<0,01 p1≤0,05	4,12 ± 0,18 p>0,05 p1<0,001 #1<0,05	3,19 ± 0,17 p<0,001 p1≤0,05	3,76 ± 0,12 p<0,001 p1<0,001 #2<0,05	3,02 ± 0,19 p<0,001 p1>0,05	3,38 ± 0,22 p<0,001 p1>0,05 #3>0,05	2,68 ± 0,18 p<0,001 p1>0,05	4,26 ± 0,46 p>0,05 p1<0,05 Y 1,2,3>0,05 Y4<0,01
ЗАА, %	53,33 ± 4,08	38,09 ± 2,65 p<0,001	48,27 ± 3,34 p>0,05 p1<0,05	49,36 ± 4,09 p>0,05 p1<0,05 #1>0,05	44,67 ± 2,28 p>0,05 p1≤0,05	46,56 ± 3,58 p>0,05 p1<0,05 #2>0,05	42,15 ± 3,72 p>0,05 p1>0,05	46,97 ± 4,30 p>0,05 p1>0,05 #3>0,05	38,80 ± 2,15 p<0,001 p1>0,05	50,28 ± 4,22 p>0,05 p1<0,05 Y 1,2,3>0,05 Y4<0,05

Примітка. Тут і надалі у таблицях: p – вірогідно щодо значень контрольної групи; p1 – вірогідність щодо значень шурів з КД; #1 – вірогідно щодо значень групи, яка отримувала бетаметазон; #2 – вірогідно щодо значень групи, яка отримувала СОД; #3 – вірогідно щодо значень групи, яка отримувала 1400W; Y1 – вірогідно щодо значень групи, яка отримувала нано-бетаметазон, Y2 – вірогідно щодо значень групи, яка отримувала наноСОД; Y3 – вірогідно щодо значень групи, яка отримувала нано1400W, Y4 – вірогідно щодо значень групи, яка отримувала хітозанові наночастинки.

Таблиця 2.8. Показники прооксидантно-антиоксидантного балансу у тканині печінки щурів із контактним нікель-індукованим дерматитом (M ± m, n=10)

Показник	Група									
	Конт-рольна група	КД	КД + бета-тазон	КД + на-но-бета-метазон	КД + СОД	КД + на-ноСОД	КД + 1400W	КД + на-но-1400W	КД + xi-тозанові НЧ	КД + на-но-бета-тазон, СОД та 1400W
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
ТБК-П, мкмоль/кг	6,72 ± 0,26	9,21 ± 0,31 p<0,001	7,27 ± 0,18 p>0,05 p1<0,001	7,02 ± 0,16 p>0,05 p1<0,001 #1>0,05	8,27 ± 0,28 p<0,01 p1<0,05	7,62 ± 0,26 p<0,05 p1<0,01 #2>0,05	8,46 ± 0,55 p<0,05 p1>0,05	7,28 ± 0,72 p>0,05 p1<0,05 #3>0,05	9,11 ± 0,34 p<0,001 p1> 0,05	6,98 ± 0,32 p>0,05 p1<0,001 γ1,2,3 >0,05 γ4<0,01
Каталаза, мкат/кг	7,99 ± 0,08	15,66 ± 0,45 p<0,001	10,11 ± 0,15 p<0,001 p1<0,001	9,68 ± 0,09 p<0,001 p1<0,001 #1<0,05	13,37 ± 1,25 p<0,01 p1≤0,05	11,38 ± 0,12 p<0,001 p1<0,001 #2≤0,05	13,56 ± 0,84 p<0,001 p1= 0,05	11,64 ± 1,75 p>0,05 p1>0,05 #3 ≤0,05	15,26 ± 0,56 p<0,001 p1> 0,05	8,16 ± 0,32 p>0,05 p1<0,001 γ 1,2,4<0,001 γ 3>0,01

Продовження табл. 2.8

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
СОД, ум. од./кг	5,07 ± 0,01	2,84 ± 0,12 p<0,001	3,98 ± 0,11 p<0,001 p1<0,001	4,31 ± 0,16 p<0,01 p1<0,001 #1>0,05	3,56 ± 0,17 p<0,001 p1<0,01	4,01 ± 0,22 p<0,001 p1<0,001 #2≤0,05	3,11 ± 0,19 p<0,001 p1> 0,05	3,92 ± 0,43 p<0,05 p1<0,001 #3>0,05	2,96 ± 0,16 p<0,001 p1> 0,05	4,66 ± 0,44 p>0,05 p1<0,01 γ 1,2,3 >0,05 γ 4 <0,001
G-SH, ммоль/кг	2,37 ± 0,05	1,16 ± 0,09 p<0,001	1,78 ± 0,08 p<0,001 p1<0,001	1,92 ± 0,08 p<0,001 p1<0,001 #1>0,05	1,38 ± 0,11 p<0,001 p1> 0,05	1,78 ± 0,07 p<0,001 p1<0,01 #2 <0,05	1,28 ± 0,09 p<0,001 p1> 0,05	1,48 ± 0,12 p<0,001 p1≤ 0,05 #3>0,05	1,22 ± 0,11 p<0,001 p1> 0,05	2,16 ± 0,20 p>0,05 p1<0,01 γ 1,2 >0,05 γ 3,4<0,01

Таблиця 2.9. Вміст нітратів і нітритів (NO_x) та сумарна активність NO-синтази у крові щурів із контактним дерматитом та за його корекції ($M \pm m$, $n=10$)

Група	Показник	
	NO_x , ммоль/л	NO-синтаза, нмоль/мг білка • хв
1	2	3
Контрольна група	$3,72 \pm 0,31$	$3,08 \pm 0,26$
КД	$5,95 \pm 0,49$ $p < 0,01$	$6,01 \pm 0,31$ $p < 0,001$
КД + бетаметазон	$4,77 \pm 0,24$ $p < 0,05$ $p1 \leq 0,05$	$4,64 \pm 0,18$ $p < 0,001$ $p1 < 0,01$
КД + нано-бета-метазон	$4,58 \pm 0,25$ $p > 0,05$ $p1 < 0,05$ $\#1 > 0,05$	$4,29 \pm 0,16$ $p < 0,01$ $p1 < 0,01$ $\#1 > 0,05$
КД + СОД	$5,54 \pm 0,32$ $p < 0,01$ $p1 > 0,05$	$5,64 \pm 0,28$ $p < 0,001$ $p1 > 0,05$
КД + наноСОД	$4,87 \pm 0,21$ $p < 0,01$ $p1 < 0,05$ $\#2 \leq 0,05$	$4,69 \pm 0,19$ $p < 0,001$ $p1 < 0,01$ $\#2 < 0,05$
КД + 1400W	$4,57 \pm 0,38$ $p > 0,01$ $p1 \leq 0,05$	$4,40 \pm 0,45$ $p < 0,01$ $p1 < 0,05$
КД + нано1400W	$3,98 \pm 0,40$ $p > 0,05$ $p1 < 0,01$ $\#3 > 0,05$	$3,11 \pm 0,28$ $p > 0,05$ $p1 < 0,001$ $\#3 < 0,05$
КД + НЧ	$5,88 \pm 0,48$ $p < 0,01$ $p1 > 0,05$	$5,98 \pm 0,40$ $p < 0,001$ $p1 > 0,05$

Продовження табл. 2.9

1	2	3
КД + наноконпозиція	$3,99 \pm 0,34$ $p > 0,05$ $p1 < 0,01$ $y1 > 0,05$ $y2 < 0,05$ $y3 > 0,05$ $y4 < 0,01$	$3,06 \pm 0,28$ $p > 0,05$ $p1 < 0,001$ $y1 < 0,01$ $y2 < 0,001$ $y3 > 0,05$ $y4 < 0,001$

що розвиток оксидативно-нітративного стресу є невід'ємною частиною розвитку нікель-індукованого контактного дерматиту.

Топічне застосування такого потужного протизапального середника, як бетаметазону дипропіонат, який належить до сильних топічних глюкокортикостероїдів, призводило до зниження інтенсивності зсувів у про-/ антиоксидантній системі, викликаних аплікацією протягом 12 діб нікелю сульфату.

Так, спостерігалось зниження рівня продуктів ПОЛ у сироватці крові та печінці, поліпшувалися показники антирадикального та антиперекисного захисту. Однак місцеве застосування ГКС не нівелює повністю розвиток надмірного оксидативного стресу, який розвивається при контактному нікелевому дерматиті.

Топічне застосування вільної СОД також дещо відновлювало баланс у анти- та прооксидативній системах: спостерігалось зниження рівня продуктів ПОЛ у печінці та сироватці крові, однак рівень цих вторинних продуктів ліпопероксидації був достовірно вищим на 23,6 та 50,6 % від групи контролю. Така ж тенденція спостерігалась і щодо інших показників, що вказує на недостатній терапевтичний ефект аплікацій пегильованої СОД при контактному дерматиті. Застосування СОД не мало достовірного впливу на рівень NOx та активність NO-синтази.

Топічне застосування високоселективного інгібітора iNOS 1400W у вільній формі також супроводжувалося тенденцією до зниження проявів дисбалансу у про-/антиоксидантній системі. Однак достовірними були зміни лише показників активності каталази – активність ферменту знижувалася на 13,4 та 8,0 %, відповідно, у печінці та сироватці крові.

Отже, застосування неінкапсульованих форм бетаметазону, СОД та 1400W мало позитивний вплив на показники прооксидантно-антиоксидантного балансу та надмірної активації системи оксиду азоту. Цей вплив найбільше був виражений для бетаметазону, а найменші зміни спостерігалися при аплікації високоселективного інгібітора iNOS 1400W.

Наноінкапсульована форма бетаметазону дипропіонату мала більш виражений вплив на показники надмірних процесів ПОЛ, ніж його вільна форма. Під впливом нано-бетазону рівень ТБК-АП у сироватці крові знижувався на 36,9 % порівняно з групою тварин з контактним дерматитом, які не отримували жодної корекції. Цей показник був на 13,8 % нижчим від показника групи тварин, які отримували звичайну форму ГКС і вищим від групи контролю (тварини, яким наносили водний ланолін) на 12,3 % (рис. 2.10).

Вміст ТБК-АП у печінці під впливом нанобетазону був нижчим на 23,8 % порівняно з тваринами з КД, які не отримували жодної корекції, та мав лише тенденцію до зниження порівняно з групою щурів, які отримували вільну форму бетаметазону (рис. 2.11).

Водночас спостерігалися позитивні зміни з боку антиоксидантної системи організму. Активність каталази у печінці та сироватці крові була нижчою на 38,2 та 32,6 % порівняно з контрольною патологією. Водночас цей показник у сироватці крові був достовірно нижчим (на 13,2 %) порівняно з групою тварин, які отримували вільний бетаметазон (див. рис. 2.10).

Активність СОД при застосуванні нано-інкапсульованого топічного стероїдного протизапального засобу зростала

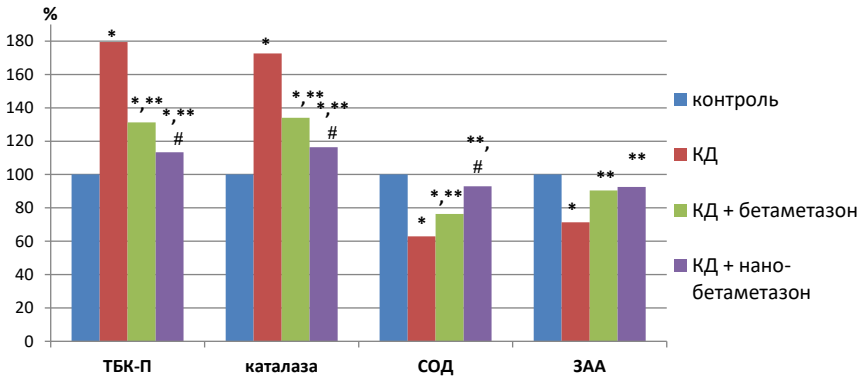


Рисунок 2.10. Показники прооксидантно-антиоксидантної рівноваги у сироватці крові при контактному дерматиті та його корекції препаратами бетаметазону.

Примітка. Тут і надалі в рисунках цього розділу: * – вірогідно щодо значень контрольної групи; ** – вірогідно щодо значень контрольної патології (щурів із контактним дерматитом); # – вірогідно щодо значень групи, яка отримувала вільну форму препарату.

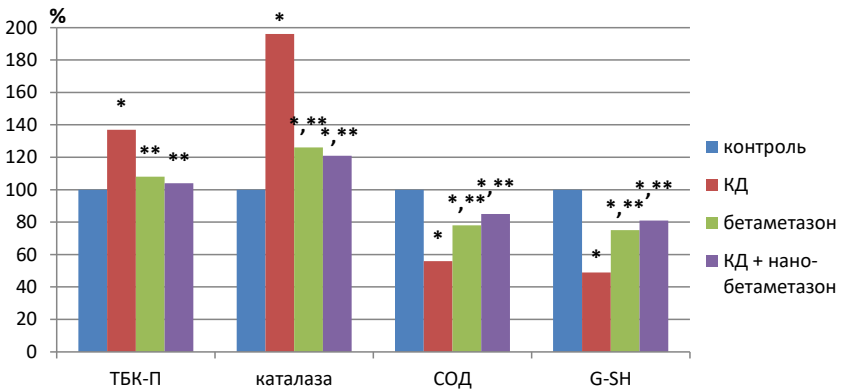


Рисунок 2.11. Показники прооксидантно-антиоксидантної рівноваги у тканинах печінки при контактному дерматиті та його корекції препаратами бетаметазону.

порівняно з нелікованими тваринами на 47,7 % у сироватці крові та на 51,8 % у печінці. Водночас цей показник був достовірно вищим (на 21,9 %) у крові порівняно з групою тварин, лікованих вільним бетаметазоном.

Загальна антиокиснювальна активність сироватки крові при застосуванні нано-бетаметазону зростала на 29,6 %, однак достовірно не відрізнялася порівняно із застосуванням звичайного бетаметазону.

Рівень відновленого глутатіону був вищим у 1,7 раза (на 65,5 %) порівняно з контрольною патологією, та простежувалася тенденція до його зростання порівняно з показниками групи тварин, які отримували звичайну форму бетаметазону.

Наноінкапсульвана форма ГКС викликала достовірне зниження NO_x на 23,0 %, активність NO-синтази падала на 28,6 %. Ці показники мали тенденцію до зниження порівняно з групою тварин, які отримували аплікації звичайного бетаметазону дипропіонату (рис. 2.12).

При аплікації нано-інкапсульвованої ПЕГ-СОД вміст ТБК-АП у печінці знижувався на 17,3 % та відрізнявся від групи контролю на 13,4 % (рис. 2.13). У сироватці крові вміст

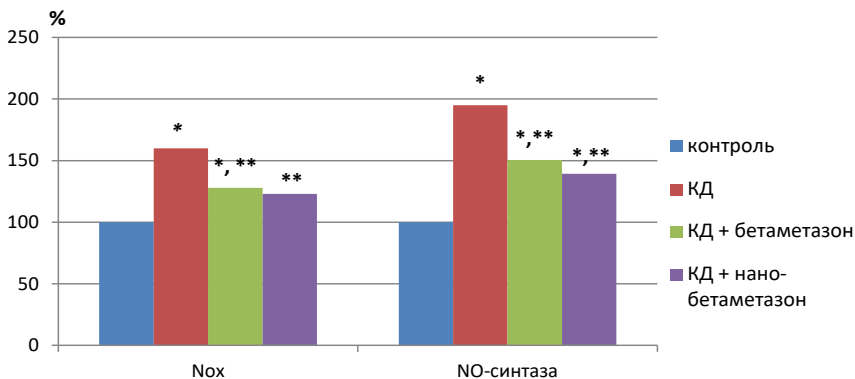


Рисунок 2.12. Вміст нітратів та нітритів у сироватці крові при контактному дерматиті та його корекції вільною і нано-інкапсульвованою формою бетаметазону.

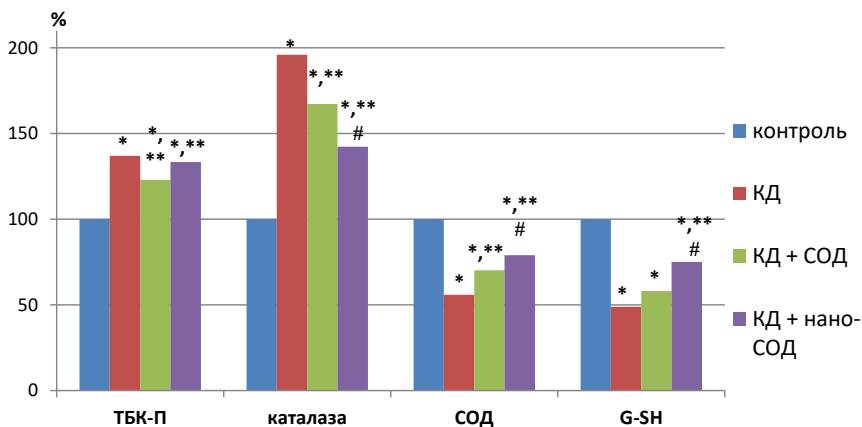


Рисунок 2.13. Показники прооксидантно-антиоксидантної рівноваги у тканинах печінки при контактному дерматиті та його корекції препаратами супероксиддисмутази.

ТБК-АП був нижчим на 24,8 %. Крім того, цей показник був достовірно нижчим на 10,4 % порівняно з тваринами, котрі отримували вільну СОД, хоча й залишався на 34,4 % вищим від контрольної групи (рис. 2.14).

Активність каталази у печінці та сироватці крові була нижчою на 27,3 та 25,8 % порівняно з контрольною патологією. Водночас ці показники були достовірно нижчими порівняно з групою тварин, які отримували вільну СОД – на 14,9 та 16,1 %, відповідно, у тканинах печінки та крові дослідних тварин. Однак показники були достовірно вищими порівняно з контролем – на 42,4 та 28,0 % у печінці та сироватці крові відповідно (рис. 2.14).

Активність ендогенного ферменту СОД при застосуванні звичайної форми СОД зростала на 14,3 % у сироватці крові, та на 25,4 % – у печінці. При застосуванні наноформи СОД вказані показники значно підвищувалися і були достовірно вищими (на 17,9 % та 12,6 % у крові та печінці відповідно), ніж такі при нанесенні її звичайної форми СОД. Проте дані показники ще залишалися достовірно нижчими

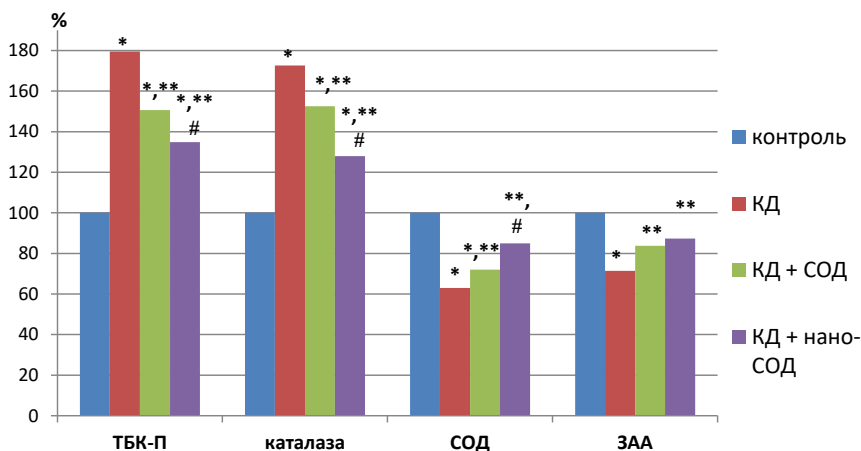


Рисунок 2.14. Показники прооксидантно-антиоксидантної рівноваги у сироватці крові при контактному дерматиті та його корекції препаратами пегільованої супероксиддисмутази.

від групи контролю (на 15,1% у сироватці крові та на 20,9 % у тканині печінки).

ЗАА сироватки крові зростала на 22,2 % при застосуванні нано-інкапсульованої СОД порівняно з контрольною патологією. Спостерігалася тенденція до деякого покращення показника порівняно з групою тварин, які отримували звичайну форму СОД.

Рівень відновленого глутатіону достовірно зростав при застосуванні наноСОД – був вищим на 53,4 % порівняно з контрольною патологією та на 29,0 % – порівняно з показниками групи тварин, які отримували звичайну її форму.

Застосування вільної СОД не мало достовірного впливу на рівень NO_x та активність NO-синтази порівняно з контрольною патологією. Нано-інкапсульована форма викликала вірогідне зниження вмісту NO_x на 18,2 %, а активності NO-синтази – на 22,0 % (рис. 2.15). Обидва показники достовірно відрізнялися від групи, яка отримувала

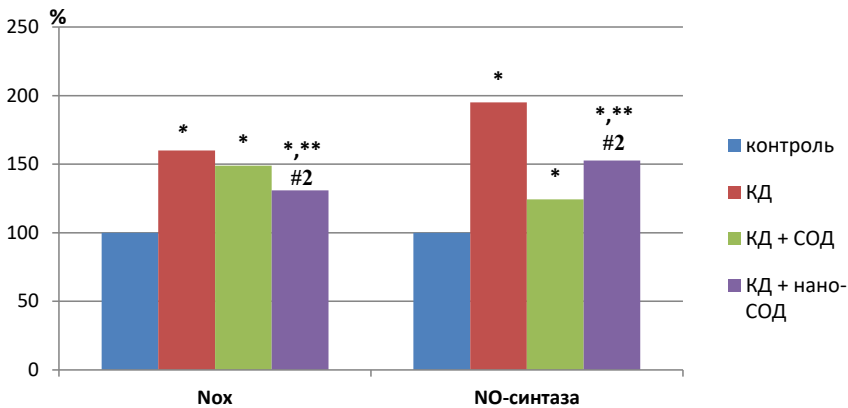


Рисунок 2.15. Вміст нітратів і нітритів у сироватці крові при контактному дерматиті та його корекції вільною та нано-інкапсульованою формою супероксиддисмутази.

вільну форму препарату – на 12,1 та 16,8 % відповідно. Вказані показники були достовірно вищими (на 30,9 %) у цій групі від групи контрольних тварин для кінцевих продуктів нітратів та нітритів та на 52,3 % – щодо показника активності NO-синтази.

Апликація нано-інкапсульованого 1400W супроводжувалася зниженням рівня ТБК-АП у печінці на 30,2 %, а у сироватці крові – на 21,0 % порівняно з тваринами з контактним дерматитом (рис. 2.15 та 2.16).

Активність каталази у печінці та сироватці крові була нижчою на 18,0 та 25,7 % порівняно з контрольною патологією. Водночас ці показники достовірно відрізнялися від таких у групі тварин, які отримували вільну форму препарату – на 10,9 та 18,6 % у крові та печінці відповідно.

Активність СОД при застосуванні нано-інкапсульованого 1400W зростала на 21,1 % у сироватці крові та на 36,6 % у печінці.

Рівень відновленого глутатіону в печінці зріс на 27,6 % у групі, де застосовували нано-інкапсульований високосе-

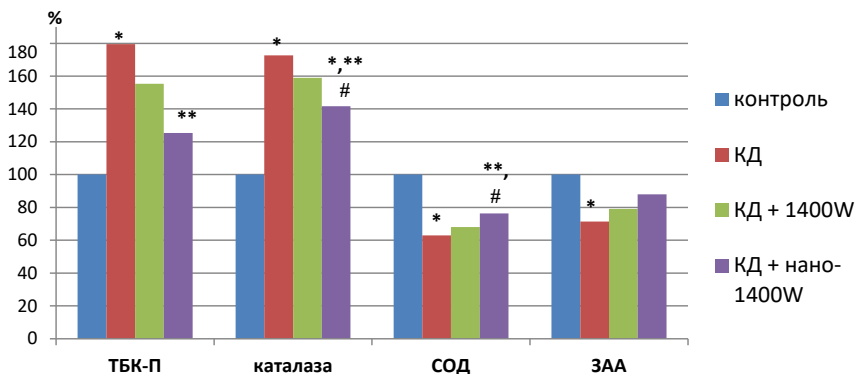


Рисунок 2.16. Показники прооксидантно-антиоксидантної рівноваги у сироватці крові при контактному дерматиті та його корекції препаратами 1400W.

лективний інгібітор iNOS, порівняно з нелікованими тваринами (рис. 2.17).

Застосування нано-інкапсульованої форми високоселективного інгібітора iNOS знижувало вміст нітратів і нітритів на 33,1 %. При цьому було зменшення сумарної активності NO-синтази на 48,2 %; цей показник був нижчим на 29,3 % порівняно з показником у групі тварин, які отримували вільну форму високоселективного інгібітора iNOS (рис. 2.18).

Застосування пустих хітозанових наночастинок не призводило до зміни досліджуваних показників порівняно з групою тварин з контрольною патологією.

Застосування комбінації наночастинок з інкапсульованими усіма трьома середниками для корекції змін при контактному нікель-індукованому дерматиті супроводжувалося наступними змінами. Рівень ТБК-АП у сироватці крові та тканині печінки практично нормалізувався та відповідав цифрам групи тварин контролю. Так, у сироватці крові вміст вторинних продуктів ПОЛ був нижчим на 42,9 % порівняно з контрольною патологією та на 41,4 % – порівняно з тваринами, які отримували хітозанові частинки для корекції.

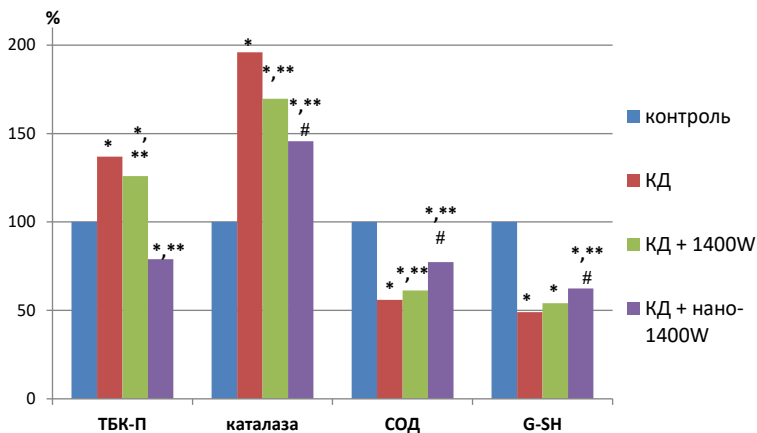


Рисунок 2.17. Показники прооксидантно-антиоксидантної рівноваги у тканині печінки при контактному дерматиті та його корекції препаратами 1400W.

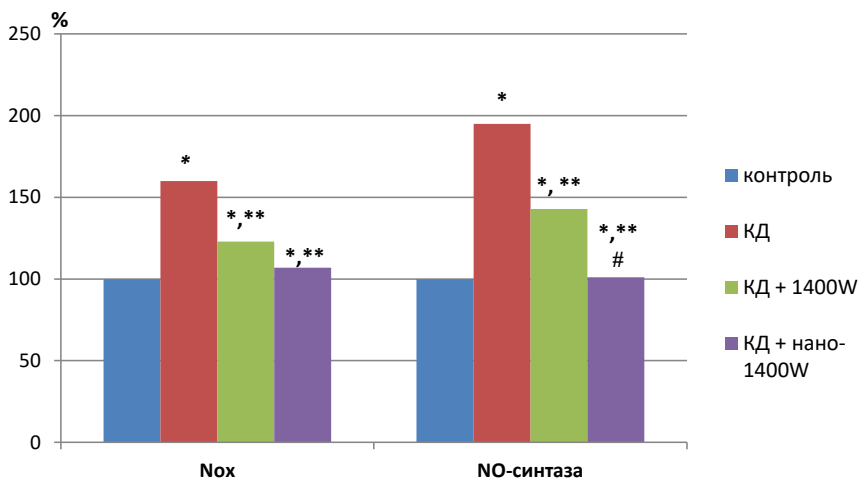


Рисунок 2.18. Вміст нітратів і нітритів у сироватці крові при контактному дерматиті та його корекції вільною та наноінкапсульованою формою 1400W.

Цей показник на 24,1% був нижчим порівняно з тваринами, які отримували тільки нано-інкапсульовану СОД та мав чітку тенденцію до зниження порівняно з групами тварин, які отримували нано-бетаметазон та нано1400W.

У тканині печінки вміст вторинних продуктів ліпопероксидації при застосуванні комбінації нано-інкапсульованих препаратів (бетаметазону, СОД та 1400W) знижувався на 24,2 % порівняно з тваринами з некоригованим контактним дерматитом та був достовірно нижчим на 23,4 % порівняно з групою тварин, яким наносили на уражені ділянки шкіри водний ланолін із пустими хітозановими наночастинками. Спостерігалася тенденція до покращення показника порівняно з групами тварин, які отримували наночастинки з препаратами корекції у монозастосуванні (рис. 2.19).

Активність каталази у сироватці крові та у гомогенатах печінки щурів, лікованих комбінацією засобів, була достовірно нижчою (на 38,4 та 47,9 %) порівняно з контрольною патологією. Дані показники достовірно не відрізнялися від таких контрольної групи тварин. Водночас у групі тварин, які отримували комбінацію нано-препаратів, у сироватці крові активність каталази була на 8,6 % нижчою порівняно з групою щурів, які отримували нано-бетаметазон, на 16,8 % – з тими, які отримували наноСОД та на 24,8 % – з тими, які отримували нано1400W. При цьому показник відрізнявся від групи тварин, які отримували хітозанові наночастинки, на 37,5 %. У гомогенатах тканин печінки активність каталази падала на 46,5 % порівняно з показником групи КД+НЧ, та була достовірно нижчою на 15,7 та 28,3 % порівняно з тваринами, які отримували для корекції нано-бетаметазон та наноСОД (рис. 2.20).

Така ж тенденція спостерігалася щодо змін показника СОД, загальної антиокиснювальної активності сироватки крові вмісту відновленого глутатіону в тканинах печінки. Щоденна аплікація протягом семи діб наноконпозиції з нано-інкапсульованих бетаметазону, СОД та 1400W мала виражений нормалізуючий вплив на показники нітроокси-

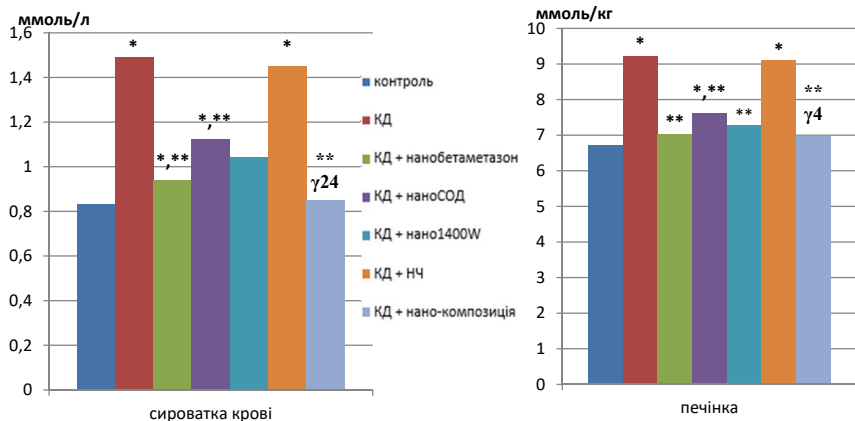


Рисунок 2.19. Зміни рівня ТБК-активних продуктів у сироватці крові та печінці при корекції контактного дерматиту, індукованого сульфатом нікелю, нано-інкапсульованими препаратами.

Примітка. Тут і надалі в рисунках: * – вірогідно щодо значень контрольної групи; ** – вірогідність щодо значень контрольної патології (шурів із контактним дерматитом); γ_1 – вірогідно щодо значень групи, яка отримувала нано-бетаметазон, γ_2 – вірогідно щодо значень групи, яка отримувала наноСОД; γ_3 – вірогідно щодо значень групи, яка отримувала нано1400W, γ_4 – вірогідно щодо значень групи, яка отримувала наночастинки хітозану.

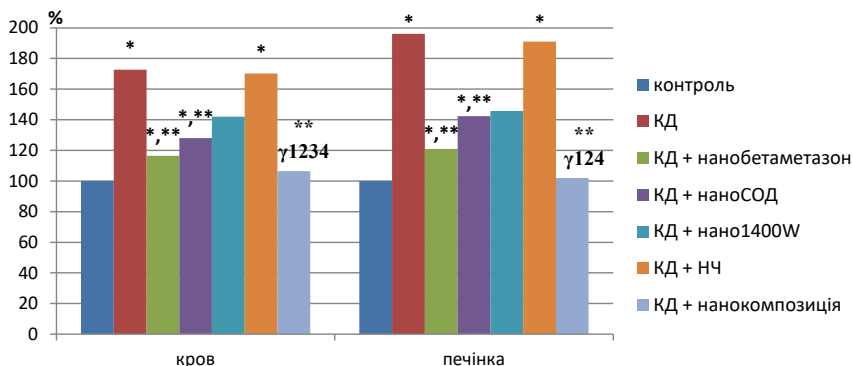


Рисунок 2.20. Зміни активності каталази сироватки крові та тканини печінки при корекції контактного дерматиту, індукованого сульфатом нікелю, нано-інкапсульованими препаратами.

дативного стресу. Так і у цій дослідній групі вміст кінцевих продуктів нітратів та нітритів у сироватці крові знизився на 32,9 % порівняно з групою контрольної патології та практично зрівнявся з цифрами групи контрольних щурів. Показник достовірно відрізнявся від груп тварин, які отримували монокорекцію нано-інкапсульованою СОД та хітозановими наночастинками – на 18,1 та 32,1 % відповідно (рис. 2.21).

Активність NO-синтази у цій групі знижувалася на 49,1 % порівняно з тваринами з контактним дерматитом та перевищувала показники груп тварин, які отримували нано-бетаметазон, наноСОД та хітозанові наночастинки, відповідно, на 28,7 та 45,7 і 48,8 %.

Таким чином, розвиток контактного нікель-індукованого дерматиту супроводжується розвитком оксидативного та нітрооксидативного стресу, про що свідчить зростання концентрації вторинних продуктів ліпопероксидації (у

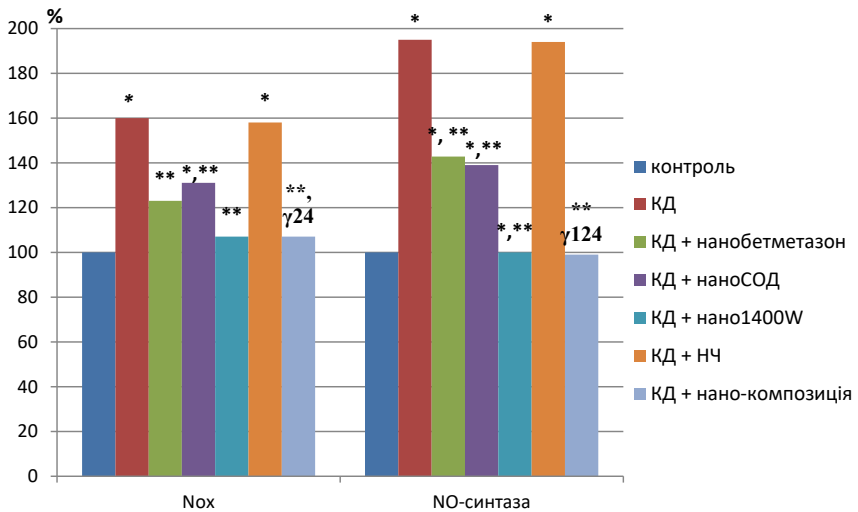


Рисунок 2.21. Вміст нітратів і нітритів й активність NO-синтази при контактному дерматиті та його корекції нано-інкапсульованими препаратами.

крові та печінці вміст ТБК-АП був вищим на 79,5 та 37,5 % відповідно) з компенсаторним зростанням активності ферменту каталази (на 72,6 та 96,0 %), зниженням активності СОД на 44,0 та 37,0 % у сироватці крові та тканинах печінки відповідно. Також різко знижується загальна антиокиснювальна активність сироватки крові (у 1,4 раза) та вміст відновленого глутатіону у печінці (на 51,05 % порівняно з тваринами контролю). Одночасно зростає вміст нітритів та нітратів на 59,9 % з одночасним зростанням сумарної активності NO-синтази на 95,1 %. Отже, має місце дезорганізація ендogenous антиоксидантного та антирадикального захисту.

Місцеве нанесення на уражені ділянки шкіри протягом одного тижня двічі на добу препаратів бетаметазону, СОД та 1400W супроводжувалося зниженням інтенсивності показників оксидативного та нітрооксидативного стресу та активацією показників антиоксидантного захисту, яке максимально було виражене у групі тварин, які отримували бетаметазон. Так, у цій групі спостерігалось зниження рівня ТБК-АП на 26,8 та 21,1 %, відповідно, у сироватці крові та печінці. Активність каталази сироватки крові була нижчою на 22,3 %, активність зростала СОД на 21,1 %, а рівень G-SH – на 53,4 %. Застосування бетаметазону знижувало інтенсивність розвитку нітрооксидативного стресу у периферичній крові. Водночас усі досліджувані показники залишалися достовірно зміненими відносно групи контролю, що свідчить про те, що застосування вказаних препаратів хоча знижує інтенсивність процесів надмірної ліпопероксидації, однак не нормалізує їх повністю.

Застосування нано-інкапсульюваних бетаметазону, СОД та 1400W мало більш виражений регулюючий вплив на досліджувані показники, ніж використання звичайних форм препаратів. При застосуванні нано-бетаметазону рівень ТБК-АП у сироватці крові знижувався на 13,8 %, а активність каталази – на 13,2 % порівняно з показниками групи тварин, які отримували вільний бетаметазон. При

застосуванні наноформи СОД показники активності ендogenous ферменту СОД перевищували показники, отримані при нанесенні звичайної її форми на 17,9 % та 12,6 % відповідно у крові та печінці. Рівень відновленого глутатіону при застосуванні наноСОД достовірно зростав на 29,0 % порівняно з показниками групи тварин, які отримували звичайну її форму. Активність каталази при застосуванні нано-інкапсульованого інгібітора iNOS у печінці та сироватці крові була нижчою на 10,9 та 18,6 % порівняно з групою тварин, які отримували вільну форму препарату. Активність СОД при застосуванні нано-інкапсульованого 1400W зростала на 21,1 % у сироватці крові та на 36,6 % у печінці.

Застосування корекції хітозанових наночастинок не супроводжувалося змінами показників та не відрізнялося від показників групи контрольної патології – щурів, які не отримували жодної корекції.

Максимально ефективною виявилася щоденна аплікація протягом семи діб комбінації з нано-інкапсульованих бетаметазону, СОД та 1400W, яка мала виражений нормалізуючий вплив на показники оксидативного та нітрооксидативного стресу. Спостерігалася нормалізація майже усіх досліджуваних показників. Ефективність наноконпозиції перевищувала моно-застосування нано-інкапсульованих препаратів за наступними показниками. У сироватці крові вміст вторинних продуктів ПОЛ був на 24,1 % нижчим порівняно з тваринами, які отримували тільки нано-інкапсульовану СОД та мав чітку тенденцію до зниження порівняно з групами тварин, які отримували нано-бетаметазон та нано1400W. У сироватці крові активність каталази була на 8,6 % нижчою порівняно з групою щурів, які отримували нано-бетаметазон, на 16,8 % – з тими, які отримували наноСОД та на 24,8 % – з тими, які отримували нано1400W. У гомогенатах тканин печінки активність каталази була достовірно нижчою на 15,7 та 28,3 % порівняно з тваринами, які отримували для корекції нано-бетаметазон та наноСОД.

Вміст відновленого глутатіону у тканинах печінки був достовірно вищим порівняно з групою тварин, які отримували нано1400W. Вміст кінцевих продуктів нітратів та нітри-тів у сироватці крові практично зрівнявся з цифрами групи контрольних щурів та достовірно відрізнявся від груп тварин, які отримували монокорекцію нано-інкапсульованою СОД та хітозановими наночастинками – на 18,1 та 32,1 % відповідно. Сумарна активність NO-синтази у цій групі знижувалася на 49,1 % порівняно з тваринами з контактним дерматитом та перевищувала показники на 28,7 та 45,7 і 48,8 % порівняно з групами, які отримували нано-бетаме-тазон, наноСОД та хітозанові наночастинки відповідно.

Отже, отримані нами результати дослідження свідчать про перспективність подальшого вивчення та впровадження у клінічну практику нано-інкапсульованих форм препаратів для лікування контактних дерматитів, в тому числі для корекції прооксидантно-антиоксидантного балансу.

2.5. Аналіз структурних та ультраструктурних компонентів шкіри тварин з експериментальним контактним дерматитом при його корекції за допомогою полімерних наночастинок

Оскільки основна функція шкірного покриву – це захист, важливою проблемою є черезшкірна доставка діючої речовини до глибоких шарів епідермісу та дерми, оскільки *stratum corneum* є бар'єром, що лімітує проникнення лікувальних засобів. Адже фармакотерапією вибору контактних дерматитів є топічне місцеве застосування лікарських засобів. Сучасним напрямом вирішення цієї проблеми є використання нанотехнологій з метою створення полімер-

них наночастинок з інкапсульованими в них препаратами. Полімерні наночастинки прекрасно підходять для трансдермальної доставки ліків завдяки їх особливим властивостям, як ефективність захоплення лікарського середника, контрольована швидкість його вивільнення в тканинах, пригнічення деградації ензимами [7, 174].

Мікроскопічні дослідження шкіри тварин при експериментальному дерматиті показали, що найбільші зміни її структурних компонентів відбуваються у центральних ділянках ураження порівняно зі здоровими тканинами (рис. 2.22).

Так, на місці контакту з подразником спостерігається значне пошкодження епідермісу, встановлені вогнищеві виразкові пошкодження шкіри. В окремих ділянках вони обмежуються тільки епідермісом, а в інших наявні і у дермі. На поверхні виразок спостерігається некротизований шар, що

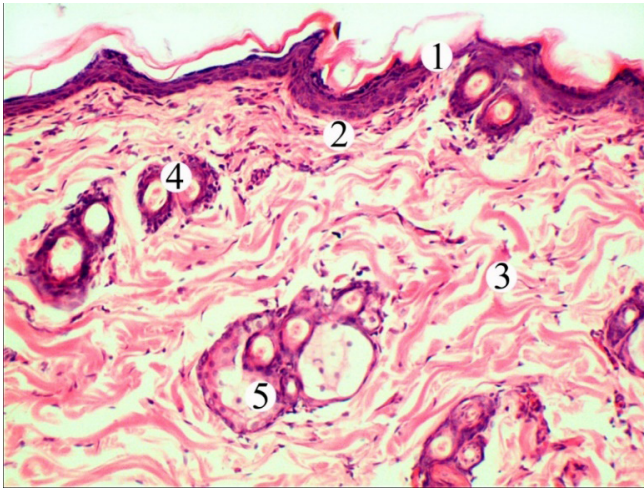


Рисунок 2.22. Мікроскопічна організація епідермісу і дерми з придатками. Шкіра тварини контрольної групи. Епідерміс (1), сосочковий (2) та сітчастий (3) шари дерми, фрагмент кореня волосся (4), сальна залоза (5). Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 200$.

являє собою кірку з клітинного детриту, фібрину, яка тісно спаяна з прилеглою пошкодженою тканиною. Виявляється грануляційна тканина, що обмежує уражені ділянки. У сосочковому шарі дерми відмічаються округло-овальні порожнини з форменими елементами (рис. 2.23, 2.24). Пошкодження стінки гемокапілярів супроводжується крововиливами.

Запальна реакція у дермі проявляється набряком, пошкодженням волокон, частковим їх лізісом або утворенням гомогенних, товстих пучків. Значно зростає вміст аморфного компоненту міжклітинної речовини, що сприяє розшаруванню та втраті упорядкованого розташування волокнистих структур. У таких ділянках дерми відмічається ураження фіробластів та фіброцитів.

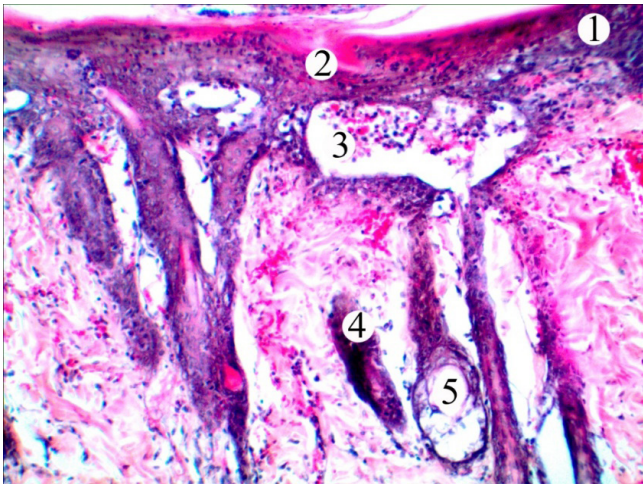


Рисунок 2.23. Мікроскопічні зміни епідермісу і структур дерми шкіри тварини при експериментальному дерматиті. Центральна ділянка ураженої шкіри. Деструкція та інфільтрація епідермісу (1), ділянки детриту (2), порожнини з форменими елементами (3), пошкоджені корені волосся (4) та сальна залоза (5). Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 100$.

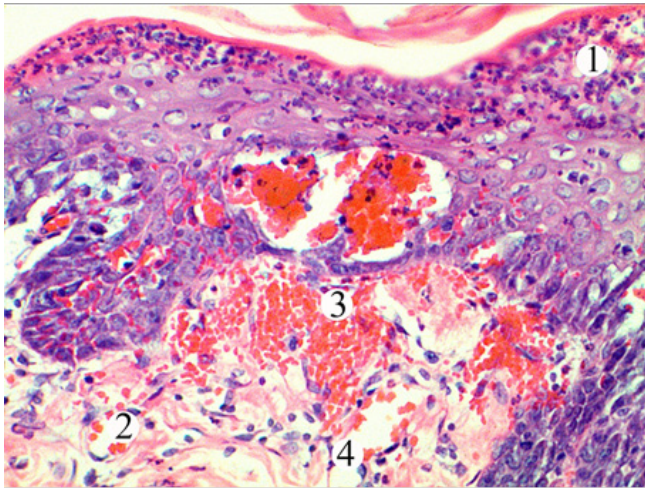


Рисунок 2.24. Мікроскопічні зміни епідермісу і дерми шкіри тварини при експериментальному дерматиті. Центральна ділянка ураженого епідермісу і дерми. Деструкція та лейкоцитарна інфільтрація епідермісу (1), розширені просвіти гемокapілярів (2), крововиливи (3), набряк сполучної тканини дерми (4). Забарвлення гематоксиліном та еозином. ×200.

Суттєво змінюються придатки шкіри. Пошкодження коренів волосся проявляється деструкцією епітеліоцитів кореневої піхви та волосяних фолікулів. У сальних залозах наявне руйнування гландулоцитів секреторних відділів та епітеліоцитів вивідної протоки.

Проведені мікроскопічні дослідження шкіри тварин при експериментальному дерматиті за умов застосування бетаметазону дипропіонату показали, що зміни її структурних компонентів дещо зменшуються. У центральній ділянці виразкові дефекти закриті товстим шаром – кіркою. Вона розташована на місці повністю зруйнованого епідермісу і сосочкового шару дерми та складається з клітинного детриту, фібрину. Під нею виявляється тонкий, новоутворе-

ний пласт епітеліоцитів, у якому відсутнє диференціювання шарів (рис. 2.25, 2.26).

Проведені мікроскопічні дослідження шкіри тварин при експериментальному дерматиті за умов застосування нано-бетаметазону показали, що зміни її структурних компонентів менші, ніж у нелікованій групі та виявляються більш активні ознаки регенераторних процесів в ураженій ділянці.

Гістологічно у центральній ділянці виразкові дефекти закриті рівномірним шаром – кіркою, яка розташована на місці зруйнованого епідермісу. Під нею спостерігається новоутворений пласт епітеліоцитів, у якому наявне диференціювання шарів. У базальному й остистому шарах наявні ознаки мітотичного поділу епітеліоцитів. У сосочковому шарі дерми виявляється багато фіброblastів, що забезпечують форму-



Рисунок 2.25. Мікроскопічний стан епідермісу і структур дерми шкіри тварини при експериментальному дерматиті за умов застосування бетаметазону дипропіонату. Центральна ділянка дефекту. Тонкий шар епітеліоцитів, що формується (1) під утвореним детритом (2), набрякла дерма (3). ×100.

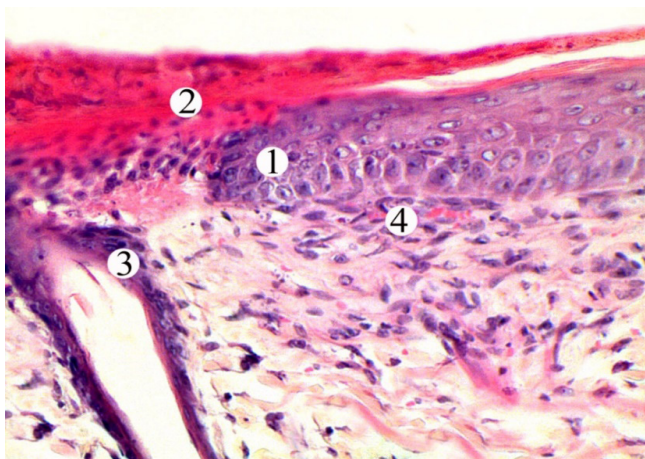


Рисунок 2.26. Мікроскопічний стан епідермісу і структур дерми шкіри тварини при експериментальному дерматиті за умов застосування нано-бетаметазону. Крайова ділянка ураженої шкіри. Епітеліальний пласт (1), що підростає під кірку детриту (2), епітеліоцити кореня волосини (3), кровоносний капіляр (4). Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 200$.

вання пухкої сполучної тканини. У її складі також є з вузькими просвітами гемокапіляри, розташовані безпосередньо під епідермісом. У сітчастому шарі дерми наявний помірний набряк міжклітинної речовини та кровонаповнені судини мікроциркуляторного русла з більш широкими просвітами. За умов застосування коригуючих чинників мікроскопічно встановлена добре виражена крайова епітелізація. Широкий пласт епідермоцитів підростає під кірку, закриває пошкоджену дерматитом ділянку шкіри, сприяє закриттю дефекта. Формування епідермального шару відбувається і за рахунок епітеліоцитів коренів волосся (рис. 2.25).

Проведені мікроскопічні дослідження шкіри тварин при експериментальному дерматиті за умов застосування вільної форми препарату ПЕГ-СОД показали, що зміни її структурних компонентів були неоднакові у місцях дії пошкоджувального

чинника. Все ще спостерігаються ділянки глибокої деструкції епідермального пласта, сосочкового і сітчастого шарів дерми та її придатків (рис. 2.27). Відмічається крайова епітелізація, пласт клітин підростає під пошкоджений епідерміс та сприяє закриттю дефекту. Наявна вогнищева запальна реакція у дермі (рис. 2.28). Мікроскопічно будова шкіри поза зоною пошкодження подібна до шкіри тварин інтактної групи.

При вивченні гістологічної картини структур шкіри при експериментальному контактному нікелевому дерматиті за умов застосування наноформи ПЕГ-СОД встановлено, що стан структурних компонентів покращується, виявляються ознаки активації регенераторних процесів, а зміни шкіри менші, ніж у нелікованій групі. У центральній ділян-

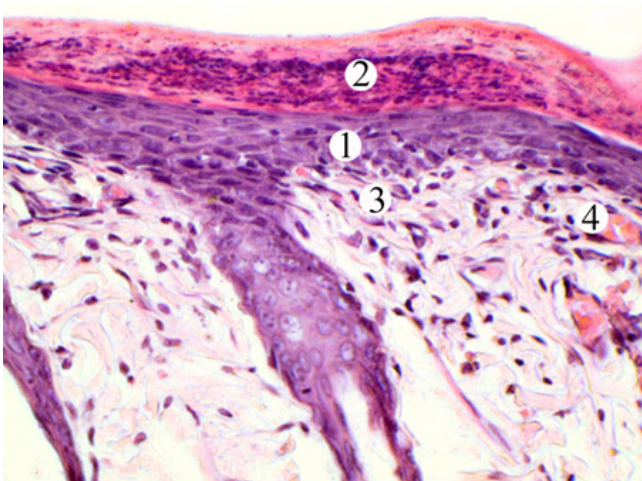


Рисунок 2.27. Мікроскопічний стан епідермісу і структур дерми центральної ділянки шкіри тварини при експериментальному дерматиті за умов застосування наночастинок та супероксиддисмутази. Епітеліальний пласт (1), що формується під кіркою (2), сосочковий шар дерми з фібробластами (3), кровеносний капіляр (4). Забарвлення гематоксиліном та еозином. ×200.

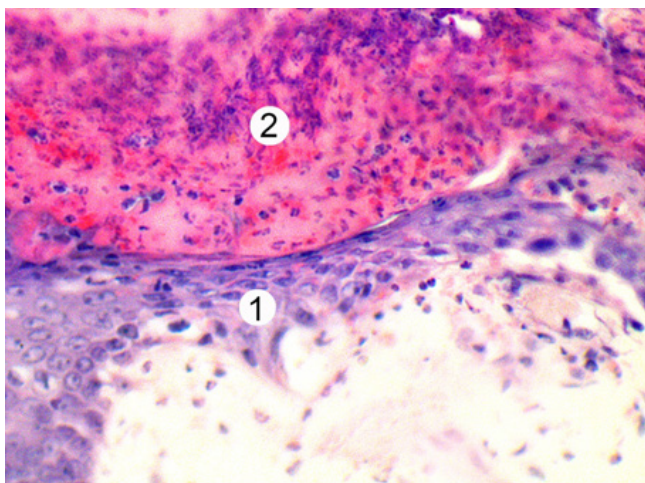


Рисунок 2.28. Мікроскопічна організація епідермісу і структур дерми центральної ділянки шкіри тварини при експериментальному дерматиті за умов застосування наночастинок та препарату 1400W. Епітеліальний пласт (1), поверхнева кірка (2), дерма (3). Забарвлення гематоксиліном та еозином. ×300.

ці гістологічно спостерігається закриття дефектів шкіри щільним шаром – кіркою, що розташована на місті повністю зруйнованого епідермісу і сосочкового шару дерми та складається з клітинного детриту та фібрину. Під нею виявляється новоутворений пласт епітеліоцитів, у якому наявне диференціювання шарів, на відміну від тварин, які отримували звичайну вільну форму ПЕГ-СОД.

Репаративна регенерація епідермісу відбувається як за рахунок крайової епітелізації, так і за рахунок придатків шкіри. Наночастинок СОД забезпечує більш активну та якісну репарацію пошкоджених структур шкіри, на що вказує наявність диференціації шарів у новоутвореному під некротизованою кіркою епітеліальному пластівці. Також значно менше виражені прояви вогнищевої запальної реакції у дермі. У сосочковому шарі дерми наявна велика кількість

фібробластів, що забезпечує формування пухкої сполучної тканини. У її складі розширені та кровонаповнені новостворені гемокапіляри.

Проведені мікроскопічні дослідження шкіри тварин при експериментальному дерматиті за умов застосування вільної форми препарату 1400W показали, що його позитивний вплив був незначним. У місцях ураженої дерматитом шкіри було зафіксовано деструкцію клітин епідермісу, структурних компонентів сосочкового і сітчастого шарів дерми. Епідермоцити по краях пошкодженої шкіри були збережені, проте крайова епітелізація практично відсутня. Дерма все ще була набряклого, судини мікроциркуляторного русла розширені та кровонаповнені.

Гістологічні дослідження шкіри тварин при експериментальному дерматиті за умов застосування наноформи препарату 1400W показали, що покращення її структурних компонентів було більш вираженим порівняно із застосуванням його вільної форми. Спостерігалися морфологічні ознаки активації регенераторних процесів.

У центральних ділянках встановлено закриття дефектів шкіри щільним шаром – кіркою, яка утворена на місці повністю зруйнованого епідермісу і сосочкового шару дерми. Мікроскопічно під нею відмічався вузький новоутворений пласт клітин без пошарового диференціювання.

Отже, застосування інгібітора iNOS 1400W не викликає значного покращення структурних компонентів шкіри при експериментальному контактному нікелевому дерматиті, що свідчить про значну питому вагу в розвитку патологічного процесу інших механізмів та чинників. Однак застосування високоселективного інгібітора індукцйбельної NO-синтази N-(3-(Амінометил)бензил)ацетамідину 1400W, інкапсульованого у хітозанові наночастинки, забезпечує більш активну репарацію пошкоджених структур шкіри та стимулює крайову епітелізацію.

При мікроскопічному дослідженні встановлено, що застосування комбінації нано-інкапсульованих СОД, 1400W

та бетаметазону дипропіонату приводить до загоєння та відновлення пошарового розташування епідермоцитів, їх диференціації, кератинізації та утворення рогових лусочок. Епідермоцити базального та остистого шарів включали округлі ядра з чітко контурованою каріолемою, у цитоплазмі багато мікрофіламентів та були наявні малозмінені органели. Відсутні ознаки периваскулярного набряку. Нормалізувалася трофіка шкіри (рис. 2.29).

Електронно-мікроскопічні дослідження структурних компонентів шкіри тварин інтактної групи (рис. 2.30 та 2.31) показали, що вона побудована з епідермісу (багат шаровий плоский зроговілий епітелій) та дерми (сполучнотканинна основа). В епідермісі тонкої шкіри виділяють

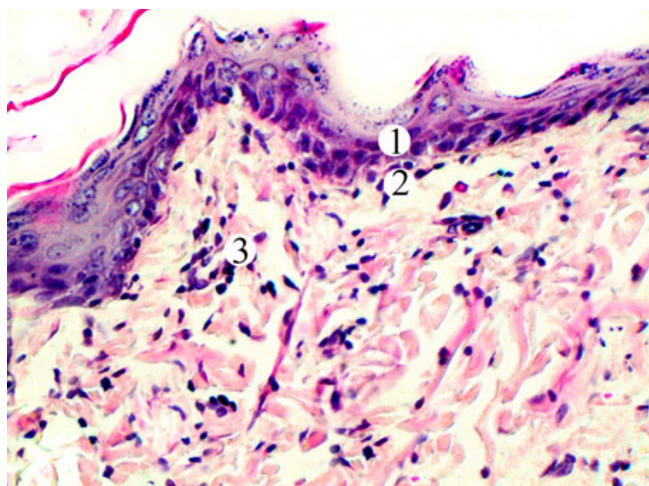


Рисунок 2.29. Мікроскопічний стан епідермісу і структур дерми центральної ділянки шкіри тварини при експериментальному дерматиті за умов застосування наночастинок, ПЕГ-СОД, 1400W та бетаметазону дипропіонату. Сформований епітеліальний пласт (1), що закрив дефект, сосочковий шар дерми з фібробластами (2), кровоносний капіляр (3). Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 200$.

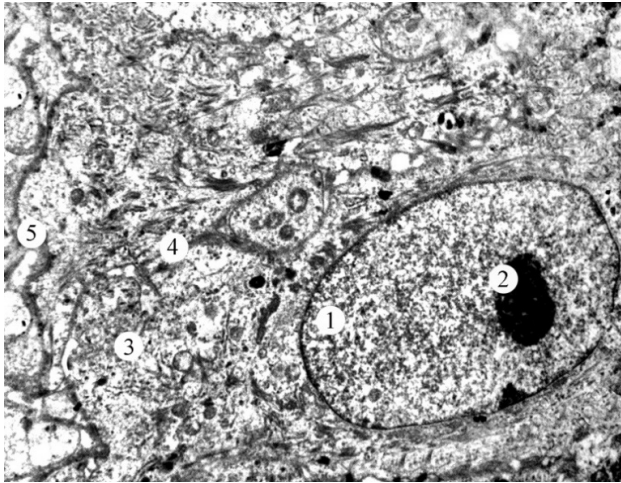


Рисунок 2.30. Ультраструктурна організація епітеліоцита базального шару епідермісу шкіри тварини інтактної групи. Ядро (1), ядерце (2), цитоплазма (3), тонофібрили (4), базальна мембрана (5). $\times 10\ 000$.

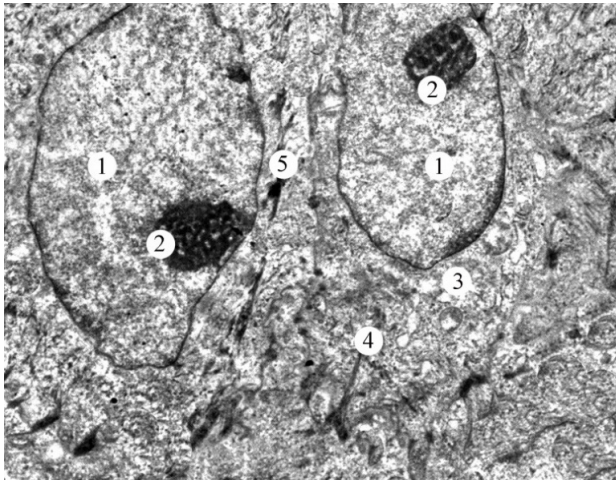


Рисунок 2.31. Ультраструктурна організація епітеліоцитів остистого шару епідермісу шкіри тварини інтактної групи. Ядро (1), ядерце (2), цитоплазма (3), тонофібрили (4), десмосоми (5). $\times 10\ 000$.

чотири шари епітеліоцитів: базальний, остистий (шипуватий), зернистий та шар рогових лусочок [228].

Проведені субмікроскопічні дослідження шкіри тварин при експериментальному дерматиті виявили значні структурні зміни як ядерних, так і цитоплазматичних утворів. У епітеліальному шарі шкіри тварин спостерігався пікноз ядер та зменшення їх розмірів, осміофілія каріоплазми, пошкодження ядерних мембран. Відмічається руйнування органел та лізис тонофіламентів (рис. 2.32). Щодо дерми: відмічається набряк аморфного компоненту міжклітинної речовини, лізис волокнистих її структур. Цитоплазма фібробластів має нерівномірно потовщені каналці гранулярної ендоплазматичної сітки, на мембранах яких мало рибосом. Комплекс Гольджі займає невелику площу, у його диктіосомах неупорядковано розташовані короткі, розширені цистерни і вакуолі. Мітохондрій мало, вони гіпертрофовані, втрачають кристи.

Відмічаються первинні та вторинні лізосоми (рис. 2.33). У пошкодженій дермі збільшується вміст лімфоцитів,

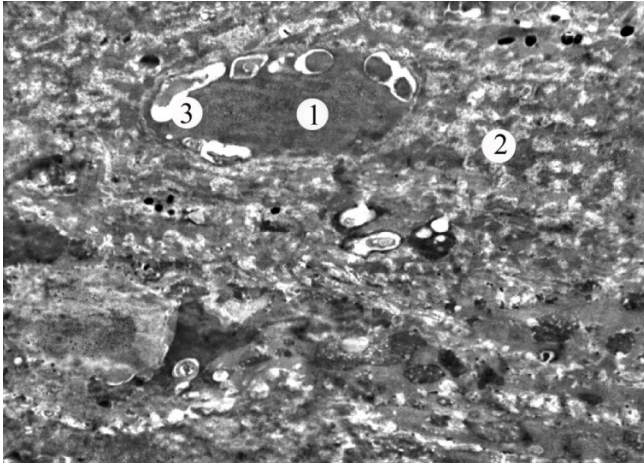


Рисунок 2.32. Субмікроскопічні зміни епідермоцитів епітеліальної пластинки шкіри тварини при експериментальному дерматиті. Пікнотичне ядро (1), гомогенізована ділянка (2), світла порожнина (3). $\times 9\ 000$.

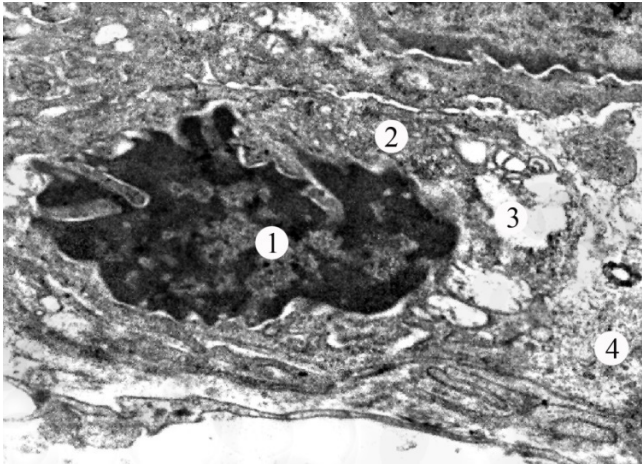


Рисунок 2.33. Субмікроскопічні зміни сполучної тканини шкіри тварини при експериментальному дерматиті. Електроннощільне, неправильної форми ядро (1) і цитоплазма (2) фібробласта, пошкоджені органели (3), міжклітинна речовина (4). ×12 000.

нейтрофілів, макрофагів. Субмікроскопічно у міжклітинній речовині зростає вміст формених елементів крові, що характеризує її інфільтрацію. У некротичних ділянках дерми шкіри наявна деструкція компонентів мікроциркуляторної русла. Пошкоджується структура гемокапілярів, багато з них тромбуються і гинуть. Епідермоцити периферійних ділянок ураженої шкіри також змінені, але не так значно, як у центральній ділянці.

Субмікроскопічні дослідження шкіри тварин при експериментальному дерматиті за умов застосування наноформи СОД, 1400W та бетаметазону дипропіонату показали, що центральні ділянки місця загоєння вкриті тонким епітеліальним пластом. Для епідермоцитів характерне їх поширене розташування, ознаки диференціації, кератинізація та утворення рогових лусочок (рис. 2.34, 2.35).

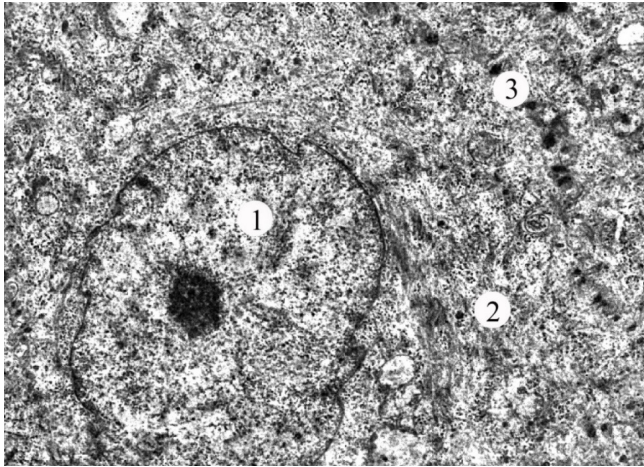


Рисунок 2.34. Субмікроскопічний стан епідермоцитів базального шару епідермісу шкіри тварини при експериментальному дерматиті за умов застосування наночастинок, супероксиддисмутази, 1400W та бетаметазону дипропіонату. Ядро (1) і цитоплазма (2) епідермоцита базального шару, міжклітинні контакти (3). ×15 000.

Епідермоцити базального та остистого шарів включають округлі ядра з чітко контурованою каріолемою, в їх каріоплазмі переважає еухроматин. У цитоплазмі багато мікрофіламентів та наявні малозмінені органели. Добре структуровані міжклітинні контакти, а міжклітинні простори помірних розмірів (див. рис. 2.34).

Подовгастої форми рогові лусочки мають цитоплазматичні вирости, що контактують між собою. Залежно від розташування цитоплазма лусочок має різну електронну щільність, у ній спостерігаються фібрилярні структури та різних розмірів пухирці. Міжклітинні простори нерівномірні, але вони невеликі (див. рис. 2.35).

У пухкій волокнистій сполучній тканині дерми спостерігаються добре структуровані гемокапіляри, що свідчить про нормалізацію трофіки шкіри. На відносно рівномірній

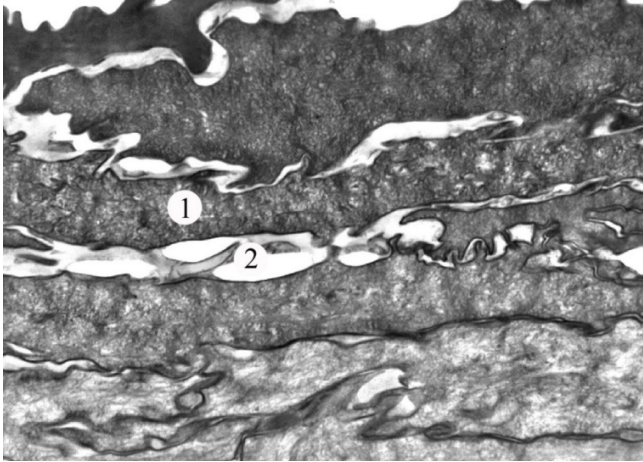


Рисунок 2.35. Ультраструктура рогового шару епідермісу шкіри тварини при експериментальному дерматиті за умов застосування наночастинок, супероксиддисмутази, 1400W та бетаметазону дипропіонату. Рогова лусочка (1), міжклітинний простір (2). $\times 17\ 000$.

базальній мембрані розташовані ендотеліоцити, що включають подовгасті ядра та цитоплазму з непошкодженими органелами, піноцитозними пухирцями та вакуолями. На апікальній поверхні плазмолемі наявні цитоплазматичні випинання у вигляді мікроросинок та інвагінації. Відсутні ознаки периваскулярного набряку (рис. 2.36).

Електронно-мікроскопічні дослідження дерми при експериментальному дерматиті за умов поєднаного застосування корегуючих препаратів показали, що зрілі фібробласти включають великі овальної форми ядра. В їх каріоплазмі виявляється еухроматин та ядерця. У електронно-світлій гіалоплазмі спостерігаються добре розвинені органили білок-синтезуючого апарату. Канальці гранулярної ендоплазматичної сітки помірно розширені з рибосомами на поверхні мембран. Комплекс Гольджі представлений системою цистерн пухирців та вакуолей. Мітохондрії з чітко

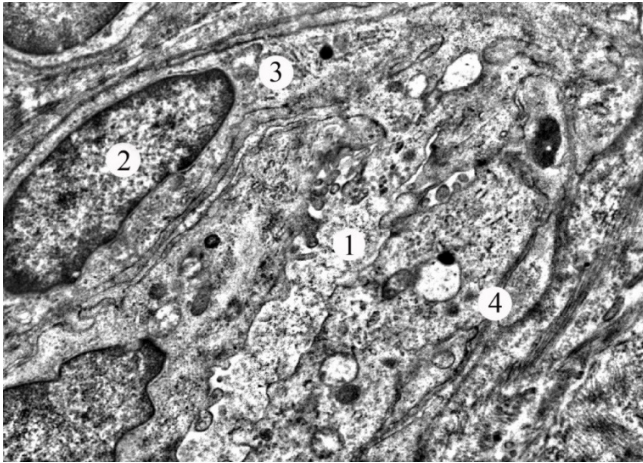


Рисунок 2.36. Ультраструктурний стан гемокапіляра дерми шкіри тварини при експериментальному дерматиті за умов застосування наночастинок, супероксиддисмутази, 1400W та бетаметазону дипропіонату. Просвіт капіляра (1), ядро (2) і цитоплазма (3) ендотеліоцита, базальна мембрана (4). $\times 12\ 000$.

вираженими кристами та світлим матриксом (рис. 2.37). Це сприяє оновленню волокнистих структур міжклітинної речовини сполучної тканини сосочкового та сітчастого шарів дерми.

Таким чином, при експериментальному контактному нікелевому дерматиті мають місце значні структурні зміни як ядерних, так і цитоплазматичних утворів. Спостерігається пікноз ядер та зменшення їх розмірів, осміофілія каріоплазми, пошкодження ядерних мембран. Відмічається руйнування органел та лізис тонофіламентів; набряк аморфного компоненту міжклітинної речовини, лізис волокнистих структур дерми. У некротичних ділянках дерми шкіри наявна деструкція компонентів мікроциркуляторної русла.

Застосування комбінації нано-інкапсульованих СОД, 1400W та бетаметазону дипропіонату приводить до загоєння та відновлення пошарового розташування епідер-

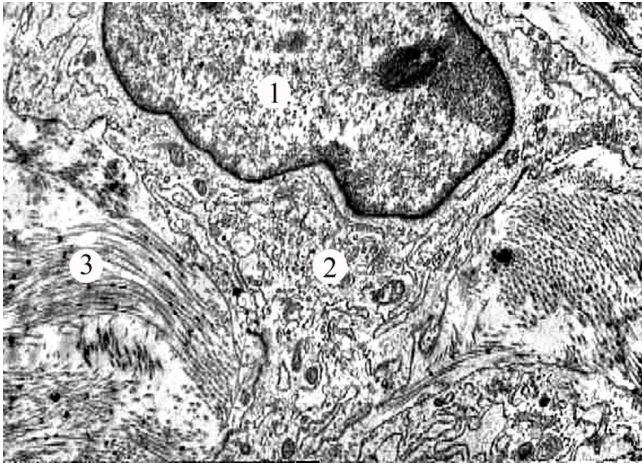


Рисунок 2.37. Субмікроскопічний стан сполучної тканини шкіри тварини при експериментальному дерматиті за умов застосування наночастинок, супероксиддисмутази, 1400W та бетаметазону дипропіонату. Округло-овальне ядро (1) і цитоплазма (2) фібробласта, колагенові волокна у міжклітинній речовині (3). ×12 000.

моцитів, їх диференціації, кератинізації та утворення рогових лусочок. Епідермоцити базального та остистого шарів включають округлі ядра з чітко контурованою каріолемою, у цитоплазмі багато мікрофіламентів та наявні малозмінені органели. Відсутні ознаки периваскулярного набряку. Нормалізується трофіка шкіри.

Використання полімерних наночастинок для трансдермальної доставки препаратів з антизапальними і антиоксидними властивостями, а також інгібіторів NO-синтази є перспективним напрямом для подальшого дослідження та впровадження у клінічну практику.

Терапією вибору КД є місцеве лікування уражених ділянок ГКС, завдяки наявності у них виражених протизапальних, протисвербїжних та інших властивостей [179]. Основні їх фармакодинамічні ефекти включають антизапальну, протишокову, антитоксичну, протиалергічну та імуносу-

пресивну дії. Механізм протизапальної дії універсальний за рахунок пригнічення генів резидентних та мігруючих клітин шкіри, які беруть участь у запаленні. Внаслідок цього зникає свербіж, зменшується набряк, гіперемія та ексудація [72, 213]. Відомо, що ТГКС мають вплив на структури і епідермісу, і дерми. Після проникнення всередину клітини, вони реагують з білковими рецепторами утворюючи комплекс «стероїд-рецептор», який потрапляє в ядерні структури клітини та зв'язується з ДНК. Потім відбувається транскрипція месенджерної РНК (mRNA), через яку ГКС можуть стимулювати або пригнічувати синтез специфічних білків. Також відомо, що стероїди стимулюють синтез ліпокортину, який пригнічує активність фосфоліпази А2, яка відповідає за метаболізм арахідонової кислоти та є попередником простаноїдів і лейкотрієнів [198].

Застосування препаратів корекції, інкапсульованих у хітозанові наночастинки (наноформи) має ряд переваг порівняно із застосуванням звичайної вільної форми цих лікарських засобів: спостерігається більш активна та якісна репарація пошкоджених структур шкіри з диференціацією шарів у новоутвореному епітеліальному пластівці, зменшуються ознаки запальної реакції у дермі, має місце більш інтенсивна стимуляція крайової епітелізації, є ознаки активних мітозів. В сосочковому шарі дерми багато фібробластів, які забезпечують регенерацію та формування пухкої сполучної тканини.

Нано-інкапсульовання активних лікарських засобів змінює їх фармакологічну активність та завдяки цьому значно посилює основні ефекти на організм. Отже, застосування нанотерапії впливає на фундаментальні біохімічні процеси, що лежать в основі механізмів розвитку запалення шкіри – продукцію прозапальних цитокінів, інтенсивність вільнорадикального окислення, активність продукції оксиду азоту. Ці дані повністю підтверджуються результатами мікроскопічного та ультрамікроскопічного дослідження.

**ОПТИМІЗАЦІЯ ПІСЛЯТРАВМАТИЧНОЇ
РЕПАРАТИВНОЇ РЕГЕНЕРАЦІЇ КІСТКОВОЇ
ТКАНИНИ ЗА ДОПОМОГОЮ ПОЛІМЕРНИХ
НАНОЧАСТИНОК З ІНКОРПОРОВАНИМ
ЛОВАСТАТИНОМ**

**3.1. Сучасні уявлення про механізми
остеорегенерації**

Відновлення цілісності кісткової тканини є генетично детермінованим процесом. Проте, незважаючи на це, у клінічній практиці часто зустрічається порушення репаративної остеорегенерації [53, 229–231].

Остеорегенерацію звично поділяють на фізіологічну та репаративну. Під фізіологічною регенерацією розуміють постійне відновлення клітин чи тканин при нормальному функціонуванні організму, тоді як репаративна – це відновлення кісткових структур після травми чи патологічного процесу. Виділяють повну та неповну репаративну регенерацію [160, 232–234]. Повна регенерація або реституція характеризується ідентичним заміщенням дефекту пошкодженої тканини. При неповній регенерації (субституції) спостерігається заміщення дефекту щільною сполучною тканиною. Регенерація кісткової тканини є складним каскадним фізіологічним процесом, в якому беруть участь ендокринна, імунна, нервова та інші системи організму [232, 235] і які забезпечують кістковій тканині здатність до повного відновлення навіть при великих дефектах [236–238].

Корж О. О. та співавт. [152] виділяють чотири стадії остеорегенерації:

1. Стадія катаболічних процесів, при якій порушуються окисно-відновлювані процеси, наростає гіпоксія, відбувається протеоліз тканин, деградація амінополігліканів та білків.
2. Стадія утворення та диференціювання тканинних структур. Під впливом анаболічної дії гормонів прогресує проліферація та диференціюються клітинні елементи, що продукують органічні речовини кісткового регенерату. На цій стадії спостерігається резорбція амінополігліканів та хондроїдної тканини, з'являється остеїдна тканина, колагенові волокна мінералізуються.
3. Стадія формування ангіогенної структури кісткової тканини характеризується відновленням судинного русла, що кровопостачає кістковий регенерат. У результаті складних біохімічних та біофізичних процесів відбувається формування первинних кісткових структур, які забезпечують осифікацію.
4. Стадія відновлення форми та функції кістки є завершальною в процесі остеогенезу і завершується фізіологічним гомеостазом тканин.

Гістологічно зрощення перелому можливе двома шляхами: первинним та вторинним. При первинному типі зрощення кортикальне ремоделювання відбувається за рахунок резорбції кістки остеокластами.

Вторинне зрощення перебігає у п'ять стадій [152, 229, 237]:

I стадія – запалення. Розвиваються такі деструктивні зміни, як некроз клітин та тканин, запальним процесом індукуються локальні та системні механізми, спрямовані на загоєння перелому. За даними Н. В. Дедух [229] у цій стадії формується нова грануляційна тканина внаслідок ангіогенезу судин та проліферації тканин, яка проростає у крайові відділи гематоми.

II стадія – диференціація клітин та утворення тканиноспецифічних структур. На цій стадії грануляційна тканина заповнює міжвідламковий простір.

III стадія – реорганізація тканинних структур та мінералізація. Хондроцити за рахунок ендохондрального остеогенезу заміщуються кістковою тканиною.

IV стадія – ремоделювання, коли спостерігається резорбція надмірного кісткового регенерату та активізується судинне русло [160, 239].

V стадія – завершення, під час якої сформована нова кісткова тканина не відрізняється від оточуючої неушкодженої, відновлюється її форма та функція.

Залежно від стадії остеорегенерації синтез різних типів колагену здійснюється остеобластами. Ряд учених вважають, що саме остеобластам належать функції синтезу білкового компоненту – попередників колагену, глікозаміногліканів та неколагенових білків міжклітинної речовини [9, 240, 241].

Динаміка та терміни утворення кісткової мозолі залежать від дії численних факторів, зокрема від рівня рН, порушення іонного гомеостазу, гормонального впливу, гіпоксії, осмотичного тиску і т. д. При відсутності механічного навантаження на пошкоджену кістку спостерігається її розсмоктування. Функціональне навантаження формує сприятливі необхідні умови для оптимальних репаративних процесів [164, 242]. При гіпокінетичному режимі спостерігається недостатність ангиогенезу, порушується періостальна реакція, що веде до сповільнення консолідації переломів. Враховуючи сучасні уявлення про післятравматичну репаративну регенерацію кісткової тканини, лікувальний вплив спрямовується не на зміну регенераторних механізмів, а на стимуляцію вже існуючих можливостей кісткової тканини [60, 243]. На репаративну остеорегенерацію здатні впливати ряд наступних системних факторів: вік хворого, особливості харчування, рівень фізичної активності, стан ендокринної системи, наявність супутньої

патології, приймання ліків, гіповітамінози А, С, D, К, реактивність організму, травматичне ураження ЦНС, шкідливі звички (вживання алкоголю, куріння) і т. д. [152, 244]. Порушення балансу кальцію у кістках та зміни метаболізму кісткової тканини можуть бути спровокованими чи поглибленими застосуванням певних лікарських середників, а, отже, лікування супутньої патології може опосередковано вплинути на репаративну остеорегенерацію [245, 246]. На ефективність лікування переломів мають певний вплив і локальні фактори затримки остеогенезу: приєднання інфекції, не досягнення анатомічної репозиції та абсолютної стабільності кісткових відламків, погіршення місцевого кровопостачання, периферичні нейропатії і т. д. [247, 248]. Особливого підходу до лікування потребують відкриті переломи. За даними Чаплинського В. В. та співавт. при відкритих переломах відсоток порушення консолідації сягає у 55,3 % випадків [157, 249, 250]. При наявності відкритих переломів у пацієнтів подовжуються терміни консолідації [251]. Три основних фактори, які визначають порушення репаративного остеогенезу, це нестабільна фіксація, мала площа контакту кісткових фрагментів, погіршення васкуляризації та некроз кісткових уламків [252, 253].

Отже, післятравматична регенерація кісткової тканини широко досліджується клініцистами, патофізіологами, гістологами, патоморфологами та вченими суміжних дисциплін. Проте у літературі досить часто спостерігаються суперечливі дані щодо джерел формування кісткових клітин та гістологічного походження кісткової мозолі. Тому актуальним є подальше вивчення особливості патогенезу остеорегенерації під впливом фармакологічної корекції як можливого стимулювання репаративних процесів при переломах кісток.

3.2. Шляхи оптимізації післятравматичної репаративної регенерації кісткової тканини

Часто при проведенні операційних втручань практикуючі лікарі застосовують кісткову пластику, оскільки є потреба в заміщенні кісткових дефектів. Враховуючи постійний пошук та випробування численних матеріалів для виконання таких завдань, можна зробити висновок, що дана проблема є актуальною і потребує подальшого наукового пошуку.

Найчастіше використовують алопластику чи заміщення дефекту автокісткою. Зрозуміло, оскільки такі біоматеріали володіють хорошими механічними, остеоіндуктивними та остеокондуктивними властивостями. Проте можливий розвиток як локальної, так і загальної імунної відповіді, що, безумовно, нівелює вищеперераховані переваги. Тому більш частіше такі транспланти ліофілізуються чи заморожуються. Їхнє використання ускладнюється при значних кісткових дефектах. Можливим також ризик інфікування органа-донора [167, 254].

При використанні синтетичних кісткових трансплантів значно важче досягнути подібних біологічних ефектів. Тому використання нанотехнологій може стати саме тим альтернативним шляхом, що дозволить використати існуючі переваги матеріалів для заміщення кісткових дефектів і мінімізує побічні явища [255].

При виборі матеріалу для кісткової пластики Н. А. Корж та співавт. [152, 232, 256] провідну роль надають остеокондуктивним властивостям. Хоча варто відмітити, що остеокондуктивність залежить від ряду факторів, а саме: біосумісність, фізико-хімічні характеристики, механічні властивості. До недавня вважали, що саме фосфорно-кальцієві керамічні матеріали найбільше підходять для кісткових пластик [257, 258]. Такі властивості забезпечуються хорошими тропними властивостями та хорошою біосумісністю.

Однак останніми дослідженнями [259, 260] показано, що застосування матеріалів на основі гідроксиапатиту кальцію дає вищу спорідненість до кісткової тканини. Важливими складовими репаративного остеогенезу є остеоінтеграція в місці пластики та саме місце імплантації.

Деякі дослідники [255, 261] вказують на важливість необхідного пропорційного вмісту фосфору та кальцію в імплантатах. На сьогодні раціональним є відношення кальцію до фосфору у 2,15 раза [262].

Використання композитів на основі гідроксиапатиту задовільняє біомеханічні потреби і високу пористість.

Враховуючи те, що сама кістка складається з кристалів апатиту, вченими проведено спроби створення нанорозмірних гідроксиапатитових матеріалів. Такі наноматеріали, на відміну від решти створених гідроксиапатитових композицій, мають кращі остеоінтеграційні властивості. Очевидно, це зумовлено появою нових властивостей порівняно із мікрокристалічними аналогами. Таке порівняння провели Webster та співавт. [263].

Отримані позитивні результати в сучасних дослідженнях щодо використання матеріалів у кістковій пластичі саме із залученням нанорозмірних композитів зорієнтували подальший вектор дослідження у цій галузі.

BMPs (bone morphogenetic proteins) – це багатофункціональні фактори росту, які відносять до суперсімейства β -трансформуючих факторів росту. Головним завданням для BMP є підтримка остеорегенерації в організмі. Впливаючи на рецептори клітинних мембран, BMP регулюють ріст, диференціацію остеобластів, хондроцитів, нервових та епітеліальних клітин [264, 265]. Дані фактори росту синтезуються в остеобластах, хондроцитах та їх попередниках. Спостерігається підвищена їх активність у ростових зонах проксимального метаепіфізу великогомілкової кістки [266].

Кістковий матрикс містить комбінацію декількох видів BMP та інших факторів росту, проте саме BMP є головним фактором, що впливає на остеоіндукцію [267]. Виділяють

два методи отримання BMP: шляхом біохімічної екстракції із демінералізованого кісткового матриксу і метод генної інженерії (rhBMP). Перший метод є дуже трудомістким та сьогодні практично не використовується. На експериментальній моделі під час тестування *in vivo* остеоіндуктивних властивостей rhBMP, отриманого методом генної інженерії, виявлено п'ятикратне збільшення вмісту остеокальцину, чотирикратне збільшення активності лужної фосфатази, двадцятикратне збільшення об'єму кальцифікату, трикратне збільшення об'єму остеїду на 90-ту добу імплантації [268]. При дослідженні остеогенезу на молекулярному та клітинному рівнях показано, що в даному процесі беруть участь ряд факторів росту (цитокінів), які можуть впливати один на одного та взаємодіяти із декількома типами клітин. При чому BMP є одним із найактивніших факторів росту, джерелом якого можуть бути мезенхімальні стовбурові клітини, остеопрогеніторні клітини, а також хондроцити та остеобласти [265]. Клітинами-мішенями для BMP є остеобласти, плюрипотентні мезенхімальні стовбурові клітини, фібробласти, міобласти та нервові клітини. Також доведено, що BMP стимулює продукцію клітин, які відповідають за диференціацію мезенхімальних стовбурових клітин у остеобласти та хондроцити [168]. Доведено, що при стимуляції остеогенезу з допомогою BMP спостерігається підвищення синтезу колагену, остеокальцину, позаклітинного матриксу, збільшується активність лужної фосфатази [269, 270]. Під впливом BMP остеогенез перебігає за наступними фазами: хемотаксис, поділ мезенхімальних остеопрогеніторних клітин, диференціація мезенхімальних стовбурових клітин у хондробласти та формування хрящової тканини, синтез позаклітинного матриксу, поступова заміна хрящової тканини на кісткову [271, 272]. Виявлено інгібуючий вплив білків *poggin* і *chordin* на BMP, які здатні зв'язувати даний протейн та суттєво знижувати його активність. У експерименті на мишах показано, що при високому вмісті *poggin* у кістках спостерігається значна остеопенія [238].

Регулюючи співвідношенням BMP та його антагоністів, можна керувати процесом остеорегенерації. У дослідженнях *in vitro* показано, що при пригніченні noggin і chordin також спостерігається пришвидшення репаративної остеорегенерації [168, 273]. Проте сучасні наукові дослідження спрямовані на доставку BMP на різних носіях з метою підвищенням osteoіндукції ортопедичних імплантів [274, 275].

Для ефективного застосування BMP важливим є вибір носія для нього, який би відповідав сучасним біомедичним вимогам. На сьогодні широко застосовуються біологічні носії: демінералізований кістковий матрикс [276], колагенові губки [277]. Як носії досліджуються також природні полімери. Використовували хітозан у комбінації із синтетичними полімерами, зокрема із полімером PLGA, а також гелі з мезенхімальними стовбуровими клітинами та rhBMP₂, хітозан-желатин с rhBMP-2 [270, 278]. У експериментах на тваринах дослідили можливість використання желатину як носія для BMP₂. Перевага даного носія полягає в тому, що він здатний фіксувати велику кількість BMP, проте швидка біодеградація гідрогелю желатину обмежує його використання [279]. Враховуючи те, що кісткова тканина складається з гідроксиапатиту більш на 70 %, вчені дослідили дану форму фосфату кальцію як носія BMP у вигляді порошку, гранул, блоків [280]. Описані дослідження комбінації гідроксиапатиту та BMP з колагеном, колагеновою губкою, трикальційфосфатом, що підвищували osteoіндукцію [281, 282].

У процесі дослідження знаходиться можливість застосування наночастинок як переносників BMP. У експерименті на щурах та кролях було продемонстровано підвищення osteoіндуктивності з використанням мікросферичних наночастинок синтетичного полімеру PLGA, які здатні фіксувати BMP [283]. Показано ефективність комбінації наночастинок дисперсного гідроксиапатиту з BMP та колагеном [233].

Є повідомлення про випадки застосування у клінічній практиці rhBMP_2 та rhBMP_7 у вигляді колагенових паст. Паста «Ossigraft», що містить rhBMP_7 при лікуванні переломів довгих трубчастих кісток сприяла зменшенню кількості повторних хірургічних втручань та досягненню зрощення переломів у більшому відсотку випадків [273, 284]. На поодиноких проведених клінічних дослідженнях із використанням пасти «Ossigraft» у поєднанні із авто- чи алокісткою було показано зменшення терміну консолідації уламків порівняно із застосуванням лише автотрансплантату [285]. Важливо також відмітити, що при цьому не спостерігалось алергічної реакції чи утворення кісткової тканини поза місцем імплантації [265].

Доведено ефективність та безпечність застосування пасти «Ossigraft» з rhBMP_7 для досягнення спондилодезу. Дослідження проводилось на 9 пацієнтах віком 21–24 роки, які мали ризик незрощення перелому [286, 287]. Вассаро та співавт. обстежили 36 пацієнтів, прооперованих з приводу дегенеративного спонділолізу із стенозом хребетного каналу. У групі хворих використали пасту «Ossigraft» з rhBMP_7 у поєднанні з автокісткою, взятою із гребеня клубової кістки. У контрольній групі застосовувався лише автотрансплантат. Спостереження за консолідацією через 12 місяців показало зрощення у групі хворих у 86 %, у контрольній – 73 %, а через 4 роки – 69 та 50% відповідно [288].

Капаята та співавт. показали ефективність застосування пасти «Ossigraft» з rhBMP_7 та керамічними гранулами у 19 пацієнтів із спондилодезом порівняно із використанням автотрансплантату клубової кістки [289].

Govender та співавт. [290] дослідили 450 пацієнтів із відкритим переломом великогомілкової кістки, повідомивши про застосування rhBMP_2 для лікування відкритих переломів трубчастих кісток. Всім хворим було проведено блокуючий інтрамедулярний остеосинтез. Основній групі rhBMP_2 застосовували у дозі 0,75 мг/мл та 1,5 мг/мл. Переносником у цьому випадку була колагенова губка ACS «Infuse». При

обстеженні пацієнтів через 1 рік після операційного втручання показано, що в основній групі консолідація перебігала у менші терміни порівняно із контрольною групою. При чому при застосуванні дози 1,5 мг/мл відмічався менший відсоток гнійних ускладнень, швидше загоєння післяопераційної рани. У контрольній групі зрощення наступало у 54 %, тоді як у основній – у 74 % [290]. Згідно з аналізом даних досліджень Європейського агентства з оцінки ліків у 2002 р. та Управління санітарного контролю за якістю харчових продуктів та медикаментів США у 2004 році дозволено клінічне застосування rhBMP₂/ ACS «Infuse» для лікування відкритих переломів великогомілкової кістки [291].

При застосуванні BMP описані поодинокі ускладнення: місцева гіперемія у місці введення остеоіндуктора, підвищена біодеградація алотрансплантанту [292, 293]. P. Roux та співаавт., 2002 р. [294] провели серологічне тестування пацієнтів, в лікуванні яких застосовували BMP на біологічних переносниках. Виявлено появу антитіл до рекомбінантного остеоіндуктора.

Використання BMP₂ не є ідеальним у лікуванні переломів кісток [295–297]. Насамперед через те, що даний рекомбінантний білок є досить дорогим у виробництві [293]. Також виникає багато проблем у пошуку необхідних переносників для BMP₂ [298]. Тому підходи з використанням фармакологічних стимуляторів синтезу ендогенного BMP₂ є актуальними.

Проблеми стимуляції остеогенезу в багатьох наукових публікаціях розглядаються також з погляду можливостей застосування статинів як стимуляторів остеорегенерації. У експериментальних дослідженнях було показано, що статини стимулюють синтез кісткового морфогенетичного білка – 2, збільшуючи диференціацію остеобластів та прискорюють остеорегенерацію [299, 300]. Взаємозв'язок між рівнем ліпідів та мінеральною щільністю кісткової тканини доведений [301–303]. Статини, які здатні знижувати рівень ліпідів у крові, сприяють запобіганню розвитку серцево-

судинних захворювань, за рахунок здатності інгібувати активність 3-гідрокси-3-глютарил-коензим-А-редуктази, що є позитивним, враховуючи вік пацієнтів, у яких найбільш часто виникають проблеми з кістковою репарацією.

У дослідженнях S. P. Luckman та співавт., 2011 р. [304] встановлено, що мевастатин посилює апоптоз остеокластів, аналогічно до дії амінобісфосфонатів. Аміновмісні бісфосфонати пригнічують дію ферментів, що беруть участь у біосинтезі фарнезилпірофосфату і фарнезилпірофосфату синтетази, преніл-протеїн трансферази. Проте, на відміну від амінобісфосфонатів, мевастатин не інгібує активність синтетази ізопреноїдів, а пригнічує ГМГ-КоА-редуктазу [282].

Whitfield вважає, що позитивний ефект стимуляції остеогенезу при застосуванні статинів пов'язаний з іншими факторами, а не з інгібуванням ГМГ-КоА-редуктази [305]. Отже, аналіз досліджень ролі статинів в процесах остеорегенерації засвідчує перспективність використання статинів як при переломах, так і при остеопорозі. Отримані дані щодо ефектів статинів спровокували ряд ретроспективних, проспективних та епідеміологічних досліджень у цьому напрямку. Ретроспективний аналіз ґрунтувався на вивченні частоти переломів у людей, які постійно приймали статини з приводу серцево-судинних захворювань, порівняно з тими, що не приймали дані препарати [270, 306]. Одним з таких ретроспективних досліджень є праці Meier I. та співавт. [307]. Десятирічне дослідження проведене на території Великої Британії на вибірці з 91 611 пацієнтів, з яких 13 271 приймали препарати, що знижують рівень ліпідів у крові, 13 271 пацієнт не лікувався з приводу гіперліпідемії та випадково відібраних 50 000 пацієнтів без діагнозу гіперліпідемії. У даній вибірці виявилось 3940 хворих з наявністю переломів. Контрольну групу склали 23 379 пацієнтів, відібраних за місцем проживання, статтю, віком та календарного року та терміну, виходячи з терміну включення у базу даних. При отриманні результатів автори дослідження провели

поправку із врахуванням індексу маси, куріння, частоту оглядів у лікарів, приймання стероїдних препаратів та естрогенів. Отримані результати свідчили про зменшення ризику переломів при прийманні статинів (відносний ризик переломів 0,55; інтервал 0,44–0,69, довірчий інтервал 95 %).

Подібне дослідження провели Wang R. та співавт., [308], ретроспективно проаналізувавши ризик переломів шийки стегнової кістки. Вивчено можливості профілактики переломів у старших людей. У основну групу входили пацієнти, що отримували статини понад 180 днів та понад 3 роки. Дослідивши дані 6110 пацієнтів із Нью-Джерсі, вчені прийшли до висновку, що приймання статинів асоціювалося зі значним зниженням ризику переломів (>180 днів приймання – ОР 0,50 та >3 років – ОР 0,57). Дані результати отримані із врахуванням раси, ІХС, онкологічних захворювань, цукрового діабету, приймання естрогенів, психотропних препаратів і т. д.

Ще одне подібне дослідження проведено в Бостоні [156]. Доведено значно менший ризик переломів у жінок після 60 років, які систематично приймали статини. Показано, що дана закономірність спостерігалась лише у пацієток, які приймали дану групу препаратів більше 13 місяців.

Вчені із Австралії при обстеженні пацієток додатково звертали свою увагу на мінеральну щільність кісток. У пацієнтів, які приймали статини, виявлено збільшення МЩК на 3 % ($p=0,08$) [235, 258].

У інших дослідженнях було показано, що приймання статинів у терапевтичних дозах у пацієнтів кардіологічного профілю не викликав зниження ризику переломів [175, 309–311]. Статини не знижували ризик переломів також і в результатах дослідження Womens Health Initiative Observational Study [274]: обстежено жінок віком 50–79 років, які приймали гіполіпідемічні препарати та проаналізовано частоту переломів шийки стегна, дистального метаепіфізу променевої кістки, перелом зап'ястя із вимірюванням мінеральної щільності кісткової тканини стегна [312].

Збільшувалась кількість остеобластів у культурі та ріст кісткової тканини на 4–14 дні спостереження в експерименті на культурі кісток черепа мишей внаслідок 24-годинної інкубації з аторвастатином, ловастатином, флуфастатином та церівастатином [313, 314]. Такий ефект був відсутній у дослідженні правастатину, так було доведено нездатність цього препарату проникати у кісткові клітини, а лише у гепатоцити [315]. Отримані у ретроспективному дослідженні дані L. Rejnmark та співавт. [169] підтвердили негативний вплив на метаболізм кісткової тканини, а саме можливість збільшувати ризик виникнення переломів.

Chan та співавт. [316] провели перше проспективне дослідження, вивчивши біохімічні маркери остеогенезу у 17 пацієнтів з гіперхолестеринемією без ознак остеопору, які лікувались протягом 4 тижнів симвастатином у терапевтичній дозі 20 мг. Після лікування зазначено достовірне збільшення рівня остеокальцину ($p < 0,05$) при незмінених показниках активності кісткової лужної фосфатази, дезоксипроліну, N-телопептидів колагену I типу.

У рандомізованому подвійному сліпому дослідженні 82 здорових жінок постменопаузального періоду L. Rejnmark та співавт. [169] дослідили ефект дії симвастатину на кісткову тканину. Жінки отримували симвастатин у дозі 40 мг/добу або плацебо протягом 1-го року. Всі жінки також приймали препарат кальцію протягом 1,5 року. Визначали мінеральну щільність кісток, маркери резорбції кісткової тканини, рівень паратгормону і холестерину до лікування, після отриманого лікування та через 26 тижнів після лікування. Отримані результати ставлять під сумнів дані про позитивний ефект симвастатину на кісткову тканину, оскільки рівень паратгормону, маркерів кісткової резорбції, щільності кісткової тканини в групах порівняння достовірно не відрізнялись [61].

Stein та співавт. [317] провели багатоцентрове, рандомізоване, відкрите дослідження гіполіпідемічної ефективності аторвастатину у дозі 20 та 40 мг і симвастатину у

дозі 40 та 80 мг у хворих на гіперхолестеринемію з паралельним визначенням рівня кісткової лужної фосфатази та С-телопептиду колагену I типу. Симвастатин у дозі 40–80 мг достовірно ($p < 0,05$) знижував рівень кісткової лужної фосфатази у чоловіків на 4,1–5,4 % та у жінок на 4,2–7,4 %. Рівень зниження лужної фосфатази був виразніший при використанні симвастатину у дозі 80 мг. Аторвастатин не впливав на рівень лужної фосфатази [318, 319]. Аторвастатин за результатами досліджень [320] у різних дозах також не призводив до достовірного зниження ризику розвитку остеопорозу у жінок в постменопаузальному періоді.

При лікуванні правастатином Mostaza та співавт., [321] виявили збільшення рівня амінотермального пептиду проколагену I типу. Отримані результати суперечать даним про те, що правастатин не здатний впливати на метаболізм кісткової тканини.

У дослідженнях групи Bjarnason вивчено метаболізм кісткової тканини при лікуванні флувастатином в поєднанні з вітаміном С. У результаті отримано дані про відсутність значного впливу даної комбінації ліків у терапевтичній дозі на біохімічні маркери остеогенезу [322].

Шляхом застосування статинів в основній частині проаналізованих досліджень був пероральний, що, на думку вчених, впливало на ефективність застосування статинів. У своїх дослідженнях Reid I. R., LaCroix A. Z. та співавт. [323], продемонстрували неефективність використання статинів при оральному прийманні цих препаратів. На їх думку, це пов'язано із тим, що статини проходять основний метаболізм у печінці і до кісткової тканини потрапляє незначна частина препаратів. Ймовірно, позитивний ефект гіполіпідемічних препаратів на кісткову тканину буде спостерігатись при значному збільшенні терапевтичної дози цих ліків або при їх введенні шляхом безперервної інфузії, що є неприйнятним для пацієнтів. Це закономірно наштовхує на думку про перспективу створення методів місцевого введення статинів в ділянку перелому з метою локальної

стимуляції BMP_2 . Актуальним у цьому плані являється застосування наночастинок хітозану з статинами, зокрема з ловастатином, для адресної доставки до місця кісткового дефекту. Garrett та співавт. [324] провели дослідження, у якому експериментальним щурам локально в місці перелому вводили ловастатин у вигляді наночастинок з біополімером DLPLA, що розкладається в організмі. Автори виявили, що при одноразовому введенні ловастатину у такому вигляді підвищується швидкість загоєння і поліпшуються біомеханічні властивості кістки у місці перелому, зменшується проміжок кіркового розриву.

Наночастинки ловастатину також стимулювали формування кістки *in vitro*. Автори пов'язують такий позитивний ефект наночастинок ловастатину з їх здатністю стимулювати експресію BMP_2 , який відіграє важливу роль в остеогенезі і регенерації кісток і хрящів [305].

Оптимістичними є результати вітчизняних науковців Борисевича В. Б. та співавт. [173, 178], які присвячені лікуванню переломів у собак із застосуванням наноаквахелатів металів. Результати цієї роботи відображають виразну тенденцію прискорення утворення сполучнотканинної фрактурної мозолі при пероральному застосуванні наноаквахелатів аргентуму, купруму, цинку, магнію і кобальту. Експериментально доведено, що при застосуванні наноаквахелатів металів спостерігається виражена стимуляція перебігу репаративного остеогенезу при різних способах лікування фрактур (гіпсова іммобілізація, інтрамедулярний та екстрамедулярний остеосинтез). Було досліджено окремі біохімічні маркери остеогенезу (вміст загального кальцію і неорганічного фосфору, активність лужної фосфатази), проведено морфологічний аналіз та рентгенконтроль перебігу фрактурної хвороби. Утворення сполучнотканинної фрактурної мозолі при пероральному застосуванні наноаквахелатів аргентуму, купруму, цинку, магнію і кобальту в досліді із застосуванням екстракортикального остеосинтезу прискорювалося на 37,9 %. Застосування наноаквахелатів

металів прискорювало виліковування фрактурної хвороби: а) за використання отвердіваючої пов'язки на 15,0 %; б) за інтрамедулярного остеосинтезу – на 13,6 %; в) за екстракортикального накладного остеосинтезу – на 28,3 %. Разом з тим, у наведеній роботі у складі суміші наноаквахелатів не було використано для стимуляції остеогенезу наночастинок кальцію, не було досліджено вплив наноаквахелатів металів на біохімічні маркери остеогенезу та остеорезорбції у тварин з переломами. Також не дано чіткого патогенетичного пояснення впливу наноаквахелатів на перебіг репаративного остеогенезу.

Враховуючи те, що сама кістка є прикладом наноконструкції, то наноматеріали відіграють ключову роль у ортопедичних дослідженнях. Із застосуванням нанотехнологій вдасться вирішити актуальні питання травматології й ортопедії: досягнення необхідних властивостей імплантів, стимуляція остеорегенерації, можливість кісткової тканинної інженерії.

Таким чином, проаналізувавши дані літератури стосовно можливості впливу статинів на метаболізм кісткової тканини, варто відмітити суперечливість отриманих результатів. На сьогодні не існує чіткої єдиної думки щодо впливу статинів на остеогенез, здатність їх до зниження ризику переломів чи профілактики остеопорозу. Суперечливі результати щодо ефекту статинів потребують подальших досліджень.

Залишаються невисвітленими такі завдання:

1. Пошук способів прискорення зрощення переломів та відновлення кісткового дефекту.
2. Розробка наночастинок, тропних до кісткової тканини, які б дозволили доставити медичні середники до зони перелому для корекції остеогенезу.
3. Оцінка гістологічної картини при корекції порушень остеорегенерації наноаквахелатами металів.
4. Патогенетичні механізми впливу статинів на метаболізм кісткової тканини.

5. Можливість використання статинів для лікування остеопорозу та профілактики виникнення переломів.
6. Комплексне вивчення впливу наночастинок хітозану з ловастатином на метаболізм кісткової тканини.
7. Оптимізація посттравматичної остеорегенерації наноматеріалами на всіх стадіях формування кісткової мозолі чи відновлення кісткового дефекту.

3.3. Вплив інкапсульованого в полімерні наночастинки ловастатину і наноаквахелатів на метаболізм кісткової тканини на тлі скелетної травми

Дизайн дослідження

Для дослідження ефективності застосування полімерних наночастинок у терапії післятравматичних пошкоджень кісток використано модель створення кісткового дефекту в щурів. Вибір методичного прийому обґрунтовано, перш за все, виходячи із високого рівня відтворюваності експериментальної моделі, а також відповідністю його вимогам Закону України № 3447-1 від 21.02.06 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження». Досліди проводили на білих статевозрілих щурах-самцях масою 200–220 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію ТНМУ. У процесі роботи використали 232 щурі. Усі тварини перебували в однакових умовах і досліджувалися в один і той же час (для збереження сезонності і часу доби) для виключення випадкових впливів.

Дизайн дослідження зображено на рисунку 3.1.

Піддослідних щурів поділили на 6 груп: I – інтактні щури (n=8); II – тварини з післятравматичним кістковим дефектом без корекції (контрольна група, n=32); III – щури

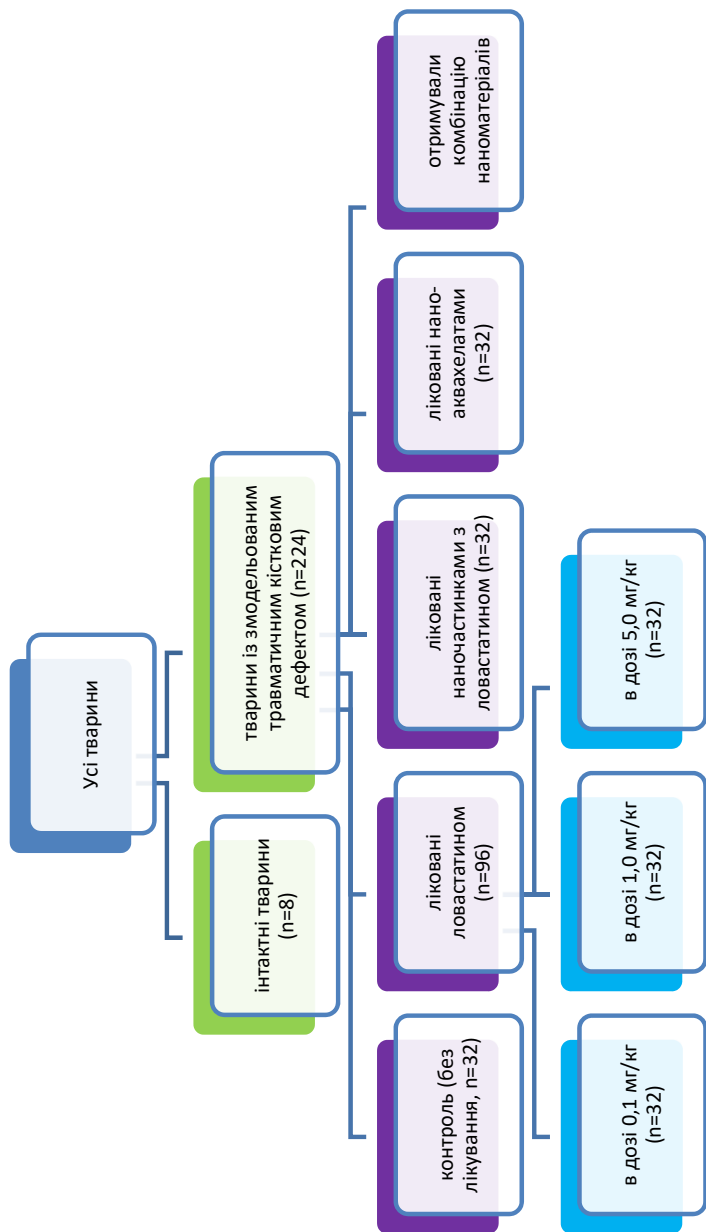


Рисунок 3.1. Дизайн дослідження.

з кістковим дефектом, що отримували ловастатин шляхом внутрішньом'язового введення 1 раз/добу протягом 28 днів (n=96): IIIa – у дозі 0,1 мг/кг (n=32); IIIб – у дозі 1,0 мг/кг (n=32); IIIв – у дозі 5,0 мг/кг (n=32); IV – тварини з кістковим дефектом, які отримували наноаквахелати Ca, Fe, Cu, Co, Zn, Mg (n=32). Наноаквахелати вводились перорально за допомогою зонду в дозі 1,0 мл одноразово щоденно протягом всього експерименту (1 мл суміші містив 0,02 мг кожного металу). V – щурі з кістковим дефектом, які отримували наночастинки хітозану з ловастатином в дозі 0,1 мг/кг (внутрішньом'язово в зону кісткового дефекту) 1 раз/добу протягом 28 днів (n=32). VI – тварини з кістковим дефектом, які отримували поєднання наноаквахелатів та наночастинок хітозану з ловастатином у вказаних дозах (n=32).

Тваринам контрольної та експериментальної серії було створено кістковий дефект (розміром 2,0 мм в діаметрі) у проксимальному відділі правої великогомілкової кістки за допомогою стоматологічного бору шляхом трансосальної перфорації [9].

Тварин декапітували під тіопенталовим наркозом на третю, сьому, чотирнадцяту та двадцять восьму доби після створення експериментального кісткового дефекту. Досліджували сироватку крові та великогомілкові кістки.

Біодоступність ловастатину шляхом перорального введення не перевищує 5 % [9]. Тому доцільним є введення ловастатину внутрішньом'язово у проекції кісткового дефекту. За даними О. В. Стефанова [325] ловастатин у доклінічних дослідженнях на щурах застосовується в дозі 20–50 мг/кг. Парентеральне введення ловастатину дозволяє зменшити дозу практично у 10 разів [103]. Нами вивчено мінімальну (0,1 мг/кг/добу), середньотерапевтичну (1,0 мг/кг/добу) і максимальну терапевтичну дозу (5,0 мг/кг/добу) для щурів шляхом внутрішньом'язового введення.

За рахунок використання ловастатину у вигляді наночастинок та тропності хітозану до кісткової системи очікується, що ловастатин, інкорпорований у хітозанові

наночастинки, збільшить біодоступність і концентрацію даного медикаменту у зоні кісткового дефекту. У такій формі препарат вивчався у мінімальній терапевтичній (0,1 мг/кг/добу).

Отримані наноаквахелати металів завдяки хелатуванню наночастинок молекулами води здатні легко проникнути через біологічні мембрани клітин і забезпечити цим достатню концентрацію ліків та збільшити їх біодоступність [177]. Пероральний спосіб введення є оптимальним у даному випадку. За рекомендаціями винахідників наноаквахелатів, дані ліки (хелатовані наночастинки Ca, Fe, Cu, Co, Zn, Mg) тваринам вводились перорально у вигляді розчину у дозі 1,0 мл (концентрація кожного металу 20 мг/л) за допомогою зонда один раз на добу в однаковий час протягом всього експерименту.

Комбінація наноматеріалів досягалась поєднанням одночасним введенням у вищевказаних дозах наноаквахелатів металів Ca, Fe, Cu, Co, Zn, Mg перорально та наночастинок хітозану з ловастатином внутрішньом'язово у зоні кісткового дефекту в однаковий час доби один раз на день протягом всього терміну експерименту.

Досліджували біохімічні показники сполучної тканини та кісткового метаболізму: активності кислої та лужної фосфатаз [326], індекс мінералізації за співвідношенням між активністю лужної та кислої фосфатаз (ЛФ/КФ) [327]; концентрацію сіалових кислот за методом Гесса [309, 328]; вмісту С-реактивного білка, оксипроліну [329], концентрації неорганічного фосфору, кальцію, глікозаміногліканів [328], колагенолітичної активності сироватки крові [330]. Проводили гістологічне дослідження та комп'ютерну томографію (КТ) великогомілкових кісток на 14-й та 28-й день з моменту створення кісткового дефекту на комп'ютерному томографі «Somaton Emotion 16 Slice (DE)» (санітарний паспорт № 20 на право експлуатації рентгенівським кабінетом ТМКЛШД, виданий Головним управлінням держсанепіденслужби у Тернопільській області).

Статистичну обробку отриманого цифрового матеріалу здійснювали за допомогою програмного забезпечення «STATISTICA» 10.0 («Statsoft», США) з використанням непараметричних методів оцінки. Розраховували середні арифметичні величини (M), похибки середніх арифметичних (m), а також середні квадратичні відхилення. Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали за допомогою U-критерію Манна-Уїтні. Порівнювали отримані біохімічні показники (у тварин з корекцією) із інтактними тваринами та контрольною групою. Для тварин, що отримували запропоновану комбінацію ліків, додатково порівнювали результати із аналогічними при окремому використанні наноматеріалів. За допомогою U-критерію Манна-Уїтні також визначали вірогідність отриманих рентгенологічних змін (розмір кісткового дефекту та значення рентгенологічної щільності). Зміни вважали достовірними при $p < 0,05$.

Результати

Отримані результати вмісту кальцію у сироватці крові відображені у таблиці 3.1. У групі інтактних тварин вміст кальцію становив $(2,23 \pm 0,13)$ ммоль/л. Створення травми супроводжувалося суттєвим підвищенням, порівняно з інтактними тваринами, вмісту кальцію на 3-тю добу в контрольній групі (на 56 %, $p < 0,05$) та у тварин, що отримували НЛВ (на 43,9 %, $p < 0,05$) і ловастатин у різних дозах (0,1 мг/кг – на 52,9 %, $p < 0,05$, 1,0 мг/кг – на 65,9 %, $p < 0,05$, 5,0 мг/кг – на 61,9 %, $p < 0,05$). І якщо дані зміни були вірогідними порівняно з інтактною групою, то статистичної різниці між контрольною та групою тварин, лікованих різними формами ловастатину, не було.

На 7-му добу експерименту рівень кальцію у контрольній групі залишався досить високим (більш ніж на 40,8 %, $p < 0,05$) порівняно із інтактними тваринами. Приймання ЛВ протягом семи днів у різних дозах також викликало вірогідне зростання сироваткового кальцію відносно інтак-

Таблиця 3.1. Показники кальцію (ммоль/л) у крові щурів із кістковим дефектом при корекції наночастинками хітозану з ловастатином (M±m)

Група тварин	Термін дослідження			
	3-тя доба	7-ма доба	14-та доба	28-ма доба
Інтактні (n=8)	2,23±0,13			
Контроль (n=32)	3,48±0,17°	3,14±0,2°	2,47±0,11	2,81±0,11°
Ловастатин 0,1 мг/кг(n=32)	3,41±0,19°	3,20±0,18°	2,63±0,08°	2,56±0,12
Ловастатин 1,0 мг/кг(n=32)	3,70±0,21°	3,10±0,21°	2,56±0,11	2,88±0,15°
Ловастатин 5,0 мг/кг(n=32)	3,61±0,17°	3,33±0,22°	2,47±0,12	2,59±0,1°■
Наночастинки хітозану з лова- статином (n=32)	3,21±0,14°	2,69±0,14° ^{••}	2,51±0,12	2,4±0,16
Примітка. Тут і в таблицях даного розділу зміни вірогідні (p<0,05) відносно показників: ° –інтактних щурів; * – тварин контрольної групи.; □ – тварин, що отримували ловастатин у дозі 0,1 мг/кг; ■ – тварин, що отримували ловастатин у дозі 1,0 мг/кг; ^{••} – тварин, що отримували ловастатин у дозі 5,0 мг/кг.				

тних щурів (0,1 мг/кг – на 43,5 %, p<0,05, 1,0 мг/кг – на 39 %, p<0,05, 5,0 мг/кг – на 49,3 %, p<0,05). Тоді як у тварин, що отримували наночастинки хітозану з ловастатином (НЛВ) вміст даного макроелемента був лише на 20,6 % вище від відповідного показника інтактних щурів, хоча це також виявилось статистично вірогідно (p<0,05) щодо інтактних щурів.

На 14-ту добу відмічали нормалізацію показників кальцію у всіх групах. Ілише у щурів, лікованих дозою ЛВ0,1 мг/кг, вміст кальцію залишався вірогідно вищим порівняно із інтактними тваринами. При статистичному аналізі показни-

ків між групами різних дозувань ловастатину та НЛВ між собою та до контролю вірогідних змін не встановлено.

Враховуючи те, що рівень кальцію та фосфору є взаємопов'язаним, то логічно, що ми отримали подібну динаміку змін для фосфору (табл. 3.2) при змодельованій травмі на тлі корекції препаратами ловастатину.

Очевидно, отримані нами результати біохімічних досліджень метаболізму сполучної тканини наприкінці експерименту засвідчують, що взаємозалежний обмін макроелементів кальцію та фосфору нормалізувався у експериментальних тварин із кістковим дефектом контрольної групи та щурів із лікуванням.

Як видно з таблиці 3.3, активність лужної фосфатази значно зросла на 3-тю добу в контрольній групі (на 46,3 %, $p < 0,05$) і у тварин, що отримували НЛВ (на 43,6 %, $p < 0,05$). Достовірним

Таблиця 3.2. Показники фосфору (ммоль/л) у сироватці крові щурів із скелетною травмою, лікованих різними формами ловастатину ($M \pm m$)

Група тварин	Термін дослідження			
	3-тя доба	7-ма доба	14-та доба	28-ма доба
Інтактні (n=8)	1,81±0,1			
Контроль (n=32)	2,62±0,12°	2,31±0,1°	1,89±0,12	2,04±0,14
Ловастатин 0,1 мг/кг (n=32)	2,47±0,12°	2,21±0,12°	2,11±0,12	2,01±0,14
Ловастатин 1,0 мг/кг (n=32)	2,71±0,15°	2,38±0,2°	2,19±0,1*	2,19±0,14
Ловастатин 5,0 мг/кг (n=32)	2,73±0,13°	2,39±0,14°	2,00±0,11	2,20±0,17
Наночастинки хітозану з ловастатином (n=32)	2,64±0,11°	1,91±0,12*°	2,01±0,15	1,77±0,11

Таблиця 3.3. Динаміка активності лужної фосфатази (мккат/л) у сироватці дослідних тварин при корекції наночастинками хітозану з ловастатином ($M \pm m$)

Група тварин	Термін дослідження			
	3-тя доба	7-ма доба	14-та доба	28-ма доба
Інтактні (n=8)	421,3±20,4			
Контроль (n=32)	616,6±26,9°	567,5±22°	471,5±16,5	435,7±19,4
Ловастатин 0,1 мг/кг (n=32)	612,3±28,5	560,6±29,1°	463,9± 24,3	441,9±17,6
Ловастатин 1,0 мг/кг (n=32)	635,9±21,4	564,7±23°	470,9±20,8	436,7±27,1
Ловастатин 5,0 мг/кг (n=32)	594,7±27,2°	495,3±26,2°	552,8± 23,1°	509,3±24,6
Наночастинки хітозану з ловас- татином (n=32)	605,2±13,1°	585,5± 18,8° ^{..}	597,5± 20,9°*□	534,7± 23,4°*□

також було зростання відносно інтактних тварин ЛФ у щурів, лікованих звичайною формою ЛВ (0,1 мг/кг – на 45,3 %, $p < 0,05$, 1,0 мг/кг – на 50,9 %, $p < 0,05$, 5,0 мг/кг – на 41,2 %, $p < 0,05$). Проте варто відмітити, що статистичної різниці після 3-х діб з моменту травми між лікованими тваринами не було.

На 7-му добу відмітили зниження активності ЛФ у дослідних тварин, хоча у всіх лікованих тварин і у контрольній групі даний біохімічний маркер залишався достовірно вищим порівняно із інтактними. Найнижчий рівень активності ЛФ фіксували у щурів, лікованих ЛВ у дозі 5,0 мг/кг, що було на 15,4 % менше відносно відповідного показника у групі, що отримували наночастинки ловастатину ($p < 0,05$).

При вивченні показників активності ЛФ на 14-ту добу встановлено зростання відносно рівня інтактних тварин,

даного ферменту у контрольній групі і у тварин, лікованих ЛВ дозою 0,1 та 1,0 мг/кг, що не було статистично вірогідно. А ось корекція препаратом ЛВ у дозі 5,0 мг/кг та НЛВ супроводжувалась достовірним зростанням ЛФ порівняно із інтактними тваринами (для ЛВ у дозі 5,0 мг/кг на 34,2 %, $p < 0,05$, для НЛВ на 46,3 %, $p < 0,05$). Проте використання НЛВ викликало достовірне зростання активності ЛФ стосовно контролю (на 41,8 %, $p < 0,05$), відносно щурів, лікованих ЛВ у дозі 0,1 мг/кг (на 28,8 %, $p < 0,05$) та ЛВ у дозі 1,0 мг/кг (на 26,9 %, $p < 0,05$).

Подібна динаміка спостерігалась і на 28-му добу з моменту травми. Найвищий показник активності ЛФ був у групі тварин, яким вводили НЛВ. І лише застосування ловастатину у вигляді наночастинок викликало достовірне зростання ЛФ відносно інтактних (на 26,9 %, $p < 0,05$) та контрольних тварин (на 22,7 %, $p < 0,05$). Тоді як у решти лікованих щурів показник ЛФ достовірно не змінився стосовно інтактної групи та тварин без медикаментозного лікування.

Очевидно, що динаміка змін ЛФ у дослідних групах на 14-ту та 28-му доби може свідчити про більш інтенсивні процеси остерорегенерації на даному етапі дослідження саме у тварин, що отримували ловастатин у вигляді наночастинок.

Активність лужної фосфатази відображає активність остеобластів та інтенсивність остерорегенерації, то було вирішено дослідити також активність іншого ферменту – кислої фосфатази як ідентифікатора остеодеструктивних явищ у кістковій тканині. Отримані дані активності КФ відображені в таблиці 3.4.

Якщо врахувати, що на першій стадії переважають деструктивні явища, то цілком логічним є отримані нами дані активності КФ на 3-тю та 7-му добу. Активність даного ферменту достовірно значно зросла у всіх травмованих тварин стосовно інтактних щурів. Варто зазначити, що використання НЛВ та ловастатину у різних дозах на цих термінах дослідження не асоціювалось достовірними змінами активності КФ щодо контролю та не різнилися між собою.

Таблиця 3.4. Динаміка активності кислій фосфатази (МО/л) у сироватці крові тварин із скелетною травмою при застосуванні наночастинок хітозану з ловастатином ($M \pm m$)

Група тварин	Термін дослідження			
	3-тя доба	7-ма доба	14-та доба	28-ма доба
Інтактні (n=8)	64,9±4,4			
Контроль (n=32)	113,2±7,2°	100,3±6,5°	80,1±4,9°	69,6±5,6
ЛВ 0,1 мг/кг (n=32)	111,6±3,7°	102,2±6,2°	81,3±6,2°	66,1±5
ЛВ 1,0 мг/кг (n=32)	116,5±7,1°	97,2±8,4°	78,6±4,9°	68,2±5,1
ЛВ 5,0 мг/кг (n=32)	108,7±7,3°	87,3±6,5°	67,8±5,5*	67,3±4,2
Наночастинки хітозану з ловастатином (n=32)	114,7±3,7°	88,6±4,3°	64,2±2,5□*	63,1±3,4

Вже на 14-ту добу спостерігали згасання активності КФ у травмованих тварин, що свідчить про виражене зменшення резорбтивних явищ кісткової тканини. Тоді як у тварин контрольної групи та лікованих ЛВ дозою 0,1 і 1,0 мг/кг дані величини ще зберігалися достовірно вищими стосовно інтактних, то використання ЛВ у дозі 5,0 мг/кг та НЛВ привело до нормалізації даного показника. Найнижчим виявився рівень КФ у щурів, лікованих НЛВ. Даний маркер був також вірогідно нижчим від контролю (на 19,9 %, $p < 0,05$) та тварин лікованих ЛВ у дозі 0,1 (на 21,1 %, $p < 0,05$) та 1,0 мг/кг (на 18,4 %, $p < 0,05$).

Аналізуючи показники активності КФ на останньому терміні дослідження (28-ма доба), слід зазначити, що вони статистично не відрізнялися від показника в інтактних тварин, що фактично демонструє відсутність остеодеструкції.

На основі отриманих даних активності ЛФ та КФ визначено показники індексу мінералізації ($IM = ЛФ/КФ$), що наведено у таблиці 3.5.

Таблиця 3.5. Показники індексу мінералізації (од.) у щурів із кістковим дефектом при застосуванні наночастинок хітозану з ловастатином (M±m)

Група тварин	Термін дослідження			
	3-тя доба	7-ма доба	14-та доба	28-ма доба
Інтактні (n=8)	6,63±0,37			
Контроль (n=32)	5,66±0,52	5,87±0,5	6,02±0,39	6,5±0,54
Ловастатин 0,1 мг/кг(n=32)	5,55±0,37	5,60±0,38	5,8±0,27	6,89±0,48
Ловастатин 1,0 мг/кг(n=32)	5,52±0,17°	6,11±0,55	6,11±0,38	6,47±0,3
Ловастатин 5,0 мг/кг(n=32)	5,67±0,49	5,95±0,6	8,59±0,83°	7,66±0,36°
Наночастинки хітозану з лова- статином (n=32)	5,31±0,17°	6,73±0,41	9,38±0,37°*■	8,7±0,69°**

Розглядаючи результати ІМ на 3-тю добу з моменту створення кісткового травматичного дефекту, спостерігали зниження даного маркера сполучної тканини у всіх травмованих тварин. Проте лише застосування ловастатину внутрішньом'язово у терапевтичній дозі та наночастинок ловастатину викликало достовірно нижче значення індексу мінералізації (ІМ) стосовно інтактних на третю добу.

Вже на 7-му добу показники ІМ у тварин із травмою мали менше діагностичне значення, статистичної різниці відносно інтактних щурів не було. Статистичної різниці між результатами на даному проміжку експерименту між групами не виявили. Отримані результати свідчать, про переважання катаболічних реакцій у експериментальних щурів на 3-тю добу та стабілізацію відношення остеодеструкції до остеорегенерації.

Як видно з таблиці 3.5, значення ІМ вірогідно не різнилося порівняно із інтактними у групі контролю та тварин, які отримували ЛВ в дозі 0,1 та 1,0 мг/кг. Лікування ловастатином у дозі 5,0 мг/кг протягом 14-ти днів викликало достовірне підвищення ІМ відносно інтактних тварин. Використання наночастинок хітозану з ловастатином протягом 2-х тижнів спровокувало найвищий показник ІМ, що було вірогідно більшим відносно інтактних, контрольних тварин, щурів, лікованих ЛВ у дозі 0,1 та 1,0 мг/кг.

Подібна динаміка ІМ відмітилася і на 28-му добу. Найвищий показник зафіксували у тварин, лікованих НЛВ. Даний маркер був достовірно вищим відносно інтактних, контролю та тварин, лікованих ЛВ у терапевтичній дозі (1,0 мг/кг).

Для характеристики метаболізму кісткової тканини нами було вивчено динаміку показників оксипроліну при посттравматичній остеорегенерації у тварин із змодельованою травмою. Рівень оксипроліну у інтактних тварин склав ($55,3 \pm 3,92$) мг/л. Вже на 3-тю добу відмітили різке зростання даного біохімічного маркера стосовно інтактних тварин: у контрольній групі на 90,2 % ($p < 0,05$), у щурів, яким вводили ловастатин у звичайній формі (0,1 мг/кг – на 119,2 %, $p < 0,05$, 1,0 мг/кг – на 109,2 %, $p < 0,05$, 5,0 мг/кг – на 77,8 %, $p < 0,05$) та у лікованих НЛВ на 113,4 % ($p < 0,05$). Дані результати можна пояснити розвитком запальної реакції у відповідь на травму. Тому на 7-му добу відбулося зниження вмісту оксипроліну в сироватці крові у дослідних тварин, проте дані показники все ще залишались достовірно вищими відносно рівня інтактних тварин у контрольній групі на 53,9 %, $p < 0,05$, у тварин, лікованих НЛВ – на 33,8 %, $p < 0,05$, та у тварин, що отримували ЛВ у різних дозах (0,1 мг/кг – на 70,2 %, $p < 0,05$, 1,0 мг/кг – на 57,7 %, $p < 0,05$, 5,0 мг/кг – на 40,5 %, $p < 0,05$).

Виходячи з того, що реакції запального характеру на завершальних стадіях остеорегенерації (14-ту та 28-му доби) повинні були практично повністю нівельовані, то закономірним є те, що рівень оксипроліну у всіх тварин із травмою значно знизився (табл. 3.6).

Таблиця 3.6. Динаміка вмісту оксипроліну (мг/л) у сироватці крові тварин із кістковим травматичним дефектом на фоні корекції наночастинками хітозану з ловастатином (M±m)

Група тварин	Термін дослідження			
	3-тя доба	7-ма доба	14-та доба	28-ма доба
Інтактні (n=8)	55,3±3,92			
Контроль (n=32)	105,19±5,09°	85,13±6,05°	68,4±5,69	59,2±4,49
ЛВ 0,1 мг/кг (n=32)	121,19±8,38°	94,09±4,73°	73,09±7,14°	65,49±4,79
ЛВ 1,0 мг/кг (n=32)	115,69±7,18°	87,19±7,45°	62,7±5,36	50,60±2,63
ЛВ 5,0 мг/кг (n=32)	98,29±6,44°	77,7±4,4°	67,2±2,76	48,29±2,87
Наночастинки хітозану з ловастатином (n=32)	118±3,78° ^{••}	73,99±3,4° [□]	62±3,02	60,99±2,08 ^{••■}

У тварин, що отримували ЛВ у дозі 0,1 мг/кг, відмітили ще достовірно підвищення вмісту оксипроліну на 14-ту добу відносно інтактних тварин, тоді як решта дослідних щурів статистично не різнилися стосовно інтактних та між собою. На 28-му добу показники оксипроліну в травмованих тварин нормалізувалися відносно інтактних тварин. Проте варто зазначити, що застосування НЛВ викликало зростання оксипроліну (ОКС) відносно тварин, що отримували ЛВ в дозі 1,0 (на 20,5 %, $p < 0,05$) і 5,0 мг/кг (на 26,3 %, $p < 0,05$).

Створення травматичного кісткового дефекту в проксимальному відділі великогомілкової кістки у щурів відобразилося і на показниках колагенолітичної активності плазми (КАП) крові (табл. 3.7).

Таблиця 3.7. Динаміка колагенолітичної активності плазми крові (ммоль/л·год) у дослідних щурів із змодельованою травмою при корекції наночастинками хітозану з ловастатином (M±m)

Група тварин	Термін дослідження			
	3-тя доба	7-ма доба	14-та доба	28-ма доба
Інтактні (n=8)	7,76±0,33			
Контроль (n=32)	12,27±0,5°	10,38±0,65°	8,2±0,55	7,9±0,45
ЛВ 0,1 мг/кг (n=32)	11,83±0,66°	10,95±0,62°	7,83±0,58	8,45±0,37
ЛВ 1,0 мг/кг (n=32)	13,14±0,79°	9,86±0,66°	7,99±0,46	7,62±0,35
ЛВ 5,0 мг/кг (n=32)	10,68±0,72°*	12,12±0,84°	8,48±0,56	8,31±0,55
Наночастинки хітозану з ловастатином (n=32)	10,24±0,76°**	8,7±0,55°**	8,1±0,6	8,1±0,39

Так, на 3-тю добу в тварин контрольної групи рівень КАП зріс на 58,1 % ($p < 0,05$) порівняно із інтактними. Таке ж підвищення спостерігалось і при використанні ловастатину у різних дозуваннях (0,1 мг/кг – на 52,4 %, $p < 0,05$, 1,0 мг/кг – на 69,3 %, $p < 0,05$, 5,0 мг/кг – на 37,6 %, $p < 0,05$).

Застосування НЛВ сприяло меншому підвищенню даного показника: лише на 32 % ($p < 0,05$), що було достовірно більшим відносно інтактних тварин, проте дане значення показника КАП також було достовірно нижчим відносно контролю (на 16,5 %, $p < 0,05$) та групи тварин, що отримували ЛВ у дозі 1,0 мг/кг (на 13,4 %, $p < 0,05$).

Введення НЛВ протягом 7-ми днів сприяло нормалізації показника КАП, який достовірно не різнився від показника інтактних тварин та був достовірно нижчим стосовно конт-

рольної групи (на 16,2 %, $p < 0,05$) та тварин лікованих ЛВ в дозі 0,1 (на 20,5 %, $p < 0,05$) та 5,0 мг/кг (на 28,2 %, $p < 0,05$). Тоді як у тварин контрольної групи даний біохімічний маркер залишався достовірно високим (більший на 33,8 %, $p < 0,05$) порівняно із інтактними тваринами. Використання ЛВ у звичайній формі також відзначилося вірогідно вищими показниками КАП відносно інтактних тварин на 7-му добу.

На наступному етапі дослідження (14-а та 28-а доба) значення КАП крові у всіх експериментальних групах суттєво не різнилося, відповідно статистичної достовірної змін між ними не було.

Для оцінки метаболізму кісткової тканини при використанні наночастинок хітозану з ловастатином на фоні кісткового дефекту ми вивчили динаміку вмісту сіалових кислот (СК) у плазмі крові. Отримані дані відображені у таблиці 3.8.

Таблиця 3.8. Вміст сіалових кислот у плазмі крові у дослідних тварин із кістковим дефектом при застосуванні наночастинок хітозану з ловастатином ($M \pm m$)

Група тварин	Термін дослідження			
	3-тя доба	7-ма доба	14-та доба	28-ма доба
Інтактні (n=8)	191,2±6,24			
Контроль (n=32)	280,4±18,54°	263,9±5,04°	209,9±2,96	201,9±5,03
ЛВ 0,1 мг/кг (n=32)	302,7±12,83°	277,8±12,54°	230,4±11,62°	202,2±18,69
ЛВ 1,0 мг/кг (n=32)	260,4±12,03°	253,6±13,24°	200,6±9,00	220,9±11,73
ЛВ 5,0 мг/кг (n=32)	251,4±11,76°	211,8±9,64*	182,7±10,93*	179,5±13,38
НЛВ (n=32)	264,7±12,45°	199,19±9,59***	204,2±8,73	212,6±18,21

Рівень СК достовірно зріс на 3-тю добу у контрольній групі (на 46,6 % відносно інтактних, $p < 0,05$) та у тварин лікованих ловастатином у дозі 0,1 мг/кг – на 58,3 %, $p < 0,05$, 1,0 мг/кг – на 36,2 %, $p < 0,05$, 5,0 мг/кг – на 31,5 %, $p < 0,05$). Також спостерігали достовірне зростання даного показника і в групі тварин, що отримували НЛВ (на 38,4 % більше, $p < 0,05$). Хоча вміст СК на 3-тю добу у групі лікованих тварин був меншим, ніж у контрольній групі, достовірної різниці це не мало.

Показовими виявилися показники СК на 7-му добу, де відмітилося достовірне зростання лише у групі контрольних тварин (на 38 % більше від інтактних, $p < 0,05$) та у щурів, що були ліковані ЛВ дозою 0,1 (на 45,3 % більше від інтактних, $p < 0,05$) та 1,0 мг/кг (на 32,6 % більше від інтактних, $p < 0,05$).

Застосування ловастатину у дозі значно вищій від терапевтичної (5,0 мг/кг) позначилося вірогідним зниженням вмісту СК на 7-му добу відносно контролю. Така ж тенденція була у щурів, лікованих НЛВ. Відповідний показник у групі тварин, що отримували НЛВ, був найвищим на даному терміні дослідження і зріс лише на 4,2 % ($p > 0,05$), що статистично не відрізнялось від інтактних тварин, але виявився достовірно нижчим від контролю (на 24,5 %, $p < 0,05$) та тварин, лікованих ЛВ дозою 0,1 мг/кг (на 28,3 %, $p < 0,05$) та 1,0 мг/кг (на 21,4 %, $p < 0,05$).

Очевидно, такі зміни після 7-ми діб з моменту травми можуть бути викликані нормалізацією каскаду запальних реакцій саме у тварин лікованих ЛВ дозою 5,0 мг/кг та НЛВ і збереженням залишкових явищ у решти травмованих тварин.

На 14-ту добу після створення кісткового дефекту відмітили тенденцію до зниження вмісту СК у сироватці крові дослідних тварин. Хоча у тварин, лікованих ЛВ дозою 0,1 мг/кг, даний показник ще залишався вищим порівняно з інтактними (на 20,5 %, $p < 0,05$), а тварини, ліковані дозою 5,0 мг/кг, сприяли достовірно нижчому показнику СК відносно контролю (на 13 %, $p < 0,05$). На 28-му добу експери-

менту значення вмісту сіалових кислот у контрольній групі та у лікованих тварин достовірно не змінилися порівняно із інтактними і не різнилися між собою.

Для характеристики реакції кісткової тканини на травму в нашому експерименті ми дослідили динаміку С-реактивного білка (СРБ) (табл. 3.9).

Загальновідомо, що при травматичних пошкодженнях значно зростає рівень СРБ у плазмі крові як відповідь на гострий запальний процес [56]. У нашому досліді рівень СРБ максимально зріс на 3-тю добу експерименту. Даний маркер був достовірно вищим у всіх травмованих тварин порівняно із інтактними після трьох днів від травми. Так, у контрольній групі тварин рівень СРБ зріс на 110,8 % відносно інтактних щурів, подібно і у тварин, які отримували ЛВ в різних дозах (0,1 мг/кг – на 102,5 %, $p < 0,05$, 1,0 мг/кг – на 116,6 %, $p < 0,05$, 5,0 мг/кг – на 86,2 %, $p < 0,05$) та у лікованих НЛВ (на 108,3 %, $p < 0,05$).

Таблиця 3.9. Динаміка показників С-реактивного білка (мг/л) у дослідних щурів із змодельованою травмою при корекції наночастинками хітозану з ловастатином ($M \pm m$)

Група тварин	Термін дослідження			
	3-тя доба	7-ма доба	14-та доба	28-ма доба
Інтактні (n=8)	4,35±0,27			
Контроль (n=32)	9,17±0,38°	6,76±0,41°	4,2±0,23	4,56±0,22
ЛВ 0,1 мг/кг (n=32)	8,81±0,33°	6,14±0,37°	4,5±0,21	4,64±0,2
ЛВ 1,0 мг/кг (n=32)	9,42±1,24°	6,81±0,36°	4,43±0,22	4,18±0,21
ЛВ 5,0 мг/кг (n=32)	8,1±0,46°	7,14±0,48°	3,96±0,18	4,06±0,17
Наночастинки хітозану з ловастатином (n=32)	9,06±0,55°	5,32±0,34°***	4,18±0,24	4,15±0,15

На 3-тю добу експерименту різниця між групами травмованих тварин була мінімальною, і результати статистично не різнилися, але вже на 7-му добу показник СРБ суттєво виявився меншим у групі тварин, які отримували НЛВ. Так, у контролі рівень СРБ зріс на 55,4 % стосовно інтактних щурів (статистично достовірно, $p < 0,05$) у тварин, що отримували ЛВ також рівень СРБ був вірогідно вищим порівняно із інтактними (0,1 мг/кг – на 41,1 %, $p < 0,05$, 1,0 мг/кг – на 56,6%, $p < 0,05$, 5,0 мг/кг – на 64,1 %, $p < 0,05$). Після семиденного приймання НЛВ показник СРБ був найменшим, але все ж ще залишався достовірно вищим стосовно інтактних щурів (на 22,3 %, $p < 0,05$), був вірогідно меншим від контрольної групи (на 21,3 %, $p < 0,05$) та тварин, що отримували ЛВ в дозі 1,0 мг/кг (на 21,9 %, $p < 0,05$) і 5,0 мг/кг (на 25,5 %, $p < 0,05$).

Уже на 14-ту добу рівень СРБ у травмованих тварин був близьким до показника інтактних тварин, і дані відмінності не були статистично достовірними. На останньому етапі дослідження (28-ма доба) показники СРБ також не були інформативними, жодних статистичних відмінностей між групами не виявилось.

Загальновідомо, що після операційних втручань та після всіх травматичних пошкоджень опорно-рухового апарату спостерігається збільшення вмісту глікозаміногліканів (ГЗГ) в місці створеної гематоми [326]. Встановлено чіткий кореляційний зв'язок між вмістом глікозаміногліканів у суглобовій рідині, у сформованій гематомі та у плазмі крові [327]. Тому дослідження динаміки вмісту глікозаміногліканів у сироватці крові може бути раннім діагностичним критерієм деструктивних змін сполучної тканини. Отримані результати ГЗГ висвітлені у таблиці 3.10.

Цілком закономірно, що спровокована травма відзначилася достовірним зростанням рівня ГЗГ у оперованих тварин, порівняно із інтактними щурами. Зокрема, у контрольній групі цей показник зріс на 130,9 % ($p < 0,05$). Вірогідне зростання відмітили і у тварин, що отримували ЛВ (0,1 мг/кг – на 116,6 %, $p < 0,05$, 1,0 мг/кг – на 89,1 %, $p < 0,05$,

Таблиця 3.10. Вміст глікозаміногліканів сироватки крові (мкмоль/л) у щурів з травматичним кістковим дефектом при використанні наночастинок хітозану з ловастатином (M±m)

Група тварин	Термін дослідження			
	3-тя доба	7-ма доба	14-та доба	28-ма доба
Інтактні (n=8)	57,05±2,96			
Контроль (n=32)	131,7±6,07°	82,02±5,58°	63,2±3,84	68,09±4,6
ЛВ 0,1 мг/кг (n=32)	123,55±8,05°	86,2±4,60°	59,19±3,18	61,5±3,54
ЛВ 1,0 мг/кг (n=32)	107,9±5,89°*	90,02±5,88°	62,29±3,54	64,79±4,24
ЛВ 5,0 мг/кг (n=32)	128,99±7,16°	71,3±3,89°	65,6±4,16	55,8±3,54
Наночастинки хітозану з ловастатином (n=32)	104,99±5,91°**	77,92±4,53°	57,99±3,89	58,99±2,48

5,0 мг/кг – на 116,1 %, $p < 0,05$). ЛВ у терапевтичній дозі (1,0 мг/кг) спровокував вірогідно нижчий рівень ГЗГ на 3-тю добу стосовно контролю. На цей термін у тварин, лікованих НЛВ, також відмітили достовірне зростання ГЗГ стосовно інтактних (на 84 %, $p < 0,05$). Проте слід зауважити, що цей показник був достовірно меншим порівняно із контрольною групою та тваринами, що отримували ЛВ у дозі 5,0 мг/кг, що може свідчити про менший рівень деструкції кісткової тканини. У всіх травмованих щурів показники ГЗГ істотно зменшилися на 7-му добу, хоча ще залишалися достовірно високими відносно інтактних. Втім тепер статистичної різниці між травмованими тваринами не було.

Мінімальні остеодеструктивні явища на 14-ту та 28-му добу підтвердилися результатами вмісту глікозаміногліканів у тварин експериментальної серії, де спостерігали

відсутність статистично достовірних між групами тварин з кістковим дефектом щодо показників інтактних тварин та при порівнянні між собою.

Вплив наноаквахелатів металів (Ca, Fe, Cu, Co, Zn, Mg) на біохімічні показники сполучної тканини при травматичному кістковому дефекті у щурів

Для вивчення біохімічних аспектів метаболізму кісткової тканини із застосуванням наноаквахелатів (НА) металів Ca, Fe, Cu, Co, Zn, Mg ми використали у нашому досліді 72 білих щури. Отримані результати біохімічних досліджень у лікованих тварин (n=32) порівнювали з інтактними тваринами (n=8) та контрольною групою (n=32).

Створений кістковий дефект великогомілкової кістки у щурів на 3-тю добу забезпечив вірогідне підвищення вмісту кальцію відносно інтактних тварин у контрольній групі (на 56,1 %, $p < 0,05$) та у тварин, що отримували перорально наноаквахелати (на 50,7 %, $p < 0,05$). Подібні зміни також спостерігались і на 7-му добу, де показники кальцію у травмованих тварин залишались достовірно високими відносно інтактних (у контролі на 40,8 %, $p < 0,05$, у лікованих на 57,4 %, $p < 0,05$). Проте варто зауважити, що статистичної різниці між контрольною групою та лікованими щурами не було на даному терміні дослідження (табл. 3.11).

Таблиця 3.11. Вміст кальцію (мкмоль/л) у сироватці крові щурів із скелетною травмою, лікованих наноаквахелатами металів (M±m)

Група тварин	Термін дослідження			
	3-тя доба	7-ма доба	14-та доба	28-ма доба
Інтактні (n=8)	2,23± 0,13			
Контроль (n=32)	3,48±0,17°	3,14±0,2°	2,47±0,11	2,81±0,11°
Корекція наноаквахелатами (n=32)	3,36±0,2°	3,51±0,22°	3,68±0,19*°	3,79±0,21*°

Подальше використання наноаквахелатів металів відзначилося лінійним зростанням вмісту кальцію у сироватці крові лікованих тварин. На останньому терміні дослідження показник зріс ще більше (на 70 % порівняно з інтактними, $p < 0,05$; і на 34,9 % порівняно з контролем, $p < 0,05$) і виявився найвищим. Ймовірно, це спровоковано тим, що кальцій накопичувався в організмі тварин за рахунок щоденного перорального введення даного макроелемента у вигляді наночастинок.

Враховуючи специфіку кісткової системи, обміну її макро- і мікроелементів, паралельно із вивченням динаміки кальцію доцільним було також дослідити зміни концентрації неорганічного фосфору у сироватці крові (табл. 3.12).

Таблиця 3.12. Вміст фосфору (мкмоль/л) у сироватці крові експериментальних тварин із кістковим дефектом, що отримували наноаквахелати ($M \pm m$)

Група тварин	Термін дослідження			
	3-тя доба	7-ма доба	14-та доба	28-ма доба
Інтактні (n=8)	1,81±0,1			
Контроль (n=32)	2,62±0,12°	2,31±0,09°	1,89±0,12	2,04±0,14
Корекція наноаквахелатами (n=32)	2,55±0,11°	2,28±0,11°	1,54±0,1*	1,77±0,1

На третю добу після травми стосовно інтактних тварин зафіксували достовірне зростання рівня фосфору у контрольній групі (на 47 %, $p < 0,05$) та у лікованих тварин (на 40,9 %, $p < 0,05$). Така ж закономірність спостерігалась і на сьому добу експерименту. Зростання рівня фосфору у контролі (на 27,6 %, $p < 0,05$) та у тварин, що отримували НА (на 26 %, $p < 0,05$) було вірогідним відносно інтактних щурів. Хоча застосування НА не призводило до суттєвих відмінностей динаміки фосфору поряд з контролем на даних термінах експерименту.

Обмін фосфатів повністю практично стабілізувався в контрольній групі на 14-ту добу після травми, якщо врахувати нормалізацію показника фосфору в сироватці крові. А ось в лікованих тварин відмітили достовірне зниження вмісту фосфору проти відповідного показника у контрольній групі (на 18,5 %, $p < 0,05$). Ймовірним поясненням такого результату є потрапляння в організм піддослідних тварин кальцію в складі наноаквахелатів (фосфор не вводився), що видозмінило рівень взаємопов'язаних та безпосередньо залежних від процесів остеогенезу макроелементів кальцію і фосфору в крові лікованих щурів. У тварин решти груп спостереження цей показник практично відповідав рівню інтактних тварин.

Після 28-ми діб травми динаміка показників фосфору була менш інформативною. У всіх травмованих тварин показники статистично не відрізнялися між собою та від інтактних тварин.

Лужна фосфатаза є саме тим ферментом, що міститься в остеобластах та бере участь у процесі відкладання кальцію у кістковій тканині, частковій регуляції обміну фосфору та структурній мінералізації при відновленні кісткових дефектів.

Усі переломи кісток на початковій стадії проявляються зростанням активності лужної фосфатази. Величина даного показника може свідчити про тяжкість травми та ступінь розвитку остеонекротичних явищ.

Результати отриманих даних активності лужної фосфатази при корекції травми наноаквахелатами металів подані в таблиці 3.13.

На третю добу досліду ми спостерігали суттєве зростання активності ЛФ у травмованих щурів (у контролі на 46,3 % при $p < 0,05$, у лікованих тварин на 49,6%, $p < 0,05$) порівняно із інтактними тваринами.

Показник активності ЛФ залишався вірогідно високим у контролі і на 7-му добу відносно інтактних тварин (на 34,7 % більше, $p < 0,05$), тоді як семиразове пероральне вве-

Таблиця 3.13. Динаміка активності лужної фосфатази (МО/л) у сироватці крові щурів із скелетною травмою, лікованих наноаквахелатами (M±m)

Група тварин	Термін дослідження			
	3-тя доба	7-ма доба	14-та доба	28-ма доба
Інтактні (n=8)	421,3±20,4			
Контроль (n=32)	616,6±26,9°	567,5±22°	471,5±16,5	435,7±19,4
Корекція нано-аквахелатами (n=32)	630±27,5°	451,6±17,7	584,2±23,4°*	559,7±23,4°*

дення наноаквахелатів викликало нормалізацію даного біохімічного маркера (на 20,4 % менше контролю, $p < 0,05$). Отримані дані можуть свідчити про відносно менше виражені остеодеструктивні процеси при використанні наноаквахелатів металів.

Подальше використання НА супроводжувалося вірогідним зростанням активності ЛФ на 14-ту добу проти інтактних і контрольних тварин (на 38,7 % і на 23,9 %, $p < 0,05$). Якщо на попередніх етапах активність ЛФ асоціювалася з пошкодженням м'яких тканини та самої кістки, то на цьому терміні експерименту дані зміни можуть бути розцінені як зростання активності остеобластів (які у великій кількості містять кістковий ізофермент лужної фосфатази) під час остеорегенерації. Схожа закономірність була відмічена і на 28-му добу, де активність ЛФ у лікованих тварин була вищою на 32,9 % від контролю ($p < 0,05$) і на 28,5 % від інтактних ($p < 0,05$).

Під впливом НА вивчено також динаміку активності кислій фосфатази.

Як видно з таблиці 3.14, спровокована травма відзначилась достовірним зростанням активності КФ у всіх травмованих тварин на 3-тню добу (у контролі на 74,5 %, у лікованих на 77,8 %, де $p < 0,05$).

Таблиця 3.14. Показники активності кислій фосфатази (МО/л) у сироватці крові тварин із змодельованою травмою при застосуванні наноаквахелатів ($M \pm m$)

Група тварин	Термін дослідження			
	3-тя доба	7-ма доба	14-та доба	28-ма доба
Інтактні (n=8)	64,9±4,4			
Контроль (n=32)	113,2±7,2°	100,3±6,5°	80,1±4,9	69,6±5,6
Корекція наноаквахелатами (n=32)	115,3±5°	75,4±3,7*	62,7±3,4*	67,6±3,3

Після семи днів з моменту травми контрольна група тварин характеризувалася достовірно вищим показником активності КФ порівняно з інтактними (на 54,6 % більше, $p < 0,05$), тоді як у лікованих тварин аналогічний показник виявився статистично недостовірним стосовно інтактних щурів. І якщо на 3-тю добу між травмованими тваринами достовірних змін не було, то вже на сьому добу у лікованих тварин активність даного ферменту була достовірно нижчою від контрольного показника (на 24,7 % менше, $p < 0,05$).

Введення наноаквахелатів протягом 14-ти днів викликало також достовірне зниження КФ поряд з контролем (на 21,7 % менше, $p < 0,05$). І якщо врахувати, що даний показник статистично не різнився від рівня інтактних тварин, то вираження катаболічних реакцій у лікованих щурів була меншою стосовно контрольної групи.

На наступному терміні дослідження не вдалося знайти вірогідних змін щодо активності КФ у піддослідних тварин.

На основі показників лужної та кислій фосфатази провели аналіз значень індексу мінералізації, який відображений у таблиці 3.15.

Порівнюючи з інтактними щурами, на 3-тю добу дослідження відмітили зниження рівня ІМ у травмованих тва-

Таблиця 3.15. Значення індексу мінералізації (од.) у дослідних тварин із використанням наноаквахелатів при посттравматичній остеорегенерації (M±m)

Група тварин	Термін дослідження			
	3-тя доба	7-ма доба	14-та доба	28-ма доба
Інтактні (n=8)	6,63±0,37			
Контроль (n=32)	5,66±0,52	5,87±0,5	6,02±0,39	6,5±0,54
Корекція наноаквахелатами (n=32)	5,49±0,21°	6,14±0,47	9,58±0,75°*	8,37±0,39°*

рин. Проте лише у лікованих тварин ці зміни були статистично достовірними (менше на 17,2 %, $p < 0,05$). Відзначили зниження ІМ у травмованих тварин стосовно інтактних і на 7-му добу. Найімовірніше, отримані дані є результатом значного зростання активності саме кислої фосфатази як маркера остеодеструктивних змін.

Більш виражені зміни спостерігалися вже на наступних термінах експерименту. Зокрема, на 14-ту добу активність КФ у тварин, що отримували НА, зросла на 44,5 % порівняно із інтактними ($p < 0,05$) і на 59,1 % порівняно із контролем ($p < 0,05$). Такий самий ефект спостерігався і на 28-му добу дослідження, де ІМ зріс на 26,2 % стосовно інтактних ($p < 0,05$) і на 28,8 % стосовно контролю ($p < 0,05$).

Загальновідомим є факт, що саме оксипролін є одним із маркерів пошкодження кісткової тканини [326]. Одразу після порушення цілісності кістки поступово зростає рівень оксипроліну в плазмі крові. Викликана нами травма також супроводжувалась значним зростанням вмісту оксипроліну на 3-тю добу в контролі (на 90,2 % більше порівняно з інтактними, $p < 0,05$) і у лікованих НА тварин (на 98,9 %, $p < 0,05$) (табл. 3.16).

Як видно з таблиці 3.16, на 7-му добу після травми показники оксипроліну в піддослідних тварин відчутно зни-

Таблиця 3.16. Показники оксипроліну (мг/л) у сироватці крові щурів із скелетною травмою, лікованих наночастинками хітозану з ловастатином (M±m)

Група тварин	Термін дослідження			
	3-тя доба	7-ма доба	14-та доба	28-ма доба
Інтактні (n=8)	55,3±3,92			
Контроль (n=32)	105,19±5,09°	85,13±6,05°	68,4±5,69	59,2±4,49
Корекція наноак-вахелатами (n=32)	110,01±5,3°	64,99±3,94*	51,2±2,83*	53,20±3,18

зились, проте у контрольній групі цей показник залишався достовірно більшим від інтактних тварин (більше на 53,9 %, $p < 0,05$), тоді як у лікованих тварин спостерігалось вірогідна різниця відносно лише контролю (менше на 23,7 %, $p < 0,05$).

У подальшому показники оксипроліну продовжували падати у травмованих тварин. Хоча корекція НА призвела до вірогідно нижчого вмісту оксипроліну відносно тварин контрольної групи (на 25,1 %, $p < 0,05$). Враховуючи наявні дані динаміки оксипроліну, можна говорити про те, що НА викликали більш ефективну відповідь на запальну реакцію після травми. На останньому терміні дослідження (28-ма доба) показники оксипроліну практично відповідали значенню інтактних тварин.

У таблиці 3.17 наведено результати визначення колагенолітичної активності плазми крові.

Створення кісткового травматичного дефекту супроводжувалось на 3-й день підняттям рівня КАП на 58,1 % у контрольній групі ($p < 0,05$) і на 40,3 % у лікованих тварин ($p < 0,05$). Незважаючи на те, що рівень КАП у оперованих тварин знизився на 7-му добу, все ж дані величини залишалися вірогідно вищими від даних інтактних тварин (у контролі зростання на 33,8 %, $p < 0,05$ і у лікованих – на 23,7 %, $p < 0,05$).

Таблиця 3.17. Динаміка колагенолітичної активності плазми крові (ммоль/л·год) у сироватці крові щурів із кістковим дефектом, застосовуючи наноаквахелати (M±m)

Група тварин	Термін дослідження			
	3-тя доба	7-ма доба	14-та доба	28-ма доба
Інтактні (n=8)	7,76±0,33			
Контроль (n=32)	12,27±0,5°	10,38±0,65°	8,2±0,55	7,9±0,45
Корекція наноаквахелатами (n=32)	10,89±0,45°	9,6±0,34°	7,9±0,36	8,39±0,26

Відмітили менше підняття показнику КАП і на 3-ю (на 11,2 %) і на 7-му (на 7,5 %) добу у тварин, що приймали НА. Однак дані зміни не мали статистичної достовірності ($p > 0,05$).

Менш виразними були дані біохімічних досліджень щодо КАП на пізніших етапах дослідження. Достовірних змін між дослідними групами не виявлено.

Аналізуючи отримані результати, прийняття наноаквахелатів у травмованих тварин не асоціювалося із зміною динаміки колагенолітичної активності плазми крові.

Результати впливу наноаквахелатів на динаміку вмісту сіалових кислот в нашому дослідженні наведені у таблиці 3.18.

Травматичне пошкодження викликало найбільше зростання вмісту сіалових кислот саме на 3-тю добу (у контролі на 46,6 %, і у лікованих тварин – на 44,4 %, $p < 0,05$).

Вміст сіалових кислот залишався вірогідно високим у обох групах і на 7-му добу, проте лікування наноаквахелатами викликало достовірне зменшення даного біохімічного маркера стосовно контролю (на 17 %, $p < 0,05$).

У подальшому відмітили тенденцію до поступового зниження показників СК у тварин експериментальної серії, застосування наноаквахелатів не асоціювалось з достовір-

Таблиця 3.18. Вміст сіалових кислот (мг/л) у сироватці крові щурів із скелетною травмою, лікованих наноаквахелатами (M±m)

Група тварин	Термін дослідження			
	3-тя доба	7-ма доба	14-та доба	28-ма доба
Інтактні (n=8)	191,2±6,24			
Контроль (n=32)	280,38±18,54°	263,9±5,04°	209,99±2,96	201,89±5,03
Корекція наноаквахелатами (n=32)	276,09±7,18°	219,01±8,02°*	215,4±5,93°	198,29±3,58

ними змінами відносно контролю ні на 14-ту добу, ні на 28-му добу.

Як видно з таблиці 3.19, посттравматична запальна реакція у тварин контролю та лікованих НА відобразилась суттєвим зростанням рівня С-реактивного білка у плазмі крові (контроль – на 46,6 %, ліковані – на 44,4 %, $p<0,05$) на 3-тю добу. Дані показники також залишалися вірогідно високими і на 7-му добу експерименту, проте вплив НА зумовив недостовірне зростання рівня СК порівняно із нелікованими тваринами (на 17 %, $p>0,05$).

Показники вмісту сіалових кислот після 14-ти та 28-ми днів з моменту травми практично повністю нормалізувалися і статистично не різнилися відносно до неоперованих (інтактних) тварин та не відрізнялися вірогідно між собою.

У таблиці 3.20 показано динаміку глікозаміногліканів при використанні наноаквахелатів.

Змодельована травма у експериментальних тварин викликала суттєве зростання вмісту глікозаміногліканів на 3-тю добу. У контролі даний показник зріс на 130,9 % ($p<0,05$), тоді як у лікованих тварин відмітили дещо менше зростання ГЗГ (на 93,7 %, $p<0,05$), що було достовірно нижчим від контролю (на 16,1 %, $p<0,05$). Показники ГЗГ

Таблиця 3.19. Динаміка С-реактивного білка (мг/л) у сироватці крові травмованих тварин при використанні наноаквахелатів (M±m)

Група тварин	Термін дослідження			
	3-тя доба	7-ма доба	14-та доба	28-ма доба
Інтактні (n=8)	4,35±0,27			
Контроль (n=32)	9,17±0,38°	6,76±0,41°	4,2±0,23	4,56±0,22
Корекція наноаквахелатами (n=32)	9,06±0,55°	5,83±0,43°	4,34±0,27	4,53±0,18

Таблиця 3.20. Вміст глікозаміногліканів (мкмоль/л) у сироватці крові щурів із скелетною травмою, лікованих наноаквахелатами (M±m)

Група тварин	Термін дослідження			
	3-тя доба	7-ма доба	14-та доба	28-ма доба
Інтактні (n=8)	57,05±2,96			
Контроль (n=32)	131,7±6,07°	82,02±5,58°	63,2±3,84	68,09±4,6°
Корекція наноаквахелатами (n=32)	110,5±5,26°*	69,09±2,72°	70,19±3,57°	69,79±3,41°

знизилися у травмованих тварин на 7-му добу експерименту, хоча дані величини залишалися вірогідно вищими стосовно інтактних тварин (у контролі – на 43,8 %, $p < 0,05$ і у лікованих НА – на 21,1 %, $p < 0,05$). І попри те, що вміст ГЗГ у лікованих тварин був незначно нижчим відносно контролю, дана різниця була статистично не вірогідною.

На пізніших етапах остеорегенерації застосування наноаквахелатів металів достовірно не впливало на вміст ГЗГ порівняно із інтактними тваринами.

Аналіз біохімічних показників сполучної тканини у щурів із репаративною остеорегенерацією при застосуванні суміші наноаквахелатів металів і наночастинок хітозану з ловастатином

Оскільки окреме застосування наноаквахелатів металів та наночастинок хітозану з ловастатином викликало достовірні зміни щодо деяких біохімічних маркерів сполучної тканини при змодельованій травмі у щурів (як було продемонстровано вище), нами вирішено провести дослідження впливу саме комбінації вищеперерахованих наноматеріалів для оптимізації остеорегенерації. Тваринам даної групи вводили перорально наноаквахелати металів Ca, Fe, Cu, Co, Zn, Mg за допомогою зонда в дозі 1,0 мл (1 мл суміші містив 0,02 мг кожного металу) та внутрішньом'язово наночастинки хітозану з ловастатином в дозі 100 нг/л щоденно один раз на добу протягом усього експерименту (28 днів). Отримані дані порівнювали з інтактною групою, контролем та тваринами, що окремо отримували НА та НЛВ.

Для оптимального репаративного остеогенезу важливою складовою є обмін таких макроелементів, як кальцій і фосфор, їх відсоткового співвідношення.

У рисунку 3.2 подано динаміку вмісту сироваткового кальцію при кістковій травмі на фоні різної медикаментозної корекції.

Порушення цілісності кісткової тканини внаслідок операційного втручання відобразилось на динаміці показників кальцію у травмованих тварин. Використання комбінації наноматеріалів відзначилось вірогідним зростанням кальцію на даних термінах експерименту. Зокрема, на 3-тю добу вміст кальцію у цій групі склав $(3,18 \pm 0,11)$ ммоль/л, що на 42,6 % більше від інтактних, а на 7-му добу – $(3,06 \pm 0,12)$ ммоль/л, на 37,2 % більше від інтактних тварин. Проте слід зауважити, що вірогідних змін у всіх лікованих щурів відносно контролю та між групами корекції протягом перших семи днів дослідження не було (рис. 3.2).

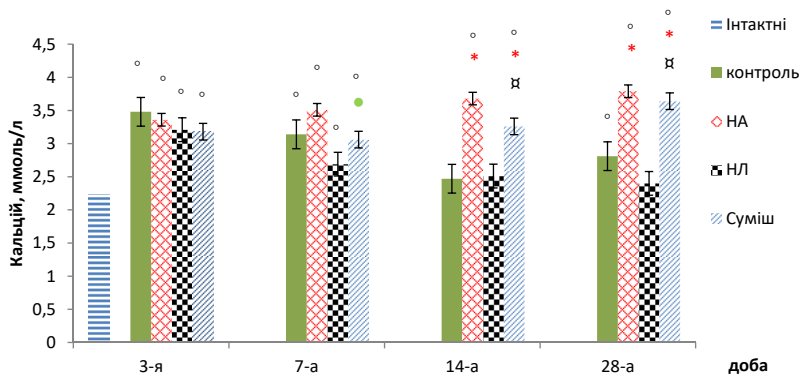


Рисунок 3.2. Вміст кальцію у сироватці крові щурів із травматичним кістковим дефектом при корекції наноматеріалами.

Тут і в таблицях даного розділу:

Примітка 1. ° - зміни вірогідні ($p < 0,05$) відносно показників інтактних щурів.

Примітка 2. * - зміни достовірні відносно показників контрольної групи.

Примітка 3. • - зміни достовірні відносно показників тварин, що отримували наноаквахелати.

Примітка 4. ▣ - зміни достовірні відносно показників щурів, лікованих наночастинками хітозану з ловастатином.

На 14-ту добу дослідження отримали нормалізацію вмісту кальцію у контрольній групі та у тварин, лікованих НЛВ. Тоді як у щурів, що отримували НА і суміш НА+НЛВ вміст кальцію становив $(3,26 \pm 0,11)$ ммоль/л отримали збереження достовірно високих показників кальцію порівнянно з інтактними тваринами. Введення суміші наноматеріалів викликало і достовірне зростання показнику кальцію (на 29,9 %) відносно тварин, що були ліковані НЛВ.

Така ж закономірність зберігалась і на 28-му добу досліду. Показник вмісту сироваткового кальцію $(3,64 \pm 0,12)$ ммоль/л був вірогідно вищим на 63,2 % відносно інтактних і на 51,7 % більшим відносно тварин, що отримували лише НЛВ.

Очевидно, такі зміни спровоковані тим, що групи тварин, які ліковані НА і комбінацією НА+НЛВ, отримували кальцій щоденно пероральним шляхом у складі ліків.

Як видно з рисунка 3.2, рівень фосфору протягом трьох днів після травми достовірно зріс у всіх тварин експериментальної серії. Проте показник вмісту фосфору ($2,28 \pm 0,1$) ммоль/л саме у тварин, лікованих комбінацією наночастинок підвишився найменше, що виявилось статистично вірогідно до контролю та тварин, лікованих НЛВ.

Вміст фосфору на 7-му добу в тварин, що отримували суміш склав ($2,04 \pm 0,11$) ммоль/л, що статистично не відрізнялося від рівня інтактних тварин, так як і в щурів, що отримували лише НЛВ. Тоді як у тварин контрольної групи та лікованих НА зміни залишалися достовірними відносно інтактних. Судячи з цього можна говорити про те, що семиразове введення НЛВ і суміші викликало нормалізацію обміну фосфатів.

На 14-ту добу після травми лише у групі тварин, лікованих НА, відмітили достовірно менший вміст фосфору порівняно із контролем, а у решти експериментальних тварин показники статистично не різнилися. Ймовірно, це викликано підвищеним вмістом кальцію у сироватці крові тварин, які ліковані наноаквахелатами металів, оскільки відомо, що взаємозв'язок між кальцієм і фосфором має обернено пропорційну залежність.

У кінці експериментального дослідження (на 28-му добу) у групі тварин, що отримували суміш НЛВ і НА, показник фосфору зафіксувався на позначці ($1,94 \pm 0,11$) ммоль/л. Проте дана величина була статистично не значуща порівняно із рештою дослідних тварин.

При оцінці остеорегенерації важливим критерієм є активність остеобластів [266]. Лужна фосфатаза – фермент, що в значній кількості міститься у остеобластах і показує вираженість формування кісткової мозолі. Динаміка активності ЛФ проілюстрована на рисунку 3.3.

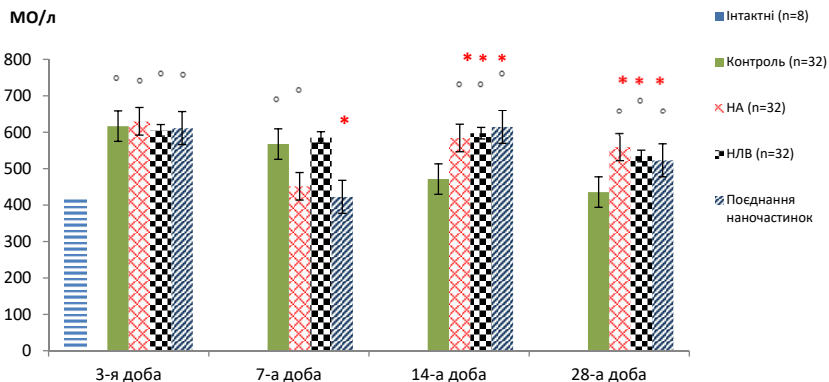


Рисунок 3.3. Динаміка активності лужної фосфатази в сироватці крові щурів із травматичним кістковим дефектом при корекції наноматеріалами.

Створення кісткового травматичного дефекту супроводжувалося достовірним зростанням активності ЛФ на 3-тю добу у всіх травмованих тварин стосовно інтактних. Швидше за все, отримані дані свідчать про безпосереднє пошкодження кісткової тканини, зокрема остеобластів та вивільнення лужної фосфатази у кров'яне русло. Хоча статистичної значимості між лікованими групами не виявилось.

Використання суміші наночастинок протягом семи днів викликало достовірне зниження активності лужної фосфатази. Так, на 7-му добу ЛФ у тварин, лікованих комбінацією НА+НЛВ, відзначилася найменшим рівнем – $(2619,9 \pm 117,2)$ мккат/л, що статистично не відрізнялося від інтактних тварин і було достовірно нижчим від контролю (на 25,5 %, $p < 0,05$) та тварин, що отримували тільки НЛВ (на 27,8 %, $p < 0,05$).

На 14-ту добу, навпаки, у групі тварин, лікованих комбінацією наноматеріалів, зафіксували найвище підняття активності ЛФ $(3811,1 \pm 192,8)$ мккат/л, що було достовірним відносно інтактних та тварин контрольної групи. Хоча даний показник і був найвищим на 14-ту добу, проте статис-

тично не відрізнявся від активності ЛФ у групі щурів, що отримували НЛВ чи НА. Виявлене зростання активності ЛФ у відповідних групах зумовлене більш інтенсивними процесами остеорегенерації.

Подібні зміни динаміки даного ферменту спостерігались і на 28-му добу (див. рис. 3.3). Варто відзначити, що застосування всіх наночастинок викликало достовірне підвищення активності ЛФ на 28-му добу, проте статистичних відмінностей між лікованими групами не спостерігалось.

Якщо рівень лужної фосфатази в сироватці крові може свідчити про інтенсивність остеогенезу, то активність іншого ферменту – кислій фосфатази, відображає остеодеструкцію кісткової тканини.

На рисунку 3.4 показано вплив наноматеріалів на активність кислій фосфатази.

Оптимізація процесів репаративного остеогенезу різними наночастинами викликала нормалізацію показників активності КФ в терміні на 14-ту добу, порівнюючи дані значення відносно контролю. При лікуванні комбінацією НА+НЛВ показник КФ склав ($410 \pm 14,4$) мккат/л, що лише на 2 % більше від показника інтактних тварин. Ймовірно, це

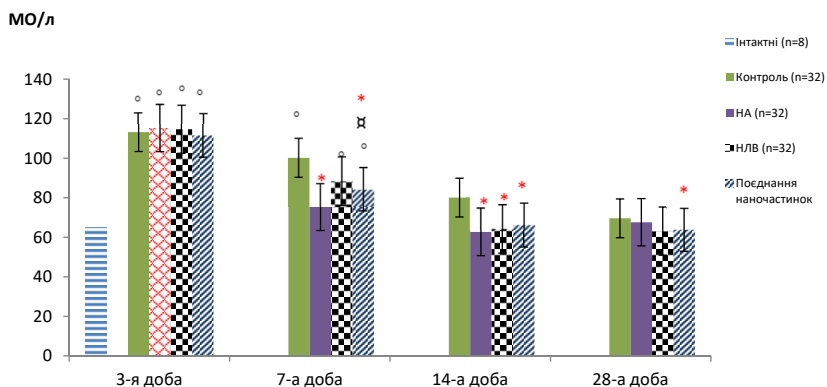


Рисунок 3.4. Вплив комбінації наночастинок на динаміку активності кислій фосфатази в сироватці крові щурів із травматичним кістковим дефектом.

характеризується відносно меншими остеодеструктивними процесами у лікованих тварин на протигагу від контрольної групи.

На останньому терміні дослідження дані активності КФ були менш інформативними, оскільки жодних статистичних закономірностей між травмованими щурами не виявлено.

За отриманими фосфатазами розраховували індекс мінералізації (ІМ=ЛФ/КФ), динаміка якого зображена на рисунку 3.5.

Спровокована травма позначилася зниженням індексу мінералізації на 3-тю добу в експериментальних тварин. Проте слід зауважити, що зниження ІМ в контролі не було достовірним щодо інтактних. Тоді як використання наночастинок поодинці та в поєднанні викликало вірогідне зниження ІМ стосовно інтактних, проте не було достовірним проти контролю. Так, триразове використання суміші НА+НЛВ забезпечило зниження ІМ на 16,7 % порівняно з інтактними і 2,5 % порівняно з контролем.

Отримані дані після трьох днів з травми можна пояснити пропорційно більшим зростанням активності кислоти

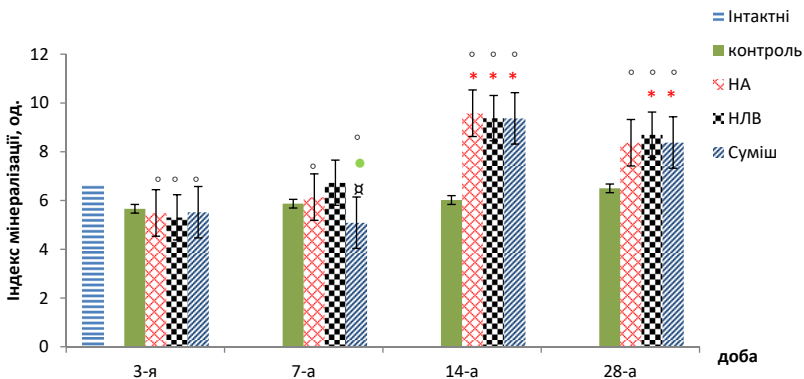


Рисунок 3.5. Показники індексу мінералізації в щурів із травматичним кістковим дефектом при корекції наноматеріалами.

фосфатази на відміну від лужної фосфатази. Оскільки на даному терміні дослідження інтенсивно перебігають деструктивно-запальні зміни в ділянці кісткового дефекту.

Після семи днів лікування спостерігали нормалізацію показників ІМ у тварин контрольної групи і у щурів, що отримували НА і НЛВ окремо. Дані цих груп статистично не різнилися відносно інтактних тварин. Тоді як суміш наноаквахелатів металів і наночастинок ловастатину зумовило зниження ІМ до найнижчого рівня у дослідних тварин. Зокрема, даний показник ($5,09 \pm 0,33$) од. виявився достовірно нижчим на 23,2 % від інтактної групи та на 24,4 % від лікованих НЛВ (див. рис. 3.5).

Аналіз динаміки ІМ на 14-ту добу показав, що використання наночастинок справило суттєве зростання ($p < 0,05$) останнього стосовно показника контрольної та інтактної груп. У групах лікованих тварин показники практично не відрізнялися між собою.

Подібні, але менш виражені зміни, спостерігалися на 28-му добу дослідження. Так, показник ІМ у тварин, що отримували комбінацію наночастинок, достовірно зріс на 28 % стосовно контрольної групи. Щоправда, такі ж зміни спостерігалися у тварин, лікованих НА і НЛВ окремо (див. рис. 3.5).

Суттєве зростання ІМ на 14-ту та 28-му добу у лікованих тварин відображають підсилення остеорегенерації та кальцифікації кісткової мозолі.

Про ступінь розвитку запальних реакцій та обміну колагену у кістковій тканині може свідчити показник вмісту оксипроліну.

Розвиток виражених запальних змін на 3-тю добу, які спровоковані характером травми, в нашому експерименті відзначився достовірним зростанням вмісту оксипроліну у всіх лікованих тварин та у групі контролю, динаміка яких зображена на рисунку 3.6. Проте використання нанорозмірних медичних середників не викликало вірогідних змін стосовно контрольних тварин на 3-тю добу.

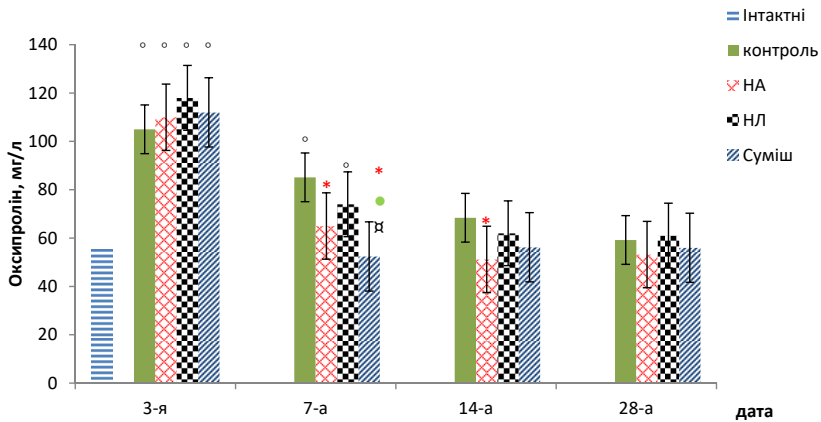


Рисунок 3.6. Вплив комбінації наночастинок на показники оксипроліну в щурів із кістковою травмою.

Корекція остеогенезу комбінацією НА+НЛВ протягом семи днів зумовило значне зниження оксипроліну в даній групі ($52,4 \pm 4,2$) мг/л, що було достовірно нижчим відносно контролю (на 38,4 %), відносно корекції лише НА (19,4 %) і НЛ (на 29,2 %), що може відобразити завершення першої стадії відновлення кісткової тканини в оптимальні терміни.

На пізніших етапах дослідження (14-та і 28-ма доба) застосування комбінації наноаквахелатів і наночастинок ловастатину не викликало суттєвих змін щодо динаміки оксипроліну ($56,2 \pm 2,3$) мг/л і ($56,0 \pm 2,9$) мг/л відповідно. Очевидно, запальні процеси у всіх травмованих тварин були мінімальними, що не відобразилось на різниці біохімічних маркерів сполучної тканини.

Колагенолітична активність плазми крові відображає структурно-метаболічні та обмінні процеси у сполучній тканині, зокрема і при пошкодженні опору-рухового апарату. Динаміка КАП при корекції змодельованої травми ілюстрована на рисунку 3.7.

Пошкодження кісткової тканини та порушення обміну колагену призвели до достовірного зростання рівня кола-

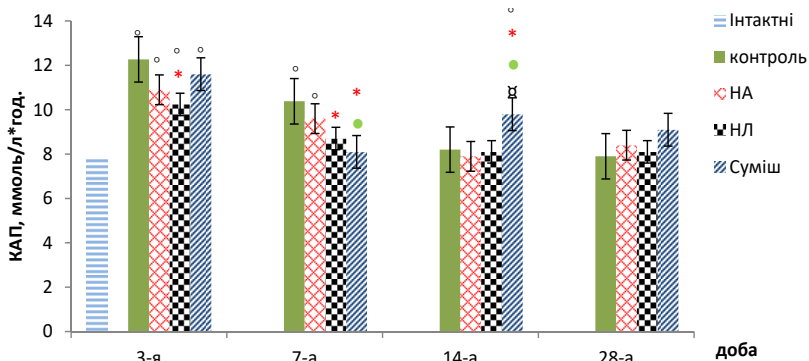


Рисунок 3.7. Показники колагенолітичної активності плазми крові в щурів із травматичним кістковим дефектом при корекції наноматеріалами.

генолітичної активності плазми крові у щурів, лікованих комбінацією наночастинок (на 49,5 % від інтактних тварин). Проте запропонована суміш не викликала зміни даного біохімічного маркера стосовно контрольної групи та решти лікованих щурів після трьох днів від моменту травми.

За дії наночастинок протягом семи днів показники КАП знижувалися. Найменший результат КАП ($8,10 \pm 0,45$) ммоль/л*год зафіксували саме у групі тварин, що отримували комбінацію НА+НЛВ, проте зміна даного біохімічного маркера виявилась не достовірною відносно решти лікованих тварин.

І якщо показники КАП на 14-ту добу нормалізувалися у контрольній групі, у тварин лікованих НА і лікованих НЛВ, то у щурів, де проводили корекцію комбінацією наночастинок, відмітили незначне зростання даної величини – до ($9,79 \pm 0,57$) ммоль/л*год. (див. рис. 3.7). Хоча зростання даного показника було статистично не значущим відносно решти травмованих тварин.

На останній стадії остеорегенерації (28-ма доба) показники КАП нормалізувалися у лікованих щурів і вірогідно не відрізнялися від інтактних.

Доведено, що запальні захворювання сполучної тканини характеризуються зростанням вмісту сіалових кислот у крові [328]. Фізіологічним є розвиток запальної реакції у відповідь на пошкодження кісткової тканини та прилеглих м'яких тканини [331]. Максимальне зростання вмісту сіалових кислот ми відмітили саме на 3-тю добу експерименту, що свідчить про пік першої стадії остеорегенерації. У всіх лікованих тварин показники вмісту СК достовірно зросли порівняно із інтактними тваринами. Проте у тварини, що отримували суміш наноматеріалів, вміст СК ($249,1 \pm 10,2$) мг/л зріс найменше, і був вірогідно меншим стосовно контрольної групи та щурів, що отримували наноаквахелати (рис. 3.8).

Більш суттєвий вплив запропонованої медикаментозної корекції спостерігався вже на 7-му добу. Використання наноматеріалів сприяло значному зниженню СК у крові. Значення даного біохімічного маркера достовірно знизилось відносно контролю у всіх тварин, що приймали наночастинки. Проте варто зазначити, що застосування комбінації наноаквахелатів і наночастинок ловастатину викликало найменший вміст СК на 7-й день після травми. Цей показник ($187,8 \pm 9,7$) мг/л виявився також достовірно нижчим від

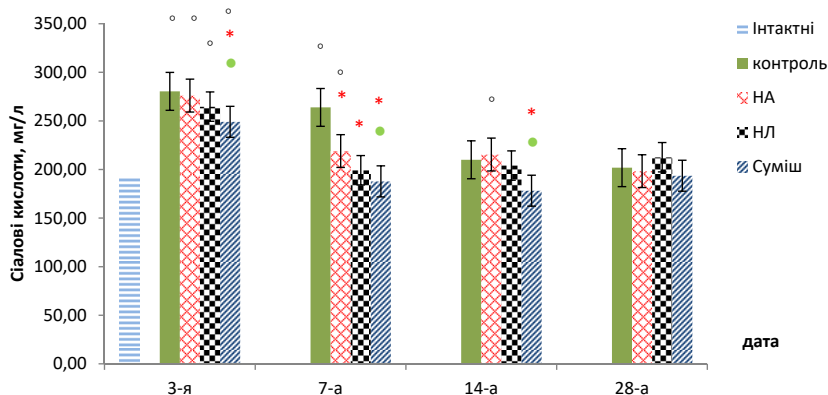


Рисунок 3.8. Вплив комбінації наночастинок на вміст сіалових кислот у тварин із порушенням остеорегенерації.

такого, що отримано у тварин, які отримували лише НА і статистично не різнився порівняно із інтактними тваринами.

Показники вмісту СК після 14-ти днів від пошкодження ще дещо знизились. Однак у тварин, що отримували суміш наноаквахелатів та наночастинок ловастатину, знову спостерігалось вірогідно менше значення даного біохімічного маркера до $(178,2 \pm 11,7)$ мг/л порівняно із контролем. Статистичної різниці відносно решти лікованих тварин не було.

З огляду на динаміку вмісту СК, встановлено, що запальні явища значно довше спостерігались у тварин контрольної групи (щурі без медикаментозної корекції). Тоді як при використанні запропонованої комбінації ліків відмітили перебіг першої стадії остеорегенерації у відповідні терміни.

На 28-му добу досліду показники вмісту СК нормалізувалися у всіх оперованих тварин і статистично не відрізнялися від рівня інтактних тварин.

Ще одним цінним біохімічним маркером для оцінки стану запальної реакції у сполучній тканині є рівень С-реактивного білка у сироватці крові.

Динаміка СРБ на 3-тю добу після травми була подібна до змін вмісту сіалових кислот. Змодельована травма спровокувала достовірне підняття рівня СРБ у сироватці крові всіх тварин експериментальної серії.

Як видно з рисунка 3.9, найвищий рівень СРБ зафіксувався у контрольній групі тварин. Використання комбінації наноматеріалів викликало найменше підвищення рівня СРБ (до $7,87 \pm 0,3$) мг/л, що було достовірно нижчим показником порівняно із контролем та тваринами, що отримували лише наночастинок хітозану з ловастатином.

Оптимізація посттравматичної регенерації кісткової тканини сумішшю наноаквахелатів і наночастинок ловастатину протягом семи днів викликало нормалізацію показника СРБ ($4,61 \pm 0,28$) мг/л, який вже статистично не різнився порівняно із інтактними тваринами та виявився

достовірно нижчим стосовно контрольної групи та тварин, лікованих наноаквахелатами. Тоді як у решти лікованих тварин спостерігали достовірно вищі аналогічні показники стосовно інтактних тварин (див. рис. 3.9).

На 14-ту добу від створення кісткового дефекту спостерігали зниження вмісту СРБ у сироватці крові травмованих тварин. Зокрема, у тварин, що отримували комбінацію наноаквахелатів і наночастинок ловастатину даний показник склав $(4,08 \pm 0,2)$ мг/л, який вірогідно не відрізнявся від контрольної групи, інтактних та лікованих тварин. Подібну динаміку для СРБ відмітили і на 28-му добу експерименту. Застосування комбінації наночастинок знову не викликало достовірних змін СРБ відносно решти тварин.

На рисунку 3.10 проілюстровано динаміку показників глікозаміногліканів у сироватці крові дослідних тварин.

Кісткова травма на 3-тю добу викликала значне зростання (статистично достовірне відносно інтактних) вмісту ГЗГ у тварин експериментальної серії. Найвищий рівень був у тварин контрольної групи. Тоді як найнижчий $(102,8 \pm 4,2)$ мкмоль/л рівень спостерігався у щурів, що отримували комбінацію наноаквахелатів і наночастинок ловастатину.

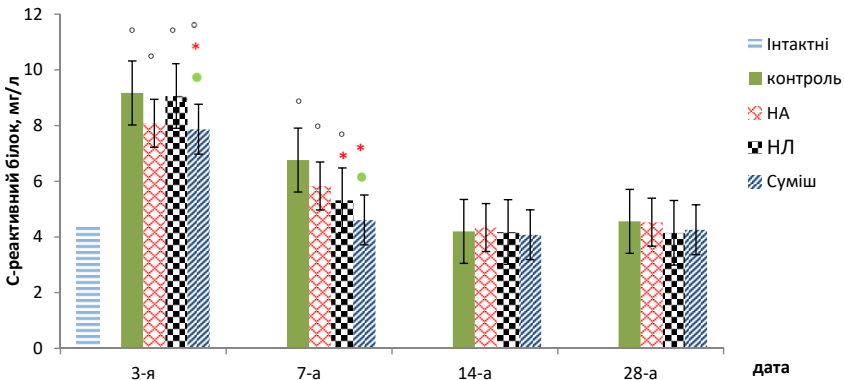


Рисунок 3.9. Показники С-реактивного білка в щурів із травматичним кістковим дефектом при корекції наноматеріалами.

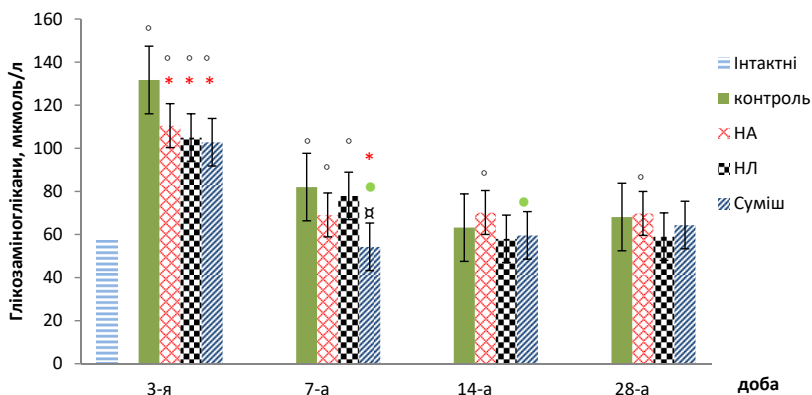


Рисунок 3.10. Застосування комбінації наночастинок на показники глікозаміногліканів у щурів із травмою.

Хоча варто відмітити, що корекція наноматеріалами окремо HA та НЛВ, як і їх комбінацією, викликала достовірно нижчі показники ГЗГ на 3-тю добу порівняно із контролем, а семиденне застосування комбінації наноматеріалів сприяло нормалізації показника ГЗГ ($54,29 \pm 3,85$) мкмоль/л, що також був достовірно нижчим від контролю (на 33,8 %, $p < 0,05$) та в тварин, що отримували лише HA (на 30,3 %, $p < 0,05$). І вже достовірно не різнився від такого ж показника в інтактних тварин (див. рис. 3.10).

У подальшому спостерігали тенденцію до нормалізації показників у тварин експериментальної серії через 14 та 28 днів з моменту створення травми. І лише у груп тварин, що отримували наноаквахелати, даний біохімічний маркер був достовірно вищим від рівня контрольних тварин на даних термінах. Тоді як застосування комбінації матеріалів суттєво не відобразилось на динаміці ГЗГ на 14-ту добу ($59,6 \pm 3,0$) мкмоль/л та на 28-му добу ($64,39 \pm 2,0$) мкмоль/л.

На основі отриманих даних можна зробити такі висновки:

- Згідно з отриманими даними біохімічних показників метаболізму сполучної тканини внутрішньом'язове

введення ловастатину у дозах 0,1, 1,0 і 5,0 мг/кг не сприяло стимуляції остеогенезу.

- Введення наночастинок ловастатину, порівняно із введенням звичайного ловастатину, викликало достовірні зміни показників кислої та лужної фосфатази, індексу мінералізації на 14-ту та 28-му доби, що свідчить про позитивний ефект щодо закриття кісткового дефекту.
- Суміш наноматеріалів викликала більш інтенсивну остеорегенерацію на 14-ту та 21-шу доби, яка проявлялась достовірним зростанням активності лужної фосфатази, колагенолітичної активності плазми крові, рівня індексу мінералізації, вмісту кальцію у сироватці крові [332–338].

3.4. Структурні зміни кістки під впливом наноматеріалів

Проведені гістологічні дослідження великогомілкової кістки через 3 доби встановили некротичні зміни компактної тканини кістки в ділянці пошкодження. Уражені ділянки остеонів, вставних кісткових пластинок, остеоцитів заміщувалися сформованим кров'яним згустком внаслідок руйнування стінок судин і крововиливів (рис. 3.11). У вогнищі пошкодження спостерігалось багато нейтрофілів, лімфоцитів, збільшилася кількість макрофагів, опасистих клітин. В цей термін розвивалась запальна реакція, а гематома та гемопоетичні клітини сприяли виділенню факторів загоєння. Пошкоджена ділянка була обмежена неушкодженою кісткою.

Мікроскопічні дослідження тварин контрольної групи через 7 діб експерименту встановили зменшення згустка крові та утворення з боку пошкодженої кістки міжклітинної речовини. Міграція з окістя фібробластів, підвищення

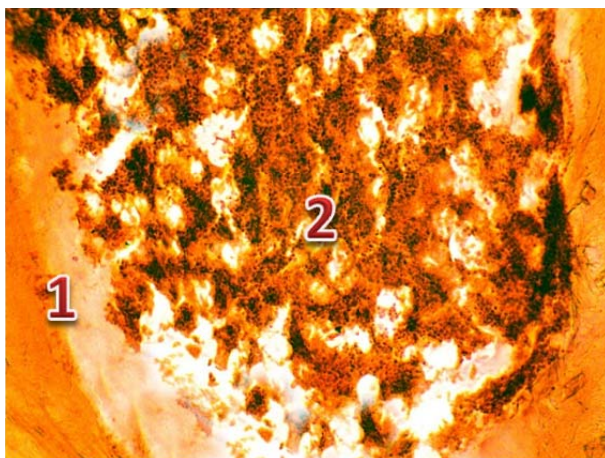


Рисунок 3.11. Мікроскопічні зміни великогомілкової кістки тварини контрольної групи на 3-тю добу після нанесення дефекту. Забарвлення гематоксиліном та еозином. ×100.

Примітки: 1 – пошкоджена кістка; 2 – кров'яний згусток у ділянці дефекту.

їх синтетичної активності сприяло початковому загоєнню ділянки дефекту кістки. Відмічалось формування грануляційної тканини, утворення окремих капілярів та волокнистих структур (рис. 3.12).

Через 14 діб експерименту виявили зменшення розмірів ділянки дефекту, згусток крові був невеликим, відбувалося його заміщення молодими камбіальними клітинами, фібробластами. У ділянці загоєння спостерігались неширокі судини, формувалась міжклітинна речовина з тонкими колагеновими волокнами, які утворювали окремі пучки (рис. 3.13).

Через 28 діб експерименту встановили, що внаслідок репаративної регенерації відбувалось заміщення пошкодженої кістки та згустка крові новоствореною фіброзно-ретиккулярною тканиною, що складалась з фібробластів, оточених міжклітинною речовиною, що насичена волокнами (рис. 3.14). Крайові ділянки біля компактної кістки включали

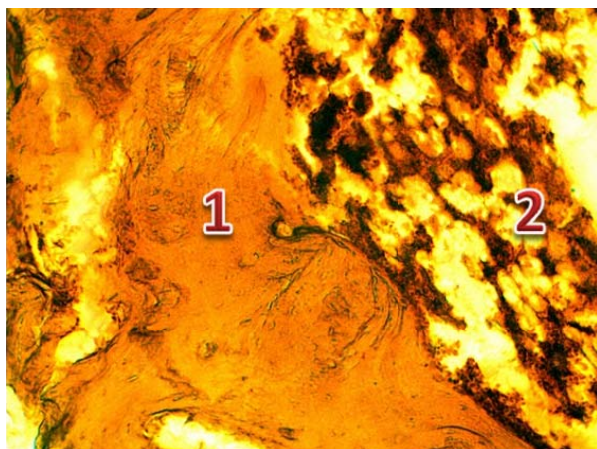


Рисунок 3.12. Гістологічні зміни кістки тварини контрольної групи на 7-му добу після нанесення дефекту. Забарвлення гематоксиліном та еозином. ×200.

Примітки: 1 – пошкоджена кістка; 2 – залишки кров'яного згустка в ділянці дефекту.

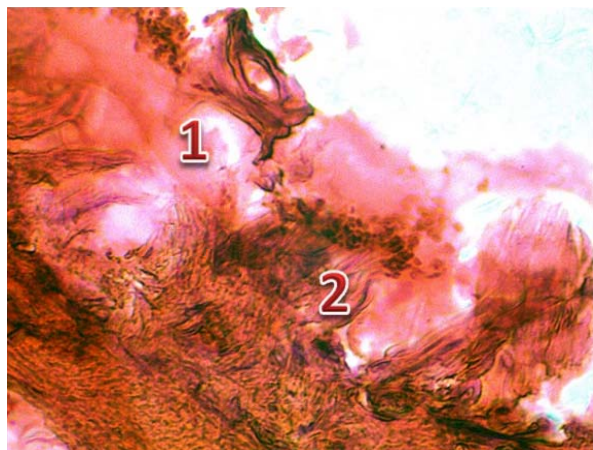


Рисунок 3.13. Гістологічний стан кістки тварини контрольної групи на 14-ту добу після травми. Забарвлення гематоксиліном та еозином. ×400.

Примітки: 1 – новостворена міжклітинна речовина; 2 – тонкі волокна, що формувались у місці дефекту.

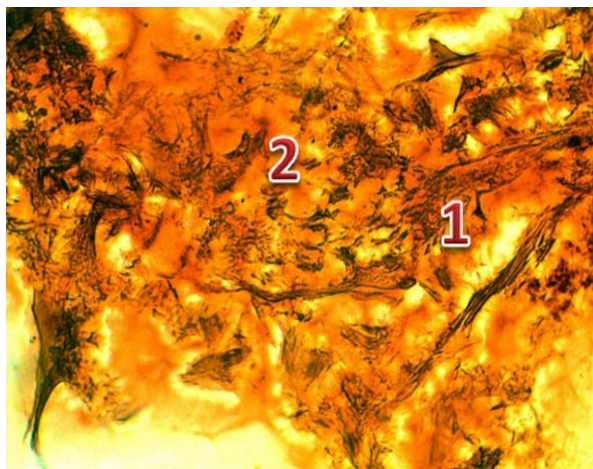


Рисунок 3.14. Мікроскопічний стан кістки тварини контрольної групи на 28-му добу після нанесення дефекту. Забарвлення гематоксиліном та еозином. ×200.

Примітки: 1 – пошкоджена ділянка; 2 – фіброзно-ретикулярна тканина.

остеобласти неправильної або відростчатої форми. Навколо таких клітин формувались волокна, занурені у осемукоїд.

У цей термін експерименту спостерігався ангіогенез, оновлення судинного русла, структури якого виявлялись у крайових ділянках пошкодженої кістки. Таким чином, при моделюванні механічної травми проксимального відділу великогомілкової кістки у контрольній групі тварин у ранні терміни мали місце дистрофічно-некротичні зміни, які поєднувались із запальною реакцією з подальшим розвитком грануляційної тканини. З 14-ї доби спостерігалась помірна проліферація фібробластів та синтез міжклітинної речовини, колагенових волокон, що приводило до закриття дефекту фіброзно-ретикулярною тканиною до 28-ї доби експерименту.

Регенераторні процеси, спрямовані на оновлення кістки, були пригнічені і потребували застосування чинників, що повинні стимулювати загоєння дефекту.

Ремоделювання кістки тварин у ділянці дефекту при корекції ловастатином у типовій лікарській формі різної концентрації в ранні й віддалені терміни експерименту

Гістологічні дослідження проксимального відділу пошкодженої великогомілкової кістки тварин у різні терміни досліді при застосуванні ловастатину в концентрації 0,1 мг/кг, 1,0 мг/кг та 5,0 мг/кг засвідчили, що при застосуванні типової форми ловастатину, введення препарату в концентрації 5,0 мг/кг найбільш ефективно впливає на загоєння пошкодженої ділянки кістки. В ранні терміни досліді (3-тя, 7-ма доби після травми кістки) при застосуванні препарату відбувалося зменшення кров'яного згустка, відмічали початкові ознаки регенераційних процесів. Вони проявлялись формуванням фіброзно-ретикулярної тканини, проте у периферійних ділянках відбувалось формування грубо-волокнустої кісткової тканини.

Мікроскопічно через 7 діб досліді встановлено, що в ділянці ураження кістки фрагменти кров'яного згустка були невеликі. Внаслідок репаративної регенерації у ділянці пошкодження виявлялася фіброзно-ретикулярна тканина, що заповнювала пошкоджену ділянку кістки. Її складали фібробласти, колагенові волокна, що утворювали окремі пучки. У крайових ділянках відмічались неширокі гемокапіляри, остеокласти, поодинокі остеобласти. Були наявні також групи хондробластів, що диференціювались з камбіальних клітин окістя (рис. 3.15). Мікроскопічні дослідження, проведені через 14 діб досліді при застосуванні ловастатину в концентрації 5,0 мг/кг встановили, що у ділянці дефекту кістки згусток крові зникав, його заміщувала фіброзно-ретикулярна тканина (рис. 3.16). В ділянці загоєння наявні камбіальні клітини, фібробласти, колагенові волокна.

Щодо терапевтичних доз ловастатину 0,1 та 1,0 мг/кг у типовій лікарській формі, то мікроскопічні дослідження, проведені через 7 діб експерименту, показали, що в ділянці ураження компактної частини кістки наявні фрагменти

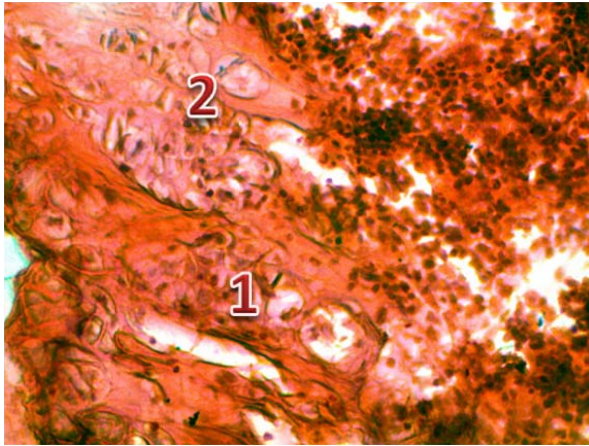


Рисунок 3.15. Структурні зміни кістки тварини із модельованим дефектом через 7 діб експерименту при застосуванні ловастатину в концентрації 5,0 мг/кг. Забарвлення гематоксиліном та еозином. ×200.
Примітки: 1 – фіброзно-ретикулярна тканина; 2 – хондробласти.

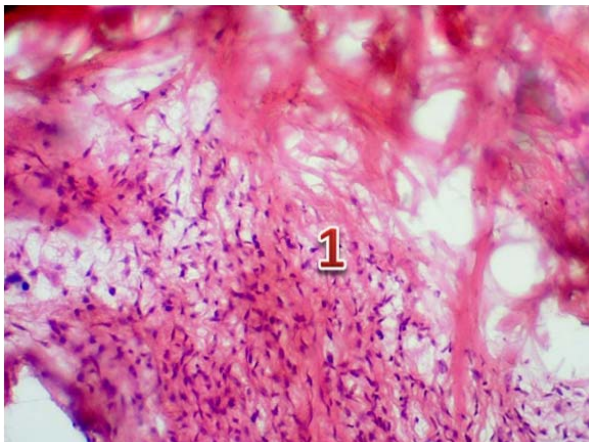


Рисунок 3.16. Структурні зміни великогомілкової кістки тварини із модельованим дефектом через 14 діб експерименту при застосуванні ловастатину в концентрації 5,0 мг/кг. Забарвлення гематоксиліном та еозином. ×200.
Примітки: 1 – фіброзно-ретикулярна тканина.

кров'яного згустка, які за площею дещо менші, ніж у тварин контрольної групи. Дистрофічно-некротичні зміни поєднувались з ознаками регенераційних процесів. З боку пошкоджених ділянок кістки виявлялись остеокласти, фібробласти, поодинокі остеобласти, тонкі колагенові волокна та окремі гемокапіляри. Спостерігались ознаки формування фіброзно-ретикулярної тканини. Через 14 діб досліду спостерігали зменшення розмірів ділянки дефекту, фіброзно-ретикулярна тканина поступово заповнювала пошкоджену ділянку кістки. Гістологічні дослідження ділянки пошкодженої кістки тварин, проведені через 28 діб експерименту, встановили, що регенераторні процеси забезпечували заміщення травмованої ділянки новоствореною грубоволокнистою кістковою тканиною (рис. 3.17). Міжклітинна речовина у

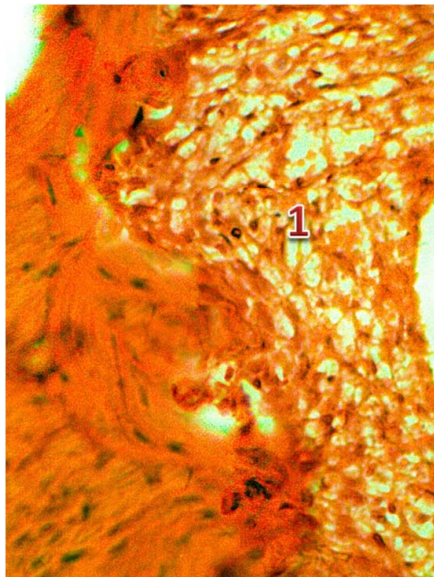


Рисунок 3.17. Мікроскопічний стан кістки тварини із модельованим дефектом через 28 діб експерименту при застосуванні ловастатину в концентрації 5,0 мг/кг. **Забарвлення гематоксиліном та еозином. ×200.**

Примітки: 1 – грубоволокниста кісткова тканина.

місці загоєння насичена волокнами, що занурені в осемуючі. Спостерігались остеобласти, остецити.

Отже, проведені гістологічні дослідження великогомілкової кістки в динаміці після нанесеного дефекту встановили позитивний вплив ловастатину на регенерацію кісткової тканини. Введення препарату в концентрації 5,0 мг/кг найбільш ефективно впливає на загоєння пошкодженої ділянки кістки. В ранні терміни досліджу (3-тя, 7-ма доби після травми кістки) при застосуванні препарату відбувалося зменшення кров'яного згустка, відмічались початкові ознаки регенераційних процесів. Вони проявлялись формуванням фіброзно-ретикулярної тканини, проте у периферійних ділянках відбувалось формування грубоволокнистої кісткової тканини. У віддалені терміни (14-та, 28-ма доби) досліджу і особливо при застосуванні ловастатину в концентрації 5,0 мг/кг, пошкоджена ділянка кістки була заповнена новоствореною грубоволокнистою кістковою тканиною.

Очевидно, середньотерапевтичні дози даного статину при використанні препарату у звичайній формі не викликають достатнього накопичення препарату в зоні кісткового дефекту і є неефективними.

Цю гіпотезу також підтверджують дані рентгенологічних досліджень. Так, діаметр кісткового дефекту на 14-ту добу виявився найменшим у групі тварин, лікованих дозою 5,0 мг/(кг·добу) – 1,78 мм при найвищій рентгенологічній щільності (-572,8 ОД за Хаусфілдом), тоді як при застосуванні дози 0,1 мг/(кг·добу) зафіксовано 2,11 мм і при дозі 1,0 мг/(кг·добу) – 2,18 мм. У тварин контрольної групи на даному етапі дослідження діаметр кісткового дефекту був 2,04 мм. Враховуючи те, що модель кісткового дефекту передбачала створення отвору діаметром 2,0 мм, то збільшення даного рентгенологічного показника на 14-ту добу у тварин контрольної групи та лікованих середньотерапевтичною дозою ловастатину може свідчити про надмірні остеорезорбтивні явища на попередніх етапах остеорегенерації, а зменшення отвору при використанні найбільших

доз ловастатину супроводжується процесами остеорегенерації. Така закономірність відмітилась і на 28-му добу. У групі тварин, що отримували ловастатин дозований 5,0 мг/(кг·добу) спостерігали повне закриття кісткового дефекту при найвищій рентгенологічній щільності (+155,2 ОД за Хаусфілдом). При лікуванні ловастатином у менших дозах та у контрольній групі відмічалось наявність кісткового дефекту на комп'ютерних томограмах.

При вивченні впливу ловастатину на остеорегенерацію за даними гістологічних характеристик виявлено, що саме у дозі 5,0 мг/кг спостерігався найбільший вплив на ремоделювання кісткової тканини, що проявлялось зменшенням кров'яного згустка, ознаками початкових регенераторних процесів на 7-му добу, появою остеобластів на 14-ту добу і формуванням грубоволокнистої тканини, яка заповнила створений кістковий дефект на 28-му добу.

Оптимізація кісткового метаболізму шляхом внутрішньом'язового введення ловастатину з дозуванням 5,0 мг/кг·добу протягом 28-ми днів викликало повне закриття дефекту кістковою мозоллю у всіх дослідних тварин (рис. 3.18).

Відновлення кісткової тканини, порівнюючи із контролем, супроводжувалося зростанням рентгенологічної щільності до (155,2±66,4) ОД за Хаусфілдом, що при порівнянні за U-критерієм Манна-Уїтні було статистично вірогідним ($p < 0,05$).

Ремоделювання кістки дослідних тварин у ділянці дефекту при застосуванні наночастинок ловастатину у ранні та пізні терміни експерименту

Гістологічні дослідження великогомілкової кістки тварин в ділянці дефекту через 3 та 7 діб після нанесення травми та місцевого застосування наночастинок ловастатину показали, що структурні зміни пошкодженої ділянки в цей термін були подібні до попередніх досліджень (рис. 3.19).

Виявлялися фрагменти пошкодженої кісткової тканини, згустки крові, що представлені некротизованими гемо-

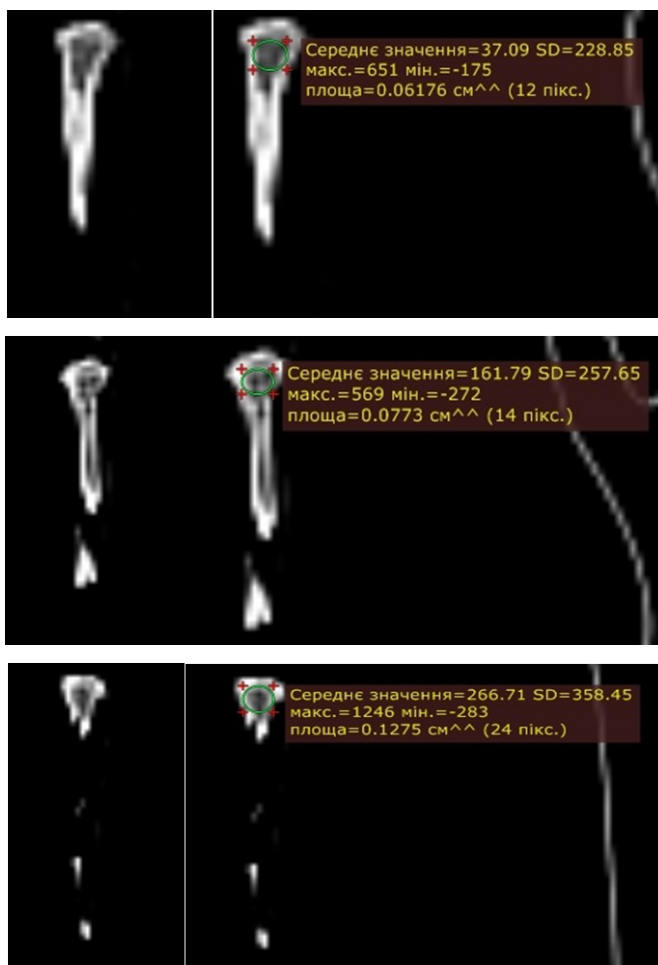


Рисунок 3.18. Комп'ютерна томограма пошкоджених кісток у щурів на 28-му добу при лікуванні ловастатином у дозі 5,0 мг/кг. ×4,0.

поетичними клітинами. У крайових ділянках були наявні остеокласти, лімфоцити, нейтрофіли, опасисті клітини, що відображало перебіг запалення. Поступово відбувалося заміщення згустка крові грануляційною тканиною. Міграція фібробластів з окістя, їх синтетична активність сприяли

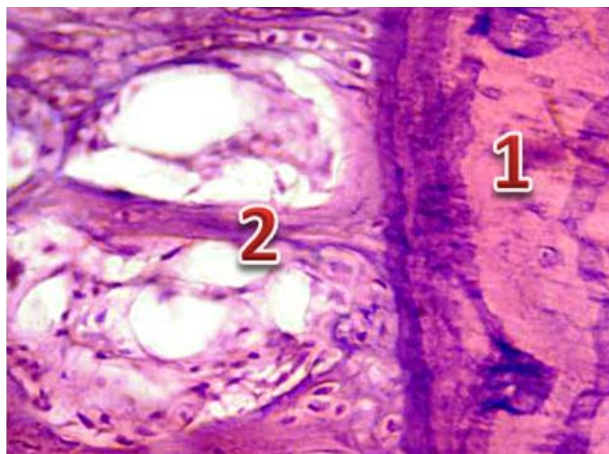


Рисунок 3.19. Гістологічні зміни великогомілкової кістки тварини із модельованим дефектом через 7 діб експерименту при застосуванні наночастинок ловастатину. Забарвлення гематоксиліном та еозином. ×400.

Примітки: 1 – непошкоджена кістка; 2 – грануляційна тканина.

формуванню міжклітинної речовини, що включала волокнисті компоненти.

Мікроскопічні дослідження травмованої кістки тварин через 14 діб експерименту при застосуванні наночастинок хітозану з ловастатиним виявили, що в ділянці дефекту зникав згусток крові, відбувалось його заміщення фіброзно-ретикулярною тканиною (рис. 3.20). В ній були наявні камбіальні клітини, фібробласти, колагенові волокна, що утворювали пучки. З боку окістя спостерігалися хондробласти, що диференціювалися з камбіальних клітин, частина з них була розташована невеликими групами.

Проведені мікроскопічні дослідження кістки тварин із модельованим дефектом через 28 діб корекції НЛВ встановили, що пошкоджена ділянка була заповнена грубо-волокнистою кістковою тканиною. Регенераторні процеси забезпечили формування міжклітинної речовини, яка включала волокнисті структури, що занурені у осемуклід.

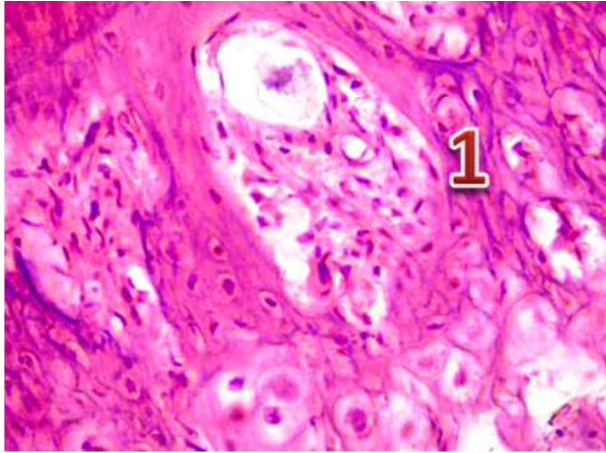


Рисунок 3.20. Мікроскопічний стан великогомілкової кістки тварини із модельованим дефектом через 14 днів експерименту при застосуванні наночастинок хітозану з ловастатином. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 400$.

Примітки: 1 – фіброзно-ретикулярна тканина.

У таких ділянках спостерігались також остеобласти, остеоцити (рис. 3.21).

Таким чином, застосування наночастинок хітозану з ловастатином після нанесення травми великогомілкової кістки активізують регенерацію кісткової тканини. Це проявлялось прискоренням заміщення згустка крові грануляційною тканиною, порівняно з тваринами контрольної групи.

Через 14 і особливо 28 днів експерименту в ділянці пошкодження кістки за умов використання наночастинок хітозану з ловастатином встановлено закриття дефекту кістки грубоволокнистою кістковою тканиною, що поступово формувалась.

Результати проведеної комп'ютерної томографії свідчать про те, що наночастинок хітозану з ловастатином сприяли швидшому закриттю кісткового дефекту вже на

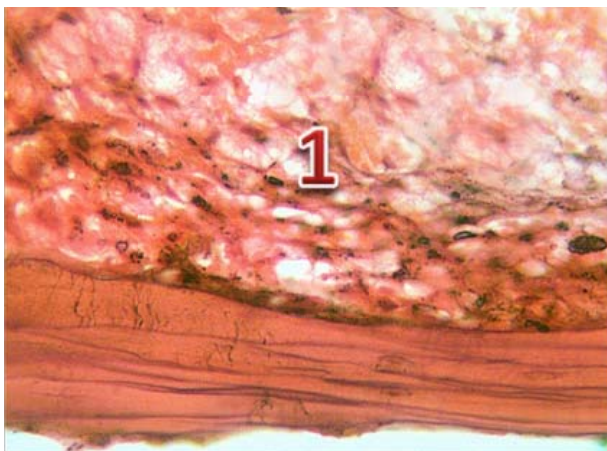


Рисунок 3.21. Гістологічні зміни великогомілкової кістки тварини із модельованим дефектом через 28 днів експерименту при застосуванні наночастинок хітозану з ловастатином. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 200$.

Примітки: 1 – грубоволокниста кісткова тканина.

14-ту добу, порівняно із тваринами контрольної групи та лікованих ловастатином у звичайній дозі. Діаметр кісткового дефекту в даному випадку склав 1,68 мм, що було на 17,6 % нижче показника контрольної групи і на 5,6 % від результату при використанні ловастатину в максимальній дозі. Ще одним вагомим аргументом стосовно кращої стимуляції остеогенезу було отримання найвищої рентгенологічної щільності, що склала в даному випадку (-232) ОД за Хаусфілдом.

Цікавим виявився факт, що за рентгенологічною характеристикою кісткової мозолі свої стимулюючі властивості наночастинок хітозану з ловастатином проявили найкраще саме на 14-ту добу, подібно до динаміки біохімічних показників сироватки крові. Такої закономірності на 28-му добу не спостерігалось, дані ліки не мали переваги порівняно з ловастатином у найвищій дозі. Ймовірно, під впли-

вом ловастатину, який накопичився в зоні дефекту завдяки доставці наночастинками хітозану, відбулося ефективне інгібування остеокластів у цій групі тварин. Що, у свою чергу, сприяло перебігу катаболічних процесів першої стадії остеорегенерації в оптимальні терміни. Рентгенологічні показники великогомілкових кісток на 28-му добу при корекції остеогенезу наночастинками хітозану з ловастатинном відображені на рисунку 3.22.

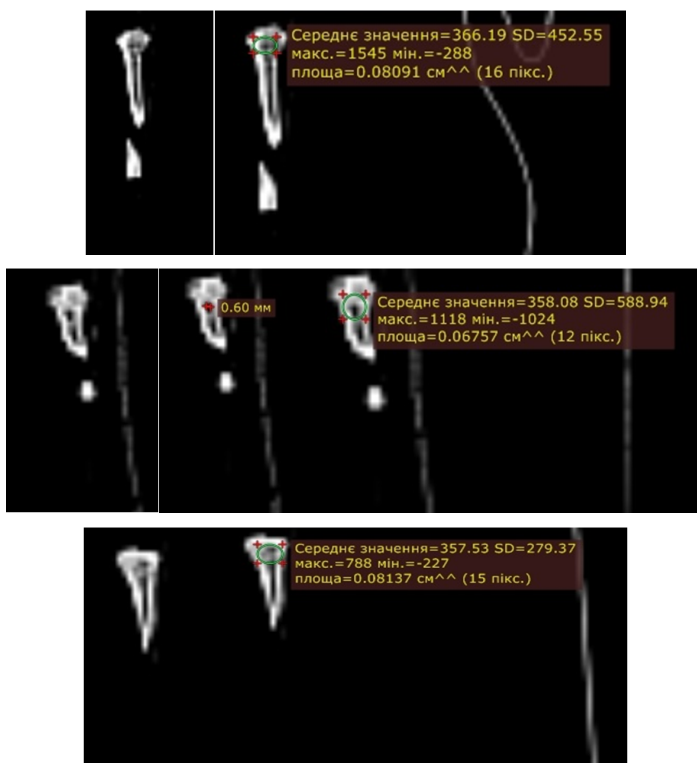


Рисунок 3.22. Рентгенологічна динаміка остеорегенерації у щурів із кістковим дефектом на 28-му добу при лікуванні наночастинками хітозану з ловастатинном. $\times 4,0$.

Ремодельовання кістки дослідних тварин у ділянці дефекту при застосуванні наноаквахелатів у ранні та пізні періоди експерименту

Гістологічні дослідження ураженої кістки після формування травми за дії наноаквахелатів показало, що послідовність змін була подібна до попереднього дослідю.

У ранні терміни (3-тя, 7-ма доби) структурні зміни в ділянці дефекту мали деструктивний характер, проте мали і початкові ознаки регенерації. Через 14 діб експерименту поряд із дозріванням грануляційної тканини в ділянці пошкодження, була наявна проліферація фібробластів та остеобластів, відмічалась фіброзно-ретикулярна тканина (рис. 3.23).

Гістологічні дослідження кістки тварин із модельованим дефектом через 28 діб експерименту при застосуванні наноаквахелатів показали, що в ділянці дефекту утворювалась грубо-волокниста кісткова тканина. Вона складалась з остеобластів, остеоцитів та осейнових волокон, оточених осемукоїдом.

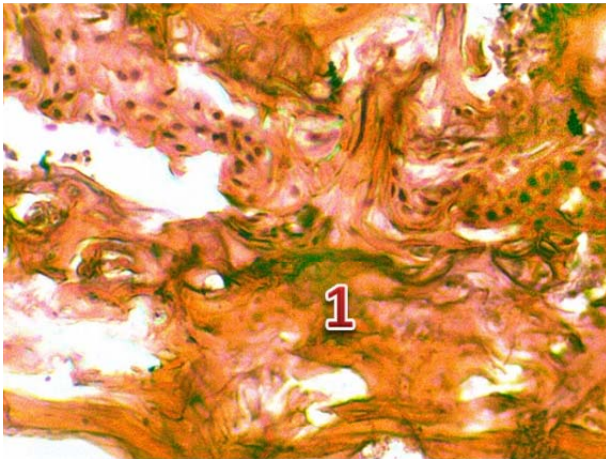


Рисунок 3.23. Структурні зміни великогомілкової кістки тварини із модельованим дефектом через 14 діб експерименту при застосуванні наноаквахелатів.

Забарвлення гематоксиліном та еозином. ×200.

Примітки: 1 – фіброзно-ретикулярна тканина.

Таким чином, гістологічні дослідження кістки після формування травми за дії наноаквахелатів активізували регенераційні процеси. У динаміці досліді поступово у пошкодженій ділянці формувалася грануляційна тканина, яка перетворювалась у фіброзно-ретикулярну. До кінця досліді (28-ма доба) за умов використання наноаквахелатів пошкоджена ділянка кістки була закрыта грубоволокнистою кістковою тканиною (рис. 3.24).

На 14-ту добу експерименту діаметр кісткового дефекту в контрольній групі склав 2,04 мм, тоді як під впливом наноаквахелатів металів даний показник становив 1,62 мм. Значно також відрізнялися у цих групах і показники рентгенологічної щільності. Якщо у контрольній групі на 14-ту добу досліді місце дефекту характеризувалося щільністю (-856,7ОД за Хаусфілдом), то у тварин лікованих наноаквахелатами Са, Fe, Си, Со, Zn, Mg рентгенологічна щільність дефекту склала (-219,4) ОД за Хаусфілдом. Часткове закриття травматичного

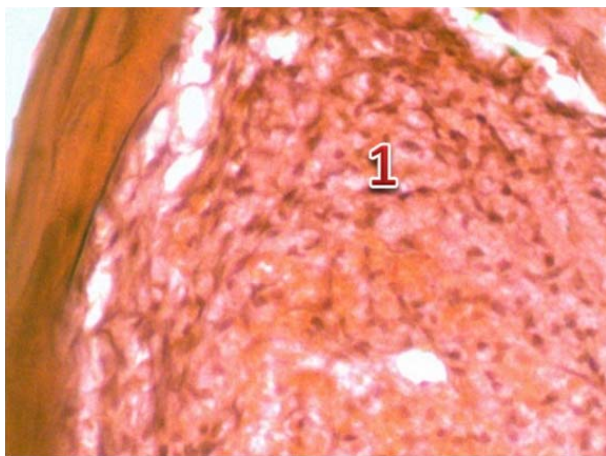


Рисунок 3.24. Мікроскопічний стан великогомілкової кістки тварини із модельованим дефектом через 28 діб експерименту при застосуванні наноаквахелатів. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 200$.

Примітки: 1 – грубоволокниста кісткова тканина.

кісткового дефекту під впливом наночастинок металів можна пояснити антисептичними властивостями Zn, Ag на першій стадії остеорегенерації та стимулюючою дією наночастинок Co, Fe, Ca на другій стадії відновлення кісткової тканини.

Використання наноаквахетатів металів протягом 28-ми днів привело до повного закриття кісткового дефекту в усіх тварин цієї групи. Тоді як у тварин контрольної групи ще зафіксовано лише часткове закриття кісткових дефектів. У сформованих кісткових мозолях спостерігали високі показники рентгенологічної щільності (+382,7) ОД за Хаусфілдом, що може засвідчити міцність та гарні біомеханічні характеристики новоствореного остеорегенерату.

Позитивна динаміка біохімічних показників та морфологічних характеристик кісткової мозолі на 28-му добу при використанні запропонованої суміші наноматеріалів відобразилася і на рентгенологічних показниках, результати яких показані на рисунку 3.25.

Під час гістоморфологічних досліджень кісткових мозолей за умови використання наноаквахелатів металів Ca, Fe, Cu, Co, Zn, Mg отримано активізацію остеорегенерації на I-II стадіях, поступове заміщення грануляційної тканини фіброзно-ретикулярною на 14-ту добу. Незважаючи на ознаки хрящової тканини, під впливом наноаквахелатів металів Ca, Fe, Cu, Co, Zn, Mg спостерігали формування грубо-волокнистої кісткової тканини на 28-му добу.

Ремодельовання кістки дослідних тварин у ділянці дефекту при поєднаному застосуванні наночастинок хітозану з ловастатином та наноаквахелатів металів у ранні та пізні періоди експерименту

Мікроскопічні дослідження встановили, що через 3 доби після модельовання дефектом, як і в попередніх дослідних групах, у ділянці травмування кістки виявляли фрагменти пошкодженої кісткової тканини, кров'яний згусток, що сформований внаслідок руйнування стінок судин і крововиливів (рис. 3.26).

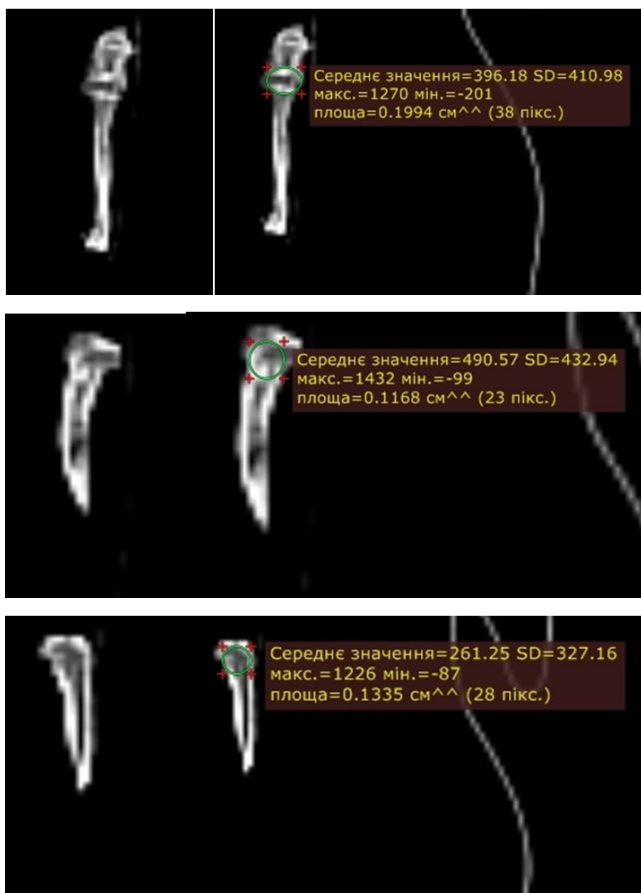


Рисунок 3.25. Показники комп'ютерної томографії дослідних щурів, лікованих наноаквахелатами металів, із кістковим дефектом на 28-му добу. $\times 4,0$.

Гістологічні дослідження через 7 днів експерименту виявили, що вже в цей термін в ділянці ураження кістки наявні лише невеликі фрагменти кров'яного згустка. Активний перебіг репаративної регенерації сприяв формуванню в ділянці пошкодження фіброзно-ретикулярній тканині, що заповнювала пошкоджену ділянку кістки (рис. 3.27). Спо-

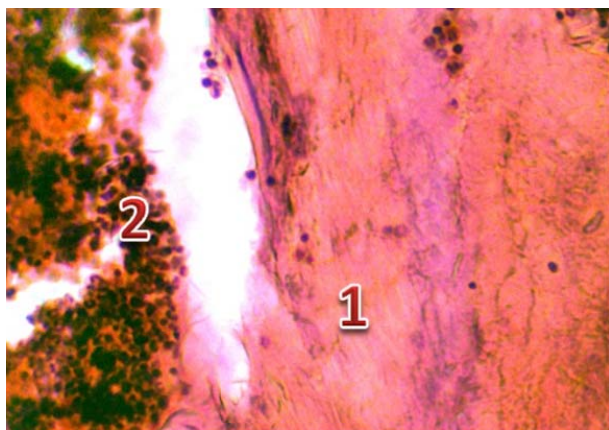


Рисунок 3.26. Гістологічні зміни великогомілкової кістки тварини із модельованим дефектом через 3 доби експерименту при поєднаному застосуванні наночастинок хітозану з ловастатином та наноаквахелатів металів. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 200$.

Примітки: 1 – пошкоджена кістка; 2 – кров'яний згусток у ділянці дефекту.

стерігалися фібробласти, колагенові волокна, що утворювали окремі пучки. У крайових ділянках були наявні неширокі гемокапіляри, остеокласти, поодинокі остеобласти. Це сприяло формуванню грубоволокнистої кісткової тканини.

Мікроскопічні дослідження, проведені через 14 днів дослідження при поєднаному застосуванні наночастинок хітозану з ловастатином та наноаквахелатів металів встановили, що внаслідок регенерації ділянка дефекту була виконана грубоволокнистою кістковою тканиною. Міжклітинна речовина включала волокнисті структури, занурені в осемукоїд (рис. 3.28).

Гістологічні дослідження кістки тварин із модельованим дефектом через 28 днів експерименту при застосуванні НЛВ та НА встановили, що ділянка дефекту закрита грубоволокнистою кістковою тканиною. Вона складалась з остеобластів, остеоцитів та осейнових волокон, оточених осемукоїдом.

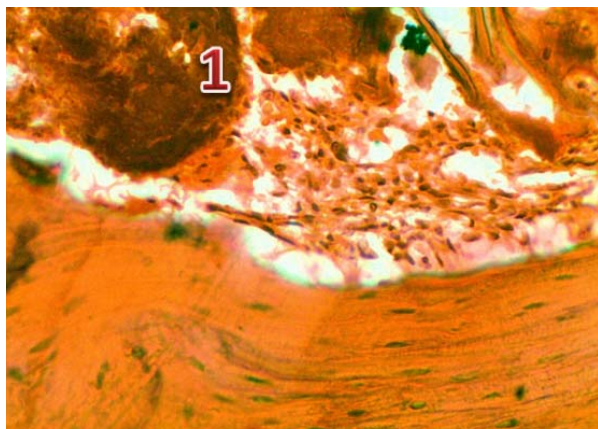


Рисунок 3.27. Мікроскопічний стан великогомілкової кістки тварини із модельованим дефектом через 7 днів експерименту при поєднаному застосуванні наноматеріалів. Забарвлення гематоксиліном та еозином. ×300.

Примітки: 1 – залишки згустка крові; 2 – формування грубоволокнистої кісткової тканини.

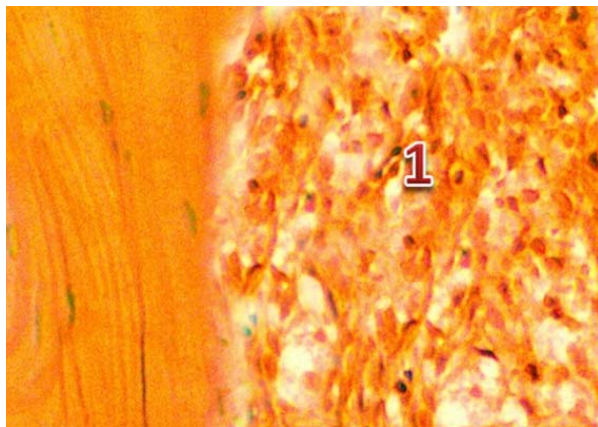


Рисунок 3.28. Гістологічні зміни великогомілкової кістки тварини із модельованим дефектом через 14 днів експерименту при поєднаному застосуванні наноматеріалів. Забарвлення гематоксиліном та еозином. ×200.

Примітки: 1 – грубоволокниста кісткова тканина.

Проте у центральній частині регенерату були сформовані трабекули, що є ознаками губчастої кістки (рис. 3.29).

Таким чином, проведені гістологічні дослідження великогомілкової кістки тварини із модельованим дефектом при поєднаному застосуванні наночастинок хітозану з ловастином та наноаквахелатів металів встановили найбільшу їх ефективність, порівняно з іншими методами корекції, що досліджувались. Вже через 7 діб у ділянці пошкодженої кістки встановлені ознаки реорганізації грануляційної тканини на грубоволокнисту кісткову тканину. Через 14 і 28 діб встановлено формування грубоволокнистої кісткової тканини, що мала ознаки губчастої кістки [334, 338, 339].

Дані комп'ютерних томограм засвідчили найменший діаметр кісткового травматичного дефекту на 14-ту добу експерименту саме у групі тварин, що отримували запропоновану комбінацію наноматеріалів. Важливим є також те, що швидше закриття кісткового дефекту супроводжу-

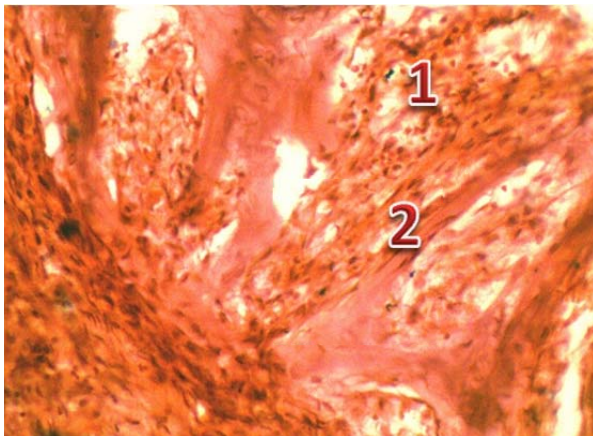


Рисунок 3.29. Мікроскопічний стан великогомілкової кістки тварини із модельованим дефектом через 28 діб при поєднаному застосуванні наноматеріалів. Забарвлення гематоксиліном та еозином. ×200.

Примітки: 1 – грубоволокниста кісткова тканина; 2 – формування трабекул.

валось найвищою рентгенологічною щільністю вже на цьому етапі дослідження. А значення рентгенологічної щільності прямо пропорційно відповідає міцності кісткової мозолі. Після 28-ми денного використання суміші наноматеріалів ми отримали повне закриття кісткового дефекту в усіх тварин цієї групи. І рентгенологічна щільність була максимальною саме у даній групі дослідних тварин. Можемо стверджувати, що рентгенологічна картина перебігу посттравматичної остеорегенерації також підтверджує позитивний ефект використання комбінації наноаквахелатів металів і наночастинок хітозану з ловастатином.

Стимулюючий вплив суміші наночастинок хітозану з ловастатином та наноаквахелатів металів підтверджені гістологічними характеристиками кісткової мозолі на різних стадіях експерименту.

При самотійному використанні гідратованих наночастинок металів у тварин з кістковою травмою на 28-му добу засвідчили відсутність кісткового дефекту в усіх тварин цієї групи. Водночас закриття дефекту супроводжувалося збільшенням рентгенологічної щільності проксимального відділу великогомілкових кісток на 28-му добу. Даний показник ($382,7 \pm 66,5$ ОД за Хаусфілдом) був достовірно вищим стосовно тварин контрольної групи ($p < 0,05$).

Аналогічно до тварин, що отримували ловастатин у дозі 5,0 мг/кг та окремим застосуванням наноаквахелатів Ca, Fe, Cu, Co, Zn, Mg, використання комбінації наноматеріалів викликало повне відновлення кісткового травматичного дефекту в усіх тварин. Проте у цій групі дослідних тварин отримано найвище значення рентгенологічної щільності ($+662,2 \pm 108,1$) ОД за Хаусфілдом, що відображає найвищу міцність кісткової тканини та кращі біомеханічні властивості (рис. 3.30).

Дана різниця була статистично достовірною відносно контрольної групи, тварин лікованих ловастатином звичайної форми у всіх дозах та окремим використанням наночастинок хітозану з ловастатином.

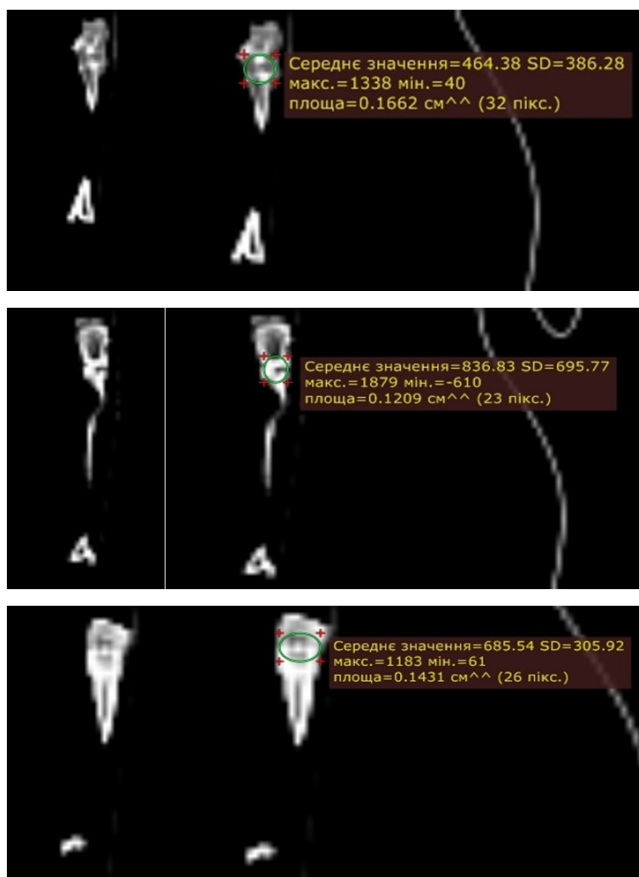


Рисунок 3.30. Комп'ютерна томограма великогомілкових кісток дослідних тварин на 28-му добу при лікуванні комбінацією наноматеріалів $\times 4,0$.

Підсумовуючи вищеописані результати даного розділу, можемо стверджувати, що застосування комбінації наночастинок хітозану з ловастатином та наноаквахелатів металів Ca, Fe, Cu, Co, Zn, Mg призвело до часткового закриття травматичного кісткового дефекту на 14-ту добу та повного відновлення кісткової тканини на 28-му добу експерименту при найкращих показниках рентгенологічної щільності.

У монографії наведено теоретичне обґрунтування та експериментально підтверджено ефективність застосування наночастинок із лікарськими засобами та активними компонентами для цільової адресної доставки для корекції запального синдрому, цитокінового профілю, зменшення явищ оксидативного та нітрооксидативного стресу як універсальних компонентів розвитку різних патологічних процесів. Позитивні зрушення біохімічних показників та цитокінового профілю підтверджені структурними змінами – даними мікроскопічного, ультрамікроскопічного дослідження показниками комп'ютерної томографії.

1. У патогенезі контактного нікелевого дерматиту важлива роль належить оксидативному стресу, активації системи оксиду азоту і дисбалансу цитокінового профілю, які є важливими патогенетичними механізмами його розвитку.
2. Аплікації на уражену шкіру протягом одного тижня вільних звичайних форм бетаметазону дипропіонату, пегильованої супероксиддисмутази та високоселективного інгібітора iNOS 1400W призводять до зменшення інтенсивності запальної реакції, часткової нормалізації показників інтенсивності оксидативного та нітрооксидативного стресу і цитокінового профілю тварин із дерматитом, зниженням ступеня змін шкіри за візуальними ознаками і біохімічних та імунологічних показників. Інкапсульвані форми препаратів мали достовірно більш виражений антизапальний ефект та сприяли відновленню прооксидантно-антиоксидантної рівноваги.

3. Застосування комбінації засобів (бетаметазону, супероксиддисмутази, 1400W), інкапсульованих у полімерні хітозанові наночастинки, у щурів з контактним нікелевим дерматитом призводить до ефективної корекції ураження шкіри, що проявляється зменшенням інтенсивності запальної реакції за візуальною бальною шкалою, товщини шкірної складки, суттєвою нормалізацією маркерів системного запалення (вмісту лейкоцитів, ШОЕ, концентрації про- і антизапальних цитокінів), показників інтенсивності оксидативного й нітрооксидативного стресу, морфологічних змін на мікроскопічному та ультрамікроскопічному рівнях. Поєднане використання даних коригувальних засобів є достовірно ефективнішим, ніж застосування кожного з них окремо. Комбінацію засобів «Бетаметазон + СОД + 1400W», інкапсульованих у полімерні хітозанові наночастинки, можна вважати патогенетично обґрунтованим комплексом чинників корекції контактного дерматиту.
4. Внутрішньом'язове введення ловастатину у дозах 0,1 та 1,0 мг/кг вірогідно не впливає на вміст та активність маркерів остеорезорбції й остеорегенерації у піддослідних тварин, лише підвищення дози до 5,0 мг/кг відобразилось позитивною динамікою колагенолітичної активності плазми крові на 3-тю добу, сіалових кислот на 7-му добу та активністю лужної фосфатази на 14-ту добу. Застосування полімерних наночастинок з ловастатином викликає вірогідні зміни показників кислоти та лужної фосфатази, а також індексу мінералізації на 14-ту та 28-му доби, що свідчить про позитивний ефект наноінкапсульованого ловастатину на закриття кісткового дефекту. Позитивний ефект ловастатину особливо проявлявся при його застосуванні у наноінкапсульованому вигляді (уже на 7-му добу спостерігали часткове заміщення згустка крові грануляційною тканиною, а на 14-ту добу згусток крові був заміще-

ний фіброзно-ретикулярною тканиною. Через 28 діб відновлення кісткового дефекту відбулося за рахунок грубоволокнистої тканини).

5. Пероральне введення тваринам з кістковим дефектом наноаквахелатів Ca, Fe, Cu, Co, Zn, Mg приводить до оптимізації післятравматичного остеогенезу і позитивно впливає на перебіг остеорепаративних процесів, про що свідчать вірогідні зміни в бік нормалізації досліджуваних показників.
6. Морфологічний аналіз кісткових дефектів та сформованих кісткових мозолів показав, що ловастатин у звичайній формі найбільше впливає на ремоделювання кісткової тканини в концентрації 5,0 мг/кг (з 7-ї доби експерименту зменшувався об'єм кров'яного згустка, який з 14-ї доби заміщався фіброзно-ретикулярною тканиною з появою камбіальних клітин і фібробластів; до 28-ї доби в ділянці ушкодження формувалася грубоволокниста кісткова тканина з наявністю остеоцитів).
7. Застосування комбінації наноінкапсульованого ловастатину з наноаквахелатами металів у щурів з післятравматичним кістковим дефектом приводить до ефективної корекції посттравматичного репаративного процесу, що проявляється суттєвою нормалізацією маркерів остеорезорбції і остеорегенерації (Ca, P, фосфатаз, глікозаміногліканів, колагенолітичної активності плазми крові, С-реактивного білка, сіалових кислот та оксипроліну), поліпшенням морфологічної картини пошкодженої ділянки кістки, позитивною рентгенологічною динамікою закриття кісткового дефекту. Поєднане використання коригувальних засобів є вірогідно ефективнішим, ніж застосування кожного з методів окремо. Комбінацію «наноінкапсульований ловастатин + наноаквахелати Ca, Fe, Cu, Co, Zn, Mg» можна вважати патогенетично обґрунтованим комплексом засобів стимуляції репаративного остеогенезу при фрактурній хворобі.

Список використаної літератури

1. Дмитриева Е. Г. Наночастицы в медицине и фармацевтике. *Фундаментальные науки и практика* : сборник науч. тр. с материалами Третьей Междунар. телеконф. «Проблемы и перспективы современной медицины, биологии и экологии». Томск, 2010. С. 34–44.
2. Simvastatin prodrug micelles target fracture and improve healing / Z. Jia et al. *J. Control. Release*. 2015. 200. С. 23–34.
3. Local application of pyrophosphorylated simvastatin prevents experimental periodontitis / X. Wang et al. *Pharm. Res*. 2018. Vol. 35, 8. P. 164
4. The effects of locally applied simvastatin on an experimental mouse femur nonunion model / A. Koçer et al. *Acta Orthop. Traumatol. Turc*. 2014. Vol. 48, № 6. P. 679–684.
5. Nanomechanics insights into the performance of healthy and osteoporotic bones / Y. T. Wang et al. *Nano Lett*. 2013. Vol. 13, № 11. P. 5247–5254.
6. No Y. J., Roohani-Esfahani S. I., Zreiqat H. Nanomaterials: the next step in injectable bone cements. *Nanomedicine*. 2014. Vol. 9, № 11. P. 1745–1764.
7. Чекман І. С. Наночастинки: властивості та перспективи застосування. *Український біохімічний журнал*. 2009. № 1, т. 81. С. 122–128.
8. Чекман І. С. Нанонаука: історичний аспект, перспективи досліджень. *Український медичний часопис*. 2009, № 3, т. 71. С. 19–21.
9. Abdul-Majeed S., Mohamed N., Soelaiman I. N. The Use of delta-tocotrienol and lovastatin for anti-osteoporotic therapy. *Life Sci*. 2015, № 125. P. 42–48.
10. Фейнман Р. Ф. Внизу полным-полно места: приглашение в новый мир физики. *Российский химический журнал*. 2002. № 5, т. 46. С. 4–9.
11. Effect of RhBMP-2 sustained-release nanocapsules on the ectopic osteogenesis process in Sprague-Dawley rats / R. F. Lai et al. *Asian Pac. J. Trop. Med*. 2013. Vol. 6, № 11. P. 884–888.

12. Чекман І. С. Нанотехнології в педіатричній практиці: стан, перспективи досліджень. *Український медичний часопис*. 2010. № 6, т. 80. С. 47–50.
13. Коляденко Е. В. Перспективы использования наночастиц в дерматологии. *Український журнал дерматології, венерології, косметології*. 2009. № 3, т. 23. С. 23–24.
14. Evaluation of bone repair of critical size defects treated with simvastatin-loaded poly(lactic-co-glycolic acid) microspheres in rat calvaria / L. B. Ferreira. *J. Biomater. Appl.* 2015. Vol. 29, № 7. P. 965–976.
15. Analysis of bone repair and inflammatory process caused by simvastatin combined with PLGA+HA+ β TCP scaffold / I. C. Encarnaçãõ. *Implant Dent.* 2016. Vol. 25, № 1. P. 140–148.
16. The effects of improved metabolic risk factors on bone turnover markers after 12 weeks of simvastatin treatment with or without exercise / J. Jiang et al. *Metabolism*. 2014. Vol. 63, № 11. P. 1398–1408.
17. A novel anabolic agent: a simvastatin analogue without HMG-CoA reductase inhibitory activity / K. C. Hsieh et al. *Org. Lett.* 2014. Vol. 16, № 17. P. 4376–4379.
18. Behavioural and cognitive effects of simvastatin dose used in stimulation of bone regeneration in rats / D. N. de Sousa et al. *Acta Cir. Bras.* 2014. Vol. 29, № 3. P. 151–157.
19. Synthesis and characterization of cationic polymeric nanoparticles as simvastatin carriers for enhancing the osteogenesis of bone marrow mesenchymal stem cells / C. Z. Wang et al. *J. Colloid Interface Sci.* 2014. № 432. P. 190–199.
20. The effect of simvastatin on the regeneration of surgical cavities in the femurs of rabbits / J. E. G. C. Rosselli. *Acta Cir. Bras.* 2014. Vol. 29, № 2. P. 87–92.
21. *In vitro* and *in vivo* evaluation of the osteogenic ability of implant surfaces with a local delivery of simvastatin / S. Zhao et al. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* 2014. Vol. 29, № 1. P. 211–220.
22. Percutaneous lovastatin accelerates bone healing but is associated with periosseous soft tissue inflammation in a canine tibial osteotomy model / J. A. Bleedorn et al. *J. Orthop. Res.* 2014, Vol. 32, № 2. P. 210–216.
23. The effect of simvastatin-loaded polymeric microspheres in a critical size bone defect in the rabbit calvaria / Y. Naito et al. *Int. J. Pharm.* 2014. Vol. 461, № 1–2. P. 157–162.
24. Enhancement of osteoinduction by continual simvastatin release from poly(lactic-co-glycolic acid)-hydroxyapatite-simvastatin na-

- no-fibrous scaffold / L. Jiang et al. *J. Biomed. Nanotechnol.* 2013. Vol. 9, № 11. P. 1921–1928.
25. Intradiscal injection of simvastatin results in radiologic, histologic, and genetic evidence of disc regeneration in a rat model of degenerative disc disease / K. D. Than et al. *Spine J.* 2014. Vol. 14, № 6. P. 1017–1028.
26. Liposomal forms of anticancer agents beyond anthracyclines: present and future perspectives / A. Papachristos et al. *J. Liposome Res.* 2015. Vol. 25, № 2. P. 166–173.
27. Bhatia S. *Natural Polymer Drug Delivery Systems: Nanoparticles, Plants, and Algae*, Springer, 2016. 225 p.
28. Mitry M. A., Edwards J. G. Doxorubicin induced heart failure: phenotype and molecular mechanisms. *Int. J. Cardiol. Hear. Vasc.* 2016. № 10. P. 17–24. h
29. Doxorubicin metabolism and toxicity in human myocardium: role of cytoplasmic deglycosidation and carbonyl reduction / S. Licata et al. *Chem. Res. Toxicol.* 2000. Vol. 13, № 5. P. 414–420.
30. Volkova M., Russell R., III. Anthracycline Cardiotoxicity: prevalence, pathogenesis and treatment. *Curr. Cardiol. Rev.* 2011. Vol. 7, № 4. P. 214–220.
31. Doxorubicin pathways: pharmacodynamics and adverse effects / C. F. Thorn et al. *Pharmacogenet. Genomics.* 2011. Vol. 21, № 7. P. 440–446.
32. Doxorubicin cardiomyopathy / K. Chatterjee et al. *Cardiology* 2010. Vol. 115, № 2. P. 155–162.
33. Vitamins in heart failure: friend or enemy? / G. Georgiopoulos et al. *Curr. Pharm. Des.* 2017. Vol. 23, № 25. P. 3731–3742.
34. Long-term cardiac sequelae in operable breast cancer patients given adjuvant chemotherapy with or without doxorubicin and breast irradiation / M. Zambetti et al. *J. Clin. Oncol.* 2001. Vol. 19, № 1. P. 37–43.
35. Cardiac complications of cancer therapy: pathophysiology, identification, prevention, treatment, and future directions / D. Jain et al. *Curr. Cardiol. Rep.* 2017. Vol. 19, № 5. P. 36.
36. Cardio-oncology: a new and developing sector of research and therapy in the field of cardiology / P. M. Kostakou et al. *Heart Fail. Rev.* 2019. Vol. 24, № 1. P. 91–100.
37. Влияние препарата реамберин на кардиотоксическое действие антрациклинов в лечении местнораспространенного рака молочной железы / Е. А. Резникова и др. *Вестник Санкт-Петербургского государственного университета* 2018. № 1. С. 10–14.

- бургской государственной медицинской академии им. И. И. Мечникова. 2004. № 12. С. 123–126.
38. Самура Б. Б. Повреждения миокарда, индуцированные антрациклинами. Диагностика и лечение. *Український медичний вісник*. 2008. № 12. С. 46–52.
 39. State of the art review: chemotherapy-induced cardiotoxicity in children / R. W. Loar et al. *Congenit. Heart Dis*. 2018. Vol. 13, № 1. P. 5–15.
 40. Использование липосомальной формы антибиотиков антрациклинового ряда в лечении экспериментальных форм опухолевых процессов / С. А. Шалимов и др. *Український хіміотерапевтичний журнал*. 2004. № 1–2, т. 9. С. 65–68.
 41. Сравнительное экспериментальное токсикологическое исследование доксорубицина и его наносомальных лекарственных форм / И. Д. Трещалин и др. *Российский биотерапевтический журнал*. 2008. № 3, т. 7. С. 24–33.
 42. Safra T. Cardiac safety of liposomal anthracyclines. *Oncologist*. 2003. № 8, Suppl 2. P. 17–24.
 43. Calvarial defect healing by recruitment of autogenous osteogenic stem cells using locally applied simvastatin / C. Yueyi et al. *Biomaterials*. 2013. Vol. 34, № 37. P. 9373–9380.
 44. Local injection of a single dose of simvastatin augments osteoporotic bone mass in ovariectomized rats / N. Yang et al. *J. Bone Miner. Metab*. 2014. Vol. 32, № 3. P. 252–260.
 45. Osseointegration of biochemically modified implants in an osteoporosis rodent model / B. Stadlinger et al. *Eur. Cells Mater*. 2013. № 25. P. 326–340.
 46. Sadiasa A., Kim M. S., Lee B. T. Poly(lactide-co-glycolide acid)/biphasic calcium phosphate composite coating on a porous scaffold to deliver simvastatin for bone tissue engineering. *J. Drug Target*. 2013. Vol. 21, № 8. P. 719–729.
 47. Local injection of lovastatin in biodegradable polyurethane scaffolds enhances bone regeneration in a critical-sized segmental defect in rat femora / T. Yoshii et al. *J. Tissue Eng. Regen. Med*. 2014. Vol. 8, № 8. P. 589–595.
 48. Effects of simvastatin gel on bone regeneration in alveolar defects in miniature pigs / S. Chen et al. *Chin. Med. J. (Engl)*. 2011. Vol. 124, № 23. P. 3953–3958.
 49. Force T., Wang Y. Mechanism-Based Engineering against Anthracycline Cardiotoxicity. *Circulation*. 2013. Vol. 128, № 2. P. 98–100.

50. Impact of agglomeration state of nano- and submicron sized gold particles on pulmonary inflammation / I. Gosens et al. *Part. Fibre Toxicol.* 2010. Vol. 7, № 37.
51. PEG-functionalized zinc oxide nanoparticles induce apoptosis in breast cancer cells through reactive oxygen species-dependent impairment of DNA damage repair enzyme NEIL2 / S. Chakraborti et al. *Free Radic. Biol. Med.* 2017. Vol. 103. P. 35–47.
52. Serum bone formation marker correlation with improved osseointegration in osteoporotic rats treated with simvastatin / Z. Du et al. *Clin. Oral Implants Res.* 2013. Vol. 24, № 4. P. 422–427.
53. Therapeutic effect of local administration of low-dose simvastatin-conjugated gelatin hydrogel for fracture healing / T. Fukui et al. *J. Bone Miner. Res.* 2012. Vol. 27, № 5. P. 1118–1131.
54. Bone healing of critical-sized nasal defects in rabbits by statins in two different carriers / A. Mukozawa et al. *Clin. Oral Implants Res.* 2011. Vol. 22, № 11. P. 1327–1335.
55. Highly efficient release of lovastatin from poly(lactic-co-glycolic acid) nanoparticles enhances bone repair in rats / M. H. Ho et al. *J. Orthop. Res.* 2011. Vol. 29, № 10. P. 1504–1510.
56. Study of the boron levels in serum after implantation of different ratios nano-hexagonal boron nitride-hydroxy apatite in rat femurs / A. Atila et al. *Mater. Sci. Eng.* 2016. Vol. 58. P. 1082–1089.
57. Relevance of fiber integrated gelatin-nanohydroxyapatite composite scaffold for bone tissue regeneration / B. H. Shamaz et al. *Nanotechnology.* 2015. Vol. 26, № 40. P. 405101.
58. Ahmad G., Amiji M. M. Cancer stem cell-targeted therapeutics and delivery strategies. *Expert Opinion on Drug Delivery.* 2017. Vol. 14, № 8. P. 997-1008.
59. Comparison of nano-sized hydroxyapatite and b -tricalcium phosphate in the treatment of human periodontal intrabony defects / R. Jain et al. *J. Clin. diagnostic Res.* 2014. Vol. 8, № 10. P. ZC74.
60. Compromised bone healing following spacer removal in a rat femoral defect model / G. Skaliczki et al. *Acta Physiol. Hung.* 2012. Vol. 99, № 2. P. 223–232.
61. Nanotopology potentiates growth hormone signalling and osteogenesis of mesenchymal stem cells / J. R. Wang et al. *Growth Horm. IGF Res.* 2014. Vol. 24, № 6. P. 245–250.
62. Composite scaffolds of nano-hydroxyapatite and silk fibroin enhance mesenchymal stem cell-based bone regeneration via the

- interleukin-1alpha autocrine/paracrine signaling loop / H. Liu et al. *Biomaterials*. 2015. № 49. P. 103–112.
63. Membrane-reinforced three-dimensional electrospun silk fibroin scaffolds for bone tissue engineering / S. Y. Yang et al. *Biomed. Mater.* 2015, Vol. 10, № 3. P. 035011.
 64. Osteogenic/angiogenic dual growth factor delivery microcapsules for regeneration of vascularized bone tissue / R. Subbiah et al. *Adv. Healthc. Mater.* 2015. Vol. 4, № 13. P. 1982–1992.
 65. Natural-origin polymers as carriers and scaffolds for biomolecules and cell delivery in tissue engineering applications / P. B. Malafaya et al. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2007. Vol. 59, № 4–5. P. 207–233.
 66. Allergic contact dermatitis: epidemiology, molecular mechanisms, in vitro methods and regulatory aspects / M. Peiser et al. *Cell. Mol. Life Sci.* 2012. Vol. 69, № 5. P. 763–781.
 67. The economic burden of skin disease in the United States / S. Dehkharghani et al. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2003. Vol. 48, № 4. P. 592–599.
 68. Kalia S., Haiducu M. L. The burden of skin disease in the United States and Canada. *Dermatol. Clin.* 2012. Vol. 30, № 1. P. 5–18.
 69. Population-based study of self-reported skin exposures and symptoms in relation to contact allergy in adolescents / M. Lagrelius et al. *Contact Dermatitis*. 2017. Vol. 77, № 4. P. 242–249.
 70. Kruk J., Duchnik E. Oxidative stress and skin diseases: possible role of physical activity. *Asian Pacific J. Cancer Prev.* 2014. Vol. 15, № 2. P. 561–568.
 71. Уханова О., Шишалова Т., Копылов А. Патоморфологические изменения кожи у больных аллергическим контактным дерматитом при воздействии низкомолекулярных аллергенов (гаптенов). *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2012. № 2, т. 26. С. 71–73.
 72. Лусс Л. В. Современные проблемы диагностики и терапии аллергического контактного дерматита. *Дерматология*. 2009. № 2. С. 63–67.
 73. Кузнецова Ю. Контактный дерматит как результат агрессии окружающей среды. Чем лечить? *Российский аллергологический журнал*. 2015. № 5. С. 76–81.
 74. Курченко А. И. Дерматиты при контактной аллергии: особенности диагностики и лечения. *Астма та алергія*. 2016. № 1. С. 42–43.
 75. Jacob S. E., Castanedo-Tardan M. P. Pharmacotherapy for allergic contact dermatitis. *Expert Opin. Pharmacother.* 2007. Vol. 8, № 16. P. 2757–2774.

76. High frequencies of positive nickel/cobalt patch tests and high sweat nickel concentration in patients with intrinsic atopic dermatitis / H. Yamaguchi et al. *J. Dermatol. Sci.* 2013. Vol. 72, № 3. P. 240–245.
77. Schram S. E., Warshaw E. M., Laumann A. Nickel hypersensitivity: a clinical review and call to action. *Int. J. Dermatol.* 2010. Vol. 49, № 2. P. 115–125.
78. Molecular mechanisms of nickel allergy / M. Saito et al. *Int. J. Mol. Sci.* 2016. Vol. 17, № 2. P. 202.
79. Шандра О., Шухтін В. Атопический дерматит и взаимодействие нервной, эндокринной и иммунной систем. *Дерматологія та венерологія*. 2015. № 2. С. 30–41.
80. Сергеев А. Ю., Караулов А. В., Сергеев Ю. В. Иммунодерматология: иммунологические основы патогенеза главных воспалительных дерматозов человека. *Имунопатология, аллергология, инфектология*. 2003. № 3. С. 10–23.
81. Худан-Цільо І. І., Шевчук О. О., Корда М. М. Наноінкапсульовані препарати для топічного лікування контактної нікелевої дерматиту. *Sci. Eur.* 2018. № 2, т. 27. С. 46–55.
82. Спосіб отримання наноформи бетаметазона для лікування нікелевої дерматиту : пат. 127781 Україна : МПК А61К 31/573, А61Р 17/00. № u201801486 ; заявл. 15.02.2018 ; опубл. 27.08.2018, Бюл. № 16.
83. Спосіб лікування нікелевої дерматиту наноформою бетаметазона : пат. 129914 Україна : МПК А61К 31/573, А61Р 17/00. № u201801487 ; заявл. 15.02.2018 ; опубл. 26.11.2018, Бюл. № 22.
84. Худан-Цільо І. І., Шевчук О. О., Корда М. М. Терапевтичні можливості модуляції активності NO-Синтази при контактних дерматитах. *Sci. Eur.* 2018. № 1, т. 30. С. 49–53.
85. Chitosan IFN-gamma-PDNA nanoparticle (CIN) therapy for allergic asthma / M. Kumar et al. *Genet. Vaccines Ther.* 2003. Vol. 1, № 1. P. 3.
86. Худан-Цільо І. І., Іванюк А. С., Корда М. М. Вплив наноінкапсульованої ПЕГ-СОД на цитокіновий профіль у щурів з контактним дерматитом : зб. матеріалів Всеукр. наук.-практ. конф. Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм. Тернопіль, 2014. С. 278.
87. Худан-Цільо І. І., Корда М. М. Використання наноінкапсульованої СОД при контактному дерматиті : зб. матеріалів наук.-практ. конф. Здобутки клінічної та експериментальної медицини. Тернопіль, 2014. С. 136–137.

88. Clinical-epidemiological features of nickel hypersensitivity / A. Baroni et al. *Clin. Immunol. Endocr. Metab. Drugs*. 2014. № 1. P. 63–74.
89. Nickel contact dermatitis in children / M. Tuchman et al. *Clin. Dermatol.* 2015. Vol. 33, № 3. P. 320–326.
90. Evaluation and pattern of nickel dermatitis in patients with allergic contact dermatitis / M. Khan et al. *J. Pakistan*. 2016. Vol. 15, № 2. P. 136–139.
91. Morshedi M. M., Kinney T. B. Nickel hypersensitivity in patients with inferior vena cava filters: case report and literature and MAUDE database review. *J. Vasc. Interv. Radiol.* 2014. Vol. 25, № 8. P. 1187–1191.
92. The Danish Environmental Protection Agency. *An Investigation of Causes of Nickel Allergy. A LOUS (the List of Undesirable Substances) Follow-up Project Environmental Project No. 1869*, 2016.
93. Linauskienė K., Malinauskienė L., Blažienė A. Metals are important contact sensitizers: an experience from Lithuania. *Biomed Res. Int.* 2017. № 2017. P. 3964045.
94. Rocha V. B., Scherrer M. A. R. Thimerosal: current sources of contact in Brazil. *An. Bras. Dermatol.* 2014. Vol. 89, № 2. P. 376–378.
95. Сибірна Н. О., Люта М. Я., Климишин Н. І. Молекулярні механізми депонування оксиду азоту в еритроцитах. *Біологічні Студії/ Studia Biol.* 2010. № 1, т. 4. С. 143–160.
96. Ross R., Reske-Kunz A. B. The role of NO in contact hypersensitivity. *Int. Immunopharmacol.* 2001, Vol. 1, № 8. P. 1469–1478.
97. Inducible nitric oxide synthase demonstrated in allergic and irritant contact dermatitis / A. D. Ormerod et al. *Acta Derm Venereol.* 1997. Vol. 77, № 6. P. 436–440.
98. American contact dermatitis society core allergen Series 1 / P. C. Schalock et al. *American Contact Dermatitis Society Core Allergen Series. Dermatitis.* 2017. Vol. 28, № 2. P. 141–143.
99. Cals-Grierson M.-M. M., Ormerod A. D. Nitric oxide function in the skin. *Nitric Oxide.* 2004. Vol. 10, № 4. P. 179–193.
100. Li H., Horke S., Förstermann U. Vascular oxidative stress, nitric oxide and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2014. Vol. 237, № 1. P. 208–219.
101. Hydrogen Sulfide and nitric oxide interactions in inflammation / M. L. Lo Faro et al. *Nitric Oxide.* 2014. № 41. P. 38–47.
102. The role of nitric oxide in allergic contact dermatitis / S. Sahin et al. *Arch. Dermatol. Res.* 2001. Vol. 293, № 4. P. 214–217.
103. Saripalli Y. V, Gadzia J. E., Belsito D. V. Tacrolimus ointment 0.1% in the treatment of nickel-induced allergic contact dermatitis. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2003. Vol. 49, № 3. p. 477–482.

104. A spectrophotometric method for the direct detection and quantitation of nitric oxide, nitrite, and nitrate in cell culture media / L. A. Ridnour et al. *Anal. Biochem.* 2000. Vol. 281, № 2. P. 223–229.
105. Худан-Цильо И. И., Корда М. М. Характеристика структурной реорганизации кожи при коррекции никелевого дерматита наноформой бетаметазона. *Проблемы медицины и биологии.* 2017. № 3, т. 96. С. 171–176.
106. Hudan-Tsilio I. I., Korda M. M. *Highly selective INOS inhibitor N-(3-(Aminomethyl)benzyl)acetamide prevents oxidative stress in experimental contact dermatitis* : зб. матеріалів XI Українського біохімічного конгресу. Тернопіль, 2014. С. 148–149.
107. Hudan-Tsilio I. I. *Using of nanoencapsulated betamethasone in experimental contact dermatitis* : зб. матеріалів конф. Youth NanoBioTech – 2014. Молодіжний форум з нанобіотехнологій. Київ, 2014. С. 77–78.
108. Веремейчик А., Гайдук В., Давыдов В. Морфологические изменения кожи морских свинок при аллергическом контактном дерматите и его лечении низкоинтенсивным лазерным излучением. *Медицинский журнал.* 2003. № 3. С. 51–54.
109. Чурилов А., Соловьёва Е. Никель в биосредах здоровых женщин репродуктивного возраста. *Український медичний альманах.* 2011. № 3, т. 14. С. 194–195.
110. Галникіна С. О. Інноваційні аспекти догляду за шкірою у хворих на atopічний дерматит. *Семейная медицина.* 2014. № 54, т. 54. С. 118–120.
111. Clinical application of nitric oxide synthase inhibitor for atopic dermatitis / H. Morita et al. *Int. J. Dermatol.* 1995. Vol. 34, № 4. P. 294–295.
112. Topical nitric oxide application in the treatment of chronic extensor tendinosis at the elbow: a randomized, double-blinded, placebo-controlled clinical trial / J. A. Paoloni et al. *Am. J. Sports Med.* 2003. Vol. 31, № 6. P. 915–920.
113. N-omega-hydroxy-L-arginine is an intermediate in the biosynthesis of nitric-oxide from L-arginine / D. J. Stuehr et al. *J. Biol. Chem.* 1991. Vol. 266, № 10. P. 6259–6263.
114. Dizdaroglu M., Jaruga P. Mechanisms of free radical-induced damage to DNA. *Free Radical Research.* Taylor & Francis April 26, 2012, pp. 382–419.
115. Corsini E., Galli C. L. Epidermal cytokines in experimental contact dermatitis. *Toxicology.* 2000, Vol. 142, № 3. P. 203–211.

116. Role of oxidative stress in chemical allergens induced skin cells activation / E. Corsini et al. *Food Chem. Toxicol.* 2013. № 61. P. 74–81.
117. Schieber M., Chandel N. S. ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Curr. Biol.* 2014. Vol. 24, № 10. P. 1–25.
118. Ji H., Li X.-K. Oxidative stress in atopic dermatitis. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2016. № 2015. P. 1–8.
119. Lushchak V. I. Classification of oxidative stress based on its intensity. *EXCLI J.* 2014. № 13. P. 922–937.
120. Oxidative stress and its role in skin disease / K. J. Trouba et al. *Antioxid Redox Signal.* 2002. Vol. 4, № 4. P. 665–673.
121. Schieber M., Chandel N. S. ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Curr. Biol.* 2014. Vol. 24, № 10. P. 1–25.
122. Емельянов А. В. Глюкокортикоиды и ингибиторы кальциневрина для местного применения в современной стратегии лечения атопического дерматита. *Вопросы современной педиатрии.* 2006. № 4, т. 5. С. 87–91.
123. Туркевич О. Порівняння профілю безпечності деяких топічних глюкокортикостероїдів на основі аналізу та дослідження критеріїв оцінки відносного терапевтичного індексу. *Дерматологія.* 2012. № 1, т. 44. С. 70–81.
124. Калюжна Л. Д. Місце топічних глюкокортикоїдів у лікуванні дерматитів різної етіології. *Здоровье женщины.* 2016. № 8, т. 114. С. 33–36.
125. Dhar S., Seth J., Parikh D. Systemic side-effects of topical corticosteroids. *Indian J. Dermatol.* 2014. Vol. 59, № 5. P. 460–464.
126. Side-effects of topical steroids: a long overdue revisit / A. Coondoo et al. *Indian Dermatol. Online J.* 2014. Vol. 5, № 4. P. 416–425.
127. Prevention and management of glucocorticoid-induced side effects: A comprehensive review: gastrointestinal and endocrinologic side effects / A. Caplan et al. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2017. Vol. 76, № 1. P. 201–207.
128. A systematic review of topical corticosteroid withdrawal (“steroid addiction”) in patients with atopic dermatitis and other dermatoses / T. Hajar et al. *Journal of the American Academy of Dermatology.* 2015. Vol. 72, № 3. P. 541–549.
129. Ренопротективний ефект ентеросорбції на тлі застосування мелфалану *Здобутки клінічної та експериментальної медицини* : зб. матеріалів наук.-практ. конф. / О. О. Шевчук та ін. Тернопіль, 201. С. 136.

130. Review: lymphocytes, cytokines, chemokines and the T-helper 1-T-helper 2 balance in canine atopic dermatitis / C. M. Pucheu-Haston et al. *Vet. Dermatol.* 2015. Vol. 26, № 2. P. 124-e32.
131. Эффективность ингибиторов NO-синтаз при воспалении / О. Попович и др. *Вестник современной науки.* 2016. № 10. С. 104–108.
132. Sharma J. N., Al-Omran A., Parvathy S. S. Role of nitric oxide in inflammatory diseases. *Inflammopharmacology.* 2007. Vol. 15, № 6. P. 252–259.
133. Jensen L. E. Targeting the IL-1 family members in skin inflammation. *Curr. Opin. Investig. Drugs.* 2010, Vol. 11, № 11. P. 1211–1220.
134. Nickel sulfate promotes IL-17A producing CD4+ T cells by an IL-23-dependent mechanism regulated by TLR4 and Jak-STAT pathways / R. Bechara et al. *J. Invest. Dermatol.* 2017. Vol. 137, № 10. P. 2140–2148.
135. Interleukins (from IL-1 to IL-38), interferons, Transforming Growth Factor β , and TNF- α : receptors, functions, and roles in diseases / M. Akdis et al. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2016. Vol. 138, № 4. P. 984–1010.
136. A laboratory test based on determination of cytokine profiles: a promising assay to identify exposition to contact allergens and predict the clinical outcome in occupational allergic contact dermatitis / V. Bordignon et al. *BMC Immunol.* 2015. Vol. 16, № 1. P. 4.
137. The role of moisturizers in addressing various kinds of dermatitis: a review / S. Purnamawati et al. *Clinical Medicine and Research.* 2017. Vol. 15, № 3-4. P. 75–87.
138. Короленко В. Комбіноване застосування топічного стероїду та нанокосметичного препарату в дерматологічній практиці. *Дерматовенерологія. Косметологія. Сексопатологія.* 2010. № 1, т. 36. С. 22–27.
139. Nanomedicine strategies for targeting skin inflammation / M. M. Abdel-Mottaleb et al. *Nanomedicine* 2014. Vol. 9, № 11. P. 1727–1743.
140. Abramovits W., Granowski P., Arrazola P. Applications of nanomedicine in dermatology: use of nanoparticles in various therapies and imaging. *J. Cosmet. Dermatol.* 2010. Vol. 9, № 2. P. 154–159.
141. Nanoparticles and nanofibers for topical drug delivery / R. Goyal et al. *J. Control. Release* 2016. № 240. P. 77–92.
142. Elsabahy M., Wooley K. L. Cytokines as biomarkers of nanoparticle immunotoxicity. *Chem. Soc. Rev.* 2013. Vol. 42, № 12. P. 5552–5576.

143. Interaction of dermatologically relevant nanoparticles with skin cells and skin / A. Vogt et al. *Beilstein J. Nanotechnol.* 2014. Vol. 5, № 1. P. 2363–2373.
144. Nanotoxicology and nanoparticle safety in biomedical designs / J. Ai et al. *Int. J. Nanomedicine* 2011. № 6. P. 1117–1127.
145. Казанбаев Р., Прохоренков В. Эффективность применения соединений хитозана при экспериментальном дерматите, вызванном солями никеля и кобальта. *Сибирское медицинское обозрение.* 2013. № 5. С. 27–29.
146. Chitosan-hyaluronic acid nanoparticles loaded with heparin for the treatment of asthma / F. A. Oyarzun-Ampuero et al. *Int. J. Pharm.* 2009. Vol. 381, № 2. P. 122–129.
147. Polymeric nanoparticles-based topical delivery systems for the treatment of dermatological diseases / Z. Zhang et al. *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol.* 2013. Vol. 5, № 3. P. 205–218.
148. Update of immune events in the murine contact hypersensitivity model: toward the understanding of allergic contact dermatitis / T. Honda et al. *J. Invest. Dermatol.* 2013. № 133. P. 303–315.
149. Задымова Н. Коллоидно-химические аспекты трансдермальной доставки лекарств (обзор). *Коллоидный журнал.* 2013. № 5, т. 75. С. 543–556.
150. Broeders J. A., Ahmed Ali U., Fischer G. Systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials (RCTs) comparing topical calcineurin inhibitors with topical corticosteroids for atopic dermatitis: A 15-year experience. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2016. Vol. 75, № 2. P. 410-419.e3.
151. Hypersensitivity and nanoparticles: update and research trends / T. Mocan et al. *Clujul Med.* 2016. Vol. 89, № 2. P. 216.
152. Корж А. А., Дедух Н. В. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Стадии регенерации: (сообщение 1). *Ортопедия, травматология и протезирование.* 2006. № 1. С. 77–84.
153. Korkusuz F. Editorial comment: nanoscience in musculoskeletal medicine general. *Clinical Orthopaedics and Related Research.* 2013. Vol. 478, № 8. P. 2530-2531.
154. Nanobiotechnology and bone regeneration: a mini-review / N. Gusić et al. *Int. Orthop.* 2014. Vol. 38, № 9. P. 1877–1884.
155. Набоков А. Ю. Современный остеосинтез : руководство. Москва, 2007. 400 с.

156. Nanoparticulate zinc oxide as a coating material for orthopedic and dental implants / K. Memarzadeh et al. *J. Biomed. Mater. Res. - Part A*. 2015. Vol. 103, № 3. P. 981–989.
157. Microstructure and nanomechanical properties in osteons relate to tissue and animal age / J. Burket et al. *J. Biomech.* 2011. Vol. 44, № 2. P. 277–284.
158. Експериментально-теоретичне обґрунтування нових технологій остеосинтезу та заміщення дефектів кісток імплантатами на основі вуглецю / О. А. Тяжелов и др. *Ортопедия, травматология и протезирование*. 2008. № 4. С. 41–46.
159. Андрейчин В. А. Системний аналіз оперативного методу лікування діафізарних переломів і фактори впливу на репаративну регенерацію. *Травма*. 2014. № 5, т. 15. С. 59–64.
160. Бруско А. Т., Гайко Г. В. Современные представления о стадиях репаративной регенерации костной ткани при переломах. *Вісник ортопедії, травматології та протезування*. 2014. № 2. С. 5–8.
161. Streicher R. M., Schmidt M., Fiorito S. Nanosurfaces and nanostructures for artificial orthopedic implants. *Nanomedicine*. 2007. Vol 2, № 6. P. 861–874.
162. Кісткова тканина – природна наноструктура. Погляд на проблему (огляд літератури) / І. С. Чекман та ін. *Ортопедия, травматология и протезирование*. 2011. № 4. С. 105–110.
163. Nair M., Elizabeth E. Applications of titania nanotubes in bone biology. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 2015. Vol. 15, № 2. P. 939–955.
164. Pleshko N., Grande D. A., Myers K. R. Nanotechnology in orthopaedics. *J. Am. Acad. Orthop. Surg.* 2012. Vol. 20, № 1. P. 60–62.
165. Controlled dual delivery of BMP-2 and dexamethasone by nanoparticle-embedded electrospun nanofibers for the efficient repair of critical-sized rat calvarial defect / L. Li et al. *Biomaterials*. 2015. № 37. P. 218–229.
166. Combined delivery of BMP-2 and BFGF from nanostructured colloidal gelatin gels and its effect on bone regeneration *in vivo* / H. Wang et al. *J. Control. Release* 2013. Vol. 166, № 2. P. 172–181.
167. Electromagnetic fields and nanomagnetic particles increase the osteogenic differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells / M. O. Kim et al. *Int. J. Mol. Med.* 2015. Vol. 35, № 1. P. 153–160.
168. Efficacy of mesoporous silica nanoparticles in delivering BMP-2 plasmid DNA for *in vitro* osteogenic stimulation of mesenchy-

- mal stem cells / T. H. Kim et al. *J. Biomed. Mater. Res. - Part A*. 2013. Vol. 101 A, № 6. P. 1651–1660.
169. Increased fracture risk in normocalcemic postmenopausal women with high parathyroid hormone levels: A 16-year follow-up study / L. Rejnmark et al. *Calcif. Tissue Int.* 2011. Vol. 88, № 3. P. 238–245.
170. Association of simvastatin and hyperlipidemia with periodontal status and bone metabolism markers / A. Magán-Fernández et al. *J. Periodontol.* 2014. Vol. 85, № 10. P. 1408–1415.
171. *In vitro and in vivo* studies of BMP-2-loaded PCL-gelatin-BCP electrospun scaffolds / B. R. Kim et al. *Tissue Eng. - Part A*. 2014. Vol. 20, № 23–24. P. 3279–3289.
172. Targeted delivery of lovastatin and tocotrienol to fracture site promotes fracture healing in osteoporosis model: micro-computed tomography and biomechanical evaluation / N. I. Ibrahim et al. *PLoS One*. 2014. Vol. 9, № 12. e115595
173. Наноматериали и нанотехнологии в ветеринарной практике : учебное и практическое пособие / под. ред. В. Б. Борисевича, В. Г. Каплуненко. Киев : Авицена, 2012. 512 с.
174. Self-assembled polymeric nanoparticles for percutaneous co-delivery of hydrocortisone/hydroxytyrosol: An *ex vivo* and *in vivo* study using an NC/Nga mouse model / Z. Hussain et al. *Int. J. Pharm.* 2013. Vol. 444, № 1–2. P. 109–119.
175. Борисевич В. Б., Борисевич Б. В., Каплуненко В. Г. *Нанотехнологія у ветеринарній медицині* : навч.-практ. посіб. Київ : Ліра, 2009.
176. Нанотехнологія у лікуванні ран / В. Б. Борисевич та ін. *Вісник держ. агрокол. ун-ту*. 2008. № 1, т. 21. С. 186–190.
177. Дорощук В. О. *Наноаквахелати Ag, Cu, Zn при лікуванні запальних процесів кон'юнктиви і рогівки бактеріальної етіології* : Здобутки нанотехнології в лікуванні та профілактиці хвороб тварин / під ред. В. Б. Борисевич. Націон. ун-т біотехнолог. та природокорист. України. Київ, 2009.
178. Телятніков А. В. Наноаквахелати металів в лікуванні закритих переломів кісток у собак. *Вісник Житомир. нац. агрокол. ун-ту наук.-теорет. зб.* 2012. № 3, ч. 2. С.197–201.
179. Guideline contact dermatitis / J. Brasch et al. *Allergo J Int* 2014. Vol. 23, № 4. P. 126–38.
180. Hand eczema severity and quality of life: a cross-sectional, multi-centre study of hand eczema patients / T. Agner et al. *Contact Dermatitis*. 2008, Vol. 59, № 1. С. 43–47.

181. Солошенко Е. М., Волкославська В. М., Гутнев О. Л. Динаміка розповсюдженості та захворюваності на поширені дерматози в Україні і Харківському регіоні за останні 10 років. *Дерматологія та венерологія*. 2014. Vol. 63, № 1. С. 69–78.
182. The burden of skin disease in the United States / H. W. Lim et al. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2017. Vol. 76, № 5. P. 958-972.e2.
183. Emollient enhancement of the skin barrier from birth offers effective atopic dermatitis prevention / E. L. Simpson et al. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2014. Vol. 134, № 4. P. 818–823.
184. Misery L. Atopic dermatitis and the nervous system. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 2011. Vol. 41, № 3. P. 259–266.
185. Кривенко В. І., Непрядкіна І. В., Федорова О. П. Медикаментозна алергія: критерії діагностики та лікування / під ред. В. І. Кривенко. Запоріжжя, 2015.
186. Алергічні ураження шкіри у практиці сімейного лікаря / В. І. Кривенко та ін. Запоріжжя : ЗДМУ, 2017.
187. Осипова В. Алергія на металлические імплантаты: взгляд аллерголога. *Астма и аллергия*. 2015. № 3. С. 13–15.
188. Ненашева Н. Современная терапия атопического дерматита: роль эмоленгов и антигистаминных препаратов. *Эффективная фармакотерапия*. 2016. № 6. С. 6–17.
189. Investigation of contact allergy to dental metals in 206 patients / U. Raap et al. *Contact Dermatitis*. 2009. Vol. 60, № 6. P. 339–343.
190. Оценка раздражающего действия стоматологических сплавов «Stomet-1kz» и «Stomet-2kz» методом накожного теста / К. Алтынбеков и др. *Вестник Казахского национального медицинского университета*. 2014. № 4. С. 120–122.
191. Хлебникова А. Н. Подходы к терапии аллергического контактного дерматита. *Эффективная фармакотерапия*. 2011. № 10. С. 16–20.
192. The Danish environmental protection agency. *An investigation of causes of nickel allergy A LOUS follow-up project title: An investigation of causes of nickel allergy* / M. G. Ahlström et al. The Danish Environmental Protection Agency : Copenhagen, 2016.
193. Prevalence of nickel allergy in europe following the EU nickel directive - a review / M. G. Ahlström et al. *Contact Dermatitis*. 2017. № 6. С. 1–8.
194. Chronic allergic contact dermatitis promotes skin cancer / S. Demehri et al. *J. Clin. Invest.* 2014. Vol. 124, № 11. С. 5037–5041.

195. Topical application of *Scutellaria baicalensis* suppresses 2, 4-dinitrochlorobenzene-induced contact dermatitis / T. Kim et al. *Nat Prod Res.* 2016. Vol. 30, № 6. P. 705–709.
196. Afferent and efferent phases of allergic contact dermatitis (ACD) can be induced after a single skin contact with haptens: evidence using a mouse model of primary ACD P. Saint-Mezard et al. *J. Invest. Dermatol.* 2003. Vol. 120, № 4. P. 641–647.
197. Lyu J., Kim B. J., Kim H. Anti-allergic effect of *Ulmus davidiana* cortex on contact dermatitis induced by dinitrofluoro- benzene in mice. *J Pharmacopuncture.* 2013. Vol. 16, № 2. P. 41–45.
198. Mechanisms of chemical-induced innate immunity in allergic contact dermatitis / S. F. Martin et al. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 2011. Vol. 66, № 9. P. 1152–1163.
199. Nanocomposite treatment reduces disease and lethality in a murine model of acute graft-versus-host disease and preserves anti-tumor effects / P. T. T. Bernardes et al. *PLoS One.* 2015. Vol. 10, № 4. P. e0123004.
200. Immunological, chemical and clinical aspects of exposure to mixtures of contact allergens / C. M. Bonefeld et al. *Contact Dermatitis.* 2017. № 77. P. 133–142.
201. Okayama Y. Oxidative stress in allergic and inflammatory skin diseases. *Curr. Drug Target - Inflammation Allergy.* 2005. Vol. 4, № 4. P. 517–519.
202. The roles of reactive oxygen species produced by contact allergens and irritants in monocyte-derived dendritic cells / D. Byamba et al. *Annals of dermatology.* 2010. Vol. 22, № 3. P. 269–278.
203. Fridovich I. Superoxide anion radical (O⁻²), superoxide dismutases, and related matters. *Journal of Biological Chemistry.* 1997. Vol. 272, № 30. P. 18515–18517.
204. ATP activates a reactive oxygen species-dependent oxidative stress response and secretion of proinflammatory cytokines in macrophages / C. M. Cruz et al. *J. Biol. Chem.* 2007. Vol. 282, № 5. P. 2871–2879.
205. Effects of topical corticosteroids on cell proliferation, cell cycle progression and apoptosis: in vitro comparison on HaCaT / A. Guichard et al. *Int. J. Pharm.* 2015. Vol. 479, № 2. P. 422–429.
206. Гребенникова С., Макляков Ю., Оксенюк О. Перекисное окисление липидов в пораженной коже белых крыс с дерматитом простым раздражительным контактным при разных методах

- лечения. *Современные проблемы науки и образования*. 2016. № 6. С. 37–41.
207. Involvement of NO in contact hypersensitivity / R. Ross et al. *Int. Immunol.* 1998. Vol, 10, № 1. P. 61–69.
208. Смирнова И. Ю., Огородова Л. М., Деев И. А. Роль оксида азота в развитии заболеваний кожи. 2009. № 4, т. 8. С. 90–94.
209. Яремчук О. З., Посохова К. А. Зміни біохімічних показників печінки та нирок при експериментальному панкреатиті та за дії модуляторів синтезу оксиду азоту і рекомбінантної супероксиддисмутази. *Український біохімічний журнал*. 2011. № 83. С. 57–66.
210. *Dermatology Essentials* / J. L. Bolognia et al. Elsevier, 2014. 1040 p.
211. Guideline Contact Dermatitis. [German] / J. Brasch et al. *Allergo J.* 2014. Vol. 23, № 4. P. 30–43.
212. Contact dermatitis: therapeutics when avoidance fails / E. Welsh et al. *J Allergy Ther.* 2014. Vol. 5, № 4.
213. Usatine R. P., Riojas M. Diagnosis and management of contact dermatitis. *Am. Fam. Physician.* 2010. Vol. 82, № 3. P. 249–255.
214. Guidelines of care for the management of atopic dermatitis: Part 2: management and treatment of atopic dermatitis with topical therapies / L. F. Eichenfield et al. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2014. Vol. 71, № 1. P. 116–132.
215. Woo D. K., James W. D. Topical tacrolimus: a review of its uses in dermatology. *Dermatitis.* 2005. Vol. 16, № 1. P. 6–21.
216. Атопічний дерматит. Адаптована клінічна настанова, заснована на доказах, 2016. 103 с.
217. Adverse effects of topical corticosteroids in paediatric eczema: Australasian consensus statement / E. Mooney et al. *Australas. J. Dermatol.* 2015. Vol. 56, № 4. С. 241–251.
218. Coondoo A. Topical corticosteroid misuse: the Indian scenario. *Indian J. Dermatol.* 2014. Vol. 59, № 5. P. 451.
219. Glucocorticoids and Th-1, Th-2 type cytokines in rheumatoid arthritis, osteoarthritis, asthma, atopic dermatitis and AIDS / G. Norbiato et al. *Clin. Exp. Rheumatol.* 1997. Vol. 15, № 3. P. 315–323.
220. Prevention and management of glucocorticoid-induced side effects: a comprehensive review: ocular, cardiovascular, muscular, and psychiatric side effects and issues unique to pediatric patients / A. Caplan et al. *Journal of the American Academy of Dermatology.* 2017. Vol. 76, № 2. P. 201–207.

221. Волковой В. А., Кучинська І. В., Тюпка Т. І. Вивчення лікувальної ефективності нової мазі з ліпофільним комплексом із кори осики «Тремулін» за умов неалергічного контактного дерматиту в щурів. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2010. № 6. С. 7–12.
222. Андреева Л. И., Кожемякин Л. А., Кишкун А. А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой. *Лабораторное дело*. 1988. № 11. С. 41–43.
223. Чевари С., Чаба И., Секей И. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения её в биологических материалах. *Лабораторное дело*. 1985. № 11. С. 678–681.
224. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк и др. *Клиническая лабораторная диагностика*. 1988. № 4. С. 44–47.
225. Горальський Л., Хомич В., Кононський О. *Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології* / під ред. Горальського Л. П. Житомир : Полісся, 2015.
226. Stratton C. W., Tang Y. W., Lu H. Pathogenesis-directed therapy of 2019 novel coronavirus disease. *J. Med. Virol.* 2021. Vol. 93, № 3. P. 1320–1342.
227. Khudan-Tsilo I. I., Shevchuk O. O., Korda M. M. Cytokines profile in experimental contact allergic dermatitis and use of nanoencapsulated agents. *Int. J. Med. Med. Res.* 2018. Vol. 4, № 1. P. 71–77.
228. Худан-Цільо І. І., Корда М. М. Структурні зміни шкіри при контактному нікелевому дерматиті. *Вісник морфології*. 2017. № 2, т. 23. С. 198–202.
229. Дедух Н. В., Побел Е. А. Регенерация кости: основные тенденции развития проблемы. *Боль. Суставы. Позвоночник*. 2013. № 1. С. 89–90.
230. Климовицький В. Г., Оксимець В. М. Переломи, що не зрослися, та псевдоартрози. *Травма*. 2012. № 4, т. 13. С. 166–174.
231. Осложнения при накостном остеосинтезе у больных с переломами длинных трубчатых костей / В. П. Попов та ін. *Гений ортопедии*. 2014. № 2. С. 5–9.
232. Корж Н. А., Дедух Н. В., Никольченко О. А. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Системные факторы, влияющие на заживление перелома (сообщение 3). *Ортопедия, травматология и протезирование*. 2006. № 2. С. 99–105.

233. Берченко Г. Н., Кесян Г. А. Активизация репаративного остеогенеза при заполнении сегментарного дефекта длинной трубчатой кости композиционным препаратом Коллапан. *Травма*. 2008. № 3, т. 9. С. 282–286.
234. Enhanced bone tissue regeneration by antibacterial and osteoinductive silica-HACC-zein composite scaffolds loaded with RhBMP-2 / P. Zhou et al. *Biomaterials*. 2014. Vol. 35, № 38. P. 10033–10045.
235. Nanostructured membranes based on native chitin nanofibers prepared by mild process / N. E. Mushi et al. *Carbohydr. Polym.* 2014. № 112. P. 255–263.
236. Характеристика изменений костной ткани в зоне дефекта в условиях нарушенной репаративной регенерации / Г. Цяо и др. *Гений ортопедии*. 2014. № 3. С. 77–81.
237. Analyzing the behavior of a porous nano-hydroxyapatite/polyamide 66 (n-ha/па66) composite for healing of bone defects / Y. Xiong et al. *Int. J. Nanomedicine*. 2014. Vol. 9, № 1. P. 485–494.
238. Electrospun PLLA nanofiber scaffolds and their use in combination with BMP-2 for reconstruction of bone defects / M. D. Schofer et al. *PLoS One*. 2011. Vol. 6, № 9. P. e25462.
239. Load-bearing in cortical bone microstructure: selective stiffening and heterogeneous strain distribution at the lamellar level / O. L. Katsamenis et al. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 2013. № 17. P. 152–165.
240. Raimondo T., Puckett S., Webster T. J. Greater osteoblast and endothelial cell adhesion on nanostructured polyethylene and titanium. *Int. J. Nanomedicine*. 2010. Vol. 5, № 1. P. 647–652.
241. Osteoblasts on rod shaped hydroxyapatite nanoparticles incorporated PCL film provide an optimal osteogenic niche for stem cell differentiation / Z. Lu et al. *Tissue Eng. - Part A*. 2011. Vol. 17, № 11–12. P. 1651–1661.
242. Perspectives on the role of nanotechnology in bone tissue engineering / E. Saiz et al. *Dent. Mater.* 2013. Vol. 29, № 1. P. 103–115.
243. Harvey E. J., Henderson J. E., Vengallatore S. T. Nanotechnology and bone healing. *J. Orthop. Trauma* 2010. Vol. 24 (suppl. 1). P. S25–30
244. Evaluation of injectable silica-embedded nanohydroxyapatite bone substitute in a rat tibia defect model / W. Xu et al. *Int. J. Nanomedicine*. 2011. № 6. P. 1543–1552.
245. Characterization of nickel-doped biphasic calcium phosphate/graphene nanoplatelet composites for biomedical application / S. Baradaran et al. *Mater. Sci. Eng.* 2015. № 49. P. 656–668.

246. Effects of osteoporosis and nutrition supplements on structures and nanomechanical properties of bone tissue / Y. T. Chang et al. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 2011. Vol. 4, № 7. P. 1412–1420.
247. Применение физических факторов для оптимизации костной регенерации: (обзор литературы) / Л. Б. Резник и др. *Журнал клинической и экспериментальной ортопедии им. Г. А. Илизарова.* 2015. № 1. С. 89–95.
248. Advances in bone repair with nanobiomaterials: mini-review / Z. G. Zhang et al. *Cytotechnology.* 2011. Vol. 63, № 5. P. 437–443.
249. Билинский П. И., Чаплинский В. П., Андрейчин В. А. Теоретический анализ биомеханических аспектов остеосинтеза при косом переломе большеберцовой кости контактными и мало-контактными пластинами (сообщение второе). *Травма.* 2013. № 4, т. 14. С. 51–56.
250. Білінський П. І., Чаплинський В. П. Особливості малоконтактного багатоплощинного остеосинтезу переломів кісток гомілки. *Травма.* 2011. № 4, т. 12. С. 147–150.
251. Loss of Gi G-Protein-coupled receptor signaling in osteoblasts accelerates bone fracture healing / L. Wang et al. *J. Bone Miner. Res.* 2015. Vol. 30, № 10. P. 1896–1904.
252. Metabolic and structural bone disturbances induced by hyperlipidic diet in mice treated with simvastatin / E. A. Soares et al. *Int. J. Exp. Pathol.* 2015. Vol. 96, № 4. P. 261–268.
253. Moshiri A., Sharifi A. M., Oryan A. Role of Simvastatin on fracture healing and osteoporosis: a systematic review on *in vivo* investigations. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology.* 2016. № 43. P. 659–684.
254. Local drug delivery for enhancing fracture healing in osteoporotic bone / L. Kyllönen et al. *Acta Biomater.* 2015. Vol. 11, № 1. P. 412–434.
255. Bhattarai G., Lee Y. H., Yi H. K. Peroxisome proliferator activated receptor gamma loaded dental implant improves osteogenesis of rat mandible. *J. Biomed. Mater. Res. - Part B. Appl. Biomater.* 2015. Vol. 103, № 3. P. 587–595.
256. Корж Н. А., Горидова Л. Д., Романенко К. К. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. локальные факторы, влияющие на заживление перелома (Сообщение 4). *Ортопедия, травматология и протезирование.* 2006. № 2. С. 99–105.
257. RGD-conjugated rod-like viral nanoparticles on 2D scaffold improve bone differentiation of mesenchymal stem cells / P. Sitasuwan et al. *Front. Chem.* 2014. № 2, 31. P 1-8.

258. Silver nanoparticles and growth factors incorporated hydroxyapatite coatings on metallic implant surfaces for enhancement of osteoinductivity and antibacterial properties / C. M. Xie et al. *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2014. Vol. 6, № 11. P. 8580–8589.
259. Delivery of growth factors using a smart porous nanocomposite scaffold to repair a mandibular bone defect / X. Liu et al. *Biomacromolecules*. 2014. Vol. 15, № 3. P. 1019–1030.
260. Multi-protein delivery by nanodiamonds promotes bone formation / L. Moore et al. *J. Dent. Res.* 2013. № 92. P. 976–981.
261. Biomimetic growth factor delivery strategy for enhanced regeneration of iliac crest defects / P. Yilgor Huri et al. *Biomed. Mater.* 2013. Vol. 8, № 4. 045009.
262. An *in vivo* study on the effect of scaffold geometry and growth factor release on the healing of bone defects / P. Yilgor et al. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 2013. Vol. 7, № 9. P. 687–696.
263. Nanostructured poly (lactic acid) electrospun fiber with high loadings of TiO₂ Nanoparticles: insights into bactericidal activity and cell viability / T. V. Toniatto et al. *Mater. Sci. Eng. C* 2017, № 71. P. 381–385.
264. Evaluation of nanostructure and microstructure of bone regenerated by BMP-2-porous scaffolds / C. Del Rosario et al. *J. Biomed. Mater. Res. - Part A*. 2015. Vol. 103, № 9. P. 2998–3011.
265. Construction of plasmonic core-satellite nanostructures on substrates based on DNA-directed self-assembly as a sensitive and reproducible biosensor / T. Zhang et al. *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2015. Vol. 7, № 49. P. 27131–27139.
266. Lactone form 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors (statins) stimulate the osteoblastic differentiation of mouse periodontal ligament cells via the ERK pathway / I. S. Kim et al. *J. Periodontal Res.* 2011. Vol. 46, № 2. P. 204–213.
267. Bone regeneration using photo crosslinked hydrogel incorporating RhBMP-2 loaded 2-N, 6-O-sulfated chitosan nanoparticles / L. Cao et al. *Biomaterials*. 2014. Vol. 35, № 9. P. 2730–2742.
268. Vascularization and bone regeneration in a critical sized defect using 2-N,6-O-sulfated chitosan nanoparticles incorporating BMP-2 / L. Cao et al. *Biomaterials*. 2014. Vol. 35, № 2. P. 684–698.
269. Controlled release of bone morphogenetic protein (BMP)-2 from nanocomplex incorporated on hydroxyapatite-formed titanium surface S. E. Bae et al. *J. Control. Release*. 2012. Vol. 160, № 3. P. 676–684.

270. Effect of grafting BMP2-derived peptide to nanoparticles on osteogenic and vasculogenic expression of stromal cells / A. E. Mercado et al. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 2014. Vol. 8, № 1. P. 15–28.
271. Differential effects of nano-selenium doping on healthy and cancerous osteoblasts in coculture on titanium / P. A. Tran et al. *Int. J. Nanomedicine*. 2010. Vol. 5, № 1. P. 351–358.
272. BMP2 gene delivery to bone mesenchymal stem cell by chitosan-g-PEI nonviral vector / J. Yue et al. *Nanoscale Res. Lett.* 2015. Vol. 10, № 1. P. 1–11.
273. Nanotopographical induction of osteogenesis through adhesion, bone morphogenetic protein co-signaling, and regulation of microRNAs / J. Yang et al. *ACS Nano*. 2014. Vol. 8, № 10. P. 9941–9953.
274. Depot injectable biodegradable nanoparticles loaded with recombinant human Bone Morphogenetic Protein-2: preparation, characterization, and *in vivo* evaluation / A. H. Hassan et al. *Drug Des. Devel. Ther.* 2015. № 9. P. 3599–3606.
275. Integration of a novel injectable nano calcium sulfate/alginate scaffold and BMP2 gene-modified mesenchymal stem cells for bone regeneration / X. He et al. *Tissue Eng. - Part A*. 2013. Vol. 19, № 3–4. P. 508–518.
276. Remotely activated mechanotransduction via magnetic nanoparticles promotes mineralization synergistically with bone morphogenetic protein 2: applications for injectable cell therapy / J. R. Henstock et al. *Stem Cells Transl. Med.* 2014. Vol. 3, № 11. P. 1363–1374.
277. Bone Morphogenetic Protein-2-encapsulated grafted-poly-lactic acid-polycaprolactone nanoparticles promote bone repair / X. Xu et al. *Cell Biochem. Biophys.* 2015. Vol. 71, № 1. P. 215–225.
278. Silk fibroin-based complex particles with bioactive encrustation for Bone Morphogenetic Protein 2 delivery / P. Shi et al. *Biomacromolecules*. 2013. Vol. 14, № 12. P. 4465–4474.
279. Using poly(lactic-co-glycolic acid) microspheres to encapsulate plasmid of Bone Morphogenetic Protein 2/polyethylenimine nanoparticles to promote bone formation *in vitro* and *in vivo* / C. Qiao et al. *Int. J. Nanomedicine* 2013. № 8. P. 2985–2995.
280. Chien C. Y., Tsai W. B. Poly(dopamine)-assisted immobilization of arg-gly-asp peptides, hydroxyapatite, and Bone Morphogenetic Protein-2 on titanium to improve the osteogenesis of bone marrow stem cells. *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2013. Vol. 5, № 15. P. 6975–6983.

281. BMP-2 encapsulated polysaccharide nanoparticle modified bi-phasic calcium phosphate scaffolds for bone tissue regeneration / Z. Wang et al. *J. Biomed. Mater. Res. - Part A*. 2015. Vol. 103, № 4. P. 1520–1532.
282. Reconstruction of alveolar bone defects using bone morphogenetic protein 2 mediated rabbit dental pulp stem cells seeded on nano-hydroxyapatite/collagen/ poly(L-Lactide) / H. C. Liu et al. *Tissue Eng. - Part A*. 2011. Vol. 17, № 19–20. P. 2417–2433.
283. Травматическая болезнь и ее осложнения / С. А. Селезнев и др. СПб. : Политехника, 2004.
284. Local delivery of controlled-release simvastatin/PLGA/HAp microspheres enhances bone repair / I. C. Tai et al. *Int. J. Nanomedicine*. 2013. № 8. P. 3895–3905.
285. Preparation and characterization of PLGA microspheres by the electrospraying method for delivering simvastatin for bone regeneration / S. D. Nath et al. *Int. J. Pharm.* 2013. Vol. 443, № 1–2. P. 87–94.
286. The effect of 3D nanofibrous scaffolds on the chondrogenesis of induced pluripotent stem cells and their application in restoration of cartilage defects / J. Liu et al. *PLoS One*. 2014. Vol. 9, № 11. e111566.
287. Carbonic anhydrase ix-directed immunoliposomes for targeted drug delivery to human lung cancer cells *in vitro* / B. C. K. Wong et al. *Drug Des. Devel. Ther.* 2014. №8. P. 993–1001.
288. Evidence-based prevention and treatment of osteoporosis after spinal cord injury: a systematic review / S. Soleyman-Jahi et al. *Eur. Spine J.* 2018. Vol. 27, № 8. P. 1798–1814.
289. Prospective randomized study of posterolateral lumbar fusion using Osteogenic Protein-1 (OP-1) versus local autograft with ceramic bone substitute: emphasis of surgical exploration and histologic assessment / M. Kanayama et al. *Spine (Phila. Pa. 1976)*. 2006. Vol. 31, № 10. P. 1067–1074.
290. Recombinant human Bone Morphogenetic Protein-2 for treatment of open tibial fractures a prospective, controlled, randomized study of four hundred and fifty patients / S. Govender et al. *J. Bone Jt. Surg. - Ser. A*. 2002. Vol. 84, № 12. P. 2123–2134.
291. The development, fabrication, and material characterization of polypropylene composites reinforced with carbon nanofiber and hydroxyapatite nanorod hybrid fillers / C. Z. Liao et al. *Int. J. Nanomedicine*. 2014. Vol. 9, № 1. 1299.

292. Durmus N. G., Webster T. J. Nanostructured titanium: the ideal material for improving orthopedic implant efficacy? *Nanomedicine*. 2012. Vol. 7, № 6. P. 791–793.
293. Silver ion-doped calcium phosphate-based ceramic nanopowder-coated prosthesis increased infection resistance basic research / N. Kose et al. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 2013. Vol. 471, № 8. P. 2532–2539.
294. BMP-7 and excess glutamate: opposing effects on dendrite growth from cerebral cortical neurons *in vitro* / S. Esquenazi et al. *Exp. Neurol.* 2002. Vol. 176, № 1. P. 41–54.
295. A combined chitosan/nano-size hydroxyapatite system for the controlled release of Icaritin / J. Fan et al. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2012. Vol. 23, № 2. P. 399–407.
296. Babushkina I. V., Mamontova I. A., Gladkova E. V. Metal nanoparticles reduce bacterial contamination of experimental purulent wounds. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2015. Vol. 158, № 5. P. 692–694.
297. Silver Nanoparticles/ibuprofen-loaded poly(L-lactide) fibrous membrane: anti-infection and anti-adhesion effects / S. Chen et al. *Int. J. Mol. Sci.* 2014. Vol. 15, № 8. P. 14014–14025.
298. Modulation of Collagen alignment by silver nanoparticles results in better mechanical properties in wound healing / K. H. L. Kwan et al. *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.* 2011. Vol. 7, № 4. P. 497–504.
299. Effect of biofunctionalized implant surface on osseointegration - a histomorphometric study in dogs / R. R. M. Barros et al. *Braz. Dent. J.* 2009. Vol. 20, № 2. P. 91–98.
300. *In vitro* characterization of low modulus linoleic acid coated strontium-substituted hydroxyapatite containing PMMA bone cement / W. M. Lam et al. *J. Biomed. Mater. Res. - Part B Appl. Biomater.* 2011. Vol. 96 B, № 1. P. 76–83.
301. An overview about biomedical applications of micron and nano size Tantalum / G. Maccauro et al. *Recent Pat. Biotechnol.* 2009. № 3. P. 157–165.
302. Evaluation of a novel nanocrystalline hydroxyapatite paste and a solid hydroxyapatite ceramic for the treatment of critical size bone defects (CSD) in rabbits / F. X. Huber et al. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2008. Vol. 19, № 1. P. 33–38.
303. Subchondral pre-solidified chitosan/blood implants elicit reproducible early osteochondral wound-repair responses including neutrophil and stromal cell chemotaxis, bone resorption and re-

- pair, enhanced repair tissue integration and delayed matrix deposition / C. H. Lafantaisie-Favreau et al. *BMC Musculoskelet. Disord.* 2013. Vol. 14, № 27. P. 1–16.
304. Luckman S. P., Gilhus N. E., Romi F. Matrix metalloproteinase-3 in myasthenia gravis compared to other neurological disorders and healthy controls. *Autoimmune Dis.* 2011. № 1. 151258.
305. Lipids and cardiovascular disease: where does dietary intervention sit alongside statin therapy? I. L. Megson et al. *Food and Function.* 2016. Vol. 7, № 6. P. 2603-2614.
306. Puértolas J. A., Kurtz S. M. Evaluation of carbon nanotubes and graphene as reinforcements for UHMWPE-based composites in arthroplastic applications: A review. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 2014. № 39. P. 129–145.
307. Hyperlipidaemia and incident osteoarthritis of the hand: a population-based case-control study / N. Frey et al. *Osteoarthr. Cartil.* 2017. Vol. 25, № 7. P. 1040–1045.
308. Effects of statins on bone mineral density and fracture risk / Z. Wang et al. *Med. (United States).* 2016. Vol. 95, № 22.
309. Біохімічні показники метаболізму сполучної тканини у цуценят / Д. В. Морозенко та ін. *Біологія тварин.* 2011. № 1–2, т. 13. С.130–134.
310. Weng L., Webster T. J. Nanostructured magnesium increases bone cell density. *Nanotechnology.* 2012. Vol. 23, № 48.
311. Impact of statin related media coverage on use of statins: interrupted time series analysis with UK primary care data / A. Matthews et al. *BMJ* 2016. № 353.
312. Optimizing the osteogenicity of nanotopography using block co-polymer phase separation fabrication techniques / S. E. MacLaine et al. *J. Orthop. Res.* 2012. Vol. 30, № 8. P. 1190–1197.
313. RGD peptide immobilized on TiO₂ nanotubes for increased bone marrow stromal cells adhesion and osteogenic gene expression / X. Cao et al. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2012. Vol. 23, № 2. P. 527–536.
314. Nanostructured Polymeric scaffolds for orthopaedic regenerative engineering / M. Deng et al. *IEEE Trans. Nanobioscience.* 2012. Vol. 11, № 1. P. 3–14.
315. Laurencin C. T., Kumbar S. G., Nukavarapu S. P. Nanotechnology and Orthopedics: A Personal Perspective. *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomedicine Nanobiotechnology.* 2009. № 1. P. 6–10.
316. Epigenetic memory gained by priming with osteogenic induction medium improves osteogenesis and other properties of mesenchymal stem cells / Y. Rui et al. *Sci. Rep.* 2015. №5. 11056.

317. Elis A., Zhou R., Stein E. A. Treatment of familial hypercholesterolaemia in children and adolescents in the last three decades. *Cardiol. Young.* 2014. Vol. 24, № 3. P. 437–441.
318. Titanium surfaces with adherent selenium nanoclusters as a novel anticancer orthopedic material / P. A. Tran et al. *J. Biomed. Mater. Res. - Part A.* 2010. Vol. 93, № 4. P. 1417–1428.
319. Chun Y. W., Webster T. J. The role of nanomedicine in growing tissues. *Ann. Biomed. Eng.* 2009. Vol. 37, № 10. P. 2034–2047.
320. Effects of atorvastatin on bone mineral density (BMD) and bone metabolism in elderly males with osteopenia and mild dyslipidemia: a 1-year randomized trial / Z. G. Chen et al. *Arch. Gerontol. Geriatr.* 2014. Vol. 59, № 3. P. 515–521.
321. Pravastatin therapy increases procollagen I N-terminal propeptide (PINP), a marker of bone formation in post-menopausal women / J. M. Mostaza et al. *Clin. Chim. Acta.* 2001. Vol. 308, № 1–2. P. 133–137.
322. Bjarnason N. H., Riis B. J., Christiansen C. The effect of fluvastatin on parameters of bone remodeling. *Osteoporos. Int.* 2001. Vol. 12, Statin use, clinical fracture, and bone density in postmenopausal women: results from the women’s health initiative observational study 5. P. 380–384.
323. Statin use, clinical fracture, and bone density in postmenopausal women: results from the women’s health initiative observational study / A. Z. LaCroix et al. *Ann. Intern. Med.* 2003. Vol. 139, № 2. P. 97–104.
324. Locally delivered lovastatin nanoparticles enhance fracture healing in rats / I. R. Garrett et al. *J Orthop Res.* 2007. Vol. 25, № 10. P. 1351–1357.
325. Стефанов О. В. Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації. Київ : Авіценна, 2001.
326. Экспериментальные методы исследования стимуляторов остеогенеза: метод. реком. / А. П. Левицкий и др. ГФЦ : Київ, 2005.
327. Ферментативний метод оцінки стану кісткової тканини / А. П. Левицький та ін. *Одеський медичний журнал.* 2006. № 3. С. 17–21.
328. Стравський В. С., Охрим С. А., Маркова А. П. Діагностично-прогностичне значення вмісту сіалових кислот у крові корів. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.* 2010. № 2, т. 44. С. 315–317.
329. Діхтенко Д. Г., Костенко В. О. Механізми впливу L-Аргініну, іммобілізованого на хірургічному шовному матеріалі, на ін-

- тегральні показники дезорганізації сполучної тканини. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник української медичної стоматологічної академії*. 2013. № 1, т. 41. С. 336–338.
330. Стан метаболізму компонентів сполучної тканини у хворих на реактивний артрит / О. В. Залявська та ін *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2014. № 1. С. 44–47.
331. Серебренникова С. Н. Семинский И. Ж. Патолофізіологія запального процесу: учеб. пособ. Иркутск : ИГМУ, 2014.
332. Спосіб стимуляції регенерації кісткової тканини аквахелатами Ag, Cu, Zn, Fe, Ca, Co : пат. 110820 Україна : МПК А61К 33/00, А61Р 19/00, В82У 5/00. № u201602982 ; заявл. 04.04.2016 ; опубл. 25.10.2016, Бюл. № 20.
333. Спосіб стимуляції регенерації кісткової тканини аквахелатами Ag, Cu, Zn, Mg, Fe, Co : пат. 110440 Україна : МПК А61К 33/00, А61Р 19/00, В82У 5/00. № u201603507 ; заявл. 04.04.2016 ; опубл. 10.10.2016, Бюл. № 19.
334. Панасюк Я. В., Волков К. С., Корда М. М. Використання комбінації наноаквахелатів металів і наночастинок ловастатину для стимуляції репаративного остеогенезу в щурів. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2016. № 5, т. 15. С. 53–59.
335. Панасюк Я. В., Корда М. М. біохімічна характеристика посттравматичного репаративного остеогенезу при застосуванні наноаквахелатів металів. *Літопис травматології та ортопедії*. 2015. № 1–2. С. 19–21.
336. Панасюк Я. В., Корда М. М. Вплив ловастатину на регенерацію кісткової тканини в щурів. *Медична хімія*. 2014. № 4, т. 16. С. 36–40.
337. Панасюк Я. В., Корда М. М. Вплив наночастинок ловастатину на остеорегенерацію при травматичному кістковому дефекті у щурів. *Вісник Вінницького національного медичного університету*. 2016. № 1, т. 20. С. 32–36.
338. Панасюк Я. В., Корда М. М. Эффект применения наночастиц ловастатина для оптимизации остеорегенерации в условиях костного дефекта у крыс. *Проблемы биологии и медицины*. 2016. № 3, т. 89. С. 153–158.
339. Панасюк Я. В. Гістоморфологічна оцінка структурних компонентів кістки у щурів із скелетною травмою при корекції наночастинками. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2017. № 2, т. 17. С. 40–44.

Навчальне видання

**Корда Михайло Михайлович
Шевчук Оксана Олегівна
Панасюк Ярослав Вікторович
Худан-Цільо Іванна Іванівна**

**ЗАСТОСУВАННЯ ПОЛІМЕРНИХ НАНОЧАСТИНОК
ДЛЯ АДРЕСНОЇ ДОСТАВКИ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ**

Монографія

Редагування і коректура *Л. В. Мельник*
Технічний редактор *С. Т. Демчишин*
Дизайн обкладинки *П. С. Кушик*
Комп'ютерне верстання *З. В. Яскілка*

Підп. до друку 20.05.2021. Формат 60×84/16.
Папір офсет. № 1. Гарн. «Noto Sans». Друк офсет.
Ум. друк. арк. 12,56. Обл.-вид. арк. 9,80.
Тираж 300 пр. Зам. № 166.

Видавець і виготівник
Тернопільський національний медичний
університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України.
Майдан Волі, 1, м. Тернопіль, 46001, Україна.

Свідоцтво про внесення до Державного реєстру суб'єктів
видавничої справи ДК № 7242 від 02.02.2021 р.