

На правах рукописи

Хатков Эдуард Магомедович

**МИКРОБИОЦЕНОЗ КОЖИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ АКНЕ
НИСОМАЛЬНЫМ АНТИМИКРОБНЫМ ГЕЛЕМ**

03.02.03 – микробиология

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Волгоград - 2015

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

Базиков Игорь Александрович - доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой микробиологии ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Официальные оппоненты:

Мерина Людмила Константиновна

доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией генетики ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Будыка Дмитрий Александрович

доктор медицинских наук, старший научный сотрудник, заведующий научно-производственной лабораторией чумных вакцин ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Ведущая организация:

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится _____ 2015 года в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.008.06 при ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 400131, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1.

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» по адресу: 400131, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1, на сайте www.volgmed.ru и на сайте ВАК www.vak2.ed.gov.ru

Автореферат разослан « ____ » _____ 2015 года.

**Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор социологических наук,
профессор**

Марина Дмитриевна Ковалева

Общая характеристика работы

Актуальность исследования

Акне – одно из самых распространенных заболеваний, связанное с нарушением гормонального статуса, размножением патогенных бактерий, развитием воспалительных элементов (Адаскевич В.П., 2001; Арешидзе Д.А. с соавт., 1990; Чеботарёв В.В. с соавт., 2014).

Кожная экосистема наиболее обильно населена микроорганизмами, вследствие непосредственного контакта с внешней средой. Представителями микробиоценоза кожи являются коагулазонегативные кокки, коринобактерии, спорообразующие бациллы, непатогенные микобактерии и дрожжеподобные грибки (Водовозова Е.Л. с соавт., 2004; Водовозова Е.Л., с соавт., 2008). Несмотря на такое обилие эпидермального биоценоза, особого внимания заслуживает состав кожного сала. В его составе обнаружено высокое содержание жирных кислот, которые влияют на колонизационную резистентность микрофлоры кожи, оказывая при этом как ингибирующее (на стафилококки и стрептококки), так и стимулирующее действия (на пропионобактерии) (Арзуманян В.Г. с соавт., 2004).

Частыми представителями микробного сообщества, вызывающими воспалительные процессы в сальных железах и всегда присутствующими в комедонах являются *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, реже *Streptococcus spp.*, *Propionibacterium acne* и даже обнаруживается представитель семейства *Enterobacteriaceae* – *Esherichia coli*.

Многие исследователи высказывают мнение о том, что липиды сального секрета, аминокислоты и соли потового секрета являются основными факторами роста возбудителей акне (Давыдов А. Б. с соавт., 1974).

Для лечения заболеваний микробной этиологии широко используют не только антибиотические препараты, но также настои и экстракты лекарственных растений, обладающих

антимикробным действием (Аравийская, Е.Р. с соавт. 1998). Это связано с тем, что прием антибиотиков, как правило, носит затяжной характер, это негативно влияет как на резистентность патогенных микроорганизмов, так и на нормофлору организма в целом (Адаскевич, В.П. 2000 г; Государственная фармакопея СССР XI издание – М.: Медицина, 1989).

Создание лекарственного препарата растительного происхождения, содержащего комплекс экстрактов, способных как ингибировать рост патогенных микроорганизмов, так и снижать синтез секрета сальных желез позволит решить целый ряд задач борьбы с акне.

Необходимость разработки нанопрепаратов местного действия для воздействия на патогенные микроорганизмы появилась в связи с новыми подходами к созданию носителей лекарственных веществ. Новая область наномедицины – применение системы доставки лекарств, с помощью наночастиц различной природы, открыла возможности использования инновационных подходов и для лечения многих кожных заболеваний. Принцип адресной доставки – сокращение общего количества вводимого препарата в сочетании с оптимизацией его активности, является перспективным и для трансдермального транспорта при лечении таких кожных заболеваний, как акне.

Наиболее изученными переносчиками в области лекарственной терапии являются липосомы и ниосомы. С 1990-х годов, неионогенные везикулы ПАВ рассматриваются в качестве альтернативы липосомам как носители лекарств (Manconi et al., 2006). Преимущества ниосом включают 1) более высокую чистоту и стабильность неионогенных поверхностно-активных веществ по сравнению с фосфолипидами, (т.е. деградацию путём окисления и гидролиза) (Vora et al., 1998), 2) возможность массового производства без использования органических растворителей (Fang et al., 2001), 3) контроль скорости высвобождения лекарственных препаратов и адресация лекарств (Tabbakhian et al., 2006) путём модификации их состава или поверхности (Alsarra et al.,

2005;Schreier and Boustra, 1994). Наиболее перспективными для трансдермального проникновения с целью доставки лекарственных веществ являются ниосомы кремнийорганической природы (Базиков И.А. с соавт.,2008,2012,2013,2014).

Использование выделенных экстрактов из лекарственных растений в качестве сырья для получения новых форм антибактериальных препаратов, является перспективным направлением для наружного лечения акне.

Актуальной задачей является оценка чувствительности микроорганизмов кожи к действующим компонентам растительных антимикробных препаратов применяемых в виде ниосомальных форм, а также изучение биоценоза кожи.

Цель исследования – изучение микробиоценоза кожи и влияние на него антимикробного наногеля с растительными экстрактами, инкапсулированными в ниосомы кремнийорганической природы.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Изучить структуру биоценоза кожи у обследуемых групп и определить состав основных возбудителей, участвующих в развитии акне.

2. Подобрать растительные объекты, обладающие антимикробным действием и отработать оптимальные методы экстрагирования биологически активных веществ из выбранных растений.

3. Определить чувствительность микроорганизмов кожи к растительным экстрактам.

4. Изучить противомикробную активность ниосомальных форм растительных экстрактов и трансдермальную способность разработанного геля.

5. Изучить особенности воздействия ниосомальных форм растительных экстрактов на биоценоз кожи.

6. Исследовать возможность образования микробной флоры, резистентной к растительным экстрактам и их ниосомальным препаратам

7. Дать оценку эффективности разработанного ниосомального геля для лечения акне.

Научная новизна исследования.

1. Впервые изучена возможность формирования устойчивости условно-патогенных микроорганизмов основных представителей биоценоза кожи к антимикробному действию растительных экстрактов зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum*), ромашки аптечной (*Marticaria recutita*), конского щавеля (*Rúmex confértus*) и солодки голой (*Glycyrrhiza gabra*). Установлена низкая частота образования резистентных форм.

2. Впервые подобрана комбинация растительных субстанций зверобоя, конского щавеля и солодки голой, обладающих выраженным антимикробным действием. Для этого отработаны оптимальные методы экстрагирования растительного сырья.

3. На основании исследования чувствительности к выделенным из акне-элементов микроорганизмам, определены необходимые для бактериостатического и бактерицидного действия концентрации.

4. Впервые разработана технология инкапсулирования полученных экстрактов в ниосомы и отработаны фазы приготовления антимикробного ниосомального геля для лечения акне.

Приоритетность выполненных исследований подтверждена заявкой на патент № 2013100467 от 09.01.2013 г. «Наружное средство для лечения акне на основе кремнийорганических наноконтейнеров». Результаты исследований внедрены в работу Ставропольского краевого кожно-венерологического диспансера, и используются в учебном процессе на кафедрах микробиологии, а также дерматовенерологии и косметологии с курсом ПДО СтГМУ.

Теоретическая и практическая значимость исследования.

Отработана технология экстрагирования лекарственных трав с антимикробным действием. Определена чувствительность выделенных от больных акне, микроорганизмов, к растительным экстрактам. На основании проведённых исследований разработана технология инкапсулирования полученных экстрактов в ниосомы. Разработаны фазы приготовления и рецептура антимикробного ниосомального геля с растительными экстрактами. Эффективность препарата изучена на больных акне. Разработаны технические условия (ТУ) для производства препарата на базе ООО НПО «Клеточные технологии».

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Микробный пейзаж у обследованных групп населения представлен разнообразными формами, при этом, при развитии акне основная роль отводится представителям семейства *Micrococcaceae*, *Staphylococcus aureus* 41,9% и *Staphylococcus epidermidis* 39,2%, реже (11,7%) встречали *Streptococcus spp.*. В 6,3% случаев у пациентов обнаружили *Enterobacteriaceae spp.*, и в 0,9% *Propionibacterium acne.*

2. Низкий уровень образования микробных форм, резистентных к антимикробному действию растительных экстрактов зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum*), ромашки аптечной (*Marticaria recutita*), конского щавеля (*Rúmex confértus*) и солодки голой (*Glycyrrhíza glabra*) свидетельствуют о перспективе их использования для терапии акне.

3. Ниосомальные формы растительных экстрактов обладают трансдермальным действием и антимикробной эффективностью в отношении патогенной микрофлоры в сальных железах при акне.

4. Результаты проведенных клинических исследований ниосомального антимикробного трансдермального геля с растительными экстрактами свидетельствуют о его эффективности по сравнению с другими наружными антибактери-

альными препаратами, предназначенными для лечения акне.

Апробация работы и публикации.

Результаты работы докладывались на международных, всероссийских и региональных конференциях, конгрессах и симпозиумах: 8 итоговая конференция молодых учёных с международным участием, СтГМА, Ставрополь, 2010 г.; 17-я ежегодная Неделя медицины Ставрополя. 19-21 сентября 2013 г.; II международная конференция «Инновационные разработки молодых ученых – по развитию агропромышленного комплекса», Ставрополь 20-21 сентября 2013 г.; V Международная научно-практическая конференция «Актуальные проблемы биологии, нанотехнологий и медицины», г.Ростовна-Дону, 3-5 октября 2013г.; Международная конференция в г. Токио 2013г. (Japan-RussiaInternationalWorkshop 2013); XXXII Международная Научно-Практическая Конференция «Современная медицина: актуальные вопросы» - г. Новосибирск, 11 июня 2014 г.. Диссертация обсуждена на заседаниях кафедры микробиологии СтГМУ (2010, 2014). По материалам диссертации опубликовано 11 научных работ, в том числе 4 из них в периодических изданиях из перечня ведущих рецензируемых научных журналов, утвержденных ВАК Министерства образования и науки России и рекомендованных для публикации основных научных результатов диссертации на соискание искомой ученой степени.

Объем и структура диссертации.

Материалы диссертации изложены на 141 страницах компьютерного текста и включают введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, две главы собственных исследований, обсуждение результатов, заключение, выводы и практические рекомендации, список литературы, включающий 103 отечественных и 185 зарубежных источников. Работа иллюстрирована 26 рисунками и 5 таблицами.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Работа выполнялась в течение 2010-2014 гг. на кафедре микробиологии и научно-образовательного центра медико-биологических проблем Ставропольского государственного медицинского университета (заведующий – профессор И.А. Базиков).

Выбор лекарственных растений, обладающих чувствительностью к микрофлоре акне элементов, проводился с учетом их противовоспалительного и антимикробного действия. В работе использовалось следующее растительное сырье: зверобой продырявленный (*Hypericum perforatum*), ромашка аптечная (*Marticaria recutita*), конский щавель (*Rúmex confértus*) и солодка голая (*Glycyrrhiza glabra*). Технология извлечения биологически активных веществ, обладающих антимикробным действием, состояла из: 1) диспергирования; 2) водной или пропиленгликолевой экстракции; 3) центрифугирования и фильтрации.

Бактериологические исследования заключались в выделении микроорганизмов и определение чувствительности выделенной микрофлоры к растительным антимикробным экстрактам. Исследование было направлено на выделение и идентификацию таких потенциальных патогенов, как грамположительные кокки (стафилококки, стрептококки, энтерококки), пропионебактерии акне. Материалом для исследования служило отделяемое из пустул и комедонов больных акне. Методика постановки и интерпретация полученных результатов определения чувствительности выделенной микрофлоры производилось при помощи диско-диффузионного метода согласно стандартам Национального комитета по клиническим лабораторным стандартам (NCCLS 2000).

При конструировании антимикробного ниосомального геля, отработывалась технология получения ниосом и инкапсулирование растительных экстрактов. Оболочка полученных ниосом создавалась из ПЭГ-12 Диметикона по оригинальной технологии [Базиков И.А. Способ доставки биологи-

чески активных веществ с помощью ниосом / И.А. Базиков, П.А. Омелянчук. Патент РФ № 2320323 от 27.03.2008]. Технология создания ниосом была основана на образовании мембраны на поверхности неорганической матрицы размером 30-80 нанометров. Процесс формирования микрокапсул совмещал преимущества метода адсорбции активных субстанций внутри пористых неорганических наночастиц и формирования на их поверхности мультислойной мембраны. Кремнийорганические микрокапсулы состояли из ПЭГ-12 диметикона, обладающего амфифильными свойствами, позволяющими ориентироваться в дисперсии водорастворимой частью (полиэтиленгликолем) в воду и жирорастворимой частью (диметиконом) – в липиды. Вследствие такой структуры микрокапсулы легко образовывались при встряхивании. При обработке ультразвуком мультислойные микрокапсулы обретали моноламеллярную структуру, иммобилизируя биологически активные вещества (БАВ).

Экспериментальные методы исследования проводились на крысах и кроликах для изучения проникающей способности разработанного ниосомального препарата. Все эксперименты на животных проводили в соответствии с правилами защиты позвоночных животных, используемых в научных целях (Руководства и рекомендации для Европейских независимых комитетов по вопросам этики, 1995, 1997; Рекомендации по этике, проводящим экспертизу биомедицинских исследований, 2000). Для определения проникающей способности ниосом в ниосомальном геле проводили гистологические исследования биоптатов кожи на 40 крысах, разделённых на 4 группы. 1% раствор трипанового синего инкапсулировали в ниосомы, а также использовали в интактной форме для изучения пенетрирующей способности.

Анализ эффективности антимикробного ниосомального геля проводили на 30 пациентах с акне, получавших лечение в 2012-2014 гг. в Ставропольском краевом клиническом кожно-венерологическом диспансере.

Критериями включения в исследование были пациенты

с папуло-пустулезной формой акне. Оценку эффективности наружного лечения проводили до начала лечения и далее один раз в три дня до окончания лечения, путем подсчета количества папул, пустул на стандартном поле 5x5 см на щеке.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета прикладных статистических программ «Statgraphics» с использованием электронных таблиц Microsoft Excel 5.0 (параметрическая статистика, корреляционный анализ), реализованные на IBM PC AT. Межгрупповые различия оценивались с помощью t-критерия Фишера-Стьюдента на уровне вероятностей $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение.

При определении состава основных возбудителей, участвующих в развитии акне приняло участие 30 пациентов. Материалом для микробиологического исследования служило отделяемое из пустул и комедонов. Выделенные микроорганизмы идентифицировали, а по характеру и частоте их встречаемости у пациентов с акне были составлены их процентные соотношения. Наиболее часто выделяемыми микроорганизмами были представители семейства *Micrococcaceae*, *Staphylococcus aureus* - 41,9% и *Staphylococcus epidermidis* - 39,2%, реже (11,7%) встречали *Streptococcus spp.*. В 6,3% случаев у пациентов обнаружили *Enterobacteriaceae spp.*, и в 0,9% *Propionibacterium acne* (рис.1).

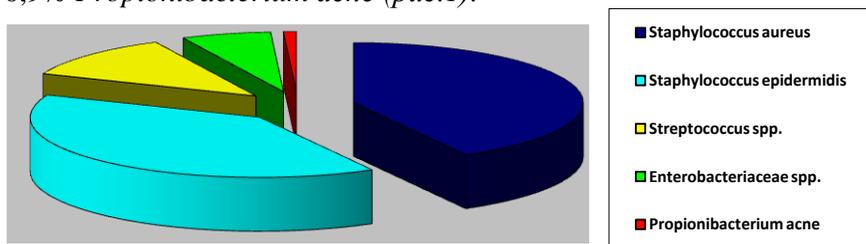


Рис.1. Процентное соотношение микроорганизмов, выделенных из акне-элементов

Полученные данные коррелируют с традиционными данными о составе микрофлоры, выделяемой из акне элементов.

С целью создания трансдермального ниосомального геля для лечения акне, в качестве биологически активных веществ, подбирались лекарственные растительные субстраты, обладающие антимикробным, противовоспалительным действием. Наиболее эффективными для лечения акне являются экстракты ромашки, зверобоя, конского щавеля, календулы и солодки. Использовались два растворителя: вода и пропиленгликоль, в задачу которых входило проникновение в клеточную мембрану внутрь растительной клетки, растворение сухого вещества клетки и выход из нее в виде раствора необходимых биологически активных веществ. При отработке оптимальных методов экстрагирования была выбрана следующая технологическая схема: 1) Ультразвуковое диспергирование растительного сырья; 2) Извлечение биологически активных веществ растительного происхождения путем избирательного растворения в воде или в пропиленгликоле; 3) Разделение системы твердая фаза путем осаждения, центрифугирования или фильтрации.

После получения пропиленгликолевых и водных экстрактов из корня конского щавеля, корня солодки, зверобоя продырявленного и ромашки, определяли их резистентность и чувствительность диско-диффузным методом к идентифицированной микрофлоре. В результате проведенных исследований выявлено, что наиболее высокие показатели ингибирования роста различной флоры микроорганизмов у больных акне отмечены: у водного экстракта зверобоя в концентрации 10%, пропиленгликолевого экстракта корня солодки в концентрации 5%, и водного экстракта конского щавеля в концентрации 5% (таблица 1).

**Исследование чувствительности *Staphylococcus aureus*,
Staphylococcus epidermidis и *Streptococcus spp.*
диско-диффузным методом к растительным экстрактам**

Название экстракта	Концентрация (%)	Диаметр зоны задержки роста микроорганизма (мм)		
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Streptococcus spp.</i>
Водный экстракт зверобоя	1	-	6	8
	5	7	6	8
	10	8	8	10
Пропиленгликолевый экстракт зверобоя	1	10	12	10
	5	12	12	12
	10	16	14	12
Водный экстракт ромашки	1	-	-	-
	5	-	8	-
	10	8	9	8
Пропиленгликолевый экстракт ромашки	1	10	10	-
	5	10	10	8
	10	11	11	10
Водный экстракт корня солодки	1	-	-	-
	5	-	-	-
	10	10	10	12
Пропиленгликолевый экстракт корня солодки	1	9	-	-
	5	10	9	-
	10	17	10	10
Водный экстракт корня конского щавеля	1	7	10	9
	5	10	11	10
	10	12	11	10
Пропиленгликолевый экстракт корня конского щавеля	1	10	10	10
	5	10	-	11
	10	-	-	12

Растительные экстракты, в дальнейшем, были инкапсулированы в кремнийорганические нановезикулы (ниосомы) для получения антимикробного ниосомального геля.

Ниосомы кремнийорганической природы получали с использованием ПЭГ-12 диметикона. Во внутренний объём ниосом инкапсулировали активные субстанции – диспергированные с помощью АПВ гомогенизатора растительные

экстракты. Проведена оценка размеров и стабильности ниосом кремнийорганической природы, используемых для трансдермальной доставки активных субстанций. Ниосомы, полученные из ПЭГ-12 диметикона с включенными во внутренний объём диспергированными с помощью АПВ гомогенизатора растительными субстратами, представляли собой полноценные мультиламеллярные везикулы стандартного размера от 20 до 100 нм, включающие высокий процент иммобилизованных активных субстанций растительного происхождения, стабильные при хранении.

Отработаны фазы приготовления и рецептура антимикробного ниосомального геля с растительными экстрактами (таблица 2).

Таблица 2

**Фазы приготовления и рецептура геля
с растительными экстрактами**

№п/п	Фазы приготовления и рецептура геля с растительными экстрактами	
	Наименование ингредиента	Содержание в % (по массе)
Фаза А		
Интенсивное механическое встряхивание на шейкере ПЭГ- 12 диметикона		
Фаза Б		
Ультразвуковая обработка дисперсии ниосом		
Фаза В		
Механическое перемешивание компонентов в смесителе		
1	Дистиллированная вода	до 100
2	Консервант	0,05
3	Гелеобразователь	2,5
4	Эмульсия ниосом, содержащая растительные экстракты	1, 5, 10
5	ПЭГ-12 диметикон	2
6	Циклометикон	5
Фаза Г		
7	Триэтаноламин	2,0
Фаза Д		
	Эмульгирование геля на АПВ гомогенизаторе	

На первом этапе конструирования геля получали дисперсию ниосом методом механического (ручного) встряхивания. Процесс проводили при комнатной температуре и интенсивном механическом встряхивании ПЕГ-12 диметикона на шейкере в течение 5 минут. В дальнейшем модифицировали полученные ниосомы ультразвуком. При воздействии ультразвуковых волн мультиламеллярные ниосомы, полученные методом встряхивания, обретали монологамеллярную структуру. При этом размеры ниосом уменьшались до размера менее 100 нанометров (Нм) и становились более однородными пропорционально мощности и времени озвучивания. При этом образовывались монологамеллярные ниосомы размером менее 100 Нм с включением иммобилизируемого материала не менее 50%. Причём наибольший процент иммобилизуемых веществ (64%) был отмечен при экспозиции 30 минут. Включение экстрактов растительных трав в кремний-органические везикулы (ниосомы) и последующая обработка эмульсии на гомогенизаторе высокого давления АПВ гомогенизаторе. Это позволяло, в дальнейшем, осуществлять эффективную пролонгированную дозированную трансдермальную доставку активных субстанций в клетки тканей не нарушая их целостности.

Изучалась противомикробная активность растительных экстрактов в различных лекарственных формах. При сравнении антибактериальной активности экстракта зверобоя в водном и пропиленгликолевом растворе с экстрактом зверобоя в ниосомальном геле через 4 недели при температуре хранения +25° С установлено, что активность ниосомального геля сохраняется на 95,23±1,1%, в водного раствора экстракта зверобоя снижается до 73,5±0,5%, а в пропиленгликолевом растворе – 75,0±0,6%, различия активности достоверны ($\chi^2=301,992$; $p<0,001$). При хранении при температуре +3-5° С активность экстракта зверобоя в водном растворе снижается до 71,5±0,5%, в пропиленгликолевом до 78,5%, а в ниосомальном геле сохраняется на исходном уровне ($\chi^2=177,468$; $p<0,001$). Полученные данные свидетельствуют о том, что

иммобилизация экстракта зверобоя в ниосомы предохраняет его от окисления, способствует длительному сохранению его противомикробной активности. Противомикробная активность ниосомальных форм экстракта зверобоя в течение 6 недель остается на исходном уровне при температуре хранения $+3-5^{\circ}\text{C}$, а при температуре $+25^{\circ}\text{C}$ сохраняется на уровне 95%.

При изучении возможности формирования устойчивости условно-патогенными микроорганизмами основных представителей биоценоза кожи к антимикробному действию ниосомальных форм растительных экстрактов установлена низкая частота образования резистентных форм, подтвержденная клиническими исследованиями.

Была проведена экспериментальная гистологическая оценка способности проникновения ниосом через дерму. Одними из основных показателей возможности трансдермального переноса, являются размер и электростатическая устойчивость ниосом. На основании полученных данных можно сделать вывод о наиболее глубокой пенетирующей способности ниосомального геля с включением трипанового синего. Ниосомы позволили провести краситель через все слои дермы и расположиться глубоко в сетчатом слое дермы. Скопления ниосом с красителем обнаруживаются вблизи сосудов, в стенке и просветах сосудов, а также в сальных железах.

На заключительном этапе у пациентов с акне проводилось сравнительное изучение эффективности разработанного антимикробного ниосомального геля и традиционного геля «Бензамицин». Оценку эффективности наружной терапии проводили до начала лечения и далее один раз в три дня до окончания лечения, путем подсчета количества папул, пустул на стандартном поле 5×5 см на щеке. Динамика разрешения пустулезных и папулезных элементов в основной и контрольной группах позволяют сделать вывод о клинической эффективности ниосомального геля, причём не только в отношении воспалительных элементов (пустул), но и в отношении невоспалительных элементов (папул). Этот факт на наш

взгляд представляется достаточно интересным. Можно предположить, что на регресс папулезных элементов влияет не только антимикробный растительный экстракт, за счет подавления воспалительной реакции в коже, но и сами ниосомы, а точнее кремнийорганические соединения, входящие в их состав. Проведённые клинические исследования подтвердили низкий уровень образования микробных форм, резистентных к антимикробному действию растительных экстрактов зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum*), ромашки аптечной (*Marticaria recutita*), конского щавеля (*Rúmex confértus*) и солодки голой (*Glycyrrhíza glabra*), что свидетельствует о перспективе их использования для терапии акне.

ВЫВОДЫ:

1. Наиболее часто выделяемыми микроорганизмами от больных акне были представители семейства *Micrococcaceae*, *Staphylococcus aureus* - 41,9% и *Staphylococcus epidermidis* - 39,2%, реже (11,7%) встречали *Streptococcus spp.*. В 6,3% случаев у пациентов обнаружили *Enterobacteriaceae spp.*, и в 0,9% *Propionibacterium acne*. Полученные данные коррелируют с традиционными данными о составе микрофлоры, выделяемой из акне элементов.

2. Высокоэффективными для лечения акне являются экстракты ромашки, зверобоя, конского щавеля, календулы и солодки. Разработанная схема экстракции позволила выявить их чувствительность к идентифицированной микрофлоре диско-диффузным методом.

3. Высокие показатели ингибирования роста различной флоры микроорганизмов у больных акне отмечены: у водного экстракта зверобоя в концентрации 10%, пропиленгликолевого экстракта корня солодки в концентрации 5%, и водного экстракта конского щавеля в концентрации 5%.

4. При изучении возможности формирования устойчивости условно-патогенными микроорганизмами основных представителей биоценоза кожи к антимикробному действию ниосомальных форм растительных экстрактов установлена

низкая частота образования резистентных форм, подтверждённая проведёнными клиническими исследованиями.

5. Использование ниосом кремнийорганической природы для инкапсулирования растительных экстрактов, позволило разработать фазы приготовления и рецептуру антимикробного ниосомального геля для лечения акне.

6. Изучение противомикробной активности растительных экстрактов в различных лекарственных формах показало, что иммобилизация растительного экстракта в ниосомы предохраняет его от окисления, способствует длительному сохранению его противомикробной активности в течение 6 недель на исходном уровне при температуре хранения $+3-5^{\circ}\text{C}$, а при температуре $+25^{\circ}\text{C}$ сохраняется на уровне 95%.

7. Экспериментальная гистологическая оценка пенетрирующей способности ниосомального геля с включением трипанового синего продемонстрировала способность ниосом провести краситель через все слои дермы и расположиться глубоко в сетчатом слое дермы. Скопления ниосом с красителем обнаруживались вблизи сосудов, в стенке и просветах сосудов, а также в сальных железах.

8. Сравнительная оценка клинической эффективности наружной терапии пациентов с акне антимикробным ниосомальным гелем и традиционным гелем «Бензамицин», показала более высокую динамику разрешения пустулезных и папулезных элементов разработанным гелем.

СПИСОК ПЕЧАТНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Хатков Э.М. Конструирование и сравнительная характеристика новых питательных сред для культивирования легионелл / Л.С. Катунина, Т.В. Таран, И.А. Базиков, А.В. Таран, Э.М. Хатков, А.Л. Гукасян // *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2011. Т. 23. № 3. С. 60-61.

2. Хатков Э.М. Изучение нанокапсул кремнийорганической природы, используемых для трансдермальной доставки активных субстанций / И.А.Базиков, П.А.Омельянчук,

Э.М. Хатков, А.Л.Гукасян, З.А.Сеираниду // Вестник Российской Академии Естественных наук. 2012.№ 1, С.81-83.

3. Хатков Э.М. Оценка размеров и стабильности везикул кремнийорганической природы, используемых для трансдермальной доставки активных субстанций / Базиков И.А., Аксененко В.А., Хатков Э.М., Гукасян А.Л., Сеираниду З.А. // Медицинский вестник Северного Кавказа. 2012. Т. 25. № 1. С. 81-82.

4. Хатков Э.М. Разработка и изготовление регенерирующих субстанций из экстракта клеток плаценты животного происхождения / И.А.Базиков, И.В. Климанович, Т.А.Авакова, Э.М.Хатков, А.Л.Гукасян // 17-я ежегодная

Неделя медицины Ставрополя. 19-21 сентября 2013 г.: Сборник научных статей. – Ставрополь: РА «Экспо-Медиа», 2013. – С. 203-205.

5 Хатков Э.М. Изучение острой токсичности разработанного регенеративного наружного средства / И.А.Базиков, Э.В.Бейер, И.В.Климанович, Т.А.Авакова, Э.М.Хатков, А.Л.Гукасян. Ф.И.Базиков // 17-я ежегодная Неделя медицины Ставрополя. 19-21 сентября 2013 г.: Сборник научных статей. – Ставрополь: РА «Экспо-Медиа», 2013. – С. 205-209.

6. Хатков Э.М. Исследование безопасности нанокапсул кремнийорганической природы (ниосом), используемых для трансдермальной доставки активных субстанций / И.А.Базиков, Э.В.Бейер, М.М.Магонов, И.В.Климанович, Н.И.Пенькова, Т.А.Авакова, Э.М.Хатков, А.Л.Гукасян. З.А.Сеираниду, Ф.И.Базиков // 17-я ежегодная Неделя медицины Ставрополя. 19-21 сентября 2013 г.: Сборник научных статей. – Ставрополь: РА «Экспо-Медиа», 2013. – С. 141-142

7. Хатков Э.М. Разработка трансдермальных препаратов на основе кремнийорганических наноконтейнеров-ниосом / И.А.Базиков, Н.И. Пенькова, Э.Д. Хатков, И.В. Климанович, М.М. Магонов, М.Д. Байрамкулов, Т.А. Авакова // Тезисы докладов V Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы биологии, нанотехнологий и медицины», г. Ростов-на-Дону, 3-5 октября 2013. – С.260-261.

8. E Khatkov DEVELOPMENT OF TECHNOLOGY OF TRANSDERMAL DRUGS, USING NANOCONTAINERS OF SILICONE NATURE (NIOSOMES) I.Bazikov, E Khatkov, Japan-Russia International Workshop 2013 (JRIW2013). P 48.

9. Хатков Э.М. Применение клеточных и нанотехнологии для разработки новых препаратов / И.А.Базиков, И.В.Климанович, Н.И.Пенькова, М.М.Магонов, Т.А.Авакова, Л.В.Лысогора, Э.М.Хатков, З.А.Сеираниду, А.Л.Гукасян, М.А.Деряженцева, Н.И.Калинкина, Ф.И.Базиков // Медицинский вестник Северного Кавказа. 2013. Т. 29. № 3. С. 14-18.

10. Хатков Э.М. Определение микробной чувствительности к растительным экстрактам, используемым для лечения акне / И.А.Базиков, Э.М.Хатков, Н.И.Пенькова // Медицинский вестник Северного Кавказа. 2014. Т. 9. № 1. С. 74-79.

11. Хатков Э.М. Создание трансдермальнониосомального геля для лечения акне / Хатков Э.М., Базиков И.А., Чеботарёв В.В. // Сборник статей XXXII Международная Научно-Практическая Конференция «Современная медицина: актуальные вопросы», - г. Новосибирск, 11 июня 2014 г., - с.84-91.

Хатков Эдуард Магометович

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Подписано в печать 14.04.15. Формат 60×84 ¹/₁₆.

Печать офсетная. Усл. печ. 1,0.

Заказ 2080. Тираж 100 экз.

ГБУЗ СК СКЦ ЛФК и СМ

«Ставропольский краевой центр лечебной физкультуры
и спортивной медицины»

г. Ставрополь, ул. Комсомольская, 89.