

Эффективность крема, содержащего верапамила гидрохлорид, в терапии рубцов в эксперименте

В. А. Охлопков, С. В. Скальский, Т. Ф. Соколова

ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России
644099, г. Омск, ул. Ленина, д. 12

Приводятся данные по оценке эффективности оригинального антирубцового крема на основе верапамила для лечения гипертрофических и келоидных рубцов в эксперименте. Кожные рубцы крысам моделировали путем иссечения полнослойного лоскута кожи площадью $5 \times 4 \text{ см}^2$ в центре спины. После заживления раны и формирования рубца в течение 2 мес. проводилось ежедневное двукратное втирание в область рубцевания крема, содержащего в качестве базового компонента верапамил. Контроль эффективности лечения проводили через 10, 30 и 60 сут. Изучены следующие показатели: площадь рубца, его тип, консистенция, цвет, чувствительность, по данным биомикроскопии — микроциркуляция рубца. Предложенный новый метод лечения гипертрофических и келоидных рубцов с использованием оригинального верапамилсодержащего крема позволил в эксперименте получить стойкий клинический результат, заключающийся в уменьшении площади рубца на 25%, формировании физиологического рубца, улучшении консистенции и изменении цвета рубца до характерного для окружающей кожи, его размягчении и уплощении, исчезновении болевых ощущений. За счет накожного нанесения способ являлся безболезненным, безопасным и не оказывал влияния на окружающие ткани. По данным биомикроскопии, ремоделирование патологического рубца приближало показатели к уровню здоровой кожи у 93% крыс. Наиболее значимый в динамике болезни клинический эффект применения оригинального антирубцового крема на основе верапамила наблюдался у экспериментальных животных через 60 дней после лечения.

Ключевые слова: **верапамилсодержащий крем, келоидные и гипертрофические рубцы.**

Контактная информация: sergscalskiy@mail.ru. Вестник дерматологии и венерологии 2017; (4): 38—43.

Effectiveness of cream containing verapamil hydrochloride, in the therapy of rubts in experiment

V. A. Okhlopkov, S. V. Skalsky, T. F. Sokolova

Omsk State Medical University
Lenina str., 12, Omsk, 644099, Russia

The data in respect to efficacy of verapamil-containing scar cream for treatment of hypertrophic and keloid scars are presented in the article. Skin scars were simulated in rats by excision of a full-thickness skin flap size 5x4 cm² in the center of the back. Upon wound healing and scar formation a daily twofold fomentation of verapamil-containing cream was carried out. Treatment efficacy was checked after 10, 30 and 60 days. The following indices were studied: an area of the scar, its type, consistence, color, sensitivity, and scar microcirculation according to biomicroscopy. The proposed novel method for treatment of hypertrophic and keloid scars with verapamil-containing cream allowed to obtain a sustained clinical result demonstrating a reducing area of the scar by 25%, a physiological scar formation, improving the consistence and scar colour changing to the normal skin colour, its softening and flattening, and pain disappearance. Due to the dermal application, the method was painless, safety and did not affect on the surrounding tissues. According to biomicroscopy a scar remodeling approximated the indices to the level of healthy skin in 93% of rats. The most significant clinical effect the cream with verapamil was observed in experimental animals in 60 days after treatment.

Key words: verapamil-containing cream, keloid and hypertrophic scars.

■ Появление келоидных и гипертрофических рубцов на месте глубоких дефектов кожи, сопровождавшихся разрушением дермы (изъязвления, раны, ожоги, трещины, воспалительные процессы), после травм, хирургических операций, ожогов, акне является одной из сложных проблем современной медицины, интересующих специалистов многих профилей — дерматологов, косметологов, пластических хирургов [1, 2]. Несмотря на современные достижения и многообразие предложенных методик, традиционно используемые методы лечения (хирургическое иссечение, гормонотерапия, рентгенотерапия, ферментотерапия, СВЧ-криодеструкция) недостаточно эффективны, а поиски новых методов, особенно фармакологической коррекции, которые приостановили бы прогрессирование келоида и его рецидива, не прекращаются [3, 4]. В последние годы появились немногочисленные исследования, в которых рекомендуется использовать верапамил в лечении рубцов. Показано, что местное и внутрисуставное применение верапамила в эксперименте уменьшало образование послеоперационных эпидуральных и внутрисуставных спаек путем ингибирования пролиферации фибробластов [5—7]. Нами выявлено, что верапамил оказывает нормализующее действие на чрезмерный рост соединительной ткани в процессе спайкообразования [8]. На наш взгляд, представляет интерес оценить возможность использования верапамила для фармакотерапии келоидных рубцов.

Цель исследования: экспериментальная оценка эффективности антирубцового крема на основе верапамила для профилактики гипертрофических и келоидных рубцов кожи.

Материал и методы

Экспериментальные исследования проведены на 72 белых беспородных крысах-самцах массой 220—240 г, которым в соответствии с данными моделировали кожные рубцы, морфологически и патофизиологически близкие к гипертрофическим и келоидным рубцам человека [9]. Воспроизведение рубца проведено путем иссечения полнослойного лоскута кожи площадью $5 \times 4 \text{ см}^2$ в центре спины и последующего заживления раны. После формирования рубца (на 55-е сутки от начала эксперимента) проводили лечение с использованием оригинального антирубцового крема с верапамилем. Нами впервые была сконструирована мягкая лекарственная форма для наружного применения — крем комбинированного состава, содержащий в качестве базового компонента верапамил, дающий выраженный фармакологический эффект в отношении избыточной продукции заместительной соединительной ткани, введенный в состав ланолин-вазелиновой основы. В качестве консервирующего, противовоспалительного, антимикробного и противоотечного средства, а также для повышения

проникающей способности крема в его состав был введен димексид (патент 2290919 РФ). Для определения количества верапамила гидрохлорида в креме использовали метод обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии высокого давления. Разделения выполнены на жидкостном хроматографе Shimadzu LC-20 Prominence со спектрофотометрическим детектором ($\lambda = 254 \text{ нм}$). Соотношение компонентов крема: 0,25% раствор верапамила гидрохлорида — 25—35%, димексид — 4—6%, вазелин — 11—19%, ланолин — 40—60%.

Для исследования эффективности антирубцового крема на основе верапамила, согласно листу рандомизации, были сформированы две экспериментальные группы: 1-я — основная ($n = 36$), получавшая верапамил в составе антирубцового крема, 2-я — группа сравнения ($n = 36$) с нанесением водно-вазелин-ланолиновой основы, содержащей димексид, без верапамила. Контрольные группы составили 12 интактных крыс (контроль 1) и 15 крыс без травматического воздействия, которым антирубцовый крем наносился на здоровый участок кожи в центре спины в аналогичных с основной группой режимах воздействия лекарственного средства и сроках забора материала для исследований (контроль 2). Проводилось ежедневное двукратное втирание используемого крема или его основы в зону формирующегося рубца. Контроль эффективности профилактики проводили через 10, 30 и 60 сут с момента заживления раны. Все исследования выполняли в соответствии с современными принципами биоэтики, в том числе «Европейской конвенцией по защите прав позвоночных животных» (Страсбург, 1986) и «Всемирной декларацией прав животных», принятой Международной лигой прав животных 23 сентября 1977 г. в Лондоне и объявленной 15 октября 1978 г. в штабе ЮНЕСКО в Париже. Для характеристики рубцовых повреждений кожи и оценки клинической эффективности антирубцового крема с верапамилем была применена следующая шкала, в соответствии с которой фиксировались изменения состояния рубцов в баллах: размеры рубца (площадь в см^2): менее 1 см^2 — 1 балл, $1\text{—}5 \text{ см}^2$ — 2 балла, $5\text{—}10 \text{ см}^2$ — 3 балла, $10\text{—}15 \text{ см}^2$ — 4 балла, более 15 см^2 — 5 баллов; тип рубца: нормотрофический (не выходит за пределы раны, плоский, мягкий, эластичный, белесоватого цвета) — 0 баллов, гипертрофические и келоидные рубцы — 3 балла. Гипертрофические и келоидные рубцы были объединены в одну группу в связи с тем, что внешне их дифференцировать достаточно сложно, так как для обоих видов характерно избыточное образование фиброзной ткани с нависанием или выходом за края раны, у тех и других тонкий эпидермис, отсутствуют кожный рисунок и придатки кожи; цвет рубца: окраска здоровой кожи — 0, легкая эритема — 1, выраженная эритема — 2; консистенция рубца: нормальная — 0, легкое

уплотнение — 1, выраженная индурация — 2; чувствительность рубца: отсутствие боли — 0, боль — 4; данные сравнительной биомикроскопии: более 20 ед. — 0,15 балла; 20 ед. — 1 балл, 10—15 ед. — 2,5 балла, 10 ед. — 3 балла, до 5 ед. — 4 балла. Сумма показателей шкалы до 5 баллов расценивалась как хороший результат, от 5 до 10 баллов — как удовлетворительный, более 10 баллов — неудовлетворительный. Сравнительную биомикроскопию с оценкой состояния микроциркуляции в зоне гипертрофических/келоидных рубцов проводили с помощью устройства для биомикроскопии кожи, принцип работы которого заключается в биомикроскопии кожи в области рубца экспериментальных крыс и соответствующих ему точек тела контрольных животных в отраженном свете с фокусированием полученного изображения на преобразователе световых сигналов в электрические [10]. Устройство для определения индекса капиллярной асимметрии изготовлено на базе тубуса с объективом, окуляра и источника света капилляроскопа М-70А. Преобразователь световых сигналов размещен перед окуляром. Световой поток от источника света направляется на исследуемый объект. Отражаясь от него, луч проходит через объектив, окуляр и затем попадает в преобразователь световых сигналов в электрические. Сравняются показатели, полученные с участков кожи, покрытых рубцовой тканью, и с симметричных участков здоровой кожи. Расчет индекса капиллярной асимметрии производится в относительных единицах по формуле: $K = (B : C) \times 100$, где K — индекс капиллярной асимметрии; B — показатели в симметричных точках тела; C — показатели в области рубца. Статистическую обработку данных проводили с помощью программ Statistica 6.0, согласно критериям параметрической статистики, с подсчетом средней арифметической — M и ее ошибки — m . Оценка статистической значимости различий между сравниваемыми показателями проводилась с использованием t -критерия Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при степени безошибочного прогноза, равной 95% ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение

В результате проведенных экспериментальных исследований было выявлено, что нанесение антирубцового крема на неповрежденную кожу крыс (контроль 2) после щадящего удаления волосяного покрова не вызывало признаков ее изменения. В течение всего периода наблюдения (10, 30, 60-е сутки) на месте контакта верапамил-содержащего крема с кожей признаки воспаления и/или аллергических реакций: покраснение, отечность, папулы, микровезикулы и т.д. отсутствовали, цвет кожи оставался розовым, без признаков шелушения, кожа имела гладкую поверхность, хорошо смещалась относительно

но подлежащих тканей, легко образуя складку, при пальпации была безболезненной. Состояние кожных покровов интактных крыс (контроль 1) и крыс группы контроль 2, на здоровую кожу которых длительно наносился исследуемый крем с верапамилом, не различалось.

При моделировании кожных рубцов животные как основной, так и группы сравнения на момент начала исследования антирубцового крема с верапамилом демонстрировали признаки полной эпителизации гранулирующей поверхности раны и формирования патологических рубцов с плотной, грубой текстурой как самого рубца, так и фиброзных сращений рубцового регенерата и окружающей его кожи с подлежащими мягкими тканями.

Экспериментальное лечение крыс с рубцами основной группы верапамилсодержащим кремом в течение 10 дней не сопровождалось уменьшением площади рубцов. Однако характерными оказались изменения их цвета и консистенции. В группе сравнения эти изменения не были заметны. Так, у 65% крыс основной группы, леченных антирубцовым кремом с верапамилом, окраска рубцов из ярко-красной, цианотичной трансформировалась в розовую, а местами даже в светло-розовую. Рубцы стали более гладкими, с тенденцией к выравниванию до уровня здоровой кожи, более чем в половине случаев при пальпации исчезла болезненность. Рубцы крыс группы сравнения (нанесение водно-вазелин-ланолиновой основы крема, содержащей димексид, без верапамила) стали светлее, а их консистенция, возвышение над здоровой кожей, болезненность при пальпации имели тенденцию к нормализации не более чем у 15% подопытных животных.

Через 30 дней лечения в основной группе крыс отмечено уменьшение площади рубцов в среднем на 12%. В группе сравнения этот показатель остался неизменным. У 82% крыс основной группы цвет рубцов стал светло-розовым. В группе сравнения такое изменение отмечено в 18% случаев. В основной группе высота рубцов заметно уменьшилась, в 65% случаев они сравнялись с уровнем кожи и имели гладкую поверхность, сравнительно легко образуя складку. В группе сравнения у 20% крыс также наблюдалось размягчение рубцовой ткани, но рубцы в складку не брались и оставались малоподвижными относительно подлежащих тканей.

Через 60 дней у крыс, получавших лечение верапамилом, площадь рубцов уменьшилась на 25%. В группе сравнения их площадь уменьшилась лишь на 7% от исходной. В основной группе более чем у 87% животных рубцы стали тонкими, светлыми, не возвышались над уровнем кожи, при пальпации рубцы были безболезненными. У крыс группы сравнения в 75% случаев наблюдались признаки патологических рубцов (цвет рубцов розовый, местами



красный, рубцы плохо смещались относительно подлежащих тканей).

При оценке ближайших и отдаленных результатов лечения в баллах в основной группе уже через 30 дней систематического применения верапамила средняя сумма составила 4,5 балла и результат лечения расценен как хороший, а в группе сравнения — 11,5 балла — результат неудовлетворительный. В сроки обследования 60 дней средняя сумма баллов в основной группе составила 2,5 — хороший результат, тогда как в группе сравнения данная сумма продолжала составлять 11 баллов — неудовлетворительный результат.

Проведение биомикроскопии кожи у крыс с патологическими рубцами, получавших (основная группа) и не получавших (группа сравнения) верапамилсодержащий крем, показало, что интенсивность поглощения светового потока поверхностью формирующегося рубца, зависящая прежде всего от интенсивности микроциркуляции, заметно регрессирует, возвращаясь к показателям здоровой кожи крыс. В динамике эти изменения носят плавный нарастающий характер (см. рисунок). Через 10 дней воздействия верапамила

на рубцовую ткань условные показатели светопоглощения поверхностью рубца в основной группе составили 8,0 у 64% крыс, через 30 дней — 14,5 у 81% крыс, через 60 дней — 18,5 у 93% крыс. В группе сравнения условные показатели светопоглощения поверхностью рубца составили 8,0 у 18% крыс, через 30 дней — 14,5 у 21% крыс, через 60 дней — 18,5 у 41% крыс.

Как показали наши исследования, у 64% крыс основной группы при проведении биомикроскопии рубцовой ткани через 10 дней от начала применения антирубцового крема показатели составили 8 усл. ед. В группе сравнения такие изменения коснулись лишь 18% животных. Через 30 дней при проведении биомикроскопии кожи у 81% крыс основной группы показатели возросли до 14,5 усл. ед. В группе сравнения рост показателей биомикроскопии до 14,5 усл. ед. отмечен у 21% животных. Через 60 дней биомикроскопические показатели области рубцов оценивались в 18,5 ед. у 93% экспериментальных крыс основной группы и лишь у 41% — в группе сравнения. При сравнении данных биомикроскопии кожи становится очевидным, что местное применение верапамила у крыс основной группы ремоделировало патологический кожный рубец начиная с 10-х суток его применения после эпителизации раны и постепенно приближало показатели к аналогичному уровню здоровой кожи (30 и 60 дней).

Заключение

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о наличии у традиционно применяемого в кардиологии блокатора медленных кальциевых каналов верапамила новых свойств по регуляции процессов рубцовообразования. Предложенная лекарственная форма в виде оригинального крема, содержащего 0,25% раствор верапамила гидрохлорида в водно-жировой основе, при местном щадящем способе доставки верапамила в толщу рубца оказывает выраженное антирубцовое действие, которое регистрировалось в сроки от 10 до 60 дней после эпителизации раны. Накожное применение верапамила проявляется формированием нормотрофического рубца, уменьшением площади рубцовой поверхности, улучшением консистенции и изменением цвета рубца, его значительным лизисом, размягчением и уплотнением, исчезновением болевых ощущений. По данным биомикроскопии, местное применение верапамила ремоделирует патологический кожный рубец у 93% крыс и к 60-м суткам лечения приближает показатели к уровню здоровой кожи. За счет накожного нанесения способ является безболезненным, безопасным и не оказывает влияния на окружающие ткани, что подтверждается устойчивым клиническим результатом, наблюдаемым у экспериментальных животных через 60 дней от начала применения крема. ■

Литература

1. Zhukova O. V., Potekaev N. N., Stenko A. G., Burdina A. A. Pathogenesis and histomorphologic features of skin scars. *Clin Dermatol Venerol* 2009; 3: 4—9. [Жукова О. В., Потеекаев Н. Н., Стенько А. Г., Бурдина А. А. Патогенез и гистоморфологические особенности рубцовых изменений кожи. *Клин дерматол и венерол* 2009; 3: 4—9.]
2. Karapetyan G. E., Pakhomova R. A., Kochetova L. V. et al. Treatment of hypertrophic and keloid scars. *Fundamental Studies* 2013; 3: 70—73. [Карапетян Г. Э., Пахомова Р. А., Кочетова Л. В. и др. Лечение гипертрофических и келоидных рубцов. *Фундаментальные исследования* 2013; 3: 70—73.]
3. Voronkov A. V., Stepanova E. F., Zhidkova Yu. Yu., Gamzeleva O. Yu. State-of-the-art approaches to pharmacological correction of pathological scars. *Fundamental Studies* 2014; 3—2: 301—08. [Воронков А. В., Степанова Э. Ф., Жидкова Ю. Ю., Гамзелева О. Ю. Современные подходы фармакологической коррекции патологических рубцов. *Фундаментальные исследования* 2014; 3 (2): 301—308.]
4. Kennet A. Scar correction. M.: Read Elsvier; 2009. [Кеннет А. Коррекция рубцов. М.: Рид Элсивер; 2009.]
5. Li Y., Ma X, Yu P. et al. Intra-articular adhesion reduction after knee surgery in rabbits by calcium channel blockers. *Med Sci Monit* 2014; 20: 2466—2471.
6. Wang R, Mao Y, Zhang Z et al. Role of verapamil in preventing and treating hypertrophic scars and keloids. *Int Wound J* 2015; doi: 10.1111/iwj.12455
7. Wang Z., Wang Y., Xie P. et al. Calcium channel blockers in reduction of epidural fibrosis and dural adhesions in laminectomy rats. *Eur J Orthop Surg Traumatol*. 2014; 24 (1): 293—298.
8. Skalsky S. V., Sokolova T. F., Sychev D. A. Effect of calcium channel-blocking agents on peritoneal cells while modeling adhesions in the abdominal cavity. *J. Biomedicine* 2016; 3: 11—17. [Скальский С. В., Соколова Т. Ф., Сычев Д. А. Воздействие блокаторов медленных кальциевых каналов на перитонеальные клетки при моделировании спаечного процесса в брюшной полости. *Ж. Биомедицина* 2016; 3: 11—17.]
9. Logvinov S. V., Ariy E. G. Simulation of excessive pathological skin scar. *Issues of Reconstructive and Plastic Surgery* 2002; 3: 36—40. [Логвинов С. В., Арий Е. Г. Способ экспериментального моделирования избыточного патологического кожного рубца. *Вопросы реконструктивной и пластической хирургии* 2002; 3: 36—40.]
10. Chernetsov A. A. Unit for determining of capillary asymmetry index. *Milit. Medical J*. 1988; 9: 61—62. [Чернецов А. А. Устройство для определения индекса капиллярной асимметрии. *Воен мед журн* 1988; 9: 61—62.]

об авторах:

В. А. Охлопков — д.м.н., профессор, и. о. ректора, зав. кафедрой дерматовенерологии и косметологии ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России

С. В. Скальский — к.м.н., доцент, зав. кафедрой фармакологии с курсом клинической фармакологии ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России

Т. Ф. Соколова — д.м.н., ассистент кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье