

СКРИНІНГ РАНОЗАГОЮВАЛЬНОЇ ДІЇ НОВОГО СТОМАТОЛОГІЧНОГО ГЕЛЮ НА ОСНОВІ РОСЛИННОГО ПРЕПАРАТУ ТА СИНТЕТИЧНОГО АНТИСЕПТИКА

(Морфологічні дослідження, частина II)

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія (м. Полтава)

*Національний фармацевтичний університет (м. Харків)

Дана робота є фрагментом НДР: «Пошук засобів з числа похідних 2-оксоіндолу, 3-оксипіридину та інших біологічно активних речовин для фармакокорекції адаптивних процесів при порушеннях гомеостазу різної етіології» (номер державної реєстрації 0111U004879).

Вступ. Травматичні ушкодження слизової оболонки порожнини рота (СОПР) є поширеними в практиці лікарів – стоматологів: терапевтів, хірургів, ортопедів, ортодонтів. Для лікування цієї патології перспективними є гелі. Однак арсенал вітчизняних комбінованих засобів у такій лікарській формі є обмежений. Це сприяло розробці нового комбінованого стоматологічного гелю на основі рослинного препарату та синтетичного антисептика науковцями кафедри товарознавства (зав. кафедри – д. фарм. н. Баранова І. І.) Національного фармацевтичного університету, м. Харків.

У попередній роботі нами були представлені результати гістологічного дослідження стану слизової оболонки щоби шурів після гострого травматичного ушкодження [1]. Відтворена модель патології є підґрунтям для вивчення фармакологічних засобів для лікування захворювань СОПР.

Мета дослідження. Визначити оптимальне співвідношення діючих компонентів нового гелю на підставі ранозагоювальної активності при лікуванні гострого механічного травматичного ушкодження СОПР.

Об'єкт і методи дослідження. Експерименти виконані на 25 статевозрілих білих щурах лінії Вістар, масою 160-200 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Піддослідні тварини були розділені на 5 груп: 1-ша – травма + гель № 1 (основа); 2-га – травма + гель №5; 3-я – травма + гель №6; 4-а – травма + гель №7; 5-а – травма + гель №8.

Гостру механічну травму слизової оболонки щоби моделювали за методичними рекомендаціями [2]. Лікування гелями починали з другого дня після

нанесення травми. На першому етапі тривалість лікування складала 3 доби, а на другому – 7 діб. Терміни лікування визначені тривалістю фармакотерапії запальних захворювань СОПР у хворих. Після нанесення гелю тварини утримувались від їжі і води протягом однієї години. На наступний день після закінчення лікування тварин виводили з експерименту під ефірним наркозом. Видаляли травмований фрагмент щоби розміром 0,7 см X 0,7 см та фіксували у 10% нейтральному формаліні, промивали в проточній воді, проводили через батарею спиртів зростаючої міцності і заливали в парафін. Зрізи фарбували гематоксиліном та еозином [3]. Для проведення гістоморфологічних досліджень використовували мікроскоп з цифровою мікрофотонасадкою фірми Olympus C3040-ADU з використанням спеціальної програми «Olympus DP – Soft».

Результати досліджень та їх обговорення.

У групі тварин, де досліджувався гель №5 з мінімальним вмістом діючих речовин (5% ротокану та 0,3% триклозану), спостерігаються наступні зміни в епітелії і підлеглій сполучній тканині слизової оболонки щоби. В епітелії зберігається товщина рогових лусочок, незначно виражений шипуватий шар. У базальному шарі епітелію, поряд з незначною проліферацією, виявляються явища акантолізу, тобто, часткове руйнування базальної мембрани. Поряд з незначними деструктивними змінами епітелію, під дією препарату спостерігаються явища ексудації навколо мікросудин сосочків. Останнє характеризується виходом плазми крові, лейкоцитів у сполучну тканину з утворенням запального інфільтрату та набряку (рис. 1).

Необхідно відзначити, що під впливом гелю №5 явища ексудації на сьомий день лікування збільшуються. Вони характеризуються наявністю під епітеліальним шаром багаточисельних дифузних запальних інфільтратів у вигляді лейкоцитів, плазматичних та лімфоцитів на фоні набряку сполучної тканини (рис. 2).

Отже, малі концентрації діючих речовин обумовлюють проникність базальних мембран у вигляді акантолізу з наступним утворенням вогнищевих або дифузних інфільтратів, які не зникають навіть після семи днів лікування.

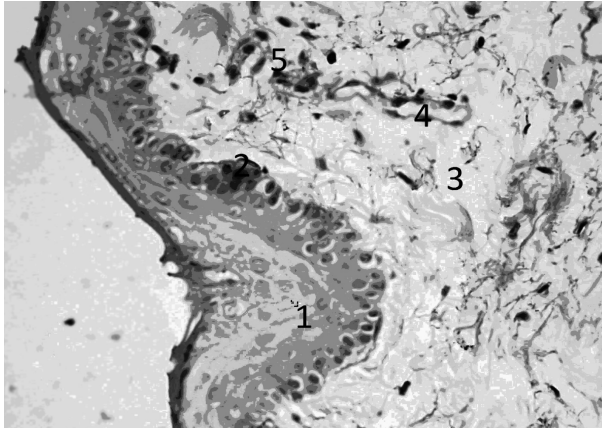


Рис. 1. Ділянка слизової оболонки порожнини рота щура (травма + гель №5), 3 дні лікування. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. х 200.
1- дефект шипуватого шару; 2- проліферація базальних клітин; 3- набряк підслизового шару; 4- венула; 5- еміграція лімфо-лейкоцитів.

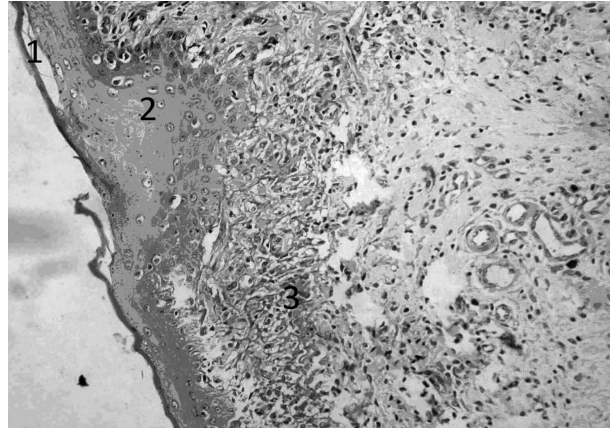


Рис. 2. Ділянка слизової оболонки порожнини рота щура (травма + гель №5), 7 днів лікування. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. х 200. 1- пошкодження зроговілого шару; 2- гіперплазія шипуватого шару; 3- запальна інфільтрація підслизового шару.

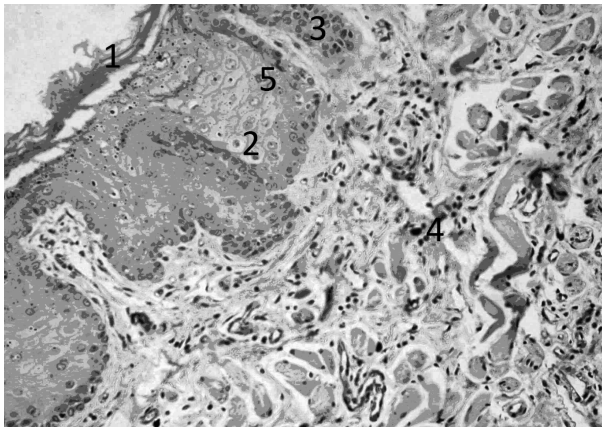


Рис. 3. Ділянка слизової оболонки порожнини рота щура (травма + гель №6), 3 дні лікування. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. х 200.
1- десквамація епітелію; 2- пойкилоцитоз; 3- проліферація базальних клітин з вегетацією; 4- дегрануляція лейкоцитів; 5- набряк сосочків епітелію.

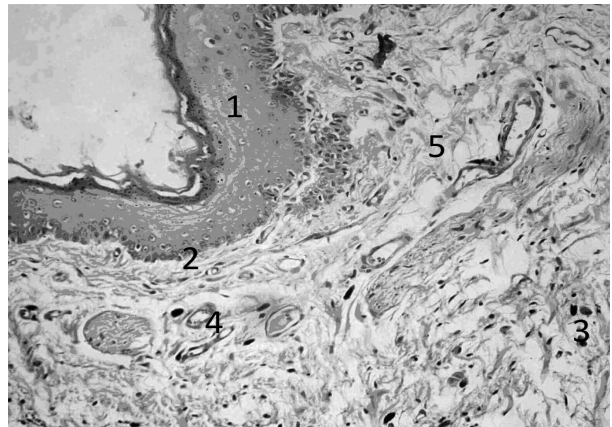


Рис. 4. Ділянка слизової оболонки порожнини рота щура (травма + гель №6), 7 днів лікування. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. х 200.
1- багатoshаровий плоский зроговілий епітелій; 2- базальна мембрана; 3- клітинний інфільтрат; 4- судини мікроциркуляторного русла; 5- рихловолокниста сполучна тканина.

При застосуванні гелю №6, який містить більшу концентрацію триклозану (0,5 %) і таку ж концентрацію ротокану (5 %) з лікувальною метою протягом трьох днів, визначаються значні зміни контактуючого до гелю епітелію і незначні деструктивні процеси підлеглої сполучної тканини. Встановлено, що в епітелії відбуваються значні деструктивні зміни, які стосуються як рогового шару, так і шипуватих клітин. Роговий шар, порівняно з попередніми групами тварин, у яких досліджувались гелі №1 і №5, десквамується у вигляді окремих лусочок або пластинок. При цьому зернистий шар частково руйнується. Процес деструкції спостерігається також у клітинах шипуватого шару у вигляді вакуольної та балонної дистрофії, у той час як базальний шар епітелію вегетує в підлеглу сполучну тканину. Слід відзначити, що поряд зі значними змінами в епітелії, сосочки,

що врастають, незначно змінені, хоча іноді навколо мікросудин визначається незначна проліферація фібробластів (**рис. 3**).

Після лікування гелем №6 протягом семи днів у зонах кріптів спостерігається часткова організація рогового шару у вигляді паралельних рогових лусочок. Поряд з цим зберігаються окремі островки вегетації епітелію. Сполучна тканина підслизового шару у сосочках частково заміщена рихловолокнистою сполучною тканиною (**рис. 4**).

Отже, підводячи підсумок впливу гелю з максимальною концентрацією триклозану протягом трьох днів, згідно морфологічним дослідженням, у травмованій слизовій оболонці щоти визначається деструкція, десквамація епітелію і вакуольно-балонна дистрофія епітелію. В той час після семи днів лікування гелем №6 у підлеглої до епітелію сполучній

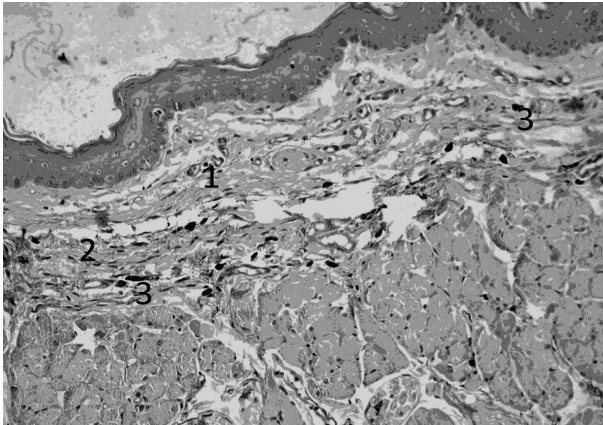


Рис. 5. Ділянка слизової оболонки порожнини рота щура (травма + гель № 7), 3 дні лікування. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. х 200.
1-лімфоцити; 2- фіброblastи; 3- лаброцити.

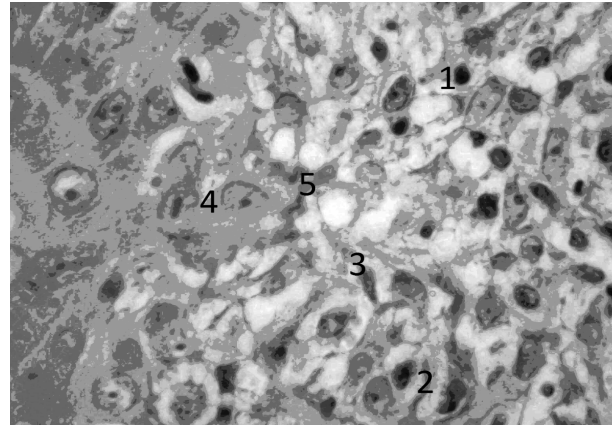


Рис. 6. Ділянка слизової оболонки порожнини рота щура (травма + гель № 7) 3 дні лікування. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. х 1000:
1- лімфоцити; 2- макрофаги; 3- фіброblastи; 4- вегетуючий епітелій; 5- пошкодження базальної мембрани.

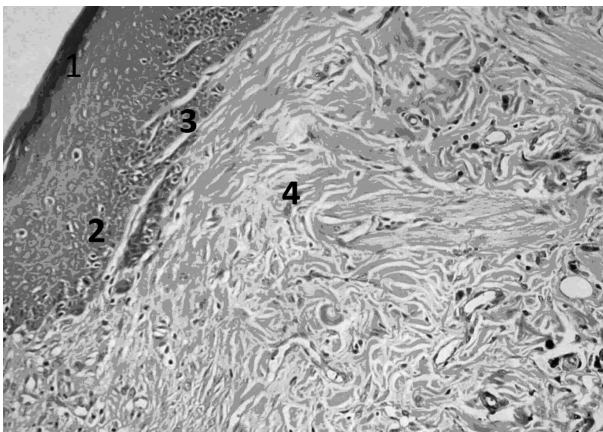


Рис. 7. Ділянка слизової оболонки порожнини рота щура (травма + гель № 7), 7 днів лікування. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. х 200.
1- потовщення шару епітелію з роговими лусочками; 2- шипуваті клітини; 3- слабо виражена вегетація за рахунок розростання сполучної тканини; 4- фіброз (склероз).

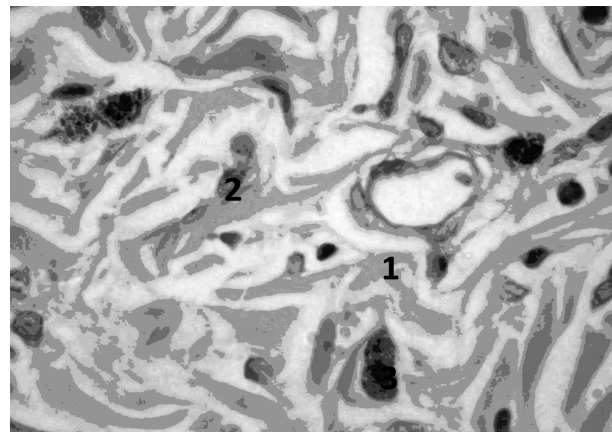


Рис. 8. Ділянка слизової оболонки порожнини рота щура (травма + гель № 7), 7 днів лікування. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. х 1000: 1- фіброз навколо судин; 2- фіброцити; 3- лаброцити з секреторними гранулами.

тканині відбувається проліферація з утворенням пухкої сполучної тканини.

Під впливом гелю № 7 і № 8, які містять ротокан і триклозан відповідно у концентраціях 10 % і 0,4 % та 15 % і 0,4 %, після трьох днів лікування встановлені подібні морфологічні зміни у слизовій оболонці порожнини рота. Результати досліджень показують, що в порівнянні з гелями, які містять мінімальну та максимальну концентрації триклозану, вміст препарату в концентрації 0,4 % є оптимальним, який не визиває деструктивних змін в епідермісі. Плоский епітелій в ділянці слизової оболонки щоти зберігає свою структуру. Так, на її поверхні виявлений тонкий роговий шар, під ним зернистий та добре виражений шипуватий. І на решті, на фоні добре вираженої базальної мембрани чітко контуруються базальні клітини (**рис. 5**).

Необхідно відмітити, що через три дні лікування у підслизовому шарі епітелію появляються скупчення як лімфоцитів, так і юних фіброblastів. Лімфоцити мають округле, базофільне ядро та невеликий вінчик цитоплазми. Поряд з цим, виявляються фіброblastи в різній стадії диференціації, лаброцити у стані спокою (**рис. 6**) [4].

Після семи днів лікування гелем № 7 спостерігається наступне взаємовідношення епітелію і підлеглої сполучної тканини порівняно з 3 –х денним терміном терапії. Товщина епітелію збільшується. При цьому роговий шар представляє собою еозинофільні пласти рогових лусочок, які з'єднуються з підлеглим зернистим шаром. Останній більше виражений порівняно з попереднім терміном лікування. Той же самий ефект спостерігається у шипуватому шарі. Нарешті, базальний шар епітелію має вегетуючий ріст у підлеглу сполучну тканину [5]. В останній

спостерігаються явища фіброзу, тобто розростання грубоволокнистої пухкої сполучної тканини (**рис. 7**).

На більшому мікроскопічному збільшенні встановлено, що розростання сполучної тканини обумовлюється проліферацією фібробластів на різних стадіях їх секреції. Тобто юні фібробласти навколо себе утворюють основну речовину, а диференційовані фібробласти, маючи гофроване ядро на одному із полюсів, виділяють преколаген (**рис. 8**).

Висновки. Гель №5 для лікування травми слизової болонки порожнини рота протягом трьох днів проявив незначну дію. Спостерігалась ексудація внаслідок слабкої дії геля на лабріцити. Під впливом гелю №5 зберігались запальна клітина інфільтрація підслизового шару та його набряк на сьомий день.

Лікування гелем №6 протягом трьох днів супроводжувалось ушкодженням епітелію слизової оболонки порожнини рота, що може свідчити про цитотоксичну дію триклозана в більш високій концентрації. Через сім днів лікування спостерігалось зроговіння поверхневих шарів епітелію з його десквамацією.

Гель №7 і гель №8 виявили оптимальну дію на процеси регенерації травмованої слизової болонки порожнини рота на першому етапі лікування. Це зумовлено зниженням проникності судинної стінки, зменшенням виходу серотоніну, гістаміну. Через сім днів лікування спостерігалась проліферація епітелію з вегетацією і проліферація фібробластів, з утворенням фіброзної сполучної тканини.

Враховуючи, що гель №7 і гель №8 виявляють однаковий ефект на процеси регенерації травмованої слизової оболонки щоки і містять однакову кількість триклозана у своєму складі, оптимальним для подальшого фармакологічного дослідження є вибір гелю №7 з меншим вмістом ротокану, який отримав назву «Ротрин – дента».

Отже, під впливом гелю №7 і гелю №8 після семи днів лікування спостерігається підвищена проліферативна активність епітелію з активацією фібробластів і утворенням фіброзної сполучної тканини.

Перспективи подальших досліджень. В подальшому планується дослідження нового гелю «Ротрин-дента» з референс-препаратом за проти-запальною дією.

Література

1. Морфологічні зміни при травматичному ушкодженні слизової оболонки порожнини рота щурів (Частина I) / Н. М. Дев'яткіна, Д. Є. Ніколенко, О. Є. Дев'яткін [та ін.]. // Вісник проблем біології і медицини. – 2012. – Вип. 4, Т. 1 (96). – С. 193-195.
2. Доклінічне вивчення засобів для лікування та профілактики захворювань слизової оболонки порожнини рота: методичні рекомендації / К. М. Косенко, В. Я. Скиба, А. П. Левицький [та ін.]. – К., 2002. – 19 с.
3. Микроскопическая техника : Рук-во / Под ред. . Д. С. Саркисова и Ю. Л. Перова. – М. : Медицина, 1996. – 544 с.
4. Воспаление. Руководство для врачей / Под ред. . В. В. Серова, В. С. Паукова. – М. : Медицина, 1995. – 640 с.
5. Richard N. In : Basic pathology / [edited by] Vinay Kymar, Ramzi S., Cortan S. L., Standey. L. Robbins; with illustrations by James A. Perkins / – 6 th ed. – Philadelphia, London, Toronto, Monreal, Syndey, Tokio : Saunders, 2003. – P. 47-59.

УДК 615.322

СКРИНІНГ РАНОЗАГОЮВАЛЬНОЇ ДІЇ НОВОГО СТОМАТОЛОГІЧНОГО ГЕЛЮ НА ОСНОВІ РОСЛИННОГО ПРЕПАРАТУ ТА СИНТЕТИЧНОГО АНТИСЕПТИКА

(Морфологічні дослідження, частина II)

Бобирьов В. М., Дев'яткіна Н. М., Беспала Ю. О., Ніколенко Д. Є.

Резюме. У статті приведені результати морфологічних досліджень ранозагоювальних властивостей нового комбінованого гелю з різним вмістом діючих речовин (ротокану і триклозану) на моделі гострого травматичного ушкодження слизової оболонки порожнини рота щурів. Визначено гель з оптимальним співвідношенням активних компонентів, який є перспективним для подальшого фармакологічного дослідження.

Ключові слова: комбінований гель, ранозагоювальна дія, слизова оболонка порожнини рота, травма, скринінг.

УДК 615.322

СКРИНІНГ РАНОЗАЖИВЛЯЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ НОВОГО СТОМАТОЛОГИЧЕСКОГО ГЕЛЯ НА ОСНОВЕ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРЕПАРАТА И СИНТЕТИЧЕСКОГО АНТИСЕПТИКА

(Морфологические исследования, часть II)

Бобырев В. Н., Девяткина Н. Н., Беспалая Ю. А., Николенко Д. Е.

Резюме. В статье приведены результаты морфологических исследований ранозаживляющих свойств нового комбинированного геля с разным содержанием действующих веществ (ротокана и триклозана) на модели острого травматического повреждения слизистой оболочки полости рта крыс. Определен гель с оптимальным соотношением активных компонентов, который является перспективным для дальнейшего фармакологического исследования.

Ключевые слова: комбинированный гель, ранозаживляющее действие, слизистая оболочка полости рта, травма, скрининг.

UDC 615. 322

Screening of Wound-Healing Action Produced by New Oral Phytogenic Antiseptic Gel (Morphological study part II)

Bobyriov V. M., Deviatkina M. M., Bespala Yu. O., Nikolenko D. Ye.

Summary. Traumatic injuries of oral mucosa (TIOM) are commonly encountered in dental practice and dentists, oral surgeons, orthopedists and orthodontists often face them. Gels seem to be promising to cure these conditions. However the arsenal of domestic medicines manufactured in the form of gel is bounded. This has impelled the researches of Kharkiv National Pharmaceutical University to work out new oral phytogenic gel containing synthetic antiseptic.

Our previous research articles presented the results of histological studying of oral mucosa in rats subjected to acute traumatic injury. This pathology modeled was the basis for searching pharmacological products which might promote more effective healing of oral mucosa.

This research is aimed to determine the optimal proportion of acting agents of the newly developed gel based on the wound-healing properties in the treatment of acute mechanical traumatic injuries of oral mucosa.

Materials and methods. The experiments involved 25 pubertal Wistar white rats weighed 160 – 200 g which were divided into 5 groups: the 1st – trauma + gel № 1 (test group); the 2nd – trauma + gel № 5; the 3rd group – trauma + gel № 6; the 4th – trauma + gel № 7, and the 5th – trauma + gel № 8.

Acute mechanical trauma of buccal oral mucosa was modeled by ophthalmic trepan. The application of the gel started on the second day since the traumas had been induced. With the rats under general anesthesia, the injured segments were cut out and put into 10% neutral formaldehyde solution. Microscopic sections were stained with hematoxylin and eosin.

It has been found out the gel № 5 demonstrated low therapeutic efficiency for the first 3 days. The exudation was observed due to the little effect produced by the gel on the labrocytes. In spite of the gel application the inflammatory infiltration of submucosal layer and its edema lasted for 7 days.

The application of gel № 6 for 3 days was accompanied with impairment of epithelium of oral mucosa that may suggest cytotoxic action produced by triclosan in higher concentration. In 7 days cornification of superficial epithelial layers and their desquamation were observed.

The gel № 7 and gel № 8 demonstrated optimal effects towards the regeneration of injured oral mucosa at the first stage of the treatment. This might be caused by decreased permeability of vascular wall, suppressed release of serotonin and histamine. On the 7th day since the treatment started we registered proliferation of epithelium with vegetation and proliferation of fibroblasts leading to the formation of fibrous connective tissue.

As both the gel № 7 and gel № 8 produced similar effects on the regenerative processes of injured oral mucosa and contained equal proportion of triclosan, the gel № 7 was considered to be more promising for further studying as it contained less concentration of rotokan. This gel was named “Rotrin-denta”.

Thus, the therapeutic effects by applying the gel № 7 and gel № 8 for 7 days demonstrate increased proliferative activity of epithelium accompanied with the activation of fibroblasts and formation of fibrous connective tissue.

Perspectives for further studying. It may be promising to compare anti-inflammatory properties of this new gel “Rotrin-denta” and reference medicines.

Key words: combined gel, wound-healing action, oral mucosa, trauma, screening.

Рецензент – проф. Аветіков Д. С.

Стаття надійшла 17. 04. 2013 р.