

І.В. Стефанів, Л.В. Яковлева, С.А. Гращенкова, Ю.Б. Лар'яновська

ВПЛИВ СТОМАТОЛОГІЧНОЇ НАСТОЯНКИ «КАСДЕНТ» НА СТАН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ У ЩУРІВ НА МОДЕЛІ ГІНГІВІТУ

*Національний фармацевтичний університет,
Центральна науково-дослідна лабораторія,
м. Харків, Україна*

e-mail: *cndlufau@mail.ru*

Резюме: У дослідях на лабораторних тваринах проведено вивчення ефективності використання стоматологічної настоянки при моделюванні експериментального гінгівіту у щурів. Експериментальний гінгівіт відтворювали на 24 безпородних щурах порушенням мікрофлори порожнини рота внутрішньошлунковим уведенням лінкоміцину у дозі 60 мг/кг та тривалими аплікаціями бджолоїної отрути у концентрації 2 мг/мл в об'ємі 1-2 мл/тварину протягом 8 діб. Гінгівіт супроводжувався підвищенням показників перекисного окислення ліпідів та зниженням антиоксидантного захисту в гомогенаті слизової оболонки присінку ротової порожнини (рівень відновленого глутатіону) та підвищенням показників запалення у гомогенаті – кислотої та лужної фосфатаз у 2,5-3 рази відповідно. В ході дослідження було підтверджено ефективність застосування стоматологічної настоянки, що супроводжувалося покращенням клінічного перебігу захворювання і результатів лікування, про що свідчать результати біохімічних і гістологічних досліджень.

Ключові слова: експериментальний гінгівіт, слизова оболонка, присінок порожнини рота, сироватка крові, щури, активність фосфатаз, гістологічні дослідження.

Вступ. Однією з найбільш актуальних проблем у сучасній стоматології є захворювання на гінгівіт (Г). Головним чинником розвитку Г вважається порушення мікрофлори ротової порожнини та розвиток запалення. Типова форма Г характеризується набряком ясенного краю, кровоточивістю під час чищення і приймання їжі, особливо грубої і волокнистої. Причин для виникнення захворювань ясен безліч. Якщо не вживати заходів щодо усунення проблеми, це ускладнюється приєднанням запалення зв'язкового апарату зуба і кісткової тканини, що може призвести до виникнення пародонтиту. Для профілактики та лікування початкових стадій Г широко використовують фітозасоби. Лікарські рослини (ЛР) мають низку загальновідомих переваг у порівнянні з лікарськими засобами (ЛЗ) синтетичного походження. Серед них найбільш важливими є їх низька токсичність, комплексний вплив на патогенетичні ланки захворювання та доступність.

Нова розробка вчених НФаУ у вигляді 40% спиртової настоянки, до складу якої увійшли витяжки кореневищ і коренів родовика (*Sanguisorbae rhizomata et radices*), айру (*Rhizoma Calami*) і солодки (*Glycyrrhizae radices*), біологічно активні речовини (БАР) яких забезпечують м'яку фармакологічну дію. Низька загальна токсичність настоянки дозволяє зни-

зити ризик виникнення побічних ефектів. Попередні дослідження виявили у стоматологічної настоянки антимікробну, антифунгальну і протизапальну дію^{6,7}. Комплексне використання фармакологічних ефектів ЛР може слугувати базисним терапевтичним фактором у первинній профілактиці та Г.

Мета дослідження – вивчення ефективності стоматологічної настоянки на моделі експериментального Г у щурів, в основі якого лежать порушення мікрофлори ротової порожнини, та проведення аналіз фармакологічної активності настоянки «Касдент» на лабораторних тваринах у порівнянні з настоянкою «Фітодент» виробництва ПАТ «Червона зірка» (Україна) – аналогом за фармакологічною дією та лікарською формою.

Матеріали та методи дослідження. У дослідженнях використовували лабораторних щурів. Досліди проведені на 24 білих безпородних щурах самцях масою 190-230 г, яких розподілили на 4 групи по 6 у кожній: 1-а група – інтактний контроль (ІК); 2-а – тварини з модельованим експериментальним Г, позитивний контроль (ПК); тваринам 3-ої і 4-ої груп на тлі модельної патології проводили лікування настоянкою «Касдент» і відповідно настоянкою «Фітодент» у розведеннях 1:3 (настоянка : дистильована вода).

Дисбіоз ротової порожнини викликали щоденним внутрішньошлунковим введенням шурам водного розчину лінкоміцину (ПАТ Київмедпрепарат, Україна) у дозі 60 мг/кг протягом 5 діб для порушення фізіологічної мікробної синергічної системи організму⁵. Потім на слизову оболонку (СО) присінку нижньої щелепи та ясна щурів наносили суспензію бджолиної отрути у концентрації 2 мг/мл в об'ємі 1-2 мл/тварину протягом 8 діб. Лікування досліджуваними засобами розпочинали на 13 добу експерименту. Стоматологічну настоянку та препарат порівняння (ПП) наносили тваринам ватним тампоном на уражені місця СО нижньої щелепи 4-5 разів на добу протягом 9 днів у вигляді аплікацій на 1,5-2 хвилини. Інтенсивність запального процесу оцінювали за клінічними ознаками СО присінку нижньої щелепи, користуючись напівкількісною візуальною оцінкою у балах за Соколовським В.В.^{1,9,11}: 0 балів – відсутність гіперемії та будь-яких ознак; 1 бал – слабе почервоніння СО присінку рота та щік; 2 бали – набряк; 3 бали – збільшення в об'ємі ясенної борозенки; 4 бали – кровоточивість. Для оцінки виразності патології та ефективності засобів у крові тварин вивчали рівень лейкоцитів та швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ)³ на максимумі патології (0 доба) та у динаміці через 5 і 9 діб лікування. Кров у тварин для дослідження брали з кінчика хвоста. Через 9 діб лікування тварин виводили з експерименту декапітацією під легким хлороформним наркозом, вилучали СО присінку нижньої щелепи щурів для біохімічного та гістологічного аналізів. У гомогенатах тканин присінку нижньої щелепи щурів визначали рівень кислоти (КФ) та лужної фосфатази (ЛФ), які відображають різноманітні процеси метаболізму в СО присінку рота³, стан про/антиоксидантної систем оцінювали за рівнем продуктів, що реагують із тіобарбітуровою кислотою (ТБК-активні продукти)¹⁰ та вмістом

відновленого глутатіону (ВГ)¹². Для мікроскопічних досліджень вилучали зразки тканин СО присінку рота, які фіксували у 10% розчині формаліну, зневоднювали і заливали у парафін за загальноприйнятою методикою³. Зрізи виготовляли на санному мікромомі товщиною 3-5 мкм, які фарбували гематоксиліном і еозином. Огляд мікропрепаратів проводили під мікроскопом *Micros 400*. Мікрофотографування мікроскопічних зображень здійснено цифровою відеокамерою *Granum ДСМ 310*. Фотознімки обробляли на комп'ютері *Pentium 2,4GHz* за допомогою програми *Nicon View 5, Tour View*.

Для статистичної обробки даних використовували параметричні (дисперсійний аналіз, критерій *Ньюмена-Кейлса*) та непараметричні методи (метод *Крускала-Уолліса* та критерію *Манна-Уїтні*) аналізу за допомогою стандартного пакету програм «*Statistica*»⁸. Рівень значущості приймали як $p < 0,05$. Дослідження проведено з дотриманням правил «Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей» (Страсбург, 1986)⁴.

Результати дослідження та їх обговорення. При вивченні головних клінічних ознак та дослідженні гематологічних показників нами було встановлено, що 13-а доба дослідження характеризується виразним запальним процесом СО, що повністю відповідає перебігу Г у людини⁶. Набряк, гіперемія, кровоточивість у кількох тварин, збільшення в об'ємі ясенної борозенки – загальна оцінка клінічних ознак коливалась у межах 3-4 балів і в середньому склала 3,5 бали (табл. 1). Виразність клінічних ознак Г у групі тварин позитивного контролю підтверджувалась даними гематологічного дослідження: спостерігали достовірно, щодо ІК, підвищення числа лейкоцитів та рівня ШОЕ¹¹ (табл. 2).

Таблиця 1. Клінічні прояви запального процесу СО присінку нижньої щелепи та ясен у щурів, у балах (M±m)

Термін спостереження	ІК	Позитивний контроль (Г)	Г+ «Касдент»	Г+«Фітодент»
13 доба	0,00±0,00	3,00±0,26*	3,50±0,22*	
18 доба			1,33±0,21**	2,00±0,26**
22 доба			0,17±0,17**/**	1,00±0,26**/**

Примітки: * – відмінності статистично значущі щодо групи ІК, при $p < 0,05$; ** – відмінності статистично значущі щодо групи ПК, $p < 0,05$; *** – відмінності статистично значущі щодо групи ПП, $p < 0,05$.

Подальші спостереження за СО присінку у групі ПК показали, що клінічні прояви були характерними для Г: зберігався набряк, достатньо збільшена ясенева борозенка, що

були оцінені в 3,0 та 2,3 бали у період спостереження на 5-у та 9-у добу, відповідно. Результати дослідження крові свідчать про те, що запалення СО у щурів групи ПК за-

лишалось виразнішим стосовно групи ІК, як за показниками лейкоцитів, так і ШОЕ (табл.

2), і зберігалось протягом всього періоду експерименту.

Таблиця 2. Вплив стоматологічної настоянки «Касдент» та ПП «Фітодент» на клінічні показники крові у щурів ($M \pm m$)

Показники	Термін спостереження	ІК	позитивний контроль (Г)	Г + «Касдент»	Г + «Фітодент»
Лейкоцити, 10^9 /л	0	14,50 \pm 1,13	28,21 \pm 2,71 *		
	5 доба		27,67 \pm 2,68*	19,46 \pm 0,64*/**	22,50 \pm 0,79**
	9 доба		25,71 \pm 1,24*	14,75 \pm 0,56**	16,08 \pm 1,56**
ШОЕ, мм/год	0	1,60 \pm 0,24	3,00 \pm 0,59 *		
	5 доба		4,58 \pm 1,01*	2,83 \pm 0,42*/***	3,42 \pm 0,33*
	9 доба		4,00 \pm 0,92	1,50 \pm 0,18T***	2,25 \pm 0,25T*

Примітки: * – відмінності статистично значущі щодо групи ІК, при $p < 0,05$; ** – відмінності статистично значущі щодо групи ІК у відповідний термін дослідження, $p < 0,05$; *** – відмінності статистично значущі щодо групи ПП у відповідний термін дослідження, $p < 0,05$; T – тенденція до статистично значущих відмінностей у групі, $0,05 < p < 0,10$.

Щоденні аплікації стоматологічної настоянки «Касдент» протягом 5-ти діб лікування приводили до зниження клінічних проявів запалення СО щурів (табл. 1) – зменшився загальний набряк ясен і гіперемія, зменшилася в об'ємі ясенева борозенка. Запальний стан СО зменшився у 2,3 рази (1,33 бали) порівняно з групою ІК – 3,00 бали. Кількість лейкоцитів достовірно відрізнялася від значень групи ІК та значень групи ПП, тоді як ШОЕ залишалось в межах значень ПП. На 9-у добу лікування настоянкою «Касдент» спостерігали мінімальні ураження СО – 0,17 балів, що підтверджується достовірним зниженням лейкоцитів та ШОЕ у порівнянні з показниками тварин групи ПП та його відновлення практично до значень групи ІК. За оцінкою клінічних проявів (табл. 1) на 9-у добу лікування настоянкою «Касдент» запалення СО присінку нижньої щелепи у щурів було практично відсутнє.

Спостереження за тваринами, яких лікували настоянкою «Фітодент» та результати аналізу показників також дають повну уяву про дію ПП (табл. 1). Клінічні ознаки запального процесу на 5-у добу лікування достовірно зменшувалися стосовно групи ПП в середньому до 2,00 балів та виражалися в слабкій гіперемії та набряку, наявністю ясеневі

борозенки. Дослідження показників крові у щурів показали достовірне зниження лейкоцитів щодо групи ПП відповідного терміну, але значно перевищували показник у інтактних щурів, і високий показник ШОЕ. На 9-у добу лікування запальний процес у СО достовірно знизився в 2,3 рази стосовно групи ПП, рівень лейкоцитів виявився статистично нижчим за значення у групі ПП відповідного терміну, показник ШОЕ крові наближався до значень групи ІК.

Результати аналізу отриманих даних показали, що порівняння динаміки клінічних та гематологічних показників під впливом стоматологічної настоянки «Касдент» та настоянки «Фітодент», свідчать про достовірно виражену протизапальну активність досліджуваного об'єкту, а отже – перевагу його ефективності над ПП.

Результати біохімічного аналізу підтвердили наявність ураження СО у щурів із групи ПП. Рівень КФ віддзеркалює ступінь деструкції клітин і лізису внутрішньоклітинних білків, а також енергодефіциту клітини. Найбільш виразні запальні процеси відбувалися у СО: активність КФ збільшувалася у 2,37 рази порівняно з групою ІК, активність ЛФ перевищувала значення групи ІК у 3,3 рази (табл. 3).

Таблиця 3. Вплив стоматологічної настоянки «Касдент» та ПП «Фітодент» на біохімічні показники у гомогенаті СО присінку нижньої щелепи у щурів ($M \pm m$)

Групи тварин	ЛФ, ммоль/(год*л)	КФ, ммоль/(год*л)	ВГ, ммоль/кг	ТБК-активні продукти, ммоль/кг
Інтактний контроль	0,60 \pm 0,10	1,05 \pm 0,20	3,50 \pm 0,10	47,65 \pm 3,89
Позитивний контроль (гінгівіт)	1,97 \pm 0,41*	2,49 \pm 0,37*	2,58 \pm 0,10*	96,36 \pm 5,80*
Г + «Касдент»	0,73 \pm 0,07**	1,11 \pm 0,16**	3,78 \pm 0,21**/***	55,34 \pm 3,95**
Г + «Фітодент»	1,06 \pm 0,23T**	1,68 \pm 0,33T**	3,07 \pm 0,11*/**	60,91 \pm 2,53T*/**

Примітки: * – відмінності статистично значущі щодо групи ІК, при $p < 0,05$; ** – відмінності статистично значущі щодо групи ПП, $p < 0,05$; 3.*** – відмінності статистично значущі щодо групи ПП, $p < 0,05$; T*/T** – тенденція до статистично значущих відмінностей щодо групи ІК або ПП, $0,05 < p < 0,10$.

Отримані дані пояснюються тим, що бджолину отруту при моделюванні патології наносили саме на СО нижньої щелепи щурів. На запальний процес в організмі тварин також вказує підвищення ферментативної активності (КФ та ЛФ) та продуктів ПОЛ – ТБК-активні продукти, що за умов патології є відображенням адаптаційно-компенсаторних процесів у відповідь на пошкоджуючі фактори: дисбіоз на системному рівні та бджолину отруту, як місцевий токсин⁹.

Результати проведеного дослідження показали, що розвиток запалення СО у щурів супроводжувався посиленням процесів ПОЛ та зниженням активності антиоксидантного захисту: у гомогенаті тканин СО нижньої щелепи вміст ТБК-активних продуктів перевищував такий у групі ІК у 2 рази, а рівень ВГ знижувався в 1,4 рази.

Лікування настоянкою «Касдент» сприяло зниженню запалення у ротовій порожнині, про що свідчить зменшення активності КФ та ЛФ у гомогенаті СО нижньої щелепи щурів та нормалізації про/антиоксидантного балансу. Як видно з даних, наведених у табл. 3, як вміст ВГ, так і ТБК-активних продуктів достовірно відрізнявся від групи ПК і знаходився в межах значень ІК. Можна стверджувати, що настоянка «Касдент» виявила чітку антиоксидантну дію, яка забезпечена багатим

вмістом флавоноїдів у рослинах досліджуваного засобу.

Під дією настоянки «Фітодент» також спостерігали позитивну динаміку досліджуваних показників. Лікувальна дія ПП сприяла зменшенню процесів запалення, нормалізації процесів ПОЛ, відновленню антиоксидантного захисту та зниженню запального процесу в СО присінку ротової порожнини, але менш виразно, ніж під дією досліджуваного засобу.

Мікроскопія СО нижньої щелепи інтактних щурів вислана багатошаровим пласким зроговілим епітелієм, під яким видно великий шар власне пластини та підслизовий шар (рис. 1.1). У щурів після моделювання експериментального Г виявлено потовщення епітеліального пласта з елементами акантозу (рис. 1.2, а) та гіперкератозу (рис. 1.2, б). У власне пластині СО спостерігали вогнищево-запальну реакцію, яка в деяких випадках поширювалася і на м'язовий шар (рис. 1.3). Лікування стоматологічною настоянкою «Касдент» сприяло зниженню запальних змін та гіпертрофічного розростання епітеліального пласта СО присінку ротової порожнини (рис.1.4). Стан СО після застосування настоянки «Фітодент» лише у 40% тварин наближався за ефективністю до лікувальної дії настоянки «Касдент» (рис. 1.5), у решти тварин мікроскопічна картина була на рівні тварин із групи ПК, хоча зазначено більш вогнищевий характер змін.

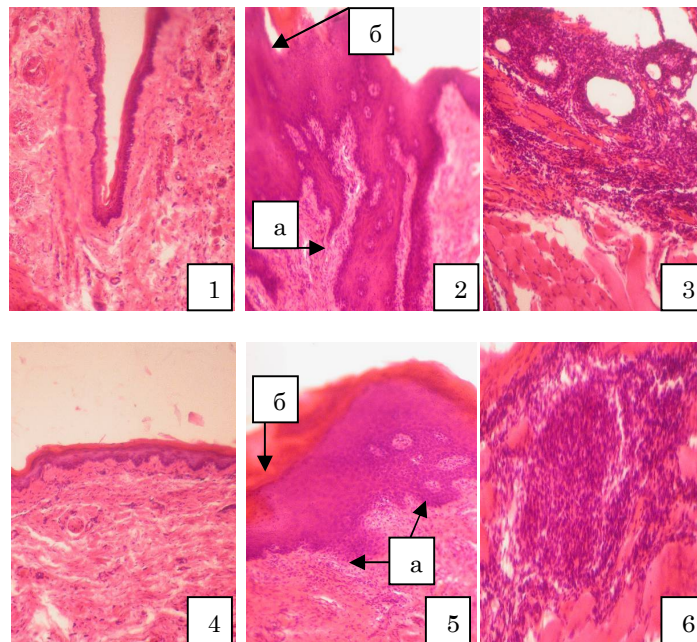


Рис. 1.

СО присінку ротової порожнини: 1 – ПК, 2 – експериментальний Г з елементами акантозу (а) та гіперкератозу (б); 3 – поширення вогнищево-запальної реакції на м'язовий шар; 4 – після лікування настоянкою «Касдент»; 5 – після лікування настоянкою «Фітодент», норма; 6 – після лікування настоянкою «Фітодент», вогнищево-запальна реакція.

Висновки:

1. Стоматологічна настоянка «Касдент» при застосуванні у лікувальному режимі, виявила виразну протизапальну дію, сприяла зниженню проявів запалення, нормалізації клінічних, біохімічних та гематологічних показників та репаративних процесів, відновленню рівноваги у про/антиоксидантній системі.
2. Результати наших експериментальних даних підтверджені гістологічними дослідженнями.
3. Інтенсивність відновлювального процесу слизової оболонки присінку ротової порожнини стоматологічної настоянки перевищує препарат порівняння за динамікою клінічних ознак та показників крові.

Література:

1. Мельничук Г.М. Гінгівіт, пародонтит, пародонтоз: особливості лікування / Г.М. Мельничук, М.М. Рожко. – Івано-Франківськ, 2004. – 124 с.
2. Меньшиков В.В. Лабораторные исследования в клинике / В.В. Меньшиков. – М.: Медицина, 1987. – 365 с.
3. Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники / Г.А. Меркулов. – М.: Медицина, Ленингр. отд., 1969. – 424 с.
4. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю.М. Кожем'якін, О.С. Хромов, М.А. Філоненко, Г.А. Сайфетдинова. – Київ: Видавн. дім «Авіцена», 2002. – 156 с.
5. Патент України №31011. Спосіб моделювання гінгівіту / А.П. Левичкий, І.О. Селищанська, О.А. Макаренко, Л.М. Розсаханова, І.В. Ходаков; Опубл. 25.03.2008. – 2008, Бюл. №6.
6. Патент України №66282. Фармацевтична композиція «Касдент» з антимікробною та антифунгальною дією / Л.І. Шульга, О.Ф. Пімінов, Т.П. Осолодченко; Опубл. 26.12.2011. – 2011, Бюл. № 24.
7. Патент України №89076. Застосування стоматологічної настоянки «Касдент» для лікування запальних захворювань ротової порожнини / І.В. Стефанів, С.А. Гращенкова, Л.В. Яковлева, Л.І. Шульга, О.Ф. Пімінов; опубл. 10.04.2014. – 2014, Бюл. № 7.
8. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета программ Statistica / О.Ю. Реброва. – М.: МедиаСфера, 2006. – 312 с.
9. Соколовский В.В. Гистохимическое исследование в токсикологии / В.В. Соколовский. – М.: Медицина, 1971. – 176 с.
10. Стальная И.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И.Д. Стальная, Т.Г. Гаршивили // Современные методы в биохимии / под ред. В.Н. Ореховича. – 1977. – С. 66-68.
11. Стефанів І.В. Вплив стоматологічної настоянки «Касдент» на перебіг генералізованого пародонтиту у щурів / І.В. Стефанів, Л.В. Яковлева, С.А. Гращенкова // Клінічна фармація. – 2015. – №3 (19). – С. 56-61.
12. Beutler E. Improved method for the determination of blood glutathione / E. Beutler, O. Duron, B.M. Kelly // J. Lab. Clin. Med. – 1963. – V.61. – P. 882-888.

УДК 615.242:615.322:616.31

ВЛИЯНИЕ СТОМАТОЛОГИЧЕСКОЙ НАСТОЙКИ «КАСДЕНТ» НА СОСТОЯНИЕ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ У КРЫС НА МОДЕЛИ ГИНГИВИТА

І.В. Стефанів, Л.В. Яковлева, С.А. Гращенкова, Ю.Б. Ларьяновська

Национальный фармацевтический университет, Центральная научно-исследовательская лаборатория, г. Харьков, Украина

Резюме: В опытах на лабораторных животных проведено изучение эффективности использования стоматологической настойки при моделировании экспериментального гингивита у крыс. Исследование показало, что экспериментальный гингивит, который воспроизводили на 24 беспородных крысах нарушением микрофлоры полости рта, внутрижелудочным введением линкомицина в дозе 60 мг/кг и длительными аппликациями пчелиным ядом в концентрации 2 мг/мл в объеме 1-2 мл на животное в течение 8 суток, сопровождался повышением показателей перекисного окисления липидов и снижением антиоксидантной защиты (уровень восстановленного глутатиона) и повышением показателей воспаления кислой и щелочной фосфатазы в гомогенате слизистой оболочки ротовой полости в 2,5-3 раза соответственно. В ходе исследования была подтверждена эффективность применения стоматологической настойки, что сопровождалось улучшением клинического течения заболевания и результатов лечения, о чем свидетельствуют биохимические и гистологические исследования.

Ключевые слова: экспериментальный гингивит, слизистая оболочка, преддверие полости рта, сыворотка крови, крысы, активность фосфатаз, гистологические исследования.

UDC 615.242:615.322:616.31

INFLUENCE OF KASDENT DENTAL TINCTURE ON THE MUCOSA OF RATS WITH INDUCED GINGIVITIS

I.V. Stefaniiv, L.V. Iakovlieva, S.A. Grashenkova, U.B. Lar'yanovskaya

National University of Pharmacy, The Central Scientific and Research Laboratory, Kharkov, Ukraine

Summary: Experiments were carried out on laboratory animals to study the effectiveness of dental tincture for treatment of experimental gingivitis in rats. Studies showed that in case of the experimental gingivitis induced in 24 mongrel rats by intragastric administration of lincomycin at a dose of 60 mg/kg and lengthy applications of bee venom at a concentration of 2 mg/ml in a volume of 1-2 ml/animal for 8 days, were accompanied by increased rates of lipid peroxidation, decreased antioxidant (G-SH) protection in the homogenate of the mucous membrane of the mouth and increased rates of inflammation in homogenates - acid and alkaline phosphatase in the 2.5-3-fold, respectively. The biochemical and histological studies showed the improvement of clinical course of the disease and treatment results. Therefore, the study proved the efficacy of the dental tincture.

Keywords: experimental gingivitis, mucosa, vestibule of the oral cavity, blood serum, rats, activity of phosphatases, histological studies.

Надійшла до редакції 06.11.2015 р.