

УДК:616.31-002-085.322-092.9

Порівняльна оцінка впливу фітосубстанції плодів перцю стручкового на перебіг асептичного запалення м'яких тканин порожнини рота щурів

Comparative Analysis of Action of Phytosubstance of Fruits of Cayenne Pepper on Aseptic Inflammation Course of Oral Cavity Soft Tissues of Rats

Дубровна Л.В., к.мед.н., в.о. доц.
Львівський національний медичний
університет ім. Данила Галицького
Dubrovna L.V.
Danylo Halatskyi Lviv National
Medical University

Адреса для кореспонденції:
Дубровна Людмила Володимирівна
e-mail: luda.dubrovna@gmail.com

Мета: Вивчити вплив фітосубстанції плодів перцю стручкового на перебіг асептичного запалення м'яких тканин порожнини рота щурів. **Методи:** Клінічне та гістоморфологічне дослідження впливу фітосубстанції плодів перцю стручкового (*Capsicum annuum*) на перебіг запального процесу у м'яких тканинах порожнини рота проводили на моделі асептичного запалення у 48 щурів. **Результати:** Порівняльний аналіз запальної реакції м'яких тканин порожнини рота у тварин із модельованим асептичним запаленням показав, що фітосубстанція плодів перцю стручкового нормалізує клінічні ознаки запалення. Це підтвердили гістоморфологічні дослідження: вже на 4-й день експерименту проявлялися морфологічні ознаки санації вогнища запалення; на 8-ий день відзначали лише залишкові ознаки запального процесу у тварин, лікованих фітосубстанцією. **Висновки:** За результатами експериментальних досліджень, позитивну прискорену динаміку зменшення клінічних та гістоморфологічних ознак запалення до завершення лікування спостерігали у тварин, лікованих фітосубстанцією плодів перцю стручкового.

Ключові слова: фітосубстанція плодів перцю стручкового, протизапальна дія, асептична модель запалення.

Purpose: The objective of experimental research is to study action of phytosubstance on aseptic inflammation course of oral cavity soft tissues of rats. **Methods:** Clinical and histomorphologic research of action of phytosubstance of fruits of cayenne pepper (*Capsicum annuum*) on aseptic inflammation course of oral cavity soft tissues of rats was carried out on a model of aseptic inflammation of 48 rats. **Results:** Comparative analysis of inflammatory reaction of oral cavity soft tissues of animals with modeled aseptic inflammation showed that phytosubstance of fruits of cayenne pepper stabilizes clinical inflammatory signs. It was proven by histomorphologic research: on the fourth day of the experiment morphological signs of sanitation of inflammatory area appear; on the eighth day histological research shows only residual effects of past inflammatory process in animals treated with phytosubstance. **Conclusions:** The carried out research showed that positive dynamics of decrease of clinical and histomorphological inflammation signs till the last day of treatment was accelerated in animals treated with phytosubstance.

Key words: phytosubstance of the fruits of cayenne pepper, anti-inflammatory action, model of acute pain.

Вступ

Останніми роками все більше уваги приділяють лікарським засобам рослинного походження. Це зумовлено низкою факторів – збільшенням частоти алергічних реакцій на синтетичні препарати, протипоказаннями і побічною дією внаслідок вживання сильнодіючих лікарських засобів, змінами імунної реактивності організму та неспецифічних факторів захисту тощо. Через наявність у складі лікарських рослин фармакологічно активних речовин, які за аналогією із синтетичними засобами впливають на функціональні та симптоматичні прояви хвороби, та інших активних хімічних сполук (вітамінів, мікроелементів, антиоксидантів, амінокислот), здатних безпосередньо впливати на біохімічні процеси в організмі, рослинні засоби активно діють на інтимні метаболічні механізми патологічного процесу на мембранному і клітинному рівнях. Отож препарати рослинного походження є патогенетичними та здатні безпосередньо впливати на метаболічні процеси хвороби [4, 5, 8]. Однією з таких лікарських рослин є перець стручковий (*Capsicum annuum*). Препарати на основі плодів перцю стручкового здавна використовували в медицині як знеболювальні та протизапальні засоби. Основною діючою речовиною перцю стручкового є алкалоїд капсаїцин. До його складу також входять вітаміни, каротиноїди, стероїдні сапоніни, глікоалкалоїд соланін, флавоноїди (апігенін, лютеолін), ефірна олія, мінеральні речовини. Перець стручковий має виражену протизапальну дію. Вчені встановили вплив капсаїцину на такі основні патогенетичні ланки запалення як зменшення відщеплення арахідонової кислоти (з якої утворюються ряд ейкозаноїдів), інгібування ферментів

циклооксигенази-2 та ліпооксигенази, що призводить до зменшення синтезу макрофагами, які запобігають вторинній альтерації тканин. Крім того, протизапальні властивості перцю стручкового забезпечують високий вміст поліфенолів, важливою біологічною функцією яких є модулювання активності понад 20 ферментів (протеїназів, фосфодіестеразів, циклооксигеназів, ліпооксигеназів, топоізомеразів та моноаміноксидазів), що мають ключове значення у розвитку багатьох патологічних станів, зокрема запального генезису [5, 9, 10–12]. Автори розробили спосіб одержання фітосубстанції із плодів перцю стручкового (патент України на винахід №82582 «Спосіб одержання водорозчинної фітосубстанції з протизапальною дією», патент на корисну модель №19547 «Спосіб одержання фітосубстанції з протизапальною дією»), за допомогою якого отримали водорозчинну ліофілізовану фітосубстанцію. Мета роботи – вивчення впливу фітосубстанції плодів перцю стручкового на перебіг асептичного запалення м'яких тканин порожнини рота щурів.

Матеріал і методи

Вплив фітосубстанції плодів перцю стручкового (*Capsicum annuum*) на перебіг запального процесу у м'яких тканинах порожнини рота експериментально вивчали на 48 статевозрілих білих щурах-самцях лінії Вістар віком 5–6 місяців та масою 240–350 г. Експериментальні дослідження проводили у віварії Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького з дотриманням вимог «Науково-практичних рекомендацій з утримання лабораторних тварин та роботи з ними», затверджених МОЗ України на засіданні вченої ради ДФЦ МОЗ України (протокол №5

від 19.10.2002 р.) та на засіданні вченої ради Інституту фармакології та токсикології НАМН України (протокол №6 від 18.06.2002 р.). Дослідження проводили згідно з методичними рекомендаціями «Доклінічне вивчення засобів для лікування та профілактики захворювань слизової оболонки порожнини рота» та вимогами Державного фармакологічного центру МОЗ України [1, 2]. Експеримент тривав 8 днів.

Піддослідних тварин розподілили на 4 групи: I (12 тварин) – інтактні щури; II (12 тварин) – контрольна, модель асептичного запалення м'яких тканин порожнини рота без лікування; III – група дослідження 1 (12 тварин), яким після моделювання асептичного запалення вводили фітосубстанцію плодів перцю стручкового; IV (12 тварин) – група дослідження 2, у лікуванні яких після моделювання асептичного запалення використовували рідину Ротокан® (ПАТ «Лубнифарм», Україна).

Для відтворення запалення м'яких тканин порожнини рота використали «скипидарну» модель асептичного запалення [3]. Після введення наркозу (розчину тіопенталу натрію) тваринам у перехідну складку, з вестибулярного боку нижньої щелепи у ділянку першого правого моляра вводили очищений скипидар мікрошприцом з фіксованою канюлею та обмежувачем з віддаллю 3 мм від кінця голки. Дозування введеного скипидару – 0,4 мл на 1 кг маси тіла тварини. Через 3–4 год. після введення скипидару в перехідну складку спостерігали перші клінічні ознаки запального процесу м'яких тканин порожнини рота – асиметрію голови внаслідок набрякання правої щоки, часткове заплющування правого ока. На наступну добу простежували сльозотечу, тризм жувальних м'язів, гіперемію слизової оболонки щоки та збільшен-

ня набряку. Дотримувались такої методики нанесення та введення препарату: 0,3–0,5 мл фітосубстанції перцю стручкового наносили на ватну турунду та вводили щурам групи дослідження 1 в присінок порожнини рота з боку запалення на 3–4 хв. Аплікації проводили три рази на добу упродовж восьми днів. Для порівняння та оцінки активності фітосубстанції плодів перцю стручкового використовували засіб рослинного походження Ротокан® (ПАТ «Лубнифарм», Україна) з протизапальною дією. Препарат застосовували аплікаційно на добре просочених ватних турундах [6].

З експерименту щурів виводили на 4-й та 8-й день методом декапітації згідно з правилами «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для наукових експериментів або в інших наукових цілях» та забирали тканини порожнини рота для гістологічних досліджень. Отриманий матеріал фіксували у 10% розчині формаліну, зневоднювали та занурювали в парафін. Із парафінових блоків виготовляли зрізи товщиною 5–6 мкм, які забарвлювали гематоксилін-еозином за усталеною методикою [7]. Статистичну обробку результатів проводили у програмі Microsoft Excel. Для оцінки розбіжностей між середніми величинами при нормальному розподілі вибірковок сукупностей використовували t-критерій Фішера і t-критерій Стюдента, для перевірки гіпотез — рівень значимості $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Результати досліджень з вивчення динаміки клінічних показників у щурів в умовах моделювання асептичного запалення м'яких тканин порожнини рота у тварин груп дослідження на 1-й, 4-й та 8-й дні дослідження наведено в таблиці.

Результати експериментальних досліджень протизапальної дії фітосубстанції плодів перцю стручкового показали, що препарат нормалізує клінічні ознаки запалення у піддослідних тварин. Так, на 4-й день лікування ступінь відкривання рота у тварин групи дослідження 1 становив $82,73 \pm 2,15\%$, порівняно з контрольною ($73,92 \pm 2,23\%$) та групою дослідження 2 ($77,33 \pm 1,12\%$) і був достовірною ($p < 0,05$) більшим, значно ($p < 0,05$) зменшився набряк щоки ($1,08 \pm 0,01$) і покращився стан слизової оболонки щоки ($0,92 \pm 0,16$) та ока ($3,83 \pm 0,35$) ($p < 0,05$). Пришвидшену динаміку у зменшенні клінічних симптомів запалення ($p < 0,05$) до завершення лікування спостерігали у тварин, лікованих фітосубстанцією плодів перцю стручкового. При аналізі клінічних показників тварин групи дослідження 1 на 8-й день експерименту простежували їх наближення до показників тварин інтактної групи. Вивчення тонкої морфології слизової оболонки порожнини рота тварин контрольної групи та груп дослідження показало, що в інтактних білих щурів тканини слизової оболонки, як епітелій, так і сполучна та м'язова тканини, не зазнали змін. Спостерігали слабо виражені ознаки зроговіння епітелію (тонкий шар зроговілих лусочок на поверхні). Сполучна тканина під епітелієм без змін.

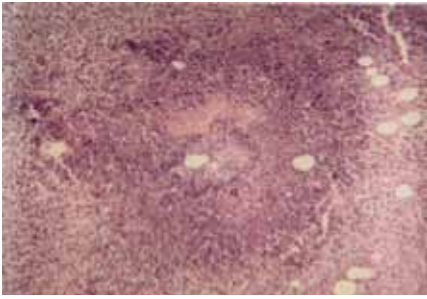
На 4-ту добу у тварин зі змодельованим асептичним запаленням у центрі ділянки введення скипидару гістологічно проявлявся запальний поліморфноклітинний інфільтрат значних розмірів — набряк сполучної тканини, інфільтроване лейкоцитами, переважно круглоклітинними, руйнування нейтрофільних гранулоцитів, макрофагів, розплавлення клітин сполучної тканини та глибше руйнування клітин м'язової тканини (мал. 1). По краю вогнища запалення спостерігали набря-

кання сполучної тканини, помірну інфільтрацію переважно круглоклітинними елементами. Усі судини навколо ділянки ураження були розширені та частково тромбовані.

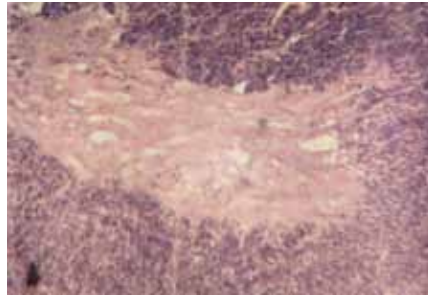
На 8-й день дослідження у частини піддослідних тварин у центрі ділянки запального інфільтрату відзначили утворення сполучнотканинного рубця, довкола якого простежувалася значно вужча, ніж на 4-й день, поліморфноклітинна ділянка, утворена переважно круглоклітинними елементами (мал. 2). У решти щурів у ділянці дії скипидару були залишки інфільтрату — інфільтрація сполучної тканини ставала менш вираженою, нерівномірною; зберігався її набряк навколо інфільтрату. Над ділянкою інфільтрації спостерігали незначну поліморфноклітинну (з переважанням круглоклітинних елементів) інфільтрацію сполучної тканини власної пластинки слизової оболонки порожнини рота.

На 4-й день у групі тварин, асептичне запалення у яких корегували за допомогою Ротокану® (ПАТ «Лубнифарм», Україна) у ділянці введення скипидару виявили запальний інфільтрат. Порівняно з попередньою групою тварин з нелікованим асептичним запаленням, інфільтрат був менших розмірів, неправильної форми, з нерівномірним розташуванням клітин та меншою щільністю (мал. 3). Серед останніх переважали круглоклітинні елементи.

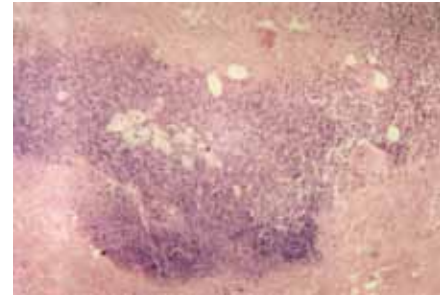
На 8-му добу у щурів, лікованих препаратом Ротокан® (ПАТ «Лубнифарм», Україна), відбувався активний процес санації ділянки запалення у ділянці введення скипидару та вогнища асептичного запалення; у сполучній тканині зберігалася дифузна інфільтрація, переважно круглоклітинними елементами (мал. 4). Слід відзначити й активацію процесів зроговіння епітелію у ділянці контакту



Мал. 1. Слизова оболонка порожнини рота білого щура, контрольна група: ділянка введення скипидару, 4-й день дослідження; запальний поліморфноклітинний інфільтрат; забарвлення гематоксилін-еозином, ок. 10, об. 10



Мал. 2. ... 8-й день дослідження, контрольна група: ділянка вогнища запалення; поліморфноклітинна інфільтрація навколо сполучноклітинного рубця; забарвлення гематоксилін-еозином, ок. 10, об. 10



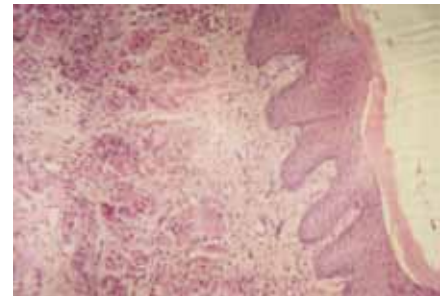
Мал. 3. ... група дослідження 2, 4-й день дослідження; ділянка вогнища запалення; набряк сполучної тканини навколо інфільтрату; забарвлення гематоксилін-еозином, ок. 10, об. 10



Мал. 4. ... група дослідження 2, 8-й день дослідження; ділянка вогнища запалення; дифузна інфільтрація ділянки запалення круглоклітинними елементами; забарвлення гематоксилін-еозином, ок. 10, об. 10



Мал. 5. ... група дослідження 1, 4-й день дослідження; помірна інфільтрація ділянки введення скипидару круглоклітинними елементами; забарвлення гематоксилін-еозином, ок. 10, об. 10



Мал. 6. ... група дослідження 1, 8-й день дослідження; залишкові прояви запального процесу; забарвлення гематоксилін-еозином, ок. 10, об. 20

Таблиця. Динаміка клінічних показників у щурів із асептичним запаленням м'яких тканин порожнини рота

Клінічні прояви	Група інтактних тварин	Контрольна група	Дослідна група 1	Дослідна група 2
1-й день дослідження				
Ступінь відкриття рота, %	100,0±0,0	65,61±1,49	69,46±1,46	70,52±1,0
Набряк щоки, мм	1,00±0,00	1,12±0,02	1,15±0,02	1,14±0,01
Стан слизової оболонки щоки, бали	0,00±0,00	1,33±0,16	1,42±0,34	1,30±0,12
Стан слизової оболонки ока, бали	0,00±0,00	7,75±0,20	7,33±0,25	7,0±0,5
4-й день дослідження				
Ступінь відкриття рота, %	100,0±0,0	73,92±2,23	82,73±2,15*..	77,33±1,12
Набряк щоки, мм	1,00±0,00	1,15±0,01	1,08±0,01*	1,1±0,01
Стан слизової оболонки щоки, бали	0,00±0,00	1,83±0,12	0,92±0,16*	1,08±0,09
Стан слизової оболонки ока, бали	0,00±0,00	6,00±0,30	3,83±0,35*..	4,91±0,28
8-й день дослідження				
Ступінь відкриття рота, %	100,0±0,0	83,32±2,35	98,75±1,53*..	88,50±2,9
Набряк щоки, мм	1,00±0,00	1,06±0,02	1,00±0,00*	1,03±0,01
Стан слизової оболонки щоки, бали	0,00±0,00	0,75±0,20	0,00±0,00*	0,00±0,00
Стан слизової оболонки ока, бали	0,00±0,00	1,66±0,46	0,00±0,00*..	1,0±0,28

Примітка: * — достовірні відмінності ($p < 0,05$) від відповідних показників у контрольній групі тварин; ** — достовірні відмінності ($p < 0,05$) від відповідних показників у дослідній групі 2

слизової оболонки з препаратом Ротокан® (ПАТ «Лубнифарм», Україна). На 4-й день у групі дослідження 1 у ділянці введення скипидару гістоло-

гічно проявлялася ділянка поліморфноклітинної інфільтрації сполучної тканини з переважанням круглоклітинних елементів (мал. 5). Інтенсив-

ність інфільтрації сполучної тканини значно нижча, ніж у тварин попередньої групи. Невеликі клітинні скупчення виявляли й глибше, між еле-

ментами м'язової тканини присінка порожнини рота безпосередньо під ділянкою втручання. Зберігалось повнокрів'я судин та набрякання навколишніх тканин.

На 8-му добу дії фітосубстанції плодів перцю стручкового (*Capsicum annuum*) на асептичне запалення у ділянці введення скипидару простежували залишкові ознаки — слабо виражену інфільтрацію у вигляді дрібних скупчень круглоклітинних елементів між структурами тканин порожнини рота (мал. 6). Спостерігали незначне посилення процесів зроговіння епітелію у ділянці впливу фітосубстанції плодів перцю стручкового (*Capsicum annuum*).

Проведені гістоморфологічні дослідження тканин у ділянці перехідної складки присінка порожнини рота при модельованому скипидаром асептичному запаленні без лікування, у випадку лікування препаратом Ротокан® (ПАТ «Лубнифарм», Україна) та при використанні лікувального засобу фітосубстанції плодів перцю стручкового (*Capsicum annuum*) показали певні результати. На 8-й день до-

слідження у тварин контрольної групи асептичне запалення мало тенденцію до зменшення, однак морфологічно було достатньо вираженим. Цю ж тенденцію спостерігали вже на 4-й день використання препарату Ротокан® (ПАТ «Лубнифарм», Україна); до 8-ї доби простежували інтенсивну санацію вогнища запалення. При використанні фітосубстанції плодів перцю стручкового у лікуванні модельованого асептичного запалення вже на 4-й день дослідження проявлялися морфологічні ознаки санації вогнища запалення. На 8-му добу гістологічного дослідження спостерігали лише залишкові прояви запального процесу.

Висновки

Експериментальне дослідження показало, що позитивна динаміка зменшення клінічних симптомів запалення до завершення лікування була прискорена у тварин групи дослідження 1. При зіставленні клінічних показників тварин груп дослідження від 4-го дня експерименту виявили достовірну різни-

цю ($p < 0,05$) ступеня відкриття рота та стану слизової оболонки ока. На 8-й день дослідження у тварин, лікованих фітосубстанцією, клінічних ознак запалення не відзначили. Натомість, у щурів контрольної та групи дослідження 2 спостерігали незначну асиметрію голови внаслідок набрякання у щічній ділянці справа, гіперемії слизової оболонки ока ($p < 0,05$). Результати гістоморфологічних досліджень слизової оболонки порожнини рота тварин показали, що при застосуванні фітосубстанції вже на 4-ту добу лікування проявлялися морфологічні ознаки санації вогнища запалення — у ділянці введення скипидару виявили ділянку поліморфноклітинної інфільтрації сполучної тканини з переважанням круглоклітинних елементів. Інтенсивність інфільтрації сполучної тканини була значно нижча, порівняно з контрольною та групою дослідження 2. На 8-му добу спостерігали лише залишкові прояви запального процесу — слабо виражену інфільтрацію у вигляді невеликих скупчень круглоклітинних елементів між структурами тканин порожнини рота.

Список використаної літератури

1. Доклінічне вивчення засобів для лікування та профілактики захворювань слизової оболонки порожнини рота: методичні рекомендації / К.М. Косенко, В.Я. Скиба [та ін.] — К.: ДФЦ МОЗ України, 2002. — 19 с.
2. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації / Під ред. О.В. Стефанова. — К.: Авіцена, 2001. — 528 с.
3. Борисенко А.Н. Модель асептичного запалення м'яких тканин порожнини рота у крыс / А.Н. Борисенко, І.І. Давиденко // Стоматологія. — 1973. — №5. — С. 73–74.
4. Кабишев К.Э. Фитопрепараты в отечественной дерматологической практике / К.Э. Кабишев // Вестник ВГУ. — 2005. — №1. — С. 189–204.
5. Левицкий А.П. Роль полифенолов пищи в формировании неспецифической резистентности тканей ротовой полости / А.П. Левицкий, О.Н. Воскресенский, С.В. Носийчук // Вісник стоматології. — 2005. — №3. — С. 2–7.
6. Машковский М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский. — Москва: Издательство Новая Волна: С. Б. Дивов, 2002. — Т. 1. — С. 303.
7. Меркулов Г.А. Курс патогистологической техники / Г.А. Меркулов. — Ленинград: Медицина, 1969. — 423 с.
8. Чаленко Ю. Применение фитотерапевтических средств в комплексном лечении заболеваний пародонта / Ю. Чаленко // Ліки України. — 2003. — №1. — С. 24–27.
9. Demirbilek S. Small-dose capsaicin reduces systemic inflammatory responses in septic rats / S. Demirbilek, O. Ersoy, S. Demirbilek // Anesth Analg. — 2004. — № 99. — P.1501–1507.
10. Inoue K. Functional Vanilloid Receptors in Cultured Normal Human Epidermal Keratinocytes / K. Inoue, S. Koizumi, S. Fuziwara // Biochem Biophys Res Commun. — 2002. — Vol. 15, №1. — P. 124–129.
11. Kehlet H. Postoperative pain relief / H. Kehlet // Banica Lecture Anesthesia. — 1994. — №19, Vol. 6. — P. 369–377.
12. Yucel A. The effect of heat conditioning of the primary area before and after induction of hyperalgesia by topical/intradermal capsaicin or by controlled heat injury / A. Yucel, A. Miyazawa, O.K. Andersen // Somatosens Mot Res. — 2001. — Vol. 18, №4. — P. 295–302.

Стаття надійшла в редакцію 1 квітня 2014 року