

УДК: 615.282:615.33:618.15-002:616-091.8

© Дроговоз К.В., Зайченко Г.В., Грищенко О.В., 2012

МОРФОЛОГІЧНА ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ НОВОЇ КОМБІНОВАНОЇ МАЗИ “КЛІВАЗОЛ” НА МОДЕЛІ ТРАВМАТИЧНО-БАКТЕРІАЛЬНО-ГРИБКОВОГО ВАГІНІТУ У ЩУРІВ

Дроговоз К.В., Зайченко Г.В., *Грищенко О.В.

*Національний фармацевтичний університет; *Харківська медична академія післядипломної освіти*

Дроговоз К.В., Зайченко Г.В., Грищенко О.В. Морфологічна оцінка ефективності нової комбінованої мазі “Клівазол” на моделі травматично-бактеріально-грибкового вагініту у щурів // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, № 3. – С. 31-34.

Серед захворювань статевого тракту у жінок найбільш розповсюдженими є бактеріально-грибкові вагініти. Аналіз фармацевтичного ринку України показав дефіцит вітчизняних комбінованих препаратів топікальної дії з антибіотиками та протигрибковими компонентами для лікування даної патології. В представленій роботі наведені результати фармакологічного дослідження нового комбінованого вагінального крему клівазол на моделі травматично-бактеріально-грибкового вагініту у щурів. Встановлено, що за даними морфологічного дослідження слизової оболонки піхви, клівазол виявляє більш виражену ефективність, ніж почергове введення препаратів порівняння, які містять кліндаміцин та міконазол.

Ключові слова: бактеріально-грибкові вагініти, гістологічні зміни слизової оболонки піхви, кліндаміцин, міконазол.

Дроговоз К.В., Зайченко Г.В., Грищенко О.В. Морфологическая оценка эффективности новой комбинированной мази “Кливазол” на модели травматично-бактериально-грибкового вагинита у крыс // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, № 3. – С. 31-34.

Среди заболеваний полового тракта у женщин наиболее распространенными являются бактериально-грибковые вагиниты. Анализ фармацевтического рынка Украины показал дефицит отечественных комбинированных препаратов для лечения данной патологии с антибиотиком и противогрибковым компонентами. В данной работе приведены результаты фармакологического исследования нового комбинированного вагинального крема кливазол, на модели травматично-бактериально-грибкового вагинита у крыс. Установлено, что по данным морфологического исследования слизистой оболочки влагалища крыс кливазол более эффективный, чем вводимые поочередно препараты сравнения, содержащие клиндамыцин и миконазол.

Ключевые слова: бактериально-грибковые вагиниты, гистологические изменения слизистой оболочки влагалища, клиндамыцин, миконазол.

Drogovoz K.V., Zaychenko A.V., Grischenko O.V. Morphological assessment of the effectiveness of new combined ointment "Klivazol" a model-traumatic-bacterial and fungal vaginitis in rats // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, № 3. – С. 31-34.

Among of diseases of the genital tract in women is the most common bacterial and fungal vaginitis. Analysis of pharmaceutical market in Ukraine showed lack of domestic combination therapies to treat this disease with antibiotics and antifungal components. To this scenario work the results of a new combined vaginal cream klivazol, the model-traumatic bacterial and fungal vaginitis in rats. Found that according to the morphological study of vagina klivazol reveals more pronounced efficacy than comparison drugs containing clindamycin and miconazole.

Key words: bacterial and fungal vaginitis, histological changes in the mucous membrane of the vagina, clindamycin, miconazole.

Серед захворювань статевого тракту у жінок найбільш розповсюдженими є бактеріально-грибкові вагініти. Аналіз фармацевтичного ринку України показав дефіцит вітчизняних комбінованих препаратів топікальної дії з антибіотиками та протигрибковими компонентами для лікування даної патології. В представленій роботі наведені результати фармакологічного дослідження нового комбінованого вагінального крему клівазол на моделі травматично-бактеріально-грибкового вагініту у щурів. Встановлено, що за даними морфологічного дослідження слизової оболонки піхви, клівазол виявляє більш виражену ефективність, ніж почергове введення препаратів порівняння, які містять кліндаміцин та міконазол.

Як відомо, одним з розповсюджених захворювань, що зустрічаються у практичній діяльності лікаря акушера-гінеколога є неспецифічні

вагініти. Серед етіологічних факторів, які спричиняють розвиток даної патології, найбільш часто виявляють бактеріальні і грибові мікроорганізми. Необхідність лікування вагінітів не викликає сумніву, оскільки наслідки спричинені цією патологією є вельми серйозними. Так, не лікований вагініт, при певних обставинах (зниження загального імунітету), може спричинити розвиток цервіциту, ендометриту, сальпінгоофориту, при вагітності стати причиною передчасного розриву плодових оболонок, викликати внутрішньоутробне інфікування плоду [3,6,9].

Аналізуючи асортимент лікарських препаратів для лікування неспецифічного вагініту, які представлені на фармацевтичному ринку України, можна констатувати той факт, що комбінованих лікарських засобів для топікального лікування вагінітів не більше 18 найменувань виключно іноземно-

го виробництва, а вітчизняні лікарські препарати місцевої дії для лікування даної патології відсутні. Тому питання створення нового комбінованого вагінального крему з антибактерицидною та протигрибковою дією є вельми актуальним завданням фармакологічної науки [13].

Метою роботи була оцінка лікувальної дії нового комбінованого крему клівазол, який розроблено під керівництвом проф. Ляпунова М.О. в ДНЦЛЗ (м. Харків), за результатами морфологічного вивчення стану слизової оболонки вагіни щурів у порівнянні з референтними препаратами кліндамицином та міконазолом.

Матеріали та методи. Фармакологічну активність нового препарату, до складу якого входять кліндамицин та міконазол, досліджували *in vivo* на моделі травматично-бактеріально-грибкового вагініту у щурів. Експериментальну модель відтворювали відповідно до методичних рекомендацій, затверджених ДФЦ МОЗ України [8]. В експерименті було використано 32 самки білих нелінійних щурів, масою 170–200 г. Тварин було поділено на 4 групи по 8 тварин у кожній. До першої групи (інтактний контроль) були включені здорові щури. До другої групи (контрольної патології) увійшли самки, яким викликали експериментальну патологію – бактеріально-грибковий вагініт. До третьої групи включені тварини, яким після формування бактеріально-грибкового вагініту проводили лікування новим препаратом клівазол. До четвертої групи увійшли тварини, яким на фоні патології проводили лікування препаратами порівняння – кремом з кліндамицином (Далацин®, *Pharmacia Upjohn, США*) та вагінальними супозиторіями з міконазолом (Гінезол 7, *Сазмел Інж. Health Life, США*). Усі досліджувані препарати вводили інтравагінально з 6-го по 11-й день експерименту один раз на добу. Препарати порівняння вводили по чергово з інтервалом у дві години між введеннями. Оцінку ефективності лікування проводили за гістологічними дослідженнями слизової оболонки піхви (СОП) щурів, які отримували після закінчення лікування та виведення тварин з експерименту на 12-у добу. Зразки тканин СОП фіксували у 10% розчині формаліну, зневоднювали у спиртах зростаючої міцності, заливали у целоїдин-парафін. Зрізи для оглядової мікроскопії фарбували гематоксиліном та еозином, ставили ШПК реакцію для виявлення глікогену [7, 5]. Мікропрепарати досліджували під мікроскопом Micros 400. Фотографування зображень здійснювали цифровим фотоапаратом Nikon Col Pix 4500 та опрацьовували на комп'ютері Pentium 2,4GHz за допомогою програми Nikon View 5.

Результати та їх обговорення. Для верифікації фармакологічної ефективності місцевої дії лікарського препарату при лікуванні вагінітів вагоме значення мають не лише динаміка показників локального запалення, які виявляються при макроскопічному огляді (гіперемія, набряк, ерозії, виділення ексудату), а також стан гістоструктури слизової оболонки піхви. Поглиблене морфологічне дослідження може надати най-

більш об'єктивну оцінку розвитку патології (глибина ураження, етапи розвитку патологічного процесу, початок регенерації тканин), строки повного відновлення структури та функцій вагінального епітелію.

При вивченні структурної організації стінки піхви тварин інтактної групи тварин було відмічено, що вона відповідає фізіологічній нормі (рис.1). Слизова оболонка була представлена багатопшаровим плоским епітелієм, за яким розташовувалася власна сполучнотканинна пластинка (строма). Підслизовий прошарок переходив у тонку м'язову оболонку та був помірно вираженим. Зовні підслизовий прошарок покривала адвентиціальна оболонка. Епітеліальний пласт був представлений базальним, проміжним та роговим шарами. Проміжний шар містив різні за чисельністю ряди шипуватих та зернистих клітин. Цитоплазма шипуватих клітин містила багато глікогену. Клітини базального та проміжного шару щільно прилягали одна до одної. Зроговілий шар на поверхні епітеліального пласту дещо варіював за виразністю, місцями помірно відшаровувався. Це відповідало різним етапам фаз естрального циклу самок щурів. Строма СОП була представлена доволі щільною сполучною тканиною. Межа з епітелієм була нерівною та мала вигляд помірних сосочків, які вдавалися в епітелій. Підслизовий прошарок мав вигляд пухкої волокнистої тканини, з незначною кількістю лімфоцитів, фібробластів, та дрібних кровоносних судин венозного типу. Адвентиціальна оболонка складалась з пухкої волокнистої тканини та містила кровоносні судини різного калібру.

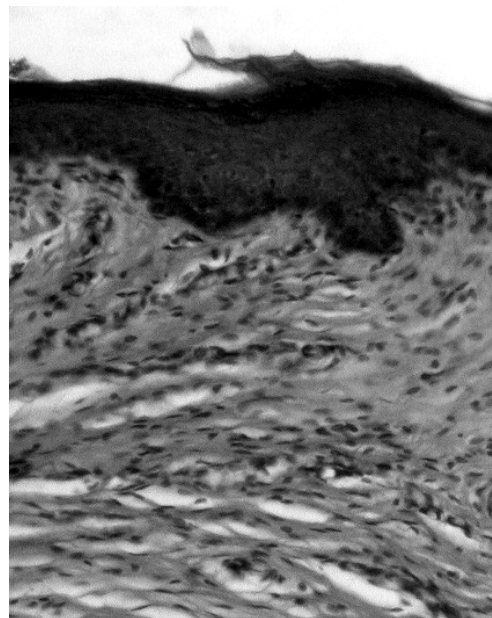


Рис. 1. Піхва інтактного щура у фазі естрального циклу Oestrus: а – нормального вигляду епітеліальний пласт (базальний шар, проміжний шар, роговий шар) та строма слизової. Гематоксилін-еозин. x100.

При гістологічному дослідженні СОП щурів групи контрольної патології були виявлені прояви інфекційного запалення (рис.2). Так, стінка піхви

була виразно потовщеною, епітеліальний пласт був відсутнім на значних по довжині ділянках. Місця поверхневих дефектів були заповнені клітинним детритом, волокна строми набряклими. Підслизовий прошарок був розширеним, у ньому спостерігалась виразна запальна реакція. Подекуди були видні поодинокі молоді тонкостінні кровоносні судини, які розташовувались серед скупчень лейкоцитів. Це було ознаками початку утворення грануляційної тканини. Ознаки запалення, також, спостерігали у м'язовій та адвентиціальній оболонках, що свідчило про значну глибину патологічного процесу у даному експерименті. У кровоносних судинах спостерігали крайове розташування фагоцитів. В ділянках слизової поза зонами деструкції, під збереженим покривним епітелієм, спостерігали виразне запалення строми та всіх підлеглих шарів. У покривному епітелії в аналогічних ділянках слизової часто простежували запальні акантозні розростання епітелію та глибоке проникнення їх у строми. Між клітинами базального та проміжного шарів часто зустрічалися акантоліз, тобто появу щілин за рахунок втрати тісного зв'язку між клітинами. Доволі часто виявлялися інфільтрати з мононуклеарних клітин, що проникали у епітеліальний пласт (екзоцитоз). Окрім того, були наявними ознаки порушення фізіологічного процесу зроговіння вагінального епітелію, тобто дискератозу. Це проявлялось тим, що деякі клітини приймали шароподібну форму, втрачали зв'язок з іншими клітинами, перетворювались у так звані круглі тільця, які хаотично розміщувались у всіх відділах епітеліального пласту. Вміст глікогену у цитоплазмі шипуватих клітин значно був зменшеним або відсутнім взагалі.

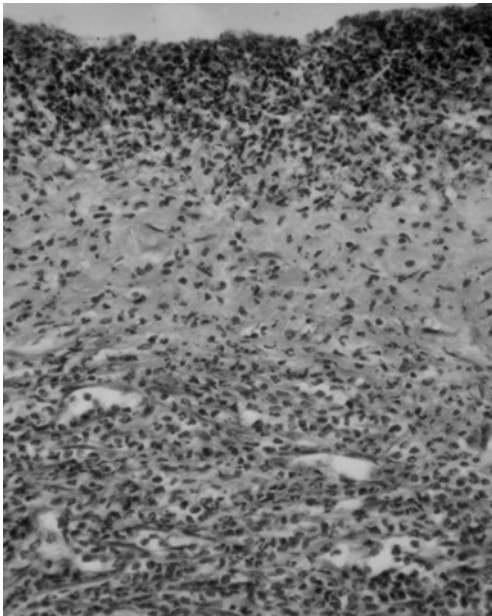


Рис. 2. Піхва щура з групи контрольної патології: деструкція слизової та запалення у підслизовій оболонці. Гематоксилін-еозин. x100.

У тварин, яких лікували вагінальним кремом клівазол спостерігали явні ознаки лікувальної дії. Так, у однієї самки СОП відповідала фізіологіч-

ній нормі, у двох – у покривному епітелії відмічали помірний акантоз, дискератоз, у стромі зберігалися прояви дифузної запальної реакції. У чотирьох тварин з досліджуваної групи строма слизової мала вигляд новоутвореної грануляційної тканини з більшою, чи меншою перевагою волокнистих структур та клітинних елементів (рис.3). Межа епітеліального пласту була здебільше рівною, без сосочків. У всіх випадках структурна організація епітелію відповідала одній з фаз нормального естрального циклу (переважно фазі проеструс). В одному випадку виявлена невелика ерозія СОП. Поверхня дефекту була чистою і без детриту, виявляли активну крайову епітелізацію. Сам дефект був заповнений помірно васкуляризованою грануляційною тканиною, з ознаками утворення волокон колагену. Клітини функціонального та проміжного шару епітеліального пласту у всіх зразках СОП достатньо активно накопичували глікоген, що свідчило про відновлення його функціональних властивостей.

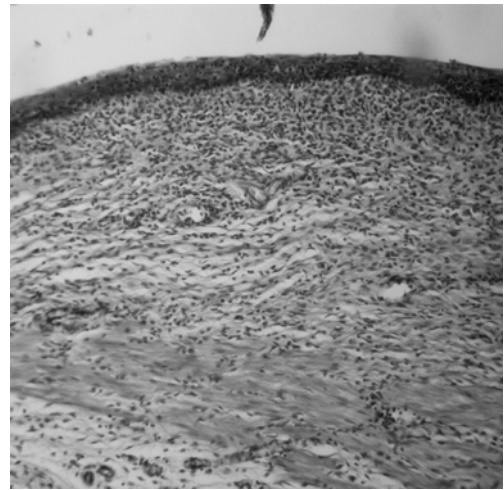


Рис. 3. Піхва щурів після лікувального введення вагінального крему «Клівазол»: перевага клітинних елементів над волокнами у новоутвореній тканині. Стан епітелію відповідає фазі Prooestrus естрального циклу. Гематоксилін-еозин. x100.

Після послідовного інтравагінального введення мазей з кліндаміцином та міконазолом, також було встановлено лікувальний ефект. При вивченні тканин СОП тварин даної групи відмічали збереження покривного епітелію (рис.4). Його структурна організація відповідала фазам естрального циклу еструс або проеструс. У зразках тканин деяких тварин в епітеліальному пласті помічали незначний акантоз, не дуже виразний акантоліз та дискератоз. У зразках тканин інших тварин цієї групи у стромі слизової оболонки відмічали помірну запальну реакцію. У однієї самки з цієї групи, після проведеного лікування був виявлений великовогнищевий запальний інфільтрат у підслизовому прошарку, периваскуліт, крайове розташування клітин крові у кровоносних судинах. Вміст глікогену у клітинах проміжного або функціонального шару був в межах норми.

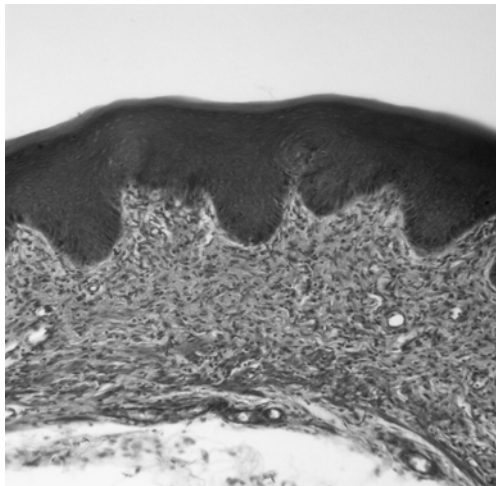


Рис. 4. Піхва щурів після лікування препаратами порівняння «Далацин» та «Гінезол»: нормальний стан слизової, стан епітелію відповідає фазі Ooestrus. Гематоксилін-еозин. x100.

Висновки: Отже, на підставі всього вищезазначеного можливо зробити певні узагальнення. Після механічного травмування слизової піхви щурів з подальшим інфікуванням музейними штамами *Candida albicans* та *Staphylococcus aureus* спостерігали виразні ознаки альтерації, проліферації та міграції запальних клітин, дуже повільні процеси спонтанної регенерації. Поза зонами травматичного пошкодження у покривному епітелії виявлялися ознаки запальних процесів у вигляді акантозних розростань, дискератозу, ектоцитозу. Клітини поверхневих шарів піхвового епітелію втрачали функцію накопичення глікогену. Строма слизової та підслизової оболонки були також з ознаками запального процесу.

Введення нової комбінованої вагінальної мазі клівазол супроводжувалося виразною лікувальною дією в умовах даного експерименту. Про це свідчило зменшення проявів інфекційного запалення, а саме практично повна відсутність дефектів епітелію, прискорення, порівняно з тваринами групи контрольної патології, процесів регенерації зі створенням м'якого рубця на місці колишнього дефекту СОП у більшості самок щурів. У частини самок відбувалося загоєння раньової поверхні за типом реституції, тобто з повним відновленням структури СОП ще до строку закінчення експерименту. Були значно зменшені або відсутні запальні прояви як у стромі, так і епітеліальному пласті. Під впливом досліджуваного крему клівазол повністю відновлювалася здатність клітин епітелію до накопичення глікогену. За ефектом дії на слизову оболонку піхви самок щурів новий комбінований вагінальний крем клівазол виявляє виразну лікувальну дію, яка за окремими показниками децю перевищує ефективність сумісного почергового введення препаратів порівняння – крему з кліндаміцином та вагінальних свічок з міконазолом.

Отримані результати експериментального дослідження клівазолу відкривають перспективи

подальшого клінічного вивчення нового комбінованого крему у гінекології при бактеріально-грибкових вагінітах.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Анкирская А.С. Неспецифический вагинит / А.С. Анкирская // Гинекология.–2005.– № 4.– С.15–18.
2. Буданов П.В. Смешанные вульвовагинальные инфекции – проблемы терапии и экстренной профилактики / П.В. Буданов // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии.– 2005.– Т.4, № 4.– С.13–16.
3. Кира Е.Ф. Неспецифический вагинит и его влияние на репродуктивное здоровье женщины / Е.Ф. Кира, С.З. Муслимова // Проблемы репродукции.–2008.– № 5.– С.8–14.
4. Кисина В.И. Урогенитальные инфекции у женщин / В.И. Кисина, К.И. Забиров.– М: МИА, 2005.– 276 с.
5. Кононский А.И. Гистохимия./ А.И. Кононский - К.: Вища школа. – 1976. – 280с.
6. Лихачев В.К. Практическая гинекология. / В.К. Лихачев– М: МИА, 2007. – 664 с.
7. Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники./ Г.А. Меркулов - М.: Медицина, Ленингр. отд-ние. – 1969. – 424с.
8. Методические рекомендации “Методы экспериментального изучения БАВ на моделях вульвовагинита”. – К.: Авицена, 2003г. –19 с.
9. Hainer V.L. Vaginitis: diagnosis and treatment / V.L. Hainer, M.V. Gibson // Am. Fam. Physician.–2011.– Vol.83, № 7.– P.807–815.
10. Lamont R.F. The role of bacterial vaginosis, aerobic vaginitis, abnormal vaginal flora and the risk of preterm birth / R.F. Lamont, D. Taylor–Robinson // BJOG.–2010.– Vol.117, № 1.– P.119–120.
11. Linhares I.M. New findings about vaginal bacterial flora / I.M. Linhares, P.C. Giraldo, E.C. Baracat // Rev. Assoc. Med. Bras.–2010.– Vol. 56, № 3.– P.370–374.
12. Quan M. Vaginitis: diagnosis and management / M. Quan // Postgrad. Med.–2010.– Vol.122, № 6.– P.117–127.
13. RX-index – класифікатор лікарських препаратів - К.: Видавничий дім "Фармацевт Практик", 2011. – 928 с.
14. Tempera G. Management of aerobic vaginitis / G. Tempera, P.M. Furneri // Gynecol. Obstet. Invest.–2010.– Vol.70, № 4.– P. 244–249.

Надійшла 06.06.2012 р.

Рецензент: доц. В.М.Волошин