УДК 615.454.1+616-001-003.9

Дев'яткіна Н.М.

ОЦІНКА РЕПАРАТИВНОЇ АКТИВНОСТІ ГЕЛЮ «РОТРИН-ДЕНТА» НА МОДЕЛІ ЛІНІЙНОЇ РІЗАНОЇ РАНИ

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

При розробці лікарських засобів для лікування захворювань слизової оболонки порожнини рота важливою є оцінка ранозагоювальної дії препарату. Метою роботи були скринінгові дослідження репаративної активності нового комбінованого стоматологічного гелю «Ротрин-Дента» на моделі лінійної різаної рани шкіри щурів. Вивчали чотири зразки гелю з різним вмістом діючих речовин (зразки №1 і №2 містили у своєму складі по 5% ротокану та 0,3% і 0,5% триклозану, №3 і №4 – 10% і 15% ротокану відповідно та однакову кількість триклозану – 0,4 %). Лінійну різану рану довжиною 50 мм наносили на депільовану міжлопаткову ділянку шкіри під барбаміловим наркозом. На рану накладали вузлуваті шви на відстані 10 мм один від одного. З наступного дня починали лікування, яке тривало 4 доби. На 6-й день досліду тварин декапітували під ефірним наркозом, вирізали ділянку шкіри з рубцем і проводили випробування міцності рубця на ранотензіометрі. Для оцінки процесу загоєння рани на клітинному рівні визначали кількість РНК і ДНК у субклітинних фракціях клітин ділянки шкіри з рубцем. За результатами досліджень найбільшу репаративну активність виявили зразки гелю №3 і №4. Обидва зазначені зразки гелів активно впливали на пластичні процеси в травмованих тканинах шкіри, про що свідчило вірогідне збільшення рівня ДНК і РНК у порівнянні з показниками тварин контрольної патології, однак, відносно інтактного контролю виявлена перевага гелю №3. Отже, встановлена висока репаративна і метаболічна активність зразка гелю № 3, який містить меншу кількість ротокану, що поряд з фармакоекономічною доцільністю, обумовило його вибір для подальшого фармакологічного дослідження.

Ключові слова: гель «Ротрин-Дента», репаративна активність, скринінг, лінійна різана рана.

Робота є фрагментом НДР ВДНЗУ «УМСА»: «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

Дослідження фармакологічних властивостей нових засобів для лікування захворювань слизової оболонки порожнини рота передбачає оцінку їхньої репаративної активності. Відомо, що травматичні ушкодження належать до найбільш поширених хвороб окремих ділянок або всієї слизової оболонки рота [1;2;3;4]. Травмувальними факторами можуть бути: гострі краї коронки зубів, мостоподібні та знімні протези, ортодонтичні апарати, відкладення зубного каменя, шкідливі звички [3;4;5;6]. При лікуванні ушкоджень слизової оболонки порожнини рота, які виникли внаслідок дії травматичних факторів, необхідно створити оптимальні умови для повноцінної фізіологічної регенерації – процесу репарації ушкоджених тканин з відновленням їх цільності та міцності [7]. Потрібно відмітити, що найбільш перспективною та зручною лікарською формою для лікування ушкоджень є гель, який можна використовувати як нашкірно, так і на слизову оболонку порожнини рота. Перевагами даної лікарської форми є рівномірне нанесення діючої речовини та забезпечення її тривалої дії, легкість застосування, можливість використовування в різній віковій категорії, що робить їх засобами нового покоління [8;9]. За даними Державного формуляра лікарських засобів (випуск п'ятий, 2013р.), серед зареєстрованих в Україні десяти стоматологічних гелів всього декілька вітчизняного виробництва [10]. У зв'язку з вищевикладеним дослідження нового вітчизняного стоматологічного гелю є актуальною.

Мета роботи

Провести скринінгові дослідження репаративної активності гелю «Ротрин-Дента» на моделі лінійної різаної рани шкіри щурів.

Матеріали та методи дослідження

Предметом дослідження обраний оригінальний комбінований стоматологічний гель «Ротрин-Дента», розроблений науковцями Національного фармацевтичного університету, м. Харків під керівництвом д.фарм.н., професора І.І. Баранової. Гель створений на основі рослинного препарату «Ротокан» (ВАТ «Лубнифарм», Україна) і містить у своєму складі синтетичний антибактеріальний засіб.

На етапі скринінгових досліджень для вибору оптимального складу гелю «Ротрин-Дента» досліджували чотири зразки гелю з різним вмістом діючих речовин.

Склад діючих речовин на 1,0 г гелю в мг:

Номер зразка	Ротокан	Триклозан
Зразок № 1	50	3
Зразок № 2	50	5
Зразок № 3	100	4
Зразок № 4	150	4

Оскільки гель «Ротрин-Дента» пропонується для лікування запальних захворювань слизової оболонки порожнини рота, які часто виникають внаслідок дії травматичного фактора, фармакологічний скринінг здійснювали оцінюючи репаративну дію на моделі асептичної лінійної різаної рани [11;12].

Дослідження репаративної активності зразків гелю виконані на 42 білих статевозрілих щурах

самцях масою 190 – 220 г, які були розподілені на шість груп: перша група – інтактна; друга – контрольна патологія; третя – лінійна рана + зразок №1: четверта – лінійна рана + зразок №2; п'ята – лінійна рана + зразок №3; лінійна рана + зразок №4.

Для відтворення лінійної різаної рани щурам під барбаміловим наркозом (0,8 мл 1% водного розчину барбамілу на 100 г маси тварини) в асептичних умовах на попередньо депільованій міжлопатковій ділянці робили розтин ножицями довжиною 50 мм. На відстані 10 мм один від одного накладали вузлуваті шви та обробляли розрізану й ушиту рану 5% спиртовим розчином йоду. З наступного дня починали лікування, яке тривало 4 доби. Тваринам дослідних груп на ділянку різаної рани розміром 3 х 5 $см^2$ наносили зразки гелю стерильним шпателем двічі на день (вранці та ввечері) в умовнотерапевтичній дозі (20 $мг/см^2$), визначеної експериментальним шляхом [13]. Тварин групи позитивного контролю не лікували. На 6-й день досліду тварин декапітували під ефірним наркозом і вирізали ділянку шкіри з рубцем розміром 4 х 6 $см^2$. Розміри рани та фрагменту вирізаної шкіри з рубцем вимірювали штангенциркулем (ШЦ, №702412). На ранотензіометрі проводили випробування міцності рубця. Для цього один край шва закріплювали в стаціонарному затискувачі, а другий – у затискувачі з вантажем. Рівномірно підвищуючи навантаження, визначали його масу за допомогою вагів технічних (ВТ – 0-1000 г, №04830), при якій шов розходився. Міцність рубця в дослідній та контрольній групах відповідала масі, необхідній для розриву рубця [11; 12].

Репаративну активність (РА, %) розраховували за формулою:

$РА = (\Delta Мд – \Delta Мк) \times 100\% / \Delta Мк$

де: РА – репаративна активність;

$\Delta Мд$ – навантаження, при якому розходився шов у щурів дослідної групи, г;

$\Delta Мк$ – навантаження, при якому розходився шов у щурів групи позитивного контролю, г.

Для оцінки процесу загоєння рани на клітинному рівні проводили кількісне визначення РНК і ДНК у субклітинних фракціях клітин ділянки шкіри з рубцем за методом М.Г. Трудолюбової [14].

Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1995), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Статистичну обробку фактичних даних використовували стандартного пакету програм STATISTICA (версія 6) [15]. Критичний рівень значимості р для статистичних критерій приймали ≤ 0,05.

Результати та їх обговорення

Результати скринінгового дослідження репаративної активності зразків гелю «Ротрин-Дента» з різним вмістом ротокану і триклозану на моделі лінійної різаної рани шкіри у щурів наведені в таблиці.

Таблиця

Показники репаративної дії зразків гелю «Ротрин-Дента» на моделі лінійної різаної рани у щурів

Умови досліду	Показник тензіометрії, г	Репаративна активність, %	ДНК у гомогенаті, мкг/мл	РНК у гомогенаті, мкг/мл
Інтактний контроль (n = 7)	–	–	20,93±0,70	28,76±1,52
Контрольна патологія (n = 7)	482,14±60,98	–	17,37±2,09	34,01±0,96*
Гель № 1 (n = 6)	575,00±52,33	19,3	18,26 ± 1,45	35,17±1,79*
Гель № 2 (n = 6)	583,00±66,00	20,9	18,22±1,72	35,73±1,96*
Гель № 3 (n= 8)	871,88±58,60**	80,8	27,30±2,60*/**	42,04±2,52*/**
Гель № 4 (n = 8)	828,25±54,82**	71,8	25,86±2,47**	41,09±2,49*/**

*Примітки: 1. * – відхилення показника вірогідно по відношенню до інтактного контролю, p < 0,05;*
*2. ** – відхилення показника вірогідно по відношенню до контрольної патології, p < 0,05;*
3. n – кількість тварин у групі.

Як видно з представлених даних зразки гелів №1 і №2, які містять у своєму складі по 5% ротокану та 0,3% і 0,5% триклозану відповідно, виявили незначну репаративну дію порівняно з показниками тварин контрольної групи на 6-й день досліду. За цих умов статистично значущі відмінності показників тензіометрії від групи нелікованих тварин спостерігали при застосуванні зразків гелю №3 і №4 з вмістом 10% і 15% ротокану відповідно та однаковим вмістом триклозану – 0,4%. Репаративна активність зразків гелю №3 і №4 складала 80,8% та 71,8% відповідно.

При дослідженні впливу зразків гелю на репаративні процеси на внутрішньоклітинному рівні встановлено, що зразки гелів №1 і №2, які містили у своєму складі 5% ротокану та 0,3% і 0,5% триклозану відповідно, не спричинили достовірних змін рівня ДНК та РНК у гомогенатах тканин шкірної рани відносно показників контрольної патології, однак сприяли вірогідному підвищенню рівня РНК у порівнянні з показниками тварин інтактної групи.

Лікування рани зразком гелю №3 з вмістом 10% ротокану і 0,4% триклозану сприяло на 6-й день експерименту вірогідному підвищенню рівня РНК і ДНК у гомогенаті тканин шкіри як по відношенню до показників тварин групи інтактного контролю, так і до показників нелікованих тварин.

Зразок гелю №4 з вмістом 15% ротокану та 0,4% триклозану, подібно до гелю №3, вірогідно підвищував рівень РНК і ДНК відносно показників контрольної патології та рівень РНК відносно показників інтактних тварин і не впливав на рівень ДНК по відношенню до показників тварин інтактної групи на відміну від гелю №3.

Отже, результати скринінгового дослідження зразків гелю «Ротрин-Дента» на моделі лінійної різаної рани шкіри щурів свідчать, що найбільшу репаративну активність виявили зразки гелю №3 і №4. При цьому гель №3 за показником тензіометрії на 9,0% перевищував активність гелю №4. Обидва зазначені зразки гелів активно впливали на пластичні процеси в травмованих тканинах шкіри, про що свідчило вірогідне збільшення рівня ДНК і РНК у порівнянні з показниками тварин контрольної патології. Однак відносно показників інтактного контролю виявлена перевага гелю №3, який вірогідно підвищував рівень ДНК на відміну від гелю №4.

Отриманні дані узгоджуються з результатами морфологічних досліджень ранозагоювальної дії зазначених зразків гелю «Ротрин-Дента» на моделі гострої механічної травми слизової оболонки порожнини рота щурів [16], в яких встановлено найбільший ефект на процеси регенерації травмованої слизової оболонки зразків гелю №3 і №4, які сприяли підвищенню проліферативної активності епітелію з утворенням фіброзної сполучної тканини.

Висновок

На підставі виконаних досліджень для подальшого фармакологічного дослідження обраний зразок гелю №3 з вмістом 10% ротокану і 0,4% триклозану, що обумовлено його високою репаративною і метаболічною активністю та фармакоекономічною доцільністю.

Література

1. Ніколішин А.К. Терапевтична стоматологія. Том 2 / Під ред. А.К. Ніколішина. – Полтава : «Дивосвіт», 2007. – 279 с.
2. Терапевтична стоматологія: підручник: – Т.4. Захворювання слизової оболонки порожнини рота / [М.Ф. Данилевський, А.В. Борисенко, М.Ю. Антоненко та ін.]. – К. : Медицина, 2010. – 640 с.
3. Максименко П.Т. Номенклатура, клиническая классификация болезней, изменений слизистой оболочки полости рта, губ и язика / П.Т. Максименко, Т.П. Скрипникова, Т.А. Хмиль // Украї-нський стоматологічний альманах. – 2008. – №4. – С.28-35.
4. Иванова Е.Н. Заболевания слизистой оболочки полости рта / Е.Н. Иванова, Е.А. Кукушкина. – М. : Феникс, 2007. – 259 с.
5. Маслов О.В. Клініко-експериментальне обгрунтування способу профілактики та лікування протезних стоматитів : автореф. дис. канд. мед. наук : спец. 14.01.22 / О.В. Маслов. – Ін-т стоматології АМН України. – Одеса, 2005. – 19 с.
6. Орнат Г.С. Клініко-лабораторна оцінка імунологічних і генетичних факторів перебігу протезних стоматитів та обгрунтування медикаментозної корекції в комплексному лікуванні: автореф. дис. канд. мед. наук : спец. 14.01.22 / Г.С. Орнат. – Івано-Франків. держ. мед. акад. – Івано-Франківськ, 2002. – 20 с.
7. Воспаление. Руководство для врачей / Под ред. В.В. Серова, В.С. Паукова. – М. : Медицина, 1995. – 640 с.
8. Давтян Л.Л. Гелі як засіб нового покоління в стоматологічній практиці / Л.Л.Давтян // Досягнення та перспективи розвитку фармацевтичної галузі України: матеріали VI Нац. з'їзду фармац. України. - Х.: Вид-во НФаУ, 2005. – С.208-209.
9. Давтян Л.Л. Науково-практичне обґрунтування технології м'яких лікарських форм для стоматології: дис. д-ра фарм. наук : спец. 15.00.01 / Лена Левоновна Давтян. – К., 2006. – 304 с.
10. Державний формуляр лікарських засобів (випуск п'ятий) / Під ред. Р.В. Богатирьової та співав. Затверджено Міністерством охорони здоров'я України від 29 березня 2013 р. Наказ № 25. – К., 2013.
11. Коньков Д.Г. Дослідження репаративної активності вінборонової мазі за показниками тензіометрії в експерименті / Д.Г. .Коньков // Медицина сегодня и завтра. – 2004. – №4. – С.93-95.
12. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ : метод. рек. / Под ред. Р.У. Хабриева. – М. : Медицина, 2005. – 832 с.
13. Оптимізація доклінічного вивчення ефективності та нешкідливості лікарських засобів у формі мазей та гелів: інформ. лист № 101-2008 / Л.В. Яковлєва, І.Г. Бутенко, К.П. Бездітко. – К. : Укрмедпатентінформ, 2008. – 5 с.
14. Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М. : Медицина, 1977. – С.313-317.
15. Rebrova O.Yu. Statistical analysis of medical data. Usage of program package Statistica / O. Yu. Rebrov. – M. : MediaSphera, 2006. – 312 p.
16. Бобирьов В.М. Скринінг ранозагоювальної дії нового стоматологічного гелю на основі рослинного препарату та синтетичного антисептика (морфологічні дослідження, частина II) / В.М. Бобирьов, Н.М. Дев'яткіна, Ю.О. Беспала, Д.Є. Ніколенко // Вісник проблем біології і медицини. – 2013. – Вип.2, Т.1 (100). – С.240-244.

Реферат

ОЦЕНКА РЕПАРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ГЕЛЯ «РОТРИН-ДЕНТА» НА МОДЕЛИ ЛИНЕЙНОЙ РЕЗАНОЙ РАНЫ

Девяткина Н.Н.

Ключевые слова: гель «Ротрин-Дента», репаративная активность, скрининг, линейная резаная рана.

При разработке лекарственных средств для лечения заболеваний слизистой оболочки полости рта важным является оценка ранозаживляющего действия препарата. Целью работы были скрининговые исследования репаративной активности нового комбинированного стоматологического геля «Ротрин-Дента» на модели линейной резаной раны кожи крыс. Изучали четыре образца геля с различным содержанием действующих веществ (образцы №1 и №2 содержали в своем составе по 5% ротокана и 0,3% и 0,5% триклозана соответственно, №3 и №4 – 10% и 15% ротокана соответственно и одинаковое количество триклозана – 0,4%). Линейную резаную рану длиной 50 мм наносили на депиллированный межлопаточный участок кожи ножницами под барбамиловим наркозом. На рану накладывали узловатые швы на расстоянии 10 мм друг от друга. На следующий день начинали лечение, которое продолжалось 4 дня. На 6-й день опыта животных декапитировали под эфирным наркозом, вырезали участок кожи с рубцом и проводили испытания прочности рубца на ранотензиометре. Для оценки процесса заживления раны на клеточном уровне определяли количество РНК и ДНК в субклеточных фракциях клеток участки кожи с рубцом. По результатам исследований наибольшую репаративную активность проявили образцы геля №3 и №4 . Оба указанных образца гелей активно влияли на пластические процессы в травмированных тканях кожи, о чем свидетельствовало достоверное увеличе-

ние уровня ДНК и РНК по сравнению с показателями животных контрольной патологии, однако относительно показателей интактного контроля обнаружено преимущество геля №3. Таким образом, установлена высокая репаративная и метаболическая активность образца геля №3, который содержит меньшее количество ротокана, что наряду с фармакоэкономической целесообразностью обусловило его выбор для дальнейшего фармакологического исследования.

Summary

ASSESSMENT OF WOUND HEALING ACTIVITY PRODUCED BY GEL “ROTRIN-DENTA” ON MODELS OF LINEAR CUTTING WOUND

Devyatkina N.N.

Key words: gel «Rotrin-Denta», reparative activity, screening, line cutting wound.

The development of medication to treat diseases of the oral mucosa is a multistage process that involves evaluation of its reparative activity. The aim of this study was to carry out the screening of reparative activity produced by gel "Rotrin-Denta" on the models of linear cut wounds of the skin in rats. We tested four samples of the gel which contained different concentration of active agents (samples №1 and №2 contained 5% of rotacan and 0.3 % and 0.5% of triclosan respectively, while samples №3 and №3 contained 10% and 15% of rotacan and equal amount of triclosan (0.4 %). To model a linear wound the rats under barbamylum anesthesia were made an aseptic incision of 50 mm long on previously dehaired interscapular area. Then interrupted sutures were placed on 10mm from each other. The next day the treatment started and lasted for 4 days. On the 6^{th} day of the experiment the animals were decapitated under ether anesthesia and the exposed skin with a scar was cut for the following strength test. To evaluate the process of wound healing at the cellular level we determined the amount of RNA and DNA in subcellular fractions of cells of the exposed skin with scar. It was revealed the gel samples of "Rotrin-Denta» №1 and №2 with minimal rotacan content demonstrated little healing effects compared with gel samples №3 and №4. The highest healing activity was demonstrated by the gel samples №3 and №4, which made up 80.8 % and 71.8 %, respectively. Both of these gel samples actively influenced on the plastic processes in injured tissues of the skin, that was proved by reliable increase in DNA and RNA compared to those of the control animals. However, as for the indices of the intact control the gel sample № 3 prevailed over the sample №4 because the sample №3 demonstrated significantly increased DNA level. Thus, the gel sample №3 containing 10% rotacan and 0.4% triclosan was selected for following pharmacological research due to its high reparative and metabolic activity and pharmacoeconomic expediency.

УДК: 57.017.6+612.013+612.68

Козовий Р. В., Ковальчук Л. Є.

ОЦІНКА ЗНАЧУЩОСТІ ВПЛИВУ ЧИННИКІВ РІЗНОГО ҐЕНЕЗУ НА ТРИВАЛІСТЬ ЖИТТЯ І ДОВГОЛІТТЯ

ДВНЗ “Івано-Франківський національний медичний університет”

Обстежено 486 довгожителів (основна група) та 297 людей віком від 36 до 60 років, у родоводах яких не було довгожителів (група порівняння). Проведено кореляційний аналіз між біохімічними, цитогенетичними, морфометричними та спектрометричними параметрами досліджуваних груп. Відібрано 29 кількісних показників активності стану глутатіонової системи (ферменти глутатіон-S-трансферази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази), окисної модифікації білків (ОМБ) у сироватці крові, функціонального стану геному епітеліоцитів слизової оболонки порожнини рота, лімфоцитів, нейтрофільних гранулоцитів. Аналіз кореляцій довів важливу роль ферментів ендогенної антиоксидантної глутатіонової системи у підтриманні структурно-функціональної стабільності клітин і організму довгожителів. У основній групі встановлено прямі дуже сильні взаємозв’язки між ОМБ основного та нейтрального характеру, активністю ферментів глутатіон-S-трансферази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази та денситометричними, цитогенетичними індексами; у людей групи порівняння виявлено більш виражену окиснювальну деструкцію білків, що зумовлює велику частоту мікроядер, хромосомних аберацій, ядер з максимальним ступенем компактизації хроматину, що може бути одною з причин інкактивації ферментів глутатіонової системи.

Ключові слова: кореляційний аналіз, довгожителі, глутатіонова система, окисні модифікації білків, структурно-функціональний стан геному.

Публікація є фрагментом науково-дослідної роботи “Цитогенетичні механізми формування здоров’я населення та розробка заходів його покращення” (номер держреєстрації 01/3U000768), яка фінансується МОЗ України з коштів держаного бюджету

Вступ

Останніми роками все більша увага приділяється клітинним, цитогенетичним і біохімічним факторам старіння. Це зумовлено тим, що з віком знижується стійкість організму до гіпоксії і, як наслідок, розвивається гіпоксичне порушення гомеостазу [1]. Першочергово зміни про- і антиоксидантної систем проявляються на клітинному рівні. При старінні відбувається порушення ба-