

О. В. Должикова, Л. М. Малоштан

Гістоморфологічні дослідження впливу нових супозиторіїв вагінальних «Меланізол» на стан піхви щурів на тлі експериментального вагініту

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: супозиторії вагінальні, метронідазол, олія чайного дерева, експериментальний вагініт

Останніми роками відмічено підвищення частоти захворювань статевих органів у жінок на 13 % у загальній популяції жінок репродуктивного періоду. У структурі гінекологічних захворювань запальні захворювання статевих органів у жінок займають перше місце в усьому світі [1–4] і складають 70 % від числа всіх захворювань [5].

Актуальність проблеми лікування запальних захворювань статевих органів у жінок визначається їхньою високою частотою, схильністю до тривалого перебігу та розвитком полісистемних розладів. Відзначається збільшення частоти малосимптомних та безсимптомних запальних захворювань піхви, спричинених асоціаціями різних мікроорганізмів [1]. Несвочасне та неадекватне лікування захворювань статевих органів у жінок призводить до хронізації процесу, спричиняє безпліддя, позаматкову вагітність, тазовий біль [6].

Незважаючи на вдосконалення методів лікування запальних захворювань жіночих статевих органів, позитивний ефект досягається лише в половини пацієнтів і носить тимчасовий характер, частота рецидивів запального процесу становить 20–40 % [7]. Таким чином, актуальним є пошук нових лікарських засобів, які будуть поєднувати високу ефективність та низький рівень негативних проявів. На кафедрі ТЛ НФаУ під керівництвом професора Т. Г. Ярних [8] створено нові супозиторії вагінальні «Меланізол» (основні діючі речовини: метронідазол та олія чайного дерева) для лікування вагінітів.

Мета дослідження – вивчення фармакологічної активності (протизапальної та репаративної) нових супозиторіїв вагінальних «Меланізол».

Матеріали та методи. Експериментальні дослідження проводили на білих нелінійних щурах-самицях вагою 180–220 г, яких відбирали до експерименту в одній фазі естрального циклу. Вивчення фармакологічної активності супозиторіїв проводили на моделі експериментального вагініту, який викликали шляхом введення в піхву дослідних тварин тампона з 10 % розчином азотнокислого срібла та його експозицією протягом 5 хв [9]. З наступного дня після моделювання патології розпочинали лікування уведеним досліджуваних супозиторіїв «Меланізол», препаратів порівняння – супозиторіїв «Грвагаїн» («Сперко Україна», Україна) та «Супозиторіїв з олією обліпихи» («Монфарм», Україна), а також плацебо (основа супозиторіїв – суміш ПЕО 1500:400) 1 раз на добу.

Тварин попередньо розподіляли на шість експериментальних груп по 7 тварин у кожній: 1 група – інтактний контроль; 2 – контрольна патологія (позитивний контроль), 3 група – тварини, яким вводили досліджувані супозиторії вагінальні «Меланізол» у дозі 21 мг/кг, 4 група – тварини, яким вводили препарат порівняння супозиторії «Грвагаїн» у дозі 30 мг/кг, 5 група – тварини, яким вводили препарат порівняння «Супозиторії з олією обліпихи» у дозі 17,64 мг/кг; 6 група – тварини, яким вводили лише основу досліджуваних супозиторіїв – суміш ПЕО 1500:400 (плацебо: негативний контроль), з метою виключення можливого додаткового її впливу. Дози досліджуваних супозиторіїв та препарату порівняння розраховували за

загальнозживаними в експериментальній фармакології коефіцієнтами видової стійкості Ю. Р. Риболовлева [10].

Лікування досліджуваними препаратами та препаратами порівняння тривало 6 дів. Після закінчення лікування тварин виводили з експерименту в умовах евтаназії згідно із вимогами біоетики та оцінювали вплив супозиторіїв «Меланізол» на перебіг експериментального вагініту в порівнянні з референс-препаратами супозиторіями «Гравагін» та «Супозиторії з олією обліпихи».

Для гістологічного дослідження брали дистальний відділ піхви – ділянку, на яку безпосередньо (як і на присінок піхви, який у щурів має глибоке розташування та відноситься до внутрішніх статевих органів самки [11]) чинив вплив розчин азотнокислого срібла. Епітелій, що вистеляє дистальний відділ піхви, має структуру багатшарового плеского зроговілого епітелію, у якому не відбуваються зміни, пов'язані з фазами естрального циклу, але виразність рогового шару варіює залежно від фази циклу [12]. Оскільки в піддослідних самиць макроскопічні зміни були обмежені саме цими ділянками, для дослідження брали дистальний відділ піхви. Підготовку зразків для гістологічного дослідження проводили загальноприйнятими методами [13]. Матеріал фіксували в 10 % розчині формаліну. Зразки зневоднювали в спиртах зростаючої міцності, занурювали в целоїдин-парафін. Мікротомовані зрізи фарбували гематоксиліном та еозином. Мікроскопічне вивчення препаратів проводили під мікроскопом Mikros 400. Мікрофотографування здійснювали цифровим фотоапаратом Nikon Col Pix4500. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 4GH за допомогою програми Nikon View 5. Морфологічні дослідження проведені на базі ЦНДЛ НФаУ за допомогою старшого наукового співробітника Ю. В. Лар'яновської.

Результати та їх обговорення. Після розтину проводили макроскопічні дослідження піхв піддослідних тварин. У тварин інтактного контролю стінка піхви була тонкою, слизова оболонка – блідо-сірувато-рожевого кольору з характерними повздовжніми складками. У тварин групи контрольної патоло-

гії на ділянці піхви в місці безпосереднього контакту з тампоном, просякненим розчином азотнокислого срібла, було наявне потовщення стінки, на поверхні слизової спостерігали нашарування темного кольору, тісно спаяне з підлеглою тканиною. У тварин, лікованих досліджуваними супозиторіями, зміни стану піхви носили обмежений характер. У групі тварин, яким застосовували супозиторії «Меланізол», тільки в одній самці зміни стінки піхви були на рівні позитивного контролю.

Як показала оглядова мікроскопія, у інтактних щурів структурна організація слизової піхви відповідала нормі. Епітелій, що вистеляє її, був багатшаровим, плеским. У ньому розрізняли базальний, проміжний та роговий шари. Клітини базального та проміжного шару щільно прилягали одна до одної. Зроговілий шар на поверхні епітеліального пласта місцями помірно відшаровувався. Власна пластинка слизової (строма) мала ознаки доволі щільної сполучної тканини. Межа її з епітелієм нерівна, у вигляді сосочків, вона вдавилася в епітелій. Ближче до м'язового шару вона переходила в підслизову оболонку, яка мала вигляд пухкої волокнистої тканини, містила лімфоцити, фіброласти, нечисленні кровоносні судини. Підслизова оболонка безпосередньо переходила в м'язову оболонку.

На 6 день після інтравагінального введення 10 % розчину азотнокислого срібла в піхві всіх щурів цієї групи виявлено патологічні зміни. Стінка піхви значно потовщена, некротизована, на поверхні її видна темна плівка. У більшості тварин некроз зачіпав слизову, підслизову та м'язову оболонки, іноді обмежувався слизовою. При цьому підслизова оболонка була значно розширена, з виразною гострою запальною реакцією, паралітичним розширенням кровоносних судин, тромбозом, припиненням току крові в них. По краях полів некрозу, а доволі часто й на відстані від нього, епітелій розростався, потовщувався, у ньому в проміжному шарі видно збільшення кількості рядів шипуватих клітин, епідермальні вирости подовжені, гли-

боко проникали в строму (акантоз). Клітини базального та проміжного шару часто втрачали тісний зв'язок між собою, внаслідок чого між ними з'являлися щілини (акантоліз), у поверхневих відділах епітелію видно ознаки дискератозу – частина клітин приймала шароподібну форму, втрачаючи зв'язок між собою, перетворювалася в так звані круглі тіла (рис. 1). Колагенова строма – набрякла, часто з ознаками запалення.

Плацебо вагінальних супозиторіїв практично не чинив лікувальний ефект на стан слизової піхви після опіку. У 85,7 % тварин виявлено поширений як

за глибиною, так і за довжиною некроз, спостерігалася виразна щільна темна плівка на поверхні.

Після лікування вагінальними супозиторіями «Меланізол» у 43 % самок структурна організація слизової повністю збережена по всій дослідженій довжині піхви. Епітеліальний покрив слизової подекуди розширений, іноді з акантозними розростаннями, явищами дискератозу. У стромі видно ознаки запальної реакції (рис. 2).

Ще в 43 % тварин знайдені ділянки пошкодження слизової, але, на відміну від контрольної патології, вони значно менші за розміром. Некроз розповсю-

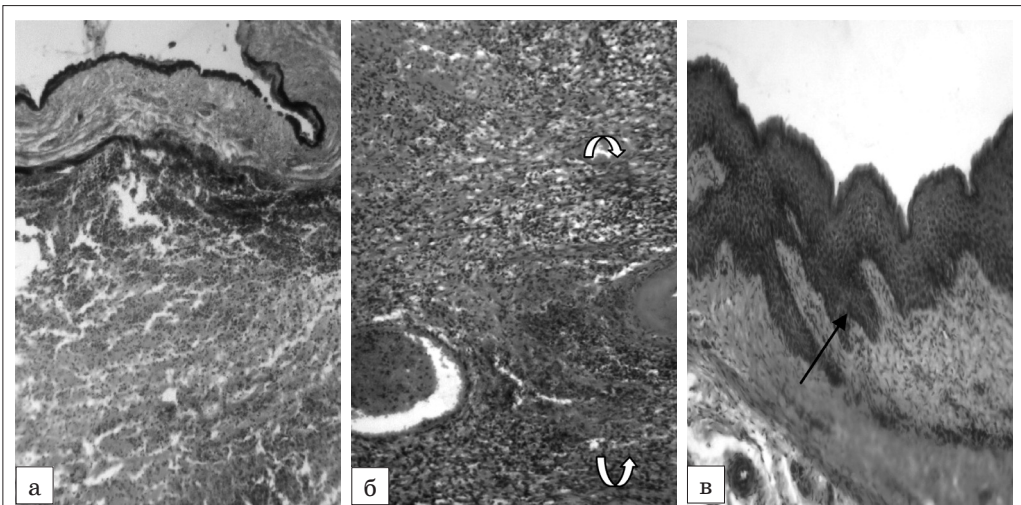


Рис. 1. Піхва щура після введення азотнокислого срібла: а – некроз усіх шарів стінки, на поверхні плівка з пігментом; б – підслизова (між скобками) з запальною реакцією, тромбозом кровоносних судин; в – акантоз епітелію (стрілка). Гематоксилін-еозин. $\times 100$.

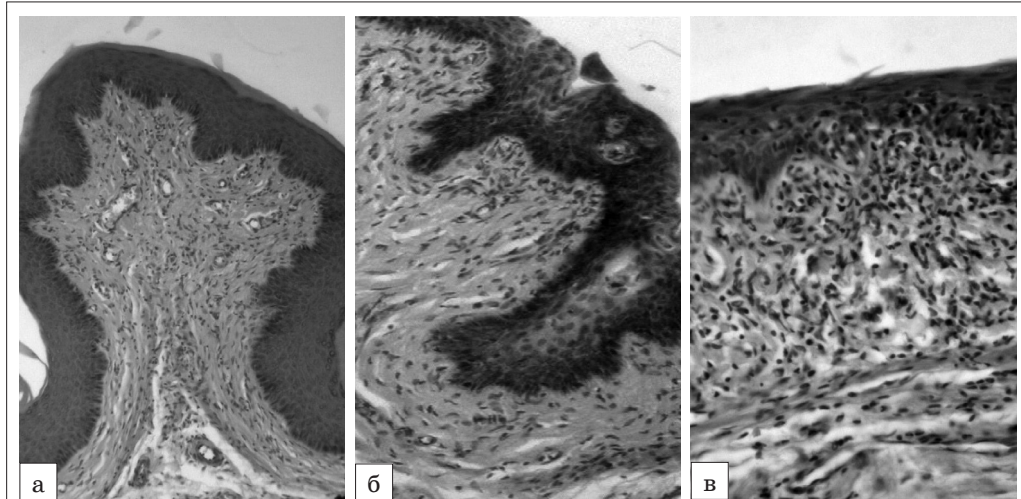


Рис. 2. Піхва щура після лікування супозиторіями «Меланізол»: а – слизова не ушкоджена ($\times 100$); б – помірний акантоз, дискератоз у епітелії ($\times 100$); в – помірна запальна реакція в стромі ($\times 200$). Гематоксилін-еозин.

джувався тільки на епітелій та безпосередньо прилеглі до нього ділянки стромы слизової, змін у м'язовому шарі піхви не спостерігалось. Внутрішні шари слизової та підслизова оболонка заміщені незрілою грануляційною тканиною. Епітелій поза ділянками пошкодження місцями розширений, з ознаками дискератозу, у стромі – ознаки вогнищевої запальної реакції (рис. 3). У однієї самки цієї групи стан слизової піхви був на рівні контрольної патології.

Лікування експериментального вагініту препаратом «Супозиторії з олією обліпихи» (препарат порівняння) запобігало некрозу слизової в 66,6 % самок. Стан епітеліального покриву та стромы слизової оболонки піхви однієї з них відповідав нормі. У решти спостерігали різні за виразністю акантозні розрос-

тання покривного епітелію, ознаки акантолізу та дискератозу, запальну реакцію в слизовій, набухання колагенової стромы (рис. 4), зміни в м'язовому шарі піхви не спостерігали.

На досліджуваних зразках було видно різні за розміром ділянки некрозу слизової, які розповсюджувалися на різну її глибину. Зверху ці ділянки були прикриті аналогічно контрольній патології темною плівкою. Спостерігали ріст епітелію під некротизованим та відшарованим шаром (рис. 5). Поза місцями пошкодження слизова мала ознаки запалення, епітелій потовщено, іноді з явищами акантозу, дискератозу.

Після аналогічного за схемою лікування вагініту, спричиненого азотно-кислим сріблом, препаратом порівняння вагінальними супозиторіями «Граватін»



Рис. 3. Піхва щура після лікування вагінальними супозиторіями «Меланізол»: а – невелика ділянка пошкодження поверхневих відділів слизової, незріла грануляція (гн) у внутрішніх відділах слизової; б – розростання епітелію, помірна запальна реакція в стромі поза ділянкою пошкодження. Гематоксилін-еозин. $\times 100$.

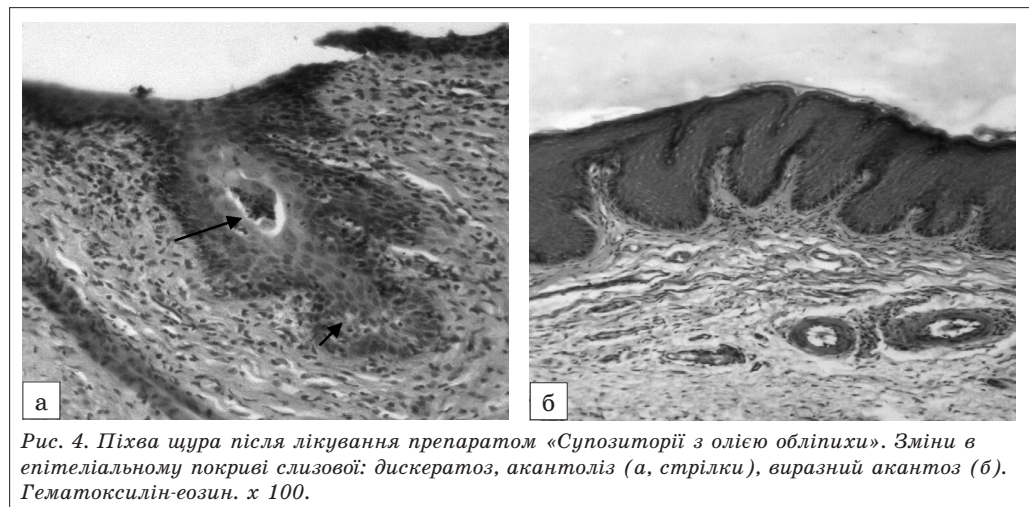


Рис. 4. Піхва щура після лікування препаратом «Супозиторії з олією обліпихи». Зміни в епітеліальному покриві слизової: дискератоз, акантоліз (а, стрілки), виразний акантоз (б). Гематоксилін-еозин. $\times 100$.

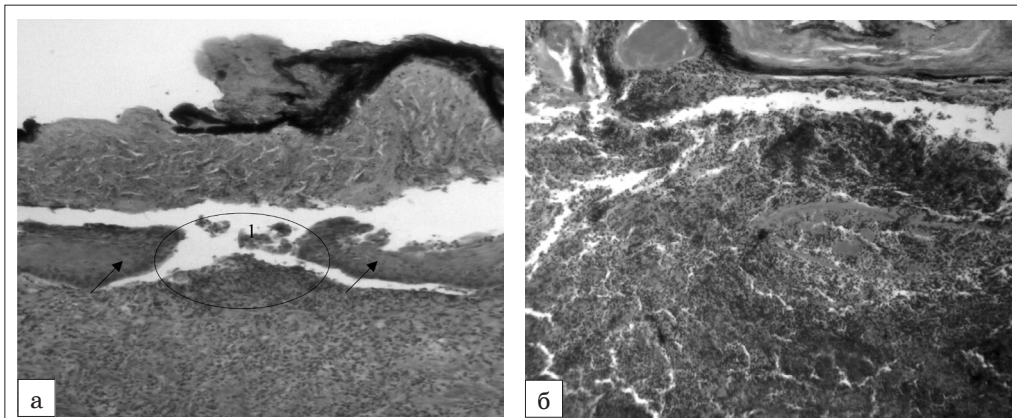


Рис. 5. Піхва щура після лікування препаратом «Супозиторії з олією обліпихи». Різні за розміром ділянки пошкодження слизової: а – мікротравма (овал), ріст епітелію (стрілки) під некротизованим шаром (1); б – поширене пошкодження під темною плівкою. Гематоксилін-еозин. $\times 100$.

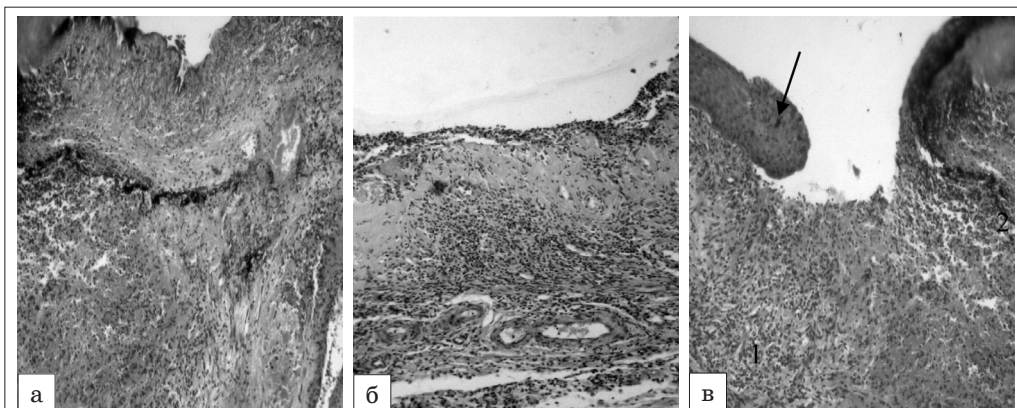


Рис. 6. Піхва щура після лікування вагінальними супозиторіями «Гравагін»: а – обширний дефект стінки; б – ерозивне пошкодження слизової; в – незріла грануляційна тканина (1) під потовщеним епітелієм (стрілка) з краю дефекту. Гематоксилін-еозин. $\times 100$.

пошкодження знайдені в усіх самок, хоча порівняно з контрольною патологією, виразність некротичного ураження слизової піхви щурів зменшилася. Крім того, було видно ознаки репарації. У поодиноких випадках пошкоджені ділянки мали вигляд ерозій, не вкритих плівкою (рис. 6). Епітелій по краях некрозу та іноді поза зонами його був потовщений, мав ознаки дискератозу.

Таким чином, отримані результати свідчать про доцільність подальшого поглибленого вивчення супозиторів «Меланізол» як перспективного лікарського засобу для лікування некротично-запальних пошкоджень піхви.

Висновки

1. Интравагінальне введення 10 % розчину азотнокислого срібла викликало в піхві щурів на 6 день досліджу

масивне некротичне ураження, яке розповсюджувалося не тільки на слизову, а й на підслизову та м'язову оболонки, набряк та запалення строми слизової, розростання, акантоз, акантоліз та дискератоз у піхвовому епітелії.

2. За умов експериментального вагініту супозиторії «Меланізол» чинили лікувальний ефект, перешкоджаючи некротично-запальному пошкодженню слизової та підслизової оболонок піхви щурів, підсилюючи репаративні прояви. За лікувальною ефективністю вагінальні супозиторії «Меланізол» перевершували препарат порівняння – супозиторії «Гравагін».

3. Препарат порівняння «Супозиторії з олією обліпихи» випереджав за репаративною дією досліджуваний препарат – вагінальні супозиторії «Меланізол», але дещо поступався йому за протизапальною дією.

1. Ботоева Е. А. Экспериментальная фармакотерапия повреждений матки и ее придатков растительными средствами [Текст]: дисс. доктора медицинских наук / Е. А. Ботоева. – Улан-Удэ, 2014. – 271 с.
2. Жуковская И. Г. Клиническая и социальная эффективность комплексной терапии пациенток с хроническими цервицитами [Текст] / И. Г. Жуковская, Л. Ф. Молчанова // Заместитель главного врача. – 2010. – № 4 (47). – С. 28–35.
3. Сухих Т. Г. Механизмы иммунной защиты при острых и хронических заболеваниях репродуктивной системы [Текст] / Г. Т. Сухих, Л. В. Ванько // Акушерство и гинекология. – 2006. – № 1 (прил.). – С. 17–24.
4. First indication of a possible impact on cervical abnormalities following a national HPV vaccination program, in Victoria, Australia / J. M. L. Brotherton, M. Fridman, M. Saville, D. Gertig // Conference «HPV 2010», Montreal, July 2-8 2010: Conference abstract 508. – Canada, Montreal. – Available at: http://hvp2010.org/main/index.php?option=com_conference&view=presentation&id=1746&conference=1&Itemid=103.
5. Современные представления и основные принципы лечения неспецифического вагинита [Текст] / Тютюнник В. Л., Михайлова О. И., Карапетян Т. Э., Меджидова М. К. // РМЖ: Акушерство и гинекология. – 2012. – № 1. – С. 24–27.
6. Bevan C. D. Efficacy and safety of azithromycin as monotherapy or combined with metronidazole compared with two standard multidrug regimens for the treatment of acute pelvic inflammatory disease / C. D. Bevan, G. L. Ridway, C. D. Rothermel // J. Int. Med. Res. – 2003. – P. 45–54.
7. Буданов П. В. Смешанные вульвовагинальные инфекции – проблемы терапии и экстренной профилактики [Текст] / П. В. Буданов // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2006. – Т. 5, № 2. – [Электрон. ресурс]. – Режим доступа: <http://medi.ru/doc/g240812.htm>.
8. Патент 96646 України на винахід, МПК А 61 К 9/02, А 61 К 31/4164, А 61 К 36/61, А 61 Р 15/00. Протизапальний засіб у формі песаріїв з метронідазолом і олією чайного дерева / Ярних Т. Г., Левачкова Ю. В., Малоштан Л. М., Степанова К. О.; заявник та патентовласник Національний фармацевтичний університет. – № а 2010 01134; заявл. 04.02.2010; опубл. 25.11.2011, Бюл. № 22.
9. Патент 62115 України на корисну модель, МПК G 09 В 23/28, А 61 К 33/38. Спосіб моделювання асептичного запалення слизової оболонки піхви / Степанова К. О., Должикова О. В., Малоштан Л. М., Малоштан А. В.; заявник та патентовласник Національний фармацевтичний університет. – № u 2011 01356; заявл. 07.02.2011; опубл. 10.08.2011, Бюл. № 15.
10. Рыболовлев Ю. Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности [Текст] / Ю. Р. Рыболовлев, Р. С. Рыболовлев // Доклады АН СССР, 1979. – Т. 247, № 6. – С. 1513–1516.
11. Ноздрачев А. Д. Анатомия крысы / А. Д. Ноздрачев, Е. Л. Поляков // Под ред. акад. Ноздрачева А. Д. – С.-П. : Изд-во «Лань», 2001. – 464 с.
12. Попова Е. А. Изменчивость влагалищного и маточного эпителия крыс в нормальных условиях и под влиянием тестостерона [Текст] / Е. А. Попова // Архив патологии. – 1963. – № 8. – С. 48–57.
13. Меркулов Г. А. Курс патологогистологической техники / Г. А. Меркулов. – М. : Медицина, Ленингр. отд-ние, 1969. – 424 с.

О. В. Должикова, Л. М. Малоштан

Гістоморфологічні дослідження впливу нових супозиторіїв вагінальних «Меланізол» на стан піхви шурів на тлі експериментального вагініту

У статті представлені гістоморфологічні дослідження впливу супозиторіїв «Меланізол» у дозі 21 мг/кг на перебіг експериментального вагініту, викликаного азотнокислим сріблом у шурів.

Вагінальні супозиторії «Меланізол» на тлі патології чинили лікувальний ефект, перешкоджаючи некротично-запальному пошкодженню слизової та підслизової оболонок піхви шурів у більше ніж 40 % тварин. При цьому, під впливом вагінальних супозиторіїв «Меланізол» у пошкоджених ділянках слизової та в підслизовій оболонках посилювалися репаративні прояви, а стан слизової був наближений до норми. Препарат порівняння супозиторії «Гравагін» значно поступався вагінальним супозиторіям «Меланізол» за лікувальним ефектом. Препарат порівняння «Супозиторії з олією обліпихи» випереджав за антинекротичною дією супозиторії «Меланізол», але поступався йому за протизапальною дією.

Таким чином, отримані результати свідчать про доцільність подальшого поглибленого вивчення супозиторіїв «Меланізол» як перспективного лікарського засобу для лікування вагінітів.

Ключові слова: супозиторії вагінальні, метронідазол, олія чайного дерева, експериментальний вагініт

Е. В. Должикова, Л. Н. Малоштан

Гистоморфологические исследования влияния новых суппозиториев вагинальных «Меланизол» на состояние влагалища крыс на фоне экспериментального вагинита

В статье представлены гистоморфологические исследования влияния суппозиториев «Меланизол» в дозе 21 мг/кг на течение экспериментального вагинита, вызванного азотнокислым серебром у крыс.

Вагинальные суппозитории «Меланизол» на фоне патологии оказывали лечебный эффект, препятствуя некротически-воспалительным повреждениям слизистой и подслизистой оболочек влагалища крыс у более чем 40 % животных. При этом под влиянием вагинальных суппозиториев «Меланизол» в поврежденных участках слизистой и в подслизистой оболочках усиливались репаративные процессы, а состояние слизистой приближалось к норме. Препарат сравнения суппозитории «Гравагин» значительно уступал суппозиторием «Меланизол» по лечебному эффекту. Препарат сравнения «Свечи с маслом облепихи» опережал по репаративному действию суппозитории «Меланизол», но уступал им по противовоспалительному эффекту.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о целесообразности дальнейшего углубленного изучения суппозиториев «Меланизол» в качестве перспективного лекарственного средства для лечения вагинитов.

Ключевые слова: суппозитории вагинальные, метронидазол, масло чайного дерева, экспериментальный вагинит

О. V. Dolzhykova, L. M. Maloshtan

Histomorphological study of effect of new vaginal suppositories «Melanizol» on the rat's vagina under experimental vaginitis

The article presents the histomorphological study of the effect of suppositories «Melanizol» at a dose of 21 mg/kg on experimental vaginitis caused by silver nitrate in rats.

Vaginal suppositories «Melanizol» cause a therapeutic effect by inhibiting necrotic-inflammatory lesions of the mucosa and submucosa of the rats vagina in more than 40 % of the animals. Under the influence of vaginal suppositories «Melanizol» in the damaged areas of the mucosa and submucosa reparative manifestations increase and mucosa approximates to the norm. Reference suppositories «Gravagin» significantly were worse than suppositories «Melanizol» in therapeutic effect. Reference «Suppositories with Oleum Hippophaeae» were better than suppositories «Melanizol» in reparative action but were worse to them in the anti-inflammatory effect. Thus, the reference drug «Suppositories with Oleum Hippophaeae» was at the level of the vaginal suppositories «Melanizol» in therapeutic effects on the condition of the vaginal mucosa.

Thus, the results of experiments indicate reasonability of the further study of suppositories «Melanizol» as a perspective drug for the treatment of vaginitis.

Key words: vaginal suppositories, metronidazole, tea tree oil, experimental vaginitis

Надійшла: 24.09.2014 р.

Контактна особа: Должикова О. В., канд. фарм. наук, кафедра фізіології та анатомії людини, Національний фармацевтичний університет, буд. 12, вул. Мельникова, м. Харків, 61002.
Тел.: +38 0 57 706 30 73.