

Действие стоматологического средства «Витар» на перекисное окисление слюны и структуру десны крыс при моделировании пародонтита

Субанова А. А.¹, Белов Г. В.²

¹Субанова Азира Азисовна / Subanova Azira Azisovna - заведующая кафедрой,
кафедра стоматологии,

Азиатский медицинский институт им. С. Тенгишева, г. Кант;

²Белов Георгий Васильевич / Belov Georgiy Vasil'evich – доктор медицинских наук, профессор,
кафедра морфологических дисциплин, международный медицинский факультет,
Ошский государственный институт, г. Ош, Кыргызская Республика

Аннотация: авторы разработали новое лечебно-профилактическое средство «Витар» для полоскания полости рта при заболеваниях пародонта. Цель исследования - доклинические испытания средства на белых беспородных крысах с моделированием хронического пародонтита. Результаты свидетельствуют об отсутствии у него аллергизирующих, токсических, раздражающих свойств и доказывают наличие противовоспалительных, антиоксидантных, регенераторных и капилляроукрепляющих свойств.

Ключевые слова: пародонтит, доклинические испытания, стоматологическое средство «Витар».

Пародонтит является большой проблемой в терапевтической стоматологии, приводящей к потере зубов и снижению качества жизни человека [2, 8]. В пожилом и старческом возрасте пародонтитом болеет более половины населения [11]. В патогенезе пародонтита важную роль отводят активации перекисного окисления липидов (ПОЛ), как системно, так и местно в слюне и тканях пародонта [2, 19, 20]. Патогенетическим лечением и профилактикой болезней пародонта стало использование антиоксидантов, при этом предпочтение отдается не синтетическим [8], а натуральным препаратам растительного происхождения – фитокомпозиатам [13, 15]. Ранее мы уже предлагали с этой целью эликсиры и масляные экстракты, разработанные на основе природных лечебных ресурсов Кыргызстана [1, 3, 10]. На данное время разработано новое лечебно-профилактическое средство «Витар», включающее этиловый спирт, шалфей, цветки ромашки, корни лопуха, семена черного винограда и зеленый чай [16].

В современной медицине фитотерапия и фитопрофилактика прочно внедряются в медицинскую практику и являются актуальным направлением. Главным преимуществом лекарственных препаратов на основе растительного сырья является малая токсичность и возможность их длительного применения без существенных побочных явлений. Эффективное лечебное действие препаратов на основе растительного сырья оказывает в составе поддерживающей и курсовой терапии, а также при первичной и вторичной профилактике многих заболеваний.

Цель настоящей работы - провести доклиническую апробацию предлагаемого лечебно-профилактического средства «Витар».

Материал и методы Работа выполнена на 56 белых беспородных интактных крысах-самцах с массой 240-250 г., животные содержались в стандартных условиях вивария с обеспечением надлежащего ухода с учетом особенностей их экологии, на обычном пищевом рационе.

Исследования проведены в соответствии с существующими руководствами по экспериментальному исследованию новых препаратов для исключения их аллергизирующих, токсических, раздражающих свойств [14], в том числе принятых в экспериментальной стоматологии [7].

На время проведения доклинических испытаний животные находились под ежедневным наблюдением. Отмечалось потребление корма и воды, состояние волосяного покрова, слизистых оболочек полости рта и поведение.

Один раз в неделю животные взвешивались, часть из каждой группы отобрана для патоморфологических и гистологических исследований.

Существуют различные способы экспериментального моделирования хронического пародонтита. Данилова И. Г. [9] предлагает многократные в течение двух недель впрыскивания в ротовую полость взвеси патогенных для пародонта бактерий. Николаева А. В. и соавторы [12], Schneider S. A. [20] предлагают инъекции ферментов в перидонтальное пространство, в частности гиалуронидазы. Chumakova Y. [18] считает лучшей экспериментальной моделью пародонтита наложение на две недели лигатуры на нижние резцы. Данная методика использована при моделировании хронической формы пародонтита. После введения лигатур животные были переведены на более размягченную пищу, чтобы в минимальные сроки получить клинику хронического пародонтита.

Животные были распределены на 7 экспериментальных групп по 8 животных. Группе интактных животных (группа № 1) никаких воздействий не проводили. Тридцати двум крысам накладывали лигатуры на передние резцы. Из них 8 животных с лигатурами на нижних резцах исследовали на вторые сутки (группа № 2), 8 животных - на 14 сутки (группа № 3), еще 8 животных исследовали на 10 сутки

после снятия лигатуры (контрольная группа № 4). Основную группу (№ 5) составили 8 крыс, которым спустя 14 дней снимали лигатуру и ежедневно в течение 10 дней смазывали десны раствором «Витара», разбавленным физиологическим раствором в 4 раза. В группе сравнения (№ 6) крысам смазывали десны раствором «Витара» без наложения лигатур.

Целью токсикологических исследований было определение степени повреждающего действия средства при его длительном применении, выявление наиболее чувствительных органов и систем, хотя средство предназначено для полоскания слизистой оболочки полости рта и попадание в ЖКТ является минимальным (№ 7 гр.). С помощью шприца и защищенной инъекционной иглы в желудок экспериментальных животных, вводилось разбавленное в 4 раза дистиллированной водой средство в количестве 1.5 мл в течение 10 дней.

Для токсикологических исследований были отобраны здоровые животные, прошедшие карантин не менее 15 дней.

Наркотизация животных проводилась гексаналовым наркозом. Исследованы биохимические показатели, патоморфологические и гистологические исследования. Ротовую полость промывали 2 мл физиологического раствора. Промывные воды центрифугировали. Осадок исследовали цитологически.

1 мл надосадочной жидкости смешивали с 10 мл гептан-изопропаноловой смеси и исследовали спектрофотометрически при длине волны на длинах волны 232 нм и 273 нм, определяя оптическую плотность соответственно общих липидов и гидроперекисей в условных единицах (ед. опт. плотн.). Окислительный индекс (ОИ) рассчитывали по отношению конъюгированных гидроперекисей к количеству общих липидов.

Ткани десны и внутренних органов фиксировали в формалине и готовили парафиновые срезы, окрашиваемые гематоксилином и эозином.

Результаты исследования

Через сутки после наложения лигатур значительных макроскопических изменений десен не наблюдалось. Микроскопически на поверхности эпителия десны обнаруживались тонкие пленки фибрина, под эпителием единичные кровоизлияния (рис. 1а).

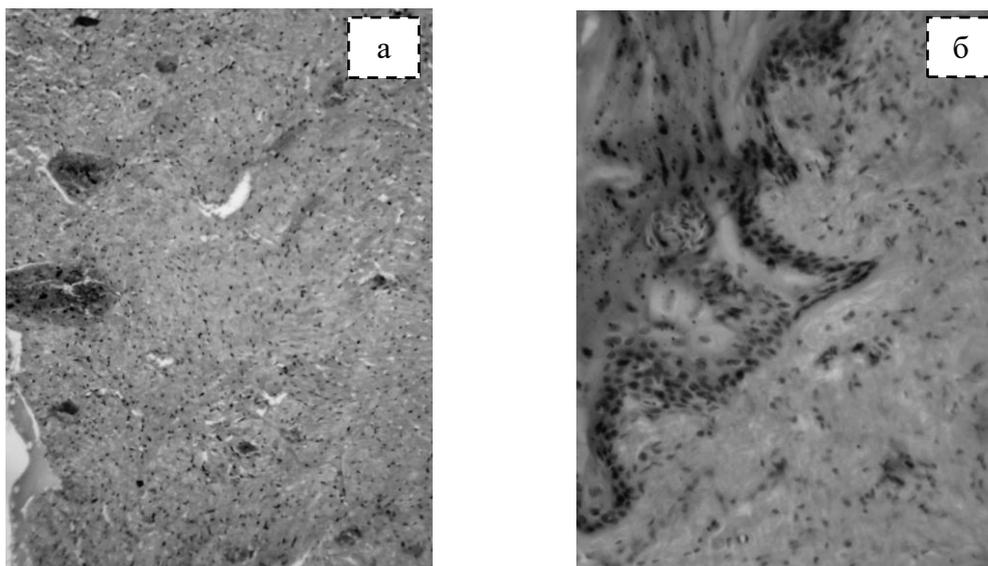


Рис. 1. (а) Точечные кровоизлияния под эпителием на первые сутки после наложения лигатур; (б) Дистрофия и гиперплазия плоскоклеточного неороговевающего эпителия десны на 14 сутки. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение: а – 56 х, б – 80

Спустя 14 суток пришеечный эпителий выглядел гиперемированным, тусклым. Микроскопически слои многослойного плоского эпителия были неравномерной толщины, с выростами вглубь мягких тканей десны, в образовавшихся карманах эпителий дистрофичный, с образованием тканевого детрита (рис. 1б). Бактериоскопически обнаруживаются кокки и палочки. Подчелюстные лимфоузлы увеличены в размерах, со стертой границей между Т и В зонами (рис. 2а).

Крысы с лигатурами на резцах набрали меньший вес, чем в группе сравнения.

Выявленные структурные изменения десен после снятия лигатур уменьшались, но не исчезали полностью. В основной опытной группе с применением стоматологического средства «Витар» эпителий десен полностью нормализовался за 10 дней.

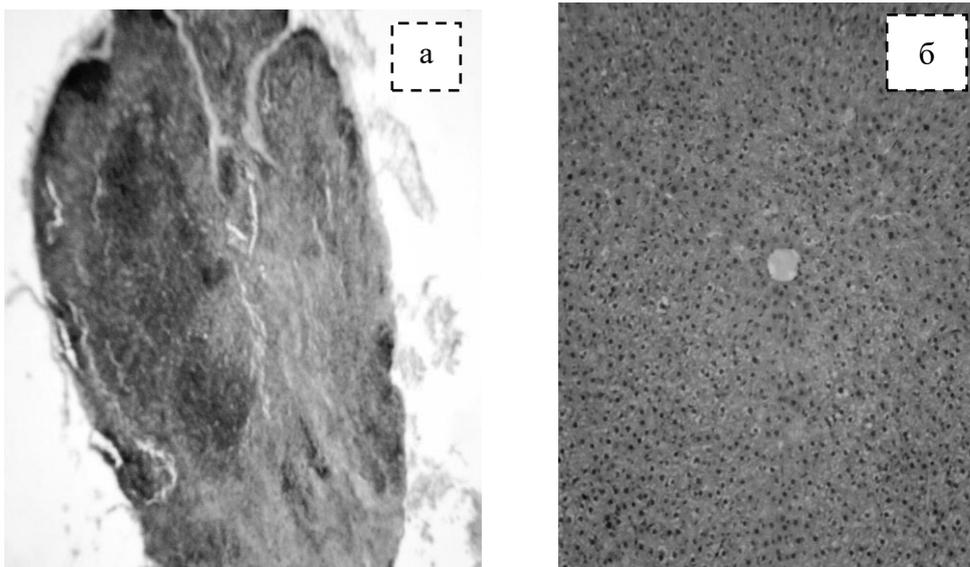


Рис. 2. (а) Гиперплазия подчелюстного лимфатического узла со стертой структурой долек и зон на 14 день после наложения лигатуры;

(б) Печень нормальной структуры при десятидневном внутреннем употреблении раствора «Витар». Окраска гематоксилином и эозином, увеличение: а –56 х.

Аллергической реакции на разработанное средство «Витар» не отмечено, эозинофилии при курсовом приеме препарата внутрь и смазывании десен не выявлены. Также не выявлены изменения структуры печени, что свидетельствует об отсутствии токсического действия препарата.

Биохимическое исследование показало повышение гидроперекисей и ОИ на 1 и 14 сутки моделирования пародонтита.

Таблица 1. Показатели перекисного окисления липидов при моделировании пародонтита

Группы	Общие липиды (ед. опт. плотн.)	Гидроперекиси (ед. опт. плотн.)	Окислительный индекс
№ 1 интактные	1,21±0,03	0,83±0,03	0,69±0,02
№ 2 лигатура 2 сутки	1,22±0,03	1,13±0,03	0,93±0,03
№ 3 лигатура 14 суток	0,95±0,03	1,18±0,03	1,24±0,03
№ 4 контр. лигатура 10 сутки	1,07±0,04	0,85±0,03	0,80±0,04
№ 5 основн. 14 сутки, «Витар»	1,16±0,03	0,75±0,03	0,65±0,03
№ 6 «Витар» без налож. лигатур	1,29±0,04	0,72±0,02	0,56±0,02

Примечание: * показатель достоверности различия с 1 группой $p < 0,05$.

Заключение

Таким образом, проведенные доклинические испытания стоматологического средства «Витар» доказали отсутствие у него аллергизирующих, токсических, раздражающих свойств.

С другой стороны установлено, что он оказывает антиоксидантное действие, обусловленное разными биокомпонентами (флавоноиды, антоцианы, каротиноиды, токоферолы, оксикарбоновые и фенолкарбоновые кислоты и др.), а также обладает противовоспалительным, регенеративным, иммуностимулирующим и, что особенно важно, капилляроукрепляющим эффектом – способности восстанавливать микроциркуляцию крови, одну из главных причин возникновения заболеваний пародонта.

Лечебно-профилактическое средство «Витар» обладают высокой эффективностью, его можно применять довольно продолжительное время, не опасаясь нарушить баланс микрофлоры полости рта, не имеет побочных эффектов за исключением очень редких случаев аллергических реакций и индивидуальной непереносимости составных частей лекарственных средств.

Литература

1. *Алымкулов Д. А., Зотов Е. П., Белов Г. В., Абасканова П.* Зубной эликсир «Фломираль»: Патент Кыргызской Республики № 225. Бюл. № 2, 1998.
2. *Барер Г. М.* Терапевтическая стоматология. Болезни пародонта. Часть 2. Москва, 2009. 205 с.
3. *Белов Г. В., Зотов Е. П., Сабурова Л. Б.* Средство для лечения пародонтита «Кирславин»: Патент КР № 345. Бюл. № 4, 2000.
4. *Бутюгин И. А.* Состояние системы перекисное окисление липидов - антиоксидантная защита в смешанной слюне у больных хроническим генерализованным пародонтитом / Бутюгин И. А., Волчегорский И. А. //клиническая лабораторная диагностика, 2014. № 2. 44-47.
5. *Васильева Л. С.* Эффекты местного применения анксиолитика в комплексном лечении экспериментального пародонтита / Васильева Л. С., Молоков В. Д., Иванова Н. И., Иванов К. Б. // Сибирский медицинский журнал (Иркутск), 2014. Т. 126. № 3. 55-58.
6. *Волчегорский И. А., Корнилова Н. В., Бутюгин И. А.* Сравнительный анализ состояния системы «перекисное окисление липидов - антиоксидантная защита» в слюне больных хроническим пародонтитом легкой и средней степени тяжести. Стоматология, 2010. 6: 24-7.
7. *Воскресенский О. Н.* Доклиническое изучение средств профилактики и лечения пародонтита (пародонтопротекторов) / Воскресенский О. Н. -К.: Авиценна, 2002. 16 с.
8. *Орехова Л. Ю.* Заболевание пародонта. Москва, 2004. 246, 285, 401 с.
9. *Данилова И. Г.* Состояние иммунной системы и эндогенная интоксикация при экспериментальном пародонтите / Данилова И. Г., Гетте И. Ф., Абидов М. Т., Кисельникова Л. П., Юшков Б. Г., Шарапова Н. Е., Госьков И. А. // Сибирское медицинское обозрение, 2007. № 3 (44). 29-33.
10. *Зотов Е. П., Белов Г. В., Алымкулов Д. А., Сабурова Л. Б.* Средство для ухода за полостью рта и зубами «Аплидонт»: Патент КР № 224. Бюл. № 2, 1998.
11. *Иорданишвили А. К., Тихонов А. В., Арьев А. Л., Солдатов С. В.* «Возрастная» эпидемиология заболеваний пародонта // Пародонтология, 2010. 1: 8-25.
12. *Николаева А. В.* Разработка экспериментальной модели пародонтита с помощью гиалуронидазы / Николаева А. В., Шнайдер С. А., Ткаченко Е. К. // Вестник стоматологии, 2014. № 4 (89). 5-8.
13. *Оправин А. С.* Исследование влияния препарата бурых водорослей на ткани пародонта в эксперименте / Оправин А. С., Оправин С. А., Авилова Т. В., Дерягина Л. Е. // Экология человека, 2009. № 4. 52-55.
14. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Хабриев Р. У. Изд. Второе. Москва, 2005. 211-215 с.
15. *Симакова Т. Г., Пожарицкая М. М.* Применение антиоксидантов в лечении заболеваний пародонта (обзор). Институт стоматологии, 2007. 1: 105-9.
16. *Субанова А. А., Белов Г. В., Зотов Е. П., Сунатаева Т. У.* Стоматологическое средство «Витар» / Патент КР № 1796, 18.03.2015.
17. *Chumakova Y.* Clinical and biochemical analysis of ligature-induced periodontitis in rats / Chumakova Y, Vishnevskaya A, Kakabadze A, Karalashvili L, Kakabadze Z. // Georgian Med News, 2014 Oct. (235):63-9.
18. *Baltacioğlu E.* Lipid peroxidation levels and total oxidant/antioxidant status in serum and saliva from patients with chronic and aggressive periodontitis. Oxidative stress index: a new biomarker for periodontal disease? / Baltacioğlu E., Yuva P., Aydın G., Alver A., Kahraman C., Karabulut E., Akalın F. A. // J Periodontol, 2014 Oct. 85 (10):1432-41.
19. *Nibali L.* Periodontitis and redox status: a review / Nibali L., Donos N. // Curr Pharm Des, 2013. 19 (15):2687-97.
20. *Schneider S. A.* Experimental chronic periodontitis morphogenesis // Морфология, 2011. Т. V. № 1. 38-41.