

# Экспериментальное обоснование использования препаратов с антигипоксическим, антиоксидантным и детоксикантным действием при лечении эрозивно-язвенных поражений слизистой оболочки рта

Л.А. Дмитриева<sup>4</sup>, В.П. Туманов<sup>3</sup>, Н.А. Глыбина<sup>2</sup>, Т.А. Глыбина<sup>1</sup>, И.С. Бобр<sup>4</sup>

<sup>1</sup>ФГУ «Поликлиника №1» УД Президента РФ, <sup>2</sup>ФГУ «Поликлиника №2» УД Президента РФ,

<sup>3</sup>Российский государственный медицинский университет им. Н.И. Пирогова,

<sup>4</sup>Московский государственный медико-стоматологический университет

Проведено экспериментальное моделирование травматического повреждения слизистой оболочки (СО) путем нанесения химической травмы концентрированной щелочью. Развившиеся эрозивно-язвенные поражения (ЭЯП) СО изучали у всех 48 кроликов на 3, 7, 14 и 21-е сутки после нанесения травмы. С 2-х по 14-е сутки после травмы, применяли препараты ацизол у 24 кроликов и солкосерил – у 12 (12 кроликов – группа контроля). Гистологические препараты СО, выделенные из зоны ЭЯП, окрашивали гематоксилином и эозином, изучали на фотомикроскопе Mild-Leitz (Германия), а также на электронном трансмиссионном микроскопе Jeol-100X (Япония). Гистоморфологические исследования показали, что под действием солкосерила уменьшается спазм артериол, происходит рост новых коллатеральных сосудов, улучшается трофика и ускоряется регенерация поврежденных тканей. Препарат ацизол по сравнению с солкосерилом, способствует более быстрому уменьшению воспалительной клеточной инфильтрации и отека тканей, значительно ускоряет процессы регенерации ЭЯП СО, что сопровождается усиленным образованием ретикулярного коллагена при ускоренной пролиферацией фибробластов, отличающихся большой митотической активностью и продолжительностью жизни, медленным старением, что объясняет и более быструю реэпителизацию СО.

**Ключевые слова:** эрозивно-язвенные поражения, слизистая оболочка рта, электронная трансмиссионная микроскопия, фибробласты, солкосерил, ацизол.

An experimental simulation of traumatic injury of the mucous membrane (OM), by applying a chemical injury with concentrated alkali. Fully developed erosive and ulcerative lesions (EUD) of OM was studied in all 48 rabbits in the third, 7-th, 14-th and 21-th day after the injury. From 2 to 14 days after injury, have used drugs Acyzol in 24 rabbits and solkoseryl – at 12, (12 rabbits – control group). Histological preparations of OM, isolated from the zone EUD, stained with hematoxylin and eosin, and studied at photomicroscope Mild-Leitz (Germany), as well as the electronic transmission microscope Jeol-100X (Japan). Histomorphological studies have shown that under the influence of solkoseryl reduces spasms of arterioles, is the growth of new collateral blood vessels, improves trophic and accelerates regeneration of damaged tissues. Acyzol drug, compared with solkoserylom, promotes a more rapid reduction of inflammatory cell infiltration and tissue swelling, accelerates regeneration of EUD MM, which is accompanied by enhanced formation of reticular collagen in the accelerated proliferation of fibroblasts that are more mitotic activity and longevity, slow aging, which explains the faster reepitelization OM.

**Key words:** erosive-ulcerative lesions of the oral mucosa, Transmission electron microscopy, fibroblasts, solkoseryl, Acyzol.

Эрозивно-язвенные поражения (ЭЯП) слизистой оболочки (СО) полости рта проявляются деструктивными изменениями в эпителии и нижележащих тканях. Важной причиной их возникновения и развития является сбой в системе регуляции окислительно-восстановительных превращений и в первую очередь нарушение в соотношении анти-, прооксидантных и детоксикантных систем. При этом начальные этапы запуска окислительных свободнорадикальных процессов при различных патологических состояниях могут отличаться, но уже в последующем их направленность и интенсивность теряют свою специфичность и зависят от состояния и степени мобилизации антиоксидантной и детоксикантной защиты [1, 2, 5, 6, 8].

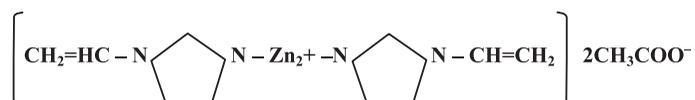
В последние годы в лечении заболеваний СО рта достигнуты значительные успехи, главным образом за счет включения в комплексную терапию современных препаратов, в том числе обладающих антиоксидантными и мембранопротекторными свойствами [1–3, 5, 6, 8]. Однако лечение заболеваний СО полости рта, сопровождающихся ЭЯП, до настоящего времени остается до конца не решенной проблемой [2, 3, 7, 10–12].

Цель настоящего исследования – экспериментальное обоснование использования нового антигипоксического, антиоксидантного и детоксикантного отечественного препарата ацизол при лечении эрозивно-язвенных заболеваний СО рта.

## Материалы и методы

Ацизол представляет собой комплексное цинкорганическое соединение.

Химическая структура ацизола (цинка бисвинилимидазола диацетата):



Ацизол применяется местно в виде 6% раствора в дистиллированной воде и полиэтиленгликолевого геля [4].

Экспериментальные исследования были проведены на 48 кроликах породы шиншилла в возрасте 1–2 лет и массой 3–5 кг. Всем кроликам под внутривенным наркозом было проведено моделирование травматического

повреждения СО путем 2–3-кратного нанесения химической травмы в области щеки концентрированной щелочью (15% раствор КОН). Экспозицию проводили до стойкого «побеления» СО, которое не проходило через сутки, с образованием ЭЯП.

Для наркоза был использован комбинированный препарат для общей анестезии у животных «Золетил 50» (Virbac Sante Animale, Франция). Его вводили внутривенно из расчета 3–5 мг/кг. Продолжительность наркоза составляла 15–30 мин, период восстановления – до 2 ч.

Все кролики были произвольно разделены на 4 равные группы по 12 особей.

*Животных 1-й (контрольной) группы* наблюдали в динамике и оценивали процесс регенерации СО без применения лекарственных препаратов.

*Во 2-й группе* на второй день после моделирования ЭЯП СО животным проводили лечение с применением полимерной пленки «Диплен-Дента С», содержащей солкосерил.

*В 3-й группе* на второй день после моделирования ЭЯП СО у животных применяли препарат ацизол, который фиксировали хирургической пленкой «Диплен-Дента» без лекарственного компонента.

*В 4-й группе* на второй день после моделирования ЭЯП СО у животных проводили лечение орошением СО с применением препарата ацизол в виде геля [4]. Аппликации проводили 3 раза в день в течение 14 сут до полного заживления ЭЯП СО.

Материал для морфологического исследования забирали у всех животных под эфирным наркозом на 3, 7, 14 и 21-е сутки после нанесения травмы. Подопытных и контрольных животных выводили из эксперимента введением высоких внутривенных доз 1% тиопентала натрия и путем воздушной эмболии.

Кусочки СО выделяли в области травмы на всю ее глубину с подлежащими тканями с помощью глазного скальпеля из зоны повреждения СО глубиной до кости и размерами, на 2–4 мм превышающими повреждение СО.

С помощью лезвия от каждого полученного препарата вырезали кусочек СО размером 3×3 мм и проводили обработку в растворе фосфатного буфера глутаральдегидом для последующей оптической и электронной микроскопии.

Препараты фиксировали в 10% нейтральном формалине и после общепринятой обработки заливали в парафин, затем по традиционной методике готовили гистологические препараты. Срезы толщиной около 7–8 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, которые изучали и фотографировали на фотомикроскопе Mild-Leitz (Германия).

### Результаты и обсуждение

*У животных 1-й (контрольной) группы* в неповрежденной (вдали от экспериментального дефекта) СО, выстилающей щеку, как и в СО губ, имелся довольно толстый многослойный плоский неороговевающий эпителий, который обычно встречается на влажных эпителиальных поверхностях, подвергается постоянному механическому воздействию и не участвует в процессах всасывания (рис. 1). Его поверхностные клетки постепенно стираются и замещаются нижележащими. Для этого, естественно, необходимо, чтобы клетки в глубоких слоях эпителия делились с такой же скоростью, с которой происходит

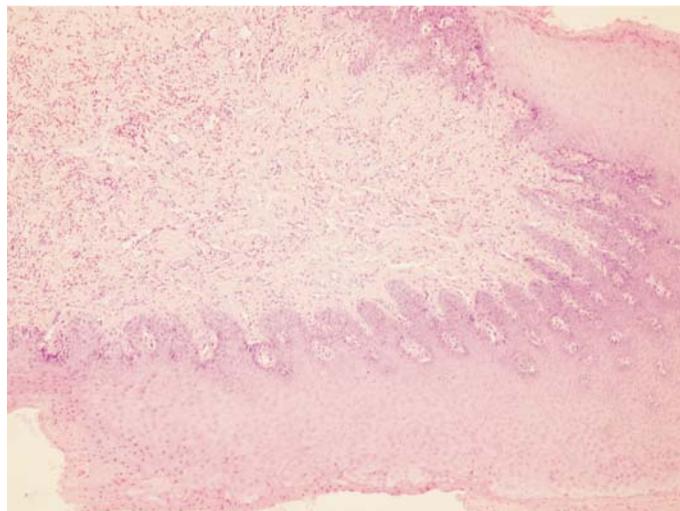


Рис. 1.

сдвигание. В плоских поверхностных клетках выявляется их сравнительно мелкое центрально расположенное ядро.

Собственная пластинка СО щеки состоит из сравнительно плотной фиброэластической ткани, которая вдаётся в эпителий в виде высоких сосочков. Наиболее глубокая ее часть переходит в слой, получивший название подслизистой основы. Этот слой содержит уплощенные эластические волокна и многочисленные кровеносные сосуды. Тяжи фиброэластической ткани из собственной пластинки СО проходят через подслизистую основу, содержащую эластические элементы и жировую ткань, и соединяются с фиброэластической тканью, связанной с мышцей, которая лежит глубже подслизистой основы и образует основную массу щеки. Эти тяжи через определенные интервалы прикрепляют СО к подлежащей мышце (рис. 2).

Во внутренней части щеки располагаются мелкие слизистые железы, некоторые из них – с белковыми секреторными полулуниями.

В месте нанесения патологического агента можно было наблюдать элементы ЭЯП СО: эрозии с деструктивными нарушениями целостности эпителия; афты округлой формы, покрытые белесоватым налетом и окруженные красным воспалительным ободком; язвы, отличающиеся от эрозий вовлечением в процесс всех слоев эпителия, включая собственную пластинку СО.

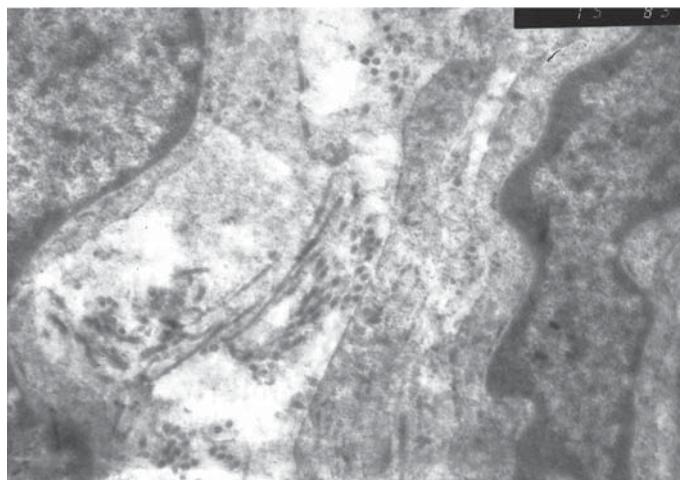
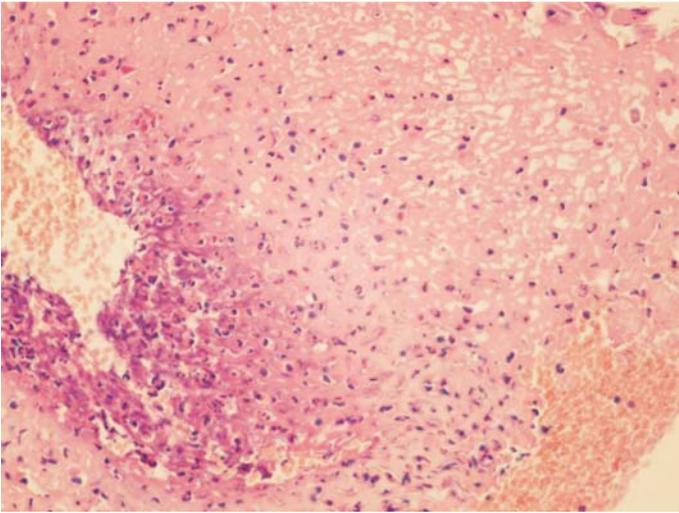


Рис. 2.



**Рис. 3.**

Для язв характерно наличие дна и стенок дефекта эпителия, с распространением его на разную глубину в подлежащие ткани.

Гистоморфологическая картина: на СО в месте контакта с травматическим фактором выявляются признаки воспаления в виде отека и гиперемии; нарушения целостности эпителия в виде эрозий и язв; лимфопролиферативные изменения в виде сосочковой гиперплазии и эозинофильной гранулемы.

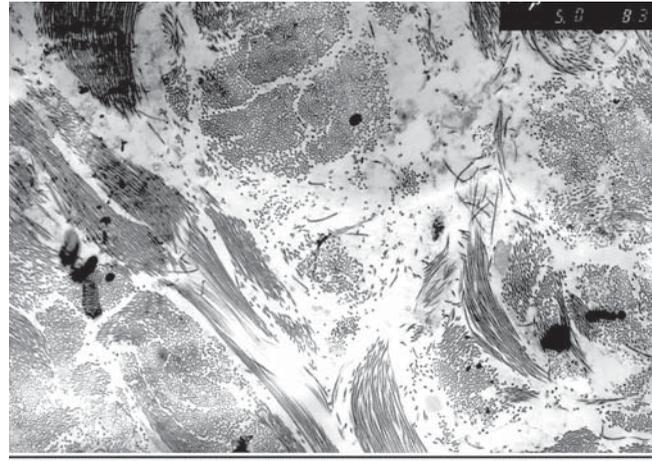
При исследовании было установлено, что в острой фазе воспаления (рис. 3) наибольшей альтерации подвергаются фибробласты, которые подвергаются трансформации и синтезируют недостаточное количество коллагена. Они часто вакуолизованы, имеют несформированную эндоплазматическую сеть и поврежденные клеточные мембраны.

В эпителиальном пласте наблюдаются нарушения в межклеточных соединениях — десмосомах (рис. 4), отмечается гипертрофия коллагеновых волокон, гиперплазия фибрилл, с одновременной деструкцией и разволокнением. Дегградация их происходит под действием ферментов нейтрофилов, макрофагов, разрушающих протеогликаны, которые непосредственно участвуют в процессах фибриллогенеза.

При тяжелой степени воспалении в эпителии возникают ЭЯП со скоплением клеточного детрита и колоний



**Рис. 4.**

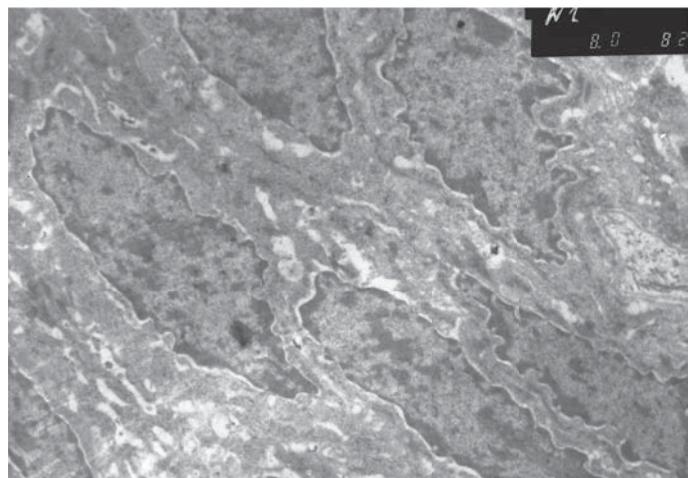


**Рис. 5.**

микробов. Резко выражены процессы акантоза и папилломатоза. Собственно СО разрыхлена, грануляционная ткань находится в разной степени зрелости. Отмечается тенденция к уменьшению общего числа клеток лимфоцитарного инфильтрата с перераспределением их состава. Сосуды резко полнокровны, извиты, с явлениями стаза.

*Животные 2-й группы* получали терапию с помощью пленки «Диплен-Дента С», содержащей солкосерил, который способствует усилению тканевой утилизации кислорода вследствие активизации ферментов сукцинатдегидрогеназы и цитохромоксидазы, нормализации содержания молочной и пировиноградной кислот, снижению в крови неэстерифицированных жирных кислот, увеличению синтеза коллагена (рис. 5), усилению пролиферации и миграции фибробластов (рис. 6). В условиях гипоксии и сниженного энергетического метаболизма солкосерил обеспечивает транспорт глюкозы, способствуя улучшению регенераторных и репаративных процессов. Солкосерил также обладает и мембраностабилизирующим свойством, уменьшает вторичные дегенеративные и патологические нарушения в поврежденных тканях. Под действием солкосерила уменьшается спазм артериол, происходит рост новых коллатеральных сосудов, улучшается трофика и ускоряется регенерации поврежденных тканей.

*Животные 3-й и 4-й группы* получали терапию ацизлом в различных его модификациях, и различия в пато-



**Рис. 6.**

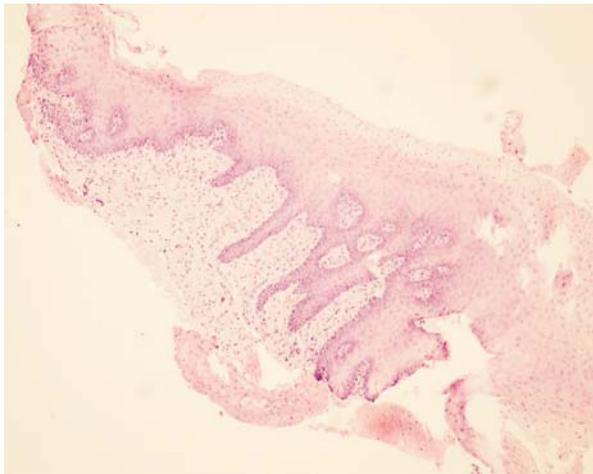


Рис. 7.

морфологической картине были незначительны. Поэтому описание структурных особенностей в плане регенераторного процесса приводится совместно.

Гистоморфологические исследования показали, что препарат ацизол способствует уменьшению воспалительной клеточной инфильтрации и отека тканей (рис. 7), что значительно ускоряет процессы регенерации СО рта, сопровождающиеся ЭЯП.

Для экспериментального обоснования применения ацизола в стоматологической практике было проведено сравнительное изучение его эффективности на модели ЭЯП СО у кроликов в сравнении с солкосерилом (в виде двухслойных адгезивных пленок «Диплен-дента С»), также оказывающим выраженное ранозаживляющее и мембраностабилизирующее действие.

Процессы регенерации СО сопровождались усиленным образованием коллагена фибробластами (рис. 8).

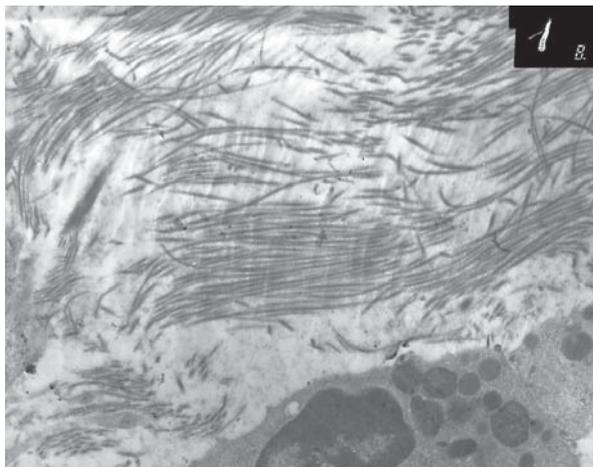


Рис. 8.

По нашему мнению, заживление повреждения тканей СО происходит при ускоренной пролиферации фибробластов, которые синтезируют соединительнотканые волокна, состоящие из тонкого ретикулярного коллагена и гиалуроновой кислоты. Резидентные фибробласты, участвующие в заживлении ЭЯП СО, отличаются от кожных большей митотической активностью

и продолжительностью жизни, медленнее стареют, что объясняет и более быструю реэпителизацию СО.

### Заключение

Таким образом, на основании сравнительного морфологического анализа экспериментальных групп и влияния ацизола на репаративные особенности СО полости рта при ЭЯП можно сделать вывод о положительном эффекте его действия. Этот факт базируется как на гистологическом, так и на субмикроскопическом уровнях. О стимуляции репаративного процесса ацизолом говорят факты снижения воспалительной реакции в СО (от очагов острого воспаления до продуктивной его фазы), появление гистиоцитарного ряда клеток и быстрой реэпителизации. Кроме того, электронно-микроскопическими исследованиями было четко доказано появление (на ранних сроках) пролиферирующих фибробластов, усиление коллагеногенеза и ангиогенеза в пограничной зоне дефекта СО в процессе полного заживления СО.

### Литература

1. Дмитриева Н.А., Дедеян В.Р. Клинико-экспериментальное обоснование применения антиоксидантов как средств патогенетической терапии в комплексном лечении хронического генерализованного пародонтита // *Стоматологический форум*. — 2003. — № 2. — С. 4–5.
  2. Дмитриева Л.А. и Максимовский Ю.М. *Терапевтическая стоматология: национальное руководство* / Под ред. Л.А. Дмитриевой и Ю.М. Максимовского // М.: «ГЕОТАР-МЕДИА». — 2009. — 912 с.
  3. Григорьян А.С., Грудянов А.И. Ключевые звенья патогенеза заболеваний пародонта в свете данных цитоморфометрического метода исследований // *Стоматология*. — 2001. — №1. — С. 5–8.
  4. Некрасов М.С., Бабаниязов Х.Х., Нечипоренко С.П., Бобр И.С. Средство для лечения заболеваний пародонта // *Патент РФ № 2301062 МПК / Бюл. «Изобретения, полезные модели»*, № 17, 2007.
  5. Просвинова Е.П. Клинико-экспериментальное обоснование применения антиоксидантов как средств патогенетической терапии в комплексном лечении хронического генерализованного пародонтита: Дис. ... канд. мед. наук. /Московский государственный медицинский стоматологический университет. — 2004. — 198 с.
  6. Терехина Н.А., Петрович Ю.А. *Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная система (теория, клиническое применение, методы)*. Изд-е 2-е., Пермь. 2005. — 60 с.
  7. Туманов В.П., Дмитриева Л.А. Десятилетний опыт использования культивированных клеток кожи для лечения термических ожогов // *Архив патологии*. — 1994. — № 4. — С. 5–9.
  8. Arikan S., Durusoy C., Akalin N. et al. Oxidant/antioxidant status in recurrent aphthous stomatitis // *Oral Dis*. — 2009. — Vol. 15, N 7. — P. 512–515.
  9. Juliano C. Preparation, in vitro characterization and preliminary in vivo evaluation of buccal polymeric films containing chlorhexidine // *AAPS Pharm. Sci. Tech*. 2008. — Vol. 9, N 4. — P. 1153–1158.
- И др. авторы.