

during metabolic syndrome reduced by 51.80%, and the content of oxidatively modified proteins decreased by 31.74% compared to the metabolic syndrome group.

The administration of ammonium pyrrolidinedithiocarbamate, an NF- κ B transcription factor activation inhibitor, effectively prevents the development of oxidative stress in the biceps femoris muscle of rats with modeled metabolic syndrome.

This study is a part of the initiative research project No. 0124U000092 "High- and low-intensity phenotypes of systemic inflammatory response: molecular mechanisms and new medical technologies for their prevention and correction".

DOI 10.31718/2077–1096.24.1.78

УДК.616.311.2-002-06:616.322-002.2:615.33:615.454.1

Бежук Ю.А., Мартвелос (Годована) О.І.

ВПЛИВ КОМБІНАЦІЇ СУБСТАНЦІЙ У ВИГЛЯДІ ГЕЛЕВОЇ КОМПОЗИЦІЇ НА ПОКАЗНИКИ ІМУНІТЕТУ І ЗАПАЛЕННЯ ТКАНИН ПІДНЕБІННИХ МИГДАЛИКІВ У ХВОРИХ НА КАТАРАЛЬНИЙ ГІНГІВІТ НА ТЛІ ХРОНІЧНОГО ТОНЗИЛІТУ

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

Дослідження фармакотерапевтичної (імуномодельючої) дії в умовах клітинних культур in vitro на сьогодні вважається доцільним і обґрунтованим для визначення дії лікарських засобів на доклінічному рівні. Також важливим є вирішення патогенетичності застосування таких засобів, особливо місцевої дії. В якості досліджуваного препарату був використаний багатокомпонентний гель на основі декаметоксину та гіалуронової кислоти для лікування хронічного катарального гінгівіту у хворих на хронічний тонзиліт. Мета роботи – визначення впливу гелевої композиції на основі декаметоксину та гіалуронової кислоти на тканину піднебінних мигдаликів у пацієнтів з хронічним тонзилітом на тлі хронічного катарального гінгівіту. Матеріали і методи. При дослідженні впливу основних активних компонентів, які входили до складу гелевої композиції, використовували рекомендації І.П. Кайдашева та співавторів при апробації фармакологічних препаратів в культурах in vitro. Тканина піднебінних мигдаликів була отримана від 20-ти пацієнтів з хронічним тонзилітом на тлі хронічного катарального гінгівіту, у яких, за показаннями, була проведена тонзилектомія. Роботу з отриманим матеріалом виконували відповідно до рекомендацій, прийнятих у лабораторії патофізіології та імунології Інституту отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка НАМН України. Тканину мигдаликів заливали середовищем 199 (Serva, Німеччина) з гентаміцином сульфатом (Дарниця, Україна) у концентрації 120 мкг/мл і залишали на 0,5 години при температурі 4-8° С на 20 хвилин. Після цього видаляли геморагічні частини з цілого мигдалика, переносили його в середовище Ігла (Sigma, USA) і промивали ополіскуючи 3-4 рази. Далі, підготовлений таким чином матеріал додавали до стерильних флаконів із збагаченням середовищем Ігла (+ L-глутамін, натрій бікарбонат, 100-кратний концентрат вітамінів, ембріональна сироватка теляти - 5%, 60 мкг/мл гентаміцину). Мигдалики розрізали ножицями і промивали середовищем, вимиваючи клітини. Процедуру повторювали декілька разів (5-7), після цього фільтрували через нейлон. Усі маніпуляції проводили у ламінарній шафі в потоці стерильного повітря. Підраховували кількість клітин за допомогою світлового мікроскопа (Олімпус-23, Японія) та камери Горяєва. Готували клітинну завись із розрахунку 2,5 млн лімфоцитів на 1 мл середовища. При відсотках синіх («мертвих») клітин >10%, клітини вважали непридатними для подальшої роботи. Результати дослідження. При дії основних складників запропонованої гелевої композиції (декаметоксину та гіалуронової кислоти) на in vitro клітини піднебінних мигдаликів пацієнтів з хронічним катаральним гінгівітом на тлі рекурентного тонзиліту, не визначено суттєвих змін у концентрації α і γ -інтерферонів. Під впливом гелевої композиції знижується вміст прозапальних чинників: інтерлейкіну-1 β та імунних комплексів. Розпрацьована гелева композиція стимулює продукування клітинами мигдаликів протимікробного чинника – антистрептолізину-О, стимулюючи продукцію антитіл проти антигенів гемолітичного стрептококу. Висновок. Досліджувана гелева композиція на основі декаметоксину та гіалуронової кислоти є ефективним протизапальним та антимікробним засобом, що стимулює продукування клітинами мигдаликів протимікробного чинника – антистрептолізину-О, таким чином стимулюючи продукцію антитіл проти антигенів гемолітичного стрептококу.

Ключові слова: пародонтальна гелева композиція, декаметоксин, гіалуронова кислота, гінгівіт, хронічний тонзиліт, культура клітин, інтерферони, інтерлейкіни, імунні комплекси, АСП-О.

Статтю підготовлено в межах теми науково-дослідної роботи кафедри терапевтичної стоматології, пародонтології та стоматології ФПДО ЛНМУ імені Данила Галицького «Порушення метаболізму та його вплив на розвиток поєднаної стоматологічної та соматичної патології», державний реєстраційний номер: 0120U002131, шифр: ІН.30.000.004.20.

Вступ

Локальна доставка лікарських засобів (ЛЗ) набуває усе ширшого застосування за рахунок

тривалої медикаментозної дії та більшої концентрації активних компонентів препарату в ділянці ушкодження. Це, у свою чергу, знижує дію мож-

ливих побічних ефектів у порівнянні із системним введенням ЛЗ. Фармацевтична активність ЛЗ при локальній доставці забезпечується значною капілярною сіткою слизової оболонки порожнини рота, оминаючи таким чином шлунково-кишковий тракт, що зумовлює високу біодоступність [1, 2]. Стратегія лікування катарального гінгівіту має включати не лише проведення професійної гігієни порожнини рота та зняття над'ясенних зубних відкладень, а також місцеве застосування засобів з антимікробною дією для уникнення подальшого розвитку пародонтиту. Концепція даного лікування може бути використана як у стоматологічній, так і в оториноларингологічній практиці, маючи вплив на піднебінні мигдалики при тонзилігенній патології [3, 4, 5].

ЛЗ, що призначений для місцевого застосування при хронічному катаральному гінгівіті, перебіг якого відбувається на тлі рекурентного тонзиліту має відповідати наступним вимогам: чинити протимікробну активність щодо пародонтопатогенних мікроорганізмів, а також при стрептококовій та стафілококовій інфекції, що потенціює виникнення захворювання піднебінних мигдаликів; мати протизапальну дію; виявляти регенеруючі властивості прискорюючи місцеву репарацію тканин; мати мукоадгезивні властивості, забезпечуючи максимальне зчеплення гелю зі слизовою оболонкою ясен та піднебінних мигдаликів і забезпечувати пролонгований ефект; утворювати захисний бар'єр, тим самим зменшуючи проникність капілярів; не мати побічних ефектів [6, 7]. Разом з тим, комплексна дія ЛЗ забезпечується комбінуванням декількох діючих речовин.

Щоб забезпечити вище описані вимоги, у розпрацюванні нового ЛЗ для місцевого лікування хронічного катарального гінгівіту на тлі рекурентного тонзиліту, нами було обрано два активні фармацевтичні компоненти – декаметоксин та гіалуронова кислота. У виборі лікарської форми надали перевагу гідрогелю, враховуючи гідрофільний характер слизової оболонки порожнини рота.

Таким чином, мета даного дослідження полягала у визначенні впливу гелевої композиції на основі декаметоксину та гіалуронової кислоти на тканину піднебінних мигдаликів у пацієнтів з хронічним тонзилітом на тлі хронічного катарального гінгівіту.

Матеріали і методи

При дослідженні впливу основних активних компонентів, які входили до складу гелевої композиції, використовували рекомендації І.П. Кайдашева та співавторів при апробації фармакологічних препаратів в культурах *in vitro* [8]. Тканина піднебінних мигдаликів була отримана від 20-ти пацієнтів з хронічним тонзилітом на тлі хронічного катарального гінгівіту, у яких, за показаннями, була проведена тонзилектомія.

Роботу з отриманим матеріалом виконували

відповідно до рекомендацій, прийнятих у лабораторії патофізіології та імунології Інституту отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка НАМН України. Тканину мигдаликів заливали середовищем 199 (Serva, Німеччина) з гентаміцином сульфатом (Дарниця, Україна) у концентрації 120 мкг/мл і залишали на 0,5 години при температурі 4-8⁰ С на 20 хвилин. Після цього видаляли геморагічні частини з цілого мигдалика, перенесли його в середовище Ігла (Sigma, USA) і промивали ополіскуючи 3-4 рази. Далі, підготовлений таким чином матеріал додавали до стерильних флаконів із збагаченим середовищем Ігла (+ L-глутамін, натрій бікарбонат, 100-кратний концентрат вітамінів, ембріональна сироватка теляти - 5%, 60 мкг/мл гентаміцину). Мигдалики розрізали ножицями і промивали середовищем, вимиваючи клітини. Процедура повторювали декілька разів (5-7), після цього фільтрували через нейлон. Усі маніпуляції проводили у ламінарній шафі в потоці стерильного повітря. Підраховували кількість клітин за допомогою світлового мікроскопу (Олімпус-23, Японія) та камери Горяєва. Готували клітинну завись із розрахунку 2,5 млн лімфоцитів на 1 мл середовища. При відсотках синіх («мертвих») клітин >10%, клітини вважали непридатними для подальшої роботи.

Для визначення впливу гелю на продукцію інтерферонів застосовували набори для визначення α - і γ -інтерферонів у культуральній рідині фірми Elabscience (США) та аналізатор Stat Fax 2100 (США). Для визначення впливу гелю на вміст імунних комплексів (ІК) користувались методом осадження білків та поліпептидів поліетиленгліколем з наступним вимірювання оптичної щільності, дотримуючись рекомендацій Ю.А. Гриневича та А.Н. Алфьорова [9]. Вміст АСЛ-О визначали із застосуванням за допомогою латекс-теста (Гранум, Україна). Контролем слугував медичний гліцерин у тій самій концентрації, що і базовий препарат гелю.

Дозвіл біоетики. Дослідження затверджені протоколом №9 комісії з питань етики наукових досліджень, експериментальних розробок і наукових творів Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького від 21.12.2020.

Методи статистичного аналізу. Статистичну обробку виконували за допомогою пакетів прикладних програм для медичної статистики WIN Perі. [10] Дані параметричних показників подавали як медіану (Me), мінімум – максимум, нижній – верхній квартилі. Порівняння окремих груп проводили за допомогою параметричного критерію різниці (тесту Ст'юдента та однобічного критерію «U» Вілкоксона) [11].

Результати та обговорення

Дані, що репрезентовані на рис 1, отримані у результаті визначення оптимальної концентрації запропонованої гелевої композиції на основі ДКМ® і ГК для *in vitro* досліджень. До клітинної

наважки мигдаликів додавали гель у концентраціях 25, 50 і 100 мкг на пробу, культивували 18 годин в умовах термостату (37°C), центрифугували при 110g 10 хв, збирали надосадкову рідину, розливали у пробірки типу Еппендорф по 0,5 мл та зберігали при мінус 20°C впродовж 3-х мі-

сяців. У результаті оптимальну концентрацію гелю визначали за впливом на продукування антистрептолізину-О (АСЛ-О), яку визначали в реакції нейтралізації. У подальших дослідженнях дотримувались концентрації 50 мкг на пробу.

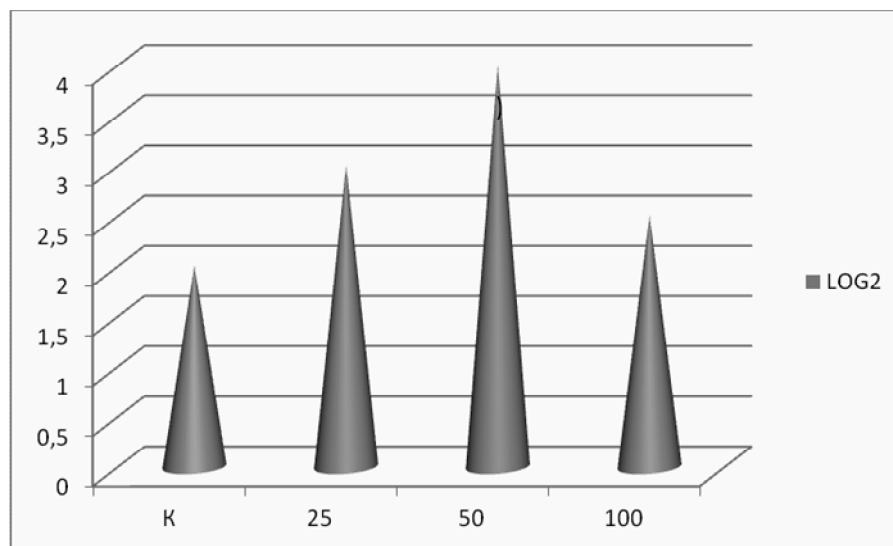


Рис. 1. Вміст АСЛ-О у культуральній рідині після контакту клітин мигдаликів із різними концентраціями гелевої композиції на основі ДКМ® і ГК.

Таблиця 1.
Вміст α -інтерферону
в культуральній рідині до та після дії гелю.

Показники	Вміст цитокіну, пг/мл	
	Вплив гелю	Контроль
M±m	85,9±26,1	55,0±7,4
Min-max	28-322	22-110
N	10	10
P	>0,05	-

Таблиця 2.
Вміст γ -інтерферону
в культуральній рідині до та після дії гелю.

Показники	Вміст цитокіну, пг/мл	
	Вплив гелю	Контроль
M±m	62,6±9,8	53,2±5,0
Min-max	12-120	25-79
N	10	10
P	>0,05	-

Таблиця 3.
Вміст інтерлейкіну 1 β
в культуральній рідині до та після дії гелю.

Показники	Вміст цитокіну, пг/мл	
	Вплив гелю	Контроль
M±m	7,6±1,15	13,7±1,2
Min-max	0,8-12	10-22
N	10	10
P	<0,02	-

Дані, що наведені в таблицях 1 і 2, свідчать про відсутність суттєвих змін в продукції інтерферонів α і γ в культурах клітин піднебінних мигдаликів *in vitro* при дії гелю.

Результати дослідження впливу гелю на продукцію клітинами мигдаликів прозапального цитокіну – інтерлейкіну-1 β із застосуванням імунофермент-

ного методу репрезентовані в таблиці 3.

Дані таблиці 3 вказують, що вплив розпрацьованого гелю у порівнянні з контролем (медичний гліцерин у тій самій концентрації, що і базовий препарат гелю) на продукцію прозапального цитокіну був позитивним (7,6±1,15 пг/мл проти 13,7±1,2 пг/мл). Дія розпрацьованого гелю виразно сприяє зменшенню запалення в тканинах.

При визначенні впливу гелю на вміст імунних комплексів встановлено, що додавання гелю в культуральну рідину суттєво зменшує у ній рівні імунних комплексів (5,9±1,6 проти 12,3±1,5 у контролі), (таблиця 4).

Таблиця 4
Визначення впливу гелю
на вміст імунних комплексів в супернатантах

Показники	Вміст ІК (один. оптич. щільності)	
	При дії гелю	Контроль
M±m	5,9±1,6	12,3±1,5
Min – max	0-10,5	0-22
N	10	10
P	<0,001	-

Таблиця 5.
Визначення впливу гелю на вміст в культуральній рідині
антистрептолізину-О

Показники	Вміст АСЛ-О (log ₂ титру антитіл)	
	Вплив гелю	Контроль
M±m	3,5±0,8	1,2±0,2
Min-max (титри)	1:2-1:256	0-1:4
N	10	10
P	<0,02	-

Результати дослідження вмісту антистрептолізину-О (АСЛ-О) в супернатантах після культивування гелю з клітинами мигдаликів наведено у таблиці 5.

Встановлено, що додавання розпрацьованого гелю до клітин піднебінних мигдаликів супроводжувалося підсиленням продукції ними антитіл проти гемолітичного стрептококу майже у три рази ($3,5 \pm 0,8$ проти $1,2 \pm 0,2$ у контролі).

Обговорення результатів дослідження

Отримані у ході даного дослідження результати свідчать про ефективність запропонованої гелевої композиції завдяки включення у її склад двох активних компонентів ДКМ® і ГК. Субстанція декаметоксину (ДКМ®) являє собою речовину з групи четвертинних амонієвих сполук. За даними літературних джерел антимікробний ефект ДКМ® обумовлений механізмом, що поєднує ушкодження клітинної мембрани бактерій та лізис їх протопластів, а також змінює проникність клітинної оболонки мікробної клітини, викликаючи її деструкцію [12]. ДКМ® демонструє активність щодо грампозитивних і грамнегативних бактерій (стафілококи, стрептококи, дифтерійна і кишкова палички, сальмонели, протей, клебсієли, шигели, псевдомонади, клостридії), деяких грибів (дріжджеподібні гриби, окремі види пліснявих грибів) [13, 14]. Є також повідомлення про антивірусну та протигрибкову дію даної сполуки [15, 16]. Як місцевий лікарський засіб ДКМ® застосовують у концентрації від 0,02% до 0,05%, згідно державного реєстру лікарських засобів України. У даному дослідженні для розробки гелевої композиції для місцевого лікування хронічного катарального гінгівіту та тлі хронічного рекурентного тонзиліту ДКМ® вводили у кількості 0,02 %.

Гіалуринова кислота (ГК), як природній сульфатований глюкозаміноглікан є однією з найбільш гігроскопічних молекул, що відомі у природі. Потрапляння ГК у водний розчин зумовлює виникнення водневих зв'язків між суміжними карбоксильними та N-ацетильними групами. Ця властивість дозволяє ГК підтримувати конформаційну твердість та утримувати воду. ГК також має важливі пружно-еластичні властивості, знижуючи проникнення вірусів та бактерій у тканини, а також є основним компонентом численних стадій процесу загоювання ран як у мінералізованих, так і в немінералізованих тканинах (запалення, формування грануляційної тканини, формування епітелію, ремоделювання тканин) [17, 18, 19]. На основі ГК були розроблені та клінічно апробовані різні засоби для лікування запальних станів різного генезу, зокрема стоматологічній практиці. Як місцевий ЛЗ ГК застосовують у концентрації від 0,1% до 1%, згідно державного реєстру лікарських засобів України. У даному дослідженні ГК вводили у розпрацьовану нами гелеву композицію у кількості 0,2 %. Додатковими компонентами були гідроксипропілце-

люлоза, гліцерин, ксиліт, калію сорбат, вода та харчовий ароматизатор.

Таким чином, аналіз результатів проведених досліджень свідчить, що додавання запропонованої гелевої композиції на основі ДКМ і ГК до клітин мигдаликів, отриманих після проведеної тонзилектомії у пацієнтів на хронічний рекурентний тонзиліт на тлі хронічного катарального гінгівіту, призводить до ряду позитивних ефектів, які можуть мати патогенетичну значимість у лікуванні зазначених патологічних станів. Найбільш важливим чинником, що вказує на зниження запального процесу, є зниження рівня продукування прозапального цитокіна – інтерлейкіна-1 β , що поряд з іншими складовими цього сімейства цитокінів володіє здатністю пригнічувати та має властивість усувати запалення в тканинах [20, 21].

Другим показником є підвищення рівня антитіл класу G до стрептолізину-О гемолітичного стрептококу, що може вказувати на активацію протимікробного гуморального захисту клітинами піднебінних мигдаликів, навіть в умовах короточасного контакту компонентів гелю з клітинами. Ці дані підтримують експериментальні дослідження про стимуляцію антистрептококового імунітету в культурах *in vitro* [20].

Зниження вмісту ІК у культуральній рідині після культивування з гелевою композицією також можна віднести до її позитивних властивостей, оскільки це зниження може свідчити про зменшення кількості мікробних антигенів у тканині мигдаликів, які ймовірно є складовою частиною ІК. З іншого боку, ІК є чинником імунопатологічної спрямованості і за певних умов є деструктивним фактором, що, у свою чергу, сприяє пролонгації запального процесу [20].

Відсутність змін у продукції інтерферонів можна розглядати з позицій низького рівня рецепторів на клітинах мигдаликів до складників гелевої композиції, які б могли активувати інтерферопродукцію у культурі клітин.

Висновки

1. При дії основних складників запропонованої гелевої композиції (на основі декаметоксину та гіалуринової кислоти) на *in vitro* клітини піднебінних мигдаликів пацієнтів з хронічним катаральним гінгівітом на тлі рекурентного тонзиліту, не визначено суттєвих змін у концентрації α і γ -інтерферонів.

2. Під впливом гелевої композиції знижується вміст прозапальних чинників: інтерлейкіну-1 β та імунних комплексів.

3. Запропонована гелева композиція стимулює продукування клітинами мигдаликів протимікробного чинника – антистрептолізину-О, таким чином стимулюючи продукцію антитіл проти антигенів гемолітичного стрептококу.

Внесок авторів

а) концепція та дизайн – Бежук Ю.А.

б) адміністративна підтримка – Бежук Ю.А, Мартовлос (Годована) О.І.

в) надання матеріалів для дослідження – Бежук Ю.А.

г) збір та узагальнення даних – Бежук Ю.А.

д) аналіз та інтерпретація результатів – Бежук Ю.А, Мартовлос (Годована) О.І.

е) написання рукопису – Бежук Ю.А, Мартовлос (Годована) О.І.

ж) редагування рукопису – Мартовлос (Годована) О.І.

з) остаточне затвердження рукопису – Мартовлос (Годована) О.І.

Конфлікт інтересів

Відсутній.

Література

1. Abduieva FM, Bychkova Olu, Bondarenko IO. Klinichna farmakologiya [Clinical pharmacology]. Kharkiv; 2011. 405 p. (Ukrainian)
2. Kupnovytska IH, Hudyvok YaS, Kaluhina SM, Dzvinitska OF, Hubina NV. Klinichna farmatsiia [Clinical pharmacy]. Ivano-Frankivsk; 2013. 534 p. (Ukrainian)
3. Veres VM. Obgruntuvannya ta aprobatyia imunoreabilitatsii pry khirurhichnomu likuvanni khvorykh na khronichnyi tonsylit [Feasibility and testing of immunorehabilitation in surgical treatment of chronic tonsillitis] [dissertation]. Kyiv, Institute of Otolaryngology named after Professor O.S. Kolomyichenko of the Academy of Medical Sciences of Ukraine; 2003. 132 p. (Ukrainian)
4. Tkachenko PI, Lokhmatova NM, Shashkevych VI. Imunologichnyi aparat slizovoi obolonky porozhnyni rota: suchasnyi stan pytannia [Immunological apparatus of the oral mucosa: current state of the art]. Visnyk stomatologii. 2002; 4:130-134. (Ukrainian)
5. Shynkevych VI. Vzaiemozviazok zapalno-dystrofichnykh ta lokalnykh imunologichnykh zmin slizovoi obolonky yasen u khvorykh na khronichnyi heneralizovanyi parodontyt vidpovidno do stupeniv tiazhkosti [Interrelation of inflammatory-dystrophic and local immunological changes of the gingival mucosa in patients with chronic generalized periodontitis according to the severity]. Ukrainskyi stomatologichnyi almanakh. 2004; 3-4:14-21. (Ukrainian)
6. Tarasenko VO. Vyznachennia fizyko-khimichnykh pokaznykiv stomatologichnoho heliu dlia likuvannia zapalnykh zakhvoriuvan parodontu [Determination of physicochemical parameters of dental gel for the treatment of inflammatory periodontal diseases]. Collection of scientific works of staff member of P. L. Shupyk NMAPE. Kiev. 2009; 18(3):174-177. (Ukrainian)
7. Korytniuk RS, Zahorii HV, Tarasenko VO, Chynamere Ukadike. Tekhnologichna ta fizyko-khimichna kharakterystyka heliv [Technological and physical-chemical properties of gels]. Farmatsyichnyi zhurnal. 2012; 3:38-42. (Ukrainian).
8. Kaydashev IP, editor. Metody klinichnykh ta eksperymental'nykh doslidzhen' v medytsyni [Methods of clinical and experimental research in medicine]. Poltava; 2003. 320 p. (Ukrainian).
9. Hrynevych Yu.A, Alforov A.N. Vyznachennia imunnykh kompleksiv u krovii onkologichnykh khvorykh [Determination of immune complexes in the blood of cancer patients]. Lab. sprava. 1981; 493-496 p. (Ukrainian).
10. Hlants, S. Metody statystychnoho analyzu v medytsyni [Methods of statistical analysis in medicine]. Myr; 2002. 569 p. (Ukrainian).

11. Hubler EV. Informatika v patologii, klinicheskoi meditsine i pediatrii [Informatics in pathology, clinical medicine and pediatrics]. L. Medytsyna. 1990; 176 p. (Russian).
12. Paliy VG, Nazarchuk OA, Iakovets KI. Obgruntuvannya medychnogo zastosuvannya antymikrobynykh zasobiv, shho mistyat' dekametoksyn [Substantiation of medical use of antimicrobial remedies, containing decamethoxin]. Bukovyns'kyi medychnyi visnyk. 2017; 1(81):100-105. (Ukrainian).
13. Paliy GK, Nazarchuk OA, Nagaychuk VI, Vovk IM, Nazarchuk GG. Obgruntuvannya docil'nosti zastosuvannya dekametoksynu pry antibiotiko- ta fagorezystentnosti psevdomonadnoyi khirurhichnoyi infektsiyi [Substantiation of expediency to apply decamethoxinum in antibiotic- and phagoresistance of pseudomonade surgical infection]. Klinichna khirurgiya. 2017; 9(905):64-67. (Ukrainian).
14. Kovalchuk VP, Kondratiuk VM, Fomina NS, Kovalenko IM. Mikrobiologichne obgruntuvannya docil'nosti kombinovanogo zastosuvannya antybiotykyv i Dekasanu [Microbiological substantiation of expediency of combined use of antibiotics and Decasan]. Medycyna nevidkladnykh staniv. 2017; 8(87):39-42. (Ukrainian).
15. Dzyublyk OYa, Gumenyuk MI, Kapitan GB, Nedlins'ka NM, Denysova OV. Efektyvnist' ta bezpeka ingalyacijnogo zastosuvannya dekametoksynu v likuvanni khvorysh z infekciynym zagostrennyam khronichnoho bronkhitu [Efficacy and safety of inhaled decamethoxine in the treatment of patients with infectious exacerbation of chronic bronchitis]. Astma ta alergiya. 2015;4:22-27. (Ukrainian).
16. Gumenyuk MI, Gumenyuk GL, Opimakh SG. Efektyvnist' dekametoksynu proty skladnykh virusiv, nezalezno vid yikh antygennoi budovy: perspektivy vykorystannya pry suchasnykh virusnykh zakhvoryuvannyakh dykhal'nykh shlyakhiv [Efficacy of decamethoxin against complex viruses regardless of their antigenic structure: prospects for use in modern viral diseases of the respiratory tract]. Aktual'na infektologiya. 2020; 1(8):25-33. doi: 10.22141/2312-413x.8.1.2020.196168 (Ukrainian).
17. Casale M, Moffa A, Vella P, Sabatino L, Capuano F, Salvinelli B, Lopez MA, Carinci F, Salvinelli F. Hyaluronic acid: Perspectives in dentistry. A systematic review. Int J Immunopathol Pharmacol. 2016 Dec; 29(4):572-582. doi: 10.1177/0394632016652906.
18. Aydyuryt HS, Akbal D, Altindal D, Bozoglan A, Ertugrul AS, Demir H. Evaluation of biochemical and clinical effects of hyaluronic acid on non-surgical periodontal treatment: a randomized controlled trial. Ir J Med Sci. 2020 Nov; 189(4):1485-1494. doi: 10.1007/s11845-020-02230-6.
19. Hodovana O. I. Suchasni aspekty roli hlikozaminohlikaniv ekstratseliularnoho matryksu u rozvytku heneralizovanoho parodontytu ta perebihu protsesiv reparatsii [Current aspects of the role of glycosaminoglycans of the extracellular matrix in the development of generalized periodontitis and the course of repair processes]. Pratsi Naukovoho tovarystva imeni Shevchenka. Medychni nauky. 2017; 50(2):34-47. doi: 10.25040/ntsh2017.02.034.
20. Melnykov OF, Zabolotnyi DI, Kishchuk VV, Bredun Olu, Rylska OH. Imunologiya khronichnoho tonsylitu [Immunology of chronic tonsillitis]. Kyiv: Lohos; 2017. 192 p. (Ukrainian).
21. Matviuk IH, Hereliuk VI. Otsinka pokaznykiv imunitetu rotovoi porozhnyny, pro- ta protyzapalnykh tsytokiniv u khvorykh na khronichnyi heneralizovanyi parodontyt na tli systemnoi antybakterialnoi terapii suputnoho zakhvoriuvannia [Evaluation of the oral cavity immune status, pro- and antiinflammatory cytokines for the patients with chronic generalized periodontitis on the basis of systematic antibiotic therapy of other somatic pathology]. Aktual'ni problemy suchasnoyi medytsyny: Visnyk Ukrayins'koyi medychnoyi stomatologichnoyi akademiyi. 2013; 3(43):54-58. (Ukrainian).

Summary

IMPACT OF A GEL COMPOSITION CONTAINING VARIOUS SUBSTANCES ON INDICES OF IMMUNITY AND TISSUE INFLAMMATION IN PALATINE TONSILS OF PATIENTS WITH CATARRHAL GINGIVITIS DURING CHRONIC TONSILLITIS

Bezhuk Yu.A., Martovlos (Hodovana) O.I.

Key words: periodontal tissues, gel composition, decamethoxine, hyaluronic acid, gingivitis, chronic tonsillitis, cell culture, interferons, interleukins, immune complexes, ASL-O.

The study of pharmacotherapeutic (immunomodulating) action in conditions of in vitro cell cultures is currently considered appropriate and justified for determining the action of drugs at the preclinical level. It is also important to address the pathogenetic nature in using such agents, especially for local application. This study investigated the efficacy of a multicomponent gel containing decamethoxine and hyaluronic acid in treating chronic catarrhal gingivitis among patients with chronic tonsillitis. The purpose of the work is to assess the efficacy of a gel containing decamethoxine and hyaluronic acid on the tissue of the palatine tonsils in the therapy of chronic catarrhal gingivitis in patients with chronic tonsillitis.

Materials and methods. To investigate the effects of the main active components in the gel, we followed the recommendations of I.P. Kaidashev et al. for testing pharmacological preparations in in vitro cultures. Tissue samples from the palatine tonsils were obtained from 20 patients with chronic tonsillitis and chronic catarrhal gingivitis undergoing tonsillectomy. All procedures adhered to the guidelines set by the Laboratory of Pathophysiology and Immunology at Prof. O.S. Kolomiichenko Institute of Otolaryngology, National Academy of Sciences of Ukraine. Palatine tonsil tissue was incubated in 199 medium (Serva, Germany) containing gentamicin sulfate (Darnytza, Ukraine) at a concentration of 120 µg/ml for 20 minutes at 4-8°C. After that, the hemorrhagic parts were removed from the whole tonsil and placed into Eagle's medium (Sigma, USA) and rinsed three to four times. Subsequently, the prepared tissue was placed in sterile vials containing enriched Eagle's medium supplemented with L-glutamine, sodium bicarbonate, 100x vitamin concentrate, 5% fetal calf serum, and 60 µg/mL gentamicin. Tonsil tissue was dissected using scissors and then washed repeatedly (5-7 times) with fresh medium to remove loosely attached cells, then, the resulting cell suspension was filtered. All procedures were conducted within a sterile laminar flow cabinet. Cell viability was assessed using light microscopy (Olympus-23, Japan) and a hemocytometer. A final cell suspension containing 2.5 million lymphocytes per milliliter of medium was prepared. Suspensions with a viability of less than 90% (blue, "dead" cells) were excluded from further experiments.

Results. Treatment of in vitro palatine tonsil cells from patients with chronic catarrhal gingivitis and recurrent tonsillitis with the main components of the developed gel (decamethoxine and hyaluronic acid) did not induce significant changes in the concentration of α and γ -interferons. Our findings suggest that the gel composition reduces the levels of pro-inflammatory factors: interleukin-1 β and immune complexes. Additionally, it appears to stimulate the production of the antimicrobial factor antistreptolysin-O by tonsil cells, potentially leading to increased antibody production against hemolytic streptococcus antigens.

Conclusion. Based on the in vitro findings, the investigated gel composition containing decamethoxine and hyaluronic acid demonstrates potential anti-inflammatory and antimicrobial properties that stimulate the production of the antimicrobial factor antistreptolysin-O by tonsil cells, which might lead to increased antibody production against hemolytic streptococcus antigens.