

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ДЕЙСТВИЯ НОВОЙ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОМПОЗИЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА ЛАБОРАТОРНОЙ ГРУППЕ ЖИВОТНЫХ

*Светлакова Е.Н.<sup>1</sup>, Мандра Ю.В.<sup>1</sup>, Ларионов Л.П.<sup>1</sup>,  
Базарный В.В.<sup>1</sup>, Хонина Т.Г.<sup>2</sup>, Тосова И.Н.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> – ГБОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия Минздрава России. г. Екатеринбург

<sup>2</sup> – Институт органического синтеза УрО РАН. г. Екатеринбург

Работа выполнена при поддержке проекта ориентированных фундаментальных исследований УрО РАН № 12-5-022-УМА, а также гранта РФФИ для молодых ученых № 12-05-31225 мол-а.

### АННОТАЦИЯ

В настоящее время лечение заболеваний пародонта является актуальной проблемой, что связано с высокой распространенностью пародонтопатий. Использование композиций на основе кремнийорганического глицерогидрогеля ускоряет заживление раневой поверхности. Морфологические и лабораторные исследования на экспериментальных животных свидетельствуют об эффективности применения фармакологической композиции.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** Заболевания пародонта, фармакологическая композиция, кремнийорганический глицерогидрогель.

### ABSTRACT

Nowadays the treatment of periodontal diseases is an actual problem, that is caused by high frequency of occurrence of periodontopathies. Using hydrogel based on silicon glycerolates accelerates healing of the wound surfaces. A morphological and laboratory testing of new pharmacological compounds on experimental animals.

**KEYWORDS:** Periodontal diseases, pharmacological compounds, hydrogel.

Отсутствие тенденции к снижению заболеваний пародонта диктует необходимость поиска новых средств и способов эффективного лечения и профилактики [2]. Предлагаемый арсенал медикаментозных средств позволяет добиться ликвидации очагов воспаления, длительной стабилизации состояния пародонта, восстановления структурных и функциональных свойств элементов пародонтального комплекса. Однако стабилизация процесса во всех случаях происходит длительно, поэтому поиск новых методов лечения и профилактики заболеваний пародонта остается актуальным. Аллергические реакции и побочные эффекты многих лекарственных препаратов, явление устойчивости микрофлоры пародонтальных карманов антибактериальным средствам свидетельствуют о важности поиска новых средств лечения [1]. В связи с этим интерес представляют фармакологические композиции на основе глицерогидрогеля и нестероидных противовоспалительных средств [3].

**Цель исследования** – экспериментальное исследование эффективности действия новой фармакологической композиции на основе кремнийорганического глицерогидрогеля при лечении заболеваний пародонта.

### Материалы и методы исследования

Необходимость экспериментального исследования была связана с выполнением инвазивных манипуляций и тестированием новых фармакологических средств. Экспериментальное исследование проведено на 45 крысах-самцах породы Вистар стадного разведения массой около 200 г в возрасте 4–6 месяцев. Животных содержали в стандартных условиях вивария, предусмотренных «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденных Приказом МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г. и Приказом МЗ СССР № 1179 от 10.10.1983 «Об утверждении нормативов затрат кормов для лабораторных животных в учреждениях здравоохранения» с соблюдением общепринятых правил обращения с животными. Моделирование воспалительной

патологии тканей пародонта лабораторным животным проводили в соответствии с общепринятой методикой (Ронь Г.И., Белова О.Е., 2004). Болезненные манипуляции животным выполняли в условиях контролируемого рауш-наркоза.

В эксперименте исследовали влияние новых фармакологических композиций на животных. Основой средства являлся кремнийорганический глицерогидрогель состава  $\text{Si}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4 \cdot 6\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3 \cdot 24\text{H}_2\text{O}$ , проявляющий высокую транскутанную и противоотечную активность, ранозаживляющий эффект, благоприятно влияющий на процессы эпителизации, не токсичный (патент РФ 2255939, МПК А61К 47/30, 2005 год).

На основе данного геля был предложен состав двух фармакологических композиций. Состав композиции № 1: 1% кетопрофен, 1% метилурацил, остальное – кремнийорганический глицерогидрогель; масса 50 грамм. Состав композиции № 2: 2.5% кетопрофен, 1% метилурацил, остальное кремнийорганический глицерогель; масса 50 грамм.

Кетопрофен ингибирует активность ЦОГ-1 и ЦОГ-2, угнетает синтез простагландинов и лейкотриенов, обладает антибрадикининовой активностью, стабилизирует лизосомальные мембраны. Снижает выделение цитокинов, тормозит активность нейтрофилов.

Метилурацил усиливает рост и размножение клеток, улучшая течение регенерации в поврежденных тканях, ускоряет заживление ран, язв, ожогов, повышает сопротивляемость организма к инфекциям.

В соответствии с целью исследования животные были подразделены на 3 группы. Животным первой контрольной группы была нанесена травма на ткани пародонта, затем их оставляли для наблюдения. В первой исследуемой сразу после травмы и ежедневно на десну наносили 1 грамм фармакологической композиции № 1, во второй исследуемой – 1 грамм композиции № 2.

Для оценки воспалительных и репаративных процессов в тканях использовали морфологическое исследование. Для этого до начала исследования, через 1 день, через 3 дня, через 7 дней и через 2 недели у исследуемых животных проводили резекцию нижней челюсти, ткани фиксировали 10% раствором формалина. Проводили восковую заливку, срез тканей, окраску по Романовскому-Гимза и изучали под 160 и 320-кратным увеличением. Морфологическое исследование проводилось на кафедре анатомии и гистологии УрГСХА (асс. каф., к.м.н. Женихова Н.И.)

Для исследования системных реакций организма использован комплекс лабораторных тестов. Он включал общеклинический анализ крови (анализатор МЕК 640), включающий подсчет лейкоцитов (WBC) эритроцитов (RBC), тромбоцитов (PLT) и определение гемоглобина (HGB). Исследование выполняли в соответствии с протоколом, рекомендованным производителем прибора. Подсчет лейкоцитарной формулы проводили унифицированным методом в мазках крови, окрашенных по Паппенгейму-Крюкову. Результат выражали в процентах и абсолютных значениях.

Биохимический анализ сыворотки крови включал определение активности аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспарагинаминотрансферазы (АСТ) унифицированным методом по Райтман-Френкелю. Уровень общего альбумина определяли унифицированным методом с бромкрезоловым зеленым, мочевины – уреазным фенол/гипохлоритным методом. Эти исследования выполнены с использованием реагентов Biosop (Германия) и биохимического полуавтоматического анализатора РОКІ (Россия). Уровень циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке (ЦИК) определяли фотометрическим методом селективной преципитации в полиэтиленгликоле.

Лабораторные и гистологическое исследование тканей пародонта нижней челюсти проводили до начала исследования, через 1 день, через 3 дня, через 7 дней и через 2 недели. Лабораторные исследования крови животных выполнены в отделе общей патологии ЦНИЛ УГМА.

Статистическая обработка проведена на основе принципов вариационной статистики. Описательная статистика включала среднее значение, стандартную ошибку, стандартное отклонение, минимум, максимум, модуль, медиану. Для оценки достоверности различий между группами был использован непараметрический критерий Манна-Уитни.

**Результаты и их обсуждение**

Показатели лабораторных исследований до лечения свидетельствуют о том, что группы идентичны, а изменения полученные в результате эксперимента – достоверны. Характер лейкоцитарной реакции указывает на то, что в 1–3 сутки у животных контрольной группы отмечалась умеренно выраженная воспалительная реакция (таблица 1). С 7 суток число нейтрофильных гранулоцитов снижалось и существенно не отличалось от нормы, оставаясь таким же к концу исследования (14 сутки). Состояние других ростков кроветворения по данным показателей периферической крови (эритроциты, тромбоциты) существенно не менялось. Снижение уровня альбумина в контрольной группе свидетельствует о снижении белковосинтетической функции печени, что характерно для острой фазы воспаления.

Во второй группе животных характер лейкоцитарной формулы повторял в общем виде реакцию животных контрольной группы, но активность воспалительного процесса этой группе исследования была меньше. При нанесении аппликаций предлагаемого средства было выявлено достоверное снижение воспаления уже на третьи сутки после нанесения средства, что говорит о выраженном антиагрегационном действии (число нейтрофильных гранулоцитов  $17 \pm 1,3\%$  в сравнении с контролем  $20 \pm 1,9\%$ ). Уровень мочевины, билирубина, АЛТ и АСТ во второй группе существенно не изменился, что свидетельствует об отсутствии токсичности препарата.

Таблица 1

**Гематологические показатели у животных при лечении экспериментальной травмы пародонта**

Параметры	Сроки наблюдения, сут	Группа 1	Группа 2	Группа 3	P
Лейкоциты (WBC), 10 <sup>9</sup> /л	0	6,8 ± 0,4			U эмп=3 Зона незначимости
	3	8,9 ± 0,6	8,5 ± 0,5	8,7 ± 0,5	p ≤ 0,05
	7	8,0 ± 0,4	7,5 ± 0,3	8,2 ± 0,9	p ≤ 0,05
	14	7,0 ± 0,5	7,1 ± 0,6	6,8 ± 0,8	p ≤ 0,05
Нейтрофилы, 10 <sup>9</sup> /л	0	0,95 ± 0,35			U эмп=3 Зона незначимости
	3	1,78 ± 0,15	1,27 ± 0,19	1,48 ± 0,24	p ≤ 0,05
	7	1,20 ± 0,09	1,28 ± 0,17	1,64 ± 0,21	p ≤ 0,05
	14	1,12 ± 0,10	1,02 ± 0,08	0,88 ± 0,22	p ≤ 0,05
Гемоглобин (HGB), г/л	0	150 ± 4			U эмп=3 Зона незначимости
	3	135 ± 17	144 ± 19	141 ± 21	p ≤ 0,05
	7	136 ± 18	139 ± 19	135 ± 17	p ≤ 0,05
	14	148 ± 9	148 ± 9	140 ± 7	p ≤ 0,05
Тромбоциты (PLT), 10 <sup>9</sup> /л	0	443 ± 46			U эмп=3 Зона незначимости
	3	586 ± 53	361 ± 37	367 ± 42	p ≤ 0,05
	7	352 ± 43	450 ± 47	483 ± 56	p ≤ 0,05
	14	387 ± 51	392 ± 52	413 ± 50	p ≤ 0,05

Гистологическое исследование среза десны (рис. 1) свидетельствует о формировании эпителия равномерной толщины на всем протяжении. Соединительно-тканые сосочки четко выражены, клетки базального слоя располагаются в один ряд. Клетки шиповатого слоя крупные, в состоянии активного деления. В подэпителиальном слое обнаруживаются тучные клетки.

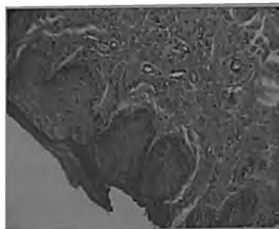
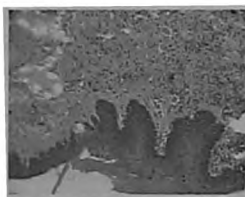


Рис. 1. Срез десны крысы исследуемой группы 1 через 3 дня после травмы. Окраска по Романовскому-Гимзе. Ув. 120

В 3й группе животных воспалительные изменения крови были еще менее выраженными. Незначительное кратковременное повышение активности АЛТ и АСТ у животных третьей исследуемой группы указывает на преходящий и невыраженный цитотоксический эффект высококонцентрированной композиции.

Гистологическое исследование среза десны (рис. 2) свидетельствует о формировании эпителия равномерной толщины, но на месте травмы его толщина несколько увеличена. Роговой слой нарастает неравномерно. Клетки шиповатого слоя находятся на разных стадиях деления. Клетки базального слоя располагаются в несколько рядов, беспорядочно. Соединительно-тканые сосочки хорошо выражены. В эндотелии сосудов подэпителиального слоя обнаруживаются процессы пролиферации и образование тромбов. Выявляются тучные клетки в незначительном количестве.



*Рис. 2. Срез десны крысы исследуемой группы 2 через 3 дня после травмы. Окраска по Романовскому-Гимзе. Ув. 120*

Уровень ЦИК в группах существенно не различался. Это говорит о том, что при изучаемых воздействиях выраженных нарушений гуморального иммунного ответа не наблюдалось. Изменения уровня мочевины неспецифичны.

### **Выводы**

1. Во всех группах исследуемых животных после нанесения травмы десны в анализах крови отмечалось увеличение содержания лейкоцитов (преимущественно – нейтрофильных гранулоцитов), что свидетельствует о развитии воспалительного процесса и указывает на адекватность предложенной экспериментальной модели.

2. Использование кремнийорганического геля приводит к снижению активности воспалительного процесса при экспериментальной травме десны, чем судили на основании положительной динамики лейкоцитарной картины крови и морфологического исследования уже на третий день применения. Это позволяет говорить о наличии синергетического эффекта действия всех компонентов средства.

3. Нормальный уровень билирубина, мочевины, активности трансаминаз указывает на отсутствие токсического эффекта предложенной композиции №1.

4. Повышение уровня АЛТ и АСТ у животных третьей исследуемой группы указывает на цитотоксический эффект высококонцентрированной композиции. Морфологическое исследование показывает более выраженный противовоспалительный эффект второй композиции.

Работа выполнена при поддержке проекта ориентированных фундаментальных исследований УрО РАН № 12-5-022-УМА, а также гранта РФФИ для молодых ученых № 12-05-31225 мол-а.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Каркищенко Н.Н. Альтернативы биомедицины. Том 1. Основы биомедицины и фармакомоделирования. – М.: Издательство ВПК, 2007. – 320 с.: 86 ил.

2. Ковалевский А.М. Лечение пародонтита: Практическое руководство. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство». 2010. – 160 с.: ил.

3. Khonina T.G. Mechanism of structural networking in hydrogels based on silicon and titanium glycerolates/ T.G. Khonina, A.P. Safronov, E.V. Shadrina, M.V. Ivanenko, A.I. Suvorova, O.N. Chupakhin// Journal of Colloid and Interface Science 365 (2012) – 81 – 89 p.