

УДК 615.242.017

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ КАРИЕСА ДЕНТИНА

А.Л. Голованенко^{1*}, И.П. Рудакова¹, И.В. Алексеева¹, Е.С. Березина¹,
В.В. Новикова¹

Резюме. В результате комплекса научно-экспериментальных исследований разработаны гель и пленки лекарственные, обеспечивающие интенсивную минерализацию дентина. С помощью ранее проведенных доклинических исследований изучена специфическая реминерализующая активность и антимикробное действие, а также острая токсичность лекарственных форм. Для определения противовоспалительной активности на модели острого воспалительного отека проведена оценка прироста объема воспаленной стопы крыс вследствие введения флогогенного агента. На основании полученных результатов установлено, что гель и пленки лекарственные обладают достаточно выраженным противовоспалительным эффектом.

Ключевые слова: реминерализация, гель, пленки лекарственные, противовоспалительная активность, флогогенный агент.

THE STUDY OF ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF NEW MEDICINAL FORMS FOR THE TREATMENT OF CARIES OF THE DENTIN

A.L. Golovanenko^{1*}, I.P. Rudakova¹, I.V. Alekseeva¹, E.S. Berezina¹, V.V. Novikova¹

Abstract. As a result of a set of scientific and experimental studies, gel and drug films have been developed that provide intensive mineralization of dentin. Previously conducted preclinical studies have studied the specific remineralizing activity and antimicrobial effect, as well as acute toxicity of dosage forms. To determine the anti-inflammatory activity, a model of acute inflammatory edema was used to evaluate the increase in the volume of the inflamed foot of rats, by introducing a phlogogenic agent. Based on the results obtained, it is established that the gel and the drug films have a sufficiently pronounced anti-inflammatory effect.

Keywords: remineralization, gel, drug films, anti-inflammatory activity, phlogogenic agent.

1 – ФГБУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 614990, Россия, г. Пермь, ул. Полевая, д. 2

1 – Perm state pharmaceutical Academy, Ministry of health of the Russian Federation, 2, Poleyaya str., Perm, 614990, Russia

* адресат для переписки:

E-mail: annagolovanenko@yandex.ru

ВВЕДЕНИЕ

В результате комплекса научно-экспериментальных исследований, проведенных на кафедре фармацевтической технологии Пермской государственной фармацевтической академии совместно с кафедрой стоматологии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов Пермского государственного медицинского университета им. Е.А. Вагнера, предложен медикаментозный способ лечения среднего и глубокого кариеса реминерализующим гелем и пленками лекарственных форм (ПЛ). Реминерализующий гель и ПЛ обеспечивают интенсивную минерализацию дентина и тем самым «организуют смазанный слой» за счет образования новых неорганических структур, которые обеспечивают obturацию дентинных трубочек, и проницаемость дентина уменьшается до минимума. При своевременном насыщении дентина минеральными компонентами можно добиться восстановления его структуры и повысить резистентность зубов к кариесу.

Таким образом, гель и ПЛ способствуют восстановлению уровня минерального обмена и стимуляции репаративных процессов в тканях зуба за счет диффузии кальция в дентинные каналы, а также накоплению ионов кальция и фосфора и включению их в минеральную структуру околопульпарного дентина [1–5].

С помощью ранее проведенных доклинических исследований изучена специфическая реминерализующая активность, антимикробное действие, а также острая токсичность лекарственных форм (ЛФ).

Исследования реминерализующей активности ЛФ проведены на основании разрешения локального этического комитета ФГБОУ ВО ПГМУ им. Е.А. Вагнера. В комплексном стоматологическом исследовании приняли участие 135 пациентов (56 мужчин и 79 женщин) в возрасте от 21 до 37 лет. Изучены показатели распространенности интенсивности кариеса зубов, состояние гигиены полости рта; оценку состояния пульпы проводили по показателю ее возбудимости (ЭВП), а

степень минерализации дентина дна кариозной полости – по данным электропроводности дентина (ЭПД) с помощью прибора «Дентэст» фирмы «Геософт». Рентгенологическое исследование зубов осуществляли на визиографе фирмы Planmeca. У всех пациентов получены хорошие результаты лечения. Эффективность лечения через 2 недели по показателю ЭПД при глубоком кариесе составила 52,5%, а при среднем кариесе – 64,5%. Под действием реминерализующего геля достигается интенсивная минерализация дентина, нормализация состояния пульпы и создаются условия для герметичности пломбы. Применение геля показано для лечения кариеса дентина, особенно при остром течении процесса и показателях ЭПД выше 20–25 мкА. Об эффективности реминерализующего действия геля можно судить по снижению показателей ЭПД, которые уменьшаются вдвое, что позволяет пломбировать глубокие кариозные полости без лечебной подкладки [6].

Поскольку в качестве антимикробного компонента в ЛФ введен хлоргексидина биглюконат (ХГБ), проведено исследование антимикробной активности геля и ПЛ методом диффузии в агар, модифицированным с учетом специфики ЛФ. По результатам проведенного исследования установлено, что у разрабатываемых геля и ПЛ для реминерализации дентина присутствует слабо выраженный противогрибковый эффект, выявлена низкая антибактериальная активность в отношении грамотрицательных микроорганизмов, но отмечено более выраженное противомикробное действие в отношении представителей рода *Staphylococcus*. По показателю «микробиологическая чистота» гель и ПЛ соответствуют требованиям действующей ГФ [7,8].

В соответствии с Федеральным законом от 12 апреля 2010 года № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» при внедрении в клиническую практику лекарственных препаратов (ЛП) в рамках доклинических исследований обязательно определение их острой токсичности. Доклинические исследования острой токсичности направлены на выявление и оценку выраженности токсических эффектов, возникающих при взаимодействии фармакологических веществ с организмом лабораторных животных в условиях кратковременного применения, и позволяют получить данные, достаточные для определения возможности и риска проведения клинических испытаний лекарственных средств [9]. Установлено, что ЛФ относятся к IV классу опасности (практически нетоксично при пероральном применении в дозировке, которая превышает терапевтическую в 10 раз и более), что свидетельствует о высокой безопасности лекарственных средств (ЛС) [10].

Данные о характере патологических изменений при глубоком кариесе в пульпе и в твердых тканях зуба позволяют считать дентин дна кариозной полости раневой поверхностью и свидетельствуют о необходимости использования при его медикаментозном лечении ЛФ, обладающих противовоспалительным действием.

Целью данного исследования являлось изучение противовоспалительной активности геля и ПЛ для лечения кариеса дентина.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Все ЛП: кальция хлорид (ФС 42-2567-94), калия фосфат двузамещенный (ФС 42-4297-79), натрия фторид (ГОСТ 4463-76), раствор хлоргексидина биглюконата 20% (ФС 42-2761-98) – фармакопейного качества; гелеобразователь – метилцеллюлоза (ТУ 2231-107-05742755-96м); пластификатор – глицерин (ФС 42-2202-99); вода очищенная (ФС 2.2.0020.15).

Объектами исследования являлись три серийных образца геля и ПЛ.

В работе использован фармакологический метод определения противовоспалительной активности, модифицированный с учетом специфики ЛФ.

Оценку биологической активности соединений проводили в опытах на животных, полученных из питомника «Андреевка» Московской области. Животные содержались в типовом виварии с естественным 12-часовым светотеневым циклом при температуре воздуха 20 ± 2 °С. Их питание осуществлялось в соответствии с нормами кормов для экспериментальных животных. У животных был неограниченный доступ к воде с помощью специальных поилок для грызунов. Предварительно производился санитарно-химический и бактериологический анализ воды. Содержание животных соответствовало правилам лабораторной практики (GLP) и приказу МЗ РФ № 199н от 01.04.2016 г. «Правила надлежащей лабораторной практики». Исследование было одобрено этическим комитетом (протокол № 52 от 25.01.2018 г.).

Исследование проводилось на крысах массой 180–250 г обоего пола (группа включала 6 животных) на модели острого воспалительного отека, вызванного субплантарным введением в заднюю лапу крысы 0,1 мл 1% водного раствора каррагинина [9].

Увеличение объема стопы, свидетельствующее о развитии отека, оценивали онкометрически до введения и через 3 ч после введения каррагинина. Исследуемые вещества вводили перорально в дозе, равной 1/5 суточной дозы, за 1 ч до введения флогенного агента. Контролем служили животные, которым вводили воду очищенную в эквивалентном объеме. Статистическую обработку проводили по методу Стьюдента с использованием программного обеспечения Microsoft Office Excel 2010 Professional. На основе полученных результатов определяли эффект торможения воспаления в процентах к контрольному уровню. О наличии противовоспалительного действия судили по выраженности торможения воспалительной реакции. Если этот показатель был больше 30%, результат учитывался как положительный.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Определение противовоспалительной активности основано на оценке прироста объема воспаленной стопы крыс вследствие введения флогенного агента. Результаты определения противовоспалительной

активности представлены в таблице 1. Введение флогенного агента вызывало увеличение объема стопы животных, которое получило максимальное развитие к пятому часу наблюдения. Прирост объема стопы у крыс при этом достигал 105,48% и был принят за контрольную величину.

ПЛ для лечения кариеса дентина к пятому часу наблюдения уменьшали прирост объема стопы у крыс по сравнению с контрольными результатами до 73,59%, то есть в 1,43 раза; при использовании геля этот показатель снизился до 71,05%, то есть в 1,48 раза. Таким образом, уменьшение прироста объема стопы было статистически достоверным по сравнению с контрольным показателем ($p < 0,05$).

На фоне предварительного введения плацебо-пленок и плацебо-геля для дентина в период максимального развития воспалительной реакции антифлогистическое действие выявить не удалось. Прирост объема стопы у крыс соответствовал контрольному уровню.

Выраженность торможения воспалительной реакции оценивалась на момент максимального ее развития. Результаты оценки воспалительной реакции представлены в таблице 2.

Гель для лечения кариеса обеспечивал торможение развития воспалительного отека на 32,64%, применение ПЛ – на 30,23%, что можно рассматривать как положительный результат, хотя по отношению к препарату сравнения диклофенаку эффект оказался в 2 раза меньше. Гель и ПЛ плацебо не проявили антифлогистического действия. Уровень торможения воспалительной реакции при этом составил 0% и 11,15% соответственно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, было установлено, что и пленки, и гель для лечения кариеса дентина обладают достаточно выраженным противовоспалительным эффектом, обнаруженным на модели каррагенинового отека. Полученные результаты указывают на целесообразность проведения дальнейших фармакологических исследований и дают возможность рекомендовать гель и ПЛ в качестве эффективного реминерализующего средства на начальном этапе терапии кариеса дентина.

Таблица 2.

Торможение на момент максимального развития воспалительной реакции под влиянием геля и пленок для лечения кариеса

№	Вещество	Торможение воспалительной реакции по отношению к контролю, %
1	Гель	32,64*
2	ПЛ	30,23*
3	Плацебо-гель для дентина	0
4	Плацебо-ПЛ для дентина	11,15
5	Диклофенак	68,1*

Примечание: *Различие достоверно по сравнению с контролем.

ЛИТЕРАТУРА

1. А.Л. Голованенко, Р.В. Кириллова, Т.Ф. Одегова, Г.А. Павлова. Стандартизация геля для лечения глубокого кариеса // Химико-фармацевтический журнал. 2006. № 4. С. 54–56.
2. А.Л. Голованенко, Е.В. Третьякова. Рациональное использование реминерализующих лекарственных средств для лечения кариеса эмали и дентина // Ученые записки Орловского государственного университета. 2014. № 7(63). С. 35–36.
3. А.Л. Голованенко и др. Создание рациональной лекарственной формы для лечения кариеса дентина // Медицинский альманах. 2016. № 1(41). С. 116–119.
4. А.Л. Голованенко, Е.В. Третьякова, Е.С. Березина, И.В. Алексеева. Современный подход к разработке лекарственных форм для проведения реминерализующей терапии // Медицинский альманах. 2017. № 2(47). С. 141–145.
5. Патент РФ № 2560680. Средство для лечения кариеса дентина / Л.Е. Леонова, Г.А. Павлова, Е.С. Березина и др.; патентообладатель Пермская государственная медицинская академия им. Е.А. Вагнера. – Заявл. 17.06.14, опубл. 20.08.15.
6. Л.Е. Леонова и др. Эффективность лечения кариеса дентина с использованием ЛС реминерализующего действия // Пермский медицинский журнал. 2016. № 2. Т. 33. С. 71–75.
7. ОФС.1.2.4.0002.15. Микробиологическая чистота // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. – М. 2015. Т. I. С. 848–924.
8. О.В. Гунар, И.А. Буйлова, Н.Г. Сахно. Изучение возможности уменьшения количества образца для анализа лекарственных средств по показателю «микробиологическая чистота» // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2015. № 7. С. 10–15.
9. А.Н. Миронов. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. – М.: Гриф и К, 2012. С. 944.
10. Р.Р. Махмудов, Е.В. Третьякова, А.Л. Голованенко. Исследование острой токсичности гелей и пленок лекарственных для лечения кариеса эмали и дентина // Биофармацевтический журнал. 2017. Т. 9. № 2. С. 59–61.

Таблица 1.

Противовоспалительная активность геля и ПЛ для лечения кариеса дентина при пероральном введении

Группа	Доза, мг/кг, п/о	Прирост объема стопы, %			Торможение объема отека (к контролю), %		
		1 ч	3 ч	5 ч	1 ч	3 ч	5 ч
Гель	50	27,40±3,77 $p > 0,05$	54,37±3,97 $p < 0,05$	71,05±2,78 $p < 0,05$	25,38	25,08	32,64*
ПЛ		34,05±2,56 $p > 0,05$	60,18±2,34 $p < 0,05$	73,59±2,56 $p < 0,05$	7,27	17,07	30,23*
Контроль		36,72±3,97	72,57±3,14	105,48±3,64			

Примечание: достоверность отличий по сравнению с контролем $p < 0,05$.

* различие достоверно по сравнению с контролем.