

Таким образом, исследованные нами кормоамины в условиях описанных экспериментов не оказывают влияния на гуморальный и клеточный иммунный ответ. Для кормоаминов—пролина, лейцина, триптофана и валина—установлены дозы, не влияющие на указанные показатели иммунитета.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Benedict A. A.* Methods in immunology and immunochemistry. Ed. by A. C. Williams and M. W. Chase, Acad. Press. N. Y., 1, 229, 1967.
2. *Campbell D. H., Garvey J. S., Cremer N. E., Sussdorf D. H.* Methods in immunology. A laboratory text for instruction and research second edition. N. Y., 271—292, 1970.
3. *F. H. O. Class et al.* The journal of investigative dermatology, 84, 1, 31—32, 1985.
4. *Jerne N. K., Nordin A. A.* Science, 140, 35—66, 404—405, 1963.
5. *Logrange P. H., Mackaness G. B., Miller T. E. J.* Exp. Med., 139, 528—539, 1974.
6. *Zaalberg O. B.* Nature (London), 202, 4938, 1231—1232, 1964.

Поступило 19.XII 1990 г.

Биолог. журн. Армении, № 2.(44).1991

УДК 616.1—08

### ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ КАПРОФЕРА И ХЛОРГЕКСИДИНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ КЛЕТОК КРОВИ

К. В. ЛАЛАЕВ, Э. С. ГУЛУНЯН, М. Р. ГРИГОРЯН,  
С. Э. АКОПОВ, Э. С. ГАБРИЕЛЯН

Институт усовершенствования врачей МЗ СССР, кафедра терапевтической и ортопедической стоматологии, Ереван

Установлено, что капрофер и хлоргексидин обладают способностью уменьшать функциональную активность тромбоцитов и лейкоцитов, подавляя при этом их агрегацию и секреторную способность. В то же время они в умеренной степени подавляют агрегацию эритроцитов, не вызывая их гемолиза. Эффект капрофера выражен больше по сравнению с таковым хлоргексидина. Предполагается, что выявленные эффекты лежат в основе противовоспалительного действия этих препаратов.

Հաստատված է, որ կապրոֆերը և ըլորհեքսիդինը օժտված են արմարոցիտների և լեյկոցիտների ֆունկցիոնալ ակտիվությունը պակասեցնելու քնդունակությամբ՝ ճնշելով նրանց ադրեզացիոն և սեկրետոր ֆափոքությունները: Միաժամանակ նրանք լափափոր աստիճանի ընկճում են էրիթրոցիտների ադրեզացիոն, լաուաչացնելով նրանց հեմոլիզ: Ընդ որում կապրոֆերի արդյունավետությունը ավելի արտահայտված է, քան ըլորհեքսիդինինը:

Ենթադրվում է, որ ի հայտ բերված էֆեկտները կապված են այդ դեղամիջոցների հակաբորբոքային արդեցություն հետ:

It was found that both kaprofer and chlorhexidin decreased aggregability and secretion of platlets and leukocytes. Simultaneously they reduced erythrocytes aggregability without influences on their hemolysis. In all cases the effects of kaprofer were more marked than the effects of chlorhexidin. Probably these phenomena explain in antiinflammatory effects of investigated agents.

Сокращения: ХГС—хлоргексидин; БТП—богатая тромбоцитами плазма; ПМЯЛ—полиморфноядерные лейкоциты; ГХЦГ—гексахлорциклогексан; ЛТВ<sub>4</sub>—лейкотриен В<sub>4</sub>.

В современной стоматологии одной из наиболее сложных проблем является рост гнойно-воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области. Для их лечения в настоящее время применяется большой арсенал лекарственных средств, оказывающих бактерицидное или антисептическое действие. Однако их эффективность относительно невелика и они не снижают остроты проблемы лечения и профилактики воспалительных заболеваний ротовой полости. Нами был предложен новый уникальный препарат капрофер [3], который в настоящее время используется в комплексной терапии воспалительных заболеваний ротовой полости, поскольку обладает редким сочетанием гемостатических, антимикробных и противовоспалительных свойств. Близким ему по своему действию является препарат ХГС [1, 4], однако он не влияет на некоторые формы бактерий, грибы, вирусы и др. Оба препарата применяются в клинической практике, однако расширение их практического применения обусловлено выявлением механизмов их терапевтического эффекта, которые до сих пор не ясны. Цель настоящей работы состояла в сравнительном изучении влияния этих препаратов на функциональное состояние форменных элементов крови, поскольку последние играют важную роль в механизмах развития воспалительных процессов любого генеза [5].

*Материал и методика.* Исследования выполнены на цитратстабилизированной крови здоровых доноров, не принимавших в период сдачи крови каких-либо лекарственных средств. БТП получали центрифугированием крови в течение 8 мин при 150 g, затем часть ее дополнительно центрифугировали при 1500 g в течение 15 мин для получения бедной тромбоцитами плазмы. Агрегацию тромбоцитов исследовали оптическим методом [6] на двухканальном агрегометре «Rayton» (США). Агрегацию оценивали по степени падения оптической плотности в %. В качестве агрегирующих агентов использовали АДФ и адреналин (Dade, США) в конечных концентрациях  $10^{-6}$  М, и  $5 \cdot 10^{-5}$  М.

ПМЯЛ выделяли после осаждения эритроцитов 3%-ным декстраном и удаления остатка эритроцитов гипотоническим лизисом [12]. Клетки трижды отмывали в фосфатном буфере без ионов кальция и магния и затем ресуспендировали в том же буфере в концентрации  $5 \cdot 10^6$  клеток в мл (рН 7,4).  $Ca^{2+}$  добавляли в суспензию непосредственно перед опытом в конечной концентрации 1,5 ммоль. Образование свободных радикалов регистрировали по лимоловой хемилюминесценции [9] на агрегометре-люминометре «Сhromo-Log» (Англия). ПМЯЛ активировали ГХЦГ в конечной концентрации 50 мг/мл. Как известно, ГХЦГ индуцирует респираторный взрыв в ПМЯЛ за счет образования в них ЛТВ<sub>4</sub> [11].

Эритроциты трижды отмывали в изотоническом трис-НСI буфере (рН 7,4) и затем ресуспендировали в том же буфере в количестве  $10^9$  клеток в мл. Агрегацию эритроцитов исследовали оптическим методом с использованием в качестве агреганта алцианового синего [2], гемолиз эритроцитов оценивали стандартным оптическим методом.

Все данные статистически обрабатывали с использованием пакета прикладных программ BMDP.

*Результаты и обсуждение.* На первом этапе исследований изучали влияние капрофера и ХГС на агрегируемость тромбоцитов *in vitro*. Обнаружено, что оба препарата подавляют агрегацию тромбоцитов, причем их эффект носит дозозависимый характер (табл.). Антиагрегантный эффект обоих препаратов проявлялся как при индукции агрегации АДФ, так и адреналином, но во втором случае он был выше ( $P < 0,01$ ).

Однако антиагрегантный эффект капрофера был более выраженным в обоих случаях, хотя в целом выявленные различия носили характер тенденции и, как правило, были недостоверными (табл.).

*Антиагрегантный эффект капрофера и ХГС на тромбоциты человека*

| Препарат | Разведение | Антиагрегантный эффект, % |             |
|----------|------------|---------------------------|-------------|
|          |            | АДФ                       | Адреналин   |
| ХГС      | 1:1000     | 2.0 ± 8.9                 | 75.8 ± 12.3 |
|          | 1:10000    | 6.4 ± 6.2                 | 30.7 ± 10.1 |
| Капрофер | 1:1000     | 53.1 ± 12.3               | 97.1 ± 2.9  |
|          | 1:10000    | 11.2 ± 3.3                | 61.9 ± 6.1* |

Антиагрегантные эффекты препаратов во всех случаях достоверны. Различия между эффектами капрофера и ХГС достоверны только для варианта, отмеченного звездочкой.

Подавляя активацию тромбоцитов, исследованные соединения оказывали не менее выраженное влияние и на ПМЯЛ.

Их действие приводило к резкому уменьшению генерации свободных радикалов в ходе респираторного нерва, вызванного ГХЦГ. Этот эффект также был дозозависимым, причем в данном случае воздействии капрофера было достоверно более значительным, чем эффект ХГС (рис. 1). Особенно отчетливо это различие проявлялось при низких концентрациях препаратов (рис. 1).

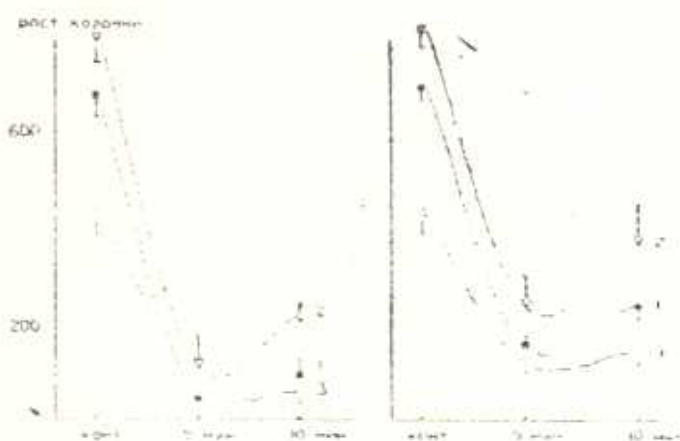


Рис. 1. Генерация свободных радикалов лейкоцитами, активированными ГХЦГ.

На эритроциты исследованные препараты действовали слабее. Обнаружена их способность подавлять агрегацию этих элементов крови, эффект был статистически достоверным ( $P < 0.05$ ), но не превышал 20% (рис. 2). К тому же обнаруживался только при высоких концентрациях препаратов (разведение 1:1000), при этом различий в силе воздействия между капрофером и ХГС не выявлено. Важно отметить, что исследуемые препараты не оказывали влияния на гемолиз эритроцитов, независимо от концентрации.

Изменение функционального состояния форменных элементов крови является основным фактором локального гемостаза и гомеостаза [2]. Полученные результаты свидетельствуют о том, что оба исследованных препарата способны подавлять активацию тромбоцитов и лейкоцитов, причем уже в очень низких концентрациях (разведение 1:10000). Этот эффект нельзя связывать с разрушением клеток, так как их функциональная активность уменьшалась постепенно, дозозависимо, кроме то-

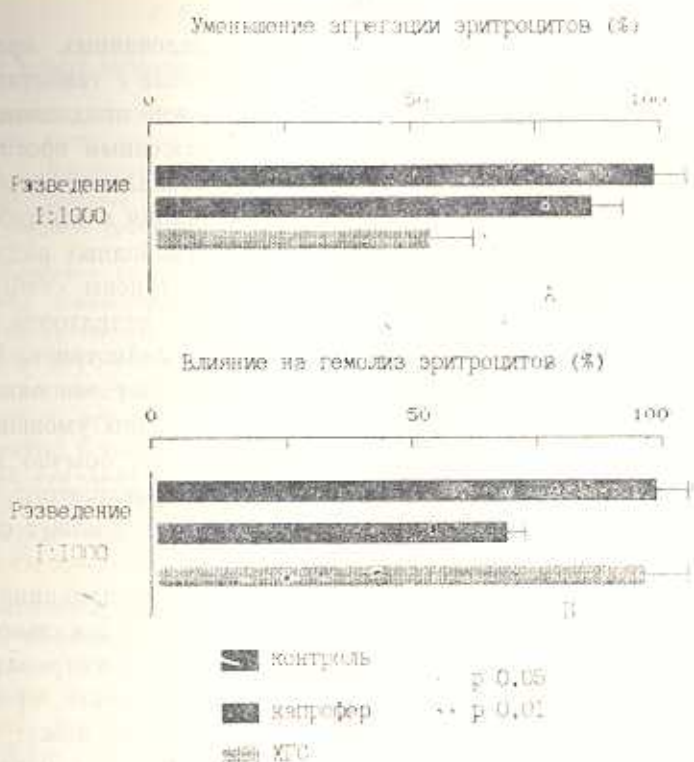


Рис. 2. Влияние капрофера и хлоргексидина на агрегацию (А) и гемолиз эритроцитов (Б).

го, в прямых измерениях не было выявлено гемолиза эритроцитов. Вместе с тем обнаружены очевидные признаки отсутствия специфичности воздействия этих препаратов, они влияют на активацию клеток, вызванную самыми различными индукторами. По полученным результатам можно предположить, что оба исследуемых агента модифицируют поверхность мембраны клеток, вызывая, вероятно, конформационную перестройку центров, ответственных за восприятие активирующего сигнала, взаимодействие клеток друг с другом и др. В частности, для тромбоцитов это может быть изменение процесса выдвижения на поверхность клеток гликолипидных комплексов, ответственных за агрегацию [8]. Не менее важно состояние поверхностных структур мембран для лейкоцитов и эритроцитов [10]. В результате подобного неспецифического эффекта в присутствии исследованных препаратов наступает общее подавление клеточной активности с уменьшением развития их агрегации и секреции.

Закономерно встает вопрос о значении выявленных эффектов в фармакологической активности исследованных препаратов. Очевидно, что они не могут объяснить их гемостатического действия, так как агрегация клеток крови является важнейшим фактором первичного гемостаза [2]. Следовательно, известный гемостатический эффект этих агентов не связан с их влиянием на первичный гемостаз, а обусловлен другими причинами. Можно предположить, что последние связаны с процессом формирования фибриновой пробки.

По-видимому, обнаруженные эффекты исследованных препаратов отражают иные свойства их, прямо не сопряженные с гемостатическим влиянием. На основании полученных данных можно предположить, что ХГС и особенно капрофер могут обладать выраженным противовоспалительным свойством. Как известно, в очаге воспаления имеют место скопление тромбоцитов и лейкоцитов, их активация и высвобождение физиологически активных соединений, протеаз, свободных радикалов и др. [5]. Особое значение здесь могут иметь лейкотриены, особенно лейкотриен В<sub>4</sub>, который является одним из основных медиаторов воспаления [7]. Обнаруженный нами факт блокирования лейкотриена В<sub>4</sub> и секреции лейкоцитами исследованными препаратами дает основание полагать, что при местной аппликации они будут способны уменьшать воспалительный процесс, предотвращать некроз тканей, обычно вызываемый свободными радикалами, и способствовать заживлению. В этом смысле капрофер превосходит по силе эффекта ХГС и может считаться более предпочтительным.

Таким образом, исследованные препараты при аппликации на слизистые полости рта могут обеспечить общее понижение локальной активности форменных элементов крови. Это может рассматриваться как один из компонентов их противовоспалительного эффекта, кроме того, уменьшение агрегации клеток, особенно эритроцитов, может способствовать улучшению микроциркуляции с регулированием метаболизма слизистых и ускорением их репарации.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Афиногенов Г. Е., Елинов Н. Б. В кн.: Антисептики в хирургии, М., 1987.
2. Габриелян Э. С., Акопов С. Э. Клетки крови и кровообращение, 399, Ереван, 1985.
3. Лалаев К. В. Автореф. канд. дисс., 20, 1980.
4. Скобелкин О. К., Митюков А. П. В кн.: Асептика и антисептика. М., 1979.
5. Чернух А. М., Александров П. Н., Алексеев О. В. Микроциркуляция. М., 1985.
6. Born G. *Natura*, 194, 927, 1962.
7. Feuerstein G. *Prostaglandins*, 27, 781, 1984.
8. Hallam T., Rink T. *FEBS Lett.*, 186, 175, 1985.
9. Hatch G., Gardner D., Menzel D. *J. Exp. Med.*, 147, 182, 1978.
10. Korchak H., Vienne K., Rutherford L. *Fed. Proc.*, 43, 27-9, 1984.
11. Meade J., Harvey J., Voigt J. *Biochem. Pharmacol.*, 33, 289, 1984.
12. Walsh C., Waite B., Thomas M., Chatelet L. *J. Biol. Chem.*, 11, 7228, 1981.