

REZUMAT

Antiinflamatoarele nesteroidiene (AINS) sunt substanțe care au calitatea de a reduce semnele și simptomele unei inflamații, fără a înlătura însă cauzele ce au produs-o, dar și de a diminua durerea. Locul lor în practica medicală veterinară este în mare parte legat de incidența afecțiunilor musculo-osteo-articulare, boli cu o incidență deosebit de crescută în cazul câinilor, dar aceste substanțe sunt utilizate frecvent și în cazul algiilor postoperatorii.

Teza de doctorat intitulată: ***Studiu farmacodinamic privind acțiunea terapeutică a complexului antiinflamatoare nesteroidiene (AINS) – ciclodextrine la animale***, este extinsă pe un număr de 261 de pagini și este structurată în conformitate cu prevederile legale actuale în două părți principale: prima parte – *Stadiul actual al cunoașterii*, care cuprinde un număr de 51 de pagini, reprezentând 21,3 % și partea a doua – *Cercetări personale*, ce cuprinde un număr de 188 de pagini, reprezentând 78,7 % din volumul tezei.

În prima parte, structurată în 3 capitole, sunt prezentate succint informații din literatura de specialitate referitoare la subiectul tezei, care au fost folosite ulterior în partea a doua ca date de referință în interpretarea și discutarea rezultatelor. În **primul capitol**, intitulat ***Inflamația și răspunsul inflamator***, sunt prezentate sugestiv date care relevă fiziopatologia procesului inflamator, etiologia și patogenia inflamației, modificările locale ce apar în procesul inflamator, mediatorii chimici și clasificarea inflamației din punct de vedere etiologic și al evoluției. În patogenia oricărei inflamații distingem: un mecanism de declanșare, o fază a mediației chimice și o fază terminală, prostaglandinică. Procesul patologic care se dezvoltă în țesuturile sănătoase, la locul de acțiune al agentului agresor (focar inflamator), caracterizat prin fenomene alterative, vascular-exsudative și proliferative, este însoțit de o reacție generală a organismului, nespecifică, cu caracter de apărare – adaptare. Scopul acestor modificări la care participă organismul în ansamblu este neutralizarea și îndepărtarea agentului patogen, cu refacerea țesuturilor afectate.

Al doilea capitol, intitulat ***Farmacologia antiinflamatoarelor nesteroidiene***, prezintă date bibliografice referitoare la acțiunea terapeutică a acestei clase de substanțe medicamentoase în procesul inflamator, precum și reacțiile secundare pe care le induc la nivelul organismului. Antiinflamatoarele nesteroidiene (AINS) sunt substanțe care fac parte din grupa analgezice – antipiretice – antiinflamatoare și sunt folosite în terapia diferitelor afecțiuni inflamatorii de

intensitate slabă până la moderată, dar și în unele dureri severe cum ar fi colica renală, biliară sau rectală. Mecanismul prin care aceste medicamente își exercită acțiunea antiinflamatoare este atribuit în principal inhibării ciclooxigenazelor (COX 1, COX 2, COX 3), enzime care participă la sinteza de prostaglandine.

Utilizarea largă a AINS în practica veterinară este relativ limitată de reacțiile adverse (gastrointestinale, renale, cardiace, hepatice etc.). Această relativă limitare a utilizării lor în medicina veterinară comparativ cu cea umană își are explicația în diferențele parametrilor farmacocinetici la diversele specii de animale, creându-se astfel posibilitatea limitării efectului terapeutic sau a unei toxicități excesive.

Azi se încearcă tot mai mult descoperirea unor AINS cât mai puțin toxice, cum sunt inhibitorii înalt selectivi ai COX-2, iar ca măsuri de precauție se recomandă asocierea de *ranitidină* sau *cimetidină* în doze profilactice, administrarea de *misoprostol*, un analog al PGE1 (atât profilactic cât și curativ), dar toate acestea includ costuri mult mai mari ale terapiei. Mai recent și cu multiple avantaje în industria farmaceutică se utilizează **ciclodextrinele** pentru formarea compușilor complecși de incluziune cu diferite substanțe medicamentoase.

În **al treilea capitol** al primei părți, intitulat **Importanța utilizării compușilor de incluziune**, sunt evidențiate date bibliografice ce descriu proprietățile fizico-chimice ale ciclodextrinelor, utilitatea lor în industria farmaceutică și aplicațiile acestora, precum și importanța realizării și utilizării sistemelor conjugate polimer – medicament în contextul evoluției științifice a medicamentului de azi. Științele medicale, biologice și biomedicale au înregistrat progrese uimitoare în ultimul deceniu, deschizând noi căi de înțelegere a proceselor normale și patologice și de realizare de noi sisteme medicamentoase mai specifice și mai eficiente.

Partea a doua, destinată cercetărilor proprii, este structurată în 8 capitole și cuprinde scopul și orientarea cercetărilor, materialele de studiu și metodele utilizate, rezultatele obținute, interpretarea lor și concluziile generale, care încheie această parte.

Capitolul IV - Scopul și obiectivele cercetării - evidențiază motivația acestei cercetări, descriind principalele obiective ale tezei. Ipoteza de lucru a pornit de la premisa că în afecțiunile inflamatorii de natură osteoarticulară ale animalelor de companie (câini), adesea cu o evoluție invalidantă, se utilizează frecvent antiinflamatorii nesteroidiene care, pe lângă beneficii, prezintă riscul apariției reacțiilor adverse. Scopul principal al tezei de doctorat l-a constituit îmbunătățirea

formelor farmaceutice din clasa antiinflamatoarelor nesteroidiene, prin complexarea acestora cu β -ciclodextrina, în vederea formării unor noi produși cu caracteristici diferite precum solubilitate și biodisponibilitate crescută și eliminarea efectelor toxice. Obiectivele principale urmărite pe parcursul cercetării au fost reprezentate de:

- evaluarea comparativă a eficacității și a tolerabilității antiinflamatoarelor nesteroidiene administrate la câine;
- evaluarea biocompatibilității β -ciclodextrinei;
- obținerea compușilor de incluziune ai antiinflamatoarelor nesteroidiene cu β – ciclodextrină;
- realizarea modelelor experimentale *in vivo* în vederea evaluării efectului antiinflamator al substanțelor complexate cu β -ciclodextrina;
- evaluarea eficacității carprofenului și ketoprofenului complexate cu beta ciclodextrină comparativ cu activitatea lor în formă necomplexată, pe modele de inflamație experimentală la animale de laborator;
- evaluarea comparativă a biocompatibilității substanțelor complexate carprofen și ketoprofen și a formelor necomplexate prin administrarea orală la șobolani;
- evaluarea clinică a eficacității formelor complexate cu beta-ciclodextrină, în afecțiunile inflamatorii la câine.

În **capitolul V** – sunt descrise comparativ efectul antiinflamator și gradul de tolerabilitate a 3 substanțe din clasa antiinflamatoarelor nesteroidiene – carprofen, meloxicam și ketoprofen, utilizate frecvent în practica veterinară la câini cu diferite afecțiuni inflamatorii de natură osteoarticulară. Studiile s-au efectuat în cadrul a trei cabinete veterinare particulare, pe un număr de 60 de câini, constituiți în 3 loturi a câte 20 de pacienți/lot, care necesitau terapie cu antiinflamatorii nesteroidiene.

Rezultatele au evidențiat eficacitatea tuturor substanțelor antiinflamatorii luate în studiu, prin remisia durerii, diminuarea procesului inflamator și reluarea funcțiilor locomotorii, dar cea mai mare pondere în atenuarea acestor fenomene a fost observată sub terapia cu meloxicam – 80%, urmat de ketoprofen – 60% și carprofen – 50%. Gradul de tolerabilitate, observat pe perioada terapiei, a evidențiat faptul că toate AINS luate în studiu – carprofen, meloxicam și ketoprofen, au fost grevate de riscul apariției reacțiilor secundare digestive, manifestate prin vomă și diaree. Tolerabilitatea a fost catalogată ca fiind bună în proporție de 32% și slabă la 68%

dintre pacienți, ceea ce denotă o incidență destul de crescută a reacțiilor adverse sub terapia cu AINS.

Modalitățile de evaluare a β -ciclodextrinei, un oligozaharid natural obținut prin sinteza amidonului, sunt descrise în **capitolul VI**. A fost testată atât biocompatibilitatea β -ciclodextrinei, cât și toxicitatea acută a acesteia prin determinarea dozei letale 50 (DL50) pe animale de laborator – șoareci albi, linia Swiss. În urma administrării β -ciclodextrinei la șoareci nu s-a înregistrat mortalitate și nici nu au fost observate modificări ale stării generale și nici ale indicilor hematologici și biochimici. Testarea biocompatibilității a reliefat faptul că aceasta a fost bine tolerată de către toți șoarecii luați în studiu, indiferent de doza și concentrația administrată, precum și de calea de administrare. Rezultatele obținute în urma evaluării toxicității acute a β -ciclodextrinei au consemnat faptul că DL50 este egală cu 12000 mg/kg corp, încadrându-se în grupa a 5-a de toxicitate după Hodge și Sternert, ceea ce arată că substanța este practic netoxică pentru organism.

Testarea biocompatibilității și a toxicității acute a ciclodextrinei a avut drept scop formarea compușilor complecși de incluziune cu substanțe din clasa antiinflamatoarelor nesteroidiene, urmărind să obținem produși cu calități îmbunătățite, cu o eficacitate superioară și fără riscul apariției reacțiilor secundare.

Tehnologiile de obținere a complecșilor de incluziune, descrise în **capitolul VII**, care constituie un ansamblu de operații și procedee, au ca rezultat obținerea unui compus complex dintr-o substanță medicamentoasă și o ciclodextrină, cu proprietăți farmacologice mult îmbunătățite. Pentru prepararea compușilor conjugați antiinflamatorii nesteroidiene – ciclodextrină, s-a utilizat ca procedeu *liofilizarea*, care a permis formarea compușilor de incluziune **ketoprofen – β ciclodextrină** și **carprofen – β ciclodextrină**, folosind ca mediu de dizolvare apă. În cazul complexelor formate, examinate prin metodele de analiză calitativă precum SEM, TG-DTG, DSC și faza de solubilitate, s-au evidențiat diferențe semnificative între profilurile complecșilor obținuți și cele ale substanțelor inițiale (ketoprofen, carprofen și β -ciclodextrină). Modificările structurii morfologice, creșterea stabilității termice și a concentrației substanțelor active, precum și creșterea profilului de dizolvare a pulberilor de ketoprofen și carprofen, prin îmbunătățirea semnificativă a solubilității în apă, sunt unele dintre avantajele pe care le-a oferit complexarea cu β -ciclodextrină.

Pentru a evalua eficacitatea terapeutică antiinflamatoare a compușilor de incluziune nou formați: ketoprofen + β -ciclodextrină și carprofen + β -ciclodextrină, am realizat două modele experimentale de inflamație *in vivo*, descrise în **capitolul VIII**.

Experimentele s-au efectuat pe șobolani masculi, constituindu-se loturi omogene, l-a care s-a indus experimental *inflamația plantară* cu suspensie apoasă de caolin 10% și *inflamația peritoneală* cu soluție apoasă de tioglicolat de sodiu 1%. Injectarea subcutanată a suspensiei de caolin 10% în fața plantară a labei posterioare la șobolani a produs un edem ce a putut fi măsurabil prin tehnica pletismometrică, începând cu aproximativ 1 h de la inducerea procesului inflamator și a avut o creștere intensă pe o perioadă de 9 ore. Vârful maxim al inflamației plantare a fost observat la 9 ore și menținut la aceleași valori până la 12 ore, urmând apoi o scădere treptată și moderată a edemului, cu revenirea la normal în aproximativ 4 zile. Tehnica pletismometrică a permis evaluarea exactă a dinamicii procesului inflamator indus la nivel plantar cu suspensie de caolin 10%.

Evidențierea procesului inflamator în cazul inducerii experimentale a inflamației acute peritoneale s-a efectuat prin determinări spectrofotometrice cât și prin evaluarea concentrației celulare în lichidul peritoneal. Valorile crescute ale absorbânței spectrofotometrice, cât și afluxul mare de celule nucleate evidențiate în probele de lichid peritoneal, au relevat un proces inflamator intens determinat de administrarea intraperitoneală a soluției de tioglicolat de sodiu 1 %.

Modelele experimentale de inflamație au dat rezultate importante pentru a evalua eficacitatea antiinflamatoare a carprofenului și ketoprofenului complexate cu beta ciclodextrină, comparativ cu formele necomplexate.

Aspectele privind biocompatibilitatea și eficacitatea compușilor conjugați antiinflamatoare nesteroidiene - ciclodextrină sunt descrise în **capitolul IX**. Studiile s-au efectuat pe 2 serii experimentale de șobolani - seria A și B, care au fost constituite în loturi, fiecare lot fiind format din câte 6 animale ($n = 6$). S-a lucrat pe modele de inflamație indusă experimental la șobolani luați în studiu. Efectul antiinflamator, în cazul edemului plantar, al ketoprofenului și carprofenului complexate cu β -ciclodextrină s-a constatat a fi maxim la 5 - 6 ore de la administrare, producând o inhibare a inflamației de aproximativ 40 % față de lotul martor unde nu a apărut nici o reacție și de 15 % față de loturile tratate cu substanțe necomplexate.

Rezultatele obținute au arătat o diferență semnificativă a eficacității antiinflamatoare a complexelor ketoprofen + β ciclodextrină și carprofen + β ciclodextrină comparativ cu substanțele medicamentoase ketoprofen și carprofen în formă necomplexată, atât în cazul inflamației plantare, cât și în cazul inflamației peritoneale, la toți șobolanii luați în studiu. Una dintre caracteristicile cele mai importante ale complexelor de incluziune, care au fost evidențiate în studiile noastre, a fost îmbunătățirea efectului terapeutic antiinflamator, inducând și o bună tolerabilitate, fără apariția reacțiilor secundare la nivel digestiv, renal și hepatic, pe care le-a indus carprofenul și ketorprofenul în formă necomplexată.

Capitolul X, intitulat - *Evaluarea eficacității și tolerabilității ketoprofenului complexat cu β ciclodextrină în afecțiunile inflamatorii la câine*, relevă avantajele utilizării complexelor de incluziune al AINS-urilor cu ciclodextrine în practica veterinară. Recuperarea câinilor din loturile tratate cu complexul ketoprofen - β ciclodextrină, a fost vizibil mai rapidă decât la câinii din loturile tratate cu substanța în formă necomplexată. Totodată s-a observat și reducerea reacțiilor adverse la câinii tratați cu complexul de incluziune, comparativ cu pacienții tratați cu forma necomplexată, la care s-au produs reacții secundare digestive în proporție de 100%. Tolerabilitatea bună a ketoprofenului complexat apare datorită faptului că ciclodextrina are capacitatea de a proteja molecula de medicament de către degradarea la nivel gastric și eliberarea unei cantități mari de substanță activă în intestin, ceea ce permite o absorbție și o biodisponibilitate mărită a substanței active în interiorul organismului, cu diminuarea efectelor toxice.

Rezultatele finale, în urma studiului întreprins, au demonstrat o eficiență și o siguranță mult mai mare a utilizării substanței medicamentoase complexate cu ciclodextrină, în tratarea proceselor inflamatorii la câine. Intensitatea efectului antiinflamator determinat de substanțele asociate cu ciclodextrină a fost vizibil mai mare decât al substanțelor neasociate, aspect pus pe seama **ciclodextrinei**, care are rol de a mări biodisponibilitatea și solubilitatea substanței conjugate.