

ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ «ПРОТИВОСПАЕЧНОГО ГЕЛЯ»

^{1,2}Самошина Е.А., ^{1,2}Сысуев Б.Б., ²Бугаева Л. И., ^{1,2}Поройский С.В., ²Лебедева С. А.,
²Самарская А.А.

¹ГОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет», г. Волгоград,
ekaterina_samosh@mail.ru

²ГБУ «Волгоградский медицинский научный центр», г. Волгоград

Проведены исследования по изучению острой токсичности противоспаечного геля. Экспериментальное исследование проводилось в соответствии с общепринятыми правилами и правилами лабораторной практики GLP. Изучение проводилось на лабораторных животных – на 30 нелинейных половозрелых белых мышах массой 24,0-25,0 г 2,5-3-месячного возраста обоего пола. Изучение острой токсичности проводили по методу Литчфилда и Уилкоксона. Наблюдение проводилось в течение двух недель, установлены пределы острой токсичности. Определен класс токсичности геля в соответствии с классификацией. Доказано, что противоспаечный гель, при внутрижелудочном ведении мышам в максимально допустимых объемах, не вызывает гибели животных в ранние и отдаленные сроки наблюдений. Величина LD₅₀ противоспаечного геля составляет более 32,0 мл/кг.

Ключевые слова: бишофит, тизоль, острая токсичность, аквакомплекс глицеросольвата титана.

PRECLINICAL STUDY OF THE TOXICOLOGICAL PROPERTIES «ANTIADHESION GEL»

^{1,2}Samoshina E.A., ^{1,2}B.B. Sysuev, ²Bugaeva L.I., ^{1,2}Poroytsky S.V., ²Lebedeva S.A.,
²Samarskaya A.A.

¹State Educational Institution of Higher Professional Education “The Volgograd State Medical University of Public Health Ministry of the Russian Federation”, Volgograd, ekaterina_samosh@mail.ru

²State Budgetary Institution «Volgograd medical research center», Volgograd

Conducted research on the study of acute toxicity anti-adhesion gel. The experimental studies were conducted in accordance with the rules of laboratory practice of GLP. The study was conducted on laboratory animals - on 30 mature nonlinear white mice weight 24,0 – 25,0g., 2,5 – 3 months of age of both sexes. The study of the acute toxicity carried out by the method of Litchfield J. and Wilcoxon F. The observation was conducted over two weeks, set limits of acute toxicity. Identify the class of toxicity of the gel in accordance with the classification. Proved that an antiadhesion gel after intragastric administration to mice at the maximum allowable volumes not cause death of animals in early and long-term follow. LD₅₀ antiadhesion gel amounted to 32,0 ml/kg.

Keywords: Bishofit, tizolum, acute toxicity, aquacomplex glitserosolvata titanium.

В последние годы как в отечественной, так и зарубежной литературе появилось большое количество работ, в которых освещаются вопросы использования различных препаратов для лечения спаечных процессов. Актуальность определяется увеличением в последние десятилетия количества образования послеоперационных спаек в брюшной полости и необходимостью изыскания более эффективной и безопасной фармакотерапии [4].

В качестве активных молекул и субстанций, используемых в этом направлении, могут использоваться самые разнообразные соединения различных фармакологических групп [1]. Получены результаты, подтверждающие положительное влияние аквакомплекса глицеросольвата титана (торговое название «Тизоль») на воспалительный процесс в тканях брюшной полости. Под влиянием аквакомплекса глицеросольвата титана достоверно снижается степень отечности и проявляется выраженная противовоспалительная активность

[5]. Бишофит, входящий в состав комплекса, обладает выраженным противовоспалительным потенциалом, что в комплексном воздействии увеличивает фармакологический эффект при хирургических вмешательствах [9]. Особо следует отметить тот факт, что применение растворов бишофита показано не только в качестве препарата, воздействующего на кожные покровы, но и эффективного средства при лечении различных офтальмологических заболеваний [2; 10].

Известны эффективные и безопасные препараты, обладающие противовоспалительным и ранозаживляющим действием. Так, согласно литературным данным препараты, содержащие в своем составе природные комплексы минеральных и органических веществ, обладают широким спектром фармакологической активности [6]. Также в качестве противовоспалительного, анальгетического и антиатерогенного агента можно использовать бета-каротин [3].

Предлагаемый нами «Противоспаечный гель» (далее гель), содержащий аквакомплекс глицеросольвата титана с хлоридом магния в виде минерала бишофит, с включением макро- и микроэлементов, характеризуется полифункциональным характером действия, сочетающим противовоспалительную, иммуностимулирующую активность, ранозаживляющее действие в экспериментальной и клинической патологии. Отличительной особенностью компонентов является их низкая токсичность в сочетании с высокой эффективностью [9].

Целью исследования является изучение острой токсичности геля на мышах.

Материалы и методы. Экспериментальное исследование проводилось в соответствии с общепринятыми правилами и правилами лабораторной практики GLP [6; 7].

Эксперименты выполнены на 30 нелинейных половозрелых белых мышах массой 24,0-25,0 г 2,5-3-месячного возраста, доставленных из государственного питомника Противочумного института (г. Волгоград).

Содержание животных проводилось с учетом правил, принятых Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986). Освещение вивария было естественным, температурный режим соответствовал +20...+24 °С при влажности воздуха до 65%. Ежедневно в помещении вивария проводилась 20-минутная бактерицидная обработка.

Для проведения исследований на мышах были сформированы группы животных, состоящие из 10 особей (5 самок и 5 самцов).

Первая группа – контроль – интактный. Данная группа животных применялась в сравнительных наблюдениях с контрольными группами 2 и 3 (получавших гель внутривенно) и исключалась из эксперимента через 10 часов первых суток наблюдений.

В группе интактного контроля животные не подвергались воздействию веществ, у них не проводились исследования по массе тела.

Вторая группа – контроль – 1. Животным этой группы вводили внутривенно (при помощи металлического зонда) гель в дозе 0,8 мл/25 г/веса однократно.

Третья группа – опыт – 1. Данной группе мышей внутривенно вводили гель в дозе 0,8 мл/25 г/веса однократно.

Статистическая обработка результатов взвешивания животных проводилась с использованием пакета программ Microsoft Excel 2007. Из элементов описательной статистики вычислялись: среднее арифметическое значение (M), стандартная ошибка среднего (m), стандартное отклонение. Статистическая значимость различий количественных признаков оценивалась с использованием t-критерия Стьюдента.

Дизайн исследования

После введения геля в максимально допустимом объеме [8] животных по одной особи помещали на 24 часа в изолированные плексигласовые домики для наблюдений (150x250x150 мм). Наблюдение в первые сутки велось непрерывно в течение 10 часов, в этот период животные не имели доступа к пище и воде и были изолированы от внешних раздражителей. На вторые сутки и до окончания экспериментов наблюдения за животными вели 1-2 раза в сутки, в этот период животные имели свободный доступ к воде и пище, у них еженедельно измеряли массу тела. На вторые сутки животных объединяли (по группам) и размещали по 5 особей в клетке

В общем состоянии отмечали состояние шерстного покрова (окрас, опрятность, взъерошенность, гладкость), слизистых оболочек (окраска, отечность, наличие и характер выделений), подвижность, массу тела.

В нервно-мышечных реакциях отмечали рефлексорные реакции на внешние раздражители - звуковые (постукивание по клетке), тактильные, болевые (раздражение острым стилетом и сжатие прикорневой части хвоста), изменения положения тела (прострация, скованность, положение конечностей), тремор, судороги, парезы.

Вегетотропные реакции исследовали по реакции зрачка, наличию уриаций, дефекаций, саливаций.

Результаты исследования

При внутривенном введении мышам геля не отмечено их гибели ни в первые, ни в последующие сутки наблюдений.

Установлено, что реакции мышей на введение препарата (опытная группа) не отличались от реакций мышей контрольной группы, которым перорально (металлическим зондом) вводили гель. В эффектах после введения у мышей прослеживалось учащение

дыхания, непродолжительное двигательное возбуждение, которое продолжалось в течение от 1 до 15 мин., что, вероятно, можно расценивать как стресс-реакцию на большой объем введения вещества, так как данные эффекты наблюдались и у подопытных, и у контрольных мышей.

Динамика острого отравления гелем начинала прослеживаться через 20- 30 мин. после введения и продолжалась в течение 2-4 часов. В этот период у мышей наблюдалось: снижение двигательной активности, седация, отсутствие груминга, снижение реакций на внешние раздражители (хлопок в воздухе, постукивания по клетке, сжатие прикорневой зоны хвоста), урежение частоты дыхания, положительный симптом Штраубе. Через 45-60 мин. мыши принимали боковое положение, при этом наблюдался тремор конечностей, редкие тонические судороги. В таком состоянии животные находились в течение 3-5 часов. В последующем мыши из бокового положения переворачивались на живот, у них прекращался тремор, несколько активировалось дыхание, реакции на внешние раздражители оставались сниженными, но повышались уринации. При этом кожные покровы были розового цвета, шерстный покров не изменялся.

На вторые сутки наблюдений состояние животных оставалось практически не измененным. Животные находились в положении лежа на животе, дыхание было редким, затрудненным, фиксировались редкие тонические судороги. Кожные покровы были розовыми, шерстный покров - сероватый, неопрятный, болевая чувствительность, а также слуховая и тактильная – соответствовали контролю.

На третий день наблюдений животные начинали вставать на лапы и передвигаться по клетке. Восстанавливались потребность в пище и питье.

На четвертые сутки и до окончания наблюдений состояние животных опытных групп не отличалось от состояния мышей контрольной группы. Шерстный покров был гладким и лоснящимся, слизистые чистые, кожные покровы розовые.

Масса тела мышей, получавших гель, была положительной и статистически значимо не отличалась от значений контроль-1, получавших тизоль (таблица 1). Гендерных различий в поведении мышей не выявлено.

В связи с отсутствием гибели животных расчет ЛД₅₀ геля проводился ориентировочно с учетом максимально введенного его объема [8]. Результаты расчета представлены в таблице 2. Установлено, что ЛД₅₀ геля для мышей при внутрижелудочном введении составила более 32,0 мл/кг.

Таблица 1

Влияние геля на массу тела мышей (г, $M \pm m$) при внутрижелудочном введении в максимально допустимых объемах по условиям острого эксперимента

Варианты	Пол	Периодичность измерений		
		Исходные данные*	7 дней (прирост в %)	14 дней (прирост в %)
Контроль-1 (тизоль, внутривенно)	Самцы	24,6±0,24	25,4±1,40 (2,4)	26,4±1,12 (7,3)
	Самки	24,8±0,37	24,2±0,73 (0,0)	26,0±0,55 (4,8)
Опыт -1 (гель, внутривенно)	Самцы	24,7±0,20	24,2±0,73 (-2,0)	25,2±0,49 (2,0)
	Самки	24,6±0,24	24,2±0,58 (-1,6)	24,6±0,68 (0,0)

Примечание: *- показатель «исходные данные» – соответствует массе тела животных в первый день эксперимента перед введением испытуемого вещества.

Таблица 2

Результаты гибели мышей при изучении острой токсичности геля бишофит

Путь введения (доза препарата)	Пол животных	
	Число погибших особей/общее число в группе	
	Самцы	Самки
Внутривенно (32,0 мл/кг)	0/5	0/5

Примечание: группы контрольных животных в таблицу не внесены.

Выводы. Противоспаечный гель при внутривенном введении мышам в максимально допустимых объемах не вызывает гибели животных в ранние и отдаленные сроки наблюдений. Величина ЛД₅₀ противоспаечного геля составляет более 32,0 мл/кг и, согласно классификации токсичности веществ по И.В. Саноцкому, противоспаечный гель может быть отнесен к классу малотоксичных веществ.

Список литературы

1. Инновационные лекарственные препараты на основе минерала бишофит глубокой очистки: перспективы и проблемы применения / Митрофанова И.Ю., Сысуев Б.Б., Озеров А.А., Самошина Е.А., Ахмедов Н.М. // Фундаментальные исследования. - 2014. - № 9-7. - С. 1554-1557.
2. Обоснование возможности использования офтальмологического спрея бишофита и кислоты глицирризиновой при гнойных инфекциях глаз / Сысуев Б.Б., Спасов А.А., Митрофанова И.Ю. // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. - 2011. - № 1. - С. 62-64.

3. Перспективы расширения спектра медицинского применения бета-каротина / Малявина В.В., Швидко Е.А., Сампиев А.М. // Кубанский научный медицинский вестник. - 2010. - № 3-4. - С. 122-125.
4. Поройский С.В. Экспериментальное, морфологическое и клиническое обоснование патогенеза, диагностики и профилактики послеоперационного спайкообразования : автореф. дис. ... д. м. наук. – Волгоград, 2012.
5. Применение геля «Тизоль» и его специализированных композиций в лечении гнойных хирургических заболеваний / Козлов В.А. [и др.] // Методические рекомендации. – Екатеринбург, 2006. - С. 6.
6. Разработка состава эмульсионной мази «Эльтон» / Ростовская Н.С., Плетнева И.В., Симонян А.В., Манина Д.А. // Фармация. - 2011. - № 5. - С. 38-40.
7. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / под ред. А.Н. Миронова. - М. : Гриф и К, 2012. - Ч. 1. – 944 с.
8. Саноцкий И.В. Методы определения токсичности и опасности химических веществ. (Токсикометрия). – М. : Медицина, 1970. – 343 с.
9. Технологические и фармакологические исследования минерала бишофит как источника магнийсодержащих лекарственных средств / Сысуев Б.Б. : дис. ... д. фарм. наук. – Волгоград, 2012.
10. Технология получения и анализ раствора с бишофитом для применения в офтальмологии / Митрофанова И.Ю., Сысуев Б.Б. // Волгоградский научно-медицинский журнал. - 2008. - № 4 (20). - С. 22-23.

Рецензенты:

Пантюхин А.В., д.фарм.н., доцент, заведующий кафедрой фармацевтической технологии и биотехнологии ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России, г. Саратов;

Петров А.Ю., д.фарм.н., к.х.н., профессор заведующий кафедрой фармации ГБОУ ВПО «УГМУ» Минздрава России, г. Екатеринбург.