

## ИЗУЧЕНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ НОВОГО ПРЕПАРАТА «ПРОТИВОСПАЕЧНЫЙ ГЕЛЬ» В ДОКЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Сысуюев Б.Б.<sup>1,2</sup>, Поройский С.В.<sup>1,2</sup>, Бугаева Л.И.<sup>2</sup>, Самошина Е.А.<sup>1,2</sup>, Самарская А.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет», г. Волгоград,  
Ekaterina\_samosh@mail.ru

<sup>2</sup> ГБУ «Волгоградский медицинский научный центр», г. Волгоград.

---

Проведено исследование по изучению хронической токсичности противоспаечного геля. Экспериментальное исследование проводилось в соответствии с общепринятыми правилами лабораторной практики GLP. Хроническую токсичность противоспаечного геля проводили на конвенциональных белых крысах 3,5 – 4-х. месячного возраста. Состав геля обладает полифункциональным характером действия, доступностью и экономичностью сырья природного происхождения. Отдельные электрокардиографические, гематологические и биохимические изменения, выявленные в период введения вещества крысам, не выходили за рамки физиологических норм и восстанавливались в течение месяца после отмены его введения до уровня контрольных значений. По результатам хронических исследований установлено, что противоспаечный гель при внутрижелудочном введении крысам в дозах 0,2 грамма; 1,0 грамм и 2,0 грамма/кг мг/кг не оказывает патологического действия на основные гомеостатические константы, т.е. является безопасным.

---

Ключевые слова: бишофит, аквакомплекс глицеросольвата титана, хроническая токсичность, противоспаечный гель.

## STUDY OF CHRONIC TOXICITY OF THE NEW DRUG, AN ANTIADHESION GEL IN PRECLINICAL PRACTICE

Sysuev B.B.<sup>1,2</sup>, Poroysky S.V.<sup>1,2</sup>, Bugaeva L.I.<sup>2</sup>, Samoshina E.A.<sup>1,2</sup>, Samarskaya A.A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>400131, Russian Federation, Volgograd, 1, Pavshikh Bortsov Sq., State Educational Institution of Higher Professional Education “The Volgograd State Medical University of Public Health Ministry of the Russian Federation” (VolgSMU)

<sup>2</sup>400131, Russian Federation, Volgograd, 1, Pavshikh Bortsov Sq., State Budgetary Institution «Volgograd medical research center», Volgograd

---

A study on chronic toxicity antiadhesion gel. The experimental studies were conducted in accordance with the rules of laboratory practice of GLP. Chronic toxicity antiadhesion gel was performed at the conventional white rats 3.5 - 4 -. months of age. The gel has a multifunctional actions available and cost of raw materials of natural origin. Some electrocardiographic, hematologic and biochemical changes detected during substance to rats, did not go beyond the physiological norms and recovered within a month after the cancellation of his administration to the level of the control values. According to the results of chronic investigations found that gel at antiadhesion intragastric administration to rats at doses of 0.2 grams; 1.0 gram and 2.0 grams / kg mg / kg has no pathological effects on the basis homeostasis cal constant, i.e. It is safe.

---

Keywords: Bishofit, aquacomplex glitserosolvata titanium, chronic toxicity, antiadhesion gel.

Существующий в России высокий интерес в области разработки лекарственных средств, для профилактики образования послеоперационных спаек сопровождается повышением требований к их эффективности и безопасности; методам контроля их качества. По сравнению с аналогичными лекарственными препаратами они обладают рядом отличительных особенностей: они содержат, как правило, несколько биологически активных веществ, которые определяют основное фармакологическое действие препаратов; обладают широким спектром биологической активности [3, 7].

Нами разработана комбинация препарата «Противоспаечный гель» на основе аквакомплекса глицеросольвата титана и раствора минерала бишофит очищенного для

профилактики образования послеоперационных спаек в брюшной полости, обладающий полифункциональным характером действия, доступностью и экономичностью сырья природного происхождения, что, в свою очередь, значительно снижает затраты на лечение данных заболеваний [1, 4, 10].

С момента формирования идеи о создании нового лекарственного препарата процесс его разработки неразрывно связан с проведением доклинических исследований. Такие исследования позволяют оценить эффективность того или иного вещества или их комбинации и выбрать наиболее оптимальный состав будущего лекарственного препарата. После утверждения его состава проводят доклинические исследования безопасности и эффективности [5, 8, 9].

Государственная регистрация лекарственного препарата осуществима лишь при условии детального изучения его специфической фармакологической активности и безопасности на этапе экспериментальных исследований. В России эти исследования проводятся в соответствии с приказом Министерства промышленности и торговли Российской Федерации от 14 июня 2013 г. № 916 «Об утверждении правил организации производства и контроля качества лекарственных средств».

Доклиническое исследование лекарственного средства включает в себя биологические, микробиологические, токсикологические и другие исследования лекарственного средства путем применения научных методов оценок в целях получения доказательств безопасности, качества и эффективности лекарственного средства [2].

Целью исследования является изучение хронической токсичности противоспаечного геля на этапе доклинического изучения.

### **Материалы и методы**

Экспериментальное исследование проводилось в соответствии с общепринятыми правилами и правилами лабораторной практики GLP.

Содержание животных находилось в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986; директива 86/609/ЕЕС). Температура воздуха в виварии поддерживалась на уровне +20 – +24°C. Влажность воздуха в виварии была не более 65 %, освещение – совмещенное [6].

Хроническую токсичность противоспаечного геля проводили на конвенциональных белых крысах 3,5–4 месячного возраста. Подопытных группам животных противоспаечный гель вводили интрагастрально в дозах: 0,2 г/кг (соответствует экспериментально – терапевтической дозе), 1,0 г/кг (соответствует промежуточной дозе, которая в 5 раз превышала терапевтическую) и 2,0 г/кг (соответствует токсической дозе, которая превышала терапевтиче-

скую в 10 раз). Контрольным животным интрагастрально вводили препарат тизоль (основа противоспаечного геля) в дозе 2 г/кг, курсом 1 месяц.

Взвешивание животных проводили на электронных весах MW – 120 (Корея) каждые десять дней от начала эксперимента. Вес крыс выражали в г.

Результаты исследований подвергали статистической обработке в программе Microsoft Excel и Statistica 6.0. с использованием t-критерия Стьюдента. Из элементов описательной статистики вычислялись: среднее арифметическое значение (M), стандартная ошибка среднего (m), стандартное отклонение.

### **Дизайн исследования**

Влияние противоспаечного геля при курсовом введении крысам в течение 1-го месяца оценивали по общему состоянию, прибавки массы тела, пищевой, питьевой и поведенческой активностей, периферической крови, функциональным, биохимическим и патоморфологическим исследованиям.

По ходу эксперимента проводили наблюдения за общим состоянием животных, их поведением и потреблением корма и воды. Общее состояние животных оценивали по поведению, состоянию шерстного покрова, кожных и слизистых покровов, динамике массы тела.

Для исследования поведенческой активности животных в тесте «открытое поле» животное помещали в центральный квадрат установки, наблюдения вели в течение 3 мин. Учитывали: количество пересеченных квадратов – горизонтальная активность (ГДА); вертикальных стоек – вертикальная активность (ВДА); заглядываний в напольные отверстия – исследовательская активность (ИА); актов груминга (Гр.); актов дефекаций – по числу болюсов (ЭА).

Запись электрокардиограммы проводили через 1 месяц введения препарата, и через 1 месяц его отмены во втором стандартном отведении на тепловом трехканальном электрокардиографе ЭКЗТ – 02 «АКСИОН» (Удмуртия, Ижевск). Для проведения биохимических исследований забранную кровь центрифугировали на центрифуге при 3000 об/мин и микропипеткой отделяли плазму. В плазме крови животных определяли содержание глюкозы, общего белка, трансаминаз, мочевины, креатинина.

О функции почек судили по содержанию мочевины и креатинина в плазме крови животных, а также функциональной пробе с феноловым красным. О функциональной активности печени судили в исследованиях нагрузочного теста с красителем бромсульфалеин (Хазанов А.М., 1968; Сандоре В.Ю. и соавт., 1976; Израйлет Л.И. и соавт., 1976).

Результаты исследований подвергали статистической обработке в программе Microsoft Excel, достоверность результатов оценивали с использованием t-критерия Стьюдента.

### Результаты исследования

По результатам наблюдений за состоянием животных, получавших противоспаечный гель в дозах 0,2; 1,0; и 2,0 г/кг (соответственно подопытные группы 1; 2 и 3) в течение одного месяца, особых изменений относительно 1-ой группы контрольных крыс, получавших тизоль в дозе 2 г/кг, не обнаружено. Все подопытные группы крыс были практически одинаковы в отношении состояния шерстного покрова, слизистых, потреблению пищи и воды, поведения. При этом у подопытных животных во 2-й и 3-й группах отмечались элементы седации, тенденции снижения подвижности и реакций на внешние раздражители.

В период введения вещества динамика изменений была положительной у всех животных, включенных в эксперимент. При этом достоверных различий в динамике прироста массы тела контрольных животных у всех подопытных групп не выявлялось. Отмечались лишь незначимые тенденции меньшей динамики прибавки массы тела у крыс самцов во 2-й и 3-й подопытных группах, нивелирующиеся до контрольных значений в течение месяца после отмены введения им противоспаечного геля.

Результаты исследований поведенческой активности крыс в тесте «Открытое поле» видны гендерные различия в поведенческой активности крыс, получавших противоспаечный гель в течение 1 месяца.

Результаты изучения электрокардиограмм крыс особых различий в показателях электрофизиологической активности миокарда у крыс в подопытных группах и группе контроль – 1 не зарегистрировано ни в период месячного интрагастрального введения противоспаечного геля, ни в период отмены его введения.

Результаты биохимических исследований плазмы крови крыс отмечены как однонаправленные, так и гендерные различия.

Результаты изучения влияния противоспаечного геля на биохимические показатели плазмы крови крыс-самцов

Биохимические параметры	Контроль (интактный)	Контроль – 1 Тизоль 2 г/кг	Группа 1 (0,2 г/кг)	Группа 2 (1 г/кг)	Группа 3 (2 г/кг)
Глюкоза (ммоль/л)	4,9±0,63	4,2±0,21	7,1±1,40	6,5±0,93	5,2±0,95
Общий белок (г/л)	94,4±4,19	79,6±3,12	84,4±3,77	88,9±4,09	64,4±0,63*
Креатинин (ммоль/л)	158,7±19,96	180,3±27,92	157,1±27,42	162,0±31,14	118,0±14,56
Щелочная	1,9±0,19	1,2±0,17	1,7±0,22	2,0±0,57	1,4±0,07

фосфатаза (мккат/л)					
Мочевина	5,6±0,43	6,8±0,44	7,2±0,61	7,0±0,19	6,2±0,49
Аланин – аминотрансфераза (мккат/л)	0,5±0,09	0,4±0,00	0,4±0,03	0,4±0,02	0,5±0,02
Аспаргат – аминотрансфераза (мккат/л)	0,6±0,07	0,5±0,02	0,5±0,04	0,5±0,07	0,7±0,11
Холестерин (ммоль/л)	1,7±0,35	1,6±0,23	1,0±0,08	1,8±0,32	1,3±0,24

Примечание: \* – изменения достоверны относительно группы интактного контроля при  $P < 0,05$ .

Установлены в разной степени выраженности, но однонаправленное повышение в плазме крови у подопытных крыс самцов уровня глюкозы на 69,0 % ( $p > 0,05$ ); 54,8% ( $p > 0,05$ ) и 23,8% ( $p > 0,05$ ), соответственно во всех группах, и у крыс самок на 17,3 % ( $p > 0,05$ ); 25,0 % ( $p > 0,05$ ) и 17,3% ( $p > 0,05$ ), соответственно группам 1, 2 и 3. Различными были изменения белкового обмена.

Результаты изучения влияния противоспаечного геля на поглотительно-выделительную функцию печени (проба с бромсульфалеином) существенных изменений в группах опыт и контроль не обнаружено ни в период введения противоспаечного геля, ни после его отмены.

На основании проведенных исследований можно заключить, что при месячном курсе перорального введения крысам противоспаечного геля в дозах 0.2; 1,0 и 2,0 г/кг не оказывает патологического влияния на состояние внутренних органов крыс. Выявляющееся полнокровие венул в легких, миокарде, головном мозге, почках, печени было обратимо, нивелировалось после отмены и может лишь свидетельствовать об активации кровоснабжения данных органов. Наиболее отчетливые изменения наблюдались у крыс под действием противоспаечного геля, вводимого в дозе 2 г/кг. Вместе с тем данные эффекты были также обратимы и могут, вероятно, свидетельствовать о повышенной организации защитных реакций данных органов и возможно – о влиянии исследуемого вещества на данные органы – как на «орган – мишень».

**Выводы.** Проведено изучение 1 месячной хронической токсичности вещества противоспаечный гель при интрагастральном введении половозрелым крысам самкам и самцам. По результатам хронических исследований установлено отсутствие патологического влияния на основные гомеостатические константы животных. Отдельные электрокардиографические, гематологические и биохимические изменения, выявленные в период введения вещества

крысам, не выходили за рамки физиологических норм и восстанавливались в течение месяца после отмены его введения до уровня контрольных значений.

Таким образом, на основании проведённых исследований можно сделать вывод, что противоспаечный гель при внутрижелудочном введении крысам в дозах 0,2 г/кг (соответствует экспериментально – терапевтической дозе); 1,0 г/кг соответствует промежуточной дозе, которая в 5 раз превышала терапевтическую, и 2,0 г/кг (соответствует токсической дозе, которая превышала терапевтическую в 10 раз) не оказывает патологического действия на основные гомеостатические константы, т. е. является безопасным.

### Список литературы

1. Анализ распределения клеточных элементов в сформированных спайках верхнего этажа брюшной полости / В. Б. Барканов, А. А. Воробьев, С. В. Поройский, Б. Б. Полуосьмак, А. Н. Горячев // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. 2009. № 2. С. 48–51.
2. Изучение морфологических особенностей процессов репарации кожных ран под влиянием глазных капель бишофита / Б. Б. Сысуев, А. В. Смирнов, И. Ю. Митрофанова // Современные проблемы науки и образования. 2011. № 4. С. 71.
3. Иммобилизация ферментов и других биологически активных веществ / И. Н. Андреева, А. В. Пантюхин, Б. Б. Сысуев, Э. Ф. Степанова. Пятигорск: Изд. ПятГФа, 2001.
4. Инновационные лекарственные препараты на основе минерала бишофит глубокой очистки: перспективы и проблемы применения / И. Ю. Митрофанова, Б. Б. Сысуев, А. А. Озеров, Е. А. Самошина, Н. М. Ахмедов // Фундаментальные исследования. 2014. № 9–7. С. 1554–1557.
5. Обоснование возможности использования офтальмологического спрея бишофита и кислоты глицирризиновой при гнойных инфекциях глаз / Б. Б. Сысуев, А. А. Спасов, И. Ю. Митрофанова // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. 2011. № 1. С. 62–64.
6. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / под ред. А. Н. Миронова. М.: Гриф. и К, 2012. Ч. 1. 944 с.
7. Современные аспекты применения нанотехнологий при разработке лекарственных форм нового поколения / Б. Б. Сысуев, Н. М. Ахмедов, Е. А. Самошина [и др.] // Научно-производственный журнал «Разработка и регистрация лекарственных средств». 2015. № 2 (11).

8. Современное состояние исследований разработок в области инновационных лекарственных форм и их модификаций / Б. Б. Сысуев, И. В. Плетнева // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. 2014. № 4 (52). С. 7–12.
9. Технология изготовления пероральной жидкой лекарственной формы с бишофитом и методы ее анализа / Б. Б. Сысуев // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. 2006. № 4. С. 42–46.
10. Технологические и фармакологические исследования минерала бишофит как источника магнийсодержащих лекарственных средств / Б. Б. Сысуев: автореф. дис. ... д-ра фарм. наук / ГОУВПО «Пятигорская государственная фармацевтическая академия». Пятигорск, 2012.

**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.