

Т.О. Перцева, член-кор. АМН України, В.Й. Мамчур, проф., О.В. Гуржій

ІНГАЛЯЦІЙНА ТОКСИЧНІСТЬ ПРЕПАРАТУ "ФЕРРУМ-ЛЕК" В ЕКСПЕРИМЕНТІ НА БІЛИХ ЩУРАХ

Дніпропетровська державна медична академія

Мукоциліарний кліренс (МЦК) є однією з найважливіших ланок системи місцевого захисту органів дихання та являє собою багатшаровий миготливий епітелій, вкритий шаром слизу, що складається зі щільної (гель) та рідкої (золь) фаз. Антропогенні забруднювачі навколишнього середовища, сигаретний дим чинять негативний вплив на стан МЦК, що призводить до порушення дренажної функції бронхів та розвитку хронічних бронхолегеневих захворювань. Це потребує своєчасної діагностики виникаючих порушень для раціональної корекції та попередження розвитку незворотних змін у бронхіальному дереві [2, 12].

Існує велика кількість способів діагностики порушень МЦК *in vivo* та *in vitro* [3]. Однак, більшість з них важко застосовувати на практиці, що пов'язано з високою вартістю досліджень, трудомісткістю, використанням складного обладнання, для роботи з яким потрібні спеціальні знання та навички, значним зниженням точності за рахунок інвазивності досліджень, відсутністю об'єктивних критеріїв оцінки результатів, несприятливим впливом деяких видів досліджень на здоров'я людини [3, 4]. Все це спонукало до пошуків такого метода дослідження, який був би простим у виконанні, не потребував би суттєвих матеріальних витрат, складного обладнання, спеціально навченого персоналу, був би нешкідливим для здоров'я людини.

Максимально відповідає вищезазначеним вимогам метод, заснований на визначенні попередньо інгальованої речовини-маркера у відкашлюваному мокротинні, наприклад, у якості такого маркера ви-

користовують гемоглобін, виділений з аутокрові [10, 12]. По часу виведення гемовміщуючих речовин з мокротинням роблять висновки про стан МЦК. Метод був модифікований, оскільки мав свої слабкі сторони: ризик інфікування, неоднозначне ставлення пацієнтів до інгаляції розчину з аутокрові, суттєва витрата робочого часу на приготування інгаляційного розчину. З метою оптимізації роботи під час приготування інгаляційного розчину запропоновано венозну кров пацієнта замінити препаратом "Феррум-лек", який складається із заліза (III) у комплексі з мальтозою. Препарат стерильний, застосовується без попередньої підготовки. Це одразу призводить до виключення вищеперелічених недоліків та спрощення методики.

Інструкція до медичного застосування препарату "Феррум-лек" не передбачає інгаляційний шлях введення в організм, і дані з цього приводу в літературі відсутні. Тому метою нашої роботи було дослідити токсичні властивості препарату "Феррум-лек" при його інгаляційному введенні.

Матеріали та методи досліджень

Досліди проведені на 46 різностатевих білих щурах масою 170-230 г; 6 різностатевих кролях масою 2,5-3,5 кг. Утримання та годування тварин проводили згідно вимог нормативних документів [5] в стандартних умовах віварія.

Гостру токсичність визначали на 10 білих щурах [13]. Тварин розміщували в інгаляційній камері, де їм проводилось інгаляційне введення аерозолі препарату "Феррум-лек" щільністю 12,5 мг/л зі швидкістю 2 л/хв [11]. Через 1 год тварин відсад-

жували з камери в клітки та спостерігали за ними протягом 14 днів. Оцінку гострого токсичного впливу малеату заліза здійснювали шляхом щоденної реєстрації загального стану тварин, їх активності, а також шляхом виміру маси тіла, частоти дихання (ЧД), частоти серцевих скорочень (ЧСС), ректальної температури на початку та на 7 і 14 дні дослідження [9].

Метою підгострих токсикологічних експериментів було визначення ступеня пошкоджуючої дії фармакологічної речовини при її тривалому застосуванні, визначення найбільш чутливих органів та систем організму. Підгостру токсичність малеату заліза досліджували в 2 дозах. Для вибору доз керувались результатами, отриманими при дослідженні гострої токсичності препарату. При цьому приймали до уваги можливість впливу всіх побічних факторів, не пов'язаних з прийомом препарату (захворювання тварин, їх годування, утримання та ін.) [8].

Підгостру токсичність визначали на 36 білих щурах. Всіх тварин методом рандомізації було розподілено на 4 групи. Першу та другу групи склали щури (по 10 тварин в кожній), яким інгаляційно вводили 1/5 та 1/10 максимальної введеної дози малеату заліза протягом 1 місяця. Третю групу (контрольну) склали 10 тварин, яким інгаляційно вводили дистильовану воду. Щурів 4 групи (6 інтактних тварин) знеживлювали декапітацією під ефірним наркозом для визначення початкових показників крові. Інгаляційне введення малеату заліза проводили 6 днів на тиждень на протязі 1 місяця.

У тварин оцінювали основні інтегральні показники, реакцію поведінки вивчали за допомогою методики "відкрите поле" [1], реєстрували ЕКГ [13], проводили загальний та біохімічний аналізи крові, морфологічні дослідження внутрішніх органів.

Місцево-подразнюючий вплив 5% розчину малеату заліза вивчали на 6 різностатевих кролях масою 2,5-3,5 кг.

Статистичну обробку даних здійснювали методом варіаційної статистики за допомогою персональної комп'ютерної техніки — AMD Atlon XP та програми Excel XP. Достовірність отриманих результатів оцінювали, використовуючи

параметричний критерій "t" Стьюдента при $p < 0,05$ [6].

Результати та їх обговорення

Під час визначення гострої токсичності максимальна введена доза (МВД) малеату заліза кожній тварині дорівнювала 1500 мг/кг, що в 1050 разів перевищує середньотерапевтичну дозу цього препарату для людини (100 мг) [7]. Жодна з тварин не загинула як під час інгаляції, так і на протязі наступних 14 днів. За весь час спостереження загальний стан тварин не змінювався, не встановлено значущої різниці в показниках ЧД, ЧСС, температури та маси тварини (табл. 1).

У підгострому експерименті загинув тварин, яким тривало (на протязі 1 міс) інгаляційно вводили 1/10

та 1/5 МВД малеату заліза, та шурів контрольної групи не спостерігалась. Протягом всього дослідження не відмічалось змін загального стану тварин всіх груп. У всіх групах відмічена однакова позитивна динаміка маси тіла. Не встановлено вірогідної різниці між групами ЧД, ЧСС, температури протягом всього дослідження. У тварин всіх груп не відбувалось змін в емоціональному реагуванні, руховій та дослідницькій активності (табл. 2).

Показники ЕКГ тварин, які отримували інгаляційно 1/10 та 1/5 МВД малеату заліза, знаходились в межах норми [11] та суттєво не відрізнялись ($P > 0,05$) від контролю (табл. 3). Ці дані свідчать про відсутність негативного впливу малеату заліза на функціональну ак-

тивність серця при його інгаляційному використанні в досліджуємих дозах.

Клітинний (табл. 4) та біохімічний (табл. 5) склади крові шурів не змінювалися протягом всього дослідження.

Морфологічне дослідження внутрішніх органів тварин, які отримували 1/10 та 1/5 максимально введеної інгаляційної дози "Феррум-лек", показало відсутність деструктивних та некробіотичних змін з боку елементів паренхіматозних органів, запально-інфільтративних процесів в інтерстиційній сполучній тканині та реактивних змін з боку судин.

Проведене дослідження показало, що у жодного з кролів не спостерігалось змін стану кон'юнктиви

Таблиця 1

Динаміка показників стану тварин

Терміни досліджень	Загальний стан	ЧД (за хв)	ЧСС (за хв)	Маса тіла (г)	Ректальна температура (°C)
Вихідні дані	Норма	93,9±2,24	464,5±8,63	202±4,16	38,08±0,08
Через 7 днів	Норма	89,8±2,43	462,8±8,73	207±4,42	38,05±0,03
Через 14 днів	Норма	91,6±2,09	463,9±8,38	209±3,63	38,0970,05

Таблиця 2

Динаміка показників стану тварин (метод "відкрите поле")

Характер досліду	Терміни досліджень	Кількість квадратів	Стійки	Грумінг	Болюси	Нірки
1/10 МВД	Вихідні дані	19,7±1,87	2,9±0,50	18,0±2,23	1,9±0,27	3,0±0,77
	2 тиж інгаляції	19,8±1,58	3,0±0,49	20,7±3,38	2,0±0,33	3,3±0,56
	4 тиж інгаляції	19,8±3,03	3,0±0,70	19,2±3,51	2,4±0,50	2,8±0,86
1/5 МВД	Вихідні дані	17,0±1,24	3,9±0,60	18,4±3,78	2,5±0,40	2,4±0,70
	2 тиж інгаляції	17,3±1,50	3,7±0,51	17,6±2,48	2,2±0,44	2,7±0,57
	4 тиж інгаляції	19,0±2,07	3,0±0,63	18,6±3,64	2,0±0,31	2,8±0,58
Контроль	Вихідні дані	17,2±0,85	3,4±0,60	20,0±2,41	2,6±0,33	2,5±0,50
	2 тиж інгаляції	17,7±2,17	3,6±0,67	18,7±1,88	2,5±0,45	2,4±0,40
	4 тиж інгаляції	17,8±2,78	3,0±0,44	17,8±2,33	1,8±0,20	2,6±0,50

Динаміка показників ЕКГ щурів дослідних та контрольної груп в підгострому експерименті

Характер досліджу	Терміни досліджень	Інтервали (мс)			Амплітуда зубців (мв)	
		PQ	QRS	RR	P	R
1/10 МВД	Вихідні дані	44,1±1,52	18,1±1,04	127±3,43	0,06±0,01	0,51±0,02
	2 тиж інгаляції	45,4±1,22	18,9±0,67	133±3,29	0,07±0,009	0,53±0,01
	4 тиж інгаляції	44,7±1,47	19,5±0,79	132±5,03	0,08±0,025	0,50±0,03
1/5 МВД	Вихідні дані	47,4±1,26	17,0±1,04	136±3,81	0,06±0,009	0,60±0,03
	2 тиж інгаляції	45,9±1,41	17,7±0,91	136±3,45	0,06±0,007	0,60±0,03
	4 тиж інгаляції	44,2±2,78	19,0±1,41	134±5,68	0,05±0,006	0,62±0,02
Контроль	Вихідні дані	42,6±1,33	19,9±0,93	128±3,23	0,06±0,012	0,50±0,02
	2 тиж інгаляції	42,4±1,44	20,6±1,43	128±3,24	0,06±0,009	0,50±0,03
	4 тиж інгаляції	41,0±1,87	20,4±1,80	129±4,63	0,07±0,013	0,52±0,03

Таблиця 4

Вміст гемоглобіну та лейкоцитів в крові щурів (підгострий експеримент)

Показники	4 група	1/10 МВД		1/5 МВД		Контроль	
	вихідні дані	2 тиж інгаляції	4 тиж інгаляції	2 тиж інгаляції	4 тиж інгаляції	2 тиж інгаляції	4 тиж інгаляції
Гемоглобін (г/л)	145±2,0	150±1,4	147±2,5	148±2,1	147±1,8	143±2,5	146±2,2
Лейкоцити (10 ⁹)	8,9±0,1	9,1±0,1	9,1±0,1	9,3±0,2	9,1±0,1	9,1±0,3	8,8±0,1

Таблиця 5

Динаміка біохімічних показників крові щурів в підгострому експерименті

Групи тварин	Терміни досліджень	АЛТ (мкмоль/мл*ч)	Креатинин (мкмоль/л)	Сироваткове залізо (ммоль/л)
4 група	Вихідні дані	1,70±0,009	167±1,96	22,5±1,06
1/10 МВД	2 тиж інгаляції	1,70±0,01	168±0,83	23,6±1,70
	4 тиж інгаляції	1,67±0,01	168±2,15	24,2±1,43
1/5 МВД	2 тиж інгаляції	1,68±0,005	167±1,20	23,8±1,60
	4 тиж інгаляції	1,67±0,01	167±1,02	22,7±1,65
Контроль	2 тиж інгаляції	1,67±0,016	167±0,73	24,3±1,50
	4 тиж інгаляції	1,65±0,01	167±1,02	24,8±1,51

ока при введенні 5% розчину малеату заліза ("Феррум-лек") — реакцію було оцінено в 0 балів на 15, 30, 60 хвилинах та через 24 і 48 годин.

Висновки

1. Одноразова інгаляція аерозолі "Феррум-лек" в максимальній дозі 1500 мг/кг не викликає загибелі шурів та суттєвих змін в їх загальному стані, що свідчить про відсутність гострого токсичного впливу.

2. При тривалому (на протязі 1 міс) щоденному введенні 1/10 та 1/5 максимальної інгаляційної дози "Феррум-лек" не спостерігалось загибелі шурів, змін їх загального стану, поведінкових реакцій, функціонального стану серця, нирок, печінки, морфологічного складу крові, що свідчить про відсутність підгострого токсичного впливу.

3. "Феррум-лек" не виявляє місцево-подразнюючої дії (кон'юнк-

тивальна проба).

4. Відсутність гострого та підгострого токсичного впливу препарату "Феррум-лек" на тварин дає підставу зробити висновок про можливість проведення клінічних іспитів з подальшим інгаляційним застосування препарату в діагностичній методиці по дослідженню стану МЦК у хворих з бронхолегеневою патологією.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абуладзе Г.В. Изучение эмоциональности крыс и мышей в поведенческих и фармакологических экспериментах методом "открытое поле" // Изв. АН СССР, сер. биол. — 1983. — Т.9, №3. — С.156-165.
2. Касаткин Ю.Н., Иванов А.И., Выренкова Н.Ю. Состояние мерцательного эпителия бронхов и мукоцилиарного транспорта при хроническом бронхите на фоне длительного курения // Клин. медицина. — 1991. — №5. — С.50-52.
3. Кобылянский В.И. Методы исследования мукоцилиарной системы: возможности и перспективы // Терапевт. арх. — 2001. — №3. — С.73-76.
4. Кобылянский В.И., Кокосов А.Н., Чернякова Д.Н. Функционально-морфологическое исследование мукоцилиарной системы на этапах болезни у больных хроническим бронхитом // Терапевт. арх. — 1997. — №3. — С.12-16.
5. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А., Западнюк Б.В. — Киев: Вища школа, 1983. — С. 383.
6. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL. — К.: "Морион", 2001. — 408 с.
7. Лекарственные препараты в России: Справочник Видаль. — М.: ОУПЕЕ-АстраФармСервис, 2005. — 1408 с.
8. Методические указания по изучению общетоксического действия фармакологических веществ. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Арзамасцев Е.В., Гуськова Т.А., Березовская И.В. и др. — М., 2000. — С.18-24.
9. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Кожем'якін Ю.М., Хромов О.С., Філоненко М.А., Сайфетдінова Г.А. — К.: Авіцена, 2002. — 156 с.
10. Пилипчук Н.С., Прохорова И.В. О методике исследования мукоцилиарного клиренса у больных с воспалительными заболеваниями легких // Пробл. туберкулеза. — 1991. — №7. — С.49-51.
11. Проблема нормы в токсикологии (современные представления и методические подходы, основные параметры и константы) / Трахтенберг И.М., Сова Р.Е., Шефтель В.О., Оникиенко Ф.А. — М.: Медицина, 1991. — 208 с.
12. Солопов В.Н., Луничкина И.В. Мукоцилиарный транспорт при хроническом бронхите // Сов. медицина. — 1987. — №10. — С.3-5.
13. Стефанов О.В. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації). — Київ: "Авіцена", 2001. — 527 с.

Т.А. Перцева, В.І. Мамчур, Е.В. Гуржий

ИНГАЛЯЦИОННАЯ ТОКСИЧНОСТЬ ПРЕПАРАТА "ФЕРРУМ-ЛЕК" В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА БЕЛЫХ КРЫСАХ

Установлено отсутствие токсического влияния препарата "Феррум-лек" при ингаляционном введении белым крысам в остром и подостром эксперименте, что делает возможным проведение дальнейших клинических исследований этого лекарственного средства в качестве маркерного вещества для диагностики состояния мукоцилиарного клиренса у пациентов с бронхолегочной патологией.

T.A. Pertseva, V.I. Mamchur, E.V. Gurzhiy

THE INHALATION TOXIC PROPERTIES OF "FERRUM-LEK" IN EXPERIMENTAL STUDY ON WHITE RATS

It wasn't established toxic influence of "Ferrum-lek" during its inhalation using to white rats in acute and subacute experiment. It is allowed to conduct further clinical investigations with further possible inhalation using of "Ferrum-lek" as a marker in diagnostic method for evaluation of MCC condition in patients with broncho-pulmonary pathology.