

В.А. Стельмах

Изучение резистентности организма экспериментальных животных при эпикутанном и внутрикожном воздействии полимер-лекарственного комплекса полиангидроглюкуроновой кислоты с линкомицином и химотрипсином

Учреждение Белорусского государственного университета «Научно-исследовательский институт физико-химических проблем»

В статье проведен анализ изменений в организме подопытных животных (белых крыс, кроликов, морских свинок) в условиях одно- и многократного воздействия на кожные покровы и слизистые оболочки лекарственного средства «Феранцел» (комплексного полимерного препарата, содержащего иммобилизованные на полиангидроглюкуроновой кислоте антибиотик – линкомицин и протеолитический фермент – химотрипсин). Результаты исследований показывают, что в условиях однократного воздействия препарат не проявляет местно-раздражающих, кожно-резорбтивных и сенсибилизирующих свойств. Длительное эпикутанное воздействие препарата способствует индукции у подопытных животных незначительных общерезорбтивных эффектов без проявления местно-раздражающих свойств. Ключевые слова: эпикутанное воздействие, местно-раздражающие свойства.

На основе полиангидроглюкуроновой кислоты (окисленной целлюлозы), антибиотика линкомицина и протеолитического фермента химотрипсина создан полимер-лекарственный комплекс, который получил название «Феранцел». Данное лекарственное средство обладает гемостатическим, антимикробным и протеолитическим действием, характерным для его индивидуальных компонентов [1]. С учетом аппликационного и имплантационного применения «Феранцела» при лечении и профилактике гнойно-воспалительных заболеваний кожи, мягких тканей и слизистых оболочек, представляется необходимым изучение особенностей биологического действия указанного полимер-лекарственного комплекса при его однократном и длительном воздействии на кожные покровы и слизистые оболочки экспериментальных животных. Результаты указанных исследований обсуждены в настоящем сообщении.

Материал и методы

«Феранцел» был изготовлен и поступил для исследований из лаборатории лекарственных средств на основе модифицированных полисахаридов НИИ физико-химических проблем Белгосуниверситета в виде 10%-го коллоидного раствора с рН 6,15. Образцы препарата соответствовали ФС [12] и содержали химотрипсин (протеолитическая активность которого по казеину составляла 3,5-4,5 ЕД/минг сухого препарата) и линкомицин (содержание 280-320 мг/г сухого препарата), иммобилизованные на окисленной целлюлозе [13]. Экспериментальные исследования особенностей эпикутанного действия раствора «Феранцела» выполняли согласно методическим указаниям [7] на

трех видах лабораторных животных: белых крысах, кроликах и морских свинках.

В однократных экспериментах оценивали местно-раздражающее действие раствора препарата на кожу и слизистые оболочки кроликов, морских свинок и крыс в стандартных условиях [7]. Проведено углубленное изучение состояния организма белых крыс в условиях длительного (в течение 30 суток) ежедневного эпикутанного воздействия раствора препарата в стандартной дозе (0,02 мл 10%-го коллоидного раствора на 1 см² кожного покрова, время экспозиции – 4 часа в день). В динамике эксперимента и по его окончании исследовали ряд физиологических (масса и температура тела, суммационно-пороговый показатель, частота сердцебиения [8]), гематологических (количество в крови эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина [9]) и биохимических (содержание белка, мочевины и хлоридов в моче и сыворотке крови, глюкозы и общих липидов в крови [4]) показателей. Внутренние органы (печень, почки, сердце, легкие, селезенка, надпочечники) взвешивали на электронных весах и вычисляли относительные коэффициенты их массы [7]. Выбор указанных методов исследования был связан с имеющимися сведениями о том, что характер биологического действия полимер-лекарственных комплексов на основе окисленной целлюлозы проявляется в основном в реализации ионоактивных свойств их полимерной матрицы, способной при воздействии в массивных дозах вмешиваться в состояние водно-солевого обмена организма подопытных животных [10, 11].

Наряду с этим проводили моделирование сенсibilизации путем однократного внутрикожного введения в ухо морским свинкам-альбиносам стандартной дозы препарата «Феранцел» (0,57 мг/кг в объеме 20 мкл) [5]. На двенадцатые сутки после воздействия выполняли аллергологические провокационные пробы с помощью аппликаций тест-гаптена в оттитрованной дозе на лишенные шерстного покрова участки кожи лабораторных животных. Степень проявления гиперчувствительности замедленного типа оценивали по интенсивности эритематозной реакции на коже с помощью колориметрической линейки [5]. В это же время в крови животных исследовали ряд гематологических показателей [9], а также выполняли реакцию специфического лизиса лейкоцитов, позволяющую оценить наличие в организме подопытных морских свинок антигаптенных комплементсвязывающих антител [3].

Результаты экспериментальных исследований обработаны общепринятыми методами вариационной статистики.

Результаты и обсуждение

Инстилляция 100 мкл 10%-го коллоидного раствора препарата «Феранцел» в нижний конъюнктивальный свод глаз кроликов не вызывал видимых явлений раздражения. Органических нарушений целостности слизистых оболочек и конъюнктивы глаз при их детектировании щелевой лампой и суправитальном окрашивании 2%-ным раствором флюоресцеина в течение двух недель наблюдения не обнаружено. Также не выявлено эритематозных реакций и

других явлений раздражения при однократных четырехчасовых аппликациях 10%-го коллоидного раствора препарата на кожу спины белых крыс и морских свинок-альбиносов в дозе 0,32 мл/16 см². При этом через 1 и 16 часов после окончания воздействия толщина кожной складки опытных участков не отличалась от ее значений при измерении на контрольных участках кожи. Следовательно, коллоидный раствор «Феранцела» не обладает в условиях однократного воздействия раздражающими свойствами на кожные покровы и слизистые оболочки.

На протяжении тридцатисуточного эксперимента по изучению особенностей эпикутанного воздействия коллоидного раствора «Феранцела» клинических проявлений интоксикации и летальных исходов у подопытных животных не зарегистрировано, явлений раздражения кожных покровов (мелкочешуйчатого шелушения эпидермиса, сухости, отека кожи, эритематозных реакций) не выявлено. Это также подтверждается данными ежедневного инструментального мониторинга толщины кожной складки на месте воздействия испытуемого препарата и раствора сравнения (воды) у опытных и контрольных крыс.

Стандартная сенсibilизирующая доза полимер-лекарственного комплекса, содержащего линкомицин и химотрипсин, равная 57 мг/кг, в условиях однократного внутрикожного введения морским свинкам-альбиносам не была способна вызывать в организме животных состояние гиперчувствительности замедленного типа. Так, провокационные эпикутанные аллергические пробы на 12-е сутки после экспериментальной сенсibilизации не выявили у животных значимых сдвигов в интенсивности эритематозных реакций. Уровень антигаптеновых комплементсвязывающих антител, определяемых у подопытных и контрольных животных в реакции специфического лизиса лейкоцитов, не имел статистически значимых различий (табл.1). Указанное позволяет считать «Феранцел» безопасным в плане аллергии препаратом. Следует отметить, что данные результаты вполне согласуются с ранее полученными сведениями о том, что давно известный в качестве аллергонебезопасного продукта линкомицин [2] при включении его в состав полимер-лекарственного комплекса с полиангидроглюкуроновой кислотой обладает способностью к снижению сенсibilизирующей активности всего препарата [10].

Таблица 1

Результаты иммунологического тестирования морских свинок-альбиносов, внутрикожно сенсibilизированных препаратом «Феранцел» в дозе 0,57 мг/кг

Статистические показатели	Группы экспериментальных животных:	
	Контрольная	Опытная
Скорость оседания эритроцитов, мм/час		
M±m	2,10±0,13	1,86±0,16
Количество лейкоцитов в периферической крови, 10⁹/л		
M±m	8,49±0,35	8,87±0,42
Количество эозинофилов в периферической крови, 10⁹/л		
M±m	0,069±0,010	0,085±0,020
Лейкограмма: количество эозинофилов, %		
M±m	0,83±0,14	1,12±0,16
Интенсивность кожных реакций, баллы		
N*	1/8	1/8
M±m	0,14±0,11	0,15±0,12
Реакция специфического лизиса лейкоцитов, %		
N*	1/8	1/8
M±m	5,35±3,12	4,95±3,54

Примечание: N* - в числителе – количество морских свинок с положительной тест - реакцией; в знаменателе – всего животных, взятых в эксперимент.

В условиях длительного эпикутанного воздействия «Феранцела» не отмечено статистически значимых различий в массе и температуре тела, значениях суммационно-порогового показателя и частоте сердечных сокращений у подопытных животных по сравнению с контрольными (табл.2). В процессе эксперимента установлено, что, являясь ионоактивным полимерным материалом, «Феранцел» в принятых условиях эксперимента демонстрирует способность к чрезкожному всасыванию. Выявленные сдвиги не являются проявлением функциональной кумуляции, а носят четко выраженный адаптационно-приспособительный характер. Так, относительную лейкопению (снижение количества лейкоцитов на 22,6% по сравнению с параллельным контролем, $p < 0,05$) наблюдали и при воздействии в аналогичных условиях порошковой формы препарата «Поликапран» [11]. Выявленные в эксперименте сдвиги не превышали отклонений от величин биологического контроля (физиологической нормы для популяции) и находились в пределах $\pm 2d$ показателей параллельного контроля, что свидетельствует об активации под влиянием «Феранцела» адаптационно-приспособительных процессов в функциональном состоянии клеток белого ростка кроветворения. Наряду с этим наблюдали изменения в функциональном состоянии выделительной системы. Так, отмечено увеличение содержания мочевины в крови и моче на 31,7% и 25,5%, соответственно, по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Уровень хлоридов в моче подопытных животных к концу эксперимента в 1,26 раза ($p < 0,05$) превышал контрольный. В то же время, статистически не отмечено значимых изменений в показателях содержания клеток эритроцитарного ряда в периферической крови, глюкозы, белка, липидов и хлоридов в крови, а также в относительных коэффициентах массы ряда внутренних органов животных (табл.2).

Таблица 2

Некоторые морфофункциональные показатели состояния организма белых крыс после тридцатисуточного эпикутанного воздействия 10%-го коллоидного раствора «Феранцела» в дозе 20 мг/см² (М?m)

Морфофункциональные показатели	Группы животных	
	Контроль	Опыт
Суммационно-пороговый показатель, В	9,43±0,34	8,54±0,38
Частота сердечных сокращений, уд/мин	527,3±12,8	549,7±10,5
Содержание гемоглобина в крови, г/л	129,3±4,3	132,5±3,2
Содержание эритроцитов в крови, 10 ¹² /л	6,91±0,29	6,73±0,32
Цветной показатель, усл.ед.	0,62±0,03	0,66±0,04
Содержание лейкоцитов в крови, 10 ⁹ /л	10,34±0,57	8,43±0,45*
Суточный диурез, мл	4,65±1,34	4,39±0,76
рН мочи	6,67±0,39	6,59±0,23
Содержание белка в моче, г/л	0,12±0,05	0,11±0,09
Содержание мочевины в моче, мм/л	365,8±15,8	459±19,7
Содержание хлоридов в моче, мм/л	87,4±5,94	110,4±4,25*
Содержание белка в сыворотке крови, г/л	98,4±9,34	109,8±18,34
Содержание глюкозы в крови, мм/л	2,52±0,17	2,49±0,19
Содержание хлоридов в сыворотке крови, мм/л	89,4±0,64	86,5±0,74
Содержание мочевины в крови, мм/л	4,32±0,17	5,69±0,21
Содержание общих липидов в сыворотке крови, г/л	3,14±0,19	3,18±0,21
Относительные коэффициенты массы, кг ⁻³ /кг:		
печени	31,81±1,67	29,86±1,49
почек	7,26±0,59	7,03±0,49
сердца	4,53±0,18	4,39±0,17
легких	7,48±0,79	7,86±0,65
селезенки	5,12±0,69	5,64±0,49
надпочечников	0,19±0,02	0,21±0,03

Примечание*: - статистически достоверные изменения по сравнению с контролем при p?0,05

Выводы

1. При однократном воздействии на кожу и слизистые оболочки лабораторных животных «Феранцел» не проявляет местно-раздражающих, кожно-резорбтивных и алергизирующих свойств.
2. В условиях длительного эпикутанного воздействия коллоидный раствор препарата способствует индукции у подопытных животных незначительных общерезорбтивных эффектов без проявления местно-раздражающих свойств.
3. Выявленные морфофункциональные сдвиги в организме крыс практически идентичны зарегистрированным в процессе повторного внутрижелудочного введения продукта изменениям [3], носят адаптационно-приспособительный характер, свидетельствуя о минимальных проявлениях общетоксического действия ионоактивного полимер-лекарственного комплекса.

Литература

1. Алиновская, В.А., Юркштович, Т.Л., Стельмах, В.А., Островидова, Г.У. Феранцел-препарат, обладающий комбинированным гемостатическим, антимикробным и протеолитическим действием // Лекарственные препараты на основе модифицированных полисахаридов. Тез. докл. Международ. симпозиума – Минск., 1998. – С. 53-54.
2. Дуева, Л.А., Коган, В.Ю., Суворов, С.В., Штеренгарц, Р.Я. Промышленные алергены. – М.: Медицина, 1989.

3. Методы лабораторной диагностики профессиональных аллергических заболеваний химической этиологии: Метод. рекомендации МЗ СССР. – М.: МЗ СССР, 1980.
4. Кузьминская, У.А. Биохимические, иммунологические и биофизические методы в токсикологическом эксперименте: Метод. руководство. – Киев: Здоровье, 1989.
5. Оценка воздействия вредных химических соединений на кожные покровы и обоснование ПДУ: Методич. указания МЗ СССР.-М.: МЗ СССР, 1980.
6. Половинкин, Л.В., Стельмах, В.А., Гаин, Ю.М. и др. Токсиколого-гигиеническое и экспериментально-фармакологическое изучение препарата «Феранцел» // Лекарственные препараты на основе модифицированных полисахаридов. Тез. докл. Междунар. симпозиума. – Минск., 1998. – С.60-61.
7. Постановка исследований в объеме первичной токсикологической оценки веществ: Метод. указания МЗ РБ. – Минск.: МЗ РБ, 1994.
8. Саноцкий, И.В., Уланова, И.П. Критерии вредности в гигиене и токсикологии при оценке опасности химических соединений. – М.: Медицина, 1975.
9. Справочник по клиническим и лабораторным методам исследования / Под ред. Е.А. Кост. – М.: Медицина, 1975.
10. Стэльмах, В.А., Апцэшка, М.І., Шаулякоу, В.В., Сарока, Л.І. Таксікалагічная характарыстыка палімернага комплексу, які мае у сабе лінкаміцын // Весці АН Беларусі: Сер. біял. навук. – 1994. – №2. – С. 67-72.
11. Стельмах, В.А., Капуцкий, Ф.Н., Половинкин, Л.В. и др. Разработка, исследование гемостатических и токсикологических характеристик порошковой формы поликапрана // Вестник Белгосуниверситета: Сер.2. Химия. Биология. География. – 1999.-№3. – С. 29-33.
12. Феранцел. ФС РБ 0393-03. – Минск.: МЗ РБ, 2003.
13. Юркштович, Т.Л., Алиновская, В.А., Бутрим, Н.С., Зимницкий, Д.С. Создание и изучение фармакологических свойств лекарственных препаратов на основе модифицированной целлюлозы // Тез. докл. XVIII Международной научно-технической конференции «Реактив-2005».-Минск.: БГТУ, 2005. – С.59.