



ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НОВЫХ АНТИКАТАРАЛЬНЫХ КАПЕЛЬ

Д.А. Фадеева
М.А. Каликова
Е.Т. Жиллякова
О.О. Новиков
М.В. Покровский
М.Ю. Новикова
Н.Н. Попов

*Белгородский
 государственный
 университет*

e-mail: novikov@bsu.edu.ru

В статье приведены результаты токсикологических исследований новых антикатарактальных глазных капель, разработанных коллективом НОЦ «Фармация» БелГУ. По результатам исследований глазные капли были отнесены к практически нетоксичным препаратам. Изучение подострой токсичности показало отсутствие патологического воздействия разработанных глазных капель на организм животных.

Ключевые слова: глазные капли, острая токсичность, подострая токсичность, крысы, мыши.

В последние десятилетия Всемирная организация здравоохранения усилила меры по борьбе с офтальмологическими заболеваниями, так как их число неуклонно растет, а инвалидизация по зрению приводит к «выпадению» человека из социально-экономических отношений. Известно, что до 80% случаев приобретенной слепоты поддаются предупреждению или лечению, поэтому одним из направлений развития медицины является профилактика глазных заболеваний, в том числе и катаракты [1]. Катаракта стоит на первом месте в мире (39% случаев) среди причин приобретенной слепоты. На сегодняшний день профилактика развития катаракты включает в себя использование глазных капель с антиоксидантами. Ввиду этого актуальной является разработка антикатарактальных глазных капель.

Целью коллектива сотрудников научно-образовательного центра «Фармация» ГОУ ВПО «БелГУ» была разработка комбинированных офтальмологических препаратов с антиоксидантами. В обеспечение реализации данной цели были разработаны оригинальные многокомпонентные глазные капли антикатарактального действия — «Карнофон ЛОНГ» и «Таурикам». Одной из задач в рамках поставленной цели явилось определение острой и подострой токсичности созданных лекарственных форм в сравнении с выпускаемыми в настоящее время глазными каплями «Тауфон» «ЛЭНС-фарм» (Россия).

Материалы и методы. Изучение общетоксического действия препаратов «Карнофон ЛОНГ», «Таурикам» и «Таурин» проводилось на обоеполых белых лабораторных мышках и нелинейных крысах. Средняя масса животных к началу эксперимента составляла 22-24 г и 150-200 г для мышей и для крыс соответственно. Животных содержали в виварии по 5 особей в клетке площадью 1600 кв. см, при световом режиме 12-12, кормили сухим (крупка, зерно, хлеб) и сочным (капуста, морковь, свекла) кормом, в соответствии с приказом МЗ СССР №1179 от 10 октября 1983 г. «Об утверждении нормативов затрат кормов для лабораторных животных в учреждениях здравоохранения».

Через 10 дней после нахождения крыс в виварии в стандартных условиях содержания и кормления определяли массу тела, число и ритмичность дыхания (визуально), оценивали общее состояние животных (двигательную активность, поведение, потребление корма и воды, реакцию на раздражители, состояние видимых слизистых, кожи, подкожной жировой ткани и волосяного покрова).

Исследуемые препараты, как и препарат сравнения, вводили субконъюнктивально по 1 капле в каждый глаз 6 раз в сутки при изучении подострой токсичности (2-х кратная терапевтическая доза), по 1 капле в каждый глаз 15 раз в сутки (5-ти кратная терапевтическая доза). При изучении острой токсичности препарат вводили крысам



субконъюнктивально по 1 капле в каждый глаз в течение 12-ти часов с промежутками в 1 час, мышам внутривенно по 0,2 мл шестикратно в течение 6-ти часов.

Наблюдение за животными проводили в течение 2-х недель во время введения препарата и 2-х недель во время «отсидки», обращая основное внимание на состояние слизистых оболочек в месте введения препарата.

Для характеристики функционального состояния внутренних органов после 2-х недельного перорального применения препаратов и после последующей 2-х недельной отсидки в сыворотке венозной крови определяли ряд биохимических параметров, используемых в токсикологии в качестве маркеров повреждения внутренних органов: общий белок сыворотки крови, мочевины, креатинин, глюкозу, аспартатаминотрансферазу (АСТ), аланинаминотрансферазу (АЛТ). Кроме того, регистрировали уровни Na^+ и K^+ в сыворотке крови, электрокардиограмму, визуально определяли частоту и ритмичность дыхания.

Общий белок в сыворотке крови определяли биуретовым методом с использованием набора реактивов "Биоконт – Общий белок" (МП "АГАТ", Москва). На фотокolorиметре КФК-3 определяли креатинин в сыворотке крови (унифицированным методом по реакции Яффе с предварительным депротеинированием), АСТ и АЛТ (по Райшману-Френкелю), содержание мочевины (диацетил-монооксидным методом), глюкозы (глюкозооксидазным методом) с использованием наборов реактивов "Лахема" 106801, 107506 (Чехия), "Глюкоза-ФКД" (ООО "Фармацевтика и клиническая диагностика", г. Москва), реактивов Научно-производственного центра "Эко-сервис" (г. Санкт-Петербург), МП "Агат" (г. Москва). Количество гемоглобина в крови определяли колориметрическим гемоглобинцианидным методом (метод Драркина) с использованием набора реактивов "Синтакон" (г. Санкт-Петербург). Активность щелочной фосфатазы определяли кинетическим методом по конечной точке с п-нитрофосфатом. Исследование биохимических параметров крови проводили на приборах, прошедших метрологический контроль.

Подсчет количества эритроцитов и лейкоцитов производили унифицированным методом в камере Горяева, лейкоцитарную формулу определяли методом дифференциального морфологического исследования форменных элементов крови по Романовскому, подсчет количества тромбоцитов производили в мазках крови по Фонию.

При патоморфологическом исследовании животных обращали внимание на общий вид внутренних органов, наличие и отсутствие жидкостей в серозных полостях. Специальное внимание обращали на состояние слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта. При наличии паразитарных и инфекционных заболеваний, а также случайной беременности крысы отбраковывались без последующего морфологического исследования.

Вес тушки определяли с точностью до 1,0 г; тимус, селезенку, сердце, почки и печень взвешивали на электронных весах с точностью до 0,0001 г.

Специальному морфологическому исследованию были подвергнуты глаз, желудок, тонкий и толстый кишечник, тимус, селезенка, брыжеечный лимфоузел, сердце, поджелудочная железа, печень, почки, надпочечники. Кусочки органов фиксировали в 10% нейтральном формалине и заливали парафином. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, проводили морфометрию. Цифровые данные обрабатывали статистически в программе "Microsoft Excel XP".

Результаты исследования. Исследования острой токсичности показали, что после введения мышам и крысам глазных капель «Карнофон ЛОНГ» и «Таурикам», а также препарата сравнения «Тауфон», изменения поведения и общего состояния не наблюдалось. Ни одно животное в течение 2-х недель после острой затравки не погибло, оставаясь активными и без изменения состояния кожных покровов, шерсти и видимых слизистых.

На основании проведенных экспериментальных данных рассчитать LD_{50} глазных капель «Карнофон ЛОНГ» и «Таурикам» при субконъюнктивальном и пероральном введении не представилось возможным, исходя из чего, нами сделан вывод о неток-



сичности исследуемых препаратов при внутрижелудочном введении мышам в суммарной дозе 50 мл/кг и при субконъюнктивальном введении крысам около 7,5 мл/кг.

Таким образом, результаты токсикометрии, данные наблюдений за экспериментальными животными в период после острого применения, а также данные патоморфологических исследований позволяют отнести препараты «Карнофон ЛОНГ» и «Таурикам» к V классу практически нетоксичных лекарственных веществ [2], обладающих хорошей переносимостью и безвредностью в дозах, превышающих максимальные терапевтические в тысячи раз.

В течение исследования подострой токсичности при 2-х недельном субконъюнктивальном введении глазных капель «Карнофон ЛОНГ» и «Таурикам», а также препарата сравнения «Тауфон» наблюдалось закономерное увеличение массы тела крыс, одинаковое во всех изучаемых группах, кроме того, не изменилась частота сердечных сокращений (ЧСС) и частота дыхания в сравнении с исходными значениями и значениями в контрольной серии экспериментов. Изученные лекарственные средства не изменяли пищевых мотиваций и аппетит животных, и не оказывали существенного влияния на водный обмен организма.

Результаты ежедневного наблюдения за экспериментальными животными показали, что 2-х недельное субконъюнктивальное введение глазных капель «Карнофон ЛОНГ» и «Таурикам», как и препарата сравнения глазных капель «Тауфон» не оказывало влияния на состояние интактных участков кожи, видимых слизистых, подкожной жировой ткани, волосяного покрова, поведение и двигательная активность животных существенно не изменялась. Таким образом, 2-х недельное субконъюнктивальное введение глазных капель «Карнофон ЛОНГ» и «Таурикам» не вызывает раздражения видимых слизистых и бронхов, не оказывает негативного влияния на состояние кожи и волосяного покрова, поведение и двигательную активность животных, что свидетельствует об отсутствии у него выраженного общего токсического действия. Признаков раздражения и патоморфологических изменений кожи век, роговицы и конъюнктивы век и склер не наблюдалось.

После 14-ти дневного субконъюнктивального введения глазных капель «Карнофон ЛОНГ» и «Таурикам», а также препарата сравнения «Тауфон» было проведено количественное исследование клеток крови. Количество эритроцитов и лейкоцитов в периферической крови достоверно не отличалось от интактных животных и оставалось в пределах физиологической нормы для данного вида животных. Полученные данные свидетельствуют о том, что исследованные препараты не оказывают негативного влияния на эритро- и лейкопоз. Также было установлено, что введение исследуемых глазных капель не оказывает статистически значимого влияния на число тромбоцитов, в сравнении с контролем, что может указывать на отсутствие негативного влияния исследуемых препаратов в применяемых дозах на процессы кроветворения, функциональное состояние печени, свертывающей системы крови, а также не влияет на содержание гемоглобина в крови.

Отсутствие достоверных сдвигов в лейкоцитарной формуле во всех испытуемых группах свидетельствуют о том, что изучаемые препараты не вызывают агранулоцитоза, интоксикации, воспалительных поражений органов, не обладают алергизирующим действием.

Для оценки возможного токсического действия капель «Карнофон ЛОНГ» и «Таурикам» на глаза, печень, почки и сердце в сыворотке венозной крови крыс на 14-й и 28-й день от начала эксперимента определяли биохимические маркеры повреждения внутренних органов: общий белок, глюкозу, мочевины, креатинин, активность АЛТ, АСТ и щелочной фосфатазы. Все биохимические показатели в исследуемых группах достоверно не отличались от таковых у интактных животных.

Гравиметрическое и морфологическое (макро- и микроскопическое) исследование внутренних органов крыс показало отсутствие в них патологических изменений, связанных с субконъюнктивальным введением глазных капель «Карнофон ЛОНГ» и «Таурикам», как и препарата сравнения – глазных капель «Тауфон».



Заключение. Обобщая приведенные экспериментальные данные, можно сделать вывод, что глазные капли «Карнофон ЛОНГ» и «Таурикам» относятся к малотоксичным препаратам. Ежедневное в течение 2-х недель субконъюнктивальное введение крысам обоего пола исследуемых препаратов в разных дозах не вызывало дистрофических, деструктивных, очаговых склеротических изменений в паренхиматозных клетках и строге изучаемых органов, а также не сопровождалось местно-раздражающим действием.

Сравнительное изучение препаратов показало, что глазные капли «Карнофон ЛОНГ» и «Таурикам» по токсичности соответствуют глазными каплями «Тауфон» «ЛЭНС-фарм» (Россия), и свидетельствует о хорошей переносимости, безвредности препаратов, а также возможности их применения в качестве метаболических, регенерирующих, антикатаральных средств.

Проведенные исследования свидетельствуют об отсутствии противопоказаний по показателям острой и подострой токсичности для клинических испытаний или медицинского применения препаратов «Карнофон ЛОНГ» и «Таурикам».

Литература

1. Доклад Секретариата ВОЗ «Профилактика предупреждаемой слепоты и нарушений зрения», 11 декабря 2008 г [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.who.int/gb/ebwha/pdf_files/E124/B124_7-ru.pdf
2. Gosselin, R.E. Clinical Toxicology of Commercial Products. Acute Poisoning/ R.E. Gosselin, R.P. Smith, H.C. Hodge et al. – 4th ed. – Baltimore, 1975. – 427 p.

TOXICOLOGICAL STUDY OF A NEW ANTICATARACT EYE DROPS

**D.A. Fadeeva
M.A. Khalikova
E.T. Zhilyakova
O.O. Novikov
M.V. Pokrovsky
M.Yu. Novikova
N.N. Popov**

The results of studying of toxicological action of new antycataract eye drops on rats and mice are represented in the article. After experimental investigation these eye drops were considered almost unotoxic drug. Study of subacute toxicity didn't show any pathological action of eye drops on animal's organism.

Key words: eye drops, acute toxicity, subacute toxicity, rats, mice.

*Belgorod
State
University*

e-mail: novikov@bsu.edu.ru