

ДОКЛІНІЧНІ ТОКСИКОМЕТРИЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ НОВОГО ЗАСОБУ ДЕТОКСИКАЦІЇ МІГУ-5 ЗА УМОВ ЕНДОГЕННОГО ОТРУЄННЯ

¹проф. В.Д. Лук'янчук, ¹Т.Р. Лучишин, ¹Д.С. Кравець, ¹Н.В. Рисухіна,

²проф. І.Й. Сейфулліна, ²О.Е. Марцинко, ²О.Г. Песарогло

¹ – Луганський державний медичний університет, Україна

² – Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова МОН України, Україна

РЕЗЮМЕ. Стаття присвячена вивченню гострої токсичності та небезпеки координаційної сполуки германію з нікотинамідом та оксіетилідендифосфонову кислоту (МІГУ-5). Доведено, що МІГУ-5 відноситься до V класу токсичності, тобто до "практично нетоксичних" ксенобіотиків. На це вказує величина її середньосмертельної дози, яка дорівнює 890 мг/кг. Отже, МІГУ-5 є практично безпечною сполукою для теплокровних, в тому числі й для людини. Одержані дані є експериментальною підставою для подальшого, більш поглибленого дослідження МІГУ-5 як лікувально-профілактичного засобу для корекції ендотоксикозу різного генезу.

Ключові слова: ендотоксикоз, токсичність, германійорганічні сполуки, лікування.

РЕЗЮМЕ. Статья посвящена изучению острой токсичности и опасности координационного соединения германия с никотинамидом и оксиэтилдифосфоновой кислотой (МИГУ-5). Доказано, что МИГУ-5 относится к V классу токсичности, т.е. к "практически нетоксичным" ксенобиотикам, на что указывает величина её среднесмертельной дозы, равняющаяся 890 мг/кг. Таким образом, МИГУ-5 - практически безопасное соединение для теплокровных, в том числе и для человека. Полученные данные могут быть экспериментальным основанием для дальнейших, более углубленных, исследований МИГУ-5 в качестве лечебно-профилактического средства для коррекции эндотоксикоза разного генеза.

Ключевые слова: эндотоксикоз, токсичность, германийорганические соединения, лечение.

SUMMARY. The article is devoted to the study of acute toxicity and danger of coordinative compound of germanium with nicotinamide and oxyethylidenediphosphonic acid (MIGU-5). It has been proved that MIGU-5 belongs to V class toxicity, equal to "non-toxic" xenobiotics. This fact indicates its medial lethal dose amounts to 890 mg/kg. Judging by this fact, MIGU-5 is a safe compound for warm-blooded animals, including human beings. It's supposed to be an experimental basis for further study of MIGU-5 as prophylaxis-and-treatment remedy for correction of endotoxycosis of different genesis.

Key words: endotoxycosis, toxicity, coordinative compounds of germanium, treatment.

Відомо, що понад 95% захворювань супроводжуються ендотоксикозом — каскадним процесом, схильним до генералізації та прогресування, що виникає як наслідок порушення рівноваги між синтезом ендотоксинів та їхньої елімінації з організму [1, 2]. Ендотоксикоз супроводжує перебіг різних екстремальних станів і захворювань, разом із розвитком поліорганної недостатності становить головну загрозу життю пацієнтів [3]. Отже, пошук та розробка високоефективних та безпечних засобів фармакокорекції синдрому ендогенної інтоксикації є пріоритетним напрямком сучасної медичної науки.

Раніше проведеними нами скринінговими дослідженнями була встановлена висока лікувально-профілактична ефективність комплексної сполуки германію з нікотинамідом та оксіетилідендифосфонову кислоту під лабораторним шифром МІГУ-5 в умовах синдрому ендогенної інтоксикації різного, зокрема посттравматичного та бактеріального генезу.

Відомо, що наявність певної реакційної активності у сполук та їх віддалені наслідки можуть бути небезпечними для людей і тварин [4, 10]. Адже вони можуть проявляти мутагенну, канцерогенну та імунотоксичну активність, маючи трагічні наслідки і для потомства [4, 5].

У зв'язку з цим, вивчення токсичності нових синтезованих сполук — це не лише академічна проблема. Вона надзвичайно актуальна для медичної практики.

Мета роботи — визначення параметрів гострої токсичності та небезпеки МІГУ-5 для тварин та їх екстраполяція на людину.

Матеріали і методи дослідження. Дослідження виконані на білих безпородних щурах масою 180–230 г обох статей в лабораторії доклінічного вивчення нових лікарських засобів кафедри фармакології Державного закладу "Луганський державний медичний університет" (ЛугДМУ), сертифікованій Державним підприємством "Державний експертний центр Міністерства охорони здоров'я України" згідно з методичними рекомендаціями ДП "Державний експертний центр МОЗ України" [6]. МІГУ-5 вводили внутрішньоочеревинно одноразово у вигляді 5% водного розчину в дозах 500, 700, 900 мг/кг та у вигляді 10% розчину в дозах 1100 та 1200 мг/кг. Параметри гострої токсичності сполуки (LD_{16} , LD_{50} , LD_{84} і LD_{99}) визначали методом пробіт-аналізу [7]. З метою більш детального токсикометричного аналізу параметрів сполуки, що вивчається, обчислювали такі показники небезпеки: величину, зворотню середньосмертельну дозу (аб-

Пробіт-аналіз для обчислення параметрів гострої токсичності МІГУ-5

Стимул (доза, мг/кг, X)	Відсоток (%)	Пробіт (Y)	Ваговий коефіцієнт (Z)	X*Z	X*X*Z	Y*Z	X*Y*Z
500	0,0417	3,27	1,54	767,95	383 975,19	5,02	2 509,62
700	0,1667	4,03	3,57	2 495,69	1746 984,13	14,38	10 064,22
900	0,5000	5,00	5,00	4 500,00	4 050 000,00	25,00	22 500,00
1 100	0,8333	5,97	3,57	3 921,80	4 313 981,23	21,28	23 402,81
1 200	0,9583	6,73	1,54	1 843,08	2 211 697,09	10,34	12 407,71
Сума			15,20	13 528,52	12 706 637,64	76,01	70 884,37

Таблиця 2

Параметри гострої токсичності (мг/кг) МІГУ-5 для білих щурів при одноразовому внутрішньоочеревинному введенні

Статистичний показник	LD ₁₆	LD ₅₀	LD ₈₄	LD ₉₉
M	683,94	889,90 (745,06/1034,74)	1095,85	1198,83
±m	52,76	68,65	84,54	92,48

солотна токсичність) — $1/LD_{50}$, діапазон смертельних доз (зона гострої токсичної дії) — LD_{84}/LD_{16} , функцію кута нахилу (варіабельність смертельних доз) — S, сумарний показник токсичності — $1/(LD_{50} \cdot S)$, тангенс кута нахилу кривої летальності — $\text{tg } \alpha$, інтегральний показник токсичності — $1/LD_{50} \cdot \text{tg } \alpha$ [13-15]. Екстраполяцію експериментальних параметрів токсичності на людину проводили методом [9] з використанням констант біологічної активності. Коефіцієнт кумуляції визначали за методикою [6].

Результати дослідження та їх обговорення

Отримані у токсикометричному експерименті дані щодо загибелі тварин у залежності від доз МІГУ-5 при внутрішньоочеревинному шляху введення зображені на рис. 1. Встановлено, що величина середньосмертельної дози германійорганічної сполуки, що вивчається, знаходиться в межах 900-1000 мг/кг. Це, перш за все, дає підстави дійти висновку про коректність вибору доз координаційної сполуки германію, що вводяться, з метою подальшого обчислення на їх основі параметрів токсичності та небезпеки дозволяє піддати отримані результати пробіт-аналізу (див. табл. 1). З проведенням пробіт-аналізу були визначені та обчислені основні параметри токсичності МІГУ-5 (див. табл. 2).

Для більш наочного висвітлення залежності величин параметрів токсичності МІГУ-5 від його дози, в подальшому була побудована відповідна крива, що представлена на рис. 2.

Оцінюючи ступінь токсичності коорди-

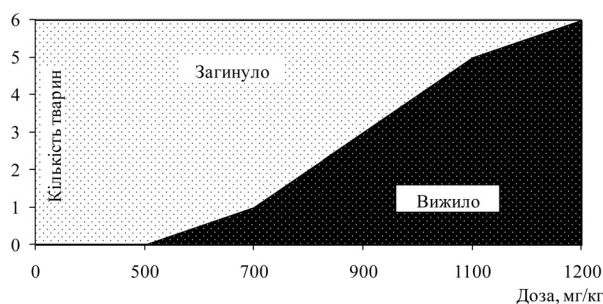


Рис. 1. Залежність загибелі тварин від доз МІГУ-5, що вводяться

наційної сполуки германію з нікотинамідом та оксіетилідендифосфоною кислотою при її внутрішньоочеревинному введенні згідно з класифікацією [8], що передбачає розподіл речовин на класи залежно від величин їх середньосмертельних доз і шляхів надходження отрути до організму, є підстави констатувати, що МІГУ-5 відноситься до V класу токсичності, тобто до "практично нетоксичних" ксенобіотиків.

Проводячи порівняльну оцінку параметрів токсичності потенційного антидотно-лікувального засобу в умовах токсикологічного експерименту, привертає увагу значний розрив між величинами смертельних доз, що наочно продемонстровано на рис. 2. Це вказує на той факт, що зона токсичної дії МІГУ-5 має велику значну широту, підтверджуючи безпечність даної сполуки за умов її парентерального застосування.

Отже, результати визначення параметрів

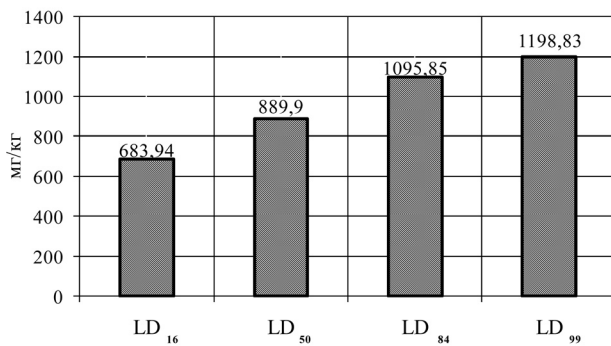


Рис. 2. Графічне зображення параметрів токсичності МІГУ-5 в умовах експерименту

Аналізуючи отримані дані, необхідно особливо увагу звернути на той факт, що абсолютна токсичність МІГУ-5 порівняно низька і становить лише $1,12 \times 10^{-3}$ мг/кг. При цьому важливим є й те, що варіабельність смертельних доз дорівнює 1,60. Оцінюючи величину варіабельності смертельних доз (функцію кута нахилу), слід зазначити, що її величина становить 1,27. Це повністю корелює з величинами сумарного і інтегрального показників токсичності, які становлять $8,85 \times 10^{-4}$ і $7,83 \times 10^{-4}$, відповідно.

Таким чином, розраховані нами параметри потенційної і реальної небезпеки виникнення і розвитку гострого смертельного отруєння МІГУ-5 в режимі одноразового внутрішньо-

Таблиця 3

Параметри, що характеризують потенційну і реальну небезпеку виникнення гострого смертельного отруєння МІГУ-5 в умовах його одноразового внутрішньоочеревинного введення в організм шурів

$1/LD_{50}$	LD_{84}/LD_{16}	$tg \alpha$	$1/LD_{50} \cdot tg \alpha$	$S = \frac{LD_{84} \cdot LD_{50} + LD_{50} \cdot LD_{16}}{2}$	$1/(LD_{50} \cdot S)$
$1,12 \times 10^{-3}$	1,60	0,679	$7,83 \times 10^{-4}$	1,27	$8,85 \times 10^{-4}$

гострої токсичності дозволяють вже на даному етапі дослідження стверджувати, що координаційна сполука германію, є практично безпечною в токсикологічному відношенні.

Поряд з цим, вивчення параметрів гострої токсичності МІГУ-5 сприяє отриманню важливої інформації, необхідної для вирішення низки запитань, зокрема: співвідношення рівня токсичності МІГУ-5 і даних відносно його токсикодинаміки, а також визначення взаємозв'язку між показниками токсичності та негативними клінічними ефектами і, перш за все, побічними реакціями неалергічної природи.

Враховуючи загально визнану думку, що не можливо судити про небезпеку ксенобіотиків лише за величинами їх середньосмертельних доз або концентрації, нами розрахованими методами було визначено низку параметрів. Вони дозволяють максимально і всебічно характеризувати лікарський засіб щодо потенційної або реальної загрози виникнення і розвитку гострого смертельного отруєння. Зокрема, нами були обчислені наступні показники небезпеки: величина, зворотна середньосмертельній дозі (абсолютна токсичність) — $1/LD_{50}$, діапазон смертельних доз (зона гострої токсичної дії) — LD_{84}/LD_{16} , функція кута нахилу (варіабельність смертельних доз) — S , сумарний показник токсичності — $1/(LD_{50} \cdot S)$, тангенс кута нахилу кривої летальності — $tg \alpha$, а також інтегральний показник токсичності — $1/LD_{50} \cdot tg \alpha$, які представлені в таблиці 3.

очеревинного введення його в організм білих шурів дозволяють судити про цей потенційний лікарський засіб, як про відносно нешкідливу і безпечну в токсикологічному відношенні хімічну сполуку для теплокровних.

З огляду на те, що кінцевою метою лікарської токсикометрії на доклінічному етапі є визначення ступеня ризику потенційного лікарського засобу для людини, нами проведена у порівняльному аспекті екстраполяція даних з тварин на людину з використанням констант біологічної активності [9] та за допомогою методу Freireich [11]. Оскільки такий підхід дозволяє обчислити значення будь-яких ізоефективних доз, то з його допомогою були визначені і вірогідні величини таких параметрів токсичності для людини, як LD_{16} , LD_{50} , LD_{84} і LD_{99} (див. табл. 4), які, у свою чергу, дають можливість отримати розрахованим шляхом решту показників небезпеки розвитку гострого смертельного отруєння германійорганічною сполукою, що вивчається (див. табл. 5).

Згідно з порівняльним аналізом, параметри токсичності, які розраховані за методом Риболовлева і Freireich, майже співпадають та не мають принципових відмінностей. А це свідчить про високий ступінь вірогідності показників, отриманих у серії доклінічних токсикометричних досліджень.

Крім того, небезпечність для теплокровних оригінальних лікарських сполук значною мірою пов'язана із їх потенційними кумуля-

Параметри токсичності (мг/кг) МІГУ-5 для людини, що отримані методом екстраполяції експериментальних даних

Статистичний показник	LD ₁₆	LD ₅₀	LD ₈₄	LD ₉₉
За методом Ю.П. Риболовлева				
M	107,69	140,12	172,55	188,77
±m	8,31	10,81	13,31	14,56
За методом Freireich				
M	113,99	148,32	182,64	199,81
±m	8,80	11,45	14,09	15,42

Таблиця 5

Параметри небезпеки МІГУ-5 для людини, що отримані на основі екстраполяції експериментальних даних

1/LD ₅₀	LD ₈₄ /LD ₁₆	$S = \frac{\frac{LD_{84}}{LD_{50}} + \frac{LD_{50}}{LD_{16}}}{2}$	1/(LD ₅₀ ·S)	tgα	1/LD ₅₀ ·tgα
За методом Ю.П. Риболовлева					
7,14x10 ⁻³	1,60	1,27	5,62x10 ⁻³	0,679	4,85x10 ⁻³
За методом Freireich					
6,74x10 ⁻³	1,60	1,27	5,31x10 ⁻³	0,679	4,57x10 ⁻³

тивними властивостями, наявність яких дає змогу визначити можливість розвитку хронічного отруєння у людини та тварини [6]. Більш того, дослідження кумулятивних властивостей потенційних ліків необхідно для з'ясування вірогідності накопичення самої речовини в організмі або її небажаних ефектів, що виникають при взаємодії ксенобіотика і біосубстратів, а також прогнозування абсолютних та відносних інтоксикацій.

У додатковій серії дослідів, спочатку використовуючи експрес-метод визначення середньої ефективної дози та її похибки за Прозоровським [12], була ще раз визначена LD₅₀ із урахуванням сезонності та індивідуальних особливостей тварин, яка становила 870 мг/кг, що не має вірогідних відмінностей від LD₅₀, встановленої у попередніх дослідях. Цю дозу потім ввели щурам при визначенні коефіцієнту кумуляції. Було зареєстровано, що у перший день спостереження у дослідній групі

загибло 5 щурів, а це 50 % піддослідних тварин, у подальшому протягом 14 днів летальності не було зареєстровано. Це вказує на той факт, що LD₅₀₍₁₄₎ = LD₅₀₍₁₎. Підставляючи ці дані до вищенаведеної формули, отримуємо Ік=0, що свідчить про відсутність вираженості кумулятивних властивостей у МІГУ-5.

Підбиваючи підсумок даного дослідження, слід зазначити, що згідно з даними доклінічної токсикометрії, а саме показниками токсичності і небезпеки, а також коефіцієнтом кумуляції координаційної сполуки германію з нікотинамідом та оксіетилідендіфосфоною кислотою та при екстраполяції їх на людину, МІГУ-5 є практично безпечною сполукою для теплокровних, в тому числі й для людини. Все це є експериментальною підставою для подальшого, більш поглибленого, дослідження МІГУ-5 як лікувально-профілактичного засобу для корекції ендотоксикозу різного генезу.

ЛІТЕРАТУРА

- Шейман Б.С. Концепція розвитку та удосконалення системи надання токсикологічної допомоги дитячому населенню України при виникненні гострих отруєнь в побути та в умовах надзвичайних ситуацій хімічної етіології / Б.С. Шейман, М.Г. Проданчук, С.Е. Гурьев, О.М. Мешкова // Біль та знеболення. — 2008. — №3. — С. 2—7.
- Шейман Б.С. Взгляд на проблему токсикоза и интоксикации / Б.С. Шейман, А.И. Трещинский // Современные проблемы токсикологии. — 2001. — №1. — С.3—6.
- Рисухина Н. В. Токсикометрические параметры МІГУ-6 — потенциального средства для лечения синдрома длительного раздавливания / Н. В. Рисухина, И. Й. Сейфуллина, Е. Э. Марцинко // Современные проблемы токсикологии. — 2007. — №3. — С.59—61.
- Лук'ячук В.Д. Токсикометричний профіль потенційного протишемічного засобу ОК-7 в експерименті / В.Д. Лук'ячук, Д.С. Кравець, І.О. Житіна // Современные проблемы токсикологии. — 2010. — №2—3. — С.62—64.

5. Маркова И.В. Нежелательное действие лекарств на эмбрион, плод и новорожденного / И.В. Маркова // Фармакология и токсикология. — 1990. — Т.53, №4. — С. 82—86.
6. Доклинические исследования лекарственных средств : [метод. рекоменд. / под ред. член-кор. АМН Украины А.В. Стефанова]. — К., 2002. — 567 с.
7. Прозоровский В. Б. Использование метода наименьших квадратов для пробит-анализа кривых летальности / В. Б. Прозоровский // Фармакология и токсикология. — 1962. — Т. 23, № 1. — С. 115—120.
8. Сидоров К.К. Токсикология новых промышленных химических веществ. /К.К. Сидоров// — М.: Медицина, 1973. — Вып.3. — 47 с.
9. Рыболовьев Ю.Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности / Ю.Р. Рыболовьев, Р.С. Рыболовьев // Докл. АН СССР. — 1979. — Т.247, №6. — С. 1513—1516.
10. Лук'янчук В.Д. Токсикометричні параметри потенційного церебропротектора ВІПІН-1 / В. Д. Лук'янчук, О. В. Крилова // Український біофармацевтичний журнал. — 2009. — № 3, Т.1.—С.4—7.
11. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общей редакцией члена-корреспондента РАМН, профессора Р.У. Хабриева. — 2-е изд., перераб. и доп. — М.: ОАО "Издательство "Медицина", 2005. — 832 с.: ил.
12. Прозоровский В. Б. Использование метода наименьших квадратов для пробит-анализа кривых летальности / В.Б. Прозоровский, М.П. Прозоровская, В.М. Демченко // Фармакология и токсикология. — 1978. — № 4, — С. 497—502.
13. Лукьянчук В. Д. Разработка дозового режима германийорганического соединения МИГУ-2 на модели пероральной ДНОК-интоксикации / В. Д. Лукьянчук, М. Н. Бабенко, Д. С. Кравець // Современные проблемы токсикологии. — 2005. — № 1. — С. 47—50.
14. Лукьянчук В.Д. Токсикометрия лекарственных средств на доклиническом этапе: состояние проблемы, дискуссионные аспекты / В. Д. Лукьянчук // Современные проблемы токсикологии. — 1998. — №2. — С. 12—15.
15. Лукьянчук В.Д. Методические основы лекарственной токсикографии на доклиническом этапе / В. Д. Лукьянчук // Вісник фармакології та фармації. — 2008. — №7—8. — С. 20—23.

Надійшла до редакції 25.05.2011 р.