

ТОКСИКОЛОГИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЭНТЕРОСОРБЕНТА НООЛИТА

Г. В. Карпова¹, Ю. И. Бородин², Л. Н. Рачковская², Т. И. Фомина¹,
Т. В. Ветошкина¹, Е. В. Абрамова¹, Т. И. Новоселова³

Проведено доклиническое изучение безопасности энтеросорбента ноолита. Однократное его введение крысам и мышам (самки, самцы) в максимально возможных при внутрижелудочном введении дозах (5 – 20 г/кг) не вызывает гибели животных. Введение однократно больших доз, превышающих эффективную в 40 раз, может снижать прирост общей массы, а также вызывать развитие несмертельных патологических изменений со стороны кроветворных органов: легкой степени анемии регенераторного характера (5 % случаев), гиперплазии нейтрофильного ростка, эозинофилии, базофилии (3 % случаев), снижение глюкозы в сыворотке крови. В хроническом опыте на кроликах исследование влияния ноолита при потреблении его в течение трех месяцев в дозах 0,5 и 2 г/кг, превышающих рекомендуемые для человека (на 1 кг массы) в 2 и 10 раз, не выявило токсического действия препарата на функции и морфологическое состояние основных систем и органов (кроветворение, печень, почки, легкие, сердце, желудочно-кишечный тракт, половые органы и др.).

Ключевые слова: энтеросорбент ноолит, острая токсичность, хроническая токсичность

ВВЕДЕНИЕ

В НИИ клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН совместно с НПФ “Новь” (Новосибирск) разработан ноолит — энтеросорбент на основе механически прочной, стандартизованной по текстуре минеральной матрицы (окись алюминия) с закрепленными на ее поверхности соединениями лития и кремнийорганического полимера. Кремнийорганическое покрытие дополнительно улучшает прочностные характеристики и наряду с окисью алюминия формирует мозаику гидрофильно-гидрофобных центров на поверхности, что делает поверхность сорбента “мягкой” по отношению к биологическим объектам. Технология получения такова, что литий медленно “выходит” с поверхности сорбента по мере продвижения по желудочно-кишечному тракту. Сорбент на своей поверхности связывает токсины, микробные клетки и продукты распада, которые далее выводятся с сорбентом естественным образом [2].

Целью данного исследования является изучение общетоксических свойств [7] ноолита при однократном и многократном введении.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Ноолит — белого цвета округлые гранулы размером до 1 мм, с развитой мезо-, макропористой структурой, с преимущественным размером пор 100 – 1000 ангстрем и высокой удельной поверхностью до 300 м²/г. Эксперименты поставлены на половозрелых неинбредных мышах и крысах разводки лаборатории экспериментального биомоделирования НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН, а также кроликах. Содержание их осуществлялось в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных (Страсбург, 1986).

Изучение острой токсичности проводили на двух видах половозрелых животных: 40 белых беспородных мышах (по 20 самцов и самок, 20 – 30 г), 42 беспородных крысах (по 21 животному разного пола, 210 – 340 г). Ноолит вводили однократно в желудок через зонд в дозах 5, 10, 20 г/кг в 1 % крахмальной взвеси в объеме 0,5 – 8 мл на животное. За животными наблюдали 14 дней, следили за внешним видом, двигательной активностью, реакцией на раздражители, массой тела. Кроме того, у 32 крыс (по 16 самцов и самок, 150 – 200 г) на 7-й и 14-й дни после однократного введения энтеросорбента в дозе 20 г/кг определяли показатели периферической крови, костного мозга и биохимические показатели, используя общепринятые методы исследования. Контролем служили животные (по

¹ НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН, Томск, 634034, ул. Ленина, 3.

² НИИКиЭЛ СО РАМН, Новосибирск, 630117, ул. Тимакова, 2.

³ НПФ “Новь”, Новосибирск, ул. Карамзина, 53.

Таблица 1. Прирост (в %) общей массы животных ($n = 5$) после однократного введения ноолита, $X \pm m$

Доза	Сроки исследования, дни			
	крысы		мыши	
	7-й	14-й	7-й	14-й
5 г/кг				
Самцы	5,3 ± 1,2*	14,3 ± 1,3*	10,1 ± 3,7	7,0 ± 3,0
Самки	4,6 ± 0,5	11,7 ± 0,8*	5,3 ± 2,2	2,7 ± 1,1*
10 г/кг				
Самцы	9,3 ± 1,8	21,7 ± 1,6	1,6 ± 0,9*	3,5 ± 0,9*
Самки	4,2 ± 1,4	10,8 ± 3,1*	13,5 ± 7,8	12,4 ± 8,0
20 г/кг				
Самцы	11,4 ± 1,5	15,8 ± 2,0*	7,3 ± 5,8	12,2 ± 9,4
Самки	14,7 ± 1,4*	19,2 ± 0,4	1,4 ± 0,9*	1,3 ± 0,8*
Контроль				
Самцы	10,6 ± 1,4	24,4 ± 1,8	7,2 ± 1,7	9,3 ± 1,6
Самки	8,0 ± 1,7	17,1 ± 2,1	7,6 ± 1,6	13,5 ± 1,3

Примечание. n — количество животных. Здесь и в табл. 2 – 6: * – различия достоверны ($p < 0,05$) при сравнении с контролем.

5 самцов и самок, 150 – 200 г), получавшие в эквиваленте крахмальную слизь. После декапитации животных и взятия крови проводили вскрытие крыс, макроскопическое исследование внутренних органов и определение их массы. Хроническую 3-месячную токсичность ноолита исследовали на 15 кроликах (8 самцов и 7 самок), с исходной массой 2,5 – 3 кг. Препарат вводили с пищей в дозе 0,5 и 2 г/кг (по 5 животных в опытных группах), 5 интактных кроликов служили контролем. До введения, через 1,5 и 3 мес после введения энтеросорбента у животных забирали кровь из краевой вены уха для общего анализа крови и определения биохимических показателей [4, 6]. Через 3 мес опыта после умерщвления (тиопентал-натрий внутривенно, 70 мг/кг) и вскрытия кроликов забирали мочу для анализа шприцем из мочевого пузыря, костный мозг — из сегмента грудины для подсчета миелограммы, а также проводили взвешивание и макроскопическое исследование внутренних органов. Для

микроскопического исследования были взяты внутренние органы: головной мозг, сердце, легкое, желудок (фундальный и пилорический отделы), двенадцатиперстная, тощая и толстая кишка, печень и поджелудочная железа, почка, мочевой пузырь, надпочечник, щитовидная железа, селезенка, тимус, яичник, матка, семенник. Взятые фрагменты органов фиксировали в формалине и заливали в парафин. Депарафинированные срезы окрашивали гематоксилином и эозином [1, 3, 5].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ результатов изучения острой токсичности не выявил признаков интоксикации и гибели животных, а также их беспокойства, изменения аппетита, выделений, состояния слизистых, шерсти, кожи и др. У животных ряда опытных групп после однократного введения больших доз ноолита отмечалось снижение прироста общей массы с мало выраженной зависимостью от дозы (табл. 1).

Исследование периферической крови показало, что средние величины содержания гемоглобина, эритроцитов, ретикулоцитов, тромбоцитов, лейкоцитов, а также осмотической резистентности эритроцитов не отличаются статистически достоверно от таковых у животных контрольной группы. При анализе средних показателей костного мозга не выявлено статистически значимых изменений по сравнению с контролем. У отдельных животных после введения препарата в максимально возможной дозе (20 г/кг), в 40 раз выше эффективной, наблюдалось развитие патологических изменений со стороны системы крови. У двух крыс-самцов из 32 опытных животных (5 %) на 7-й день опыта выявлена анемия легкой степени (снижение содержания гемоглобина и эритроцитов) регенераторного характера (увеличение числа ретикулоцитов). У этих животных при исследовании показателей костного мозга наблюдалась гиперплазия эритропоэза, увеличивалась масса селезенки, в спленограмме возрастал процент эритронормобластов. Кроме того, у одной крысы-самки выявлено развитие гиперплазии

Таблица 2. Биохимические показатели крови у крыс-самцов (числитель) и крыс-самок (знаменатель) после введения ноолита в дозе 20 г/кг, ($X \pm m$)

Показатель	Контроль, дни		Опыт, дни	
	7-й	14-й	7-й	14-й
АСТ, мккат/л	0,7 ± 0,1/0,7 ± 0,0	0,6 ± 0,0/0,5 ± 0,1	0,6 ± 0,0/0,7 ± 0,1	0,7 ± 0,0/0,7 ± 0,0
АЛТ, мккат/л	0,7 ± 0,0/0,6 ± 0,1	0,7 ± 0,0/0,6 ± 0,0	0,7 ± 0,1/0,7 ± 0,1	0,6 ± 0,1/0,5 ± 0,1
ЩФ, мккат/л	2,6 ± 0,4/1,5 ± 0,1	3,2 ± 0,3/2,1 ± 0,1	1,6 ± 0,2*/1,1 ± 0,0*	2,9 ± 0,2/2,2 ± 0,2
Глюкоза, ммоль/л	7,4 ± 0,7/8,3 ± 0,4	6,1 ± 0,5/8,9 ± 0,3	8,2 ± 0,5/8,0 ± 0,4	5,3 ± 0,5*/6,3 ± 0,6*
Мочевина, ммоль/л	5,7 ± 0,2/5,3 ± 0,7	4,9 ± 0,6/4,1 ± 0,8	4,3 ± 0,5/6,2 ± 0,8	4,6 ± 0,6/5,4 ± 0,5
Креатинин, мкмоль/л	55,4 ± 3,3/56,4 ± 2,9	52,0 ± 2,0/49,5 ± 7,6	64,2 ± 1,1*/72,4 ± 4,1*	57,0 ± 4,3/53,4 ± 3,2
Белок, г/л	64,2 ± 6,1/66,4 ± 3,4	56,5 ± 1,3/55,3 ± 2,8	53,3 ± 0,9/60,4 ± 2,4	52,7 ± 2,0/56,8 ± 1,4
Холестерин, ммоль/л	2,5 ± 0,7/2,8 ± 0,4	2,3 ± 0,6/2,0 ± 0,4	2,7 ± 0,1/3,0 ± 0,8	2,4 ± 0,3/2,6 ± 0,1
Билирубин, мкмоль/л	10,2 ± 1,7/9,1 ± 1,7	7,4 ± 1,4/9,6 ± 1,1	8,4 ± 1,2/8,7 ± 1,2	9,8 ± 1,8/8,8 ± 1,1

Таблица 3. Общая масса, г (числитель) и процент ее прироста (знаменатель) у кроликов в течение трех месяцев введения ноолита, $X \pm m$

Группа животных	Срок исследования, нед						
	Исходная масса	2	4	6	8	10	12
I, 0,5 г/кг	2978 ± 198 100%	3066 ± 188 3,1 \pm 1,1	3164 ± 197 6,3 \pm 0,9	3046 ± 212 3,2 \pm 1,6	3126 ± 213 4,9 \pm 1,3	3302 ± 172 11,2 \pm 1,6	3308 ± 168 11,7 \pm 3,7
II, 2,0 г/кг	2766 ± 170 100%	2838 ± 171 2,6 \pm 0,7	2886 ± 203 4,2 \pm 2,0	2834 ± 212 4,2 \pm 2,2	2834 ± 212 4,2 \pm 2,2	2930 ± 206 5,9 \pm 2,7*	2914 ± 201 6,9 \pm 2,8*
III, контроль	2630 ± 111 100%	2756 ± 95 4,9 \pm 1,1	2822 ± 83 7,6 \pm 2,1	2878 ± 92 9,8 \pm 3,1	2922 ± 103 11,4 \pm 2,9	3094 ± 109 18,0 \pm 3,6	3178 ± 119 21,4 \pm 5,1

нейтрофильного ростка (в миелограмме возрастало содержание зрелых и незрелых нейтрофильных гранулоцитов), лейко/эритробластическое отношение составило 4,8:1 (в контроле — 1,3:1). У одной крысы-самки наблюдалась эозинофилия, у одной — базофилия в костном мозге. Очевидно, выявленные изменения в системе крови связаны с действием лития, входящего в состав ноолита. В литературе известно о способности лития при лечении психических больных вызывать развитие дозозависимого нейтрофильного лейкоцитоза [8]. Данных о влиянии больших доз лития на эритрон мы не встретили.

Биохимическое исследование сыворотки крови крыс показало (табл. 2), что на 7-й день после однократного введения энтеросорбента у крыс (самцов и самок) снижалась активность щелочной фосфатазы, возрастало содержание креатинина. На 14-й день опыта снижался уровень глюкозы по сравнению с данными опыта на 7-й день ($p < 0,05$) и соответствующих контрольных групп. Средние величины других изученных биохимических показателей не отличались от их контрольных значений.

Макроскопическое исследование внутренних органов всех опытных животных при вскрытии не выяви-

Таблица 4. Показатели системы крови у кроликов через три месяца введения ноолита, $X \pm m$

Показатель	Группа животных, дозы		
	I, 0,5 г/кг	II, 2 г/кг	III, контроль
<i>Периферическая кровь</i>			
СОЭ, мм/ч	1,20 \pm 0,20	1,40 \pm 0,24	1,20 \pm 0,20
Гематокрит, %	36,8 \pm 0,73	35,0 \pm 1,41	35,2 \pm 1,07
Гемоглобин, г/л	120,0 \pm 3,89	111,0 \pm 4,15	113,4 \pm 4,11
Эритроциты, тыс./л	5,62 \pm 0,11	5,41 \pm 0,12	5,45 \pm 0,14
Ретикулоциты, %	23,0 \pm 2,70	31,60 \pm 4,97	25,80 \pm 1,88
Тромбоциты, г/л	293,3 \pm 16,2	336,5 \pm 14,1	288,4 \pm 22,1
Лейкоциты, г/л	9,36 \pm 1,65	7,74 \pm 1,0	8,14 \pm 0,75
Базофилы, г/л	0,29 \pm 0,11	0,51 \pm 0,12	0,22 \pm 0,04
Эозинофилы, г/л	0,32 \pm 0,13	0,15 \pm 0,07	0,15 \pm 0,07
Незрелые нейтрофилы, г/л	0,03 \pm 0,02	0,02 \pm 0,02	0,02 \pm 0,02
Зрелые нейтрофилы, г/л	2,86 \pm 0,44	2,51 \pm 0,41	3,03 \pm 0,41
Моноциты, г/л	0,42 \pm 0,13	0,39 \pm 0,17	0,22 \pm 0,05
Лимфоциты, г/л	5,37 \pm 1,16	4,09 \pm 0,59	4,47 \pm 0,70
Плазматические клетки, г/л	0,07 \pm 0,05	0,06 \pm 0,02	0,03 \pm 0,03
<i>Костный мозг, %</i>			
Незрелые нейтрофилы	12,64 \pm 1,71	12,38 \pm 0,76	11,22 \pm 0,99
Зрелые нейтрофилы	36,71 \pm 2,12	36,46 \pm 3,53	35,42 \pm 1,81
Эозинофилы	1,12 \pm 0,23	1,22 \pm 0,22	1,66 \pm 0,40
Базофилы	1,28 \pm 0,34	1,38 \pm 0,17	1,02 \pm 0,17
Лимфоциты	12,24 \pm 0,80	14,82 \pm 1,94	10,74 \pm 0,97
Моноциты	2,16 \pm 0,32	2,42 \pm 0,35	3,00 \pm 0,83
Мегакарициты	0,33 \pm 0,07	0,22 \pm 0,09	0,38 \pm 0,01
Эритронормобласты	28,80 \pm 1,86	26,58 \pm 2,96	31,65 \pm 2,43
Лейко-эритробластическое отношение	1,9 \pm 0,2	2,1 \pm 0,4	1,6 \pm 0,2

Таблица 5. Биохимические показатели мочи у кроликов через три месяца введения ноолита, $X \pm m$

Показатель	Группы животных, дозы		
	I, 0,5 г/кг	II, 2 г/кг	III, Контроль
Мочевина, ммоль/мл	0,30 ± 0,08	0,48 ± 0,08	0,44 ± 0,05
Креатинин, ммоль/л	9,33 ± 2,56	11,54 ± 3,09	10,42 ± 1,85
pH	8,40 ± 0,40*	9,00 ± 0,00*	6,40 ± 0,51

лю какой-либо патологии за исключением значительного увеличения массы селезенки у крыс с анемией. Масса остальных внутренних органов у всех крыс колебалась в пределах фоновых значений. Весовые коэффициенты внутренних органов контрольных и опытных крыс практически не отличались.

Анализ результатов изучения хронической токсичности на кроликах показал, что потребление ими ноолита в течение 3 мес не вызывало патологических изменений в общем состоянии. Величины прироста общей массы у опытных животных были ниже, чем у интактных (контроль), в конце эксперимента статистически достоверно у кроликов, получавших препарат в дозе 2 г/кг (табл. 3). Гибель животных не наблюдали.

При исследовании показателей системы крови установлено, что через 1,5 месяца введения ноолита у кроликов первой группы (0,5 г/кг) улучшились показатели красной крови (увеличилось гематокритное число, содержание гемоглобина и эритроцитов). У животных второй группы (2 г/кг), а также у животных обеих групп через 3 мес опыта средние величины изученных показателей периферической крови существенно не отличались от контроля. При подсчете миелограмм выявлено, что средние величины относительного содержания отдельных клеточных форм различных ростков гемопоэза у кроликов опытных групп существенно не отличаются от таковых у животных контрольной группы (табл. 4).

У кроликов опытных групп при сравнении с контролем не выявлено патологических изменений при анализе средних величин изученных биохимических показателей сыворотки крови и мочи. При этом следует отметить в моче статистически достоверный сдвиг pH в щелочную сторону (табл. 5).

Макроскопическое исследование при вскрытии всех кроликов не выявило какой-либо патологии внутренних органов. Основные паренхиматозные органы выделяли и взвешивали. Анализ данных, представленных в табл. 6, показывает отсутствие разницы в средних величинах весовых коэффициентов внутренних органов кроликов контрольной и опытных групп. Микроскопическое исследование внутренних органов кроликов, получавших три месяца ноолит, показало, что практически все они имели обычное строение и не отличались от контрольных животных.

ВЫВОДЫ

1. Ноолит — содержащий литий энтеросорбент — при однократном введении в желудок беспородным крысам и мышам обоего пола малотоксичен и относится к группе малоопасных лекарственных средств. Введение больших доз однократно снижает процент прироста общей массы, а также вызывает развитие анемии регенераторного характера в 5 % случаев, гиперплазию гранулоцитарного ростка в 3 % случаев, снижение содержания глюкозы.

2. Ноолит в хроническом трехмесячном эксперименте на кроликах в дозах 0,5 и 2 г/кг (в 2 и 10 раз выше терапевтической дозы для человека) не влияет на функции и морфологическое состояние основных органов и систем организма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Е. Б. Берхин, Ю. И. Иванов, *Методы экспериментального исследования почек и водно-солевого обмена*, Изд. "Омская правда", Барнаул (1972).
2. Ю. И. Бородин, Л. Н. Рачковская, М. В. Тендитник и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **64**(1), 26 – 29 (2001).

Таблица 6. Коэффициенты массы внутренних органов кроликов (в г на 100 г массы тела) через три месяца введения ноолита, $X \pm m$

Показатель	Группы животных, дозы		
	I, 0,5 г/кг	II, 2 г/кг	III, Контроль
Головной мозг	0,27 ± 0,01	0,30 ± 0,02	0,27 ± 0,01
Сердце	0,26 ± 0,02	0,28 ± 0,02	0,27 ± 0,02
Легкое	0,37 ± 0,02	0,36 ± 0,03	0,34 ± 0,01
Печень	3,39 ± 0,25	2,93 ± 0,29	3,17 ± 0,50
Почка	0,28 ± 0,02	0,27 ± 0,02	0,30 ± 0,02
Надпочечники	0,011 ± 0,0005	0,011 ± 0,0001	0,012 ± 0,002
Тимус	0,073 ± 0,013	0,069 ± 0,012	0,088 ± 0,011
Селезенка	0,041 ± 0,004	0,069 ± 0,019	0,061 ± 0,012
Яичко/Яичник	0,10 ± 0,01/0,008 ± 0,002	0,09 ± 0,01/0,009 ± 0,002	0,11 ± 0,00/0,006 ± 0,001
Общая масса, г	3308 ± 168	2914 ± 201	3178 ± 119

3. Д. И. Гольдберг, Е. Д. Гольдберг, Н. Г. Шубин, *Гематология животных*, Изд. ТГУ, Томск (1973).
4. В. Г. Колб, В. С. Камышников, *Справочник по клинической химии*, Беларусь, Минск (1982).
5. Г. А. Меркулов, *Курс патогистологической техники*, Медицина, Ленинградское отделение (1969).
6. *Лабораторные методы исследования в клинике*, В. В. Меньшиков (ред.), Медицина, Москва (1987).
7. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, Москва (2000).
8. L. K. Oyewumi, M. McKnight, and Z. Z. Cernovsky, *J. Psychiatry Neurosci (Canada)*, **24**(3), 215 – 221 (1999).

Поступила 18.03.05

PRECLINICAL TOXICOLOGICAL STUDY OF THE NEW ENTEROSORBENT NOOLIT

G. V. Karpova¹, Yu. I. Borodin², L. N. Rachkovskaya², T. I. Fomina¹, T. V. Vetoshkina¹,
E. V. Abramova¹, and T. I. Novoselova³

¹ Institute of Pharmacology, Tomsk Scientific Center, Siberian Division, Russian Academy of Medical Sciences, pr. Lenina 3, Tomsk, 634028 Russia

² Research Institute for Drug Control and Expertise, Siberian Division of the Russian Academy of Medical Sciences, ul. Timakova 2, Novosibirsk, 630117 Russia

³ "Nov" Research and Production Corporation, ul. Karamzina 53, Novosibirsk, Russia

The safety of the new enterosorbent noolit has been evaluated within the framework of its preclinical characterization. Single introduction of noolit to rats and mice (females and males) in maximum doses for intragastric administration (5.0 – 20.0 g/kg) does not lead to the loss of experimental animals. Single administration of large doses (5 – 40 times the effective dose) can reduce the growth of the total body weight and lead to the development of nonlethal pathological changes of hemopoietic organs, which is manifested by a weak regenerative anemia (5 % of cases); neutrophile, eosinophile, and basophile leukocytosis (3 % of cases); and a decrease in the glucose level in blood serum. In chronic experiments on rabbits, the administration of noolit for 3 months in a dose of 0.5 and 2.0 g/kg (2 and 8 times that recommended for humans) did not reveal any toxic action on the functional and morphological state of the main systems and organs (blood, liver, kidneys, lungs, heart, gastrointestinal tract, sex organs, etc.).