

ТОКСИКОЛОГИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПЕНТАМАНГА И МАНГАСКАНА

**А. А. Чурин¹, Г. В. Карпова¹, Т. И. Фомина¹, Т. В. Ветошкина¹,
Т. Ю. Дубская¹, О. Л. Воронова¹, В. Д. Филимонов², М. Л. Белянин², В. Ю. Усов³**

Проведено доклиническое токсикологическое изучение (острая токсичность) новых парамагнитных контрастных средств для магнитно-резонансной томографии мангаскана (0,5 М раствор Mn(II)-этилендиаминтетраацетата, Mn(II)-ЭДТА) и пентаманга (0,5 М раствор Mn(II)-диэтилентриамиппентаацетата, Mn(II)-ДТПА). Через 14 дней после однократного внутривенного введения крысам мангаскана (10 мл/кг) или пентаманга (5 мл/кг) не выявлено токсического влияния изученных препаратов на общее состояние, показатели системы кроветворения, сердечно-сосудистой и центральной нервной систем, функцию печени и почек экспериментальных животных. Не отмечено патологических изменений функций и морфологии изученных внутренних органов и систем. Исследование показало, что мангаскан и пентаманг являются малотоксичными соединениями.

Ключевые слова: острая токсичность, мангаскан, пентаманг, парамагнитные контрастные средства

ВВЕДЕНИЕ

Широкое применение в магнитно-резонансной томографии (МРТ) препаратов с целью контрастирования патологических образований началось с середины 80-х годов после появления первого коммерческого парамагнитного контрастного препарата (ПМКП) гадопентетата димеглюмина (магневист, "Shering", Германия). Но до настоящего времени высокая стоимость процедуры, главным образом, за счет высокой цены на ПМКП, затрудняет использование МРТ в рутинной практике, хотя объем показаний к применению этого метода с каждым годом растет. В связи с этим в ГУ НИИ кардиологии ТНЦ СО РАМН (Томск) совместно с Томским политехническим университетом проводятся исследования по созданию массовых, относительно дешевых контрастных препаратов на основе стойких комплексов хелатов типа ДТПА с парамагнитными ионами. В результате предложены новые фармакологические соединения — комплексы Mn(II)-ЭДТА и ДТПА в качестве контрастных препаратов для МРТ, зарегистрированных под названиями мангаскан™ (0,5 М раствор Mn(II)-этилендиаминтетраацетата, Mn(II)-ЭДТА) и пентаманг™ (0,5 М раствор Mn(II)-диэтилентриамиппентаацетата, Mn(II)-ДТПА). Согласно ранее полученным результатам, эти фарма-

кологические средства проявляют хорошие визуализационные свойства при МРТ, соизмеримые с эффектами традиционных МПКП [1, 12, 13].

Целью настоящей работы явилось изучение острой токсичности парамагнитных контрастных средств для МРТ — мангаскана (Mn(II)-ЭДТА) и пентаманга (Mn(II)-ДТПА).

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Лекарственные формы испытуемых контрастных парамагнитных средств для МРТ представляют прозрачную, с легкой желтизной жидкость без осадка, pH 6,8 – 7,4, во флаконах по 10 мл. Синтезированные и химически очищенные препараты не содержат свободного марганца и могут иметь незначительное количество, до 0,5 %, свободного ЭДТА (для мангаскана, 0,5 ммоль/мл Mn(II)-этилендиаминтетраацетата, Mn(II)-ЭДТА), либо до 2 % — ДТПА (для пентаманга, 0,5 ммоль/мл Mn(II)-диэтилентриамиппентаацетата, Mn(II)-ДТПА, мангапентат), в растворе. Инъекционная форма препаратов после получения автоклавирована при температуре 140 °C и дополнительно стерилизована двойной фильтрацией через мембранные микрофильтры Millipore с размером пор менее 0,22 мкм. Мангаскан и пентаманг рекомендованы для использования в клинике в виде внутривенных инъекций в дозе 1 мл на 10 кг массы тела. В работе использованы пентаманг производства ГУ НИИ кардиологии ТНЦ СО РАМН — НПФ АртЛайф (Томск) (серия МБ642) и мангаскан, синтезированный на кафедре органической химии и технологий органического синтеза химико-технологического факультета Томского политехнического университета.

Эксперименты поставлены в соответствии с требованиями по изучению новых фармакологических веществ [10] на пологозрелых белых неинбредных мышах (по 90 животных на каждый препарат, поровну самцов и самок, исходная масса тела 20 – 30 г) и крысах (80 животных при исследовании пентаманга и 40 животных — мангаскана, поровну самцов и самок, исходная масса тела 130 – 250 г) разводки НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН (Томск). Содержание животных осуществлялось со-

¹ ГУ НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН, Томск, 634028, пр. Ленина, 3;

² Химико-технологический факультет Томского политехнического университета, Томск, 634050, пр. Ленина, 30;

³ ГУ НИИ кардиологии ТНЦ СО РАМН Томск, 634012, ул. Киевская, 111А.

гласно правилам, принятым Европейской конвенцией по защите позвоночных животных (Страсбург, 1986), с соблюдением необходимых требований содержания и кормления [6]. Контролем служили животные (по 5 самцов и самок), получившие в эквивалентном объеме физиологический раствор. Mn(II)-ЭДТА и Mn(II)-ДТПА вводили мышам и крысам соответственно однократно внутривенно, в желудок и подкожно. Период наблюдения составлял 14 дней. В ходе эксперимента следили за поведением, внешним видом, двигательной активностью, реакцией животных на внешние раздражители, общей массой. Измеряли температуру тела, регистрировали ЭКГ, исследовали функцию печени, почек, ЦНС, а также морфологию основных внутренних органов.

В периферической крови экспериментальных животных определяли гематокритное число, гемоглобин, содержание эритроцитов, ретикулоцитов, тромбоцитов, лейкоцитов, показатели лейкограммы, СОЭ, используя автоматический гематологический анализатор Abacus ("Diatron", Австрия) и общепринятые ручные методы исследования. Состояние костномозгового кроветворения у крыс оценивали путем подсчета общего количества миелокариоцитов (ОКК) на бедренную кость ($10^6/\text{бедро}$) и миелограмм на мазках, приготовленных из гомогената фрагмента миелоидной ткани, взятой из сегмента грудины, и аутологичной сыворотки (1:1), комбинированно окрашенных фиксатором-красителем Май-Грюнвальда и азур II-эозином по Нохту [3, 4, 11].

Белковую, углеводную, ферментативную и другие метаболические функции печени оценивали по активности аспартат- и аланинаминотрансфераз (АсАТ и АлАТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), содержанию глюкозы, белка, мочевины, креатинина, холестерина, билирубина по общепринятым методам [5], используя полуавтоматический биохимический анализатор фирмы "Cormay" (Польша). Для оценки почечного метаболизма в моче определяли следующие показатели: суточный диурез, глюкозу, билирубин, кетоны, удельную плотность, скрытую кровь, протеин, уробилиноген, нитриты, лейкоциты и pH. Исследования проведены на автоматическом анализаторе мочи CLINITEK-50 (Германия) на полосках URS-10 (США).

О влиянии на ЦНС судили, исследуя эмоциональную реакцию и ориентировочно-исследовательское поведение в «открытом поле» [8, 14].

Таблица 1. Показатели острой токсичности мангаскана и пентаманга при однократном введении мышам и крысам, $X \pm m$

Вид, пол животных, способ введения	Дозы, мл/кг		
	LD ₁₀	LD ₅₀	LD ₉₀
<i>Мангаскан</i>			
<i>Мыши (самцы и самки),</i>			
внутривенно	8,3 ± 7,3	15,5 ± 2,6	29,0 ± 25,4
в желудок	38,0 ± 11,1	53,3 ± 5,8	74,8 ± 21,9
подкожно	23,4 ± 4,9	36,6 ± 3,6	57,2 ± 12,1
<i>Крысы (самцы и самки),</i>			
внутривенно		> 10,0	
подкожно		> 25,0	
в желудок		> 25,0	
<i>Пентаманг</i>			
<i>Мыши (самцы и самки),</i>			
внутривенно	4,8 ± 2,7	8,9 ± 1,6	16,6 ± 9,5
в желудок	30,1 ± 4,6	41,1 ± 3,4	56,1 ± 8,5
подкожно	11,5 ± 5,4	24,0 ± 8,3	50,0 ± 23,5
<i>Крысы (самцы и самки),</i>			
внутривенно	5,3 ± 5	14,1 ± 4,5	37,2 ± 34,7
в желудок		> 25,0	
подкожно		> 25,0	

После декапитации животных и взятия крови проводили вскрытие крыс, макроскопическое исследования внутренних органов и определение их массы. Для микроскопического исследования были взяты следующие органы: головной мозг, сердце, легкое, печень, почка, мочевой пузырь, желудок, тонкая и толстая кишка, поджелудочная и щитовидная железы, селезенка, тимус, надпочечник, яичник или семенник. Кусочки органов фиксировали в формалине и заливали в парафин. Депарафинированные срезы окрашивали гематоксилином и эозином [9].

Полученные при исследовании численные данные обрабатывали методами вариационной статистики с применением критерия Стьюдента и Вилкоксона-Манна-Уитни и вычислением средней арифметической (X) и стандартной ошибки ($\pm m$) [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании острой токсичности на мышах и крысах мангаскана и пентаманга были получены результаты, представленные в табл. 1. Так, при введении мангаскана внутривенно однократно в дозе 10 мл/кг крысам (предельный объем для введения этим лабораторным животным), не наблюдалось гибели животных и каких-либо патологических изменений общего состояния, динамики общей массы, функциональной активности и морфологии изученных внутренних органов и систем. Для пентаманга показатель LD₅₀ достоверно превышает 10 мл/кг массы. Величины LD₁₀, LD₅₀ и LD₉₀ позволяют в целом отнести препараты согласно ГОСТ 121007-76 к группе 4 (малоопасные вещества).

В состоянии периферической крови крыс на 14-е сутки после однократного внутривенного введения мангаскана в дозе 10 мл/кг не выявлено статистически значимых отличий от таковых у животных соответствующей контрольной группы. При исследовании показателей периферической крови у крыс после введения пентаманга в дозе 5 мл/кг у самцов выявлено статистически достоверное увеличение средних величин содержания эритроцитов (Mn(II)-ДТПА — 7,59 ± 0,09, в контроле — 7,06 ± 0,23 Т/л, $p < 0,05$), ретикулоцитов (Mn(II)-ДТПА — 45,4 ± 2,7, в контроле 31,4 ± 1,5%, $p < 0,01$) и лимфоцитов (Mn(II)-ДТПА — 8,62 ± 0,95, в контроле — 5,68 ± 0,61 Г/л, $p < 0,05$) по сравнению с контрольными животными. Эти изменения не носили патологического характера и находились в пределах физиологических колебаний [4].

Изучение костномозгового кроветворения выявило достоверную разницу в средних величинах содержания некоторых редко встречающихся костномозговых клеточных форм. Так, при введении мангаскана (табл. 2) отмечалось более высокое содержание у крыс-самцов макрофагов и митозов эритронормобластов, у крыс-самок — мегакариоцитов, а пентаманга: у крыс-самцов — мегакариоцитов (Mn(II)-ДТПА — 0,71 ± 0,1, в контроле — 0,46 ± 0,03 10⁶/бедро, $p < 0,05$), у крыс-самок — базофилов (Mn(II)-ДТПА — 1,93 ± 0,05, в контроле — 10⁶/бедро, $p < 0,05$). Выявленные изменения находятся в пределах физиологиче-

Таблица 2. Состояние костного мозга у крыс на 14-е сутки после однократного введения мангаскана в дозе 10 мл/кг, $M \pm m$

Показатель, $10^6/\text{бедро}$	Самцы		Самки	
	Мангаскан	Контроль	Мангаскан	Контроль
ОКК	128,4 ± 8,5	108,2 ± 11,6	147,7 ± 17,7	139,8 ± 10,5
Недиф. бласты	0,52 ± 0,18	0,27 ± 0,03	0,25 ± 0,16	0,53 ± 0,13
Миелобласты	1,14 ± 0,36	0,88 ± 0,21	0,89 ± 0,26	0,84 ± 0,15
Незрелые нейтрофилы	3,74 ± 0,64	4,19 ± 0,70	4,56 ± 0,46	4,76 ± 0,28
Зрелые нейтрофилы	42,63 ± 4,27	35,66 ± 5,58	61,96 ± 11,05	53,17 ± 3,06
Эозинофилы	3,57 ± 0,56	3,60 ± 1,05	6,62 ± 1,60	4,99 ± 0,44
Базофилы	0,28 ± 0,12	0,61 ± 0,22	0,22 ± 0,10	0,51 ± 0,18
Митозы гранулоцитарного ряда	1,88 ± 0,60	1,29 ± 0,33	2,70 ± 0,46	1,67 ± 0,46
Лимфоциты	26,85 ± 4,31	27,26 ± 2,68	22,41 ± 3,84	27,89 ± 5,52
Моноциты	8,90 ± 0,93	6,22 ± 1,08	12,36 ± 1,23	9,39 ± 0,83
Плазматические клетки	0,57 ± 0,24	0,64 ± 0,26	0,61 ± 0,15	1,02 ± 0,35
Макрофаги	3,44 ± 0,75*	1,63 ± 0,05	2,61 ± 0,31	2,06 ± 0,50
Мегакариоциты	1,07 ± 0,09	0,75 ± 0,15	1,26 ± 0,15*	0,57 ± 0,08
Эритронормобlastы	31,54 ± 3,32	24,02 ± 2,69	30,09 ± 3,09	31,12 ± 2,72
Митозы эритроидного ряда	2,27 ± 0,31*	0,99 ± 0,28	1,21 ± 0,12	1,28 ± 0,41

Примечание. Здесь и в табл. 3 * — $p < 0,05$ при сравнении полученных данных с соответствующими значениями у контрольных животных.

ских колебаний и не могут свидетельствовать о миелотоксичности исследуемых препаратов.

Биохимическое исследование метаболического состояния печени показало (табл. 3), что на 14-й день после введения мангаскана у крыс-самцов определялись более высокие средние значения содержания креатинина и мочевины, однако у крыс-самок этот показатель не отличался от соответствующих контрольных значений. Введение пентаманга привело к снижению содержанию креатинина у крыс самцов ($\text{Mn}(\text{II})\text{-ДТПА}$ — $51,19 \pm 2,55$, в контроле — $62,87 \pm 2,49$ мкмоль/л, $p < 0,05$), при этом у самок этот показатель не отличался от контроля. Отмеченное снижение активности щелочной фосфатазы у крыс-самок не носит патологического характера ($\text{Mn}(\text{II})\text{-ДТПА}$ — $598,8 \pm 28$, в контроле — $718,6 \pm 26,9$ Е/л, $p < 0,05$). Средние величины других изученных параметров находились в пределах соответствующих значений контрольных групп животных. Результаты проведенных исследований мочи

показали, что введение мангаскана и пентаманга практически не приводило к изменению показателей, отражающих функциональное состояние почек.

На 14-е сутки после введения мангаскана отмечено повышение уровня эмоциональной реакции в группе самцов ($\text{Mn}(\text{II})\text{-ЭДТА}$ — $6,2 \pm 0,37$, в контроле — $3,5 \pm 0,2$, $p < 0,01$) и показателя дефекации у самок ($\text{Mn}(\text{II})\text{-ЭДТА}$ — $3,4 \pm 1,2$, в контроле — 0 , $p < 0,05$), получивших препарат, при отсутствии изменений других показателей ориентировочно-исследовательского поведения. Введение пентаманга приводило к повышению уровня горизонтальной активности у самок ($\text{Mn}(\text{II})\text{-ДТПА}$ — $35,2 \pm 3,97$, в контроле — $13,20 \pm 4,25$, $p < 0,01$), при отсутствии изменений других показателей как у самок, так и самцов. Это, по всей видимости, не связано с применением препарата.

Исследование влияния мангаскана и пентаманга на функцию сердца крыс (вместе самцы и самки) по данным анализа электрокардиограмм не выявило наруше-

Таблица 3. Биохимические показатели крови у крыс на 14-е сутки после однократного введения мангаскана в дозе 10 мл/кг, $X \pm m$

Показатель	Самцы		Самки	
	Мангаскан	Контроль	Мангаскан	Контроль
АлАТ, мккат/л	0,56 ± 0,04	0,54 ± 0,02	0,42 ± 0,05	0,39 ± 0,02
АсАТ, мккат/л	0,51 ± 0,01	0,52 ± 0,03	0,48 ± 0,02	0,49 ± 0,01
ЩФ, Е/л	802,8 ± 51,5	827,7 ± 53,4	454,0 ± 87,2	372,7 ± 56,0
Глюкоза, ммоль/л	6,47 ± 0,53	6,80 ± 0,64	9,30 ± 0,88	8,28 ± 0,51
Мочевина, ммоль/л	9,15 ± 1,19*	5,72 ± 0,71	7,81 ± 1,06	7,87 ± 0,57
Креатинин, мкмоль/л	62,47 ± 1,55*	48,59 ± 1,87	80,87 ± 4,31	76,36 ± 10,92
Белок, г/л	53,20 ± 1,23	50,85 ± 1,75	59,50 ± 1,32	62,53 ± 2,76
Холестерин, ммоль/л	2,37 ± 0,27	2,27 ± 0,11	2,41 ± 0,21	2,03 ± 0,86
Общий билирубин, мкмоль/л	8,43 ± 0,73	9,45 ± 2,03	5,17 ± 0,86	7,30 ± 0,70

ний сердечного ритма и проводимости. Длительность интервалов и амплитуда зубцов электрокардиограммы также статистически достоверно не отличались от соответствующих значений у животных контрольных групп и не выходили за пределы принятых для данного вида животных физиологических норм [2].

Микроскопическое исследование внутренних органов всех экспериментальных крыс при однократном внутривенном введении Mn(II)-ЭДТА (10 мл/кг), либо Mn(II)-ДТПА (5 мл/кг) показало, что препараты не оказывают токсического влияния на морфологию внутренних органов животных, так как изученные органы имели обычное строение и не отличались от контрольных.

Таким образом, токсические эффекты при однократном внутривенном введении новых средств для магнитно-резонансной томографии мангаскана и пентаманга при стандартной оценке отсутствовали. Выявленные параметры острой токсичности мангаскана и пентаманга при исследовании на мышах и крысах при разных путях введения (внутривенно, подкожно, в желудок) позволяют отнести их согласно ГОСТу 12.1.007–76 к 4-му классу (малоопасные вещества).

ВЫВОДЫ

1. Мангаскан (0,5 М раствор Mn(II)-этилендиаминтетраацетата, Mn(II)-ЭДТА) в дозе 10 мл/кг и пентаманг (0,5 М раствор Mn(II)-диэтилентриаминпентаацетата, Mn(II)-ДТПА) в дозе 5 мл/кг через 14 дней после однократного внутривенного введения не вызывают патологических изменений функциональной активности и морфологии изученных внутренних органов и систем.

2. Мангаскан и пентаманг при однократном внутривенном введении крысам и мышам малотоксичны и относятся к группе малоопасных лекарственных средств.

ЛИТЕРАТУРА

1. О. Ю. Бородин, *Автореф. дис. канд. мед. наук*, Томск (2004).
2. И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария, Б. В. Западнюк, *Лабораторные животные: Разведение, содержание, использование в эксперименте*, Киев (1983).
3. *Исследование системы крови в клинической практике*, Г. И. Козинец, В. А. Макаров (ред.), Москва (1997).
4. Г. В. Карпова, Е. В. Абрамова, *Baltic. J. Lab. Anim. Sci.*, **13**, 140 – 145 (2003).
5. В. Г. Колб, В. С. Камышников, *Клиническая биохимия*, Минск (1982).
6. *Лабораторные животные. Руководство*, Н. Н. Каркищенко (ред.), Москва (2003).
7. Г. Ф. Лакин, *Биометрия*, Москва (1980).
8. А. Л. Маркель, Ю. К. Галактионов, В. М. Ефимов, *Ж. высш. нервн. деят.*, **38**(5), 855 – 863 (1988).
9. Г. А. Меркулов, *Курс патогистологической техники*, Ленинград (1969).
10. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, Р. У. Хабриев (ред.), Москва (2005).
11. *Справочник лабораторных методов исследования*, В. В. Меньшиков (ред.), Москва (1987).
12. В. Ю. Усов, М. Л. Белянин, О. Ю. Бородин, и др., *Мед. виз.*, **6**, 134 – 144 (2006).
13. В. Ю. Усов, О. Ю. Бородин, М. Л. Белянин, В. Д. Филимонов, *Мед. виз.*, **4**, 133 – 137 (2002).
14. J. K. Brady and W. J. H. Nauta, *J. Comparative Physiol.*, **46**(3), 339 – 340 (1953).

Поступила 19.12.07

PRECLINICAL TOXICOLOGICAL EVALUATION OF PENTAMANG AND MANGASCAN

A. A. Churin¹, G. V. Karpova¹, T. I. Fomina¹, T. V. Vetoshkina¹, T. Yu. Dubskaya¹, O. L. Voronova¹, V. D. Filimonov², M. L. Belyanin², and V. Yu. Usov³

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

² Department of Chemical Technology, Tomsk State Polytechnic University, ul. Lenina 30, Tomsk, 634028, Russia

³ Institute of Cardiology, Tomsk Scientific Center, Siberian Branch, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Kievskaya 111a, 634050, Russia

We have carried out a preclinical toxicological investigation (acute toxicity evaluation) of Mangascan (0.5 M solution of manganese(II) – EDTA complex) and Pentamang (0.5 M solution of manganese(II) – DTPA complex), a new paramagnetic contrast agents for MRI procedures. In 14 days after single intravenous introduction of Mangascan (10.0 ml/kg) or Pentamang (5.0 ml/kg) to rats, no any toxic influence of the studied agents was detected in the general condition, bone marrow, cardiovascular and central nervous systems, and liver and kidney functions of experimental animals. No pathological changes were observed in the functional activity and morphology of the internal organs and systems. The results showed that both Mangascan and Pentamang belong to the class of low toxicity substances.