

*И. В. Голованова, С. А. Шарова, Л. А. Чичерина, Н. А. Федосеев,
М. А. Милосердова, Т. А. Гуськова, Л. Ф. Стебаева, Е. Н. Падейская*

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МАКСАКВИНА

ЦХЛС — ВНИХФИ, Москва

В настоящее время в медицинской практике широко применяются фторхинолоны. В целом препараты этого ряда отличаются хорошей переносимостью, однако некоторые побочные эффекты ограничивают их применение. Наиболее существенным является способность фторхинолонов повреждать хрящевую и костную ткани [1,3,6,].

Максаквин — дифторированный хинолон, разработанный фирмой «Searle» (США) [9]. Обладает типичным для всех хинолонов спектром побочных эффектов, в том числе и влиянием на хрящевую ткань. В настоящее время Максаквин наряду с другими фторхинолонами (пемфлосацин, офлоксацин, ципрофлоксацин) начал использоваться в отечественной клинической практике. В связи с этим представлялось важным проведение дополнительных токсикологических исследований с целью получения токсикологических характеристик, подтверждающих относительную безопасность препарата. Задачей настоящего исследования было изучение токсичности Максаквина в остром опыте и при повторных введениях в экспериментах на лабораторных животных.

Определение острой токсичности проводили на нелинейных белых мышах (самцах массой 21—22 г) при пероральном и внутрибрюшинном введениях. Препарат вводили зондом в желудок однократно в виде взвеси в 1 % крахмальном геле в дозах от 1 до 2 г/кг и внутрибрюшинно водный раствор субстанции в дозах от 100 до 900 мг/кг. Каждая подопытная группа состояла из 8—10 мышей. Наблюдения за животными осуществляли в течение 14 дней. LD₅₀ рассчитывали по методу Литчфилда и Уилкоксона с помощью программы для РС фирмы «APPLE».

Исследование токсических свойств при повторном введении проводили на нелинейных белых крысах-самцах с исходной массой 90—100 г и 40 г. Крыс содержали в стандартных пластмассовых клетках по 10 особей в каждой и на стандартном рационе (комбикорм, овощи, вода). Доступ к воде и корму свободный. Освещение вивария естественное. Температура в помещении вивария — 20—22°C. Максаквин вводили зондом в желудок в виде взвеси в крахмальном геле в течение одного месяца в дозах 400 и 800 мг/кг, что значительно превышало терапевтические дозы Максаквина в клинике (400 мг в день однократно, т.е. 6—7 мг/кг, курс лечения в среднем 14 дней). На каждую дозу брали по 15 животных. Контрольные животные получали плацебо. В течение эксперимента за животными вели ежедневные визуальные наблюдения, оценивая общее состояние и поведение. Через две недели, 1 месяц после начала введения и через 2 недели после

отмены препаратов регистрировали динамику изменения массы тела. У животных с исходной массой 90—100 г в эти же сроки измеряли двигательную активность (на приборе «Digiscan analyser» фирмы «Coulbourn instruments», США). Для оценки двигательной активности предварительно до начала эксперимента у животных была определена фоновая двигательная активность. В экспериментальные группы были отобраны крысы с показателями горизонтальной двигательной активности в пределах 2000±243 — 2200±240 имп/15 мин. Проводили также биохимические (концентрация сахара, активность щелочной фосфатазы, активность аланиновой и аспарагиновой аминотрансфераз, концентрация общего белка, холестерина, мочевины), гематологические (гемоглобин, эритроциты, лейкоциты, тромбоциты, лейкоцитарная формула, гематокрит) и патоморфологические (головной мозг, гипофиз, сердце, вилочковая железа, легкие, печень, почки, надпочечники, гонады, костный мозг, желудок, поджелудочная железа, тонкий и толстый кишечник) исследования. Окраска гематоксилин-эозином. Печень и надпочечники дополнительно окрашивали суданом III.

Влияние Максаквина на хрящевую ткань оценивали на основании морфологических изменений хрящевой ткани голеностопного (скакательного) сустава с использованием гистологического и электронно-микроскопического методов и по влиянию препарата на активность ферментов кислой и щелочной фосфатаз в ткани хряща. Исследование состояния хрящевой ткани было проведено на неполовозрелых крысах с исходной массой 40 и 100 г после 12 и 30 ежедневных введений препарата, а также через две недели после последнего введения. В указанных экспериментах использованы те же суточные дозы, что и при изучении субхронической токсичности Максаквина (см. выше). Ультраструктуру хрящевой ткани изучали на недекальцинированной кости, из которой готовили криостатные срезы 15—20 мкм и обрабатывали их по схеме, общепринятой для электронной микроскопии. Выявление активности кислой и щелочной фосфатаз проводили на криостатных срезах по методу Goldberg [5]. Количественное определение активности ферментов осуществляли с помощью микросциметра MD-100 (ФРГ) и выражали в процентах по отношению к контролю. Результаты обрабатывали по методу вариационной статистики; достоверность при $p < 0,05$. При пероральном введении Максаквина в дозе 1 г/кг гибели животных не было, изменений в общем состоянии не отмечено. При увеличении дозы препарата наблюдалось состояние угнетения, которое носило дозозависимый характер.

Единичная гибель наблюдалась уже от дозы 1,2 г/кг и выше и происходила на 2-е, 3-и сутки после введения. В более отдаленные сроки гибели животных не наблюдалось. При внутрибрюшинном введении животные также хорошо переносили препараты в достаточно высоких дозах. Частичная гибель животных начиналась только после введения Максаквина в дозе 300 мг/кг. Гибель происходила в первые сутки после введения на фоне общего угнетения. Гибели животных в отдаленные сроки после введения препарата не наблюдалось.

Таким образом, при внутрибрюшинном введении Максаквина мышам LD₅₀ составляет 544,4 мг/кг, при введении внутрь — 1957 мг/кг. Полученные нами значения LD₅₀ близки к результатам, опубликованным фирмой «Searle».

Результаты изучения состояния животных после повторного введения Максаквина представлены в табл.1. В течение всего эксперимента подопытные животные по общему состоянию не отличались от контрольных. Гибели животных отмечено не было. Динамика массы тела у всех крыс положительная.

Статистически достоверного понижения или повышения двигательной активности по сравнению с контролем ни в одной из подопытных групп отмечено не было (регистрировалась горизонтальная и вертикальная активность). Тем не менее имеется выраженная тенденция к снижению горизонтальной активности к концу эксперимента по отношению как к исходному уровню, так и к контролю у крыс, получавших Максаквин в дозе 800 мг/кг (рис.1). Результаты коррелируют с данными литературы, свидетельствующими о том, что в диапазоне доз от 300 до 1000 мг/кг у экспериментальных животных наблюдалось угнетение двигательной активности [9].

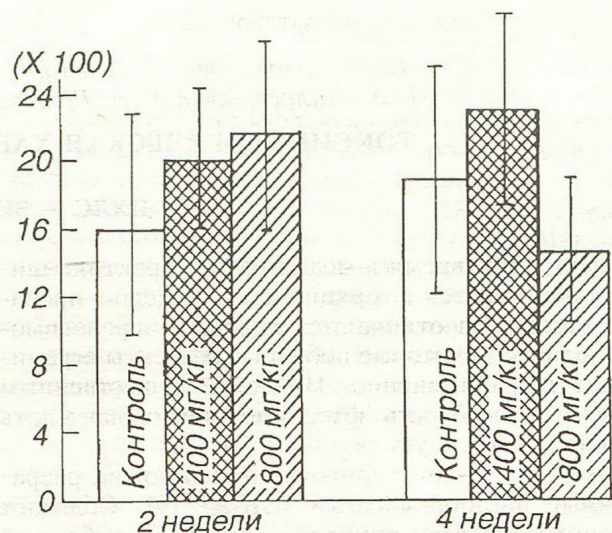


Рис. 1. Влияние Максаквина на двигательную активность крыс. По оси ординат: величина двигательной активности (имп/15 мин)

При гематологических исследованиях установлено, что все показатели находились в пределах физиологических колебаний: по количеству гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов подопытные животные не отличались от контрольных.

Биохимические исследования не обнаруживали существенных отклонений от нормы.

Макроскопический осмотр внутренних органов крыс, проведенный при вскрытии после окончания эксперимента, не выявил существенных различий между подопытными и контрольными группами. Гистологический анализ внутренних органов крыс, получавших Максаквин в дозе 800 мг/кг, показал наличие слабо выраженной белковой дистрофии в

Таблица 1

Токсичность Максаквина в субхроническом эксперименте (крысы, 80—90 г, длительность введения 1 месяц, способ введения per os)

Показатель	Доза, мг/кг	
	400	800
Внешний вид	Норма	Норма
Динамика массы тела	Положительная	Положительная
Влияние на ЦНС (двигательная активность)	Норма	Тенденция к снижению
Гематологические исследования (гемоглобин, число эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, лейкоцитарная формула, гематокрит)	Норма	Норма
Биохимические исследования крови (сахар, общий белок, холестерин, мочевины, активность щелочной фосфатазы, АЛТ, АСТ)	Тенденция к повышению содержания холестерина, остальные показатели в норме	
Патоморфологические исследования (головной мозг, гипофиз, сердце, тимус, легкие, щитовидная железа, печень, почки, поджелудочная железа, тонкий и толстый кишечник, желудок, гонады, костный мозг)	Все показатели в норме	Слабая белковая дистрофия печени, нефротоксичность, гиперплазия щитовидной железы, остальные показатели в норме

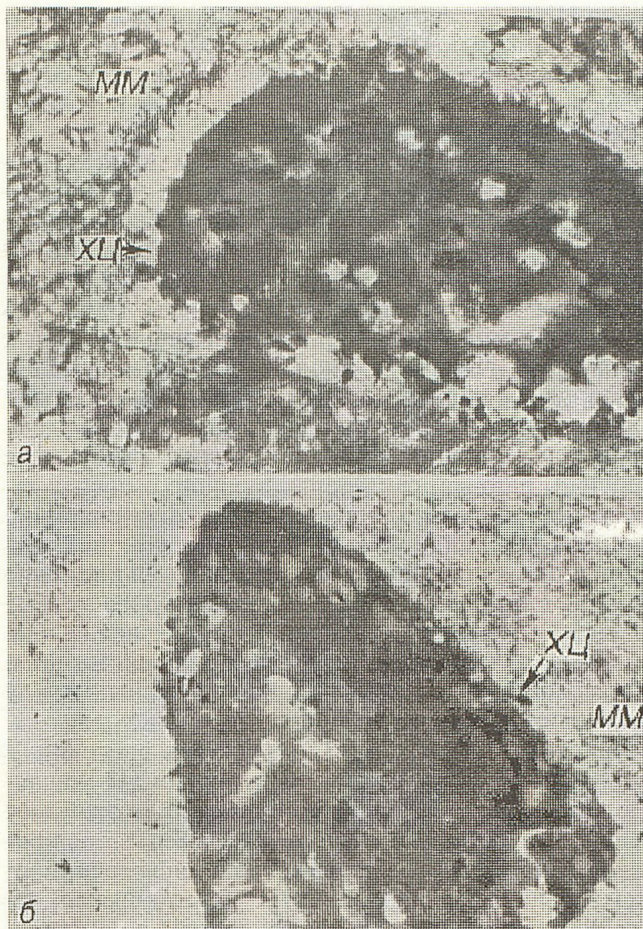


Рис. 2. Структура хондроцитов и межклеточного матрикса голенистоного сустава у крыс после 12 ежедневных введений Максаквина в дозе 800 мг/кг. $\times 10000$.

В клетках повышена электронная плотность вакуолизированной цитоплазмы, структура органоидов определяется с трудом, коллаген межклеточного матрикса набухший. Здесь и на рис. 3: а — крысы с исходной массой 40 г, б — крысы с исходной массой 100 г; ХЦ — хондроцит, ММ — межклеточный матрикс.

печени, в 20% случаев наблюдался очаговый интерстициальный нефрит, сопровождавшийся деструктивными изменениями в эпителии извитых канальцев. Эти изменения сохранялись и через две недели после окончания введения препарата. В щитовидной железе отмечалось увеличение высоты фолликулярного эпителия и снижение содержания коллоида. Доза Максаквина 400 мг/кг не вызывала у крыс каких-либо существенных нарушений гомеостаза.

При исследовании влияния Максаквина на хрящевую ткань получены следующие результаты: во всех подопытных группах крыс в той или иной мере выявлены изменения в хрящевой ткани голенистоного сустава.

Уже после 12 введений препарата в суточной дозе 800 мг/кг в поверхностном слое хряща нарушалась перичеселлюлярная зона хондроцитов: регистрировался шлейф из электронно-плотного материала. Клетки этого слоя пикнотично сжаты, отсутствуют

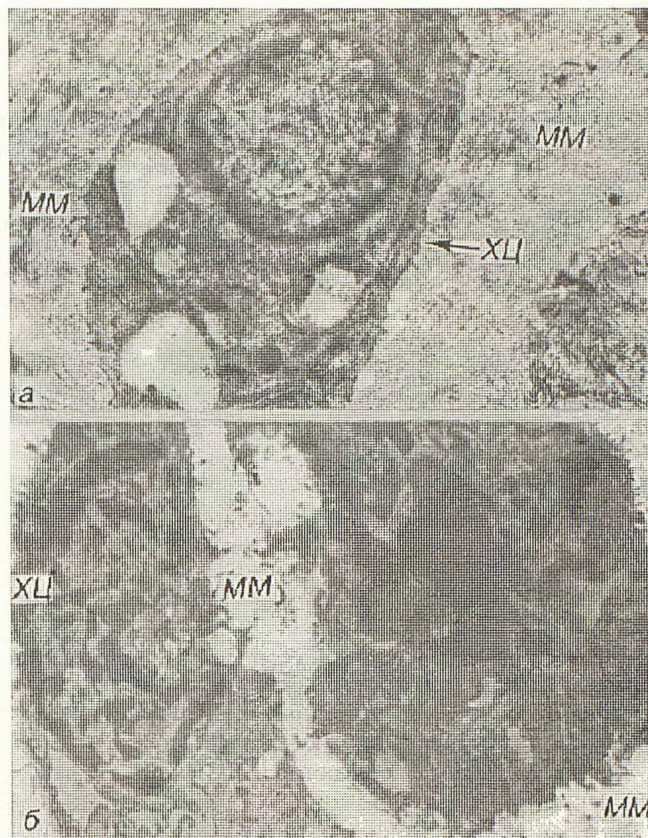


Рис. 3. Структура хондроцитов и межклеточного матрикса голенистоного сустава у крыс после 12 ежедневных введений Максаквина в дозе 400 мг/кг. $\times 10000$.

Структура хондроцитов практически мало изменена, имеется небольшая вакуолизация клеток, разряжение межклеточного матрикса.

деление клеток, особенно резко этот процесс выражен у животных с исходной массой 40 г (рис.2). Все указанные изменения резко нарастали к 30-му дню. К этому сроку необратимые изменения в хондроцитах занимали 30—35% всей поверхности суставного хряща. Макроскопически процесс выражался в появлении эрозий на поверхности хряща. Кроме того, у 40% животных в этой группе (доза 800 мг/кг) фиксировались явления серозного артрита. Простойка хрящевой ткани в этих случаях была значительно истончена.

Через две недели после отмены Максаквина в этой группе животных (доза 800 мг/кг) в хрящевой ткани были выражены процессы репарации с частичным восстановлением структуры хряща (до 70—80% поверхности полностью восстанавливалось).

Максаквин в дозе 400 мг/кг не вызывал видимых изменений в суставном хряще у всех подопытных крыс обеих групп. Во все сроки наблюдения строение хрящевой ткани не отличалось от таковой у интактных животных. В то же время ультраструктурные исследования выявляли незначительные изменения в структуре хондроцитов и в межклеточ-

Таблица 2

Влияние Максаквина на активность кислой и щелочной фосфатаз в хрящевой ткани голеностопного сустава крыс (данные представлены в процентах к интактному контролю)

Группы животных	Доза, мг/кг	Дни эксперимента					
		12-й		30-й		45-й	
		КФ	ЩФ	КФ	ЩФ	КФ	ЩФ
Крысы с исходной массой 40 г	800	85,4	105,4	67,1	68,0	83,2	90,5
Крысы с исходной массой 100 г	400	43,2	79,2	39,6	58,1	84,9	94,3
	800	39,8	83,6	38,6	44,5	61,7	80,4
Контроль	100	100	100	100	100	100	100

Примечание. КФ — кислая, ЩФ — щелочная фосфатаза.

ном матриксе: клетки поверхностного слоя хряща теряли свою контрастность, содержание протоколлагена значительно снижалось, имело место разряжение электронной плотности межклеточного матрикса (рис.3). Все эти изменения полностью нормализовались после отмены Максаквина.

Одновременно со светооптическими и ультраструктурными изменениями в ткани хряща гистохимически наблюдались изменения активности кислой и щелочной фосфатаз (табл.2). Как видно из таблицы, существенное понижение активности ферментов наблюдалось в обеих группах крыс при введении Максаквина в дозе 800 мг/кг. Наибольшее снижение активности ферментов было после 30 ежедневных введений препарата (активность составляла 38—68 % от контроля). Максаквин в дозе 400 мг/кг снижал активность ферментов, которая к 30-му дню опыта составляла 39—58 % от контроля. В то же время через две недели после отмены препарата активность ферментов в хрящевой ткани восстанавливалась почти до нормы и составляла 84—94 % от контроля; в эти сроки также нормализовалась структура хрящевой ткани.

З а к л ю ч е н и е

Проведенные исследования показали, что по острой токсичности Максаквин относится к малотоксичным веществам в соответствии с принятой у нас классификацией [5].

Повторное пероральное введение Максаквина крысам в дозах 400 и 800 мг/кг в течение одного месяца показало хорошую переносимость препарата. В дозе 400 мг/кг Максаквин не оказывал какого-либо существенного влияния на поведение и состояние животных. При введении его в дозе 800 мг/кг (в 100 раз превышающей терапевтическую) наблюдалось слабо выраженное угнетающее дейст-

вие на ЦНС, гепатотоксическое действие, в единичных случаях отмечены признаки повышения функциональной активности щитовидной железы и по морфологическим показателям очаговые патологические изменения в почках.

Исследования выявили наличие у Максаквина повреждающего эффекта на хрящевую ткань, наиболее выраженного при применении препарата в высоких дозах (800 мг/кг в сутки в течение 30 дней). Отмеченные явления характерны для многих признаков хинолонкарбоновой кислоты [4,6]. По литературным данным офлоксацин, пефлоксацин и циноксацин вызывали аналогичные изменения в суставном хряще при существенно меньших дозах и более кратковременном введении (300 мг/кг в сутки при 7-дневном введении). Ранее нами также получены данные, свидетельствующие о повреждающем действии на хрящевую ткань пефлоксацина и ципрофлоксацина. В этих экспериментах пефлоксацин и ципрофлоксацин, применявшиеся в течение 30 дней в дозе 800 мг/кг, вызывали более грубые изменения в хрящевой ткани, чем Максаквин. Остаточные явления после отмены пефлоксацина и ципрофлоксацина также более выражены, чем у Максаквина, использовавшегося в той же дозе.

Максаквин в дозе 400 мг/кг при введении в течение 12 дней практически не повреждал хрящевую ткань. После 30 введений препарата в этой дозе отмечались лишь незначительные изменения в хрящевой ткани, которые можно было дифференцировать только с помощью электронно-микроскопических и гистохимических исследований.

Л И Т Е Р А Т У Р А

- 1 Глушков Р.Г., Левшин И.Б., Марченко Н.Б., Падейская Е.Н. Антибактериальные препараты группы хинолонкарбоновой кислоты // Хим-фарм. журн.— 1984.— № 9.— С.1048—1064.
- 2 Измеров Н.Ф., Саноцкий И.В., Сидоров К.К. Параметры токсикометрии промышленных ядов при однократном воздействии.— М.: Медицина, 1977.— С.196.
- 3 Падейская Е.Н. Фтор-хинолоны и их значение в современной химиотерапии инфекционных заболеваний // Антибиотики.— 1989.— № 7.— С.514—521.
- 4 Mayer D.G. Overview of toxicological studies // Drugs.— 1987.— Vol.34, Suppl.1.— P.150—153.
- 5 Nusbickel F.R., Johnson W.A. A technique for quantitating enzyme histochemistry in adjuvant arthritic joints. II. Acid phosphatase // Histochem.J.— 1979.— Vol.11, N 5.— P.587—598.
- 6 Paton J.H., Reeves D.S. Fluoroquinolone antibiotics microbiology, pharmacokinetics and clinical use // Drugs.— 1988.— Vol.36, N 2.— P.193—228.
- 7 Schuller G. Ciprofloxacin: review of potential toxicologic effects // Am.J.Med.— 1987.— Vol.82, Suppl.4-A.— P.91—93.
- 8 Shimada H.E.Y., Kurasawa Y., Aranchi T. Mutagenicity studies of DL-8280, a new antibacterial drug // Chemotherapy.— 1984.— Vol.34, Suppl.1.— P.1170.
- 9 Wadworth A.N., Goa K.L. Lomefloxacin. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use // Drugs.— 1991.— Vol.42, N 6.— P.1018—1060.

Поступила 14.07.93.