

ОСТРАЯ ТОКСИЧНОСТЬ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ СУБСТАНЦИИ ЗОЛЕДРОНОВАЯ КИСЛОТА

Лепешко П. Н., Семёнов И. П.

УО «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Беларусь

Резюме. В острых опытах на различных видах экспериментальных животных были установлены среднесмертельные дозы и концентрация, порог и зона острого действия, что является важным этапом для дальнейшего гигиенического нормирования золедроновой кислоты при установлении предельно допустимой концентрации данной фармацевтической субстанции в воздухе рабочей зоны.

Ключевые слова. Золедроновая кислота, бисфосфонаты, токсикология.

В настоящее время в Республике Беларусь расширяется производство ассортимента лекарственных средств отечественных фармацевтических компаний, которые имеют хороший потенциал для развития как внутри страны, так и на внешних рынках. К числу перспективных лекарственных средств относится золедроновая кислота, производная бисфосфонатов, в связи с чем возникла необходимость проведения токсикологических исследований данной фармацевтической субстанции, являющейся основой для производства отечественного лекарственного средства. При внедрении фармацевтических субстанций в производство необходимо обоснование гигиенического норматива - предельно допустимой концентрации (ПДК) в воздухе рабочей зоны для обеспечения безопасных условий труда работников фармпроизводства. Одним из этапов установления ПДК вредных химических веществ является определение параметров острой токсичности, среди которых обязательными при проведении процедуры гигиенического нормирования в воздухе рабочей зоны являются такие показатели, как среднесмертельные дозы при внутрижелудочном и внутрибрюшинном введении, среднесмертельная концентрация при ингаляционном пути поступления и порог острого действия.

Бисфосфонаты – наиболее широко используемые препараты для лечения различной патологии костной ткани, впервые были успешно применены у пациентов с прогрессирующей фиброзирующей дисплазией в 1960-х годах. С тех пор препараты назначаются для лечения болезни Пейджета, миеломной болезни, метастазов в костную ткань при онкологических заболеваниях, злокачественной гиперкальциемии при проведении стандартной химиотерапии и наиболее широко для предупреждения переломов различной этиологии при остеопорозе.

Золедроновая кислота – бисфосфонат третьего поколения, обладающий избирательным действием на костную ткань. Золедроновая кислота относится к группе корректоров метаболизма в костной и хрящевой ткани по клинической классификации и выпускается под разными торговыми названиями (акласта, бластера, верокласт, золедронат-Тева, золедроновая кислота и др.), по химическому строению представляет собой производное азотсодержащих бисфосфонатов. Антирезорбтивный механизм полностью не ясен, но установлено, что ряд факторов вносят вклад в этот эффект. Вне организма препарат ингибирует активность и индуцирует апоптоз остеокластов. Золедроновая кислота блокирует остеокластическую резорбцию минерализированной костной и хрящевой ткани. В последнее время выявлено, что главной молекулярной мишенью золедроновой кислоты в остеокласте является фермент фарнезилпирофосфатсинтетаза (ФПС), при этом не исключается возможность других механизмов действия препарата.

Цель – экспериментальным путем в острых опытах определить параметры токсикометрии для установления класса опасности и дальнейшего гигиенического нормирования фармацевтической субстанции золедроновая кислота.

Для решения цели были поставлены следующие задачи:

- установить среднесмертельные дозы при однократном пероральном и внутрибрюшинном введении фармацевтической субстанции золедроновая кислота;
- установить среднесмертельную концентрацию при однократном ингаляционном поступлении фармацевтической субстанции золедроновая кислота;
- установить порог и зону острого действия фармацевтической субстанции золедроновая кислота;
- на основе полученных параметров токсикометрии установить класс опасности и класс токсичности фармацевтической субстанции золедроновая кислота.

Материалы и методы. Токсиколого-гигиеническое изучение образца препарата выполнено в соответствии с инструкциями 1.1.11-12-206-2003 «Гигиеническое нормирование лекарственных средств в воздухе рабочей зоны, атмосферном воздухе населенных мест и воде водных объектов», 1.1.11-12-35-2004. «Требования к постановке экспериментальных исследований для первичной токсикологической оценки и гигиенической регламентации веществ» [1, 2]. Токсикологические эксперименты проводились на лабораторных животных (нелинейные самки и самцы белых крыс, исходная масса 180–220 г.; нелинейные самки и самцы белых беспородных мышей, исходная масса 18–22 г.) с соблюдением принципов биоэтики. Перед проведением опытов лабораторные животные проходили карантин в условиях вивария в течение 14 дней. Экспериментальные группы животных формировали методом случайной выборки с учетом массы тела в качестве

определяющего показателя, при этом разность в массе тела животных составляла не более 10 %. При проведении исследований ежедневно наблюдали за общим состоянием животных, потреблением корма и воды.

Изучение токсичности при однократном внутрижелудочном, внутрибрюшинном введении и ингаляционном поступлении золедроновой кислоты проведено в остром опыте на белых крысах и белых мышах. Острое отравление моделировали при воздействии водного раствора золедроновой кислоты с последующим наблюдением в течение 14 суток и регистрацией симптомов клинической картины отравления. Основным критерием токсического действия для определения среднесмертельной дозы и среднесмертельной концентрации (DL_{50} и CL_{50}) являлась гибель животных. Среднесмертельные дозы и концентрация рассчитывались по методу пробит-анализа Литчфилда и Уилкоксона.

Для установления порога острого действия изучались биологические эффекты при ингаляционном воздействии на белых крыс трёх концентраций золедроновой кислоты (10, 30 и 60 мг/м³). Перед началом эксперимента и в течение суток после поступления фармакологической субстанции у животных контрольных и опытных групп изучались поведенческие реакции в тесте открытого поля и суммационно-пороговый показатель.

Результаты и обсуждения. Симптомы интоксикации при однократном внутрижелудочном и внутрибрюшинном введении золедроновой кислоты у большинства подопытных животных появлялись в течение 5-7 суток. У погибших животных наблюдались угнетение дыхания, адинамия, «боковое положение». При макроскопии внутренних органов у павших животных отмечалось полнокровие печени и селезенки. Внешние признаки интоксикации у выживших экспериментальных животных исчезали на 13-14 сутки после введения препарата. Макроскопический патологоанатомический осмотр животных, умерщвленных по окончании 14-и суток наблюдения не выявил каких либо существенных различий в сравнении с контрольными животными. Результаты определения острой токсичности золедроновой кислоты представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Среднесмертельные дозы золедроновой кислоты при различных путях поступления в организм лабораторных животных.

Вид животных	Способ введения	DL_{50} , мг/кг	Класс опасности по ГОСТ 12.1.007-76	Класс токсичности по ТКП 125-2008
Белые крысы	внутрижелудочно	104,9 ± 17,4	2	3
	внутрибрюшинно	12,5 ± 3,8	-	3
Белые мыши	внутрижелудочно	123,8 ± 37,8	2	3
	внутрибрюшинно	14,3 ± 5,6	-	3

В результате эксперимента установлено, что золедроновая кислота относится ко второму классу опасности (высокоопасное вещество) для белых крыс и белых мышей по ГОСТ 12.1.007-76 «Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности» и третьему классу токсичности (умеренно токсично) по ТКП 125-2008 (02040) «Надлежащая лабораторная практика» [3, 4].

Для установления среднесмертельной концентрации золедроновой кислоты в воздухе при однократном ингаляционном поступлении испытывались её концентрации 100 мг/м³, 176 мг/м³, 250 мг/м³, 352 мг/м³, 450 мг/м³. Клиническая картина острого отравления проявлялась в общей заторможенности и гиподинамии крыс. Лабораторные животные погибали на 8-9 сутки после ингаляционного поступления золедроновой кислоты. Макроскопический патологоанатомический осмотр животных, умерщвленных по окончании 14-и суток наблюдения, выявил геморрагические изъязвления на легких.

Среднесмертельная концентрация золедроновой кислоты составила $233,7 \pm 39,2$ мг/м³, что позволяет отнести изучаемую субстанцию к первому классу опасности (чрезвычайно опасные вещества) по ГОСТ 12.1.007-76 «Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности» и первому классу токсичности (чрезвычайно токсично) по ТКП 125-2008 (02040) «Надлежащая лабораторная практика» [3, 4].

Для установления порога острого действия изучали показатели функционального состояния нервной системы. При анализе поведенческих реакций в тесте открытого поля статистически значимых отличий между животными опытных и контрольной групп не выявлено. Со стороны суммационно-порогового показателя при концентрации 10 мг/м³ изменения отсутствовали, а при увеличении уровня концентраций до 30 мг/м³ появились признаки возбуждения экспериментальных животных, которые нарастали при увеличении концентрации до 60 мг/м³. Таким образом, концентрация золедроновой кислоты при однократном ингаляционном поступлении белым крысам на уровне 10 мг/м³ является недействующей, а в качестве порога острого действия по суммационно-пороговому показателю может быть принята концентрация 30 мг/м³ (при действующей – 60 мг/м³). При этом зона острого действия составляет 7,79, что позволяет отнести данную фармацевтическую субстанцию к высокоопасным веществам (второй класс опасности) по ГОСТ 12.1.007-76 «Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности» [3].

Заключение. На основании проведенных токсикологических исследований установлено, что золедроновая кислота, представитель азотсодержащих бисфосфонатов для лечения различных патологий костных тканей, относится к чрезвычайно опасным веществам (первый класс опасности по ГОСТ 12.1.007-76 «Вредные вещества. Классификация и общие

требования безопасности») и чрезвычайно токсичным веществам (первый класс токсичности по ТКП 125-2008 (02040) «Надлежащая лабораторная практика»). С целью обеспечения безопасных условий труда работающих на производстве золедроновой кислоты организация технологического процесса должна исключать контакт с органами дыхания с использованием индивидуальных, в том числе изолирующих, средств защиты. Для сохранения и предупреждения возможных изменений состояния здоровья работающих необходимо обеспечить прохождение обязательных медицинских осмотров.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гигиеническое нормирование лекарственных средств в воздухе рабочей зоны, атмосферном воздухе населенных мест и воде водных объектов : инструкция 1.1.11-12-206-2003 : утв. постановлением Гл. гос. сан. врачом Респ. Беларусь 30.12.2003 г. №206 // Коммун. гигиена : сб. норм. док. / РЦГЭиОЗ – Минск, 2003. – Ч.2. – С. 13-63.

2. Инструкция 1.1.11-12-35-2004. Требования к постановке экспериментальных исследований для первичной токсикологической оценки и гигиенической регламентации веществ : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 14.12.2004. – Минск, 2004. – 43 с.

3. ГОСТ 12.1.007-76 Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности. – Введ. 1977–01–01. – М. : Изд-во стандартов, 1976. – 8 с.

4. Надлежащая лабораторная практика : ТКП 125-2008 (02040) / М-во здравоохранения Респ. Беларусь. – Введ. 2008–05–01. – Минск : РУП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении» Минздрава, 2008. – 34 с.