

ПЕРЕНОСИМОСТЬ ПЕНТАЦИНА И ЦИНКАЦИНА ПРИ ИНТРАТРАХЕАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ КРЫСАМ

Субботина С.Н., Кряжевских А.А., Кряжевских А.А., Иванов И.М., Рагузин Е.В.

*ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной
медицины» Министерства обороны Российской Федерации*

Резюме

В работе представлены результаты сравнительного изучения переносимости комплексообразователей пентацина (Са-ДТПА) и цинкацин (Zn-ДТПА) при однократном интратрахеальном введении крысам в дозах, соответствующих разовой, средней суточной и максимальной суточной, рекомендованной для в/в применения у человека. Изучение переносимости Са-ДТПА и Zn-ДТПА состояло в оценке влияния хелатов на параметры функции внешнего дыхания (ФВД), ориентировочно-исследовательскую деятельность и физическую работоспособность крыс. Установлено, что однократное ингаляционное введение препаратов в разовых дозах характеризуется удовлетворительной переносимостью. Применение в средней и максимальной суточной дозах приводит к существенным изменениям ритма дыхания (по типу тахипноэ), развитию бронхоспазма, подавлению двигательной активности и снижению физической работоспособности. Интервал манифестации побочного действия комплексообразователей составляет от 4-х часов до 1 сут. Полученные результаты указывают на целесообразность разработки схем терапии ингаляционных поражений радионуклидами на основе повторного введения хелатов (в частности, Са-ДТПА) при помощи дозированного порошкового ингалятора с интервалом не менее 4-х часов, при этом величина разовой дозы должна быть ограничена 250 мг.

Ключевые слова: радионуклиды, переносимость, пентацин (Са-ДТПА), цинкацин (Zn-ДТПА), интратрахеальное введение, функция внешнего дыхания, открытое поле, физическая работоспособность

TOLERABILITY OF PENTACIN AND ZINCACIN IN INTRACHEAL INJECTIONS TO RATS

Subbotina S.N., A.A., Kryazhevskikh A.A., Kryazhevskikh A.A., Ivanov I.M., Raguzin E.V.

Federal State Budgetary Institution "State Research Testing Institute of Military Medicine" of the Ministry of Defense of the Russian Federation

Abstract

The paper presents the results of a comparative study of the tolerability of the complexing agents pentacin (Ca-DTPA) and zincacin (Zn-DTPA) with a single intratracheal injections n to rats at doses corresponding to single, average daily and maximum daily recommended for intravenous use in humans. The study of the tolerance of Ca-DTPA and Zn-DTPA consisted in assessing the effect of chelates on the parameters of the function of external respiration, orienting-exploratory activity and physical performance of rats. It was established that a single inhalation injections of drugs in single doses is characterized by satisfactory tolerability. Use in average and maximum daily doses leads to significant changes in the rhythm of breathing (tachypnea), the development of bronchospasm, supersession of motor activity and a decrease in physical performance. The interval of manifestation of side effects of complexing agents is from 4 hours to 1 day. The results obtained indicate the feasibility of developing schemes for the treatment of inhalation lesions with radionuclides based on the repeated injections of chelates (in particular Ca-DTPA) using a metered-dose powder inhaler at intervals of at least four hours while the single dose should be limited to 250 mg.

Key words: radionuclides, portability, pentacin (DTPA), zincacin (Zn-DTPA), intratracheal injections, function of external respiration, open field, physical performance

Введение

Одним из многочисленных факторов, оказывающим неблагоприятное влияние на здоровье и трудоспособность человека, является ионизирующее излучение, источниками которого могут быть объекты ядерно-энергетического комплекса или вооружения. Важнейшими элементами противорадиационной защиты является повышение устойчивости организма к радиации с помощью своевременного приема радиопротекторов [1], а при ингаляционном поражении радиоактивными аэрозолями ведущим звеном в системе оказания первой медицинской помощи является использование комплексообразователей для связывания радионуклидов, инкорпорированных в легкие. В настоящее время в РФ разработана целая линейка отечественных средств по выведению инкорпорированных в организм радионуклидов: ферроцин (для оказания специализированной медицинской помощи при авариях, связанных с выбросами радиоактивных материалов, содержащих изотопы цезия, рубидия и талия), пентацин (плутония, америция и других трансурановых элементов), тримефацин (урана, бериллия, плутония, иттрия, циркония, ниобия), оксатиол (полония-210) [2; 3; 4; 5]. Лекарственные средства представлены в виде таблеток для перорального приема (ферроцин) и растворов для парентерального (в/в) и ингаляционного введения (пентацин, тримефацин), при этом их ингаляционное применение сопряжено с использованием ультразвуковых генераторов аэрозоля в условиях стационара. В рамках совершенствования медицинских средств защиты, предназначенных для предотвращения возникновения детерминированных эффектов облучения, актуальным остается вопрос разработки новых лекарственных форм хелатов в виде дозированных аэрозольных или порошковых ингаляторов. Неоспоримые преимущества портативных ингаляторов связаны, прежде всего, с тем, что такая лекарственная форма позволяет начать хелаторную терапию в кратчайшие сроки после ингаляционного поступления радиоактивных аэрозолей, что является немаловажным фактором для ускорения декорпорации радионуклидов из организма. Использование ингаляторов помимо системной доставки обеспечивает непосредственное лечебное воздействие в области поражения, так называемый «местный эффект» на уровне мелких бронхов, бронхиол и альвеол. Кроме того, делает возможным самостоятельное применение хелатообразующих агентов пострадавшим без участия квалифицированного медицинского персонала.

На сегодняшний день в качестве наиболее эффективных медицинских средств противорадиационной защиты при ингаляционном поступлении радионуклидов (америция, калифорния, плутония и иттрия), рассматривают хелатирующие агенты на

основе диэтилентриаминпентаацетата кальция (Са-ДТПА - пентацин) или цинка (Zn-ДТПА - цинкацин) [4, 6]. В РФ зарегистрирован препарат пентацин (раствор для внутривенного (в/в) введения и ингаляций (ФГУП НПЦ «Фармзащита» ФМБА России)). За рубежом разрешены к клиническому применению пентацин и цинкацин (США, Евросоюз, Япония, Китай), при этом помимо таких лекарственных форм как раствор для в/в введения и ингаляций при помощи небулайзера, разработаны комплексоны в форме сухого порошка для ингаляции [7], в том числе с применением технологии пористых частиц.

Ограниченность арсенала доступных медицинских средств противорадиационной защиты в ингаляционной форме в РФ диктует необходимость проведения соответствующих медико-биологических исследований эффективности, переносимости и безопасности наиболее перспективных комплексообразователей при ингаляционном пути поступления. Результаты подобных доклинических исследований позволят расширить перечень показаний к применению хелатообразующих агентов и оптимизировать существующие схемы профилактики и терапии радиационных поражений, в том числе на ранних этапах оказания медицинской помощи.

Учитывая вышесказанное, **цель настоящего исследования** состояла в сравнительном изучении переносимости комплексообразователей пентацина (Са-ДТПА) и цинкацина (Zn-ДТПА) в экспериментах на крысах при однократном ингаляционном применении.

Материалы и методы

Исследования выполнены на половозрелых самцах белых беспородных крыс (200-250 г), полученных из ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово» Ленинградской области. Эксперименты проводили в соответствии с Правилами надлежащей лабораторной практики (Приказ Министерства здравоохранения РФ от 1 апреля 2016 г N 199н) и Директивой 2020/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2016 г. по охране животных, используемых в научных целях. Крыс содержали в стандартных условиях вивария на обычном пищевом рационе со свободным доступом к воде. Все опытные и контрольные животные были взяты из одного привоза и прошли карантин в течение 14 суток (в соответствии с СП 2.2.1.3218-14).

В работе использовали растворы Са-ДТПА и Zn-ДТПА, производства ФГУП «НПЦ «Фармзащита» (Россия). Моделирование ингаляционного воздействия в эксперименте осуществляли путем однократного интратрахеального (и/т) введения. Изучение эффектов комплексообразователей проводили в 3-х дозах, соответствующих разовой, средней

суточной и максимальной суточной, рекомендованной для в/в применения человеку. Дозы Са-ДТПА для крыс с учетом коэффициентов межвидового переноса по аллометрической шкале составили 21 мг/кг (0,25 г/чел), 86 мг/кг (1 г/чел), 128 мг/кг (1,5 г/чел). Дозы Zn-ДТПА составили 21 мг/кг (0,25 г/чел), 128 мг/кг (1,5 г/чел) и 257 мг/кг (3 г/чел). Введение рабочих растворов осуществляли с использованием зонда MicroSprayer® IA-2B и ларингоскопа для мелких животных модель LS-2 производства Penh Century (США). Объем введения хелатов в форме жидкого аэрозоля составлял 0,2-0,25 мл/жив (из расчета 0,1 мл на 100 г веса животного). Животные контрольной группы получали воду для инъекций в аналогичном объеме. Перед введением крыс фиксировали корнцангом таким образом, чтобы голова, шея и грудная клетка находились в одной плоскости, а дыхательные пути были свободно проходимы. При помощи ларингоскопа для мелких животных осматривали область голосовой щели и аккуратно вводили зонд на глубину до нижней трети трахеи, затем путем нажатия на поршень шприца распыляли жидкий аэрозоль лекарственного средства.

Изучение переносимости Са-ДТПА и Zn-ДТПА после их однократного и/т введения крысам состояло в оценке влияния комплексообразователей на параметры функции внешнего дыхания (ФВД), ориентировочно-исследовательскую деятельность и физическую работоспособность.

Регистрацию показателей ФВД и обработку полученных результатов проводили с использованием плетизмографа ecgTUNNEL (Emka Technologies, Франция) с программным обеспечением «IOX v 2.8». Осуществляли анализ следующих параметров ФВД: пиковая скорость выдоха (PEF), дыхательный объем (ДО), минутный объем дыхания (МОД), частота дыхательных движений (ЧДД), пауза после вдоха (EER) и интегральный показатель бронхоконстрикции (Penh). Критерием развития бронхоспазма считали увеличение показателя Penh более 1,2 [8]. Сроки регистрации показателей составили 30 мин до введения (фон), 10, 30, 60, 120, 240 минут и 1 сутки после введения препаратов.

Оценку ориентировочно-исследовательского рефлекса (ОИР) крыс проводили в тесте «Открытое поле» с использованием модуля EthoVision XT 11 (Noldus Information Technology b.v., Нидерланды), цифровой видеосистемы и радиальной арены диаметром 97 см. В ходе тестирования, длительность которого составила 4,5 мин, осуществляли видеофиксацию поведения крыс в установке с последующей цифровой обработкой видеоматериалов. Регистрировали следующие параметры ОИР: пройденная дистанция, см; средняя скорость, см/сек; суммарная длительность замираний, сек; количество стоек и обследованных норок, ед. Сроки тестирования составили 30, 60, 120, 240, 360 минут и

1 сутки после введения препаратов. Нарушением ОИР считали совокупное изменение 4-х показателей теста из 5-ти. За изменение принимали все значения параметров теста опытной группы, выходящие за межквартильный диапазон контрольной группы животных.

Оценку физической работоспособности крыс проводили в тесте «Принудительное плавание с грузом», которое представляет собой комбинированный вид стрессогенного воздействия на физический и эмоциональный паттерны поведения мелких лабораторных животных [9] и позволяет оценить влияние лекарственных средств на работоспособность крыс в зависимости от интенсивности предъявляемой нагрузки. Физическую работоспособность крыс оценивали по длительности плавания с грузом 8 % от массы тела, прикрепленным резиновой лигатурой к корню хвоста животного. Согласно данным литературы, вынужденное плавание мелких лабораторных животных с грузом утяжеления 5-13 % от массы тела является моделью смешанного (аэробно-анаэробной) типа нагрузки [10; 11]. Массу животных определяли с точностью до 1 г. Плавание проводили в сосудах из оргстекла с внутренним диаметром 30 см и высотой 75 см. Высота столба воды составляла 60 см, температура воды – 30 ± 1 °C. Предварительно осуществляли обучение животных плаванию в бассейне (трехкратно, с интервалом в 2–3 дня) с указанным утяжелением. Исследование исходного уровня физической работоспособности крыс проводили за сутки до начала эксперимента. Опытное тестирование животных осуществляли через 10 мин после и/т введения комплексообразователей. Моментом окончания эксперимента считали утомление животного в виде неспособности всплыть на поверхность воды в течение 8 с или отказ от плавания (погружение на дно более чем на 10 с).

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы STATISTICA. Полученные данные выражали в виде медианы и процентилей (М [25;75]). Использовали непараметрические методы статистики: для сравнения количественных показателей - критерий Краскела-Уоллиса, для качественных показателей – критерий χ^2 , для сравнения зависимых выборок - критерий Т-Вилкоксона [12]. Критическое значение уровня статистической значимости принимали равным 0,05.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что моделирование ингаляционного воздействия путем и/т введения воды для инъекций не вызывает значимых изменений параметров ФВД крыс на протяжении 1-х суток после аппликации. Исключение составило достоверное увеличение параметров ЧДД и PEF через 10 минут и снижение ЕЕР через 120 минут после введения.

Выявленные изменения, вероятно, были связаны с реакцией животных на проведение манипуляций, что не позволяет их рассматривать как клинически значимые.

Введение Са-ДТПА вызывало дозозависимое угнетение ФВД крыс на протяжении 2-4-х часов после аппликации. Так, через 10 мин после введения пентацина в дозе 21 мг/кг у 75 % животных в группе регистрировали увеличение ЧДД и РЕФ в 1,2-1,5 раза, через 30 мин - повышение МОД в 1,7 раза и снижение ЕЕР в 1,4 раза по сравнению с фоновыми значениями. Учитывая схожий профиль изменений ФВД с контрольными животными на 10 мин после воздействия, подобная реакция в этот срок могла быть обусловлена способом введения препарата. В то же время усиление вентиляции на 30 мин могло свидетельствовать о запуске компенсаторных механизмов в ответ на повреждающее действие Са-ДТПА. Вместе тем, полученные данные позволяют считать, что ингаляционное однократное применение пентацина в разовой дозе характеризуется достаточной переносимостью и безопасностью в отношении ФВД.

С увеличением дозы Са-ДТПА у животных отмечали более выраженные нарушения ФВД. Характерными особенностями дыхания крыс являлось снижение объема инспирации и МОД с одновременным увеличением ЧДД в течение 2-х часов от момента введения пентацина в дозах 86 и 128 мг/кг. В этот период ДО был достоверно ниже фоновых и контрольных значений (рис.1), значение показателя бронхоконстрикции $Penh$, напротив, возрастало в 2-4 раза по сравнению с исходными данными (рис. 2). Указанные изменения сохранялись на протяжении 2-4-х часов после введения Са-ДТПА с максимумом нарушений через 10-30 мин от момента введения и свидетельствовали о развитии бронхоспазма у крыс на фоне применения хелатирующего агента в высоких дозах.

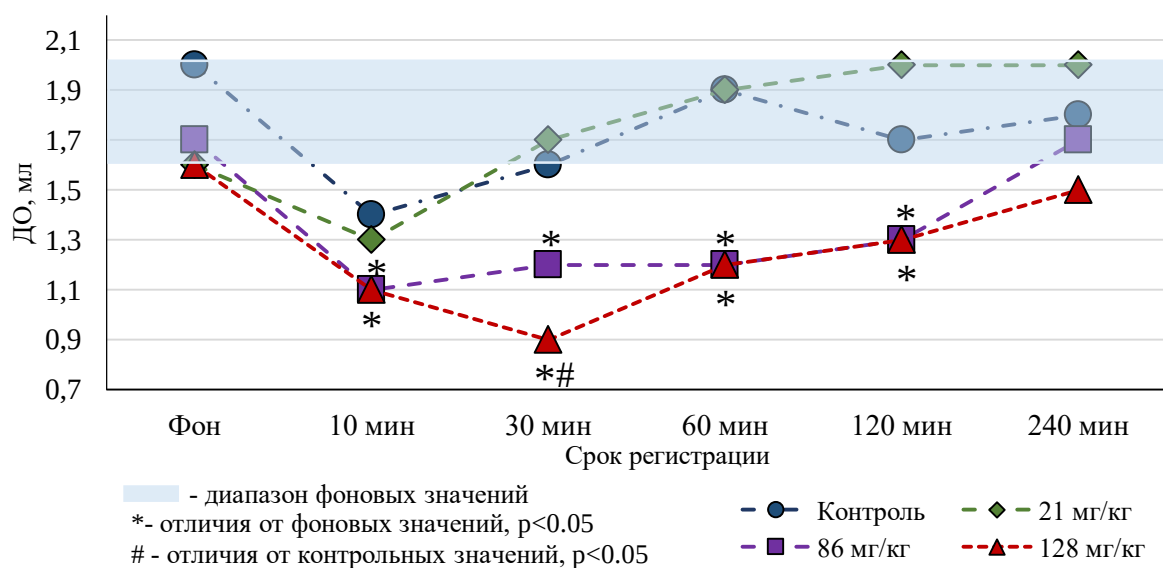


Рис.1. Динамика ДО при и/т введении Са-ДТПА крысам (n=8)

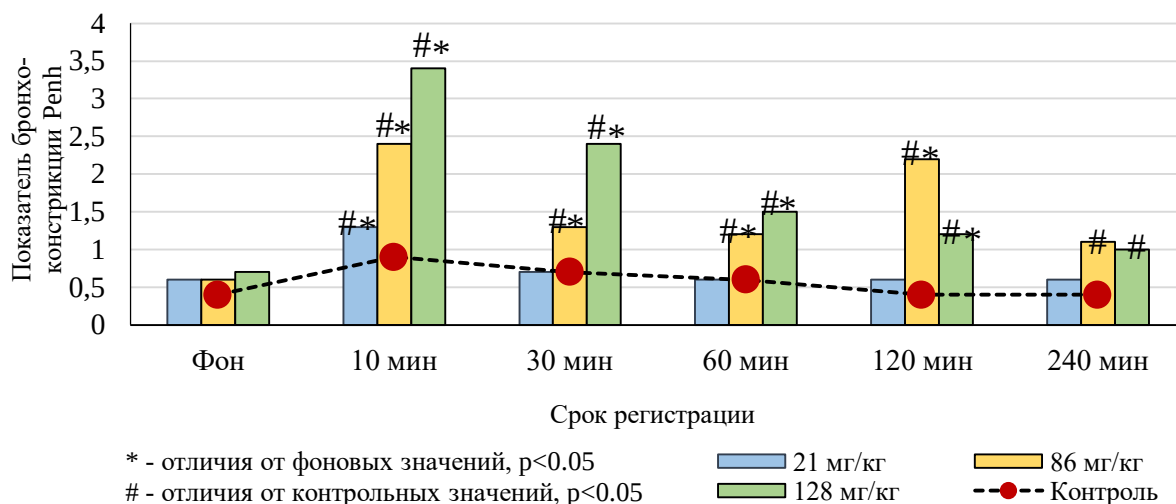


Рис. 2. Динамика Репh при и/т введении Са-ДТПА крысам (n=8)

Схожие результаты были получены при оценке переносимости Zn-ДТПА. Анализ данных позволил заключить, что препарат не оказывает негативного влияния на ФВД крыс при и/т введении в дозе 21 мг/кг. В виду того, что все значения показателей ФВД в опытной группе не превышали границ видовой нормы, обнаруженная вариабельность показателя PEF (8-12 мс) в срок 60 мин после воздействия, вероятнее всего, отражала индивидуальную чувствительность животных.

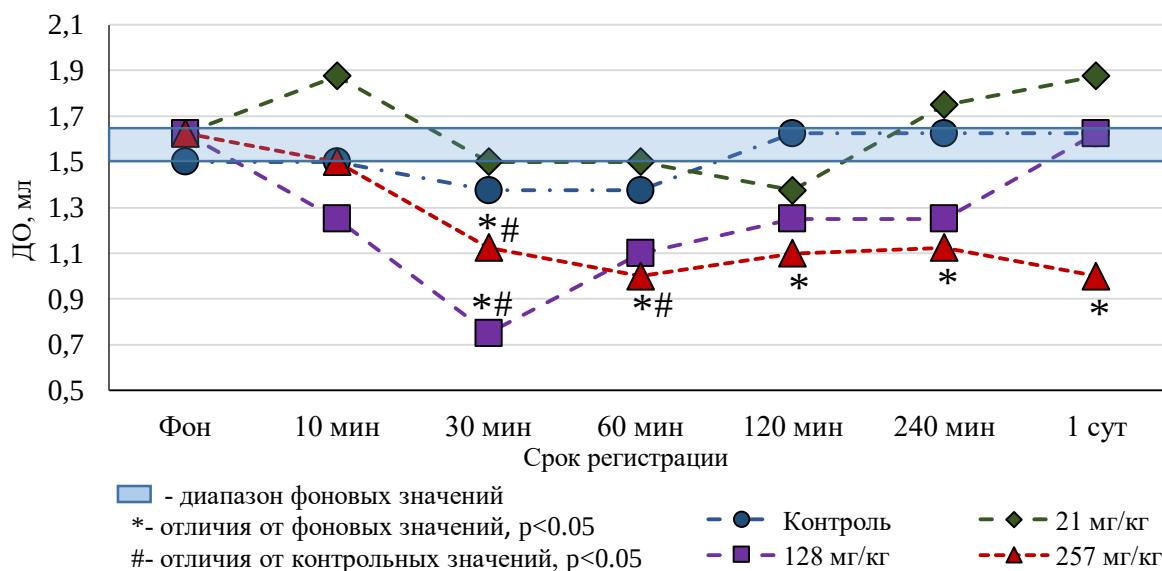


Рис.3. Динамика DO при и/т введении Zn-ДТПА крысам (n=8)

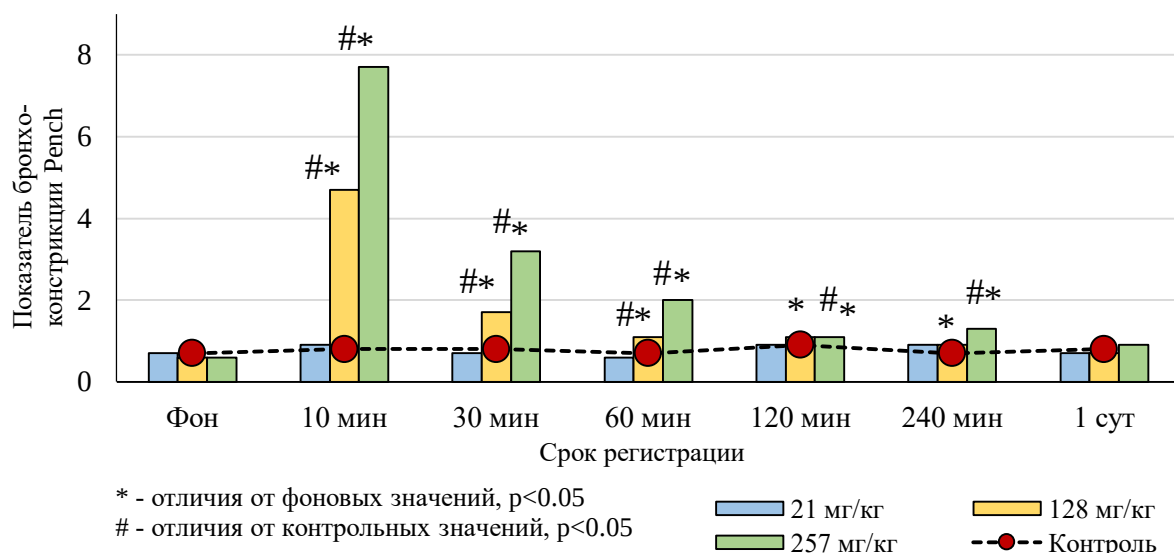


Рис. 4. Динамика $Penh$ при и/т введении Zn-ДТПА крысам ($n=8$)

Значимые изменения ФВД регистрировали после и/т введения Zn-ДТПА в дозах 128 и 257 мг/кг, которые проявлялись в 2-х кратном повышении ЧДД, РЕФ, ЕЕР, снижении ДО и МОД через 30 мин после аппликации. Характер дыхания определялся по типу тахипноэ (учащенное неглубокое). О наличии функционального расстройства дыхания свидетельствовало достоверное увеличение показателя $Penh$ (рис.3 и 4). Максимум нарушений приходился на период 10-30 мин после воздействия, затем наблюдали постепенное в течение 1 суток восстановление параметров ФВД.

Сравнительная оценка переносимости Са-ДТПА и Zn-ДТПА по показателю «Доля животных с нарушениями ФВД» подтверждала негативное влияние комплексообразователей на ФВД крыс при применении в дозах, соответствующих средней и максимальной суточной. Во всех опытных группах доля животных с нарушениями в первые 30 мин от момента введения составляла 100 %, к исходу 4-го часа этот показатель равнялся 50 % в случае применения Са-ДТПА и 75 % в случае применения Zn-ДТПА (257 мг/кг).

Таким образом, проведенные исследования позволяют заключить о схожем характере негативного влияния исследуемых хелатирующих агентов на ФВД крыс. Ингаляционное однократное применение в дозах, эквивалентных разовой дозе у человека, не вызывает изменений ФВД. Применение в дозах, эквивалентных суточным, оказывает кратковременное (до 4-х часов) угнетение ФВД, связанное с развитием бронхоспазма и усилением резистентности дыхательных путей, при этом более выраженные изменения характерны для Zn-ДТПА.

Результаты оценки эффектов Са-ДТПА и Zn-ДТПА на параметры ориентировочно-исследовательского поведения крыс в тесте «Открытое поле» представлены в таблицах 1-2.

Таблица 1.

**Влияние Са-ДТПА на параметры ориентировочно-исследовательского рефлекс
крыс в тесте «Открытое поле» после и/т введения (М [25;75], n=8)**

Группа	Срок регистрации	Пройденная дистанция, см	Средняя скорость, см/с	Суммарная длительность замираний, с	Стойки, ед.	Норки, ед.
Контроль	фон	1917 [1470;2113]	7,1 [5,5;7,9]	55,2 [45,2;77,6]	15 [11;19]	5 [4;9]
	30 мин	1473 [1390;1581]*	5,5 [5,2;5,9]*	35,6 [25,7;38,6]*	12 [9;15]	3 [1;3]*
	60 мин	1543 [902;1935]	5,7 [3,4;7,2]	44,9 [19,8;64,8]	9 [7;18]	2 [0;5]*
	120 мин	1885 [1621;2249]	7,0 [6,04;8,3]	22,9 [17,7;29,1]*	13 [8;13]	4 [2;6]
	240 мин	1981 [1643;2432]	7,3 [6,1;9,0]	31,5 [25,2;67,9]	14 [11;17]	4 [3;6]
	360 мин	1926 [1535;2311]	7,2 [6,2;9,0]	53,7 [35,1;79,4]	15 [11;18]	5 [3;10]
21 мг/кг	фон	1815 [1370;2002]	7,0 [5,3;8,0]	51,2 [45,0;78,6]	14 [10;19]	5 [4;8]
	30 мин	1274 [1144;1376]*	4,7 [4,2;5,1]*	33,7 [31,2;37,8]*	10 [8;11]*	3 [2;5]
	60 мин	1305 [719;1380]*	4,7 [2,5;7,2]*	45,6 [20,5;67,6]	10 [9;12]*	3 [2;4]*
	120 мин	1272 [904;1322]*	4,7 [3,4;6,0]	47,6 [25,4;72,7]	8 [6;10]*	3 [3;4]
	240 мин	1254 [1166;1398]*#	4,6 [4,3;5,2]*#	45,2 [33,9;54,3]	6 [4;8]*#	2 [1;4]*
	360 мин	1891 [1477;2539]	7,0 [5,6;8,3]	51,8 [39,3;88,5]	14 [10;17]	4 [2;9]
86 мг/кг	фон	1843 [1470;2113]	7,2 [6,2;8,9]	52,2 [39,1;84,2]	13 [8;17]	5 [3;8]
	30 мин	1385 [1178;1564]	5,1 [4,4;5,8]	37,6 [26,8;54,9]	13 [11;13]	1 [1;2]*
	60 мин	1070 [977;1278]*	4,0 [3,6;4,8]*	61,1 [52,1;74,0]	9 [7;11]	2 [0;3]*
	120 мин	1018 [717;1332]*#	3,8 [2,7;4,9]*#	57,3 [41,5;72,2]#	10 [7;13]	0 [0;1]*#
	240 мин	1028 [899;1251]*#	3,8 [3,3;4,6]*#	47,7 [33,8;74,2]	9 [5;15]	2 [0;3]*
	360 мин	1400 [1280;1521]*#	4,2 [5,3;6,1]*#	37,6 [27,2;39,4]*#	11 [9;13]	3 [1;4]*
	1 сут	1502 [1004;1817]*#	5,5 [4,4;7,2]*#	47,4 [22,2;68,2]	13 [10;18]	4 [3;6]
128 мг/кг	фон	1689 [1350;1958]	6,8 [5,5;6,9]	49,3 [44,3;77,5]	14 [11;17]	5 [3;10]
	30 мин	683 [102;1281]*#	2,5 [0,4;4,8]*#	52,2 [33,0;81,0]	5 [1;9]*	1 [0;1]*
	60 мин	760 [549;1056]*#	2,7 [2,1;3,4]*#	74,7 [59,2;86,6]	5[4;7]*	1[1;2]*

	120 мин	793 [640;938]*#	2,9 [2,4;3,5]*#	81,2 [68,0;94,9]#	5 [4;6]*#	1 [0;1]*
	240 мин	1183 [668;1323]*#	4,4 [2,5;5,4]	46,4 [23,9;82,5]	5 [4;7]*#	1 [0;4]*
	360 мин	1299 [713;1431]*#	4,9 [3,1;6,0]	43,1 [21,7;79,8]	10 [7;13]	3 [2;6]
	1 сут	1433 [785;1524]*#	5,1 [4,0;6,8]*#	53,4 [37,7; 91,5]	15 [13;17]	5 [4;7]
Примечания: 1- *- отличия от фоновых значений статистически значимы, при $p \leq 0.05$; 2 -# - отличия от контрольных значений статистически значимы, при $p \leq 0.05$.						

Таблица 2.

Влияние Zn-ДТПА на параметры ОИР крыс в тесте «Открытое поле» после и/т введения (М [25;75], n=8)

Группа	Срок регистрации	Пройденная дистанция, см	Средняя скорость, см/с	Суммарная длительность замираний, с	Стойки, ед.	Норки, ед.
Контроль	фон	1857 [1290;2100]	7,0 [5,3;8,2]	49,2 [46,2;74,6]	15 [11;19]	5 [4;9]
	30 мин	1462 [1263;2177]	5,4 [4,7;8,1]	22,3 [12,7;34,7]*	13 [9;14]	2 [0;4]*
	60 мин	1600 [1198;1943]	5,9 [4,4;7,2]	42,00 [30,0;50,3]	12 [9;15]	3 [2;5]
	120 мин	1833 [1574;2004]	6,8 [5,8;7,4]	20,88 [15,0;27,2]*	14 [7;17]	5 [3;8]
	240 мин	1973 [1276;2733]	7,2 [4,6;9,4]	45,14 [36,2;46,0]	14 [9;18]	3 [2;5]
	360 мин	1926 [1535;2311]	7,2 [6,2;9,0]	53,6 [35,1;79,4]	15 [11;18]	5 [3;10]
	1 сут	1902 [1606;2022]	7,0 [6,0;8,6]	52,3 [34,7;78,9]	14 [10;17]	6 [4;11]
21 мг/кг	фон	1899 [1415;1950]	6,9 [5,0;9,1]	52,3 [44,2;80,3]	15 [11;17]	5 [3;9]
	30 мин	1437 [1158;1602]	5,3 [4,5;6,1]	21,2 [19,1;28,8]*	10 [8;13]	7 [5;9]
	60 мин	1533 [1094;2032]	5,7 [3,6;7,1]	21,3 [9,5;37,9]*	11 [8;15]	10 [7;12]
	120 мин	1743 [1392;2080]	6,5 [5,2;7,7]	26,7 [23,0;38,4]*	13 [11;15]	3 [2;5]
	240 мин	1732 [1309; 2179]	6,4 [4,9; 8,1]	42,7 [36,5;51,1]	10 [8;15]	3 [1;2]
128 мг/кг	фон	1800 [1540;1933]	7,1 [6,2;8,5]	47,0 [39,1;84,2]	14 [10;17]	5 [4;8]
	30 мин	912 [720;1180]*#	3,4 [2,7;4,4]*#	71,9 [47,3;94,2]#	9 [7;9]*	1 [0;1]*
	60 мин	1104 [998;1247]*#	4,1 [3,7;4,6]*#	52,6 [49,6;64,6]	8 [7;11]	2 [0;4]*
	120 мин	925 [678;1196]*#	3,4 [2,5;4,4]*#	98,9 [67,8;110,0]	7 [5;10]	0 [0;0]*#
	240 мин	1067 [860;1181]*#	4,0 [3,2;4,7]*	46,7 [38,0;70,2]	5 [3;7]*#	2 [1;3]*
	360 мин	1234 [1141;1354]*#	4,6 [4,2;5,3]*#	47,3 [32,5;53,6]	6 [4;8]*#	2 [1;4]*
	1 сут	1489 [1374;1599]*#	5,6 [5,2;5,8]*#	38,3 [26,5;37,8]*	12 [9;14]	3 [2;5]

257 мг/кг	фон	1790 [1430;2100]	7,1 [5,0;8,4]	52,1 [47,0;80,5]	14 [10;17]	5 [4;10]
	30 мин	833 [542;1351]* #	3,1 [2,0;5,1]* #	54,7 [26,1;87,1]	9 [5;14]	1 [0;2]*
	60 мин	1006 [759;1262]*#	3,7 [2,8;4,7]* #	50,4 [43,3;66,6]	6 [4;7]*#	1 [0;3]*
	120 мин	1056 [772;1326]* #	3,9 [2,9;4,9]* #	70,4 [44,2;96,8]#	8 [4;12]	1 [0;2]*#
	240 мин	1182 [902;1398]*#	4,4 [3,3;5,2]*#	64,4 [49,2;76,9]	5 [4;7]*#	1 [0;1]*
	360 мин	1234 [785;1389]*#	4,6 [3,3; 6,2]#	45,4 [26,9;77,8]	11 [9;12]	4 [2;6]
	1 сут	1345 [766;1459]*#	5,0 [3,7;6,6]*#	50,2 [38,9;82,4]	13 [10;16]	4 [3;6]
Примечания: 1- *- отличия от фоновых значений статистически значимы, при $p \leq 0.05$; 2 -# - отличия от контрольных значений статистически значимы, при $p \leq 0.05$.						

Анализ полученных данных показал, что процедура и/т введения растворов оказывает стрессирующее влияние на поведение крыс в установке «Открытого поля». В контрольной группе животных отмечали снижение двигательной и исследовательской активности в период с 30 по 60 минут после проведения манипуляций, что отражалось в статистически значимом уменьшении значений параметров, отражающих моторный (пройденная дистанция, средняя скорость) и исследовательский (количество заглядываний в норки) компоненты поведения в сравнении с фоновыми значениями. В опытных группах также отмечали значимые изменения поведения крыс по отношению к исходным данным, поэтому об эффектах хелатирующих агентов судили по различиям, выявленным при сравнении с контрольными значениями.

Было установлено, что введение Са-ДТПА в дозе 21 мг/кг характеризуется удовлетворительной переносимостью. В течение первых 2-х часов после введения регистрировали снижение значений показателей, отражающих двигательную активность животных, однако эти изменения были не значимы. Наибольший эффект регистрировали при тестировании через 240 мин – показатели «пройденная дистанция» и «средняя скорость» были значимо ниже фоновых и контрольных значений (при $p \leq 0,05$). Эффекты, связанные с подавлением ОИР крыс, наблюдали у половины животных в группе. Нормализацию поведения отмечали через 360 мин после начала наблюдения. Введение комплексообразователя в дозах 86 и 128 мг/кг сопровождалось выраженным угнетением ОИР крыс, при этом с увеличением дозы латентный период наступления эффекта сокращался от 120 мин (86 мг/кг) до 30 мин (128 мг/кг). Поведение животных характеризовалось малоподвижностью, низкой скоростью перемещения, длительными паузами между эпизодами двигательной и исследовательской активности. Статистически значимое уменьшение пройденной дистанции и средней скорости по сравнению с

контролем регистрировали на протяжении суток. Показатели исследовательской активности составляли не более 20-60% от фоновых. В зависимости от величины дозы нарушения поведения крыс в открытом поле в ранние сроки после аппликации регистрировали у 75-100 % животных. При тестировании через сутки угнетение ОИР наблюдали у 50 % особей при применении Са-ДТПА в дозе 86 мг/кг и у 75 % при применении в дозе 128 мг/кг. Полученные результаты свидетельствовали о продолжительном периоде угнетающего действия хелатирующего агента в отношении психомоторной функции крыс при ингаляционном применении в дозах, эквивалентных суточным для в/в введения у человека.

Хелатор Zn-ДТПА в дозе 21 мг/кг не вызывал достоверных изменений параметров поведения грызунов в открытом поле. Наблюдали незначительное (на 20-24 %) подавление двигательной активности в период 30-60 мин, однако указанные различия были статистически не значимы. Эффект Zn-ДТПА при применении в дозе 128 мг/кг сопровождался достоверным снижением пройденной дистанции и средней скорости перемещения на 47-49 % от показателей фона (при $p \leq 0,05$) уже через 30 мин после воздействия. Угнетение ОИР крыс по этим параметрам в сравнении с контрольной группой животных выявляли в течение 1 суток после аппликации. Также в период 120-240 мин наблюдали подавление исследовательской активности - количество стоек и обследованных норок было достоверно ниже контрольных значений. Аналогичные изменения отмечали при введении Zn-ДТПА в дозе 257 мг/кг. Регистрировали статистически значимое снижение двигательной активности крыс по показателям «пройденная дистанция» и «средняя скорость перемещения» на 53-57% от исходных значений через 30 мин после и/т введения. Затем в течение суток отмечали постепенное восстановление психомоторной функции крыс и через 1 сутки различия с фоном не превышали 25-30 %. В этот срок доля животных с нарушениями ОИР составила 75 % (6 из 8). Нарушение исследовательской активности регистрировали на протяжении первых 4-х часов после воздействия.

Таким образом, проведенные исследования позволяют заключить, что однократное ингаляционное применение комплексообразователей в дозах, эквивалентных разовой дозе для человека, не вызывает выраженных изменений ориентировочно-исследовательского поведения крыс. Применение в дозах, соответствующих суточным, оказывает длительное (до 1 суток) угнетение ОИР, связанное, главным образом, с подавлением моторного компонента поведения, при этом более выраженные изменения характерны для Са-ДТПА.

Результаты оценки влияния комплексообразователей на физическую работоспособность крыс в тесте «Принудительное плавание с грузом» представлены на рисунке 5.

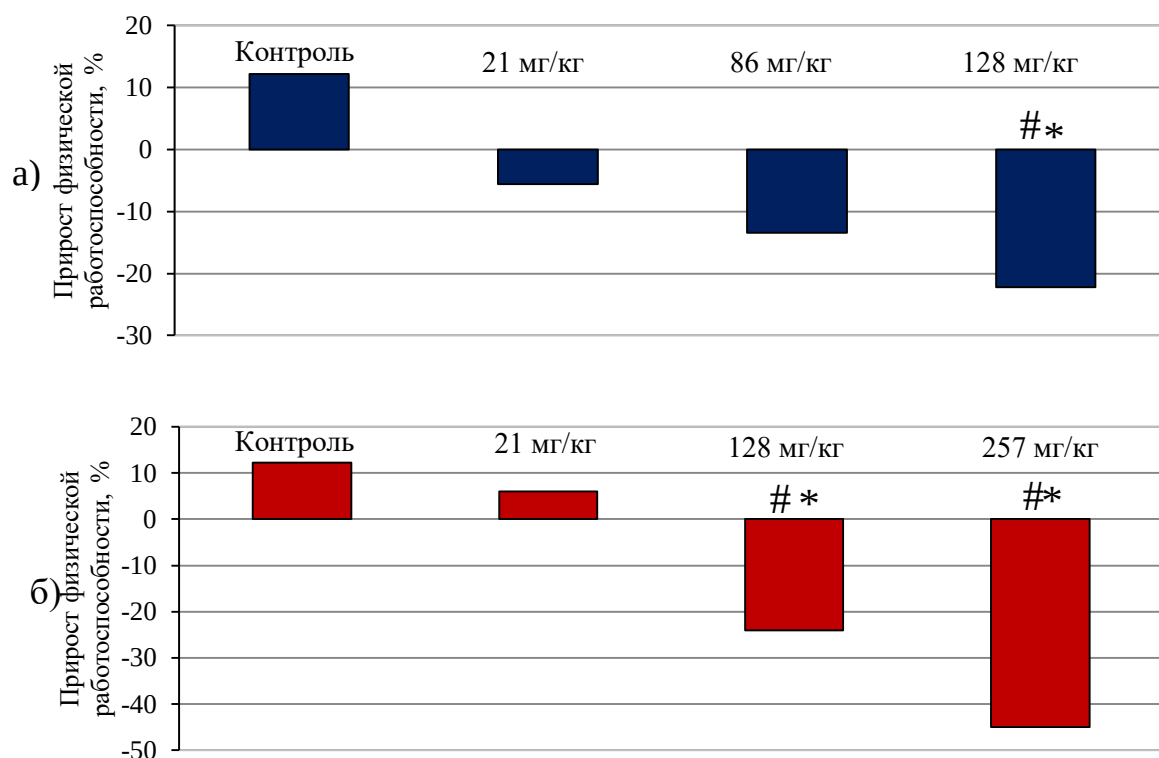


Рис. 5. Динамика прироста физической работоспособности крыс при и/т введении комплексообразователей: а) Са-ДТПА; б) Zn-ДТПА.

* - отличия от фоновых значений статистически значимы, при $p < 0.05$;

- отличия от контрольных значений статистически значимы, при $p < 0.05$.

Было установлено, что предварительное трехкратное с интервалом в 2–3 дня обучение крыс плаванию с утяжелением 8 % от массы тела позволяет животным физически адаптироваться к аэробно-анаэробной нагрузке и выработать определенную стратегию поведения в бассейне. Динамика длительности плавания крыс при проведении тренировок характеризовалась увеличением значений показателя на 30–37 % по сравнению с результатами первого тестирования, и к моменту проведения эксперимента период удержания крысы в воде составлял 409 ± 53 с.

Анализ данных, полученных при тестировании контрольной группы животных через 10 мин после и/т введения воды для инъекций, позволил заключить, что такой способ воздействия не влияет на продолжительность плавания крыс. Отмечали незначимый прирост показателя на 12,2 %, что свидетельствовало о подключении адаптационных механизмов вследствие развития стрессовой реакции при выполнении плавательной нагрузки [13].

Введение комплексообразователей негативно сказывалось на физической работоспособности крыс, при этом развитие эффектов характеризовалось дозовой зависимостью. Так, применение хелатов в дозе 21 мг/кг не вызывало изменений уровня физической работоспособности крыс. Увеличение дозы приводило к снижению показателя на 13,4 % и 24 % от исходного уровня в опытных группах с введением Са-ДТПА и Zn-ДТПА, соответственно. Применение препаратов в максимальных дозах вызывало значимое угнетение физической работоспособности крыс. Продолжительность плавания при введении Са-ДТПА снижалась на 22,2 %, Zn-ДТПА – на 45 % в сравнении с фоновым тестированием. Полученные результаты свидетельствуют о том, что Zn-ДТПА при однократном ингаляционном применении характеризуется менее удовлетворительной переносимостью по сравнению с Са-ДТПА по влиянию на физическую работоспособность.

Заключение

Для связывания радионуклидов, инкорпорированных в легкие, при ингаляционном поражении радиоактивными аэрозолями, проводят многократное введение комплексообразователей в течение нескольких суток. В этом ключе при разработке новых лекарственных форм, связанных с ингаляционной доставкой лекарственных средств, высокую актуальность приобретает изучение переносимости хелатов при ингаляционном введении в дозах, обеспечивающих защитный эффект в течение суток. Согласно литературным данным, длительное применение пентацина способствует развитию побочных эффектов, обусловленных его способностью связываться и выводить из организма естественные микроэлементы [14]. Цинкацин отличается менее выраженным побочным влиянием на обмен естественных микроэлементов в организме, лучше переносится больными, особенно при длительных курсах лечения, благодаря чему за рубежом разрешен к клиническому применению и используется в схемах антидотной терапии [15].

Полученные в наших исследованиях данные показали, что однократное ингаляционное введение комплексообразователей в дозах, эквивалентных разовой дозе для применения у человека, характеризуется удовлетворительной переносимостью. Наблюдали краткосрочные изменения дыхания и психомоторной функции крыс только в случае применения Са-ДТПА. И, напротив, ингаляционное применение Са-ДТПА и Zn-ДТПА в дозах, соответствующих средней и максимальной суточной при пересчете на человека, отличается неудовлетворительной переносимостью. Сравнительный анализ параметров ФВД крыс показал, что и/т введение препаратов в этих дозах приводит к существенным изменениям ритма дыхания (по типу тахипноэ) и развитию бронхоспазма, при этом нарушения сохраняются на протяжении 4-х часов. При оценке ОИР крыс

установлено, что негативные эффекты комплексообразователей, главным образом, проявляются в подавлении двигательной активности. Эффект носит дозозависимый характер, развивается в первые 30 мин от момента введения и сохраняется на протяжении суток. Более выраженное негативное влияние в отношении ОИР отмечали при введении Са-ДТПА - сроки нормализации ориентировочно-исследовательской активности крыс в опытной группе превышали аналогичный показатель в группе с введением Zn-ДТПА. Результаты теста «Принудительное плавание с грузом» указывали на негативное влияние хелатов в отношении физической работоспособности крыс. Оба препарата при и/т введении в дозах, соответствующих суточным, вызывали значимое снижение продолжительности плавания, при этом более выраженное токсическое действие было характерно для Zn-ДТПА.

Различные сроки тестирования животных (от 10 мин до 1 суток) позволили установить временной интервал манифестации побочного действия комплексообразователей. Так, было продемонстрировано более раннее развитие нарушений ОИР (30 мин от момента введения) и более длительный период нормализации ФВД крыс (к исходу 4-го часа нарушения ФВД регистрировали в 75 % случаев) при применении Zn-ДТПА в средней и максимальной суточной дозе, соответственно, в сравнении с Са-ДТПА.

Таким образом, полученные результаты подчеркивают необходимость проведения дальнейшего изучения переносимости и безопасности комплексообразователей в ингаляционных формах. Сравнительная характеристика свойств пентацина и цинкацина при ингаляционном применении, проведенная в нашем исследовании, свидетельствует об однотипности их биологического действия. Побочные эффекты хелатообразующих агентов при и/т введении в высоких дозах указывают на целесообразность разработки схем терапии ингаляционных поражений радионуклидами на основе повторного введения хелатов с интервалом не менее 4-х часов.

Учитывая лучшую переносимость Са-ДТПА, разработка лекарственной формы для ингаляционного введения при помощи дозированного порошкового ингалятора должна вестись на его основе. Величина разовой дозы препарата, по-видимому, должна быть ограничена 250 мг. Дальнейшая разработка в этой области должна включать фармакокинетические исследования, исследование специфической активности, рецептурирование лекарственной формы.

Список использованной литературы:

1. Маркитанова Л.И. Характеристика радиационных поражений и защита от радиации // Экономика и экологический менеджмент. 2014. 48 с.
2. Рождественский Л.М. Прошлое и будущее радиобиологии противолучевых средств в Институте биофизики Минздрава СССР - ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России // Сборник статей, посвященных 70-летию Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» (1946-2016 гг.). Под общ. ред. Л.А. Ильина, В.В. Уйба, А.С. Самойлова. – М.: ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России. 2016. С. 80-89.
3. Гребенюк А.Н., Гладких В.Д. Современное состояние и перспективы разработки лекарственных средств для профилактики и ранней терапии радиационных поражений // Радиационная биология. Радиоэкология. 2019. Т.59. №2. С. 132-149.
4. Dumit S., Bertelli L., Klumpp JA. Et al. Chelation Modeliny: The use of ad hoc models and approaches to overcome a dose assessment // Challenge. Health Phys. 2020. Vol. 118. P. 193-205. Doi: 10.1097/HP.0000000000001134.
5. Иванов И.М., Никифоров А.С., Юдин М.А. и др. Перспективы ингаляционной доставки медицинских средств защиты при радиационных поражениях // Радиационная биология. Радиоэкология. 2020. Т. 60. № 2. С. 175-188.
6. Peron N., Le Guen P., Andrieu V. et al. Inhalation therapy: inhaled generics, inhaled antidotes, the future of anti-infectives and the indications of inhaled pentamidine. // Rev Mal Respir. 2013. Vol. 30. P. 832-842.
7. Grémy O., Tsapis N., Chau Q. et al. Preferential decorporation of americium by pulmonary administration of DTPA dry powder after inhalation of aged PuO(2) containing americium in rats. // Radiat Res. 2010. Vol. 174. No. 5. P. 217-223. doi: 10.1667/RR2203.1.
8. Frazer D.G. Determining when enhanced pause (Penh) is sensitive to changes in specific airway resistance // Toxicol Environ Health. 2011. Vol. 74. No. 5. P. 287-295.
9. Биомедицинское (доклиническое) изучение лекарственных средств, влияющих на физическую работоспособность: методические рекомендации / Министерство здравоохранения Российской Федерации, Федеральное медико биологическое агентство. Москва. 2017. 134 с.
10. Очерки спортивной фармакологии / Н.Н. Каркищенко, В.В. Уйба, Е.Б. Шустов. // Векторы экстраполяции Т.1. Москва, Санкт-Петербург: Айсинг, 2013. 288 с.

11. М.С. Зайцева, Д.Г. Иванов, Н.В. Александровская. Работоспособность крыс в тесте «Вынужденное плавание с грузом» и причины ее вариабельности // Биомедицина. 2015. С. 30-42.
12. Benjamini Y., Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing // J.R.Statist.Soc.B. 1995. V.57. No. 1. P. 289-300.
13. Биологические основы поведения. Гуморальные механизмы. / Под. ред. Жукова Д.А. СПб: «Юридический центр Пресс». 2004. 457 с.
14. Краснюк В.И., Устюгова А.А. Общие принципы антидототерапии при инкорпорации радионуклидов // Медицина труда и промышленная экология. 2017. №4. С.51-56.
15. Ковтун В.Ю., Гладких В.Д., Давидович Ю.А. и др. К вопросу об использовании лекарственных форм пентацина и цинкацина // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2015. Т.60. №1. С.45-53.