

А.Г. Юшков ¹, Н.А. Шульгина ², А.А. Гущина ², Г.Г. Юшков ², М.М. Расулов ³,
В.В. Бенеманский ², М.М. Бун ²

**К ВОЗМОЖНОСТИ ВЫЯВЛЕНИЯ ПОБОЧНЫХ ЯВЛЕНИЙ
ПРЕПАРАТА «МЕТРОНИДАЗОЛ» (РАСТВОР ДЛЯ ИНФУЗИЙ 0,5% 100 МЛ)
В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТА**

¹ Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии СО РАМН (Иркутск)

² НИИ Биофизики ФГБОУ ВПО «Ангарская государственная техническая академия» (Ангарск)

³ ГБОУ ВПО «Московский городской педагогический университет» Минздравсоцразвития РФ (Москва)

Проведено экспериментальное исследование инфузионного раствора метронидазола при однократном и многократном введении животным (кролики). Установлены отчетливые признаки токсичности исследуемого образца в дозе, десятикратно превышающей максимальную суточную. Это касается статистически достоверно изменившихся гематологических, биохимических и электрофизиологических показателей, характеризующих именно Метронидазол. При многократном введении следует отметить только лишь факт повышения содержания креатинина в сыворотке крови через две недели от начала введения препарата, но в данном случае он может служить сигналом к прекращению дальнейшего введения препарата

Ключевые слова: метронидазол, инфузионный раствор, токсичность в условиях эксперимента на животных

**TO THE POSSIBILITY OF REVEALING OF SIDE EFFECTS OF METRONIDAZOLE
(0,5% INFUSION SOLUTION, 100 ML) IN EXPERIMENT**

A.G. Yushkov ¹, N.A. Shulgina ², A.A. Gushchina ², G.G. Yushkov ², M.M. Rasulov ³,
V.V. Benemanskiy ², M.M. Boon ²

¹ Scientific Center of Reconstructive and Restorative Surgery SB RAMS, Irkutsk

² Scientific Institute of Biophysics of Angarsk State Technical Academy, Angarsk

³ Moscow City Pedagogical University, Moscow

An experimental research of infusion solution of Metronidazole at single and repeated administration to the animals (rabbits) was carried out. Distinct signs of toxicity of the researched pattern in the dose that is ten times higher than maximum daily dose were determined. It concerns statistically reliably changed hematologic, biochemical and electrophysiological indices that are typical for Metronidazole in particular. Only the fact of increase of content of creatinine in blood serum in 2 weeks after the administration of the preparation should be registered but in this case it can be the signal to stop further administration of the preparation.

Key words: Metronidazole, infusion solution, toxicity under conditions of animals experiment

ВВЕДЕНИЕ

Проблема лечения протозойных инфекций постепенно разрешается расширением арсенала эффективных лекарственных средств, среди которых заметное место продолжает занимать Метронидазол, в т.ч. и в виде инфузионного раствора. При этом сфера применимости препарата также постоянно расширяется, и в настоящее время Метронидазол успешно применяется для лечения хронического алкоголизма, язвенной болезни желудка, профилактики анаэробной инфекции в хирургической практике [1]. При этом Метронидазол не лишен побочных эффектов, заставляющих корректировать схемы лечения, что, в свою очередь, требует контроля качества самого препарата.

Метронидазол обладает широким спектром действия в отношении простейших и, за небольшим исключением, облигатных анаэробных микроорганизмов. Внедрен в клиническую практику в 1960 г. Проникает в микроорганизм путем пассивной диффузии. Внутри бактериальной клетки Метронидазол восстанавливается и биологически активный метаболит, поражает ДНК.

Фермент, который восстанавливает нитрогруппу Метронидазола (нитро-редуктаза), неэффективен в присутствии кислорода. Этим объясняется то, что Метронидазол действует только в анаэробных условиях.

Период полувыведения из организма здоровых добровольцев составляет около 8 часов. 60—80 % Метронидазола и его метаболитов выводится через почки, через кишечник выделяется 6—15 % введенной дозы.

Метронидазол имеет большой объем распределения, и менее чем 20 % связывается с белками крови. Концентрация препарата в плазме крови имеет линейную зависимость от введенной дозы (здоровым добровольцам вводили по 100—4000 мг в течение 8 часов). Одноразово введенный раствор, содержащий 500 мг Метронидазола, создавал концентрацию 11,7—18 мкг/мл плазмы [4].

Токсичность Метронидазола при длительном его введении различна между породами мышей и между различными видами животных. Например, неврологические отклонения, отмеченные у собак, не проявились на других видах животных.

Высокие пероральные дозы препарата на одной из лабораторных линий мышей и крыс вызвали снижение массы тела и атрофию семенников, но не вызвали достоверных отклонений артериального давления, гематологических и биохимических показателей [4].

Высокие дозы препарата у обезьян вызвали структурные нарушения печени без отклонения в активности печеночных ферментов. Сравнительные исследования по использованию Метронидазола и других представителей группы нитроимидазолов при трихомонадной инфекции показали, что однократный прием в дозе 1,5–2 г сопровождается хорошим клиническим эффектом при относительно благоприятном профиле безопасности.

Целесообразным в условиях однократного введения мы посчитали использовать дозу, близкую к максимальной суточной, — 28,5 мг/кг и некую ударную — 285,7 мг/кг.

В качестве модели использованы кролики, т.к. другие виды животных крайне неудобны для внутривенного введения, требуют фиксации уже с ее стрессовыми эффектами. Для подострого введения применялась доза, принятая для суточного введения, и вторая доза, увеличенная в 5 раз, что обеспечило получение достаточного цифрового массива данных [5].

В экспериментах использованы кролики породы шиншилла собственного разведения в условиях специализированного вивария (ветудостоверение 238 № 0018669) — самцы и самки. Все животные содержались в отдельных клетках по одному, в помещениях с проектными характеристиками температуры окружающей среды (18–21 °C), влажности (60–70 %) и воздухообмена (12–15 объемов помещения/час), концентрации CO₂ (0,12 об. %), аммиака (не более 1 мг/м³). Световой режим: 12 часов — свет, 12 часов — темнота. Рацион полный с витаминными добавками [3].

Критериями включения животных в эксперимент являлось ветеринарное заключение местной службы госветнадзора, отсутствие видимых проявлений заболеваний.

Работы с животными проводились в соответствии с требованиями Приложения к Приказу МЗ СССР № 705 от 12.08.1977 г., а также с учетом международных документов о гуманном отношении к животным.

Объективизацию количественных показателей осуществляли с помощью программного комплекса Statistica.

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Программа исследования включала однократное введение препарата внутривенно в краевую вену уха кроликам при щадящей фиксации (в пеленке, руками), медленно (5 мл/мин), но в два приема с интервалом 4 часа. Одна группа контроля получала физраствор в том же объеме, другая была интактной.

Дозы: предполагаемая токсическая (ударная) — 285,7 мг/кг; вторая доза разовая, суточная — 28,5 мг/кг. Обследование: на следующие после

введения сутки и через 7 суток после введения препарата. Образцы крови отбирались у животных из краевой вены уха. Токсикометрия именно препарата в этой лекарственной форме не проводилась из-за невозможности достижения летального эффекта при однократном введении.

После однократного введения препарата в инструктивной суточной дозе каких-либо признаков, отличающих подопытных животных от контрольных, не обнаружено. Однако при введении препарата в ударной дозе практически сразу отмечалась малоподвижность — не вялость, а именно малоподвижность с сохранением реакции на шум, прикосновение, свет. У животных появилась одышка, вдох — глубокий. В течение первых суток — полный отказ от потребления воды и пищи, через сутки — двое — постепенное возвращение к исходному состоянию. На величине массы тела этот эпизод не сказался. Потребление воды животными в первые сутки после введения резко сократилось в группе, которая получала Метронидазол в дозе 285,7 мг/кг. Через 7 суток отличий от контроля уже не обнаружено. Что касается гематологических показателей, то при введении Метронидазола в дозе 285,7 мг/кг существенно сократилось содержание гемоглобина и эритроцитов в крови при незначительном снижении количества ретикулоцитов. Количество тромбоцитов имело тенденцию к повышению. Количество лейкоцитов повысилось статистически достоверно, но все же не достигало значения лейкоцитоза. Отмеченные изменения были характерны только для первых суток обследования. К седьмым суткам отличия этой группы животных от контроля не были сколько-нибудь значимыми. Инструктивная суточная доза препарата не вызвала изменений гематологических показателей, отличных от контроля. Из биохимических показателей обратило на себя внимание повышение активности печеночных трансфераз и, что важно, особенно АСТ при введении препарата в дозе 285,7 мг/кг, введение препарата в дозе 28,5 мг/кг такого эффекта не вызвало (табл. 1).

Мы сочли целесообразным совместить биохимические показатели с данными ЭКГ у кроликов, получавших Метронидазол в дозе 285,7 мг/кг. У животных существенно снизилась частота сердечных сокращений, достигая значения брадикардии, а у некоторых животных, сопровождающаяся одышкой.

Учитывая результаты однократного внутривенного введения Метронидазола, данные литературы, рекомендации и требования нормативных документов, была составлена программа дальнейших исследований препарата.

Использованные для исследования животные — кролики как наиболее удобный вид для изучения инфузионных растворов. Путь введения — внутривенно. Обследование: фон, от начала введения еженедельно. Доза — 28,5 мг/кг, максимальная суточная, разовая, в два приема с интервалом 2 часа для обоих образцов препарата. Другие дозы решено не вводить, поскольку доза, в 10 раз большая, может

уже при повторном введении вызывать острую сердечную недостаточность, а доза, в 5 раз большая, не будет информативна из-за погрешности колебаний величин показателей, тем более что целью работы является сравнение двух препаратов по отсутствию токсического эффекта.

Контроль — позитивный, введение физраствора в том же объемном количестве. Контроль — интактный (без введения растворов).

Масса тела подопытных животных несколько снизилась к концу срока наблюдения, но не достигла статистически значимых отличий от контроля.

Такую же тенденцию имела динамика потребления воды животными. Температура тела животных при введении того или другого препарата получила тенденцию к снижению в подопытных группах и именно к концу срока введения. Эффект, полученный при введении Метронидазола в десятикратно увеличенной суточной дозе, в данном эксперименте не проявился. Снижение частоты сердечных сокращений обнаружено лишь в небольшой степени. При введении Метронидазола отличий гематологических показателей от контроля не достигнуто. При сравнительной стабильности биохимических показателей обратило на себя внимание повышение содержания креатинина в сыворотке крови, достигшее к 14-мудню введения статистически достоверных отличий от контроля (табл. 2). Это обстоятельство может указывать на возможность использования данного показателя в

качестве маркерного в диагностике передозировки метронидазола и служить сигналом к его отмене.

При анализе гистохимических препаратов печени контрольных и подопытных животных было выявлено, что при введении Метронидазола в дозе 28,5 мг/кг в течение 14 суток наблюдается снижение активности сукцинатдегидрогеназы на 0,5 — 1 балл (по 5-бальной полуколичественной оценке) по отношению к контролю; увеличение активности щелочной фосфатазы по ходу желчных протоков на 1,5 — 2 балла; увеличение содержания лактатдегидрогеназы на 0,5 — 1 балл; снижение активности моноаминоксидазы на 1 балл; уменьшение содержания гликогена на 1 — 1,5 балла; содержание общих липидов находилось в пределах нормы, отличий от контроля не наблюдалось.

Данная картина изменений гистохимических показателей может указывать на ослабление процесса аэробного окисления глюкозы (угнетение ЦТК) с одновременным усилением анаэробных процессов (гликолиз).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспериментальные исследования показали, что Метронидазол в дозе 285,7 мг/кг приводил к существенным изменениям некоторых гематологических и биохимических показателей, что сопровождалось и явлениями брадикардии. Выявленные изменения имеют преимущественно теоретическое значение, поскольку в медицинской

Таблица 1
Динамика гематологических показателей после однократного введения Метронидазола

№ п/п	Показатель	Доза, мг/кг	Срок обследования (сутки)			
			1-е		7-е	
			Самцы	Самки	Самцы	Самки
1	Содержание гемоглобина, г/л	285,7	81,0 ± 3,4*	80,4 ± 3,5*	112,2 ± 2,2	112,1 ± 2,6
		28,5	108,0 ± 3,0	107,8 ± 3,1	112,4 ± 3,1	111,8 ± 3,4
		Контроль позитивный	108,4 ± 2,4	108,0 ± 2,1	112,6 ± 1,2	112,2 ± 1,9
		Контроль интактный	114,1 ± 1,8	112,3 ± 2,1	113,4 ± 1,2	113,1 ± 1,4
2	Количество эритроцитов, × 10 ¹² /л	285,7	4,0 ± 0,1*	3,9 ± 0,2*	4,7 ± 0,2	4,6 ± 0,2
		28,5	4,7 ± 0,2	4,6 ± 0,2	4,7 ± 0,1	4,6 ± 0,1
		Контроль позитивный	4,6 ± 0,2	4,5 ± 0,2	4,8 ± 0,1	4,7 ± 0,2
		Контроль интактный	4,9 ± 0,2	4,8 ± 0,1	4,8 ± 0,1	4,8 ± 0,2

Примечание: * — отличия от контроля статистически достоверны при $p \leq 0,05$.

Таблица 2
Динамика креатинина у кроликов в процессе многократного введения Метронидазола

Показатель	Группа	Фон		Срок наблюдения (сутки)			
		Самцы	Самки	7-е		14-е	
				Самцы	Самки	Самцы	Самки
Содержание креатинина в сыворотке крови (ммоль/л)	Контроль интактный	114,2 ± 6,0	118,7 ± 6,2	110,3 ± 5,6	118,4 ± 6,0	111,0 ± 6,2	120,1 ± 5,8
	Контроль позитивный	—	—	119,4 ± 8,4	121,3 ± 9,0	118,0 ± 8,2	119,9 ± 9,0
	Метронидазол	—	—	118,0 ± 8,3	119,2 ± 10,2	138,2 ± 9,4*	140,4 ± 10,1*

Примечание: * — отличия от контроля статистически достоверны при $p \leq 0,05$.

практике такая дозировка невозможна, но для токсикологической характеристики препарата они достаточно интересны, поскольку дополняют известные сведения о побочных эффектах Метронидазола, и, что крайне важно, в течение недели после однократного введения препарата наступает полное восстановление.

При многократном введении препарата в суточной дозе подобных проявлений отмечено не было, хотя по тенденциям можно было судить о формировании ответной реакции организма на введение, которая, однако, не достигала границ физиологической нормы. Следует отметить только лишь факт повышения содержания креатинина в сыворотке крови через две недели от начала введения препарата. Безусловно, это явление свойственно не только Метронидазолу, но в данном случае оно может служить сигналом к прекращению дальнейшего введения препарата.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бурбелло А.Т., Шабров А.В., Денисенко П.П. Современные лекарственные средства: Клинико — фармакологический справочник практического врача; 3-е изд., перераб. и доп. — СПб.: Нева, 2006. — 896 с.
2. Гланц С. Медико-биологическая статистика; пер. с англ. — М.: Практика, 1999. — 459 с.
3. Лабораторные методы в клинике. Справочник / Под ред. В.В. Меньшикова. — М.: Медицина, 1987. — 368 с.
4. Падейская Е.Н. Препараты группы Б-нитроимидазола для лечения анаэробных и протозойных инфекций // Инфекции и антимикробная терапия. — 2000. — № 4. — С. 110—117.
5. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общ. ред. Р.У. Хабриева; 2-е изд., перераб. и доп. — М.: ОАА «Медицина», 2005. — 832 с.

Сведения об авторах

Юшков Антон Геннадьевич — кандидат медицинских наук, врач-травматолог ортопедического отделения клиники Научного центра реконструктивной и восстановительной хирургии СО РАМН (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1; тел.: 8 (3952) 29-03-44; e-mail: aush79@mail.ru)

Шульгина Наталья Александровна — заведующая лабораторией метаболизма ксенобиотиков ФГБОУ ВПО «Ангарская государственная техническая академия»

Гущина Алла Анатольевна — заведующая лабораторией токсикологической биохимии ФГБОУ ВПО «Ангарская государственная техническая академия»

Юшков Геннадий Георгиевич — кандидат медицинских наук, профессор кафедры экологии и безопасности деятельности человека, заместитель директора по науке НИИ биофизики ФГБОУ ВПО «Ангарская государственная техническая академия»

Расулов Максуд Мухамеджанович — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой адаптивной физической культуры ФГБОУ ВПО «Московский городской педагогический университет»

Бенеманский Виктор Викторович — доктор медицинских наук, профессор кафедры экологии и безопасности деятельности человека ФГБОУ ВПО «Ангарская государственная техническая академия»

Бун Марк Михайлович — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник ФГБОУ ВПО «Ангарская государственная техническая академия»