

УДК 615.24.244
МКВ
№ ГОСРЕГИСТРАЦИИ 0102U004190
ИНВ. №

**МИНИСТЕРСТВО ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ УКРАИНЫ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
(НФаУ)**

61002, г. Харьков, ул. Пушкинская, 53
тел. (057) 706-35-81

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

по итогам научно-исследовательской работы

**“ИССЛЕДОВАНИЕ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЛИЗАТА
РЕЛИКТОВОГО МИКРООРГАНИЗМА VACILLUS F”**

Проректор по научной
исследовательской
работе, д.м.н, профессор



С.М.Коваленко

Руководитель темы,
д.м.н, профессор

Л.В. Деримедведь

Харьков, 2011

Целью исследований было изучение токсикологических свойств лизата реликтовой бактерии из вечной мерзлоты *Bacillus F*. Для изучения острой и субхронической токсичности при внутрижелудочном и внутрибрюшинном введении были использованы белые мыши массой 16-19 г и белые крысы массой 150-160 г. Исследования проводились согласно требованиям ГФЦ МЗ Украины о доклиническом изучении безвредности лекарственных средств.

Все опыты на животных проводили согласно требованиям Европейской конвенции по защите животных, используемых для экспериментальных и научных целей (г. Страсбург, 1985), и национальных “Общих этических принципов экспериментов на животных” (Украина, 2001).

ИЗУЧЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ЛИЗАТА *BACILLUS F*.

При исследовании лекарственного средства обязательной характеристикой, наряду с изучением лечебных свойств, является определение показателя ЛД₅₀ (среднелетальная доза), которая определяется при изучении острой токсичности. Острую токсичность при однократном пероральном введении определяли на 72 белых мышах весом 18-20 г и 30 беспородных белых крысах весом 150-185 г. Степень токсичности определяли по классификации Сидорова К.К. Животные находились на стандартном рационе и в стандартных условиях вивария в соответствии с санитарно-гигиеническими нормами. Наблюдение за животными проводили в течение 14 суток. Клинические наблюдения включали следующие показатели:

1. Система дыхания: затруднение носового дыхания, изменение частоты, глубины дыхания, изменение цвета кожи.
2. Двигательная активность: изменения скорости и природы движений.
3. Судороги: спонтанное сокращение мышц.
4. Офтальмологические симптомы: лакримация, миоз, мидриаз, экзофтальм, птоз и др..
5. Сердечно-сосудистые симптомы: брадикардия, тахикардия, вазодилатация, вазоконстрикция, аритмия.
6. Саливация: чрезмерное выделение слюны, увлажнение шерсти вокруг рта.
7. Показатели состояния ЖКТ.
8. Диурез.
9. Состояние кожи.

Результаты исследований острой токсичности лизата *Bacillus F* на мышах и крысах, введенных в различных диапазонах доз, приведены в таблице 1. Как свидетельствуют результаты, при пероральном введении лизатов *Bacillus F* в дозах от 2,5 мл / кг до 20 мл / кг (максимально возможный объем жидкости при однократном пероральном введении) гибели подопытных животных не наблюдалось.

Таблица 1

Острая токсичность лизата *Bacillus F* при пероральном введении

Доза, мл/кг	Мыши		Крысы	
	Кол-во животных	Гибель животных/ Кол-во животных	Кол-во животных	Гибель животных/ Кол-во животных
2,5	6	0/6	6	0/6
5	6	0/6	6	0/6
10	6	0/6	6	0/6
20	6	0/6	6	0/6

Следующим этапом стало изучение показателей острой токсичности при внутрибрюшинном введении. Объем введенных лизатов рассчитывали исходя из максимально допустимых объемов (мл) жидкостей для различных путей введения.

Наблюдение за животными проводили в течение суток. Результаты опыта приведены в таблице 2.

Установлено, что исследуемые лизаты *Bacillus F.* не вызывают токсического воздействия на организм подопытных животных. Все экспериментальные животные были живы в течение всего срока эксперимента. Они были подвижны, активно употребляли пищу и воду. Шерсть, слизистые оболочки были без изменений, мочеиспускания и дефекация были соответственно физиологической нормы.

Введение лизатов *Bacillus F.* в дозе - 20 мл / кг (максимальный объем жидкости, который может быть введен одновременно) не вызвало гибели животных, т.е. LD50 > 20 мл / кг. Таким образом, лизат относят к VI классу токсичности - относительно безвредны.

Исследования также показали отсутствие токсического влияния лизатов на гематологические и биохимические показатели (табл. 3)

Таблица 2

Острая токсичность лизата *Bacillus F.* при внутрибрюшинном введении

Доза, мл/кг	Мыши		Крысы	
	Кол-во животных	Гибель животных/ Кол-во животных	Кол-во животных	Гибель животных/ Кол-во животных
2,5	6	0/6	6	0/6
5	6	0/6	6	0/6
10	6	0/6	6	0/6
20	6	0/6	6	0/6

Таблица 3

Гематологические и биохимические показатели крови крыс при однократном внутрибрюшинном введении лизатов *Bacillus F.* (M±m, n=6)

Исследуемые показатели	Интактные животные	Лизат <i>Bacillus F.</i>
Гемоглобин (г/л)	147,0±5,2	140,4±7,1
Эритроциты (x10 кл/л)	6,35±0,38	6,46±0,27
Лейкоциты (x10 кл/л)	11,37±0,60	11,49±0,38
Глюкоза сыворотки (ммоль/л)	6,10±0,29	5,61±0,16
Общие липиды (г/л)	5,45±0,28	4,80±0,50
Остаточный азот (мг%)	35,2±2,1	33,7±1,4
Мочевина (мг%)	40,4±5,8	32,5±4,0

Прим: p>0,05

Результаты опытов свидетельствуют, что при введении лизатов *Bacillus F.* в течение всего срока наблюдения (14 дней) изменений интегральных показателей (внешний вид, поведение, состояние дыхания, мочеиспускания и дефекация, потребление пищи и воды, опрятность и др.) не зарегистрировано. Животные были активными. На внешние тактильные и болевые раздражители в течение всего срока эксперимента отвечали адекватно. В результате проведенных гематологических и биохимических исследований установлено, что при лизатов введении *Bacillus F.* в условиях острого опыта статистически достоверных изменений вышеуказанных показателей не наблюдалось.

Изучение токсичности лизатов *Bacillus F.* при 3-кратном введении в течение суток

В связи с тем, что результаты изучения острой токсичности лизатов *Bacillus F.* при однократном введении показали, что исследование соединения являются нетоксичными,

следующим этапом эксперимента стало изучение острой токсичности лизатов *Bacillus F*. при 3-кратном введении в течение суток в максимально возможных объемах.

Исследования проводились на белых мышах и белых беспородных крысах. Исследуемые лизаты вводили в максимально допустимых объемах. Результаты опытов приведены в табл. 4. Как свидетельствуют результаты эксперимента, при 3-кратном введении в течение суток максимально возможных объемах лизатов *Bacillus F*. гибели животных не наблюдалось.

Таблица 4

Исследование острой токсичности лизатов *Bacillus F* мышей при 3-кратном введении в течение суток (n = 6)

Доза, мл/кг, введенная за 3 раза	Кол-во животных	
	Кол-во животных	Гибель животных/ Кол-во животных
	Внутрибрюшинное введение	
10	6	0/6
20	6	0/6
30	6	0/6
40	6	0/6
	Пероральное введения	
20	6	0/6
30	6	0/6
40	6	0/6
50	6	0/6

ИССЛЕДОВАНИЕ СУБХРОНИЧНОЙ ТОКСИЧНОСТИ ЛИЗАТА *BACILLUS F*

Исследование субхронической токсичности лизатов *Bacillus F* проводили на белых беспородных крысах весом 160-200 г. Лизат вводили ежедневно в течение 14 суток в дозе 20 мл / кг.

Наблюдение в течение 14 дней по опытным животными, показало, что применение лизатов *Bacillus F*. в широком диапазоне доз - от 2,5 до 20 мл / кг (максимально возможный объем при пероральном ведении) не вызывало изменений физиологической нормы в состоянии животных в течение срока наблюдения (табл. 5).

Таблица 5

Исследование токсичности лизатов *Bacillus F* у крыс при пероральном введении

№	Доза, мл/кг	Сутки наблюдения													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Лизат <i>Bacillus F</i>															
1	2,5	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
2	5	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
3	10	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
4	10	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
5	20	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6

Прим: гибель животных/ кол-во животных

Установлено, что при наблюдении за животными, которым были введена лизаты *Bacillus F* в исследованных дозах не была зарегистрирована гибель животных. Температура тела и вес были в пределах физиологической нормы (табл. 6 и 7). Нарушений со стороны нервной системы не выявлено. Двигательная активность была в пределах физиологической нормы (табл. 8). Судом не наблюдалось. Офтальмологические симптомы: лакримация, миоз, мидриаз, экзофтальм, птоз, хромодакриорея и др. отсутствовали. Физиологические оправления в течение срока наблюдения - без особенностей и соответствует физиологической норме.

Таблица 6

Динамика изменения массы тела крыс (г) на фоне введения лизатов Bacillus F ($M \pm m$)

Условия опыта	Исходный уровень	7 сут	14 сут
Контроль	130,1 \pm 3,35	132,6 \pm 4,26	134,8 \pm 2,41
Лизат Bacillus F	134,6 \pm 5,8	137,2 \pm 2,22	137,7 \pm 1,22

Таблица 7

Динамика изменения температуры тела крыс на фоне введения лизатов Bacillus F ($M \pm m$)

Условия опыта	Температура тела, °С.		
	Исходный уровень	7 сут	14 сут
Контроль	38,2 \pm 0,1	37,9 \pm 0,1	38,3 \pm 0,3
Лизат Bacillus F	38,1 \pm 0,2	38,0 \pm 0,2	38,2 \pm 0,3

Таблица 8

Состояние нервной системы у крыс на фоне введения лизатов Bacillus F ($M \pm m$)

Условия опыта	Контроль	Лизат Bacillus F.
Исходный уровень		
Длина пути, м	7,98 \pm 0,75	7,85 \pm 0,63
Кол-во стоек	2,45 \pm 0,34	2,31 \pm 0,19
Кол-во заходов в норки	1,89 \pm 0,21	0,97 \pm 0,09
Кол-во дефекация	0,61 \pm 0,02	0,41 \pm 0,04
Кол-во уринаций	1,05 \pm 0,10	0,96 \pm 0,09
7 сут		
Длина пути, м	8,16 \pm 0,64	8,33 \pm 0,53
Кол-во стоек	2,45 \pm 0,34	2,31 \pm 0,19
Кол-во заходов в норки	1,91 \pm 0,18	1,04 \pm 0,12
Кол-во дефекация	0,59 \pm 0,02	0,24 \pm 0,035
Кол-во уринаций	0,98 \pm 0,08	0,84 \pm 0,07
14 сут		
Длина пути, м	7,97 \pm 0,37	8,56 \pm 0,42
Кол-во стоек	2,37 \pm 0,21	2,47 \pm 0,16
Кол-во заходов в норки	1,90 \pm 0,15	0,99 \pm 0,07
Кол-во дефекация	0,57 \pm 0,027	0,33 \pm 0,018
Кол-во уринаций	1,07 \pm 0,06	0,91 \pm 0,06

Вскрытие подопытных животных не выявило структурных изменений, гемодинамических нарушений и воспалительной реакции в головном мозге, внутренних органах и тканях, а также в брюшной, грудной и околосердечной полостях. Разницы в видовом чувствительности к препарату не выявлено.

ВЫВОДЫ

1. Исследованные лизаты реликтового микроорганизма Bacillus F, выделенного из вечномерзлых пород, являются безопасными и безвредными веществами и относятся к VI классу токсичности.
2. При исследовании субхронической токсичности лизатов Bacillus F обнаружено, что они не оказывают отрицательного влияния на органы и системы.
3. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности дальнейших исследований лизатов Bacillus F с целью создания на их основе новых лекарственных средств и биологически активных пищевых добавок.