

НЕЙРОТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПРЕПАРАТА «БЕНДАЗОЛ»

Л. И. Бугаева, Е. А. Кузубова, М. В. Букатин, А. А. Спасов

*Волгоградский государственный медицинский университет,
кафедра биологии, кафедра фармакологии
Научно-исследовательский институт фармакологии*

В экспериментах на крысах у препарата «Бендазол» установлены границы LD_{50} при внутрижелудочном введении (2500 мг/кг у самцов и 2630,8 мг/кг у самок), рассчитана широта терапевтического действия (до 2048 у. е.), определены диапазоны безопасного (от 1 до 128 у. е.) и токсического (от 256 до 2048 у. е.) действий.

Ключевые слова: бендазол, доклинические исследования, нейротоксикологические свойства, функционально-поведенческий статус.

NEUROTOXICOLOGY OF BENDAZOLE

L. I. Bugaeva, E. A. Kuzubova, M. V. Bukatin, A. A. Spasov

Studies of bendazole on rats established the scope of LD_{50} upon intragastric administration (2500 mg/kg in males and 2630,8 mg/kg in females), defined the therapeutic range (up to 2048 units) and the range of safe (from 1 to 128 units) and toxic (from 256 to 2048 units) action.

Key words: bendazole, preclinical testing, neurotoxicology, functional and behavioral profile.

Препарат «Дибазол» («Бендазол»), внедренный в середине XX в. в клиническую практику в качестве антигипертензивного средства, является одним из наиболее широко используемых производных бензимидазолов. Изучение особенностей механизма действия препарата позволило обнаружить наличие прямого спазмолитического действия, а также иммуностропных и адаптогенных [7] свойств. Вместе с тем указанные виды активности проявляются у дибазола в различных дозах. Такие же особенности в дозовом действии препарата были показаны в экспериментальных гонадотропных исследованиях [4]. Было обнаружено наличие как активирующего, так и угнетающего влияния на половое поведение и сперматогенез, зависимое от дозы и длительности введения препарата.

Несмотря на довольно длительное клиническое использование бендазола, токсикологические особенности его действия освещены недостаточно. В частности, отсутствуют некоторые данные по острой токсичности, что не позволяет провести полную оценку диапазона нейротоксикологической активности препарата, рассчитать у него широту терапевтического действия и оценить уровень безопасности.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить нейротоксикологические свойства и острую токсичность препарата «Бендазол» при интрагастральном введении половозрелым крысам.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводились на 120 беспородных белых лабораторных крысах обоего пола, 4,5–5-месячного возраста, массой 250–280 г, полученных из питомника ФКУЗ «Волгоградского научно-исследовательского противочумного института» Роспотребнадзора. Перед началом эксперимента животные в течение 2 недель проходили карантин, затем из них формировали опытные и контрольные

группы. Содержание животных соответствовало правилам, принятым Международной конвенцией по защите позвоночных животных, используемых в экспериментах для научных целей (Страсбург, 1986 г.).

Первоначально у бендазола (производство химико-фармацевтического объединения «Фармакон», Ленинград, серия № 430288) изучали острую токсичность при интрагастральном введении крысам. Определение LD_{50} проводили по методу Литчфилда и Уилкоксона [1, 5]. После однократного введения препарата в токсических дозах наблюдения за животными вели в течение 2 недель. За этот период отмечали количество погибших и выживших крыс, клинику отравления и реабилитационную динамику.

В последующем для определения диапазонов безопасного и токсикологического действий у препарата исследовали профиль нейротоксикологической активности с использованием метода Ирвина [8] в модификации НИИ фармакологии ВолГМУ [2]. При этом на первом этапе у бендазола изучали функционально-поведенческий профиль по 8-балльной шкале [3]. Оценка параметра в норме приравнивалась к 4 баллам, а изменение параметра в среднем на 25% соответствовало изменению в 1 балл. Возрастание внешне наблюдаемых изменений по шкале от 4 до 8 баллов указывало на увеличение эффекта, а снижение — от 4 до 0 баллов — на его угнетение. В шкале оценок токсического профиля препарата для признаков, в норме отсутствующих или в незначительной степени имеющих место, активность выражалась от 0 до 8 баллов (0 баллов — отсутствие эффекта).

Препарат вводили крысам внутрижелудочно в дозах, убывающих от LD_{50} , до минимальной дозы, проявляющей фармакологический эффект. Были использованы следующие дозы препарата: 2560, 1280, 640, 320, 160, 80, 40, 20, 10, 5, 2,5 и 1,25 мг/кг, под действием которых у животных оценивали спектр изменений

поведенческих реакций (настороженность, пассивность, агрессия, беспокойство, спонтанная двигательная активность), нервно-мышечных (судороги, парезы, тремор, реакции на раздражители) и вегетотропных эффектов (размер зрачка, птоз верхнего века, урикации, дефекации, саливации, цвет кожи, частота дыхания, температура тела). На втором этапе, после математической обработки (с использованием программы Excel и Statistica 6,0) [2], результаты тестирования в интегральном виде отражались на круговой диаграмме в форме «дозовой траектории». По «дозовой траектории» у препарата определяли диапазоны безопасной и токсической активности. О широте терапевтического действия судили по отношению минимальной вызывающей эффект дозе ($D_{\text{мвэ}}$) к LD_{50} , о диапазоне безопасного действия — по соотношению максимальной эффективной безопасной дозы и $D_{\text{мвэ}}$, о диапазоне токсического действия — минимальной токсической дозы к $D_{\text{мвэ}}$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам изучения острой токсичности установлено, что при внутрижелудочном введении крысам, границы LD_{50} бендазола составили: 2500 мг/кг (2293,16 ÷

2525,29 мг/кг) у самцов и 2630,83 (2523,45 ÷ 2742,79 мг/кг) у самок. В этой связи, с учетом классификации токсичности по Сантоцкому И. В. [6], испытуемый препарат можно отнести к разряду малотоксичных веществ. В клинике токсического отравления бендазолом отмечался кратковременный период возбуждения (5—10 минут после введения препарата), впоследствии снижение подвижности, боковое положение, угнетение дыхания, акроцианоз, тремор конечностей, переходящий в клонико-тонические судороги. Гибель животных под действием токсических доз препарата наступала в течение первых 2—3 часов после введения, ей предшествовали — кровянисто-пенистые выделения из ротовой и носовой полости, остановка дыхания. У животных, оставшихся в живых, признаки реабилитационной динамики отравления фиксировались в последующие 4—5 часов первых суток наблюдений. Полное восстановление общего и физического состояния крыс до уровня контроля наблюдалось на 3—4-е сутки эксперимента. Отдаленной гибели у животных не отмечалось.

При изучении нейротоксикологической активности выявлено, что в профиле функционально-поведенческих реакций присутствуют дозозависимые эффекты влияния бендазола на поведенческие, нервно-мышечные и вегетотропные реакции (табл.).

Влияние бендазола (per os) на функционально-поведенческий статус крыс

Тестируемые параметры, баллы	Норма	Дозы, мг/кг									
		1,25	2,5	5,0	10,0—20,0	40,0	80,0	160,0	320,0—640,0	1280,0—2560,0	
<i>Поведенческие реакции</i>											
Вокализация	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Настороженность	4	4	4	4	3,5	3,5	3	2	1	0	
Пассивность	4	4	4	4	5	5,5	6	6	6,5	7	
Стереотипия	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Беспокойство	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Агрессия	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Груминг	4	5	5	4,5	3,5	3	2	2	2	0,5	
Спонтанная двигательная активность	4	4,5	5	6	4	3	3	2	1	1	
<i>Нервно-мышечная возбудимость</i>											
Реакция на прикосновение	4	4	4	5	5	5	4,5	3,5	3	1	
Реакция на боль	4	4	4	4,5	4,5	4	3,5	3,5	3	1	
Реакция на стук	4	4	4	4	4	4	4	3	2	1	
Тремор	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
Подергивание	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
Судороги	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
Расстройство походки	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Тонус конечностей	4	4	4,5	5	4	3,5	3	3	2	1,5	
<i>Вегетативные эффекты</i>											
Положение мигательной перепонки	4	4	4	4	4	3,5	3,5	3	2,5	2	
Размер зрачка	4	4	4	4	4	3,5	3,5	3	2,5	2	
Саливация	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Урикация	4	4	4	4	4	4	3	2	2	2	
Дефекация	4	4	4	4	4	5	5	5	6	6	
Температура	4	4	4	4	3,5	3	3	3	2	2	
Цвет кожи	4	4	4	4	4	4	4	4	5	5	
Частота дыхания	4	5	5	5	4	3	2,5	2,5	2	1	

Из представленных данных видно, что в интервале доз от 1,25 до 5 мг/кг в действии препарата на поведенческие реакции преобладают эффекты активации спонтанной двигательной активности (на 1—2 балла). При этом в большей степени у этих крыс повышались локомоторная активность и акты груминга. В эффектах препарата на нервно-мышечные реакции отмечены тенденции повышения тонуса конечностей (на 0,5 балла) и реакций на внешние раздражители. В действии препарата на спектр вегетотропных эффектов отмечалось повышение частоты дыхания без изменений в окрасе видимых кожных покровов, актов дефекаций, уриаций и пр.

При введении препарата крысам в дозах от 10 до 80 мг/кг в функционально-поведенческом статусе животных наблюдалось постепенное снижение спонтанной двигательной активности, возрастание пассивности, снижения настороженности. При этом в нервно-мышечных реакциях прослеживался рост реакций на тактильные и болевые раздражители, снижение тонуса конечностей, без изменений величины и реакций зрачка. Частота дыхания у животных соответствовала данным контроля, а кожные покровы были розовые с отчетливыми видимыми прожилками сосудов. Отчетливое изменение в поведенческих и нервно-мышечных реакциях отмечены в последующем, после введения бендазола в дозах от 160 мг/кг до дозы, вызывающей гибель. В поведенческих реакциях у этих животных прослеживалось дозозависимое угнетение подвижности, груминга, изменение походы, положения тела, вплоть до бокового положения. Со стороны нервно-мышечных и вегетотропных эффектов обращает на себя внимание угнетение реакций на тактильные и болевые раздражители, индифферентность на звуковые раздражители, птоз, ослабление зрачкового рефлекса, тремор конечностей, а также существенное и постепенное угнетение частоты дыхания, снижение ректальной температуры, повышение актов дефекаций, но снижение уриаций. При этом кожные покровы в области ушных раковин были ярко розовыми, тогда как конечности — бледные с синюшным оттенком.

Таким образом, из проведенных исследований отчетливо прослеживается различное влияние бендазола на отдельные составляющие функционально-поведенческого статуса животных, спектра: поведенческих, нервно-мышечных и вегетотропных реакций.

Последующие исследования по интегральной обработке данных позволили зафиксировать характерную дозовую траекторию интегрального нейротоксикологического отражения дозового влияния препарата (рис.).

Бендазол
Дозы препарата (мг/кг)

- I — 1,25
- II — 2,5
- III — 5,0
- IV — 10,0-20,0
- V — 40,0
- VI — 80,0
- VII — 160,0
- VIII — 320,0-640,0
- IX — 1280,0
- X — 2560,0



Обозначения: вокализации — 1, настороженность — 2, активность/пассивность — 3, стереотипия — 4, беспокойство — 5, агрессия — 6, груминг — 7, спонтанная двигательная активность — 8, реакция на прикосновение — 9, реакция на боль — 10, реакция на стук — 11, тремор — 12, подергивание — 13, судороги — 14, расстройство передвижений — 15, тонус конечностей — 16, птоз — 17, размеры зрачка — 18, саливации — 19, уриации — 20, дефекации — 21, температура тела — 22, цвет кожных покровов — 23, частота дыхания — 24.

Рис. Интегральная оценка профиля функционально-поведенческой токсичности препарата «Бендазол»

При анализе прохождения данной траектории по отдельным секторам установлено преобладающее влияние препарата на поведенческие реакции в диапазоне доз от 1,25 до 5 мг/кг. В интервале доз от 10 до 160 мг/кг интегральная дозовая траектория препарата смещалась в противоположный сектор нервно-мышечных реакций, что, вероятно, может свидетельствовать о преобладании в нейротоксикологической активности препарата влияния на нервно-мышечную передачу. В диапазоне доз от 320 и до 2560 мг/кг спектр активности препарата постепенно смещался в сектор вегетотропных реакций.

На основании проведенных исследований предположили, что дозы бендазола 5 и 160 мг/кг являются поворотными в нейротоксикологической активности препарата, так как, с одной стороны, находятся в секторе поведенческих реакций, уравнивающих с нервно-мышечными (обозначили дозу 5 мг/кг как терапевтически эффективную, безопасную). С другой стороны, действие препарата на интегральной траектории в дозе 160 мг/кг приближается к границе вегетотропных реакций и ее расположено противоположно дозе 5 мг/кг, что, вероятно, может в какой-то степени свидетельствовать о снижении потенциала терапевтической активности препа-

рата и нарастании побочных, впоследствии переходящих в токсикотропные, эффектов. Учитывая представленные сведения, впоследствии, рассчитали у бендазола широту терапевтического действия, а затем в ее пределах показатели диапазона безопасно и опасно действия. На основании проведенных расчетов получили, что широта терапевтического действия препарата равна 2048 у. е. При этом диапазон безопасной нейротоксикологической активности препарата составил от 1 до 128 у. е., а диапазон опасно нейротоксикологического действия приравнивается к диапазону доз от 320 до 2560 мг/кг, что составляет от 256 до 2048 у. е.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, на основании проведенных исследований, с учетом классификации токсичности веществ по Саноцкому, препарат «Бендазол» может быть отнесен к классу малотоксичных соединений.

Выявлено также, что нейротоксикологические свойства бендазола зависят от его дозы. Превалирующее влияние на поведенческие реакции (в дозах от 1,25 до 5 мг/кг) отчетливо меняется в следующем интервале доз на нервно-мышечные. При этом широта терапевтического действия препарата (с учетом его минимальной дозы, оказывающей влияние на нейротоксикологическую активность — 1,25 мг/кг) равняется 2048 у. е. Вместе с тем, как показали дальнейшие исследования, в интервале терапевтического действия препарата на диапазон безопасной его активности приходится только 128 у. е., что составляет 1/16 от всей широты его терапевтического действия. В формировании диапазона нейротоксикологической активности препарата, начиная от 320

до 2560 мг/кг (находящихся в пределах 256 до 2048 у. е.) превалирует токсикотропная динамика.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Беленький М. Л.* Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. — Л.: Медгиз, 1961. — 152 с.
2. *Бугаева Л. И., Веровский В. Е., Иежица И. Н., Спасов А. А.* Исследование острой токсичности бромантана // Эксперим. и клин. фармакология. — 2000. — № 1. — С. 3—6.
3. *Гацура В. В.* Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ. — М.: Медицина. — 1974.
4. *Кузубова Е. А., Бугаева Л. И., Спасов А. А., Букатин М. В.* Влияние дибазола (бендазола) на генеративную функцию крыс / Эксперим. и клин. фармакология. — 2007. — № 2. — С. 37—39.
5. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. — М., 2005.
6. *Саноцкий И. В., Уланова И. П.* Критерии вредности в гигиене и токсикологии при оценке опасности химических соединений. — М., 1975.
7. *Спасов А. А., Иежица И. Н., Бугаева Л. И., Анисимова В. А.* // Хим.-фарм. журнал. — 1999. — № 2. — С. 6—17.
8. *Irwin S.* Drug screening and evaluation of new compounds in animals // Animal and Clinical Pharmacologic Techiques in Drug Evaluation Chicago, 1964. — P. 36—54.

Контактная информация

Букатин Михаил Владимирович — ассистент кафедры биологии, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: buspak76@mail.ru