

Общетоксическое действие пептидного антибиотика ареницина

И.А.Дьяченко

Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова (ФИБХ РАН), Пущино

Ареницин является эндогенным антибиотиком беспозвоночного *Arenicola marina* (пескожил морской), относящегося к классу *Polychaeta* (многощетинковые) типа *Annelida* (кольчатые черви). Молекула Ареницина представляет собой немодифицированную пептидную цепь, содержащую 21 аминокислотный остаток и стабилизированную одной дисульфидной связью, замыкающей цикл из 18 аминокислотных остатков. Ареницин вырабатывается целоμοцитами (фагоцитирующими клетками целома червя) и обладает антибактериальной и противогрибковой активностью. Механизм действия Ареницина предположительно состоит в избирательном нарушении барьерной функции клеточных мембран патогенных микроорганизмов, не затрагивающей мембраны клеток организма-хозяина. Ареницин является представителем принципиально нового семейства антимикробных пептидов и может найти применение в качестве антибиотика широкого спектра действия.

Целью данного исследования было изучение общей токсичности пептидных антибиотиков на мышах CD-1.

Материалы и методы

Исследования выполнялись на мышах CD-1. Животные были получены из НПП ФИБХ «Питомник лабораторных животных» и содержались в барьер-

ных помещениях в стандартных условиях, рекомендуемых для содержания грызунов [2]. Все манипуляции, проводимые на животных, были рассмотрены и одобрены биоэтической комиссией ФИБХ. Пептиды вводили, внутрибрюшинно, использовали стандартные объемы введения [2]. Определение класса токсичности, а также летальных (ЛД₁₆, ЛД₅₀) и максимальных толерантных доз (МТД) выполняли при однократном введении вещества самцам мышей. Для определения класса токсичности использовали рекомендации руководства 420 OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) [3]. Введение начинали со стартовой дозы 50 мг/кг. В зависимости от токсических проявлений и способа введения в предыдущей группе следующим группам животных вводилась большая или меньшая доза. После введения за всеми животными проводилось наблюдение в течение 3-х дней, затем проведена их эвтаназия и некропсия. Расчет ЛД₁₆ и ЛД₅₀ производили методом наименьших квадратов с использованием пробит-анализа [1]. За МТД принималась максимальная доза, при которой наблюдались выраженные признаки токсичности у нескольких животных и гибель не более 1 животного в группе.

Результаты и их обсуждение

Предварительное исследование Ареницина выявило, что 30 мг/кг является

ся МТД, последующее увеличение дозы вызвало токсическую гибель экспериментальных животных, из чего и был произведен расчет ЛД₅₀. В исследовании острой токсичности, результаты клинического осмотра выявили основные отклонения внешних изменений состояния здоровья экспериментальных животных в дозах 30 мг/кг и 35 мг/кг Ареницина. Обнаружено, что как у самок, так и у самцов отклонение в состоянии были одинаковыми, что указывает на общие «системы» мишени пептида Ареницин. Внешний клинический осмотр животных в 1-й день после введения дозы 30 мг/кг Ареницина показал, что у 100% самцов наблюдается затрудненное дыхание, малая частота дыхания. Предположительно данные клинические проявления указывают на нарушение функционирования дыхательного центра, паралич межреберных мышц, угнетение холинергических процессов, аналогичные проявления наблюдались и у самок, соответственно. Пальпация экспериментальных животных в области сердца выявила нарушения частоты,

ритмичности и последовательности возбуждения и сокращения сердца, что указывает на аритмию. Данные проявления подтверждают нарушение дыхательного центра и сердечно – легочную недостаточность, аналогичные признаки наблюдались и у самок.

Внешний клинический осмотр выявил низкую двигательную активность или дремотное состояние всех экспериментальных животных получавших Ареницин. Данный признак указывает на подавление ЦНС снижением двигательной активности. В дозе 30 мг/кг у 35% самцов и 55% самок обнаружено клоническое дыхание, синюшная кожа, в дозе 35 мг/кг у 50% самцов и 42% самок обнаружено клоническое дыхание и синюшная кожа. Данные признаки указывают на нарушение нервно – мышечной передачи и дыхательной недостатичи. Проявление данных признаков вызвало гибель животных через 20-25 минут. В исследовании острой токсичности обнаружено, что самцы после введения Ареницина в дозе 30 мг/кг к 14 дню исследования не набрали вес в отличие от группы Рас-

Таблица

Изменение веса тела у самцов и самок мышей CD-1 при введении растворителя и Ареницина

	Группа: №1 (Растворитель)		Группа: №2 (Ареницин 30 мг/кг)		Группа: №3 (Ареницин 35мг/кг)	
	Самцы n=6	Самки n=6	Самцы n=7	Самки n=5	Самцы n=5	Самки n=3
1-й день, г	32,2±2	24,1±1,3	31,7±3,7	24,1±1,4	30,5±3,3	22,3±4,1
7-й день, г	33,3±2,3	24,9±1,6	30,4±3,6	25±1,5	29,7±3,1	22,5±4,0
7-й день, %	3,6±5,9	3,3±4,2	-4±3,9	3,8±1,4	-2,6±2,3	1,0±1,5
14-й день, г	34±2,9	25,7±1,2	30,8±3,6	25,8±1,7	30,3±1,7	22,8±4,1
14-й день, %	5,5±7,3	6,7±4,1	-2,7±4,1	6,9±3,7	-0,3±7,3	2,2±2,2

– P<0,05 относительно группы «1-й день»

творитель (табл.). Такие результаты наблюдались и в группе 35 мг/кг. Однако самки к 14 дню эксперимента проявляли тенденцию к набору веса после введения Ареницина.

Выводы

Таким образом, МТД для Ареницин 30 мг/кг, ЛД₅₀ – 38,1, ЛД₁₆ – 32,6. Результаты клинического осмотра в первый день после введения Ареницин показали, что гибель животных наблюдается в первые 20-25 минут после введения. Проявление клонического дыхания и синюшной кожи вызывает гибель животного. Обнаруженные клинические признаки указывают на угнетение дыхательного центра, сердечно – легочной недостаточности, подавления ЦНС. Пептидный ан-

тибиотик Ареницин может быть отнесен к 3 классу токсичности ($20 > \text{ЛД}_{50} > 700$ мг/кг) для мышей CD-1. В исследовании острой токсичности обнаружено изменение веса тела экспериментальных животных, в котором самки быстрее переносили исследуемый препарат, проявляя тенденцию к набору веса.

Список литературы

1. *Гуськова Т.А.* Токсикология лекарственных средств. М.: МДВ, 2008.
2. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Под ред. *Р.У. Хабриева.* М.: Медицина, 2005.
3. Acute Oral Toxicity – Fixed Dose Procedure. OECD Guideline for the Testing of Chemicals. Guideline 420. Paris: OECD, 2001.