

# ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СУБХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ ВНУТРИМАТОЧНОГО ПРОТИВОЗАЧАТОЧНОГО СРЕДСТВА «JUNO TAU»

*Петрова С. Ю., Ильюкова И. И., Гомолко Т. Н.*

*Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены», г. Минск, Республика Беларусь*

**Реферат.** Биологическая безопасность — это отсутствие отрицательного воздействия медицинского изделия на контактирующий с ним организм, поэтому испытаниям на биологическую безопасность должны подвергаться все без исключения медицинские изделия, контактирующие с организмом пациента, одним из этапов которого является оценка субхронической токсичности.

В результате исследований с использованием гармонизированного с международными требованиями метода, установлено, что внутриматочное противозачаточное средство «Juno T Au» не оказывает токсического действия в условиях субхронического эксперимента.

**Ключевые слова:** субхроническая токсичность, внутриматочное противозачаточное средство, клинические наблюдения, клиническая патология.

**Введение.** Прогресс в области разработки и применения изделий медицинского назначения, а также внедрение новых материалов в практическое здравоохранение требует внедрения новых методов оценки их гигиенической безопасности. В настоящее время оценка биологической безопасности медицинских изделий проводится по ГОСТ серии ИСО 10993 «Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий».

Исследования для оценки биологического действия медицинского изделия включают в себя проверку физико-химических, санитарно-химических и биологических показателей. Для внутриматочного противозачаточного средства как для медицинского изделия с высокой степенью потенциального риска применения в обязательном порядке предусмотрено определение токсического действия в субхроническом эксперименте [1].

**Цель работы** — определение наличия неблагоприятного эффекта, возникающего после ежедневного введения в течение 90 сут многократных доз вытяжек из внутриматочного противозачаточного средства «Juno T Au».

**Материалы и методы.** Материалами исследований являлись экстракты из внутриматочного противозачаточного средства «Juno T Au», которые были приготовлены с использованием неполярного растворителя (физиологического раствора) в отношении 1,2 г материала на 30 мл физиологического раствора, выдержаны в термостате при 37 °С в течение 10 сут (концентрированный экстракт — предположительно обладающий токсическим действием) (1), из которой готовили серию разведений: 1 к 10 — используемый согласно инструкции по применению (1а); 1 к 100 — экстракт, предположительно не обладающий токсическим действием (1б). В качестве методов были использованы ГОСТы серии ISO 10993, части 11 и 12 [2, 3].

В ходе исследований использовали общепринятые в лабораторной практике методы: токсикологические, биохимические, гематологические, патоморфологические. Эксперименты на животных проведены с соблюдением правил биоэтики. Проведена статистическая оценка с учетом биологической значимости. При оценке различий между группами использовали непараметрический U-критерий Манна–Уитни. Количественные параметры представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (25 %; 75 %). Критическим уровнем значимости при проверке статистических гипотез был принят  $p \leq 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Что касается клинических наблюдений, то следует отметить, что как в контрольной, так и во всех опытных группах (1, 1а, 1б) на всем протяжении эксперимента респираторных изменений (затруднения дыхания, одышки, остановки дыхания, цианоза, учащенного дыхания, выделения из носа) не отмечалось. Со стороны двигательной активности (сонливости, потери равновесия, потери чувствительности, катаlepsии, атаксии, необычного передвижения, прострации, тремора), также конвульсий, анальгезии, слюноотделения, повышенной жесткости шерсти, опрятность шерстного

покрова, изменений со стороны мышечного тонуса, повреждения и раздражения кожных покровов, изменений со стороны желудочно-кишечного тракта в опытных группах животных по сравнению с контролем не отмечено. Изменения массы тела опытных животных по отношению к контрольной группе также не выявлено (таблица 1).

Таблица 1. — Масса тела белых крыс при внутрибрюшинном введении экстрактов из образца «Juno T Au», Me (25 %, 75 %)

Группы животных	Показатели
	масса тела, г
Контроль	205,0 (190,0; 230,0)
1	210,0 (190,0; 210,0) p = 0,97
1a	205,0 (200,0; 210,0) p = 0,79
1б	210,0 (200,0; 220,0) p = 0,47

*Клиническая патология:* внутрибрюшинное введение экстрактов из образца «Juno T Au» не привело к изменению содержания форменных элементов и гемоглобина в периферической крови. Количество эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов и гемоглобина у опытных животных не отличалось от контрольной группы (таблица 2).

Таблица 2. — Морфологический состав периферической крови белых крыс при внутрибрюшинном введении экстрактов, Me (25 %; 75 % кватили)

Показатели	Группы животных			
	контроль	1	1a	1б
Эритроциты, $10^{12}/л$	6,94 (6,79; 7,32)	6,97 (6,47; 7,40) p = 0,57	6,44 (6,18; 6,79) p = 0,06	6,34 (6,24; 7,15) p = 0,06
Лейкоциты, $10^9/л$	13,60 (12,50; 16,30)	12,30 (11,80; 13,50) p = 0,08	16,55 (12,80; 20,40) p = 0,06	16,95 (16,02; 18,40) p = 0,06
Гемоглобин, г/л	159,5 (155,0; 164,0)	152,5 (150,0; 158,0) p = 0,06	154,5 (153,0; 157,0) p = 0,12	155,5 (148,0; 160,0) p = 0,29
Тромбоциты, $10^9/л$	817,5 (715,0; 849,0)	778,5 (760,0; 847,0) p = 1,00	737,5 (628,0; 863,0) p = 0,41	725,0 (704,0; 795,0) p = 0,08
Лимфоциты, %	66,25 (64,50; 70,40)	67,95 (66,40; 71,80) p = 0,34	69,50 (68,00; 73,20) p = 0,06	71,40 (68,30; 71,40) p = 0,06
Моноциты, %	4,65 (4,30; 6,00)	5,00 (4,20; 5,30) p = 0,97	4,85 (4,10; 5,10) p = 0,65	5,10 (4,70; 5,50) p = 0,43
Гранулоциты, %	27,80 (25,80; 31,20)	25,95 (23,40; 28,80) p = 0,50	24,75 (21,80; 24,70) p = 0,06	24,15 (23,10; 26,40) p = 0,06

В ходе эксперимента установлено, что внутрибрюшинное введение экстрактов из образца «Juno T Au» не вызывает изменений со стороны биохимических показателей по сравнению с контрольной группой (таблица 3).

Внутрибрюшинное введение экстрактов из образца «Juno T Au» не привело к изменению показателей функционального состояния почек у подопытных животных в сравнении с контролем (таблица 4).

Таблица 3. — Биохимические показатели крови белых крыс при внутрибрюшинном введении экстрактов из образца «Juno T Au», Me(25%, 75%)

Показатели	Группы животных			
	контроль	1	1a	1б
Глюкоза, ммоль/л	5,35 (5,03; 6,52)	4,88 (4,15; 5,73) p = 0,06	4,58 (4,26; 5,12) p = 0,06	4,89 (4,24; 5,44) p = 0,06
Щелочная фосфатаза, Ед/л	97,70 (96,40; 98,80)	91,30 (84,40; 97,00) p = 0,08	106,85 (98,40; 116,10) p = 0,06	99,90 (97,10; 112,40) p = 0,15
Железо, ммоль/л	114,0 (111,5; 121,3)	118,4 (104,7; 130,6) p = 0,65	100,3 (92,80; 123,80) p = 0,06	96,35 (88,80; 111,10) p = 0,06

## Окончание таблицы 3

Показатели	Группы животных			
	контроль	1	1a	1б
Фосфор, ммоль/л	1,35 (1,21; 1,47)	1,22 (1,18; 1,27) p = 0,11	1,22 (1,17; 1,27) p = 0,20	1,17 (1,12; 1,32) p = 0,15
Мочевина, ммоль/л	6,47 (6,20; 6,68)	7,32 (7,24; 7,88) p = 0,06	6,67 (6,32; 7,07) p = 0,26	6,56 (6,28; 6,78) p = 0,45
Триглицериды, ммоль/л	0,11 (0,09; 0,13)	0,13 (0,11; 0,15) p = 0,29	0,18 (0,11; 0,22) p = 0,06	0,12 (0,10; 0,16) p = 0,38
Общий белок, г/л	81,85 (74,40; 93,10)	90,35 (79,10; 100,50) p = 0,23	59,40 (52,30; 70,20) p = 0,06	69,40 (63,40; 78,40) p = 0,15
Креатинин, мкмоль/л	57,16 (52,97; 57,61)	49,38 (48,32; 56,33) p = 0,06	58,32 (56,41; 61,44) p = 0,11	58,81 (57,45; 66,18) p = 0,07
Кальций, ммоль/л	0,62 (0,54; 0,65)	1,26 (0,56; 1,39) p = 0,20	1,21 (1,10; 1,26) p = 0,06	1,21 (0,65; 1,30) p = 0,06
Альбумин, ммоль/л	30,70 (14,20; 36,50)	32,60 (26,60; 39,90) p = 0,31	36,10 (32,00; 38,30) p = 0,13	32,35 (30,00; 37,40) p = 0,36
Билирубин общий, ммоль/л	9,45 (9,20; 10,00)	9,45 (9,30; 9,60) p = 1,00	9,85 (9,60; 9,90) p = 0,17	9,60 (9,40; 9,90) p = 0,57
Холестерин общий, ммоль/л	1,25 (1,00; 1,40)	1,40 (1,00; 1,70) p = 0,55	1 1,50 (0,90; 1,70) p = 0,34	1,55 (0,90; 1,70) p = 0,36
АлАТ, Ед/л	90,65 (86,50; 104,50)	86,50 (64,50; 96,40) p = 0,06	97,15 (95,30; 111,00) p = 0,20	95,30 (90,50; 100,50) p = 0,45
АсАТ, Ед/л	276,7 (231,5; 332,4)	267,5 (241,9; 301,2) p = 0,41	282,8 (220,8; 372,9) p = 0,55	321,7 (220,4; 372,4) p = 0,06
ГГТ, Ед/л	10,10 (9,80; 10,30)	10,70 (10,50; 11,10) p = 0,06	10,90 (10,40; 11,10) p = 0,06	10,20 (10,10; 10,40) p = 0,24

Таблица 4. — Показатели функционального состояния почек белых крыс при внутрибрюшинном введении экстрактов из образца «Junco T Au», Me(25 %, 75 %)

Показатели	Группы животных			
	контроль	1	1a	1б
Диурез, мл/сут	9,45 (7,80; 10,40)	9,6 (8,8; 10,0) p = 0,85	9,1 (8,8; 9,6) p = 0,91	8,6 (5,9; 8,9) p = 0,15
pH, у.е.	6,75 (6,50; 7,00)	7,0 (6,5; 7,0) p = 0,65	6,8 (6,5; 7,5) p = 0,85	6,5 (6,0; 7,0) p = 0,52
Удельный вес, г/л	0,98 (0,94; 1,01)	1,0 (0,9; 1,0) p = 0,94	1,0 (1,0; 1,0) p = 0,50	1,0 (1,0; 1,0) p = 0,55
Общий белок, моль/л	1,35 (0,90; 1,70)	1,3 (0,9; 1,4) p = 0,43	1,3 (1,1; 1,8) p = 0,97	1,4 (1,2; 1,6) p = 0,73
Мочевина, ммоль/л	110,5 (105,0; 120,5)	115,5 (105,0; 120,5) p = 0,71	120,8 (111,0; 124,5) p = 0,17	121,5 (112,0; 125,0) p = 0,06
Креатинин, ммоль/л	3375,0 (3100,0; 3600,0)	3200,0 (3100,0; 3500,0) p = 0,65	3350,0 (3200,0; 3600,0) p = 0,62	3450,0 (3200,0; 3700,0) p = 0,52
Глюкоза, ммоль/л	0,20 (0,18; 0,21)	0,2 (0,2; 0,2) p = 0,50	0,2 (0,2; 0,2) p = 0,38	0,2 (0,2; 0,3) p = 0,10

*Патологоанатомические исследования:* все животные были подвергнуты полному общему вскрытию, включающему в себя осмотр внешних покровов тела, всех физиологических отверстий, а также черепной коробки, грудной и брюшной полостей и их содержимого. Вскрытие и осмотр внутренних органов проводили сразу после забоя. Определяли, сравнивая с контролем, массу, цвет, степень кровенаполнения органов, наличие кровоизлияний.

Внутрибрюшинное введение экстрактов из образца «Juno T Au» не привело к изменению относительных коэффициентов массы (далее — ОКМ) органов. ОКМ печени, почек, сердца, селезенки, легких и надпочечников не отличались от величин, наблюдаемых в контрольной группе лабораторных животных (таблица 5).

Таблица 5. — Относительные коэффициенты масс внутренних органов белых крыс при внутрибрюшинном введении экстрактов из образца «Juno T Au», Me (25 %, 75 %)

Показатели, кг <sup>-3</sup> /кг	Группы животных			
	контроль	1	1a	1б
ОКМ печени	32,92 (30,25; 33,42)	31,78 (31,38; 34,90) p = 0,97	30,16 (29,55; 31,95) p = 0,06	29,99 (29,14; 31,73) p = 0,06
ОКМ почек	6,62 (6,11; 6,80)	6,95 (6,81; 7,05) p = 0,82	6,95 (6,63; 7,20) p = 0,13	6,80 (6,70; 6,92) p = 0,10
ОКМ сердца	3,67 (3,39; 3,68)	3,77 (3,48; 3,84) p = 0,07	3,74 (3,62; 3,90) p = 0,27	3,69 (3,67; 3,80) p = 0,15
ОКМ селезенки	4,74 (4,17; 4,96)	5,82 (4,52; 6,71) p = 0,06	4,95 (4,33; 5,31) p = 0,36	4,56 (4,43; 4,81) p = 0,71
ОКМ надпочечников	0,24 (0,22; 0,25)	0,27 (0,21; 0,28) p = 0,06	0,24 (0,23; 0,25) p = 0,73	0,23 (0,21; 0,24) p = 0,06
ОКМ легких	8,81 (8,65; 9,75)	9,22 (8,68; 10,05) p = 0,50	9,50 (8,63; 10,43) p = 0,76	8,96 (8,70; 9,77) p = 0,94

*Макроскопическое исследование:* при наружном осмотре крыс контрольной и опытных групп отмечено правильное телосложение, отсутствие выделений из естественных отверстий. Шерсть блестящая, без очагов облысения, видимые слизистые оболочки бледной окраски, блестящие, без внешних видимых изменений, зубы сохранены.

Органы брюшной и грудной полости в пределах нормы, грудная и брюшная полости не содержат выпота. Parietalный и висцеральные листки плевры и брюшины без признаков отека, блестящие, гладкие.

Подчелюстные лимфатические узлы и слюнные железы овальной формы, розового цвета, с гладкой поверхностью, тонкой капсулой, не спаяны между собой и подлежащими тканями, однородной окраски на разрезе.

Щитовидная железа красноватого цвета, обычной величины и формы, умеренно плотной консистенции.

Тимус треугольной формы, беловатого цвета, умеренно плотной консистенции, обычных размеров.

Интима аорты была гладкой, блестящей, беловатого цвета. Диаметр аорты не изменен. Листки перикарда тонкие, прозрачные, гладкие. Величина и форма сердца не имела отклонений. В правом и левом желудочках отмечено незначительное содержание крови темного цвета. Клапаны сердца тонкие, блестящие, гладкие. Мышца сердца на разрезе имела однородную вишнево-коричневую окраску, была умеренно плотной.

Просвет трахеи и крупных бронхов не был изменен, имел блестящую, гладкую, бледного цвета слизистую оболочку, легкие воздушные, без уплотнений на ощупь, бледно-розовой окраски.

Слизистая оболочка пищевода блестящая, гладкая, бледного цвета, желудок обычной величины и формы, заполнен пищевым содержимым. Слизистые оболочки желудка и тонкого кишечника в пределах нормы, бледно-розового цвета, блестящие, гладкие. Складчатость желудка без изменений.

Слизистая оболочка толстой кишки сероватого цвета, блестящей, гладкой.

Форма и величина печени не изменена. Поверхность печени была гладкой, однородной темно-красной окраски, капсула тонкая, прозрачная. Ткань печени на разрезе полнокровная, умеренно плотная.

Поджелудочная железа имела плоскую форму, бледно-розового цвета, дольчатая, умеренно плотной консистенции.

Селезенка обычной формы, темно-вишневого цвета, умеренно плотной консистенции с гладкой поверхностью и тонкой капсулой. На разрезе, на темно-красном фоне органа определяются мелкие сероватого цвета фолликулы.

Величина и форма почек не изменена. Поверхность почек коричневатого цвета, гладкая, капсула тонкая, прозрачная, легко отделяется. На разрезе органа хорошо различимы корковое и мозговое вещество.

Надпочечники были округлой формы, бледно-желтого цвета с гладкой поверхностью, умеренно плотные. На разрезе четко выделялось темно окрашенное мозговое вещество.

Мочевой пузырь был заполнен прозрачной мочой. Слизистая оболочки пузыря гладкая, блестящая, бледной окраски.

Оболочки головного мозга тонкие, прозрачные. Вещество мозга обычной плотности, поверхность мозга гладкая. На фронтальных разрезах мозга отчетливо выделялось серое и белое вещество. Желудочки мозга были обычной величины, без расширений.

Яичники овальные, плотные, гроздевидные, серо-розового цвета, компактные.

Матка двураздельная, плотная, поверхность гладкая, цвет желтовато-розовый. Полость без содержимого. Рога тонкие, длинные.

Принимая во внимание, что при макроскопических исследованиях не отмечено изменений в опытных группах (включая группу, получавшую высокую дозу) гистологическим исследованиям были подвергнуты выборочные органы, а именно: печень, почки и легкие контрольной и опытных групп крыс.

Печень (контрольная и опытные группы), окрашена гематоксилин-эозином. Хорошо различимо дольчатое строение паренхимы печени. Дольки в виде неправильных многоугольников разделены междольковыми перегородками из рыхлой волокнистой соединительной ткани. Различимы триады, включающие междольковые вены (большой диаметр, в просвете — эритроциты), артерию (небольшой диаметр, толстая стенка) и желчный проток (канал уплощен). В центре долек расположены центральные вены, от которых радиально расходятся заполняющие дольку печеночные балки, состоящие из гепатоцитов. Гепатоциты с четкими контурами, неправильной многоугольной формы.

Гистологических отклонений в строении печени опытных групп не отмечено в сравнении с контрольной группой животных.

Легкое (контрольная и опытные группы), окрашено гематоксилин-эозином. Участок легочной ткани представлен альвеолярным ходом, альвеолярным мешочком, альвеолами и межальвеолярными перегородками. В легких просвет альвеол свободный, межальвеолярные перегородки сохранены. Стенки бронхов чистые.

Гистологических отклонений в строении легких опытных групп в сравнении с контрольной группой животных не отмечено.

Почка (контрольная и опытные группы), окрашенная гематоксилин-эозином, снаружи покрыта фиброзной (волокнистой) капсулой, содержащей жировые клетки. Далее расположено корковое вещество почки, в котором присутствуют почечные тельца, имеющие округлую форму, и извитые канальцы нефронов. Виден сосудистый клубочек, состоящий из кровеносных капилляров; полость капсулы в виде узкой щели вокруг клубочка и наружный листок капсулы, состоящий из плоских клеток. Извитые канальцы имеют вид поперечно перерезанного канальца-трубочки, стенка которого состоит из одного слоя клеток с круглыми крупными ядрами.

Мозговое вещество почки имеет форму пирамид, которое состоит оно из петель Генле и собирающих трубочек и имеет вид продольно перерезанных канальцев-трубочек, идущих в одном направлении. Между канальцами в прослойках соединительной ткани лежат кровеносные сосуды с эритроцитами.

Гистологических отклонений в строении почек опытных групп не отмечено в сравнении с контрольной группой животных.

**Заключение.** При изучении субхронического токсического действия внутриматочного противозачаточного средства «Juno T Au» респираторных изменений, изменений со стороны желудочно-кишечного тракта, массы тела, двигательной активности, мышечного тонуса, слюноотделения, повреждения и раздражения кожных покровов, а также патологических изменений со стороны биохимического состава крови и мочи, гематологических и патоморфологических показателей в опытных группах по сравнению с контрольной группой животных не отмечено. На основании результатов исследований можно заключить, что внутриматочное противозачаточное средство «Juno T Au» не оказывает токсического эффекта в субхроническом эксперименте.

#### Литература

1. ГОСТ ISO 10993-1-2011. Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Ч. 1. Оценка и исследования [Электронный ресурс] / ИПС «Стандарт». — Режим доступа : [www.ips3.belgiss.by](http://www.ips3.belgiss.by). — Дата доступа : 21.06.2017.
2. ГОСТ ISO 10993-11-2011. Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Ч. 11. Исследования общетоксического действия [Электронный ресурс] / ИПС «Стандарт». — Режим доступа : [www.ips3.belgiss.by](http://www.ips3.belgiss.by). — Дата доступа : 21.06.2017.
3. ГОСТ ISO 10993-12-2011. Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Ч. 12. Приготовление проб и контрольные образцы [Электронный ресурс] / ИПС «Стандарт». — Режим доступа : [www.ips3.belgiss.by](http://www.ips3.belgiss.by). — Дата доступа : 21.06.2017.

## **HYGIENIC EVALUATION OF SUBCHRONIC TOXICITY OF INTRAMUTOUS CONTRAINDICANT “JUNO T AU”**

*Petrova S. Y., Ilyukova I. I., Gomolko T. N.*

*Republican unitary enterprise “Scientific practical centre of hygiene”, Minsk, Republic of Belarus*

Biological safety is the absence of a negative impact of a medical device on a body that is in contact with it. Therefore, all medical products that contact the patient's body must be subjected to biological safety tests, one of the stages of which is the evaluation of subchronic toxicity.

As a result of conducted studies using a method harmonized with international requirements, it was established that the intrauterine contraceptive “Juno T Au” does not have a toxic effect under the conditions of the subchronic experiment.

**Keywords:** subchronic toxicity, intrauterine contraceptive, clinical observations, clinical pathology.