

ФАРМАКОГЕНЕТИКА

КОМУТАГЕННОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ВЕРАПАМИЛА И РИБАВИРИНА

А. Д. Дурнев, Н. О. Даугель-Дауге, С. Б. Середенин¹

Методом учета хромосомных повреждений в клетках костного мозга мышей C57BL/6 исследована цитогенетическая активность рибавирина (10, 50, 100, 200 и 400 мг/кг) и его комбинаций с верапамилом (0,25; 2,5; 5 и 10 мг/кг), вводимых внутрь. Установлено, что отдельно взятый рибавирин проявляет цитогенетическую активность в дозах 200 и 400 мг/кг. Кроме того, выявлена цитогенетическая активность рибавирина в дозах 50 и 100 мг/кг при 5-дневном введении в комбинации с верапамилом в дозах 5, 10 мг/кг и 2,5; 5; 10 мг/кг, соответственно. Полученные данные указывают на комутагенное взаимодействие верапамила и рибавирина.

Ключевые слова: верапамил, рибавирин, хромосомные аберрации, костный мозг, мыши

ВВЕДЕНИЕ

До настоящего времени оценка комутагенных взаимодействий между лекарственными средствами выпадает из практики генотоксикологических исследований, несмотря на сведения о возможности усиления эффектов химических мутагенов под влиянием немутагенных соединений. Особенно актуально изучение генотоксических эффектов сочетаний потенциальных комутагенов с лекарствами, допущенными к клиническому использованию, но демонстрирующими в генотоксических исследованиях противоречивые результаты [1].

Верапамил — гипотензивное средство [4], подобно другим блокаторам кальциевых каналов, обладает комутагенными эффектами *in vitro* и *in vivo* [1, 8, 10].

Рибавирин — аналог нуклеозидов, рекомендуется в качестве противовирусного средства широкого спектра действия [5]. Данные об его мутагенной активности противоречивы [6, 7].

Указанные лекарства могут сочетаться в реальной практике, что делает необходимой прогностическую оценку возможности их комутагенного взаимодействия. В этой связи целью настоящей работы явилось исследование комутагенного воздействия верапамила на цитогенетические эффекты рибавирина у мышей.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено методом учета хромосомных повреждений в клетках костного мозга на самцах мышей линии C57BL/6 в возрасте 1,5 – 2 месяца (питомник Столбовая, РАМН), содержащихся в условиях вивария ГУ НИИ фармакологии РАМН при свободном доступе к воде и пище, при 12-часовой освещенности.

В экспериментах использовали верапамила гидрохлорид 0,25 % (АО “АЙ СИ ЭН”, Россия) и рибавирин (рибамидил, “Биофарма”, Россия). Препараты вводили внутрь с минимальным интервалом однократно и ежедневно в течение пяти дней. Дозы и пути введения препаратов соответствовали применяемым в медицинской практике. Верапамил использовали из расчета 0,25; 2,5; 5 и 10 мг/кг, рибавирин — 10, 50, 100, 200 и 400 мг/кг.

Животных забивали дислокацией шейных позвонков через 24 ч после последнего введения препаратов.

Цитогенетические препараты костного мозга бедренных костей готовили стандартным суховоздушным методом [9]. При цитогенетическом анализе учитывали клетки с ахроматическими пробелами (гепы), одиночными и парными фрагментами хромосом и обменами различного типа. В отдельную категорию — клетки с множественными повреждениями — выделяли метафазы, имеющие более пяти хромосомных повреждений. Статистическую обработку (φ-критерий) проводили путем сравнения долей клеток с хромосомными повреждениями в контрольной и экспериментальной группах. В каждом варианте эксперимента использовали 4 – 5 животных, от каждого животного анализировали по 100 метафаз.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты цитогенетического исследования клеток костного мозга, полученных после однократного введения рибавирина в дозах 10 – 400 мг/кг представлены в табл. 1.

Установлено, что рибавирин не проявляет цитогенетической активности в дозах до 100 мг/кг включительно и вызывает значимое увеличение выхода клеток с хромосомными повреждениями после использования в дозах 200 и 400 мг/кг. Ранее методом учета микро-

¹ ГУ НИИ фармакологии им. В. В. Закусова РАМН, Москва, 125315, ул. Балтийская, 8.

Таблица 1. Цитогенетические эффекты исследования клеток костного мозга ($n = 500$) после введения рибавирина

Условия эксперимента	На 100 исследованных клеток					Клеток с хромосомными повреждениями, %	<i>p</i>
	Гепы	Одиночные фрагменты	Парные фрагменты	Обмены	Клетки с множественными повреждениями		
Контроль	0,8	0,4	0	0	0	1,2 ± 0,5	
Рибавирин							
10 мг/кг	0,2	0,8	0	0	0	1,0 ± 0,4	> 0,05
50 мг/кг	0,4	1,4	0	0	0	1,6 ± 0,6	> 0,05
100 мг/кг	0,2	1,0	0	0	0	1,2 ± 0,5	> 0,05
200 мг/кг	1,2	1,8	0,2	0	0	3,2 ± 0,8	< 0,05
400 мг/кг	1,2	5,2	0,4	0	0	6,4 ± 1,1	< 0,001

ядер в клетках костного мозга крыс показано, что рибавирин не проявляет эффекта в дозе 10 мг/кг, но увеличивает выход микроядер при внутрибрюшинном введении в дозах от 15 до 200 мг/кг [6].

Собственные и литературные данные практически совпадают в части наличия у рибавирина цитогенетической активности и выявления дозовой зависимости проявления этого эффекта. В обоих исследованиях выявлены дозы, в которых рибавирин не проявляет генотоксического эффекта у млекопитающих. Цитогенетический эффект рибавирина в сравнительно низких дозах, выявленный в цитированном исследовании, может быть связан с использованием способа введения, обеспечивающего большую биодоступность препарата.

Цитогенетическое исследование, выполненное после однократного введения рибавирина в дозах, не вызывающих цитогенетического эффекта (10 – 100 мг/кг), в комбинации с верапамилем (0,25 – 10 мг/кг) не выявило значимого влияния комбинации на выход клеток с хромосомными повреждениями (табл. 2). Примечательно, что верапамил в тех же дозах при однократном введении увеличивал цитогенетический эффект ряда мутагенов [8].

Не было также обнаружено цитогенетического эффекта комбинации при 5-дневном использовании рибавирина в дозе 10 мг/кг и верапамила из расчета 0,25 – 10 мг/кг (табл. 3).

При условии 5-дневного введения рибавирина в дозе 50 мг/кг с верапамилем, применяемым из расчета

Таблица 2. Исследование цитогенетической активности комбинации верапамила и рибавирина при однократном введении мышам

Условия эксперимента	На 100 исследованных клеток					Клеток с хромосомными повреждениями, %	<i>p</i>
	Гепы	Одиночные фрагменты	Парные фрагменты	Обмены	Клетки с множественными повреждениями		
Рибавирин, 10 мг/кг	0,2	0,8	0	0	0	1,0 ± 0,4	
+ верапамил							
0,25 мг/кг	0,4	1,2	0	0	0	1,6 ± 0,6	> 0,05
2,5 мг/кг	0,4	1,0	0	0	0	1,4 ± 0,5	> 0,05
5 мг/кг	0,8	2,0	0	0	0	2,4 ± 0,7	> 0,05
10 мг/кг	0,6	1,4	0	0	0	2,0 ± 0,6	> 0,05
Рибавирин, 50 мг/кг	0,4	1,4	0	0	0	1,6 ± 0,6	
+ верапамил							
0,25 мг/кг	0,2	0,8	0	0	0	1,0 ± 0,4	> 0,05
2,5 мг/кг	0,6	1,0	0	0	0	1,6 ± 0,6	> 0,05
5 мг/кг	0,6	1,4	0	0	0	2,0 ± 0,6	> 0,05
10 мг/кг	0,8	0,8	0	0	0	1,6 ± 0,6	> 0,05
Рибавирин, 100 мг/кг	0,2	1,0	0	0	0	1,2 ± 0,5	
+ верапамил							
0,25 мг/кг	0,6	1,0	0	0	0	1,6 ± 0,6	> 0,05
2,5 мг/кг	0,6	1,4	0	0	0	2,0 ± 0,6	> 0,05
5 мг/кг	0,8	0,8	0	0	0	1,6 ± 0,6	> 0,05
10 мг/кг	0,2	1,6	0	0	0	2,0 ± 0,6	> 0,05

Примечание. Использовано 500 клеток.

Таблица 3. Исследование цитогенетической активности комбинации верапамила и рибавирина при 5-дневном введении мышам

Условия эксперимента	Клеток	На 100 исследованных клеток					Клеток с хромосомными повреждениями, %	P
		Гепы	Одиночные фрагменты	Парные фрагменты	Обмены	Клетки с множественными повреждениями		
Рибавирин, 10 мг/кг	500	0,4	1,6	0	0	0	2,0 ± 0,6	
+ верапамил								
0,25 мг/кг	500	0,4	1,2	0	0	0	1,6 ± 0,6	> 0,05
2,5 мг/кг	500	0,2	2,2	0	0	0	2,4 ± 0,7	> 0,05
5 мг/кг	500	0,8	0,8	0	0	0	1,6 ± 0,6	> 0,05
10 мг/кг	500	0,4	3,2	0	0,2	0	3,0 ± 0,8	> 0,05
Рибавирин, 50 мг/кг	500	0,2	1,2	0	0	0	1,4 ± 0,5	
+ верапамил								
0,25 мг/кг	400	0	1,3	0	0	0	1,3 ± 0,6	> 0,05
2,5 мг/кг	500	1,2	1,8	0	0	0	3,2 ± 0,8	> 0,05*
5 мг/кг	500	0,8	4,8	0,2	0	0,2	5,2 ± 1,0	< 0,001
10 мг/кг	500	1,0	4,2	0,4	0	0	4,8 ± 1,0	< 0,01
Рибавирин, 100 мг/кг	500	0,8	0,6	0	0	0	1,4 ± 0,5	
+ верапамил								
0,25 мг/кг	500	0,4	1,6	0	0	0	2,0 ± 0,6	> 0,05
2,5 мг/кг	500	1,6	2,8	0	0	0	4,4 ± 0,9	< 0,01
5 мг/кг	400	1,5	2,5	0,3	0	0	4,3 ± 1,0	< 0,01
10 мг/кг	500	2,0	5,2	0	0,4	0	6,8 ± 1,1	< 0,001

* — результат на границе значимости.

5 и 10 мг/кг был выявлен цитогенетический эффект использованной комбинации. Использование верапамила в дозе 2,5 мг/кг привело к получению результата на границе достоверности (табл. 3).

Таким образом, рибавирин, не проявляющий цитогенетической активности в дозе 50 мг/кг, в сочетании с верапамилем продемонстрировал отчетливый генотоксический эффект.

Еще более показательные данные были получены при использовании рибавирина в дозе 100 мг/кг. В этом случае статистически значимый цитогенетический эффект комбинации был отмечен при использовании верапамила в дозах 2,5; 4 и 10 мг/кг.

В обоих случаях цитогенетический эффект использованных комбинаций в количественном выражении был практически эквивалентен наблюдаемому при использовании рибавирина в дозах 200 и 400 мг/кг (табл. 1, 3).

Отсутствие комутагенных эффектов при однократном и их наличие при 5-дневном введении препаратов свидетельствует в пользу ранее выдвинутого тезиса о предпочтительности подострых экспериментов в практике генотоксикологических исследований [2, 3].

Приведенные наблюдения подтверждают наличие комутагенной активности верапамила и показывают, что границы доз проявления цитогенетических эффектов рибавирина могут быть существенно расширены при его сочетанном использовании с исследованным блокатором кальциевых каналов. С практической точки зрения это делает нежелательным одновременной

прием рибавирина с верапамилем, а, возможно, также с другими блокаторами кальциевых каналов.

ВЫВОДЫ

1. Проявление цитогенетических эффектов рибавирина у мышей имеет отчетливый пороговый характер, рибавирин не активен при введении внутрь в дозах 10 – 100 мг/кг и проявляет выраженный генотоксический эффект при использовании из расчета 200 и 400 мг/кг.

2. При сочетанном 5-дневном введении рибавирина с верапамилем (2,5; 5 и 10 мг/кг) наблюдается комутагенное взаимодействие препаратов, выражающееся в снижении дозировок рибавирина, вызывающих цитогенетический эффект, до 50 – 100 мг/кг.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. Д. Дурнев, С. Б. Середенин, *Бюл. exper. биол.*, № 6, 604 – 612 (2003).
2. А. Д. Дурнев, С. Б. Середенин, *Мутагены: скрининг и фармакологическая профилактика воздействий*, Медицина, Москва (1998).
3. А. Д. Дурнев, Г. М. Волгарева, С. Б. Середенин, *Exper. и клин. фармакол.*, № 2, 4 – 12 (1998).
4. Б. А. Сидоренко, Д. В. Преображенский, *Антагонисты кальция*, Информатик, Москва (1997).
5. S. Crotty, C. Cameron, and R. Andino, *J. Mol. Med.*, v. 80, 86 – 95 (2002).
6. K. Narayana, U. J. D'Souza, and K. P. Seetharama, *Rao, Mutat. Res.*, v. 521, 179 – 185 (2002).

7. K. Narayana, J. A. Urban, U. J. D'Souza, and K. P. Seetharama, *Mutat. Res.*, v. 513, 193 – 196 (2002).
8. E. V. Nesterova, A. D. Durnev, and S. B. Seredenin, *Mutat. Res.*, v. 440, № 2, 171 – 179 (1999).
9. R. J. Preston, B. J. Dean, S. Galloway, et al., *Mutat. Res.*, v. 189, 157 – 165 (1987).
10. W. Scheid, J. Weber, U. Rottgers, and H. Traut, *Arzneimittelforschung*, v. 41, 901 – 914 (1991).

Поступила 16.11.04

COMUTAGEN INTERACTION OF VERAPAMIL AND RIBAVIRIN

A. D. Durnev, N. O. Daugeľ'-Dauge, and S. B. Seredenin

Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Baltiiskaya 8, Moscow, 125315 Russia

The chromosome aberration assay in the bone marrow cells of C57BL/6 mice was used to study the cytogenetic activity of ribavirin (10, 50, 100, 200, and 400 mg/kg, p.o.) alone and in combinations with verapamil (0.25, 2.5, 5, and 10 mg/kg, p.o.). It was established that ribavirin was cytogenetically active upon single administration in a dose of 200 and 400 mg/kg, and it was also active in a dose of 50 and 100 mg/kg when administered for 5 days in combination with verapamil in a dose of 5 or 10 mg/kg and 2.5, 5, or 10 mg/kg, respectively. These results indicate that verapamil and ribavirin exhibit comutagen action.