



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2008 00692**

(22) Data de depozit: **08.09.2008**

(41) Data publicării cererii:

30.03.2010

BOPI nr. 3/2010

(71) Solicitant:

• **RAFIFARM S.R.L.**, COD 147135,
DRĂGĂNEȘTI-VLAȘCA, TR, RO

(72) Inventatori:

• **MARCO PERETTO**,
CALEA CĂLĂRAȘILOR, NR. 3, AP. 58,
SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;

• **SÂRBULESCU CRISTINA**,

STR. C. A. ROSETTI, NR. 37, SECTOR 1,
BUCUREȘTI, B, RO;

• **VICTOR VOICU**, STR. C. A. ROSETTI,
NR. 37, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO

(74) Mandatar:

RODALL S.R.L., STR. POLONĂ, NR. 115,
BL. 15, SC. A, ET. 4, AP. 19, SECTOR 1,
COD 71151, BUCUREȘTI

(54) **UTILIZAREA ERDOSTEINEI CA ANTIDOT ÎN TRATAMENTUL
INTOXICAȚIILOR, ÎN SPECIAL INTOXICAȚIILE CU METALE
GRELE CUM AR FI PLUMB ȘI MERCUR**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la utilizarea acidului 2-[(2-oxotiolan-3-il)carbamoilmetilsulfanil]acetic (Erdosteina) pentru tratamentul intoxicațiilor cu metale grele, în special a celor cu plumb și mercur. Administrarea Erdosteinei se

poate face intravenos sau per os, sub formă de soluție în apă care conține și bicarbonat de sodiu.

Revendicări: 6

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, solicitantului, protecția conferită potrivit dispozițiilor art.32 din Legea nr.64/1991, cu excepția cazurilor în care cererea de brevet de invenție a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de invenție este determinată de revendicările conținute în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).



Invenția se referă la utilizarea Erdosteinei ca antidot în tratamentul intoxicațiilor, în special în intoxicațiile cu metale grele, cum ar fi plumb și mercur.

Sunt cunoscute câteva antidoturi pentru tratarea intoxicațiilor cu metale grele, în primul rând agenți chelanti, cum este ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), un medicament vechi și probabil cel mai mult folosit. O problemă în acest caz este nespecificitatea agenților chelanti față de ioni de metal pe care îi izolează, ei acționând și asupra elementelor vitale pentru funcțiile fiziologice normale, cum ar fi calciul și zincul.

N-Acetylcysteine (NAC) este de multă vreme standardul de referință pentru tratamentul intoxicațiilor cu paracetamol și are o indicație clară pentru tratamentul intoxicațiilor cu plumb. NAC este de asemenea un medicament în evaluare pentru câteva alte indicații, fiind în prezent folosit înafara indicațiilor, în tratamentul intoxicațiilor cu mercur, susținut de câteva studii experimentale (Aremu et al, Environ Health Perspect. 2008 January; 116(1): 26-31. Koh et al. Molecular Pharmacology Vol. 62, Issue 4, 921-926, October 2002, Ballatori et al., Environ Health Perspect. 1998 May; 106(5): 267-271.).

Erdosteina este un medicament înregistrat în mai multe țări ca mucolitic. Folosirea pe scară largă ca mucolitic, studiile publicate și datele de siguranță post marketing, arată că erdosteina este un medicament foarte sigur cel puțin în doza folosită ca mucolitic. Datorită prezenței a două grupuri tiolice, erdosteina a demonstrat in vitro o acțiune antioxidantă puternică.

Considerăm că erdosteina poate fi un antidot în tratamentul intoxicațiilor, în special în intoxicațiile cu metale grele și am decis să comparăm loturi intoxicate cu plumb/mercur și apoi tratate cu erdosteina cu loturi intoxicate și netratate și loturi intoxicate și tratate cu NAC, considerând NAC ca cel mai promitator antidot existent. Am decis testarea atât per os (p.o.) cât și intra-venos (i.v.). creând o formulă farmaceutică specifică.

Conform invenției, am făcut experimental o evaluare a efectului Erdosteinei administrată per os și intravenos la sobolani intoxicați cu plumb și respectiv cu mercur, utilizând N-acetilcisteina (NAC) ca substanță de referință.

Exemplul 1

Primul exemplu de realizare este reprezentat de evaluarea efectului erdosteinei administrată per os în intoxicația cu plumb și respectiv cu mercur, utilizând N-acetilcisteina ca substanță de referință.

Substanțe și soluții utilizate în experiment

1. Acetat de plumb trihidrat (formula moleculară $C_4 H_6 O_2 Pb \cdot 3 H_2 O$; masa moleculară

56

379,33 ; solubilitate 45,61g la 100 ml apa la 15° C; DL₅₀ pe cale orală 4665 mg/kg (Toxicology and Applied Pharmacology vol 18, pg 185, 1991)

2. Clorura de mercur (formula moleculara Hg Cl₂; masa moleculara 271,5; solubilitate in apa 7,4 g /100 ml apa la 20° C; DL₅₀ pe cale orală mg/kg; 42 mg/kg) (Toxicology and Applied Pharmacology vol 18, pg 185, 1991)

3. N- Acetilcisteina/NAC (formula moleculara C₅ H₉ NO₃ S; greutatea moleculara 163,19; usor solubila in apa ; DL₅₀ la șobolan ; i.v. 1140 mg/kg (European Journal of Respiratory Diseases vol 61 pag 138), per os 5050 mg/kg (Toxicology and Applied Pharmacology vol 18, pg 185, 1991)

4. Erdosteina (formula moleculara C₈ H₁₁ NO₄ S₂; greutatea moleculara 249,31; moderat solubila in apa; DL₅₀ la șobolan i.v. >3500mg/kg, per os. 8750 mg/kg (European Patent Application vol.0061 1386)

Material biologic

Au fost introduse in experiment 210 animale de laborator, șobolani rasa Wistar masculi si femele. Animalele au fost repartizate in loturi omogene de cate 30 animale (15 femele, 15 masculi), tinute in microclimat adecvat (vivariu) cu acces liber la hrana si apa, in afara contactului cu insecticide.

Metode de administrare a solutiilor de lucru:

1. acetatul de plumb s-a administrat per os la șobolan in doza de 4665 mg/kg (1 DL₅₀)

2. clorura de mercur s-a administrat per os în doză de 42 mg/kg (1DL₅₀)

3. N-Acetilcisteina s-a administrat per os în doza de 500 mg/kg (reprezentand 1/10 din DL₅₀ pe cale orala, doza considerată in literatura de specialitate ca doză eficace), la 2 loturi diferite, imediat dupa administrarea per os a unui DL₅₀ de acetat de plumb si respectiv clorura mercurica . Administrarea N-acetilcisteinei s-a repetat zilnic timp de 7 zile.

4. Erdosteina s-a administrat per os in doza de 875 mg/kg (corespunzatoare unei fracțiuni de 1/10 din DL₅₀ pe cale orala - doza considerată in literatura de specialitate ca eficace) imediat dupa administrarea per os, la 2 loturi diferite a unui DL₅₀ de acetat de plumb si respectiv clorura mercurica. Administrarea erdosteinei s-a repetat zilnic timp de 7 zile. Soluțiile de lucru au fost administrate per os prin gavare in volum de 10 ml/kg.

Solventul utilizat la prepararea soluțiilor de lucru a fost reprezentat de apa distilată in cazul N-acetilcisteinei si respectiv un amestec de apa distilata si bicarbonat de sodiu, acesta din urma echimolar cu erdosteina.

Monitorizarea animalelor:

Monitorizarea animalelor inaintea experimentului a constat in urmarirea curbei ponderale si

56

a stării de sănătate pe o perioadă de 7 zile înainte începerii experimentului. Cu 24 ore înainte de începerea experimentului, animalelor li s-a restricționat accesul la hrană, având acces liber la apă.

Monitorizarea animalelor în timpul experimentului a constat în urmărirea stării de sănătate, înregistrarea semnelor de intoxicație și a mortalității pe toată perioada experimentului.

Monitorizarea biologică a constat în determinări cantitative, efectuate la supraviețuitori, la 7 zile după intoxicație și tratament, ale valorilor hemoglobinei, hematocritului, numărul de eritrocite și leucocite, a ureei, creatininei și acidului uric (specimen: 1 ml) și determinarea cantitativă a plumbului și respectiv a mercurului în urină.

Etape ale experimentului

Au fost utilizate două modele experimentale de intoxicație acută pentru intoxicația cu plumb și respectiv pentru intoxicația cu mercur pentru a testa eficacitatea erdoșteinei comparativ cu cea a N-acetilcisteinei utilizată ca substanță de referință.

S-a înregistrat mortalitatea pe tot parcursul intervalului studiat (7 zile). La 7 zile după intoxicație și tratament s-au determinat următorii parametri: hemoleucograma, numărul de eritrocite și leucocite, hematocrit, uree, creatinina, acid uric și valorile plumbului și mercurului în urină. Animalele au fost sacrificate prin decapitare sub anestezie generală cu eter pentru recoltarea de organe (ficat, tub digestiv, rinichi). 6 animale din fiecare lot (3 masculi și 3 femele) au fost selectate aleatoriu pentru examen anatomopatologic macro și microscopic.

Evaluarea efectului erdoșteinei pe modelul experimental de intoxicație cu plumb

Au fost introduse în experiment 4 loturi a câte 30 animale (15 masculi și 15 femele).

Repartizarea a fost făcută în loturi omogene astfel:

Lotul 1 - martor normal neintoxicat și netratat

Lotul 2 - intoxicat cu acetat de plumb și netratat, la care s-a administrat acetat de plumb în doza de 4665 mg/kg (1 DL₅₀) per os.

Lotul 3 - intoxicat cu acetat de plumb și tratat cu erdoșteina. La acest lot s-a administrat acetat de plumb în doza de 4665 mg/kg per os. Imediat după intoxicație și zilnic timp de 7 zile s-a administrat per os erdoșteina în doze de 875 mg/kg (corespunzătoare unei fracțiuni de 1/10 din DL₅₀ pe cale orală).

Lotul 4 - intoxicat cu acetat de plumb și tratat cu N-acetilcisteina. La acest lot s-a administrat acetat de plumb în doza de 4665 mg/kg p.o. Imediat după intoxicație s-a administrat N-acetilcisteina, per os în doze de 500mg /kg (1/10 din DL₅₀ pe cale orală). Administrarea NAC s-a repetat zilnic timp de 7 zile.

Evaluarea efectului erdoșteinei pe modelul experimental de intoxicație cu mercur

Au fost introduse în experiment 3 loturi a câte 30 animale (15 masculi și 15 femele pe lot) astfel:

Lotul 5 - intoxicat cu clorura de mercur și netratat, la care se va administra per os, clorura de mercur în doza de 42 mg/kg.

Lotul 6 - intoxicat cu clorura de mercur si tratat cu erdosteina. S-a administrat per os, clorura de mercur in doza de 42 mg/kg. Imediat dupa intoxicatie si zilnic timp de 7 zile s-a administrat per os erdosteina in doze de 875 mg/kg. Administrarea erdosteinei s-a repetat zilnic timp de 7 zile.

Lotul 7 - intoxicat cu clorura de mercur si tratat cu N-acetilcisteina. La acest lot se va administra per os, clorura de mercur in doza de 42 mg/kg. Imediat dupa intoxicatie se va administra N-acetilcisteina, per os in doze de 500mg /kg. Administrarea NAC s-a repetat zilnic timp de 7 zile.

Metoda de analiza statistica

Analiza statistica a rezultatelor experimentale s-a efectuat prin testarea semnificatiei diferentei mediilor valorilor rezultate experimental prin utilizarea testului t Student varianta impara, din cadrul programului de calcul statistic Origin 5.0. Analiza mortalitatii a fost efectuata prin testul Chi patrat. Au fost considerate semnificative statistic rezultatele cu $p < 0.05$.

Rezultatele obtinute sunt prezentate in tabelele urmatoare.

Mortalitate

Tabel nr.1. Evaluarea protectiei realizate prin administrarea erdosteinei in intoxicatia acuta cu plumb si mercur fata de netratat si comparativ cu cea data de N-acetilcisteina

Nr. lot (30 animale/lot)	Mortalitate totala	Mortalitate procentual
Lot 1 martor	0	0
Lot 2 (intoxicat cu acetat de plumb si netratat)	11	36.6%
Lot 3 (intoxicat cu acetat de plumb si tratat cu erdosteina)	5	16.6%
Lot 4 (intoxicat cu acetat de plumb si tratat cu N-acetilcisteina)	9	30%
Lot 5 (intoxicat cu clorura mercurica si netratat)	13	43.3%
Lot 6 (intoxicat cu clorura mercurica si tratat cu erdosteina)	5 ¹	16.6%
Lot 7 (intoxicat cu clorura mercurica si tratat cu N-acetilcisteina)	10 ²	33.3%

¹ semnificativ diferit fata de lotul intoxicat si netratat

² nesemnificativ diferit fata de lotul intoxicat si netratat

Lotul intoxicat cu clorura mercurica si tratat cu erdosteina a inregistrat o mortalitate statistic semnificativ mai mica fata de lotul intoxicat cu clorura mercurica si netratat. Loturile tratate cu erdosteina arata o mortalitate scazuta fata de loturile tratate cu NAC dar aceste diferente nu sunt statistic semnificative.

Supravietuitori- Rezultate biochimice

Tabel nr. 2 Evidentierea efectului erdosteinei asupra toxicitatii renale din intoxicatia cu plumb si mercur prin evaluarea valorilor ureei sanguine, creatininei si acidului uric fata de grupurile martor normal, netratat si tratat cu NAC

Nr. lot (30 animale/lot)	Valori medii uree (mg/dl)	Valori medii creatinina (mK/dl)	Valori medii acid uric (mg/dl)
Lot 1 martor normal	48,46	0,50	2,32
Lot 2 - intoxicat cu acetat de plumb si netratat	159,76 ³	0,82 ³	2,67 ³

Lot 3 - intoxicat cu acetat de plumb si tratat cu erdosteina	50,93 ¹²	0,48 ¹²	1,90 ³
Lot 4 - intoxicat cu acetat de plumb si tratat cu N-acetilcisteina	104,15 ³	0,66 ³	2,36 ¹
Lot 5- intoxicat cu clorura de mercur si netratat	189,73 ³	2,20 ³	2,68 ³
Lot 6 - intoxicat cu clorura de mercur si tratat cu erdosteina	49,18 ¹²	0,47 ¹²	2,40 ¹
Lot 7 - intoxicat cu clorura de mercur si tratat cu N-acetilcisteina	85,45 ³	0,56 ³	2,38 ¹

¹ nesemnificativ fata de martor normal

² semnificativ diferit fata de lotul tratat cu NAC

³ semnificativ fata de martor normal

Supravietuitori rezultate hematologice

Tabel nr. 3 Evidentierea efectului erdosteinei asupra tabloului hematologic din intoxicatia cu plumb si mercur, fata de grupurile martor normal, netratat si tratat cu NAC

Nr. lot (30 animale/lot)	Valori medii nr. eritroci te (*10 ⁶ /mm ³)	Valori medii Hemoglobin a (g/dl)	Valori medii Hemato crit	Valori medii nr. leucocite
Lot 1 martor normal	7,77	16,84	49,15	6,24
Lot 2 (intoxicat cu acetat de plumb si netratat)	6,98 ³	15,46 ³	41,00 ³	11,95 ³
Lot 3 (intoxicat cu acetat de plumb si tratat cu erdosteina)	6,82 ³	13,75 ³	39,41 ³	7,31 ³
Lot 4 (intoxicat cu acetat de plumb si tratat cu N-acetilcisteina)	6,55 ³	13,58 ³	41,42 ³	6,82 ³
Lot 5 (intoxicat cu clorura mercurica si netratat)	6,96 ³	15,46 ³	40,47 ³	12,09 ³
Lot 6 (intoxicat cu clorura mercurica si tratat cu erdosteina)	6,81 ³	13,75 ³	38,58 ³	7,81 ³
Lot 7 (intoxicat cu clorura mercurica si tratat cu N-acetilcisteina)	6,92 ³	13,58 ³	41,50 ³	6,72 ³

³semnificativ fata de martor normal

Rezultate experimentale anatomopatologice

Toxicitate plumb (Pb)

Doza de acetat de plumb administrata per os celor trei loturi a fost de 1 DL₅₀. Perioada de supraveghere a fost de 7 zile de la intoxicatie.

La sfarsitul experimentului toate animalele supravietuitoare, din cele trei loturi, aveau starea generala in diferite grade de alterare si prezentau motilitate scazuta. Blana era mata, cenusie.

Abdomenul era considerabil marit in volum si etalat pe flancuri. La majoritatea animalelor se prelingea sange la nivelul cavitatii bucale. Dupa eutanasiere s-a efectuat necropsia.

Lotul martor neintoxicat si netratat a prezentat aspecte macroscopice si microscopice specifice speciei.

Examen macroscopic

Lotul 2, intoxicat cu acetate de Pb si netratat

La deschiderea cutiei craniene s-a pus in evidenta creierul, acoperit de o membrana meningeala intens congestionata.

S-a efectuat incizie submento-pubiana, s-au decolat tegumentele si s-au expus organele interne. La deschidere, organele abdominale, aflate sub tensiune, s-au revarsat pe flancuri, stomacul si intestinale fiind foarte destinse, cu continut aerian. Peretele stomacului prezenta zone de placarde fibrinoase aderente de organele din jur. Prin transparenta s-a evidenciat continut fibrino-purulent in zona prepilorică; zona fundică era intens dilatată. Colonul era destins si cu continut abundent de aspect pastos foarte inchis la culoare (negricios),

La incercarea de dilacerare a organelor abdominale s-au pus in evidenta placarde fibrinoase aderente intre peretele gastric si suprafata antero-superioara a ficatului.

Ficatul acoperit de placarde necrozate alb-cenusii, in zona superioara era intens hiperemic si de volumul moderat crescut.

Ambii rinichi erau mariti in volum si prezentau aspect albicios, de carne fiarta, si stelute vasculare pe suprafata externa. Suprarenalele se prezentau crescute de volum la dublu.

Restul organelor toraco-abdominale nu au prezentat modificari notabile.

Examen microscopic

Lotul 2, intoxicat cu acetat de plumb si netratat

La nivelul tesutului cerebral se intalneste moderat edem interstitial si hiperemie moderata.

Parenchimul hepatic prezinta modificari moderate. Capsula prezinta zone cu placarde fibrino-membranoase si tesut necrobiotic adiacent; celulele hepatice de sub capsula prezinta diferite grade de suferinta distrofica. Capilarele hepatice sunt dilatate si pline cu hematii conglomerate dar care nu afecteaza structura celulelor hepatice.

Structura parenchimului renal este profund alterata, prezentand zone eterogene de modificari. Marea majoritate a glomerulilor sunt afectati in diferite grade: exista zone in care glomerulii sunt mariti in volum, cu capilarele foarte dilatate si pline cu hematii conglomerate; camera de filtrare este foarte largita. Se intalnesc numerosi glomeruli sclerozati, afuctionali.

Tubii renali prezinta fenomene de distrofie moderata, unii prezentand incluzii hemactice. Vasele sanguine prezinta frecvent hemoliza intravasculara.

La nivelul tubului digestiv se intalnesc modificari profunde ale aspectului structurii. Mucoasa gastrica este profund alterata, modificarile fiind foarte variate incepand de la edem si inflamatie mucoasei pana la ulceratii profunde care strabat muscularis mucosae si patrund in corion. In zonele ulcerate se intalnesc numeroase placarde pseudomembranoase si hemoragice. Corionul este invadat de infiltrat polimorf (celule histiocitare, macrofage, granulocite, plasmocite, mastocite si numeroase limfocite izolate si grupate). Mucoasa intestinala prezinta numeroase vilozitati

"amputate" prin fenomene de necrobioza si este acoperita cu detritusuri celulare aderente. Se intalnesc frecvente conglomerate de limfocite, placi Peyer, cu foliculi reactivi.

Suprarenalele prezinta structura total dezorganizata, fara sa se mai respecte straturile caracteristice. Toate celulele sunt marite in volum, citoplasma este foarte clara si vacuolizata si uneori cu membrana citoplasmatica rupta.

Celelalte tesuturi si organe nu prezinta modificari care ar putea fi datorate experimentului.

Lotul 4 intoxicat cu acetat de plumb si tratat cu N-acetilcisteina prezinta aspecte histologice asemanatoare si de aceeaasi gravitate ca la lotul 2.

Lotul 3 intoxicat cu acetat de plumb si tratat cu erdoseina prezinta aspecte histologice asemanatoare dar de intensitate mai mica ca la loturile 2 si 4, fiind prezente la un numar mai mic de animale.

Toxicitate mercur (Hg)

Doza de clorura mercurica administrata per os celor trei loturi a fost de 1 DL₅₀. Perioada de supraveghere a fost de 7 zile de la intoxicatie.

La sfarsitul experimentului toate animalele supravietuitoare, din cele trei loturi aveau starea generala destul de alterata, erau apatice si prezentau motilitate scazuta. Blana era mata, cenusie. Dupa eutanasiere s-a efectuat necropsia.

Examen macroscopic

Lotul 5 intoxicat cu clorura mercurica si netratat

La deschiderea cutiei craniene s-a pus in evidenta creierul, acoperit de o membrana meningeala cu desen vascular accentuat.

S-a efectuat incizie submento-pubiana, s-au decolat tegumentele si s-au expus organele interne. Atat tegumentele cat si organele interne apareau intens congestionate.

Ficatul ca aspect extern apareau cianotic cu marginile rotunjite.

Ambii rinichi erau mai mici de volum decat la animalele martor netratate, de culoare albicioasa si desen vascular accentuat. La sectionare calicele apareau dilatate. Suprarenalele crescute de volum.

Restul organelor toraco-abdominale nu au prezentat modificari notabile.

Examen microscopic

Lotul 5, intoxicat cu clorura mercurica si netratat

La nivelul tesutului cerebral se intalnesc hiperemie meningeala moderata.

La nivelul parenchimului hepatic se intalnesc aspecte asemanatoare cu cele de la nivelul animalelor martor, din aceasta specie, nesemnalandu-se fenomene distrofice.

La nivelul tesutului renal apar fenomene distructive majore. Glomerulii sunt intens hiperemici, capilarele dilatate sunt pline cu hematii. Calicele sunt foarte dilatate. Majoritatea tubilor renali sunt profund alterati in diverse grade. Se intalnesc alterarea profunda a endoteliului, afectand si

SP

membrana bazala, fenomen ireversibil care duce la distructia totala sau partiala a tubilor. Lumenul tubular este plin cu substanta amorfă eozinofila. Se intalnesc frecvent fenomene de hemoliza intravasculara.

Stomacul prezinta hipercheratoza si acantoza in zona cu tesut pavimentos. In zona glandulara nu se intalnesc fenomene alterative ulcerative sau necrotice. Mucoasa intestinala nu este afectata. Corionul tubului digestiv este foarte lax si incarcat moderat cu celule inflamatorii polimorfe.

Lotul 7 intoxicat cu clorura mercurica si tratat cu NAC. La animalele din acest lot se intalnesc aceleasi modificari ca la lotul martor intoxicat si netratat dar au o gravitate mai mica decat la acest lot. Nu se mai intalnesc fenomene distrofice ireversibile, dar fenomenele intalnite sunt grave comparativ cu lotul martor.

Lotul 6 intoxicat cu clorura mercurica si tratat cu Erdosteina. La animalele din acest lot apar fenomene distrofice majore la nivelul parenchimului renal (ca la lotul 5), dar fenomenele nu ajung pana la gravitatea celor descrise la lotul 5.

Determinarile PB si Hg in urina

Rezultatele eliminarii plumbului prin urina

Evaluarea valorilor Pb in urina masurate prin GS MS Varian 4100 au evidential urmatoarele aspecte:

Lotul nr. 1 martorul normal- valorile Pb in urina 225 µg/l

Lotul nr. 2 intoxicat cu acetat de plumb per os si netratat - 5,2 mg/l

Lotul nr. 4 intoxicat cu acetat de plumb per os si tratat cu NAC - 10,9 mg/l

Lotul nr. 3 intoxicat cu acetat de plumb per os si tratat cu erdosteina - 13,2 mg/l

Rezultatele eliminarii mercurului prin urina

Evaluarea valorilor Hg in urina masurate prin GS MS Varian 4100 au evidential urmatoarele aspecte:

Lotul nr. 1 martorul normal- valorile Hg in urina 0

Lotul nr. 5 intoxicat cu clorura mercurica per os si netratat - 2,8 mg/l

Lotul nr. 6 intoxicat cu clorura mercurica per os si tratat cu erdosteina - 14,7 mg/l

Lotul nr. 7 intoxicat cu clorura mercurica per os si tratat cu NAC - 11,5 mg/l

Se poate constata că:

Chiar cu un numar relativ mic de animale pe lot, tratamentul cu erdosteina a redus semnificativ mortalitatea in grupul intoxicat cu clorura mercurica, in timp ce pentru lotul tratat cu NAC nu s-a obtinut un rezultat statistic diferit fata de lotul netratat. Erdosteina a redus mortalitatea aproape la jumatate fata de NAC in grupurile intoxicate cu acetat de plumb, dar ca urmare a numarului redus

SP

h9

de animale, diferenta nu este semnificativa.

La animalele supravietuitoare, toxicitatea plumbului si a mercurului este severa si a fost evidentiata biochimic si anatomopatologic prin alterari ale functiei renale (uree, creatinina, acid uric), digestive si a parametrilor hematologici (nr. eritrocite, hemoglobina, hematocrit, nr. leucocite).

Administrarea erdosteinei a oferit un indice de protectie mai bun decat lotul netratat in intoxicatiile cu plumb si mercur, prin reducerea aparitiei efectelor toxice cat si prin accelerarea eliminarii urinare a toxicelor.

Administrarea erdosteinei ofera o protectie mai buna decat NAC asupra toxicitatii renale, valorile ureei si ale creatininei fiind la normalitate. Diferentele fata de grupurile tratate cu NAC au fost semnificative.

Administrarea atat a erdosteinei cat si a NAC nu a antagonizat toxicitatea hematologica si inflamatiile prezente in intoxicatiile cu plumb si mercur.

Evaluările anatomopatologice au confirmat ca erdosteina a oferit o protectie superioara si a evidential leziuni mai mici la nivel hepatic, renal si al aparatului digestiv, comparativ cu loturile intoxicate-netratate si intoxicate-tratate cu NAC.

Exemplul 2

Al doilea exemplu de realizare este reprezentat de evaluarea efectului erdosteinei administrata intravenos in intoxicatia cu plumb si cu mercur, utilizand N-acetilcisteina ca substanta de referinta.

Substante si solutii utilizate in experiment

Identice cu cele de la Exemplul 1.

Material biologic

Au fost introduse in experiment 335 de animale de laborator, sobolani rasa Wistar, masculi si femele.

Animalele au fost repartizate in loturi omogene de cate 35 animale (20 femele, 15 masculi), tinute in microclimat adecvat (vivariu) cu acces liber la hrana si apa, in afara contactului cu insecticide.

Metode de administrare a solutiilor de lucru:

1. acetatul de plumb s-a administrat per os la sobolan in doza de 4665 mg/kg (1 DL₅₀)
2. clorura de mercur s-a administrat per os in doza de 42 mg/kg (1 DL₅₀)
3. N-Acetilcisteina s-a administrat i.v. in vena laterala a cozii, in doza de 114 mg/kg (reprezentand 1/10 din DL₅₀ pe cale i.v.), la 2 loturi diferite, imediat dupa administrarea per os a unui DL₅₀ de acetat de plumb si respectiv clorura mercurica. Administrarea N-acetilcisteinei s-a

ASH

repetat zilnic timp de 7 zile.

4. Erdosteina s-a administrat i.v. lent (1-2 minute) in vena laterala a cozii, 2 doze la 4 loturi diferite si anume :

ERDO1: 350 mg/kg (doza corespunzatoare la 1/10 din 1 DL₅₀ pe cale i.v.) la 2 loturi diferite intoxicate cu 1 DL₅₀ acetat de plumb si respectiv clorura mercurica.

ERDO2: 175 mg/kg (corespunzatoare unei fractiuni de 1/20 din 1 DL₅₀ pe cale i.v.), imediat dupa administrarea per os, la 2 loturi diferite a 1 DL₅₀ de acetat de plumb si respectiv clorura mercurica. Administrarea erdosteinei s-a repetat zilnic timp de 7 zile. Solutiile de lucru au fost administrate per os prin gavare in volum de 10 ml/kg, iar cele administrate intravenos in volum de 10 ml/kg.

Solventul utilizat la prepararea solutiilor de lucru a fost reprezentat de apa distilata in cazul N-acetilcisteinei si, respectiv, un amestec de apa distilata si bicarbonat de sodiu in cazul erdosteinei, acesta din urma echimolar cu erdosteina.

Intr-un studiu preliminar al nostru s-a testat raportul erdosteină/bicarbonat intre valori 0,5/1 si 1,5/1 si volumul de dizolvare. A fost evidentiat ca raportul optim este 1:1 si volumul de dizolvare minim pentru 350mg erdosteine + 118mg bicarbonat este 10ml. S-a pastrat acelasi volum de dizolvare si la doza mai mica.

Monitorizarea animalelor:

Monitorizarea animalelor inaintea experimentului a constat in urmarirea curbei ponderale si a starii de sanatate pe o perioada de 7 zile inaintea inceperii experimentului. Cu 24 ore inainte de inceperea experimentului, animalelor li s-a restrictionat accesul la hrana, avand acces liber la apa.

Monitorizarea animalelor in timpul experimentului a constat in urmarirea starii de sanatate, inregistrarea semnelor de intoxicatie si a mortalitatii pe toata perioada experimentului.

Monitorizarea biologica a constat in determinari cantitative, efectuate la supravietuitori, la 7 zile dupa intoxicatie si tratament, ale valorilor hemoglobinei, hematocritului, nr. eritrocite si leucocite, a ureei, creatininei si acidului uric (specimen: 1 ml) si determinarea cantitativa a plumbului si respectiv a mercurului in urina.

Etape ale experimentului

Au fost utilizate doua modele experimentale de intoxicatie acuta, pentru intoxicatia cu plumb si respectiv pentru intoxicatia cu mercur, pentru a testa eficacitatea erdosteinei comparativ cu cea a N-acetilcisteinei utilizata ca substanta de referinta.

S-a inregistrat mortalitatea pe tot parcursul intervalului studiat (7 zile). La 7 zile dupa intoxicatie si tratament s-au determinat urmatorii parametri: hemoleucograma, nr. eritrocite si leucocite, hematocrit, uree, creatinina, acid uric si valorile plumbului si mercurului in urina.

Animalele au fost sacrificate prin decapitare sub anestezie generala cu eter pentru recoltarea de organe (ficat, tub digestiv, rinichi). 6 animale din fiecare lot (3 masculi si 3 femele) au fost selectate aleatoriu pentru examen anatomopatologic macro si microscopic.

Evaluarea efectului erdosteinei administrata parenteral pe modelul experimental de intoxicatie cu plumb

Au fost introduse in experiment 5 loturi a cate 35 animale (15 masculi si 20 femele), repartizate in loturi omogene astfel:

Lotul 1 - martor normal neintoxicat si netratat.

Lotul 2 - intoxicat cu acetat de plumb si netratat, la care s-a administrat acetat de plumb in doza de 4665 mg/kg (1 DL₅₀) per os.

Lotul nr. 3 - intoxicat cu acetat de plumb si tratat cu ERDO1. La acest lot s-a administrat acetat de plumb in doza de 4665 mg/kg per os . Imediat dupa intoxicare si zilnic timp de 7 zile s-a administrat i.v. erdostaina in doza de 350 mg/kg (doza reprezentand <1/10 din 1 DL₅₀ pe cale i.v).

Lotul nr. 4 - intoxicat cu acetat de plumb si tratat cu ERDO2. La acest lot s-a administrat acetat de plumb in doza de 4665 mg/kg per os . Imediat dupa intoxicare si zilnic timp de 7 zile s-a administrat i.v. erdostaina in doza de 175 mg/kg (doza reprezentand <1/20 din 1 DL₅₀ pe cale i.v).

Lotul nr. 5 - intoxicat cu acetat de plumb si tratat cu N-acetilcisteina. La acest lot s-a administrat acetat de plumb in doza de 4665 mg/kg p.o. Imediat dupa intoxicare si zilnic timp de 7 zile s-a administrat i.v. N-acetilcisteina, i.v. in doza de 114mg /kg (doza reprezentand 1/10 din 1 DL₅₀ pe cale i.v).

Evaluarea efectului erdosteinei pe modelul experimental de intoxicatie cu mercur

Au fost introduse in experiment 4 loturi a cate 35 animale (15 masculi si 20 femele pe lot:

Lotul 7 - intoxicat cu clorura de mercur si netratat, la care s-a administrat per os, clorura de mercur in doza de 42 mg/kg .

Lotul nr. 8 - intoxicat cu clorura de mercur si tratat cu ERDO1 la care s-a administrat per os, clorura de mercur in doza de 42 mg/kg. Imediat dupa intoxicare si zilnic timp de 7 zile s-a administrat i.v. erdostaina in doza de 350 mg/kg .

Lotul nr. 9 - intoxicat cu clorura de mercur si tratat cu ERDO2 la care s-a administrat per os, clorura de mercur in doza de 42 mg/kg . Imediat dupa intoxicare si zilnic timp de 7 zile s-a administrat i.v. erdostaina in doza de 175 mg/kg .

Lotul nr. 10- intoxicat cu clorura de mercur si tratat cu N-acetilcisteina.

La acest lot s-a administrat per os clorura de mercur in doza de 42 mg/kg. Imediat dupa intoxicare s-a administrat N-acetilcisteina, i.v. in doze de 114 mg /kg (corespunzatoare unei fractiuni de 1/10 din 1 DL₅₀ pe cale i.v.)

46

S-au introdus in studiu doua loturi, de câte 10 animale fiecare, unul pentru a verifica conditiile de stress la amestecul de solventi, si unul pentru a obtine o verificare preliminara asupra toxicitatii intrinseci a erdosteinei. S-a urmarit mortalitatea pe tot parcursul intervalului studiat (7 zile).

Lotul nr.6 (10 animale) la care s-a administrat i.v. lent amestec de solventi (apa si bicarbonat 118mg/kg echimolar cu ERDO1)

Lotul nr.11 (10 animale) la care s-a administrat i.v o doza de erdosteina de 3500 mg/kg (corespunzatoare unui DL_{50})

Metoda de analiza statistica

Analiza statistica a rezultatelor experimentale s-a efectuat prin testarea semnificatiei diferentei mediilor valorilor rezultate experimental prin utilizarea testului t Student varianta impara, din cadrul programului de calcul statistic Origin 5.0. Analiza mortalitatii a fost efectuata prin test Chi patrat. Au fost considerate statistic semnificative rezultate cu $p < 0.05$.

Rezultatele obtinute sunt prezentate in tabelele urmatoare.

Mortalitate

Tabel nr.1. Evaluarea protectiei realizate prin administrarea erdosteinei in intoxicatia acuta cu plumb si mercur fata de netratat si comparativ cu cea data de N-acetilcisteina

Nr. lot (nr. Animale/lot)	Mortalitate totala	Mortalitate procentual
Lot 1 martor	0	0
Lot 2 intoxicat cu acetat de plumb si netratat	22	62.8%
Lot 3 intoxicat cu acetat de plumb si tratat cu ERDO1	5 ^{1,2}	14.3%
Lot 4 intoxicat cu acetat de plumb si tratat cu ERDO2	10 ^{1,2}	28.6%
Lot 5 intoxicat cu acetat de plumb si tratat cu NAC	28 ³	80%
Lot 7 intoxicat cu clorura mercurica si netratat	29	82.9%
Lot 8 intoxicat cu clorura mercurica si tratat cu ERDO1	8 ^{1,2}	22.6%
Lot 9 intoxicat cu clorura mercurica si tratat cu ERDO2	12 ^{1,2}	34.3%
Lot 10 intoxicat cu clorura mercurica si tratat cu NAC	30 ³	85.7%
Lot 6 stresat cu injectie de apa + bicarbonat (10 animale)	0/10	0
Lot 11 intoxicat cu erdosteina 3500mg/kg (10 animale)	1/10	10%

¹ semnificativ diferit fata de lotul intoxicat si netratat

² semnificativ diferit fata de lot tratat cu NAC

³ nesemnificativ diferit fata de lotul intoxicat si netratat

Tabel nr. 2 Evidentierea efectului erdosteinei asupra toxicitatii renale din intoxicatia cu plumb si mercur prin evaluarea valorilor ureei sanguine, creatininei si acidului uric fata de grupurile martor normal, netratat si tratat cu NAC

Nr. lot (35 animale/lot)	Valori medii uree (mg/dl)	Valori medii creatinina	Valori medii acid uric (mg/dl)
Lot 1 martor normal	49,48	0,45	1,61
Lot 2 intoxicat cu acetat de plumb si netratat	157,91 ⁴	0,81 ⁴	2,75 ⁴
Lot 3 intoxicat cu acetat de plumb si tratat cu ERDO1	48,95 ^{1,2,3}	0,49 ^{1,2}	2,28 ⁴
Lot 4 intoxicat cu acetat de plumb si tratat cu ERDO2	54,4 ^{1,2}	0,46 ^{1,2}	1,76 ^{1,2}
Lot 5 intoxicat cu acetat de plumb si tratat cu NAC	80,98 ⁴	0,78 ⁴	2,13 ⁴

46

Lot 7 intoxicat cu clorura mercurica si netratat	256,4 ⁴	5,90 ⁴	2,3 ⁴
Lot 8 intoxicat cu clorura mercurica si tratat cu ERDO1	50,36 ¹²	0,60 ²	2,25 ⁴
Lot 9 intoxicat cu clorura mercurica si tratat cu ERDO2	53,15 ¹²	0,51 ¹²	2,23 ⁴
Lot 10 intoxicat cu clorura mercurica si tratat cu NAC	79,52 ⁴	1,06 ⁴	2,02 ⁴

¹ nesemnificativ diferit față de martor normal

² semnificativ diferit fata de lot tratat cu NAC

³ semnificativ diferit fata de ERDO2

⁴ semnificativ diferit fata de martor normal

Tabel nr. 3 Evidentierea efectului erdosteinei asupra tabloului hematologic din intoxicatia cu plumb si mercur, fata de martor si comparativ cu N-acetilcisteina

Nr. lot (35 animale/lot)	Valori medii nr. eritroci te (*10 ⁶ /mm ³)	Valori medii Hemoglobin a(g/dl)	Valori medii Hemato crit	Valori medii nr. leucocite
Lot 1 martor normal	8,07	18,02	46	5,96
Lot 2 intoxicat cu acetat de plumb si netratat	5,43 ³	15,68 ³	39,34 ³	18,75 ³
Lot 3 intoxicat cu acetat de plumb si tratat cu ERDO1	7,01 ³	15,71 ³	37,21 ³	11,36 ³
Lot 4 intoxicat cu acetat de plumb si tratat cu ERDO2	7,07 ³	15,95 ³	37,7 ³	14,35 ³
Lot 5 intoxicat cu acetat de plumb si tratat cu NAC	6,93 ³	15,86 ³	35,48 ³	16,36 ³
Lot 7 intoxicat cu clorura mercurica si netratat	7,13 ³	15,00 ³	40,78 ³	18,46 ³
Lot 8 intoxicat cu clorura mercurica si tratat cu ERDO1	6,98 ³	15,05 ³	38,43 ³	17,36 ³
Lot 9 intoxicat cu clorura mercurica si tratat cu ERDO2	6,55 ³	13,86 ³	36,83 ³	8,61 ³
Lot 10 intoxicat cu clorura mercurica si tratat cu NAC	6,76 ³	14,57 ³	38,97 ³	10,5 ³

³ semnificativ diferit fata de martor normal

Administrarea atat a erdosteinei cat si a NAC nu a antagonizat toxicitatea hematologica si inflamatia prezente in intoxicatiile cu plumb si mercur.

Rezultate experimentale anatomopatologice

Toxicitate plumb (Pb)

La sfarsitul experimentului animalele supravietuitoare din cele patru loturi (1 lot intoxicat si netratat si 3 loturi tratate : 2 loturi fiecare cu cate o doza de erdosteina si 1 lot cu N-acetilcisteina) aveau starea generala in diferite grade de alterare si prezentau motilitate scazuta. Blana era mata, cenuisie. Abdomenul era considerabil marit de volum si etalat pe flancuri. La majoritatea animalelor se prelingea sange la nivelul cavitatii bucale. Dupa eutanasiere s-a efectuat necropsia.

Examen macroscopic

Lotul 2 intoxicat cu acetat de Pb si netratat

La deschiderea cutiei craniene s-a pus in evidenta creierul, acoperit de o membrana meningeala intens congestionata.

S-a efectuat incizie submento-pubiana, s-au decolat tegumentele si s-au expus organele interne. La deschidere organele abdominale, aflate sub tensiune, s-au revarsat pe flancuri, stomacul si intestinele fiind foarte destinse, cu continut aerian. Peretele stomacului prezenta zone de placarde fibrinoase aderente de organele din jur. Prin transparenta s-a evidential continut fibrino-purulent in zona prepilorică; zona fundica era intens dilatata. Colonul era destins si cu continut abundent de aspect pastos foarte inchis la culoare (negricios). La incercarea de dilacerare a organelor abdominale s-au pus in evidenta placarde fibrinoase aderente intre peretele gastric si suprafata antero-superioara a ficatului.

Suprarenalele se prezentau crescute de volum la dublu.

Restul organelor toraco-abdominale nu au prezentat modificari notabile.

Loturile 3, 4, 5 intoxicate cu Pb si tratate cu ERDO1, ERDO2 si NAC prezentau la sacrificare ca aspect macroscopic aceleasi modificari anatomopatologice macroscopice diminuate fata de lotul intoxicat si netratat in ordinea descrescatoare a leziunilor, astfel: NAC, ERDO2, ERDO1-doza 350 mg/kg). Cel mai apropiat de aspectul normal a fost lotul tratat ERDO1.

Examen microscopic

Lotul 1 martor normal prezinta aspecte histopatologice caracteristice speciei

Lotul 2, intoxicat cu acetat de plumb si netratat

La nivelul tesutului cerebral se intalneste moderat edem interstitial si hiperemie moderata.

Structura parenchimului renal este alterata. Glomerulii sunt afectati in diferite grade, sunt mariti de volum, cu capilarele foarte dilatate si pline cu hematii conglomerate; camera de filtrare este foarte largita, la dublu fata de normal. Tubii renali prezinta fenomene de distrofie moderata la nivelul epiteliului, unii prezentand incluzii hemactice care obstrueaza lumenul.

Suprarenalele prezinta structura dezorganizata. Toate celulele sunt marite de volum, citoplasma este foarte clara si vacuolizata si uneori cu membrana citoplasmatica rupta

Mucoasa gastrica este modificata. La nivelul zonei cu epiteliu pavimentos se remarca acantoza si hipercheratoza. In zona glandulara mucoasa este acoperita de o substanta amorfa care face masa comuna cu celulele necrozate ale epiteliului de acoperire. Din loc in loc se intalnesc micro ulceratii ale mucoasei acoperite de placarde pseudomembranoase si hemoragice. Corionul este intens edematiat si invadat de infiltrat polimorf (celule histiocitare, macrofage, granulocite, plasmocite, mastocite si numeroase limfocite izolate si grupate).

Mucoasa intestinala prezinta numeroase vilozitati "amputate" prin fenomene de necrobioza si este acoperita cu detritusuri celulare aderente. Se intalnesc frecvent conglomerate de limfocite, placi

Peyer, cu foliculi reactivi.

Celelalte tesuturi si organe nu prezinta modificari care ar putea fi datorate experimentului.

La loturile 4 si 5 intoxicate cu Pb si tratat cu ERDO2 si cu NAC la nivelul tubului digestiv si al aparatului renal se constata modificari histologice asemanatoare cu cele de la lotul intoxicat si netratat.

La lotul 3 intoxicat cu Pb si tratat cu ERDO1, la nivelul mucoasei gastrice si intestinale modificarile tisulare sunt aceleasi ca la lotul intoxicat si netratat, dar mai putin intense. La nivelul tesutului renal se remarca modificari distrofice si vasculare prezente dar de mai mica amploare decat la lotul intoxicat si netratat.

Toxicitate mercur (Hg)

Doza de clorura mercurica administrata per os celor trei loturi a fost de 1 DL₅₀. Perioada de supraveghere a fos de 7 zile de la intoxicatie.

La sfarsitul experimentului toate animalele supravietuitoare, din cele trei loturi aveau starea generala destul de alterata, erau apatice si prezentau motilitate scazuta. Blana era mata, cenusie.

Dupa eutanasiere s-a efectuat necropsia.

Examen macroscopic

Lotul intoxicat cu clorura mercurica si netratat

La deschiderea cutiei craniene s-a pus in evidenta creierul, acoperit de o membrana meningeala cu desen vascular accentuat. Ambii rinichi erau mai mici de volum decat la animalele martor netratate, de culoare albicioasa si desen vascular accentuat. La sectionare calicele aparea dilatate. Suprarenalele crescute in volum.

Restul organelor toraco-abdominale nu au prezentat modificari notabile.

Examen microscopic

Lotul 7, intoxicat cu clorura mercurica si netratat

La nivelul tesutului cerebral se intalneste moderata hiperemie meningeala.

Rinichii sunt mari si globulosi. La nivelul tesutului renal apar fenomene distructive majore. Majoritatea tubilor renali distali sunt profund alterati in diverse grade. Se intalneste alterarea profunda a endoteliului concomitent cu largirea lumenului acestora, fie prin dilatarea tubilor, fie prin ruperea peretilor si confluarea mai multor tubi. Lumenul este plin cu substanta amorfa eozinofila, care obstrueaza tubii. Calicele si bazinetul sunt foarte dilatate, de dimensiuni de doua-trei ori mai mari decat normal. Glomerulii sunt intens hiperemici, capilarele dilatate sunt pline cu hematii. Se intalnesc frecvent fenomene de hemoliza intravasculara.

h2

Stomacul prezinta hipercheratoza si acantoza in zona cu tesut pavimentos. In zona glandulara nu se intalnesc fenomene alterative ulcerative sau necrotice. Mucoasa intestinala nu este afectata. Corionul tubului digestiv este foarte lax si incarcat moderat cu celule inflamatorii polimorfe. Glandele suprarenale prezinta celule marite de volum cu citoplasma foarte clara si vacuolizata si uneri cu membrana citoplasmatica rupta.

La nivelul vezicii urinare nu se constata modificari morfologice

Lotul 9 intoxicat cu clorura mercurica si tratat cu ERDO2

La animalele din acest lot se intalnesc modificari distrofice ca cele descrise la lotul intoxicat dar fenomenele sunt de mai mica amploare si cuprind un numar mai mic de glomeruli si tubi renali. Nu se intalnesc fenomene distrofice ireversibile, lumenul tubilor este liber, spatiul fiind optic vid. Fenomenele intalnite sunt grave comparativ cu lotul martor netratat dar sunt ameliorate fata de lotul intoxicat netratat.

Lotul 8 si 10 intoxicat cu clorura mercurica si tratat cu ERDO1 si NAC

Fenomenele toxice sunt asemanatoare cu cele de la lotul 9, dar de mai mica amploare la nivel de glomeruli si tubi renali. Tubii renali distali contin o cantitate redusa de substanta amorfă eozinofila care nu obstruieste lumen. In general fenomenele sunt ameliorate fata de lotul 9.

Determinarile Pb si Hg in urina

Evaluarea valorilor Pb si Hg in urina masurate prin GS MS Varian 4100 au evidentiat urmatoarele aspecte:

Rezultatele eliminarii plumbului prin urina

Lotul nr. Imartorul normal- valorile Pb in urina 225 µg/l

Lotul nr. 2 intoxicat cu acetat de Pb per os si netratat 5,2 mg/l

Lotul nr. 3 intoxicat acetat de Pb per os si tratat ERDO1(350mg/kg) 15,9 mg/l

Lotul nr. 4 intoxicat per os si tratat cu ERDO2 (175 mg/kg) 13 mg/l

Lotul nr. 5 intoxicat acetat de Pb per os si tratat cu NAC 12,9 mg/l

Rezultatele eliminarii mercurului prin urina

Lotul nr. 7 intoxicat cu clorura mercurica per os si netratat 3,5 mg/l

Lotul nr. 8 intoxicat cu clorura mercurica per os si tratat ERDO1 18,7 mg/l

Lotul nr. 9 intoxicat cu clorura mercurica per os si tratat cu ERDO2 14,4 mg/l

Lotul nr. 10 intoxicat cu clorura mercurica per os si tratat cu NAC 13,9 mg/l

Se poate constata că:

Tratamentul i.v. cu erdosteina a redus semnificativ mortalitatea in grupurile intoxicate cu mercur si plumb, comparativ su loturile netratate si comparativ cu loturi tratate cu NAC (1/10 DL₅₀). ERDO1 a redus mortalitatea mai mult decat ERDO2 dar diferenta nu este statistic semnificativa. Mortalitate la lotul tratat cu doza foarte mare de erdosteine (3500 mg/kg) este mult sub 50%, asta dovedind ca DL₅₀ este peste nivelul analizat. Chiar doza mai mare folosita ERDO1 este mult mai mica decat 1/10 DL₅₀ si a fost comparata cu o cantitate de NAC reprezentand 1/10 DL₅₀; aceasta arata un profil de siguranta superior al erdosteinei si o posibilitate de crestere a dozei in caz de

ASH

h1

nevoie.

In interiorul grupurilor in care s-au facut comparatiile (loturile de animale) si conditiile exterioare au fost identice.

La animalele supravietuitoare, toxicitatea plumbului si a mercurului este severa si a fost evidentiata biochimic si anatomopatologic prin alterari ale functiei renale (uree, creatinina, acid uric), digestive si a parametrilor hematologici (nr. eritrocite, hemoglobina, hematocrit, nr. leucocite);

Administrarea erdosteinei a oferit un indice de protectie mai bun decat lotul netratat in intoxicatiile cu plumb si mercur prin reducerea aparitiei efectelor toxice cat si prin accelerarea eliminarii urinare a toxicelor.

Administrarea erdosteinei a oferit o protectie mai buna decat NAC asupra toxicitatii renale, valorile ureei si ale creatininei fiind la normalitate. Diferentele fata de grupurile tratate cu NAC au fost semnificative.

ERDO1 (doza mai mare) s-a dovedit statistic superior fata ERDO2 la niste parametrii analizati.

Evaluarile anatomopatologice au confirmat ca erdosteina a oferit o protectie superioara si a evidentiata leziuni mai mici la nivel hepatic, renal si al aparatului digestiv, comparativ cu loturile intoxicate- netratate si intoxicate+NAC. ERDO1 a evidentiata o protectie mai buna fata de ERDO2.

h1

hp

Revendicari

1. Utilizarea erdosteinei ca antidot pentru tratamentul intoxicatiilor.
2. Utilizarea Erdosteinei ca antidot pentru tratamentul intoxicatiilor cu metale grele.
3. Utilizarea Erdosteinei, conform revendicarii 1, caracterizata prin aceea ca poate fi administrata intravenous.
4. Utilizarea Erdosteinei, conform revendicarii 1, caracterizata prin aceea ca poate fi administrata per os.
5. Utilizarea Erdosteinei conform revendicarii 3, caracterizata prin aceea ca contine 350mg Erdosteina si 118 mg bicarbonat de sodium in 10 ml apa distilata.
6. Utilizarea Erdosteinei conform revendicarii 3, caracterizata prin aceea ca contine 175mg Erdosteina si 59 mg bicarbonat de sodium in 10 ml apa distilata.

JH