

НОВЫЕ СВЕДЕНИЯ О ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ
NEW INFORMATION ON TOXICITY AND HAZARD OF CHEMICAL AND BIOLOGICAL SUBSTANCES

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

© Бугаева Л.И.^{1,2}, Сиротенко В.С.¹, Спасов А.А.^{1,2}, Кучерявенко А.Ф.¹, Лебедева С.А.^{1,2}, Денисова Т.Д.^{1,2}, Мальцев М.В.^{1,2}, Гетманенко А.Ю.^{1,2}, Коржова Т.М.^{1,2}, Лаврова А.Б.^{1,2}, Мелихова Н.С.^{1,2}

Доклиническое изучение аспектов безопасности субстанции нового производного бензимидазола с антитромботическим действием при курсовом введении субстанции крысам

¹ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет», 400066, Волгоград, Российская Федерация;

²ГБУ «Волгоградский медицинский научный центр», 400066, Волгоград, Российская Федерация

РЕЗЮМЕ

Введение. Существующие на данный момент антиагрегантные средства проявляют широкий спектр побочных эффектов, ограничивающих их применение. Актуальным является поиск и создание эффективного средства для коррекции повышенного тромбогенного потенциала и обладающего широким профилем лекарственной безопасности. В данной статье представлены результаты токсикологического исследования нового производного бензимидазола соединения РУ-891, проявляющего выраженные антиагрегантные свойства.

Материал и методы. Для проведения исследований сформированы группы контрольных и опытных животных – нелинейных крыс обоего пола. Введение испытуемой ФС (фармацевтическая субстанция) на растворе дистиллированной воды в объеме 4 мл/кг проводилось внутривентрикулярно, ежедневно в течение 6 мес. Исследуемую ФС РУ-891 вводили крысам в дозах: 23 мг/кг – 1-я опытная группа; 460 мг/кг – 2-я опытная группа. Контрольной группе животных внутривентрикулярно вводили дистиллированную воду в дозе 4 мл/кг. Во время проведения эксперимента проводили еженедельные измерения массы тела, массу тела выражали в г, прирост в %. Исследовали поведенческую активность в классическом тесте «открытое поле» по окончании 1-, 6- и 7-го месяцев хронического эксперимента. Исследование состояния сердечно-сосудистой системы проводили методом электрокардиографии, записанной у наркотизированных животных. Оценку выделительной функции печени и выводящей функции почек проводили с помощью нагрузочных тестов с красителями «бромсульфалеин» и «феноловый красный». Оценку влияния ФС РУ-891 на гематологические показатели периферической крови крыс проводили по показателям: общего количества эритроцитов, тромбоцитов, уровням гемоглобина, гематокрита, количества лейкоцитов. При оценке влияния на свертываемость крови использовали классический тест Мас-Магро. При морфологическом исследовании проводили макро- и микроскопическую оценку состояния органов и определяли коэффициенты масс органов. Гистологические микроскопические исследования проводили на микроскопе ЛЮМАН И2, используя окуляр 7 и объектив 40.

Для проведения статистической обработки результатов использовали пакет прикладных программ Microsoft Excel и Statistica 6.0.

Результаты. В экспериментах на половозрелых аутобредных крысах самцах и самках проведены доклинические исследования по оценке токсикологических свойств нового производного бензимидазола – соединения РУ-891 при 6-месячном внутривентрикулярном введении в дозах 23 мг/кг (экспериментально доказанная терапевтическая доза (ТД)) и 460 мг/кг (превышающая ТД в 20 раз).

Установлено, что под действием субстанции РУ-891 в дозе 23 мг/кг общее состояние животных, прирост массы тела, гематологические, биохимические, электрокардиографические показатели, как и функциональное состояние органов детоксикации и выведения соответствовали значениям контрольной группы. В исследованиях на животных, получавших субстанцию РУ-891 в дозе 460 мг/кг (20 ТД) отмечено постепенное ухудшение общего состояния (повышение массы тела, наиболее выражено у самцов крыс), активизация поведенческой активности у самок, но ее угнетение – у самцов, изменения, зависящие от пола животных, в периферической крови (повышение уровня эритроцитов и времени свертывания крови у крыс самцов и отсутствие влияния на данные параметры у самок), снижение выделительной функции печени, но активация экскреторной функции почек, патоморфологические негативные изменения в печени. В исследованиях, проведенных через один месяц после отмены введения соединения РУ-891 в дозе 460 мг/кг, интегральные показатели (прирост массы тела, общее состояние, поведенческая активность) животных, а также изменения, зафиксированные со стороны гематологических, функциональных и структурных патоморфологических нарушений в печени были практически нивелированы до значений контроля, что, вероятно, может свидетельствовать об отсутствии патологического токсического влияния исследуемой субстанции РУ-891 при 6-месячном пероральном введении крысам в дозе 460. При этом, учитывая результаты морфологических и функциональных исследований можно предположить наличие влияния соединения РУ-891 в дозе 460 мг/кг на печень, как на «орган-мишень». Однако данное повреждающее влияние исследуемого соединения на детоксикационную функцию печени было обратимым, поскольку практически нивелировалось до состояния контроля уже через месяц после отмены его введения животным.

Ограничение исследования. При проведении исследования были использованы половозрелые нелинейные крысы обоего пола, количество особей в контрольных и экспериментальных группах было достаточным для получения статистически значимых результатов.

Заключение. ФС RU-891 в дозе 23 мг/кг при 6-месячном введении крысам является не токсичной и безопасной, поскольку не вызывает необратимых изменений в общем состоянии, поведении, гематологических параметрах, биохимических показателях крови и мочи, функциональной активности сердца. При ежедневном введении ФС RU-891 в дозе 460 мг/кг выявлено патологическое воздействие на печень и почки, сохраняющееся в период отмены.

Ключевые слова: токсические свойства; 6-месячное повторное введение крысам; доклиническое исследование; производное бензимидазола; антитромботическая активность; РУ-891; курсовое введение

Соблюдение этических стандартов. Экспериментальное исследование одобрено Региональным исследовательским этическим комитетом Волгоградской области (регистрационный номер IRB 00005839 IORG 0004900 (OHRP)), протокол № 2032-2017 от 26.06.2017 г.

Для цитирования: Бугаева Л.И., Сиротенко В.С., Спасов А.А., Кучерявенко А.Ф., Лебедева С.А., Денисова Т.Д., Мальцев М.В., Гетманенко А.Ю., Коржова Т.М., Лаврова А.Б., Мелихова Н.С. Доклиническое изучение аспектов безопасности субстанции нового производного бензимидазола с антитромботическим действием при курсовом введении субстанции крысам. *Токсикологический вестник*. 2024; 32(2): 115–126. <https://doi.org/10.47470/0869-7922-2024-32-2-115-126>

Для корреспонденции: Сиротенко Виктор Сергеевич, кандидат фарм. наук, доцент кафедры фармакологии и биоинформатики ВолгГМУ, Волгоград. E-mail: sirotenko.viktor@yandex.ru

Участие авторов: Бугаева Л.И. – концепция и дизайн исследования, написание текста, редактирование; Сиротенко В.С. – сбор и обработка материала, написание текста, редактирование; Спасов А.А. – концепция и дизайн исследования; Кучерявенко А.Ф. – сбор и обработка материала; Лебедева С.А., Денисова Т.Д., Мальцев М.В., Гетманенко А.Ю., Коржова Т.М., Лаврова А.Б., Мелихова Н.С. – сбор и обработка материала, статистический анализ. Все соавторы – утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование выполнено в рамках государственного контракта № 14.N08.12.0160.

Lyubov I. Bugaeva^{1,2}, Viktor S. Sirotenko¹, Alexander A. Spasov^{1,2}, Aida F. Kucheryavenko¹,
Svetlana A. Lebedeva^{1,2}, Tatiana D. Denisova^{1,2}, Mikhail V. Maltsev^{1,2}, Andrey Yu. Getmanenko^{1,2},
Tatiana M. Korzhova^{1,2}, Elena B. Lavrova^{1,2}, Nataliya S. Melikhova^{1,2}

Preclinical study of the safety aspects of the substance of a new benzimidazole derivative with an antithrombotic effect during the course administration of the substance to rats

¹Volgograd State Medical University, 400066, Volgograd, Russian Federation;

²Volgograd Medical Scientific Center, 400066, Volgograd, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Currently existing antiplatelet agents exhibit a wide range of side effects that limit their use. It is urgent to search for and create an effective agent for the correction of increased thrombogenic potential and having a wide profile of drug safety. This article presents the results of a toxicological study of a new benzimidazole derivative of the compound RU-891, which exhibits pronounced antiplatelet properties.

Material and methods. Groups of control and experimental animals – nonlinear rats of both sexes – were formed to conduct research. The introduction of the tested PS (pharmaceutical substance) on a solution of distilled water in a volume of 4 ml/kg was carried out intragastrically, daily for 6 months. The studied PS RU-891 was administered to rats in doses: 23 mg/kg – 1st experimental group; 460 mg/kg – 2nd experimental group. The control group of animals was intragastrically injected with distilled water at a dose of 4 ml/kg. During the experiment, weekly measurements of body weight were carried out, body weight was expressed in g, an increase in %. Behavioral activity was studied in the classic “open field” test at the end of the 1st, 6th and 7th months of the chronic experiment. The study of the state of the cardiovascular system was carried out by electrocardiography recorded in anesthetized animals. The assessment of the excretory function of the liver and the excretory function of the kidneys was carried out using stress tests with the dyes “bromosulfalein” and “phenolic red”. The effect of PS RU-891 on the hematological parameters of the peripheral blood of rats was assessed according to the following indicators: the total number of erythrocytes, platelets, hemoglobin levels, hematocrit, and the number of leukocytes. The classic Mas-Magro test was used to assess the effect on blood clotting. During morphological examination, a macro- and microscopic assessment of the state of organs was performed and the coefficients of organ masses were determined. Histological microscopic studies were performed on a LUMAN I2 microscope using an eyepiece 7 and a lens 40.

To carry out statistical processing of the results, the Microsoft Excel and Statistica 6.0 application software package was used.

Results. Preclinical studies were conducted in experiments on sexually mature autobred rats, males and females, to assess the toxicological properties of a new benzimidazole derivative, the compound RU-891, with 6-month intragastric administration at doses of 23 mg/kg (experimentally proven therapeutic dose) and 460 mg/kg (exceeding TD by 20 times). It was found that under the action of the substance RU-891 at a dose of 23 mg/kg, the general condition of the animals, body weight gain, hematological, biochemical, electrocardiographic parameters, as well as the functional state of the detoxification and excretion organs corresponded to the values of the control group. In studies on animals treated with the substance RU-891 at a dose of 460 mg/kg (20 TD), a gradual deterioration in the general condition was noted (an increase in body weight, most pronounced in male rats), activation of behavioral activity in females, but its suppression in males, changes dependent on the sex of animals in peripheral blood (increased erythrocyte levels and blood clotting time in male rats and no effect on these parameters in females), decreased excretory liver function, but activation of excretory kidney function, pathomorphological negative changes in the liver. In studies conducted one month after discontinuation of the administration of the compound RU-891 at a dose of 460 mg/kg, integral indicators (body weight gain, general condition, behavioral activity) in animals, as well as changes recorded from hematological, functional and structural pathomorphological disorders in the liver were practically leveled to control values, which probably may indicate the absence of pathological toxic effects of the studied substance RU-891 when administered orally to rats at a dose of 460 for 6 months. At the same time, taking into account the results of morphological and functional studies, it

can be assumed that the RU-891 compound at a dose of 460 mg/kg has an effect on the liver as a “target organ”. However, this damaging effect of the studied compound on the detoxification function of the liver was reversible, since it was practically leveled to a state of control within a month after the cancellation of its administration to animals.

Limitation. Sexually mature nonlinear rats of both sexes were used in the study, the number of individuals in the control and experimental groups was sufficient to obtain statistically significant results.

Conclusion. PS RU-891 at a dose of 23 mg/kg with 6-month administration to rats is non-toxic and safe, since it does not cause irreversible changes in general condition, behavior, hematological parameters, biochemical parameters of blood and urine, and functional activity of the heart. With daily administration of PS RU-891 at a dose of 460 mg/kg, pathological effects on the liver and kidneys were revealed, which persisted during the withdrawal period.

Keywords: toxic properties; 6-month repeated administration to rats; preclinical study; benzimidazole derivative; antithrombotic activity; RU-891; course introduction

Compliance with ethical standards. The experimental study was approved by the Regional Research Ethics Committee of the Volgograd Region (registration number IRB 00005839 IORG 0004900 (OHRP)) Protocol No. 2032-2017 dated 06/26/2017.

For citation: Bugaeva L.I., Sirotenko V.S., Spasov A.A., Kucheryavenko A.F., Lebedeva S.A., Denisova T.D., Maltsev M.V., Getmanenko A.Yu., Korzhova T.M., Lavrova A.B., Melikhova N.S. Preclinical study of the safety aspects of the substance of a new benzimidazole derivative with an antithrombotic effect during the course administration of the substance to rats. *Toksikologicheskiy vestnik / Toxicological Review*. 2024; 32(2): 115–126. <https://doi.org/10.47470/0869-7922-2024-32-2-115-126> (In Russian)

For correspondence: Viktor S. Sirotenko, Ph.D. in Pharmacy, Associate Professor of the Department of Pharmacology and Bioinformatics of VolgSMU, Volgograd. E-mail: sirotenko.viktor@yandex.ru

Authors contribution: Bugaeva L.I. – concept and design of research, writing text, editing; Sirotenko V.S. – collection and processing of material, writing text, editing; Spasov A.A. – concept and design of research; Kucheryavenko A.F. – collection and processing of material; Lebedeva S.A., Denisova T.D., Maltsev M.V., Getmanenko A.Yu., Korzhova T.M., Lavrova A.B., Melikhova N.S. – collection and processing of material, statistical analysis. All co-authors – approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article.

Conflict of interest: The authors declare that there is no conflict of interest.

Financing: the study was carried out under state contract No. 14.N08.12.0160.

Received: October 31, 2023 / Accepted: March 10, 2024 / Published: April 27, 2024

Введение

Оптимальная медикаментозная терапия, нацеленная на снижение повышенного тромбогенного потенциала крови, является ключевым методом профилактики острых коронарных событий, но, к сожалению, сохраняется риск неблагоприятного исхода ввиду низкой эффективности, а также наличия существенных побочных эффектов существующих лекарственных средств [1, 2]. Результаты проведенных доклинических фармакологических исследований нового производного бензимидазола соединения РУ-891 позволили установить, что данное соединение способствует значительному снижению тромбогенного потенциала крови в сравнении с клопидогрелем и ацетилсалициловой кислотой. При изучении антитромботической активности на модели тромбоза сонной артерии крыс раствором хлорида железа (III) было показано, что показатели ED₅₀ ФС РУ-891, клопидогреля и ацетилсалициловой кислоты составили 26,8, 127,5 и 51,0 мг/кг соответственно. Это указывает на перспективность

данного соединения в создании на его основе эффективного лекарственного средства для лечения и профилактики тромботических событий. Также экспериментально была определена доза ED₅₀ антиагрегантной активности для соединения РУ-891 – 23,0 мг/кг, что составляет 1/69 от ЛД₅₀.

В ранее проведенных исследованиях по изучению острой токсичности при внутрижелудочном введении были определены границы минимальной токсической дозы для фармацевтической субстанции РУ-891 (ФС РУ-891) – 230 мг/кг < ТД_{мин} ≤ 460 мг/кг [3]. В хронических исследованиях курс и способ введения нового лекарственного средства животным напрямую зависит от планируемого способа и курса его введения в клинической практике.

Цель настоящих исследований – определение степени повреждающего действия субстанции РУ-891 при многократном 6-месячном внутрижелудочном введении половозрелым крысам на органы и системы организма, выявление органов-мишеней и исследование степени обратимости вызываемых повреждений.

Материал и методы

Для проведения исследований сформированы группы контрольных и опытных животных – нелинейных крыс обоего пола (ООО «НПК Био Тех»), которые находились в идентичных условиях содержания. Полученные животные до начала исследования были помещены в зону карантина в течение 14 дней при содержании в условиях вивария (раздельно самцы и самки) в клетках по 5 особей. Впоследствии переведены в экспериментальную зону и распределены на две группы опытных и одну контрольную (по 25 особей самцов и самок в каждой). Введение испытуемой ФС на растворе дистиллированной воды в объеме 4 мл/кг проводилось внутривенно, ежедневно в течение 6 мес с помощью атравматического металлического зонда. Согласно группам исследуемую ФС РУ-891 вводили крысам в дозах: 23 мг/кг (экспериментально доказанная терапевтическая доза) – 1-я опытная группа; 460 мг/кг высшая доза (токсическая, превышающая терапевтическую в 20 раз) – 2-я опытная группа. Контрольной группе животных внутривенно вводили дистиллированную воду в дозе 4 мл/кг.

В период эксперимента проводили еженедельные измерения массы тела, массу тела выражали в г, прирост – в %.

Исследовали поведенческую активность (метод Буреш Я. Бурешова О. [4] в классическом тесте «открытое поле» по окончании 1-, 6- и 7-го месяцев хронического эксперимента. При тестировании у животных учитывали: количество пересеченных напольных квадратов (горизонтальная активность); вертикальных стоек (вертикальная активность); заглядываний в напольные отверстия (исследовательская активность); актов груминга и актов дефекаций. По актам груминга и дефекаций судили об эмоциональном состоянии животных/

Исследование состояния сердечно-сосудистой системы проводили методом электрокардиографии, записанной у наркотизированных животных (тиопентал натрия в виде 10% раствора, внутривенно 50 мг/кг) на электрокардиографе модели ЭКЗТ-02 «АКСИОН» во втором стандартном отведении. В электрофизиологической активности миокарда учитывали интервалы R-R (с), QRS, (с), QT, (с) и амплитуду зубца R (мВ). По интервалу R–R рассчитывали частоту сердечных сокращений (уд/мин).

Оценку выделительной функции печени и выводящей функции почек проводили с помощью нагрузочных тестов с красителями «бромсульфалеин» [5] и «феноловый красный» [6]. Бром-

сульфалеин вводили крысам внутривенно в дозе 100 мг/кг, а через 45 мин определяли его остаточное содержание в сыворотке крови. Феноловый краситель в виде 1% водного раствора вводили животным внутримышечно (20 мг/кг) с одновременной нагрузкой воды очищенной (5 мл/100 г массы). Животных помещали в метаболическую камеру для сбора мочи на 2 ч. Определение количества красителя в пробах мочи проводили на спектрофотометре (СФ) модель ПЭ 5400ВИ.

Влияние ФС РУ-891 на гематологические показатели периферической крови крыс, забранной из хвостовой вены животного, изучали с использованием гематологического анализатора Abacus junior 2,75 (Австрия) по показателям: общего количества эритроцитов ($\cdot 10^{12}/л$), тромбоцитов ($\cdot 10^9/л$), уровня гемоглобина (г/л), время свертывания (с). По окрашенным мазкам крови (метод Романовского) [9] исследовали лейкограмму, по которой количество форменных элементов лейкоцитов в крови выражали в %. При оценке влияния на свертываемость крови использовали классический тест Мас–Магро [7–9].

По окончании 6-месячного курса введения ФС РУ-891 и через один месяц после отмены ее введения проводили частичную эвтаназию (транслокация шейных позвонков наркотизированных животных) и некропсию.

При морфологическом исследовании проводили макро- и микроскопическую оценку состояния органов и определяли коэффициенты масс органов. Для проведения гистологических исследований, вырезанные участки тканей внутренних органов фиксировали в 10% нейтральном формалине в течение 3 сут. Для приготовления гистологических срезов парафиновые блоки послойно резались на микротоме МС-2. Гистологические микроскопические исследования проводили на микроскопе ЛЮМАН И2, используя окуляр 7 и объектив 40.

Все процедуры с животными в исследовании проведены в соответствии с общепринятыми этическими нормами обращения с животными, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (1986) и с учетом Международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1997), а также требований Директивы 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22.09.2010 г по охране животных, используемых в научных целях.

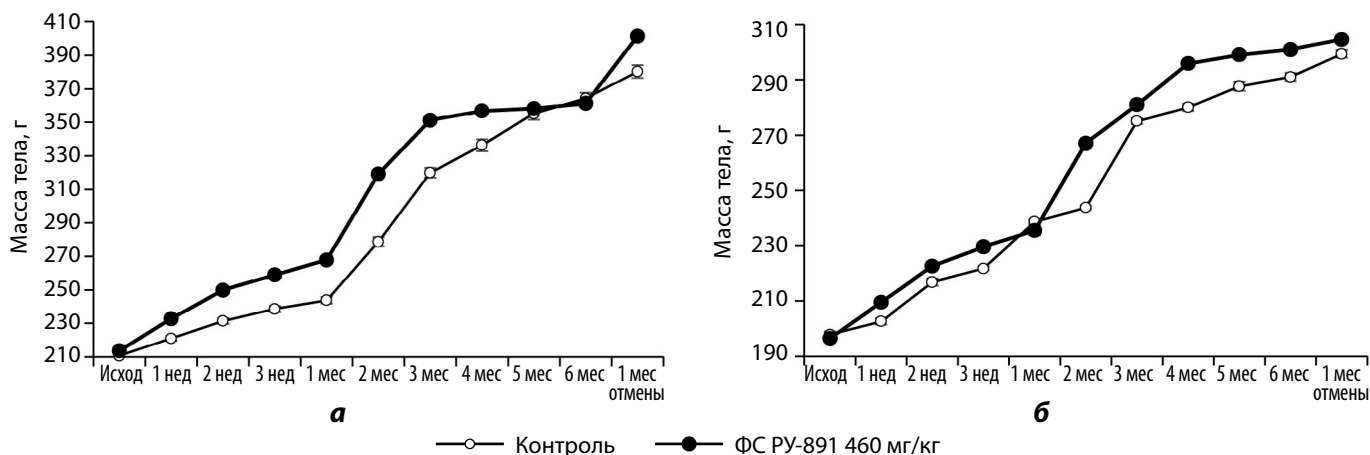


Рис. 1. Динамика прироста массы тела крыс-самцов (а) и крыс-самок (б) при ежедневном 6-месячном внутрижелудочном введении ФС РУ-891 и спустя 1 мес отмены.

Fig. 1. Dynamics of weight gain in male rats (a) and female rats (b) with daily 6-month intragastric administration of PS RU-891 and after 1 month of withdrawal.

Экспериментальное исследование одобрено Региональным Исследовательским Этическим Комитетом Волгоградской области (регистрационный номер IRB 00005839 IORG 0004900 (ОНРР)) протокол №2032-2017 от 26.06.2017 г.

Для проведения статистической обработки результатов использовали пакет прикладных программ Microsoft Excel и Statistica 6.0. Данные в таблицах представляли в виде $M \pm m$, где M – средняя арифметическая, m – стандартная ошибка средней. Значимость различий определяемых показателей в опытных группах от соответствующих показателей в контрольной выборке оценивали с помощью t -критерия Стьюдента–Фишера.

Результаты

По результатам наблюдений за животными, получавших в течение 6 мес ФС РУ-891 в дозах 23 мг/кг (1-я опытная группа) отмечено, что состояние шерстного покрова, поведение и прирост массы тела животных в 1-й опытной группе, не различалось с таковыми показателями контроля на протяжении всего периода хронического эксперимента, а также после отмены введения. В общем состоянии животных 2-й опытной группы, через месяц после введения исследуемой ФС прослеживалось снижение подвижности, умеренная седация, снижение реакций на внешние раздражители (тактильные, болевые). При этом состояние шерстного покрова у животных 2-й опытной группы на протяжении 3–4 мес эксперимента существенно не различалось с таковым группы контроля, в последующем же у них прослеживалось ухудшение состояния шерстного покрова, который приобретал тусклый беловато-сероватый

оттенок, а у крыс-самцов становился желтоватым, неопрятным. В наблюдениях за животными 2-й опытной группы, проведенных в период отмены введения ФС РУ-891, отчетливо прослеживались эффекты реабилитации. Отмечалась обратная динамика выявленных изменений, активизировались до состояния контроля подвижность и реакции на внешние раздражители, восстанавливалось общее состояние. Динамика изменений массы тела у животных 2-й группы была положительной во все периоды хронического эксперимента, однако при этом, по сравнению с контролем, были обнаружены половые различия в темпах прироста массы тела (рис. 1).

В исследованиях по оценке влияния ФС РУ-891 в дозе 23 мг/кг и 460 мг/кг на поведенческую активность животных, электрокардиограмму, периферическую кровь и детоксикационную функции печени и почек патологических эффектов не обнаружено, но вместе с тем выявлялись некоторые половые различия в действии ФС РУ-891 на отдельные показатели, зависящие от дозы и длительности введения.

При тестировании поведенческой активности в «открытом поле», проведенных по окончании 1-го месяца эксперимента, у крыс-самцов 1-й и 2-й опытных групп прослеживались тенденции понижения локомоторной активности: снижение количества пересеченных напольных квадратов на 23,3 ($p < 0,001$) и 20,3% ($p < 0,001$) соответственно, а также вертикальных стоек на 46,4 ($p < 0,001$) и 42,2% ($p < 0,001$) соответственно, относительно показателей контрольных животных. Кроме того, прослеживалось снижение исследовательской активности (количество заглядыва-

Таблица 1 / Table 1

Влияние ФС РУ-891 на поведенческую активность крыс в тесте «открытое поле» при 6-месячном внутрижелудочном повторном введении, $M \pm m$
Effect of PS RU-891 on the behavioral activity of rats in the "open field" test with 6-month intragastric repeated administration, $M \pm m$

Формы поведенческой активности	Самцы			Самки		
	Контроль	1-я опытная группа	2-я опытная группа	Контроль	1-я опытная группа	2-я опытная группа
1 мес						
Количество пересеченных напольных квадратов	54,1 ± 1,3	41,5 ± 1,6*	43,1 ± 1,1*	51,9 ± 1,8	53,8 ± 1,5	67,7 ± 1,5*
Количество вертикальных стоек	25,2 ± 1,8	13,5 ± 0,9*	6,4 ± 0,5*	11,5 ± 1,1	14,8 ± 1,0*	9,0 ± 1,3
Количество исследованных напольных отверстий	6,3 ± 0,7	5,6 ± 0,6	2,1 ± 0,7*	4,1 ± 0,4	5,6 ± 0,7	3,6 ± 0,7
Количество актов груминга	7,1 ± 0,6	4,2 ± 0,7*	4,1 ± 1,1*	3,5 ± 0,5	6,4 ± 0,9*	4,7 ± 1,1
Количество болюсов	2,1 ± 0,6	4,8 ± 0,5*	1,0 ± 0,7	4,6 ± 1,3	2,4 ± 0,8	0,7 ± 0,5*
6 мес						
Количество пересеченных напольных квадратов	29,2 ± 1,7	35,2 ± 1,5*	27,5 ± 1,0	40,2 ± 1,4	50,2 ± 1,7*	37,5 ± 1,8
Количество вертикальных стоек	23,0 ± 1,7	22,6 ± 1,6	5,9 ± 0,6*	16,6 ± 1,3	22,2 ± 1,7*	14,7 ± 0,6
Количество исследованных напольных отверстий	3,0 ± 0,4	4,6 ± 0,9	1,6 ± 0,4*	3,7 ± 0,6	4,2 ± 0,8	2,0 ± 0,9
Количество актов груминга	3,4 ± 0,4	5,1 ± 0,8	2,7 ± 1,2	3,9 ± 0,9	4,3 ± 0,9	1,6 ± 0,2*
Количество болюсов	5,0 ± 0,9	4,3 ± 1,1	3,0 ± 0,8	0,2 ± 0,2	0,0 ± 0,0	2,6 ± 1,1
1 мес отмены						
Количество пересеченных напольных квадратов	32,3 ± 1,3	33,8 ± 1,2	20,9 ± 0,71*	38,1 ± 1,6	35,0 ± 1,4	30,3 ± 1,2*
Количество вертикальных стоек	10,9 ± 1,1	13,3 ± 1,6	5,6 ± 0,52*	17,6 ± 0,6	16,8 ± 1,2	15,9 ± 0,8
Количество исследованных напольных отверстий	2,8 ± 0,4	2,9 ± 0,7	0,6 ± 0,31*	2,8 ± 0,8	3,3 ± 0,6	1,9 ± 0,4
Количество актов груминга	3,4 ± 0,7	3,8 ± 0,7	1,8 ± 0,55	4,5 ± 1,0	3,4 ± 0,4	4,9 ± 0,4
Количество болюсов	1,3 ± 0,5	0,4 ± 0,3	1,6 ± 0,50	1,5 ± 0,7	0,7 ± 0,5	0,3 ± 0,2

Примечание. * Данные достоверны относительно контрольной группы.

ний в напольные отверстия снижалось относительно контроля на 11,1 и 66,6% ($p < 0,001$), соответственно и актов груминга на 40,9 ($p < 0,001$) и 74,6% ($p < 0,001$), соответственно), а количество болюсов возрастало практически в 1,5–2 раза в 1-й опытной группе, но снижалось во 2-й опытной группе (см. таблицу). Вместе с тем наблюдалось повышение исследовательской активности (количество исследованных напольных квадратов возрастало на 36,5% ($p > 0,05$) и эмоциональной активности (количество актов груминга возрастало на 82,9% ($p < 0,05$), а болюсов снижалось на 47,8% ($p < 0,05$)). У самок 1-й группы наблюдалось повышение исследовательской активности

(количество исследованных напольных квадратов возрастало на 36,5% ($p > 0,05$) и эмоциональной активности (количество актов груминга возрастало на 82,9% ($p < 0,05$), а болюсов снижалось на 47,8% ($p < 0,05$)). В поведении крыс самок 2-й опытной группы активация прослеживалась лишь в количестве пересечений напольных квадратов на 30,4% ($p < 0,001$), но при этом у них снижалось количество вертикальных стоек на 21,7%, а также исследованных напольных отверстий на 12,2% и фекальных болюсов на 84,8% ($p < 0,05$) (см. таблицу). Наличие более выраженной активности в поведении самок может обуславливать тенденцию к снижению прироста массы тела.

В исследованиях, проведенных по окончании 6 мес эксперимента в поведенческой активности у крыс-самцов в 1-й и 2-й опытных группах, выявлялось статистически значимое снижение вертикальной подвижности на 78,5% ($p < 0,001$) и исследовательской на 46,7% ($p < 0,05$), с одновременной тенденцией снижения эмоциональности, при этом акты груминга понижались на 20,6%, а болюсов на 40,0% (см. таблицу). У самок во 2-й опытной группе в поведенческой активности выявлялись лишь эффекты снижения актов груминга на 59,0% ($p < 0,05$), без существенных сдвигов других показателей (см. таблицу).

В исследованиях, проведенных после одного месяца отмены введения ФС РУ-891, отмечены эффекты выравнивания поведенческой активности у самок и самцов в опытных группах. Наблюдалось достоверное изменение поисковой активности. Локомоторная активность у крыс во 2-й опытной группе несколько снижалась относительно контроля, при этом эффекты депривации в большей степени фиксировались у самцов (см. таблицу).

В серии специфических исследований установлено, отсутствие статистически значимых различий с контролем влияния ФС РУ-891, вводимого 6-месячным курсом в дозах 23 и 460 мг/кг, на электрокардиограмму животных, системное артериальное давление, частоту дыхания и температуру тела.

При выполнении гематологических исследований в периферической крови не обнаружено существенных изменений в красной и белой крови. Изменения в белой крови (количество лейкоцитов и их распределение в лейкоформуле) практически соответствовали контрольным значениям и не выходили за рамки физиологической нормы. В красной крови у животных опытных групп прослеживалась статистически незначимая тенденция повышения общего количества эритроцитов, не выходящая за рамки референтных значений, без существенных сдвигов количества гемоглобина и цветового показателя эритроцитов. После отмены соединения РУ-891 вышеуказанные тенденции изменений нивелировались до значений контроля (рис. 2, 3).

При проведении биохимических исследований крови и мочи не отмечено статистически значимых изменений со стороны исследуемых показателей. Все регистрируемые параметры у животных опытных групп обоего пола не выходили за рамки референтных значений.

В нагрузочных пробах с бромсульфалеином установлено, что во 2-й опытной группе живот-

ных, получавших 460 мг/кг РУ-891, отмечены эффекты угнетающего влияния на данный параметр, которые не в полной мере восстанавливались через 1 мес после отмены тестируемой субстанции (рис. 4).

В нагрузочном тесте с феноловым красителем (рис. 5) у крыс 1-й опытной группы повышалось выделение красителя с мочой, что свидетельствовало о снижении реабсорбции. Данные эффекты были нивелированы после отмены введения субстанции крысам. У крыс, получавших соединение РУ-891 в дозе 460 мг/кг, способность выведения красителя почками была выше контрольных показателей (более выражено у самцов) как на период окончания 6-месячного эксперимента, так и через 1 мес после отмены введения.

При проведении патоморфологических исследований установлено наличие повреждающего влияния соединения РУ-891 на функции печени и почек при курсовом введении в дозе 460 мг/кг.

При макроскопическом исследовании органов после 1 мес введения ФС РУ-891 в дозе 460 мг/кг не отмечалось изменения коэффициентов масс внутренних органов, окраска тканей была соответствующей. В единичном случае было выявлено некоторое сглаживание краев печени в группе крыс-самцов. По результатам некропсии крыс, проведенной по окончании 6-месячного курса введения соединения ФС РУ-891 в дозе 460 мг/кг, выявлялось лишь незначительное увеличение печени (коэффициенты массы у самцов повышались на 12,5%, а у самок на 10,5% ($p < 0,05$)) и наличие сглаженности ее краев. Со стороны почек у животных 2-й опытной группы отмечалось изменение их окраски до бледного коричнево-оливкового цвета, без существенных изменений размеров и коэффициентов масс. При этом на препаратах тканей данных органов в печени выявлялось наличие дистрофических изменений, а в почках – полнокровие сосудов, набухание эпителия дистальных канальцев и скопление в них жидкости.

При выполнении гистологических исследований препаратов выделенных органов не обнаружено патологических изменений в легких, тимусе, сердце, отделах ЖКТ, селезенке, половых органах. Прослеживалось лишь увеличение кровенаполнения сосудов исследуемых органов. Обратимые изменения во 2-й опытной группе были выявлены в структурах головного мозга, печени и почках. Эти изменения в головном мозге проявлялись полнокровием сосудов без признаков отека.

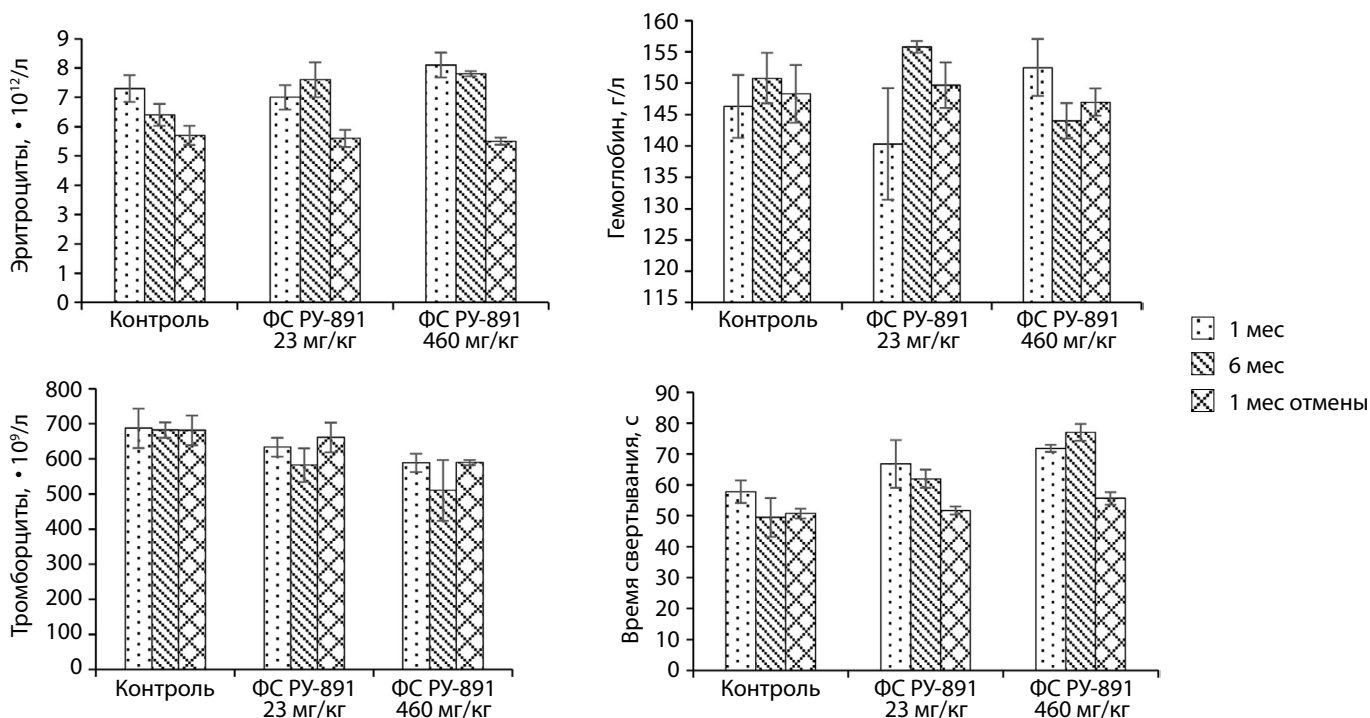


Рис. 2. Влияние ФС РУ-891 на показатели красной крови крыс-самцов при ежедневном 6-месячном внутрижелудочном введении и спустя 1 мес отмены.

Fig. 2. The effect of PS RU-891 on the red blood parameters of male rats with daily 6-month intragastric administration and after 1 month of withdrawal.

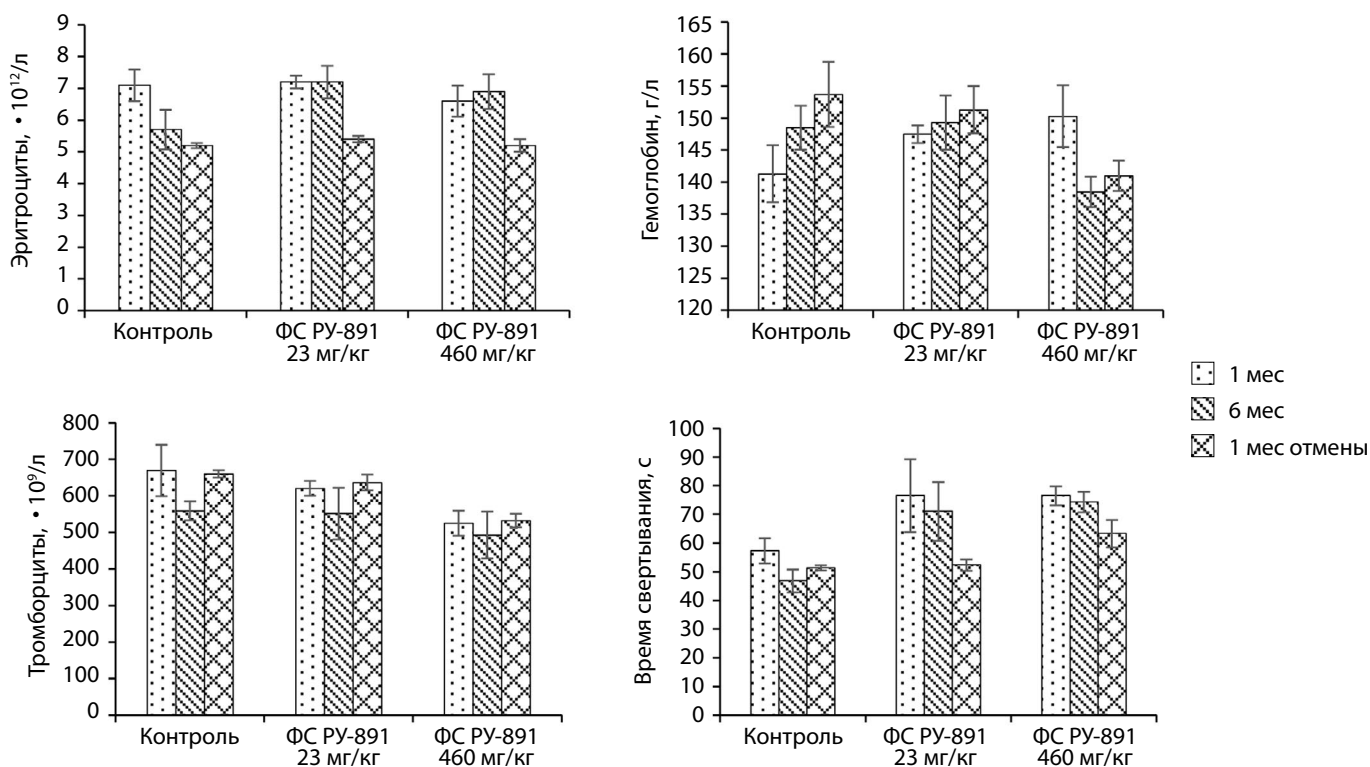


Рис. 3. Влияние ФС РУ-891 на показатели красной крови крыс-самок при ежедневном 6-месячном внутрижелудочном введении и спустя 1 месяц отмены.

Fig. 3. The effect of PS RU-891 on the red blood parameters of female rats with daily 6-month intragastric administration and after 1 month of withdrawal.

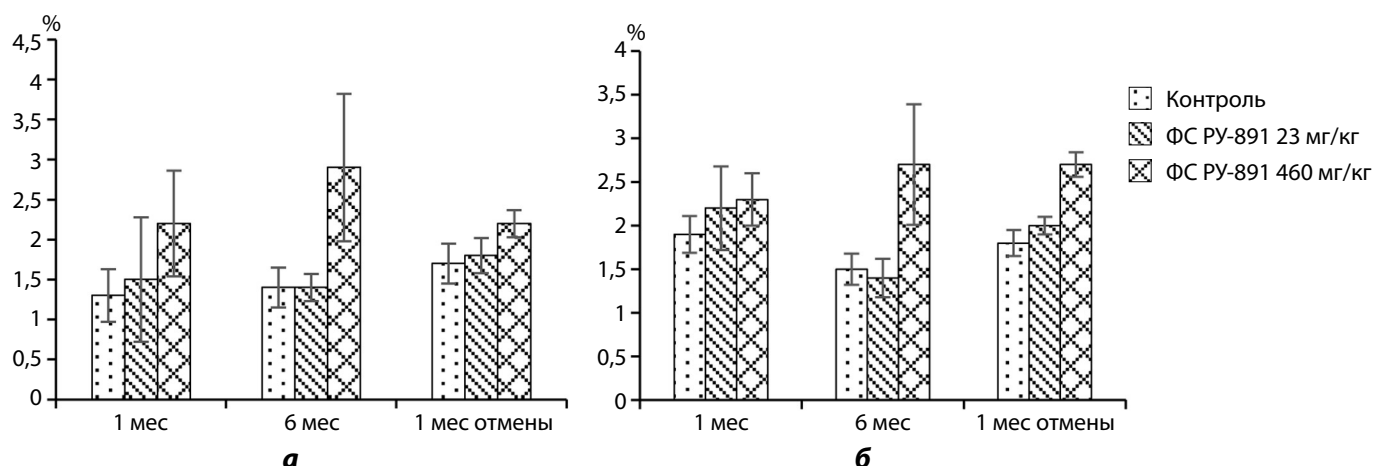


Рис. 4. Влияние ФС РУ-891 на выделительную функцию печени у крыс-самцов (а) и самок (б) при ежедневном 6-месячном внутрижелудочном введении и спустя 1 месяц отмены.

Fig. 4. The effect of PS RU-891 on the absorption and excretory function of the liver in male (a) and female (b) rats with daily 6-month intragastric administration and after 1 month of withdrawal.

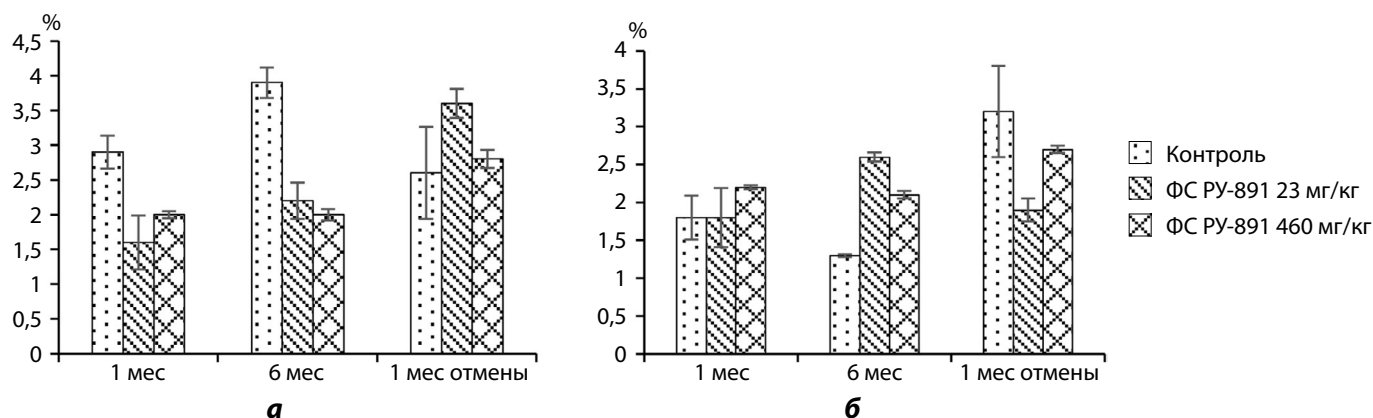


Рис. 5. Влияние ФС РУ-891 на выделительную функцию почек у крыс-самцов (а) и самок (б) при ежедневном 6-месячном внутрижелудочном введении и спустя 1 мес отмены.

Fig. 5. The effect of PS RU-891 on the excretory function of the kidneys in male (A) and female (B) rats with daily 6-month intragastric administration and after 1 month of withdrawal.

Обсуждение

В исследованиях по оценке влияния ФС РУ-891 в дозе 23 мг/кг и 460 мг/кг на поведенческую активность животных, электрокардиограмму, периферическую кровь и детоксикационную функцию печени и почек патологических эффектов не обнаружено, но вместе с тем выявлялись некоторые половые различия в действии ФС РУ-891 на отдельные показатели, зависящие от дозы и длительности введения.

Эффекты, выявленные в ходе теста «открытое поле», были обратимыми, поскольку имели тенденцию к контрольным значениям в период месячной отмены введения ФС РУ-891 в дозе 23 мг/кг, что может свидетельствовать об отсутствии патологического действия исследуемой

субстанции на центральные структуры, регулирующие поведенческие реакции животных. В группе крыс-самцов, получавших ФС РУ-891 в дозе 460 мг/кг наблюдалось достоверное снижение показателей, сохраняющееся в период после отмены введения тестируемой субстанции. В группе самок было значительно снижено количество пересеченных квадратов. Данные эффекты могут свидетельствовать о наличии у ФС РУ-891 в дозе 460 мг/кг психоседативного действия.

Применение ацетилсалициловой кислоты нередко сопровождается развитием осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы, ЖКТ и почек. Длительное применение ацетилсалициловой кислоты, как антиагрегантного средства, в профилактической дозе (100 мг) имеет высо-

кий риск эрозивно-язвенного поражения ЖКТ, а также наличия кровотечений [10]. Другое наиболее часто назначаемое антиагрегантное средство – клопидогрел – также обладает широким спектром осложнений. Среди них высокий риск кровотечений, в т.ч. клинически значимых, гепатотоксичность, тромбоцитопеническая пурпура и др. [11]

Ограничение исследования. При проведении исследования были использованы половозрелые нелинейные крысы мужского и женского пола, количество особей в контрольных и экспериментальных группах было достаточным для получения статистически значимых результатов.

Заключение

На основании проведенных исследований и патоморфологического анализа состояния внутренних органов можно сделать заключение об отсутствии патологического влияния ФС РУ-891 в терапевтической дозе 23 мг/кг на основные гомеостатические структуры крыс при 6-месячном внутрижелудочном введении. В дозе 460 мг/кг было обнаружено патологическое влияние на основные функции органов и систем. Изменения, зафиксированные с помощью функциональных исследований и патоморфологического анализа, свидетельствуют о наличии повреждающего влияния на печень и почки, как на «органы-мишени».

ЛИТЕРАТУРА

(2, 10, 11 см. в Referenses)

1. Кочергин Н.А., Кочергина А.М., Ганюков В.И. Предикторы острого коронарного синдрома у пациентов с ишемической болезнью сердца. *Ангиология и сосудистая хирургия*. 2020; 26(3): 179–84. <https://doi.org/10.33529/ANGI02020302>
2. Спасов А.А., Кучерявенко А.Ф., Мальцев Д.В., Мирошников М.В., Сиротенко В.С., Султанова К.Т., Гайдукова К.А., Скрипка М.О. Оценка острой токсичности нового производного бензимидазола с антитромбогенными свойствами. *Токсикологический вестник*. 2021; 1(166): 52–7. <https://doi.org/10.36946/0869-7922-2021-1-52-57>
3. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.П. *Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения*. М.: Высшая школа; 1991: 210.
4. Израйлет Л.И., Соминский В.М., Шибеева Т.М., Слинько В.И. Модификация бромсульфалеинового пробы для изучения функционального состояния печени у крыс. *Гигиена и санитария*. 1976; 3: 59–61.
5. Берхин Е.Б., Иванов Ю.И. *Методы экспериментального исследования почек и водно-солевого обмена*. Барнаул; 1972: 199.
6. Берчану Ш. *Клиническая гематология*. Медицинское издательство «Бухарест»; 1985: 1221.
7. Данилова Л.А. *Справочник по лабораторным методам исследования*. Санкт-Петербург: «Питер»; 2003: 733.
8. Кост Е.А. *Справочник по клиническим лабораторным методам исследования*. М.: Медицина; 1975: 382.

REFERENCES

1. Kochergin N.A., Kochergina A.M., Ganyukov V.I. Predictors of acute coronary syndrome in patients with coronary artery disease. *Angiologiya i sosudistaya khirurgiya*. 2020; 26(3): 179–84. <https://doi.org/10.33529/ANGI02020302> (In Russian)
2. Chen H., Zhang S., Wang H., Bao L., Wu W., Qi R. Fruitflow inhibits platelet function by suppressing Akt/GSK3 β , Syk/PLC γ 2 and p38 MAPK phosphorylation in collagen-stimulated platelets. *BMC Complement. Med. Ther.* 2022; 22: 75. <https://doi.org/10.1186/s12906-022-03558-5>
3. Spasov A.A., Kucheryavenko A.F., Mal'cev D.V., Miroshnikov M.V., Sirotenko V.S., Sultanova K.T., Gajdukova K.A., Skripka M.O. Assessment of acute toxicity of a new benzimidazole derivative with antithrombotic properties. *Toksikologicheskij vestnik*. 2021; 1(166): 52–7. <https://doi.org/10.36946/0869-7922-2021-1-52-57> (In Russian)
4. Buresh Y.A., Bureshova O., H'yuston D.P. *Methods and basic experiments for studying the brain and behavior [Metodiki i osnovnye eksperimenty po izucheniyu mozga i povedeniya]*. M.: Vysshaya shkola; 1991: 210. (In Russian)
5. Izrajlet L.I., Sominskij V.M., Shibaeva T.M., Slinko V.I. Modification of a bromosulfalein sample to study the functional state of the liver in rats. *Gigiena i sanitariya*. 1976; 3: 59–61. (In Russian)
6. Berhin E.B., Ivanov Yu.I. *Methods of experimental study of kidneys and introductory salt metabolism [Metody eksperimental'nogo issledovaniya почек i vvodno-solevogo obmena]*. Barnaul; 1972: 199. (In Russian)
7. Berchanu S.H. *Clinical hematology [Klinicheskaya gematologiya]*. Medicinskoe izdatel'stvo «Buharest»; 1985: 1221. (In Russian)
8. Danilova L.A. *Handbook of laboratory research methods [Spravochnik po laboratornym metodam issledovaniya]*. Sankt-Peterburg: Piter; 2003: 733. (In Russian)
9. Kost E.A. *Handbook of Clinical laboratory research methods [Spravochnik po klinicheskim laboratornym metodam issledovaniya]*. M.: Meditsina; 1975: 382. (In Russian)
10. McEvoy L., Carr D.F., Pirmohamed M. Pharmacogenomics of NSAID-Induced Upper Gastrointestinal Toxicity. *Front. Pharmacol.* 2021; 12: 684162. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.684162>
11. De Freitas R.C.C., Bortolin R.H., Lopes M.B., Tamborlin L., Meneguello L., Silbiger V.N., Hirata R.D.C., Hirata M.H., Luchessi A.D., Luchessi A.D. Modulation of miR-26a-5p and miR-15b-5p Exosomal Expression Associated with Clopidogrel-Induced Hepatotoxicity in HepG2 Cells. *Front. Pharmacol.* 2017; 8: 906. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00906>

ОБ АВТОРАХ:

Бугаева Любовь Ивановна – доктор биол. наук, заведующий лабораторией токсикологии ФГБОУ ВО «ВГМУ», 400066, Волгоград, Российская Федерация. E-mail: li_bugaeva@mail.ru

Сиротенко Виктор Сергеевич – кандидат фарм. наук, доцент кафедры фармакологии и биоинформатики ФГБОУ ВО «ВГМУ», 400066, Волгоград, Российская Федерация. E-mail: sirotenko.viktor@yandex.ru

Спасов Александр Алексеевич – доктор мед. наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой фармакологии и биоинформатики, ФГБОУ ВО «ВГМУ», 400066, Волгоград, Российская Федерация. E-mail: aspasov@mail.ru

Кучерявенко Аида Фатиховна – доктор мед. наук, профессор, профессор кафедры фармакологии и биоинформатики, ФГБОУ ВО «ВГМУ», 400066, Волгоград, Российская Федерация. E-mail: aidakucheryavenko@yandex.ru

Лебедева Светлана Александровна – кандидат биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории токсикологии, ГБУ «ВМНЦ», 400066, Волгоград, Российская Федерация. E-mail: lebedeva.farm@mail.ru

Денисова Татьяна Дмитриевна – кандидат биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории токсикологии, ГБУ «ВМНЦ», 400066, Волгоград, Российская Федерация. E-mail: tanyaddenisova@mail.ru

Мальцев Михаил Васильевич – кандидат биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории токсикологии ГБУ «ВМНЦ», 400066, Волгоград, Российская Федерация. E-mail: m_maltsev_biolog@rambler.ru

Гетманенко Андрей Юрьевич – научный сотрудник лаборатории токсикологии ГБУ «ВМНЦ», 400066, Волгоград, Российская Федерация.
E-mail: dustgod@mail.ru

Коржова Татьяна Михайловна – младший научный сотрудник лаборатории токсикологии, ГБУ «ВМНЦ», 400066, Волгоград, Российская Федерация.
E-mail: bundikova1@mail.ru

Лаврова Елена Борисовна – младший научный сотрудник лаборатории токсикологии ГБУ «ВМНЦ», 400066, Волгоград, Российская Федерация.
E-mail: elena.lavrova34@vail.ru

Мелихова Наталья Сергеевна – младший научный сотрудник лаборатории токсикологии, ГБУ «ВМНЦ», 400066, Волгоград, Российская Федерация.
E-mail: bugnatasha7@mail.ru

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:

Lyubov I. Bugaeva, Doctor of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Toxicology of Volgograd State Medical University, Volgograd, 400066, Russian Federation. <https://doi.org/0000-0002-0656-8073> E-mail: li_bugaeva@mail.ru

Viktor S. Sirotenko, Ph.D., Associate Professor of the Department of Pharmacology and Bioinformatics of Volgograd State Medical University, Volgograd, 400066, Russian Federation. <https://doi.org/0000-0003-2249-020X> E-mail: sirotenko.viktor@yandex.ru

Alexander A. Spasov, Head of the Department of Pharmacology and Bioinformatics, Academician of the Russian Academy of Sciences, Honored Worker of Science of the Russian Federation, MD, Professor, of Volgograd State Medical University, Volgograd, 400066, Russian Federation. <https://doi.org/0000-0002-7185-4826> E-mail: aspasov@mail.ru

Aida F. Kucheryavenko, Professor of the Department of Pharmacology and Bioinformatics, MD, Professor, of Volgograd State Medical University, Volgograd, 400066, Russian Federation. <https://doi.org/0000-0003-1406-6919> E-mail: aidakucheryavenko@yamdex.ru

Svetlana A. Lebedeva, PhD, Senior Researcher of the Laboratory of Toxicology of Volgograd Medical Scientific Center, Volgograd, 400066, Russian Federation. <https://doi.org/0000-0002-9057-3333> E-mail: lebedeva.farm@mail.ru

Tatiana D. Denisova, PhD, Senior Researcher of the Laboratory of Toxicology of Volgograd Medical Scientific Center, Volgograd, 400066, Russian Federation. <https://doi.org/0000-0001-7869-4944> E-mail: tanyaddenisova@mail.ru

Mikhail V. Maltsev, PhD, Senior Researcher of the Laboratory of Toxicology of Volgograd Medical Scientific Center, Volgograd, 400066, Russian Federation. E-mail: m_maltsev_biolog@rambler.ru

Andrey Yu. Getmanenko, researcher of the Laboratory of Toxicology, of Volgograd Medical Scientific Center, Volgograd, 400066, Russian Federation. <https://doi.org/0000-0002-9461-3638> E-mail: dustgod@mail.ru

Tatiana M. Korzhova, junior research assistant Laboratory of Toxicology of Volgograd Medical Scientific Center, Volgograd, 400066, Russian Federation. <https://doi.org/0000-0003-4634-3618>

Elena B. Lavrova, junior research assistant Laboratory of Toxicology of Volgograd Medical Scientific Center, Volgograd, 400066, Russian Federation. <https://doi.org/0000-0001-5313-3593> E-mail: elena.lavrova34@vail.ru

Nataliya S. Melikhova, junior research assistant Laboratory of Toxicology of Volgograd Medical Scientific Center, Volgograd, 400066, Russian Federation. E-mail: bugnatasha7@mail.ru

