

Исследование острой и хронической токсичности готовой лекарственной формы ГК-2

Сорокина А.В.¹, Алексеева С.В.¹, Мирошкина И.А.¹, Волкова А.В.¹, Забродина В.В.¹, Качалов К.С.^{1,2}, Алексеев И.В.^{1,2}, Захаров А.Д.¹, Поварнина П.Ю.¹, Дурнев А.Д.¹

¹ – ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

² – Московский медицинский университет «Реавиз», Москва

Резюме. В работе представлены данные доклинического исследования острой и хронической токсичности готовой лекарственной формы соединения ГК-2, обладающего нейропротективными свойствами. Установлено, что ГК-2 при его однократном внутривенном введении в максимально допустимых объемах беспородным белым мышам и крысам обоего пола не вызывает гибели животных. Определены среднесмертельные дозы ГК-2 при внутрибрюшинном введении. В опытах на мышах у самок LD₅₀ составила 15,4 (14,5–16,4) г/кг, у самцов LD₅₀ – 15,7 (14,6–16,9) г/кг. В опытах на крысах у самок и самцов LD₅₀ составила 6,9 (4,5–10,6) г/кг. Ежедневное внутривенное введение готовой лекарственной формы беспородным белым крысам и кроликам породы шиншилла обоего пола в течение одного месяца в дозе, соответствующей терапевтической – 1 мг/кг (в пересчёте на активное вещество) и превышающей её в десять раз – 10 мг/кг (в пересчёте на активное вещество) позволило установить, что ГК-2 не влияет на интегральные показатели. Исключение составили снижение прироста массы тела и дозозависимое снижение потребления корма и воды у самок крыс опытных групп. При клинико-лабораторном, патоморфологическом и гистологическом исследованиях, выполненных в соответствии с общим протоколом, токсических эффектов ГК-2 не установлено.

Ключевые слова: ГК-2; острая токсичность; хроническая токсичность; мыши; крысы; кролики

Для цитирования:

Сорокина А.В., Алексеева С.В., Мирошкина И.А., Волкова А.В., Забродина В.В., Качалов К.С., Алексеев И.В., Захаров А.Д., Поварнина П.Ю., Дурнев А.Д. Исследование острой и хронической токсичности готовой лекарственной формы ГК-2 // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. – 2019. – № 2. – С. 51–58. DOI: 10.24411/2587-7836-2019-10048.

GK-2 new drug with neuroprotective properties the study of acute and chronic toxicity of the finished dosage forms

Sorokina AV¹, Alekseeva SV¹, Miroshkina IA¹, Volkova AV¹, Zabrodina VV¹, Kachalov KS^{1,2}, Alekseev IV^{1,2}, Zaharov AD¹, Povarnina PYu¹, Durnev AD¹

¹ – FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow

² – Moscow Medical University «Reaviz», Moscow

Resumé. The paper presents the data of preclinical studies of the acute and chronic toxicity of the finished dosage form of the compound GK-2, which has neuroprotective properties. It has been established that GK-2 does not cause the death of animals after a single intravenous administration in the maximum allowable volumes to outbred white mice and rats of both sexes. The average lethal doses of HA-2 were determined for intraperitoneal administration. In experiments on mice in females, the LD₅₀ was 15.4 (14.5–16.4) g / kg. In males, the LD₅₀ is 15.7 (14.6–16.9) g / kg. In experiments on rats in females and males, the LD₅₀ was 6.9 (4.5–10.6) g / kg. Daily intravenous administration of the finished dosage form to purebred white rats and rabbits of the chinchilla breed of both sexes for one month at a dose corresponding to therapeutic - 1 mg / kg (in terms of active substance) and exceeding it ten times - 10 mg / kg (in terms of active substance) allowed to establish that GK-2 does not affect the integral indicators. The exceptions were reduced body weight gain and a dose-dependent decrease in feed and water intake in female rats of the experimental groups. In clinical, laboratory, pathological and histological studies performed in accordance with the general protocol, the toxic effects of GK-2 have not been established.

Keywords: GK-2; acute toxicity; chronic toxicity; mice; rats; rabbits

For citations:

Sorokina AV, Alekseeva SV, Miroshkina IA, Volkova AV, Zabrodina VV, Kachalov KS, Alekseev IV, Zaharov AD, Povarnina PYu, Durnev AD. GK-2 new drug with neuroprotective properties the study of acute and chronic toxicity of the finished dosage forms. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2019;2:51–58. (In Russ). DOI: 10.24411/2588-0519-2019-10048.

Введение

В ФГБНУ НИИ фармакологии имени В.В. Закусова РАН был синтезирован дипептидный миметик 4-й петли фактора роста нервов с химической структурой гексаметилендиамид бис-(N-моносукцинил-L-глутамил-L-лизина). Исследования фармакологической активности этого соединения, получившего обозначение ГК-2, показали перспективы его разработки в качестве нейропротектора и инициировали

широкие исследования этого лекарственного кандидата [1]. Одним из обязательных фрагментов подобной работы являются доклинические токсикологические исследования, в частности, оценка повреждающего действия лекарственного кандидата при его однократном (острая токсичность) и многократном повторном (хроническая токсичность) введении [2, 3]. Значимость подобного рода исследований для развития потенциального лекарственного средства неоднократно описана ранее [2, 3].

Цель исследования

Изучение острой и хронической токсичности ГК-2.

Материалы и методы

Исследуемый препарат. В эксперименте использовали готовую лекарственную форму ГК-2 (серия 2050117, произведена в опытно-технологическом отделе ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова»). В 1 мл готовой лекарственной формы (ГЛФ) было: ГК-2 (лиофилизата) – 0,001 г; сахарозы – 0,020 г; полиэтиленгликоля 4000 – 0,060 г. Для унификации расчётов 1 мл ГЛФ приравнивали к 1 г ГЛФ. В качестве контроля использовали стерильный физиологический раствор NaCl (серия 45) и плацебо (серия 2030117) в составе (на 1 мл): сахарозы – 0,020 г; полиэтиленгликоля 4000 – 0,060 г.

При изучении острой токсичности ГЛФ ГК-2 вводили однократно в дозах, вызывающих гибель части или всех животных в группе. Инъекции ГК-2 осуществляли внутривенно (в латеральную хвостовую вену: мышам – в дозе 11,4 г/кг, крысам – в дозе 9 г/кг). В отсутствие летальности, как произошло в эксперименте при внутривенном пути введения, ГК-2 применяли в предельно допустимых для введения животным объёмах: мышам – 0,5 мл, крысам – 2 мл [2]. Внутривенно мышам вводили ГК-2 в дозах 12; 15; 16,5; 18 и 21 г/кг, крысам – в дозах 3, 6, 9 и 12 г/кг. За животными наблюдали в течение 14 сут. после введения [4].

При исследовании хронической токсичности ГК-2 вводили внутривенно, как это планируется в случае его клинического применения, крысам – в латеральную хвостовую вену, кроликам – в краевую ушную вену. Внутривенное введение ГЛФ ГК-2 осуществляли 1 раз в сутки в течение одного месяца в дозе, соответствующей терапевтической – 100 мг/кг (1 мг/кг по активному веществу) и превышающей её в десять раз – 1000 мг/кг (10 мг/кг по активному веществу).

Лабораторные животные. Изучение острой токсичности проводили на беспородных белых мышах обоего пола ($n = 120$, начальная масса 18–20 г) и беспородных белых крысах обоего пола ($n = 84$, начальная масса 180–200 г).

Исследование хронической токсичности проводили на беспородных белых крысах обоего пола ($n = 60$, начальная масса 180–200 г) и кроликах породы шиншилла обоего пола ($n = 48$, начальная масса 2–2,5 кг).

Все экспериментальные животные были получены из сертифицированных питомников и содержались в виварии в соответствии с ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики». Работы с мышами, крысами и кроликами выполняли в соответствии с общепринятыми нормами обращения с животными [5] на основе стандартных операционных процедур, принятых в ФГБНУ «НИИ фармакологии

имени В.В. Закусова», соответствующих правилам Европейской Конвенции ETS 123.

Методы оценки возможного токсического действия.

Непосредственно после однократного внутривенного и внутривентрального введения за животными, находящимися в индивидуальных пластиковых камерах, вели непрерывное наблюдение. Оценивали динамику гибели и изменение поведения. Павших животных вскрывали, данные фиксировали в протоколе. Через 8 ч выживших животных перемещали в клетки для группового содержания. Ежедневно, в течение 14 сут. (утром и вечером) фиксировали отклонения во внешнем виде, общем клиническом состоянии, реакциях на внешние раздражители и динамику смертности [2–4]. В ходе эксперимента оценивали изменение массы тела животных, суточное потребление ими корма и воды, поведенческие реакции. На 15-е сутки после введения ГК-2, согласно общему протоколу [2], животных подвергали эвтаназии и проводили патологоанатомическое вскрытие.

В ходе исследования хронической токсичности ГК-2 оценивали его влияние на интегральные показатели: внешний вид, поведение и клинические симптомы интоксикации (ежедневно); а также динамику массы тела и потребление корма и воды у крыс (еженедельно). Регистрацию физиологических параметров проводили до начала эксперимента, через 24 ч (крысы 1-, 2-, 3- и 4-й групп и кролики 1–3-й группы) и через 2 нед. после заключительного введения ГК-2. Влияние на сердечно-сосудистую систему определяли по показателям электрокардиографии и артериального давления. Изучение поведенческих реакций у крыс проводили по тесту «Открытое поле». Для определения возможных токсических эффектов, их обратимости и поиска органов-мишеней проводили гематологические, биохимические и патоморфологические исследования [6–8]. Оценивали возможное местное раздражающее действие ГК-2 при его внутривенном введении. Объём исследований был определён общим протоколом [2]. Все данные, полученные при исследовании экспериментальных животных, сравнивали с таковыми контрольных животных, получавших в тех же условиях раствор натрия хлорида 0,9 % изотонического и плацебо. Общая продолжительность наблюдения за экспериментальными животными при оценке хронической токсичности составила 30 сут. (1-, 2-, 3- и 5-й группы крыс, 1-, 2-й и 3-й группы кроликов) и 45 сут. (4-я «отставленная» группа крыс).

Методы статистической обработки. В экспериментах по оценке острой токсичности и расчёте среднесмертельных доз ГЛФ ГК-2 использовали метод Литчфилда и Уилкоксона [4]. Статистическая обработка результатов осуществлялась согласно общему протоколу исследований [2]. Все регистрируемые характеристики животных до и после исследования представлены в таблицах в виде частотных и/или процентных показателей или при помощи среднего,

стандартного отклонения, медианы, верхней (75 %) и нижней квартилей (25 %), в зависимости от типа переменной. При оценке независимых выборок животных использовали критерий χ^2 (для частотных показателей), однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) для непрерывных показателей с дальнейшей обработкой методом множественных сравнений по Даннету. При невозможности использования ANOVA применяли непараметрический аналог дисперсионного анализа по Краскелу–Уоллису с дальнейшей обработкой методом множественных сравнений по Данну. Результаты считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты

При однократном внутривенном введении ГЛФ ГК-2 беспородным белым мышам (в дозе 11,4 г/кг) и крысам (в дозе 9 г/кг) определение средней смертельной дозы не представлялось возможным из-за отсутствия гибели животных.

В ходе эксперимента у мышей и крыс, которым внутривенно однократно вводили ГЛФ ГК-2, развивалась сходная клиническая картина. Во время введения препарата («на конце иглы») у животных отмечали тонические судороги и рефлекс Штрауба. Первые 2–7 мин после введения препарата животные лежали на животе, вытянув задние лапы. В этот же период у них регистрировали тремор и нарушение координации движений. Дыхание у большинства животных было частым и поверхностным. Кожные покровы и видимые слизистые оболочки были бледными, склеры глаз замутнёнными. Затем активность животных восстанавливалась, у них наблюдался груминг. Реакция на внешние раздражители соответствовали норме. Не было отмечено нарушений ушного и корнеального рефлексов. В дальнейший период наблюдения за животными у них отмечалось чередование активного перемещения в индивидуальных камерах с состоянием покоя. Через 8 ч после однократного внутривенного введения ГЛФ ГК-2 двигательная активность животных полностью восстанавливалась. На следующие сутки после внутривенного введения животные были гиперактивны, у них регистрировали кратковременный тремор и повышенную чувствительность на звуковые раздражители (вздрагивали и вокализировали). При движении животные расставляли задние лапы и держали хвосты горизонтально поверхности пола. Постепенно, через 3–4 сут., наблюдаемые клинические признаки токсического действия препарата нивелировались и в дальнейшем не было зарегистрировано ни одного случая гибели животных и не отмечено выраженных признаков интоксикации. Дыхание, сердечно-сосудистая деятельность, состояние шерстного покрова, кожи и видимых слизистых оболочек, реакция на внешние раздражители соответствовали норме.

При внутрибрюшинном введении была отмечена гибель мышей и крыс. Были произведе-

ны расчёты среднесмертельных доз для беспородных белых мышей и крыс. LD₅₀ для самок беспородных белых мышей составила 15,4 (14,5–16,4) г/кг, самцов – 15,7 (14,6–16,9) г/кг. Для самок и самцов беспородных белых крыс LD₅₀ составила 6,9 (4,5–10,6) г/кг.

В ходе эксперимента у животных, однократно внутрибрюшинно получавших ГЛФ ГК-2, развивалась сходная клиническая картина. Большинство животных сразу после инъекции пытались дотянуться до места прокола и вылизать его. Почти сразу после введения препарата у животных отмечалось снижение двигательной активности. Через 5–10 мин состояние животных продолжало ухудшаться: во всех экспериментальных группах регистрировался тремор. При введении ГК-2 в высоких дозах регистрировали приступы клонических судорог, которые длились от 10 до 30 с. Дыхание было частым, поверхностным. Видимые слизистые и кожные покровы были бледными. Гибель животных наступала через 40 мин – 1,5 ч после непродолжительного приступа (1–3 мин) клонических судорог. Когда через 8 ч выживших животных перемещали в клетки группового содержания, у них фиксировали тремор различной степени выраженности и нарушение координации движения (динамическую атаксию). Хвосты у большинства животных были приподняты и параллельны полу. При движении животные высоко приподнимались на лапах, чтобы не касаться животом пола. Гибель животных отмечалась в первые трое, а у крыс в первые пять суток. Выжившие животные в течение первой недели были малоподвижны, у большинства отмечались тремор и нарушение координации движений. В это время реакция на внешние раздражители была повышенной, животные выпрыгивали из клеток, вокализировали и были агрессивны. В дальнейшем, на 7–10-е сутки после введения ГК-2, состояние и поведение животных нормализовалось и не отличалось от такового у контрольных животных.

Патологоанатомическое исследование, проведённое в ходе изучения острой токсичности ГК-2 при его внутрибрюшинном введении, позволило выявить у павших животных нарушения водно-солевого гомеостаза, а также ярко выраженные признаки расстройства кровообращения. У животных, павших на ранних сроках, в брюшной полости была обнаружена жидкость (у мышей в объёме 2–3 мл, у крыс в объёме 5–7 мл) от соломенно-жёлтого до розового цвета. У животных, павших в более поздние сроки, жидкость в брюшной полости, как правило, отсутствовала, а жир сальника и брыжейки выглядел, как гирлянда из сухих светло-жёлтых шариков. Спаек не было. Сосуды органов брюшной и тазовой полостей, а также сосуды брыжейки у животных, павших в ранние сроки эксперимента, были сильно кровенаполнены. На поверхности кишечника обнаруживались точечные кровоизлияния. С другой стороны, инъекция сосудов органов брюшной и тазовой полостей, а также сосудов

брыжейки у мышей, павших в более поздние сроки эксперимента, была не столь заметной.

Патологоанатомическое исследование мышей и крыс, выживших и выведенных из эксперимента спустя 14 сут. после однократного внутривенного и внутрибрюшинного введения ГК-2, позволило установить, что морфологическая картина их внутренних органов не отличалась от таковой, наблюдаемой у контрольных животных.

Исследование хронической токсичности позволило установить, что ГК-2 в дозах 1 и 10 мг/кг (по активному веществу) при ежедневном внутривенном введении беспородным белым крысам и кроликам в течение одного месяца не вызывает изменений их общего состояния и внешнего вида, а также выраженных изменений массы тела экспериментальных животных. Исключение составили самки крыс экспериментальных групп, у которых наблюдали снижение показателей прироста массы тела (табл. 1). Также у этих же животных фиксировали дозозависимое снижение потребления корма и воды (табл. 2).

При хроническом внутривенном введении ГК-2 не вызывает выраженных изменений поведения экспериментальных животных в тесте «открытое поле», патологических изменений в показателях электрокардиограммы во втором стандартном отведении, и не влияет на артериальное давление и ректальную температуру животных. Не отмечено негативного влияния ГК-2 на систему крови экспериментальных животных, биохимические показатели сыворотки крови экспериментальных животных и физико-химические свойства мочи у крыс.

В результате проведенного патологоанатомического вскрытия установлено, что ежедневное внутривенное введение ГЛФ ГК-2 в дозах 1 и 10 мг/кг в течение одного месяца не вызывает закономерных изменений морфологической картины внутренних органов беспородных белых крыс обоего пола и кроликов породы шиншилла обоего пола.

Микроскопическая картина всех изученных внутренних органов и головного мозга беспородных белых крыс, выведенных из эксперимента через 24 ч или 14 сут. (крысы «отставленной» группы) после заключительного внутривенного введения ГЛФ ГК-2 в дозах 1 и 10 мг/кг, была аналогична таковой, наблюдаемой у крыс контрольной группы, получавших внутривенно раствор натрия хлорида 0,9 % изотонического или плацебо.

Микроскопическая картина всех изученных внутренних органов кроликов породы шиншилла, выведенных из эксперимента спустя 24 ч после заключительного внутривенного введения ГЛФ ГК-2 в дозах 1 и 10 мг/кг, была аналогична картине, наблюдаемой у кроликов контрольной группы, получавших внутривенно раствор натрия хлорида 0,9 % изотонического, и у кроликов, получавших внутривенно плацебо.

При оценке местного раздражающего действия под кожей в области боковых хвостовых вен большинства

крыс были обнаружены кровоизлияния различной величины – от мелких до средних и разлитых. У большинства кроликов под кожей в области краевых ушных вен были обнаружены небольшие кровоизлияния.

При микроскопическом изучении участков, прилежащих к местам внутривенных инъекций препарата ГК-2 в дозах 1 и 10 мг/кг, установлено, что их микроскопическая картина является идентичной таковой, наблюдаемой у контрольных животных, а также животных, которым в аналогичных условиях вводили плацебо. Эта картина характеризуется неизбежной реакцией на механическое повреждение вен и окружающих тканей в виде полнокровия, кровоизлияний,

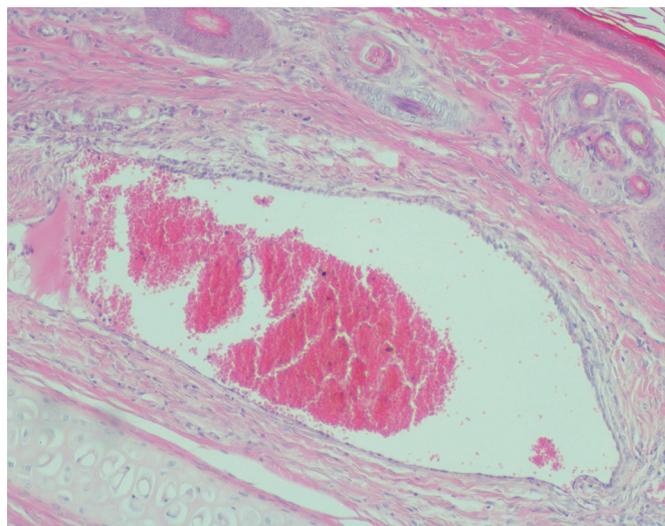


Рис. 1. Ткани уха кролика, которому внутривенно в течение одного месяца вводили раствора натрия хлорида 0,9 % изотонического. Увеличение 10×10, окраска гематоксилин-эозином

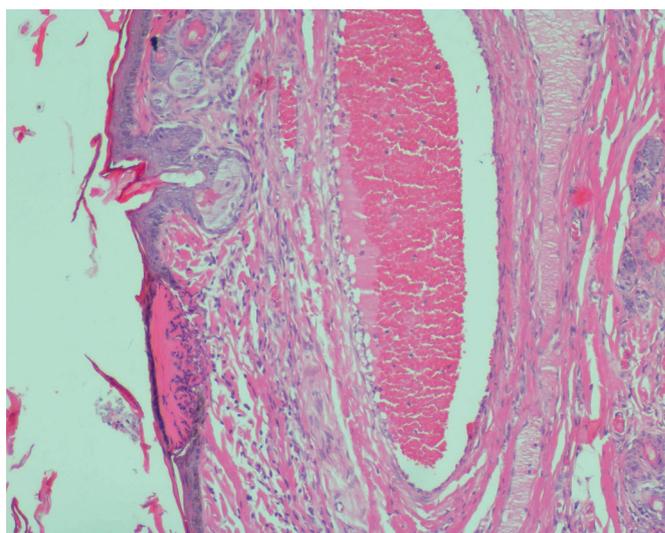


Рис. 2. Ткани уха кролика, которому внутривенно в течение одного месяца вводили плацебо. Увеличение 10×10, окраска гематоксилин-эозином

Таблица 1

Влияние ГК-2 на динамику массы крыс при внутривенном введении в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг в течение месяца

Группа	Масса крыс до введения парата, г	Масса, 1-я неделя после введения, г	Прирост массы, %	Масса, 2-я неделя после введения, г	Прирост массы, %	Масса, 3-я неделя после введения, г	Прирост массы, %	Масса, 4-я неделя после введения, г	Прирост массы, %	Масса, 5-я неделя после введения, г	Прирост массы, %	Масса, 6-я неделя после введения, г	Прирост массы, %	
1-я группа Контроль	♀	218 (206ч228)	232* (214ч245)	6,1 (3,9ч7,6)	244 (225ч255)	10,5 (8,9ч13,9)	255* (228ч266)	15,4 (10,7ч16,0)	263* (237ч279)	18,5 (15,0ч20,2)				
	♂	254 (251ч264)	279* (274ч292)	11,4 (8,3ч13,8)	301 (294ч312)	19,2 (17,1ч25,9)	304* (294ч313)	19,2 (16,3ч25,1)	330 (320ч336)	28,6 (27,5ч31,8)				
2-я группа ГК-2, 1 мг/кг	♀	221 (212ч226)	224 (218ч232)	2,4* (0,5ч2,7)	234 (224ч237)	5,9* (4,5ч7,2)	240* (230ч243)	8,8* (7,5ч9,6)	244* (233ч250)	11,1* (8,6ч12,3)				
	♂	270 (259ч272)	287* (282ч295)	7,5 (6,6ч8,9)	311* (300ч323)	15,9 (13,2ч16,2)	323* (317ч336)	19,1 (17,3ч25,7)	338* (334ч357)	26,6 (23,9ч31,3)				
3-я и 4-я группы ГК-2, 10 мг/кг	♀	211# (205ч220)	220* (210ч235)	4,1 (2,7ч4,8)	227* (210ч238)	6,7* (4,2ч9,8)	232* (216ч249)	8,8* (5,1ч13,8)	234 # (220ч257)	11,3 * (6,7ч16,8)	223* (217ч235)	9,2 (5,3ч13,0)	238* (232ч258)	16,3* (13,0ч22,5)
	♂	244 (224ч268)	273* (249ч284)	8,1 (5,9ч12,9)	290* (274ч310)	18,6 (12,9ч26,3)	316* (299ч332)	15,4 (12,0ч19,5)	323* (312ч342)	30,9 (21,8ч44,3)	341* (312ч348)	53,4* (45,7ч55,1)	363* (336ч369)	64,9* (54,3ч67,5)
5-я группа Плацебо	♀	229 (223ч236)	235* (230ч245)	3,5* (2,4ч3,9)	250* (234ч255)	6,6* (5,2ч8,8)	253* (243ч258)	8,9 (8,0ч9,2)	262* (260ч270)	13,6 (11,0ч16,6)				
	♂	259 (247ч269)	284* (267ч293)	8,5 (7,8ч11,0)	305* (279ч316)	16,7 (13,0ч20,2)	324* (294ч334)	23,2 (16,6ч28,7)	349* (300ч355)	31,4 (19,0ч36,4)				

Примечания: Данные представлены в виде медиан групп и 25 и 75 % квартилей; * – различие с фоном достоверно с уровнем значимости $p < 0,05$; # – различие с контролем достоверно с уровнем значимости $p < 0,05$; ♦ – статистически значимые различия ($p < 0,05$) по сравнению с показателями, полученными через 2 нед.; # – статистически значимые различия ($p < 0,05$) по сравнению с группой плацебо; межгрупповая множественная оценка равенства медиан проводилась с применением критерия Краскела–Уоллиса; для проверки различий между связанными выборками применялся критерий Вилкоксона.

Таблица 2

Влияние ГК-2 на суточное потребление корма и воды у крыс, при внутривенном введении в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг в течение месяца

Группа	Корм, г						Вода, мл							
	фон	1-я нед.	2-я нед.	3-я нед.	4-я нед.	6-я нед. «отст» гр	фон	1-я нед.	2-я нед.	3-я нед.	4-я нед.	5-я нед. «отст» гр	6-я нед. «отст» гр	
Контроль 1-я группа	♀	19,8 18,7ч20,7	16,8* 15,5ч17,8	21,2* 19,6ч22,2	18,7* 16,7ч19,5	22,2* 20,0ч23,6		39,8 37,7ч41,7	29,9* 27,7ч31,7	37,6* 34,8ч39,4	28,9* 25,9ч30,2	35,5* 32,1ч37,8		
	♂	22,3 22,1ч23,2	21,3* 20,9ч22,3	25,8* 25,2ч26,8	16,0* 15,5ч16,5	24,9* 24,2ч25,4		36,7 36,3ч38,1	30,8* 30,2ч32,2	33,1* 32,3ч34,3	33,3* 32,2ч34,4	33,6* 32,6ч34,3		
ГК-2 1 мг/кг 2-я группа	♀	18,6*# 17,9ч19,0	17,5*# 17,0ч18,1	12,1*# 11,6ч12,2	15,3*# 14,7ч15,5	16,6*# 15,9ч17,0		29,3*# (8,1ч30,0	25,0*# 24,3ч25,9	25,2*# 24,1ч25,5	24,4*# 23,4ч24,7	25,2*# 24,1ч25,8		
	♂	27,3* 26,3ч27,6	21,9*# 21,6ч22,5	19,0*# 18,4ч19,8	22,3*# 21,9ч23,2	27,1* 26,8ч28,6		40,2* 38,7ч40,6	32,4* 31,8ч33,3	33,3*# 32,2ч34,7	32,5*# 31,9ч33,8	33,9* 33,5ч35,8		
ГК-2 10 мг/кг 3- и 4-я «отст» гр	♀	17,1*# 16,1ч17,9	14,3*# 13,0ч15,1	13,7*# 12,4ч15,0	14,7*# 12,9ч15,4	11,5*# 10,0ч12,1	19,5* 19,0ч21,2	26,8*# 25,3ч28,1	29,4*# 26,8ч31,0	20,9*# 18,9ч22,8	26,4 23,3ч27,7	23,9*# 21,0ч25,2	32,0* 31,1ч33,7	32,8* (32,0ч35,6)
	♂	24,6* 24,4ч27,0	22,0* 21,5ч24,1	18,4*# 17,4ч19,4	25,6* 24,2ч26,9	19,1*# 18,2ч19,8	26,0* 23,8ч26,6	32,6*# 32,3ч35,7	31,8* 31,0ч34,8	24,9*# 23,5ч26,3	35,7* 33,8ч37,6	31,0*# 29,5ч32,1	38,5* 35,3ч39,3	47,7* 44,1ч48,5
Плацебо 5-я группа	♀	22,3* 21,7ч22,9	14,2*# 13,9ч14,8	13,2*# 12,4ч13,5	17,9* 17,1ч18,2	19,1*# 19,0ч19,7		34,9* 34,0ч36,0	32,2* 31,6ч33,6	17,8*# 16,7ч18,2	24,4*# 23,5ч24,9	31,8*# 31,6ч32,8		
	♂	26,4* 25,2ч27,4	20,6*# 19,4ч21,3	17,5*# 16,0ч18,2	24,9*# 22,6ч25,7	27,1 23,3ч27,6		40,0* 38,2ч41,7	31,3*# 29,4ч32,2	30,3*# 27,8ч31,3	38,2*# 34,6ч39,3	36,5*# 31,4ч37,2		

Примечания: Данные представлены в виде медиан групп и 25 и 75 % квартилей; * – различие с фоном достоверно с уровнем значимости $p < 0,05$; # – различие с фоном достоверно с уровнем значимости $p < 0,05$ между 3- и 4-й группами; * – статистически значимые различия ($p < 0,05$) между 3- и 4-й группами; # – статистически значимые различия ($p < 0,05$) по сравнению с группой плацебо; межгрупповая множественная оценка равенства медиан проводилась с применением критерия Краскела—Уоллиса; для проверки различий между связанными выборками применялся критерий Вилкоксона.

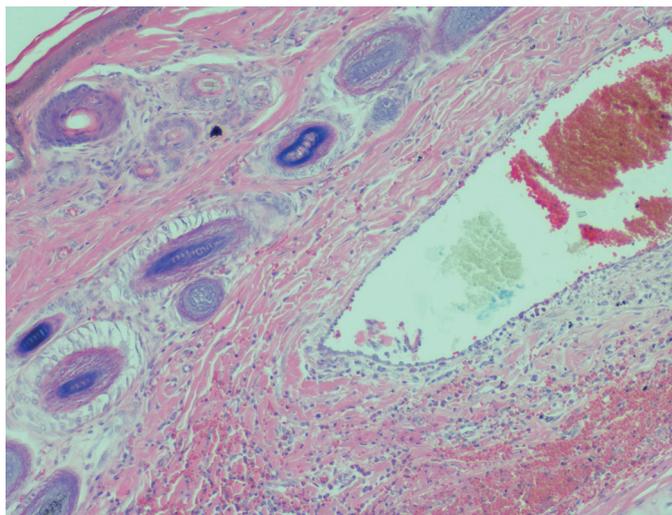


Рис. 3. Ткани уха кролика, которому внутривенно в течение одного месяца вводили ГЛФ ГК-2 в дозе 10 мг/кг. Увеличение 10×10, окраска гематоксилин-эозином

околососудистого отёка и умеренной инфильтрации полиморфноядерными лейкоцитами, лимфоцитами и макрофагами (рис. 1–3).

Заключение

Обобщая результаты оценки острой токсичности, следует констатировать, что при однократном внутривенном и/или внутрибрюшинном введении ГЛФ ГК-2 является относительно безвредным и, по классификации Сидорова К.К. (1973 г.), может быть отнесён к 6-му классу токсичности.

При исследовании хронической токсичности ГЛФ ГК-2, которое было выполнено в соответствии с протоколом, установленным Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ [2, 3], не было выявлено токсических эффектов и местного раздражающего действия.

Проведённые исследования не установили данных, препятствующих дальнейшей разработке лекарственного кандидата ГЛФ ГК-2.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Сорокина Александра Валериановна

ORCID ID: 0000-0002-9600-7244

к. б. н., в. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Sorokina Aleksandra

ORCID ID: 0000-0002-9600-7244

Candidate of Biological Sciences, Leading researcher of the laboratory of drug toxicology FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Алексеева Светлана Витальевна

Автор, ответственный за переписку

e-mail: alexeeva.sv@mail.ru

ORCID ID: 0000-0002-1262-6997

SPIN код: 8985-3418

с. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Alekseeva Svetlana

Corresponding author

e-mail: alexeeva.sv@mail.ru

ORCID ID: 0000-0002-1262-6997

SPIN code: 8985-3418

Senior Research Officer of laboratory of drug toxicology FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Мирошкина Ирина Александровна

ORCID ID: 0000-0002-3208-198X

SPIN код: 4697-7938

н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Miroshkina Irina

ORCID ID: 0000-0002-3208-198X

SPIN code: 4697-7938

Research scientist of the laboratory of drug toxicology FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Волкова Анна Валерьевна

с. н. с. лаборатории психофармакологии

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Volkova Anna

Senior Research Officer of laboratory of psychopharmacology FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Забродина Виктория Владимировна

ORCID ID: 0000-0002-8450-9853

SPIN код: 8473-6920

к. б. н., н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Zabrodina Victoria

ORCID ID: 0000-0002-8450-9853

SPIN code: 8473-6920

Candidate of Biological Sciences, Research scientist of the laboratory of drug toxicology FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Качалов Кирилл Сергеевич

SPIN код: 2992-6789

инженер 1-й категории лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва; студент фармацевтического факультета Московского медицинского университета «Реавиз», Москва

Kachalov Kirill

SPIN code: 2992-6789

engineer of the 1st category of the laboratory of drug toxicology FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow; student of the pharmaceutical faculty of the Moscow medical university «Reaviz», Moscow

Алексеев Иван Владимирович

SPIN код: 9757-6210

инженер 1-й категории лаборатории фармакологии мутагенеза ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва; студент фармацевтического факультета Московского медицинского университета «Реавиз», Москва

Alekseev Ivan

SPIN code: 9757-6210

engineer of the 1st category of the laboratory of pharmacology of mutagenesis FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow; student of the pharmaceutical faculty of the Moscow medical university «Reaviz», Moscow

Захаров Алексей Дмитриевич

SPIN код: 9013-6228

инженер 1-й категории лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Zakharov Aleksei

SPIN code: 9013-6228

engineer of the 1st category of the laboratory of drug toxicology FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Поварнина Полина Юрьевна

ORCID: 0000-0003-3278-8915

SPIN код: 5498-6724

зав. лабораторией лекарственной токсикологии, к. б. н., с. н. с. лаборатории пептидных биорегуляторов ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Povarnina Polina

ORCID: 0000-0003-3278-8915

SPIN code: 5498-6724

PhD, Senior Researcher, Laboratory of Peptide Bioregulators, FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Дурнев Андрей Дмитриевич

ORCID: 0000-0003-0218-8580

SPIN код: 8426-0380

зав. лабораторией лекарственной токсикологии, член-корр. РАН, д. м. н. профессор, директор ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Durnev Andrei

ORCID: 0000-0003-0218-8580

SPIN code: 8426-0380

Head of the laboratory of drug toxicology, RAS corresponding member, Ph.D., Professor, Director FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Литература / References

1. Антипова Т.А., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Исследование in vitro нейропротективных свойств нового оригинального миметика фактора роста нервов ГК-2 // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2010. – Т. 150. – № 11. – С. 538–541. [Antipova TA, Gudasheva TA, Seredenin SB. In vitro study of neuroprotective properties of GK-2, a new original nerve growth factor mimetic. *Bulleten Eksperimental'noy Biologii i Meditsiny*. 2010; 150 (11): 537–540 (In Russ).]
2. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. Методические рекомендации по изучению общетоксического действия лекарственных средств. Изучение острой токсичности. Изучение хронической токсичности. – М.: Гриф и К; 2012. – С. 15–19. [Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. CH. 1. Metodicheskie rekomendacii po izucheniyu obshchetoksicheskogo dejstviya lekarstvennykh sredstv. Izuchenie ostroj toksichnosti. Izuchenie hronicheskoy toksichnosti. Moscow: Griff i K; 2012. (In Russ).]
3. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Методические указания по изучению общетоксического действия фармакологических веществ. Изучение «острой» токсичности. Изучение «хронической» токсичности. – М.:

- Медицина; 2005. – С. 41–54. [Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv. Metodicheskie ukazaniya po izucheniyu obshchetoksicheskogo dejstviya farmakologicheskikh veshchestv. Izuchenie «ostroj» toksichnosti. Izuchenie «hronicheskoy» toksichnosti. Moscow: Medicine; 2005. (In Russ).]
4. Бельский М.Б. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. – Л.: Медгиз; 1963. [Belen'kij MB. Elementy kolichestvennoj ocenki farmakologicheskogo efekta. Leningrad: Medgiz; 1963. (In Russ).]
5. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. National Academies Press (US). Washington (DC). 2011. DOI: 10.17226/12910
6. Меркулов Г.А. *Курс патологогистологической техники. 5-е изд., испр. и доп.* – Л.: Медицина; Ленингр. отд.-ние. 1969. [Merkulov GA. *Kurs patologogistologicheskoi tekhniki*. Leningrad: Medicine; 1969. (In Russ).]
7. *Микроскопическая техника*. Руководство для врачей и лаборантов / под ред. Саркисова Д.С. и Перова Ю.Л. – М.: Медицина; 1996 [Mikroskopicheskaya tekhnika. Rukovodstvo dlya vrachei i laborantov. Ed by Sarkisov DS, Perov YuL. Moscow. Medicine; 1996. (In Russ).]
8. Сапожников А.Г., Доросевич А.Е. *Гистологическая и микроскопическая техника: Руководство*. – Смоленск: САУ; 2000. [Sapozhnikov AG, Dorosevich AE. *Gistologicheskaya i mikroskopicheskaya tekhnika: Rukovodstvo*. Smolensk: SAU; 2000. (In Russ).]