

DETERMINAREA TOXICITĂȚII CRONICE A UNUI NOU COMPUS MEDICAMENTOS COMBINAT

Sergiu Parii¹ – dr. în șt. med., conf. cercet., Vladimir Valica¹ – dr. hab. în șt. farm., prof. univ.,
Valentin Gudumac² – dr. hab. în șt. med., prof. univ., Viorel Nacu³ – dr. hab. în șt. med.,
prof. univ., Vladimir Carauș⁴ – farmacist-diriginte, Eugeniu Nicolai¹ – cercet. șt.,
Alina Ungureanu¹ – cercet. șt., Valeriana Pântea² – cercet. șt., Adrian Cociug³ – cercet. șt.,
Mariana Jian³ – cercet. șt.

¹Centrul Științific al Medicamentului (CȘM), ²Laboratorul Biochimie,

³Laboratorul Inginerie tisulară și culturi celulare al IP USMF „Nicolae Testemițanu”,

⁴SC „CSK Grup Plus” SRL

e-mail: sergiu.parii@usmf.md, tel. 0 696 16999

Rezumat

În cadrul studiului desfășurat a fost determinată toxicitatea cronică pentru compusul medicamentos combinat ce conține glicină, lecitină și dihidroquercetină (CAF-01). Rezultatul investigațiilor efectuate, conform recomandărilor internaționale ICH M3(R2), care a inclus analiza parametrilor fiziologici (masă, comportament), hematologici, biochimici și morfologici, indică nivele reduse de toxicitate. Datele obținute în urma cercetării pot servi ca premiză pentru continuarea experiențelor preclinice și inițierea studiilor clinice de stabilire a eficacității și inofensivității produsului CAF-01.

Cuvinte-cheie: toxicitatea acută, glicină, dihidroquercetină, compus medicamentos combinat

Summary. Determination of chronic toxicity of new combined drug

In the conducted study was determined to combine chronic toxicity of the drug compound which contains glycine, lecithin and dihydroquercetin (CAF-01). The results of investigations, according to international recommendations ICH M3 (R2), which included analysis of physiological (mass, behavior), hematological, biochemical and morphological parameters, indicate low levels of toxicity. Data from this research can serve as a premise for further preclinical experiments and initialization of clinical trials for establishing the efficacy and safety of CAF-01.

Key words: acute toxicity, glycine, dihydroquercetin, combined drug compound

Резюме. Определение хронической токсичности нового комбинированного лекарственного средства

В проведенном исследовании, была определена хроническая токсичность комбинированного лекарственного средства содержащего глицин, лецитин и дигидрокверцетин (CAF-01). Результаты проведенных исследований, в соответствии с международными рекомендациями ICH M3 (R2), которые включают анализ физиологических (масса, поведение), гематологических, биохимических и морфологических параметров, указывают на низкий уровень токсичности. Данные этого исследования могут служить в качестве предпосылки для дальнейших доклинических экспериментов и инициации клинических исследований для определения эффективности и безопасности препарата CAF-01.

Ключевые слова: острая токсичность, глицин, дигидрокверцетин, комбинированное лекарственное средство

Introducere. Preparatele medicamentoase combinate presupun asocierea într-un singur preparat a doi sau mai mulți agenți cu acțiune terapeutică diferită, acționând asupra mai multor mecanisme ce intervin în declanșarea stării patologice. Aminoacidul **glicina** (metabolit natural) este un neuromediator de tip inhibitor și reglator al proceselor metabolice în sistemul nervos central. Acest aminoacid reduce tensiunea psihoemoțională, crește capacitatea de muncă intelectuală, manifestă acțiune neuroprotectoare, antistres, sedativă, ameliorează metabolismul cerebral, normalizează somnul, reduce acțiunea toxică a alcoolului, nu provoacă dependență [1]. **Dihidroquerci-**

tina este un flavonoid derivat din tulpina copacilor *Larix sibirica Ledeb. si Larix Larix dahurica*. Dihidroquercitina posedă următoarele acțiuni: antioxidantă, capilaroprotectoare, regeneratoare, detoxifiantă și antiinflamatoare [2]. În cadrul CȘM al IP USMF „Nicolae Testemițanu” în colaborare cu SC ”CSK Grup Plus” (Chișinău, reprezentant oficial al companiei „Standart”) a fost elaborat un produs medicamentoas combinat (**denumirea de lucru: CAF-01**). La baza compusului propus pentru studiu se află cercetările și elaborările efectuate în cadrul produselor companiei SRL „Standart”, Federația Rusă [3,4,5]. Compoziția CAF-01 la 100 ml: glicină -1000 mg, lecitină –

1000 mg, dihidroquercetină – 130 mg, apă purificată – q.s. Forma de prezentare – suspensie în flacoane. Eventualele indicații: detoxifierea și imunocorecția în sindroame toxice de diferită etiologie, inclusiv toxicitatea medicamentoasă (chimioterapia). Anterior a fost determinată toxicitatea acută a CAF-01 conform recomandărilor *TG 423 Acute Toxic Class Method (OECD)*, s-a menționat toxicitate redusă fiind clasificată: CAF-01 clasa de toxicitate 5 și DL50/LD50 estimat >5000 mg/kg (*practic netoxice*) [8].

Obiectivul. Determinarea toxicității cronice a compusului medicamentos combinat ce conține glicină, lecitină și dihidroquercetină (CAF-01).

Material și metode. Concentrațiile farmaceutice cu dozele respective de 100 mg/kg și 1000 mg/kg a CAF-01 au fost pregătite în cadrul Laboratorului Analiză, standardizare și controlul medicamentelor al CȘM. Preparatul a fost diluat în volume constante cu soluție fiziologică de 0,9% în funcție de doza substanțelor și cantitatea de lichid maximal admisibilă pentru administrare. Dozele au fost selectate conform recomandărilor metodice [3, 7, 9] și datelor obținute la determinarea toxicității acute. Toxicitatea cronică a fost determinată în cadrul Laboratorului Evaluare preclinică și clinică a medicamentelor al CȘM pe 24 șobolani femele linia *Vistar* cu masa corporală între 210-240 g repartizați în 3 loturi a câte 8 animale, fiecare în culele separate. Substanța cercetată CAF-01 s-a administrat în 2 doze (100 și 1000 mg/kg) timp de 30 zile intern în terci alimentar. *Lotul de control a primit doar terci alimentar.* Animalele au fost supravegheate până la ingerarea completă a alimentelor. În ajun de prelevarea probelor de sânge de la șobolani au fost retrase recipientele cu mâncare. A doua zi la ora 9.00-10.00 a fost colectată proba de sânge după incizia mucoasei cavității bucale. La fiecare 7 zile animalele din toate loturile se cântăreau. Zilnic se urmărea comportamentul lor, culoarea pielii și învelișul pilos. La începutul experimentului, prin incizia pielii în regiunea inferioară a mandibulei, s-a colectat sânge pentru examinare. Inițial și peste 30 zile s-a preluat frotiu pentru examinarea formulei leucocitare. Șobolanii au fost eutanaziați peste 30 zile respectând cerințele etice. Sângele

s-a colectat pentru analize biochimice (determinarea proteinei totale, albuminei, creatininei, ureei, glucozei, colesterolului, ASAT, ALAT, fosfatazei alcaline), iar animalele au fost disecate și s-a efectuat studiul macroscopic al organelor interne. Inima, pulmonii, ficatul, splina și rinichii au fost separate, cântărite și folosite ulterior pentru studiul microscopic.

Cercetările hematologice și biochimice au fost efectuate în cadrul Laboratorului Biochimie, iar cele morfologice și histologice în Laboratorul Inginerie tisulară și culturi celulare din cadrul Laboratorului Central al IP USMF „Nicolae Testemițanu”.

Analiza statistică a fost efectuată folosind programul MS Excel și Student T-test cu stabilirea semnificației diferențelor dintre loturile comparate, $P < 0,05$ fiind considerat semnificativ. Investigațiile preclinice au fost aprobate de Comitetul de Etică al Cercetării al IP USMF „Nicolae Testemițanu”, nr. 1 din 23.09.2014.

Rezultatele studiului farmacologic

Influența asupra supraviețuirii și masei corporale. Pe parcursul studiului nu s-au constatat decese, modificări în comportamentul și activitatea motorie spontană a animalelor din grupul intact și cele experimentale. Șobolanii erau în mișcare activă, întrebunțau hrană și apă. Starea mucoaselor și învelișului cutanat era în normă, fără schimbări patologice. Culoarea urinei era galbenă deschisă. Blana animalelor avea un aspect îngrijit, lucios, fără focare de alopecie, dinții păstrați. Mucoasele vizibile erau palide, lucioase, netede. Glandele mamare ale femelelor la palpare fără indurații și fără eliminări. Organele genitale masculine normal exprimate. Deformări sau edeme a extremităților nu s-au remarcat.

Trebuie menționat faptul, că în timpul desfășurării experimentului nu s-a observat pierirea animalelor de laborator, ceea ce indică cumularea redusă a preparatului cercetat și tendința de dezvoltare a dependenței în dozele cercetate.

Rezultatele studierii dinamicii masei corporale a șobolanilor privind influența substanței medicamentoase suspensie CAF-01 administrată timp de 30 zile sunt expuse în tabelele 1-2.

REZULTATELE INVESTIGAȚIILOR HEMATOLOGICE

Tabelul 1

Influența administrării CAF-01 șobolanilor albi asupra dinamicii masei corporale

Nr.	Grup. de studiu	masa 1 zi	masa 30 zi
1.	<i>Control</i>	226,9 ± 10,13 (100%)	235,6 ± 10,63 (100%)
2.	<i>susp. 1000 mg/kg CAF-01</i>	232,5 ± 7,50* (118,9%)	231,9 ± 6,88* (112,7%)
3.	<i>susp. 100 mg/kg CAF-01</i>	230 ± 8,24* (116,8%)	223,1 ± 8,01 (108,5%)

Tabelul 2

Influența CAF-01 asupra indicilor de masă a organelor (raportul masa organului/masa corpului)

Nr.	Grup. de studiu	cord	ficat	pulmoni	rinichi	splina
1.	<i>Control</i>	1,36 ±0,09 (100%)	8,67±0,38 (100%)	2,12±0,09 (100%)	1,07±0,06 (100%)	0,92±0,06 (100%)
2.	<i>susp.1000 mg/kg CAF-01</i>	0,99 ±0,06* (72,8%)	7,06±0,48* (81,4%)	1,78±0,09* (84%)	0,83±0,01** (77,6%)	0,72±0,03** (78,3%)
3.	<i>susp. 100 mg/kg CAF-01</i>	1,06 ±0,03*# (77,9%)	8,87±0,27 (102,3%)	1,82±0,13 (85,9%)	0,99±0,01 (92,5%)	0,70±0,04** (76,1%)

Analiza datelor obținute evidențiază, că masa animalelor a crescut neînsemnat, uniform pe întreaga perioadă a studiului, precum în grupul de control așa și în grupurile care au primit doza de 100 mg/kg. În grupurile care au primit doza de 1000 mg/kg practic nu s-a constatat adăugare în masa corporală. Oricare altă diferențiere, ce ține de nivelul de dozare nu s-a remarcat. Însă nu în toate grupurile creșterea ponderală era veridică față de masa inițială.

După decapitare și prepararea organelor, s-a efectuat cântărirea lor, cu stabilirea următoarelor rezultate: în grupul CAF-01 100 mg/kg în comparație cu grupul de control după 30 zile s-a constatat o micșorare a masei rinichilor și a splinei ($p < 0,01$). În grupul CAF-01 1000 mg/kg în comparație cu grupul de control după 30 zile s-a constatat o micșorare a masei rinichilor, splinei ($p < 0,01$) și cordului ($p < 0,05$).

Referitor la indicele raportului masa ficatului/masa corpului, putem constata tendința de creștere a indicelui respectiv în loturile experimentale, îndeosebi la cele cu doza de 1000 mg/kg și mai puțin la cele cu doza de 100 mg/kg, dar aceste devieri s-au

dovedit a fi fără relevanță statistică (tab. 2). Deci, produsul medicamentos testat posedă o acțiune slabă de majorarea masei ficatului.

Rezultatele investigațiilor hematologice

Rezultatele investigațiilor hematologice sunt prezentate în tabelele 3 și 4. După cum se vede din datele prezentate, administrarea produsului medicamentos testat nu conduce la careva modificări ale indicilor eritrocitari. Numărul de eritrocite, hemoglobină (Hb), hematocrit (HCT), nu se modifică. Analiza rezultatelor obținute demonstrează, că numărul de leucocite scade autentic față de valorile martorului la administrarea suspensiei CAF-01 1000 mg/kg și 100 mg/kg (tab. 3).

În loturile de animale, supuse acțiunii suspensiei CAF-01 în ambele doze s-a înregistrat o limfopenie evidentă, manifestată prin micșorarea veridică a numărului absolut de limfocite. Influența substanțelor medicamentoase - suspensie CAF-01 asupra formulei leucocitare la șobolanii albi este prezentată în tabelul 4. Cercetările efectuate indică la o diminuare veridică a conținutului procentual de neutrofile segmentate și creșterea procentului relativ de limfocite la adminis-

Tabelul 3

Influența CAF-01 asupra indicilor sângelui periferic

Nr.	Grup. de studiu	Eritrocite *10 ¹²	Hemoglobina g/L	Hematocritul I/L	Leucocite *10 ⁹	Limfocite *10 ⁹
1.	<i>Control</i>	8,18±0,36 (100%)	171,6±10,68 (100%)	0,47±0,02 (100%)	9,25±0,19 (100%)	4,60±0,12 (100%)
2.	<i>susp. 1000 mg/kg CAF-01</i>	8,28±0,52 (101%)	176,5±10,87 (103%)	0,49±0,03 (104%)	6,73±0,41*** (73%)	3,61±0,25 ** (78%)
3.	<i>susp. 100 mg/kg CAF-01</i>	8,28±0,16 (101,2%)	164,3±3,41 (96%)	0,49±0,01 (103%)	5,70±0,27*** (62%)	3,81±0,16 ** (83%)

Tabelul 4

Influența CAF-01 asupra formulei leucocitare

Grup. de studiu	Neseg	Segmen	Eozin	Bazof	Limfocit	Monocit
<i>Control</i>	3,63±0,46 (100%)	37,4±2,11 (100%)	4,71±0,61 (100%)	1,00±0,00 (100%)	47,3±1,75 (100%)	7,38±1,07 (100%)
<i>Susp. 1000 mg/kg CAF-01</i>	4,00±0,72 (110%)	31,4±1,71 (84%)	0,00±0,00 (0%)	0,00±0,00 (0%)*	57,5±1,78 (122%)*	7,63±0,78 (103%)
<i>Susp. 100 mg/kg CAF-01</i>	4,63±0,75 (127%)	33,4±2,76 (89%)	3,17±0,70 (67%)	0,00±0,00 (0%)	51,6±2,61 (109%)	7,75±0,84 (105%)

trarea suspensiei CAF-01, mai ales, a dozelor mari de preparat față de valorile martorului.

Făcând bilanțul celor expuse mai sus, putem conchide, că substanța cercetată poate provoca o leucopenie și limfopenie dozo-dependență (mai evident la dozele 1000 mg/kg) cu o diminuare neesențială a procentului formelor segmentate și o creștere a procentului relativ de limfocite în comparație cu animalele din lotul intact după o lună de administrare.

Rezultatele investigațiilor biochimice

În tabelele 5-11 sunt prezentate datele despre acțiunea CAF-01 asupra indicilor biochimici de bază ai sângelui șobolanilor albi la studierea toxicității subacute. În loturile experimentale și cele de referință s-au

determinat un șir de parametri ce caracterizează metabolismul glucidic, proteic și lipidic, funcțiile ficatului, precum și indicii de bază ai stresului oxidativ și sistemului de protecție antioxidantă. La administrarea preparatelor medicamentoase în toate dozele cercetate modificări relevante ale indicilor metabolismului proteic și azotic în grupele animalelor luate în experiență în raport cu martorul nu au fost înregistrate (tab. 5 și 6).

Influența preparatului medicamentos CAF-01 asupra stării funcționale a ficatului a fost evaluată prin studierea activității transaminazelor ALAT, ASAT și fosfatazei alcaline (FA). Din datele prezentate în tabelul 7 și 8 reese, că suspensia CAF-01 în doza de

REZUTATELE INVESTIGAȚIILOR BIOCHIMICE

Tabelul 5

Influența administrării CAF-01 asupra indicilor metabolismului proteic și azotic

Grup. de studiu	Prot. tot., g/L	Albumina, g/L	Ureea, mM/L	Creatinina, μM/L
Control	64,1±0,76 (100%)	31,1±0,59 (100%)	4,67±0,26 (100%)	62±3,79 (100%)
susp. CAF-01 1000mg/kg	62,1±1,18 (97%)	33,9±0,69** (109%)	5,49±0,23** (118%)	64,2±3,28*** (104%)
susp. CAF-01 100mg/kg	63,3±1,33 (99%)	34,3±0,55*** (110%)	5,46±0,21*** (117%)	67,5±2,78*** (109%)

Tabelul 6

Influența CAF-01 asupra nivelului transaminazelor ALAT și ASAT și fosfatazei alcaline în serul sanguin

Grup. de studiu	ALAT, u/L	ASAT, u/L	Fosfataza alcalină, u/L
Control	22,1±0,68 (100%)	30,4±0,90 (100%)	206,5±11,24 (100%)
susp. CAF-01 1000mg/kg	15,8±0,61 (71%)	25±1,13** (82%)	208,5±11,41 (101%)
susp. CAF-01 100mg/kg	15,6±0,82 (70%)	25,6±1,63* (84%)	180,8±11,33 (88%)

Tabelul 7

Influența CAF-01 șobolanilor albi asupra principalilor indici ai metabolismului glucidic și lipidic

Grup. de studiu	Glucoza, mM/L	Colesterol, mM/L	Trigliceride, mM/L
Control	4,85±0,14 (100%)	4,71±0,07 (100%)	1,57±0,01 (100%)
susp. CAF-01 1000mg/kg	4,96±0,13 (102%)	4,92±0,07 (104%)	1,64±0,02** (104%)
susp. CAF-01 100mg/kg	4,95±0,10 (102%)	5,09±0,13* (108%)	1,59±0,01 (101%)

Tabelul 8

Influența administrării CAF-01 asupra principalilor indici ai metabolismului mineral

Grup. de studiu	Calciu, mM/L	Fosfor, mM/L	Grup. de studiu	Calciu, mM/L	Fosfor, mM/L
Control	2,41±0,03 (100%)	1,67±0,05 (100%)	gel contr. CAF-02	2,24±0,04 (100%)	1,88±0,12 (100%)
susp. CAF-01 1000mg/kg	2,23±0,08 (93%)	1,70±0,07 (102%)	gel CAF-02 1000mg/kg	2,47±0,04 (110%)	1,99±0,04 (106%)
susp. CAF-01 100mg/kg	2,29±0,03** (95%)	1,79±0,06 (107%)	gel CAF-02 100mg/kg	2,47±0,02 (110%)	1,99±0,05 (106%)

Tabelul 9

Influența administrării CAF-01 șobolanilor albi asupra principalilor indici ai stresului oxidativ

Grup. de studiu	AGEs, µg/ml	PPOA, µM/L	AIM, mM/L
Control	1435,8±23,76 (100%)	21,2±1,60 (100%)	0,54±0,01 (100%)
susp. CAF-01 1000mg/kg	1490,2±93,43 (104%)	24,2±1,70 (114%)	0,54±0,01 (100%)
susp. CAF-01 100mg/kg	1447,4±34,53 (101%)	29,9±3,41** (141%)	0,53±0,01 (98%)

AGEs - produşii finali de glicare avansată; PPOA - produşii proteici de oxidare avansată; AIM - albumina ischemic modificată

Tabelul 10

Influența administrării CAF-01 asupra principalilor indici ai sistemului antioxidant și asupra conținutului de SH-grupe ale proteinelor și albuminelor serice.

Grup. de studiu	AAT-ABTS mM/L	AAT-Cuprac nM/L	SH-grupe a prot. µM/g.Prot	SH-grupe albumine µM/g.album.
Control	3,58±0,07 (100%)	771,8±20,51 (100%)	7,59±0,56 (100%)	3,67±0,28 (100%)
susp. CAF-01 1000mg/kg	3,63±0,07 (101%)	418,5±46,30*** (54%)	8,37±0,70 (110%)	4,59±0,39 (125%)
susp. CAF-01 100mg/kg	3,65±0,08 (102%)	396,4±50,51*** (51%)	9,67±0,73* (127%)	5,33±0,48** (145%)

NOTĂ: * - diferență statistic semnificativă cu lotul-martor; $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$ la CAF-01

100 mg/kg și 1000 mg/kg, determină micșorarea nesemnificativă a activității ALAT și ASAT, iar funcția FA nu se modifică. Deci, preparatul CAF-01 nu manifestă efecte hepatotoxice. CAF-01 la administrarea în dozele de 100 mg/kg și 1000 mg/kg timp de 30 zile nu provoacă modificări cu semnificație statistică ale nivelului glicemiei, colesterolului total și trigliceridelor serice. Această substanță nu provoacă modificări esențiale ale concentrației de calciu și fosfor. De notat că, valorile medii ale acestui indice nu depășesc limita de sus al normei de referință pentru calciu care oscilează între 2,25 - 2,75 mmol/l. Astfel, administrarea în dozele cercetate timp de 30 zile nu provoacă tulburări ale metabolismului proteic, glucidic, lipidic, mineral și funcțiilor ficatului.

Din datele expuse în tab.8 și 9 rezultă că, administrarea CAF-01 șobolanilor albi timp de 30 zile nu influențează principalii indici ai stresului oxidativ – AGEs, PPOA și AIM. Excepție constituie PPOA care crește la administrarea în doza 100 mg/kg. Rezultatele investigațiilor expuse în tab.10 atestă că suspensia CAF-01 luată în studiu nu modifică AAT-ABTS, dar scade veridic AAT-Cuprac, ceea ce ar putea fi legată de reducerea rezervelor de antioxidanți (AO) hidrosolubili. Paralel se înregistrează creșterea statistic veridică a conținutului de SH-grupe ale proteinelor și albuminelor serice, mai pronunțată la administrarea suspensiei CAF-01 în doza 100 mg/kg, fapt ce potențează sistemul antioxidant prin reducerea deficitului

de AO hidrosolubili. Astfel, administrarea CAF-01 în dozele cercetate timp de 30 zile nu manifestă acțiune toxică asupra metabolismului proteic, lipidic și mineral, precum și a funcțiilor ficatului organismului șobolanilor albi. Substanțele medicamentoase testate influențează pozitiv asupra echilibrului dintre sistemele pro-și antioxidante.

Rezultatele cercetării patomorfologice

Modificări patomorfologice vizuale ale creierului, inimii, trheei, bronhiilor, plămânilor, efogului și intestinelor, ficatului, pancreasului, splinei, rinichilor, vezicii urinare, ovarelor la animalele care au primit substanța cercetată și grupul de control nu au fost constatate. La examinarea cavității toracice și abdominale exudat nu s-a depistat și modificări în amplasarea organelor interne nu s-au observat. Foițele parietală, viscerală a pleurei și peritoneale sunt subțiri, lucioase și netede.

Rezultatele cercetării histologice. Obiectele au fost fixate în formalină de 10% și în parafină. Secțiunile organelor interne au fost colorate cu hematoxină-eozină după Van Gison. La examinarea preparatelor histologice a organelor studiate a animalelor din grupul de control și celor tratate cu produsele testate în doză de 100 mg/kg și 1000 mg/kg – diferențe nu s-au remarcat. Epiteliul traheei, bronhiilor mari – fără modificări, nucleeele celulelor bine conturate. Alveolele lobilor plămânilor cu conținut de aer. Nucleeele epitelului alveolar sunt clar delimitate, citoplasma

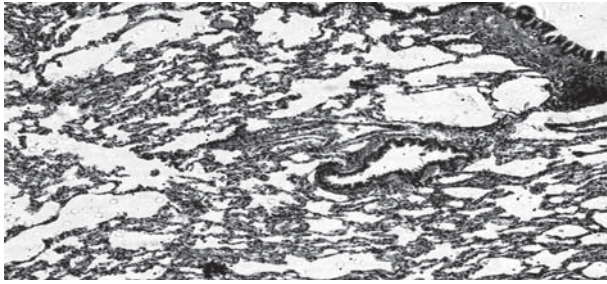


Fig. 1. Șobolani 003-1000 mg/kg 14. pulmonii. a) sectoare cu emfizem cu dilatarea alveolelor, b) exfolierea epitelului ciliar, d) congestie vasculară acută. H-Ex90.

a) sectoare de emfizem cu dilatarea alveolelor, b) bronhiilor mari - fără modificări, nucleele celulelor bine conturate, epitelul ciliar exfoliat, c) congestie venoasă acută, d) nucleele epitelului alveolar sunt clar delimitate, citoplasma - oxifilă. Epiteliul bronhiilor intrapulmonare fără schimbări. Modificări inflamatorii acute în țesutul pulmonar nu s-au depistat.

- oxifilă. Epiteliul bronhiilor intrapulmonare fără schimbări. Modificări inflamatorii acute în țesutul pulmonar nu s-au depistat (fig. 1).

Structura trabeculară a ficatului în secțiune, obținută din diferite obiecte a lobilor ficatului, modificări nu prezenta. Limitele hepatocitelor bine determinate, citoplasma granulară, slab oxifilă. Dereglări a proprietăților tinctoriale a citoplasmei nu s-au observat. Nucleele conțin nucleotide bine conturate și cu suficientă cromatină. Membrana nucleară este subțire. Sinusoidele hepatice - pline cu sânge (fig. 2). Capilarele glomerulare și a țesutului interstițial al rinichilor congestionate, citoplasma epitelului tubilor proximali a rinichilor oxifilă, limitele celulelor se disting bine, nucleele nefroepitelului sunt deschise și clare. Elementele limforeticulare ale splinei - cu nuclee clar delimitate, distrugere sau atrofie de foliculi nu este. În pulpa roșie a splinei se observă focare de hematopoieză cu megacariocite unice.

Astfel, conform rezultatelor studiului histologic administrarea zilnică a preparatului testat în doza de 100 și 1000 mg/kg timp de 30 zile și a grupurilor de control la șobolani de ambele sexe nu cauzează iritații, inflamarea sau distrugerea țesuturilor și nu este însoțită de dezvoltarea modificărilor degenerative, distructive, modificări de focare sclerotice în celulele parenchimatose și stroma organelor interne.

Concluzii:

1. Conform studiului efectuat, am determinat, că preparatul CAF-01 suspensie este practic netoxic și nu posedă proprietăți cumulative. Administrarea îndelungată a produsului medicamentos elaborat nu duce la dezvoltarea proceselor toxice în organismul animalelor.

2. Rezultatele toxicității cronice ne permit să recomandăm produsul cercetat pentru continuarea stu-

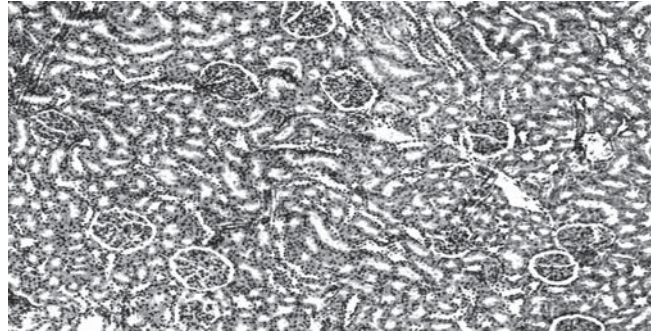


Fig. 2. Șobolani 003-100 mg. Ficatul cu. a) tumescența citoplasmei cu formare de granule în zonele perilobulare, b) dilatarea spațiilor Disse, c) edem pericentrolobular. H-Ex90

diilor preclinice farmacologice preclinice de determinare a eficacității și inofensivității, precum și planificarea ulterioară a strategiei studiului clinic.

Bibliografie

1. Смирнов, Л.Д. Модуляция иммунного ответа антиоксидантами. Химико-фармацевтический журнал. Москва, 1989, № 7. стр. 773-784.
2. Loke W.M., Proudfoot J.M., Stewart S., McKinley A.J., Needs P.W., Kroon P.A., Hodgson J.M., Croft K.D. Metabolic transformation has a profound effect on anti-inflammatory activity of flavonoids such as quercetin: lack of association between antioxidant and lipoxygenase inhibitory activity. *Biochem. Pharmacol.* 2008, 75(5):1045-1053.
3. Хабриев Р.У. и соавт. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Москва, 2005, 827 стр.
4. С. Matcovschi, V. Procopișin, B. Parii. Ghid farmatocoterapeutic. Chișinău, 2006, 1157 pag.
5. А. А. Уминский, Б. Х. Хавстеен, Б. Ф. Баканева. Биохимия флавоноидов и их значение в медицине. Монография. Пушино, 2007, 250 стр.
6. S.Parii, V.Valica, V.Caraus, A.Ungureanu, E.Nicolai, A.Cojocaru. Evaluarea toxicității acute a unor noi compuși medicamentoși combinați. În: Revista Farmaceutică a Moldovei, Chișinău, 2015, nr. 1-2, p. 35-38.
7. Committee of experts of dangerous goods and on the globally harmonized system of classification and labeling of chemicals of United Nations *Sub-Committee of Experts on the Transport of Dangerous Goods* (Twenty-first session, 1-10 July 2002, 8 p.
8. Oecd guideline for testing of chemicals. *Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method* 17th December 2001, 11 p.
9. Н. Н. Каркищенко, С. В. Грачева и соавт. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях. Москва. 2010, 358 стр.