

4. Майлян Д. Э., Коломинец В. В. Роль дефицита магния в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний: современное состояние проблемы / Д. Э. Майлян, В. В. Коломинец // Российский кардиологический журнал. – 2017. – № 6 (146). – С. 167-172.

5. Громова О. А. О фармакологических взаимодействия магния с антибиотиками и дефиците магния, возникающем в результате антибиотикотерапии / О. А. Громова, И. Ю. Торшин, В. С. Моисеев // Терапия. – 2017. – № 1. – С. 135-143.

6. Способ оценки комплексообразующих свойств лекарственных веществ по отношению к соединениям магния [Электронный ресурс]: пат. 2680519 Российская Федерация; МПК G01N 33/48, G01N 33/15 / Белоконова Н. А., Изможерова Н. В., Бахтин В. М. ; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России. – № 2017138727; заявл. 07.11.2017; опубл. 22.02.2019 // Изобретения. Полезные модели: офиц. бюл. – Москва: ФИПС, 2019. – № 6. Режим доступа:http://www1.fips.ru/wps/PA_FipsPub/res/BULLETIN/IZPM/2019/02/27/IN_DEX_RU.HTM.

УДК 59.084

**Данишевская А.А., Казанцева Я.В., Колесникова И.С., Кучерова А.А.,
Пестов Д.В., Салихов Р.Е., Сизикова Е.А., Шамбатов М.А., Шмотьев Г.А.,
Бахтин В.М., Шутова Ж.В., Изможерова Н.В.**

**МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОЦЕНКИ
ГЕПАТОТОКСИЧНОСТИ И КАРДИОТОКСИЧНОСТИ
ЛЕФЛУНОМИДА НА КРОЛИКАХ**

Кафедра фармакологии и клинической фармакологии
Уральский государственный медицинский университет
Екатеринбург, Российская Федерация

**Danichevskaya A.A., Kazanceva Ya.V., Kolesnikova I.S., Kucherova A.A.,
Pestov D.V., Salikhov R.E., Sizikova E.A., Shambatov M.A., Shmotev G.A.,
Bakhtin V.M., Shutova Zh.V., Ismozherova N.V.**

**DESIGN OF HEPATOTOXICITY AND CARDIOTOXICITY
EXPERIMENTAL EVALUATION OF LEFLUNOMID IN RABBITS**

Chair of pharmacology and clinical pharmacology
Ural state medical university
Yekaterinburg, Russian Federation

E-mail: bakhtin.v95@mail.ru

Аннотация. В статье представлена методология проведения эксперимента на кроликах по оценке гепатотоксичности лефлуномида на фоне приёма эссенциальных фосфолипидов. Подобрана модель введения препарата,

разработана концепция манипуляций для оценки гепатотоксичности: забор крови, взвешивание, биопсия печени, а также кардиотоксичности – снятие электрокардиограммы.

Annotation. The article deals the experiment methodology on rabbits in order to assess hepatotoxicity of leflunomide during the intake of essential phospholipids. A model of drug administration was chosen, a concept of manipulations for evaluation of hepatotoxicity was developed, which includes blood sampling, weighing, liver biopsy as well as cardiotoxicity – electrocardiography.

Ключевые слова: лефлуномид, фосфолипиды, кролики.

Keys words: leflunomide, phospholipids, rabbits.

Введение

Одно из базисных средств терапии ревматоидного артрита – ингибитор дигидрооротатдегидрогеназы лефлуномид.

В большинстве случаев проявление гепатотоксичности лефлуномида отмечается в течение первых 6 месяцев его применения [7]. Уровни трансаминаз, как правило, возвращаются к нормальным значениям в течение 4–6 недель после прекращения лечения или уменьшения дозы лефлуномида с 20 мг/день до 10 мг/день [5]. Предполагают, что гепатотоксичность во многом определяется дозой препарата и может успешно контролироваться путем её снижения до 10 мг/день [3]. Однако нужно учитывать, что лефлуномид является пролекарством – его метаболиты еще долгое время циркулируют в организме после отмены. Основной из них, с которым связывают механизм действия препарата, получил номер А77 1726. С этим может быть связано отсроченное проявление токсичности [6].

Установлено, что одним из механизмов токсичности лефлуномида является стресс эндоплазматического ретикулума, с которым связана митохондриальная деструкция [8]. Существуют данные исследований *in vitro*, демонстрирующие, что А77 1726 является менее цитотоксичным, чем сам лефлуномид [8]. Важно также то, что препарат вызывает снижение концентрации АТФ и высвобождение лактатдегидрогеназы, ведущих к гибели клетки [7].

Для снижения гепатотоксичного действия лефлуномида возможно использование гепатопротекторов, повышающих устойчивость печени к патологическим воздействиям, усиливающих её детоксикационную функцию путём повышения активности ферментных систем (включая цитохром р450 и другие микросомальные ферменты) и способствующих регенерации после воздействия повреждающего фактора.

Актуальным является проведение доклинических испытаний эффективности различных гепатопротекторов на модели токсического гепатита, индуцированного лефлуномидом. С точки зрения возможности многократного забора биоматериала и проведения диагностических исследований у лабораторных грызунов в динамике кролик представляется

более удобным объектом эксперимента, чем крысы и мыши. Общепринятой методики оценки гепатотоксичности и кардиотоксичности лефлуномида на кроликах не разработано.

Цель исследования – разработать методику экспериментальной оценки гепатотоксичности и кардиотоксичности лефлуномида в сочетании с гепатопротекторами на примере эссенциальных фосфолипидов на кроликах.

Материалы и методы исследования

В исследовании были использованы 4 половозрелые самки кролика, выведенные в виварии УГМУ. Продолжительность введения препарата составила 56 дней.

С помощью рандомизации методом конвертов животные были разделены на 2 группы:

Группа 1: N = 2, лефлуномид 4 мг/кг перорально (композиция № 1);

Группа 2: N = 2, лефлуномид 4 мг/кг + эссенциальные фосфолипиды 40 мг/кг перорально (композиция № 2).

В ходе литературного поиска не было найдено исследований токсичности лефлуномида на кроликах. В эксперименте [5], проводимом на крысах, животные получали препарат в дозе 8 мг/кг. На основании коэффициентов пересчёта эквивалентных доз для человека (6,2 для крысы, 3,1 для кролика [1]) была выбрана соответствующая доза для кролика – 4 мг/кг. Доза эссенциальных фосфолипидов была подобрана на основании эксперимента [2] и составила 40 мг/кг.

Согласно классическим методикам проведения доклинических испытаний на кроликах препарат вводится непосредственно в пищевод путём зондового кормления. Для снижения воздействия связанного с этим стрессового фактора композиции готовились на основе яблочного пюре, маскирующего горький вкус препарата, и вводились перорально за зубной ряд через укороченный металлический зонд. Для тренировки животных за 14 дней до начала эксперимента было начато введение яблочного пюре без препарата.

В качестве источника лефлуномида был использован препарат Элафра®, Ромфарм Компани С.Р.Л., Германия, в форме таблеток, покрытых оболочкой, содержащих 20 мг действующего вещества. Источником эссенциальных фосфолипидов был выбран препарат Эссенциале® форте Н, А. Наттерман энд Сие, Германия, в форме капсул, содержащих 300 мг действующего вещества.

Количество препарата для разового приготовления композиции рассчитывалось на приём двумя кроликами со средней массой тела 5 кг в течение 7 дней. Для приготовления композиции № 1 14 таблеток препарата, содержащие 280 мг лефлуномида, измельчали и смешивали с 30 мл яблочного пюре. При соединении компонентов объём композиции уменьшался, в связи с чем фактически полученное количество делилось на 14 порций, каждая из которых помещалась в индивидуальный шприц.

Для приготовления композиции № 2 также использовали 14 таблеток препарата, которые смешивали с 30 мл яблочного пюре и 2800 мг

эссенциальных фосфолипидов (3788,9 мг в пересчёте на исходный препарат), а далее подготавливали как композицию № 1. Шприцы с препаратами хранились в холодильнике при температуре +4...+6°C в течение 7 дней. Введение осуществлялось ежедневно в 17:00 в течение 56 дней.

Массу животных определяли с помощью электронного безмена путём взвешивания в контейнере. Измерение проводилось перед началом эксперимента, на 28 и 56 дни введения препарата.

Забор крови для проведения биохимического анализа осуществляли из краевой ушной вены. Кожа раздражалась изопропиловым спиртом для индукции гиперемии и усиления наполнения вен. Кровь каждого кролика собирали в 2 вакутейнера для биохимического анализа крови (жёлтая крышка), центрифугировали в низкоскоростной настольной центрифуге при 3000 об/мин в течение 30 мин. Допускалась однократная заморозка сыворотки до момента проведения анализа. Маркерами токсичности лефлуномида служили общий белок, альбумин, общий билирубин, аспартатаминотрансфераза, аланинаминотрансфераза, креатинин.

На 56 день эксперимента каждому кролику была проведена секционная биопсия печени. Операция включала внутримышечную анестезию (Золетил 0,2 мг/кг). Операционное поле обрабатывалось спиртом и повидон-йодом. Доступ – верхняя срединная лапаротомия. Нижний край печени выводился в рану, часть его резецировалась. Резектат делился на две части (от 3 до 4 мм), которые немедленно помещались в нейтральный формалин 10% (80-100 мл на один образец биопата). Накладывался гемостатический шов на край печени. Апоневроз и мышцы ушивались первым рядом одиночных узловых швов, кожа – вторым. Рана обрабатывалась спреем Террамицин. Накладывалась асептическая повязка. В послеоперационном периоде проводилась антибиотикопрофилактика, обработка операционной раны и анальгезия.

Электрокардиография проводилась на 0 и 56 дни эксперимента. Кролика фиксировали на рабочем столе в положении лежа на спине. Electroды в виде игл вводились подкожно в дистальные участки конечностей животного. Скорость записи – 50 мм/с, вольтаж – 10 мВ/см.

В качестве маркера кардиотоксичности рассчитывался интервал QTc по формуле Фредерика: $QTc = \frac{QT}{\sqrt[3]{RR}}$ [4].

Результаты исследования и их обсуждение

Предложенная методика в ходе апробации продемонстрировала ряд положительных и отрицательных сторон.

Использованный способ введения препарата практически не вызывал стресса у животных.

Вакутейнеры как средство забора крови отличались удобством применения.

Яблочное пюре имеет совершенно иные физико-химические свойства, чем вода. Для дозирования приготовленных на его основе композиций

использовали индивидуальные шприцы, содержащие точное количество препарата на одно введение одному животному.

Была проведена прижизненная биопсия печени. Введение препарата после забора биоптата не прекращается, что позволяет неоднократно исследовать патоморфологические изменения органа в динамике на протяжении эксперимента.

Предлагаемая методика электрокардиографии связана с болезненным введением игл в конечности, способным повлиять на результат исследования. В связи с этим требуется разработка неинвазивной методики выполнения электрокардиографии у кроликов.

Выводы:

1. Разработана модель композиции и способ перорального введения лефлуномида кроликам;
2. Разработана методика прижизненной биопсии печени у кролика, что даёт возможность оценки динамики изменения патоморфологических изменений;
3. Требуется разработка неинвазивной методики выполнения электрокардиографии у кролика.

Список литературы:

1. Безопасность лекарств: от доклиники к клинике : монография / Т. А. Гуськова, А. Л. Хохлов, Б. К. Романов [и др.] ; под ред. А. Л. Хохлова. – Москва-Ярославль : ООО «Фотолайф», 2018. – 275 с.
2. Гепатопротекторы в устранении алкогольных повреждений печени. / А. С. Василевская, М. А. Бутов, Д. Г. Узбекова [и др.] // ЭиКГ. – 2013. – № 12. – с. 79 – 83.
3. Лефлуномид: токсические особенности (обзор литературы) / О. Н. Воловикова, Е. И. Михайлова Г. Г. Дундарова [и др.] // Проблемы здоровья и экологии. – 2014. – №4 – с. 30 – 34.
4. Руководство по измерению QT при проведении ЭКГ мониторинга в рамках внедрения новых лекарственных препаратов и краткосрочных схем лечения [Электронный ресурс]: М. Куэлапио, Г. Дравниеце, Ф. Варес [и др.]. – США, 2017. – URL: <https://docplayer.ru/54185727-Rukovodstvo-po-izmereni...> (Дата обращения: 22. 11.2018).
5. Myelosuppressive and hepatotoxic potential of leflunomide and methotrexate combination in a rat model of rheumatoid arthritis / S. E. Bilasy, S. S. Essawy, M. F. Mandour [etc.] // Pharmacol Rep. – 2015. – № 67. – p. 102 – 114.
6. Emery P. A. A comparison of the efficacy and safety of leflunomide and methotrexate for the treatment of rheumatoid arthritis / P. A. Emery, F. C. Breedveld, E. M. Lemmel // Rheumatology. – 2000. – № 39. – p. 655–665.
7. Mossalam H.H., A. Y. Yousuf. Hepatotoxic potential of leflunomide drug in adult male albino rats / H. H. Mossalam, A. Y. Yousuf // Al-Azhar Assiut Medical Journal. – 2013. – № 11. – p. 284 – 309.

8. Endoplasmic reticulum stress and MAPK signaling pathway activation underlie leflunomide-induced toxicity in HepG2 Cells. / Z. Ren, S. Chen, T. Qing [etc.] // Toxicology. – 2017. – № 392. p. 11 – 21.

УДК 615:242

**Дементьева К.Д., Мягких А.О., Бакуринских А.А., Ларионов Л.П.
ДЕЙСТВИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЙ КОМПОЗИЦИИ НА
РЕПАРАТИВНУЮ СПОСОБНОСТЬ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ
ПОЛОСТИ РТА ПОСЛЕ КУРСОВОГО ЛЕЧЕНИЯ
КОМБИНИРОВАННОЙ ТРАВМЫ**

Кафедра фармакологии и клинической фармакологии
Уральский государственный медицинский университет
Екатеринбург, Российская Федерация

**Dementieva K.D., Myagkih A.O., Bakurinskikh A.A., Larionov L.P.
THE EFFECT OF THE PHARMACOLOGICALLY ACTIVE COMPOSITION
ON THE REPARATIVE ABILITY OF THE ORAL MUCOSA AFTER THE
COURSE OF TREATMENT OF THE COMBINED INJURY**

Department of pharmacology and clinical pharmacology
Ural state medical university
Ekaterinburg, Russian Federation

E-mail: tinahodges124@gmail.com

Аннотация. В статье рассмотрены морфологические результаты лечения комбинированной травмы слизистой оболочки полости рта II-IIIa степени при применении фармакологически активной композиции на основе кремнийорганического глицерогеля «Силативит», гидроксиапатита (ГАП) и бифидумбактерина («СГБ») в сравнении с препаратом «Солкосерил». Эксперимент показал, что на 14 сутки лечения композицией «СГБ» в проекции травмы происходит образование соединительно-тканного рубца, но сохраняется умеренная лимфоидная инфильтрация. В группе сравнения при применении дентальной адгезивной пасты «Солкосерил» выявлены признаки формирования гранулемы, что говорит о продолжении воспалительного процесса.

Annotation. The article discusses the morphological results of the treatment of combined injury of the oral mucosa II-III degree when using the pharmacologically active composition based on the silicone glycerogel Silativit, hydroxyapatite (GAP) and bifidumbacterin ("GBS") in comparison with the drug Solcoseryl. The experiment showed that on the 14th day of treatment with the "GBS" composition in the projection of injury, a connective tissue scar is formed, but moderate lymphoid infiltration remains. In the comparison group, the use of dental adhesive paste