

Н.А. Забокрицкий

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ НОВЫХ БИОСОЕДИНЕНИЙ

ФГБУН Институт иммунологии и физиологии УрО РАН,
г. Екатеринбург, Российская Федерация

Резюме. В работе представлены экспериментальные результаты фармакологической оценки безопасности и токсичности применения разработанных новых биосоединений. **Цель исследования:** провести экспериментальную фармакологическую оценку острой токсичности на лабораторных животных разработанных новых биосоединений при внутрибрюшинном введении. **Материалы и методы.** Экспериментальную фармакологическую оценку острой токсичности разработанных новых биосоединений проводили на лабораторных животных (белых мышах) при внутрибрюшинном введении. В работе использовали экспериментальные образцы новых пробиотиков «Феникс-1» и «Феникс-2» на основе сапрофитных микроорганизмов вида *Bacillus subtilis*. Наблюдение за животными осуществляли в течение двух недель. В ходе наблюдений фиксировали изменения внешнего вида, состояния кожи и шерсти, глаз и слизистых, дыхания, поведения, двигательной активности, дефекации и мочеиспускания; особое внимание уделяли оценке возможных явлений тремора, конвульсий и судорог, слюноотделения, диареи, летаргии, сна и комы. Ежедневно проводили замеры массы тела животных. Через две недели проводили выведение животных из эксперимента натошак под наркозом. **Результаты исследования** показали, что экспериментальные образцы «Феникс-1» и «Феникс-2» при внутрибрюшинном однократном введении мышам не обладают выраженной острой токсичностью. При внутрибрюшинном введении летальность животных отсутствует, влияние препаратов на состояние и поведение животных, массу тела, массу печени и желудка, макроскопическое состояние органов при вскрытии, микроскопическое состояние печени, желудка и тонкого кишечника не обнаружено; гематологические показатели периферической крови не отличаются от контроля и не выходят за пределы физиологических норм.

Ключевые слова: пробиотики, биосоединения, экспериментальная оценка, острая токсичность, безопасность в применении

Конфликт интересов отсутствует.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:

Забокрицкий Николай Александрович

pharmusma@rambler.ru

Дата поступления: 01.09.2024

Образец цитирования: Забокрицкий Н.А. Экспериментальная фармакологическая оценка безопасности применения новых биосоединений. [Электронный ресурс] Вестник уральской медицинской академической науки. 2024, Том 21, № 4, с. 488–498, DOI: 10.22138/2500-0918-2024-21-4-488-498

Введение

С современных позиций известно, что медицинские иммунобиологические препараты (МИП) являются весьма эффективными иммуностимулирующими средствами для лечения и коррекции иммунопатологических состояний [1, 2]. Кроме того, многие подобные лекарственные соединения являются перспективными для разработки и создания новых противомикробных препаратов. Известно, что одной из распространенных фармакологических групп, принадлежащих к МИП, являются пробиотики, эубиотики и метабиотики [3, 4]. Так, отечественными и зарубежными исследователями отдается предпочтение пробиотикам и метабиотикам при разработке новых лекарственных кандидатов [4-6]. Весьма целесообразно отметить, что сегодня активно ведётся поиск новых направлений использова-

ния пробиотиков и метабиотиков, например, иммунопротекторов, иммунокоректоров, гепатопротекторов, иммуномодуляторов и других соединений [7, 8]. В проведенных нами ранее исследованиях гепатопиктов – перспективных биологически активных соединениях, продуцируемых микроорганизмами сенной палочки, было установлено и гепатопротективные свойства. В связи с этим, представлялось целесообразным выполнить исследования по фармакологической оценке безопасности и токсичности применения разработанных новых биосоединений.

Цель: провести экспериментальную фармакологическую оценку острой токсичности на лабораторных животных разработанных новых биосоединений при внутрибрюшинном введении.

Материалы и методы

Лабораторные животные

Оценка острой токсичности препаратов «Феникс-1», «Феникс-2» проведена на беспородных белых мышах в трех концентрациях 2×10^6 кл/мл, 5×10^6 кл/мл, 10×10^6 кл/мл. В каждой группе было по 5 животных.

Введение препаратов выполняли внутрибрюшинно, однократно, в утренние часы натощак. Перед введением препаратов проводили оценку массы тела животных. Внутрибрюшинное введение проводили в объеме 0,5 мл/20 г массы тела животного. Внутрижелудочное введение – в объеме 0,2 мл/20 г массы тела мыши согласно ГОСТ 32296-2013 «Методы испытаний по воздействию химической продукции на организм человека. Основные требования к проведению испытаний по оценке токсичности при внутрижелудочном поступлении методом фиксированной дозы». При внутрижелудочном введении препараты вводили через зонд. Контрольная группа мышей получала физиологический раствор хлорида натрия 0,9% в аналогичном объеме.

Наблюдение за животными проводили 14 дней. В ходе наблюдений фиксировали изменения внешнего вида, состояния кожи и шерсти, глаз и слизистых, дыхания, поведения, двигательной активности, дефекации и мочеиспускания; особое внимание уделяли оценке возможных явлений тремора, конвульсий и судорог, слюноотделения, диареи, летаргии, сна и комы. Ежедневно проводили замеры массы тела животных. Через 14 дней проводили выведение животных из эксперимента натощак под наркозом (2% Ксилазин, Золетил-100, изофлуран).

Образцы крови брали у животных под наркозом из бедренной вены в пробирку с КЗ-ЭДТА для проведения общего анализа и измерения СОЭ, проведения биохимических исследований (общий белок, общий холестерин, глюкоза, АСТ, АЛТ, ЩФ). Затем всех подопытных животных подвергали общей некропсии. Оценивали общее макроскопическое состояние органов животных, проводили определение относительной массы печени, желудка.

Исследование гематологических показателей

Анализ периферической крови проводили на автоматизированном гематологическом анализаторе BC-2800 Vet (Mindray, Китай), предназначенном для исследования крови животных. Забор крови осуществляли в специально предназначенные пластиковые пробирки, содержащие КЗЭДТА в качестве антикоагулянта. Проводился автоматический подсчет следующих показателей крови:

- WBC – абсолютное количество лейкоцитов (10^3 /мкл);
- Lym# – абсолютное количество лимфоцитов (10^3 /мкл);
- Mon# – абсолютное количество моноцитов (10^3 /мкл);
- Grn# – абсолютное количество гранулоцитов (10^3 /мкл);
- Lym% – относительное содержание лимфоцитов (%);
- Mon% – относительное содержание моноцитов (%);
- Grn% – относительное содержание гранулоцитов (%);
- RBC – абсолютное количество эритроцитов (10^6 /мкл);
- Hb – содержание гемоглобина (г/дл);
- Hct – гематокрит (%);
- MCV – средний объем эритроцитов (фл);
- MCH – среднее содержание гемоглобина в эритроците (пг);
- MCHC – средняя концентрация гемоглобина в эритроците (г/дл);
- RDW – распределение эритроцитов по размеру (%);

Plt# – содержание тромбоцитов ($10^3/\text{мкл}$);

Pct – тромбоциты (%);

MPV – средний объем тромбоцитов (фл);

PDW – распределение тромбоцитов по размеру (%).

Определение СОЭ проводили ручным способом с помощью капилляра Панченкова с оценкой результатов через 1 час.

Биохимическое исследование

Для определения в плазме крови активности АСТ, АЛТ и щелочной фосфатазы, содержания глюкозы, общего белка и общего холестерина (ОХС) использовали наборы реактивов «Витал Диагностикс» (Санкт-Петербург). Рассчитывали соотношение АСТ/АЛТ (коэффициент де Ритиса). Оптическую плотность определяли на спектрофотометре СФ-56 ЛОМО-Спектр (Санкт-Петербург).

Статистический анализ

Статистический анализ проводили с использованием пакета статистических программ STATISTICA 6.0 (StatSoft, Inc. 2001). Данные представлены в виде среднего арифметического (M) и стандартной ошибки среднего (m). Для проверки гипотезы об однородности двух независимых выборок использовали непараметрический критерий Манна-Уитни (Mann-Whitney U test), для нескольких независимых выборок использовали непараметрический критерий Краскела-Уоллиса (Kruskal Wallis H test), для связанных выборок – критерий Вилкоксона (Wilcoxon signed-rank test). При проверке статистических гипотез использовали 5% уровень значимости.

Результаты

Однократное внутрибрюшинное введение физраствора, а также препарата «Феникс-1» в дозировке 2×10^6 кл/мл и 10×10^6 кл/мл, приводило к значимому снижению массы тела мышей при сравнении показателя исходно и при забое (критерий Вилкоксона; $p < 0,05$) (Табл. 1). Поскольку данный эффект наблюдался в том числе и для контрольных мышей, по-видимому, он не связан с влиянием вводимых препаратов. Введение препаратов внутрибрюшинно не оказывало значительного влияния на массу печени и желудка у исследуемых животных (Табл. 1).

Гематологический анализ периферической крови

При оценке влияния однократного внутрибрюшинного введения препаратов на гематологические показатели периферической крови отмечается эффект «Феникс-1» на абсолютное количество гранулоцитов при сравнении дозировок 2×10^6 кл/мл и 10×10^6 кл/мл ($p = 0,02$), средний объем эритроцита при сравнении дозировок 5×10^6 кл/мл и 10×10^6 кл/мл ($p = 0,02$) и количество тромбоцитов при сравнении дозировок 5×10^6 кл/мл и 10×10^6 кл/мл ($p = 0,03$; критерий Краскела-Уоллиса). Препарат «Феникс-2» не влияет на показатели ОАК и СОЭ у мышей при однократном внутрибрюшинном введении (Табл. 2). Поскольку различий с контролем отмечено не было и все изменения были в пределах физиологических норм, по-видимому, эффект вводимых препаратов на гематологические показатели периферической крови при однократном внутрибрюшинном введении отсутствует.

Гистологическое исследование

Проведенный патоморфологический анализ печени, желудка и тонкого кишечника мышей после однократного внутрибрюшинного введения «Феникс-1» и «Феникс-2» не выявил у животных признаков токсического действия препаратов во всех исследуемых дозировках (Рис. 1-3). В печени сохранено дольчатое строение. Признаки дистрофических изменений в гепатоцитах не обнаруживаются. В значительном количестве обнаруживаются двуядерные гепатоциты. В желудке и тонком кишечнике сохраняется нормальная архитектура ткани. Признаков изъязвлений, повреждения слизистой, подслизистой не обнаруживаются.

Обсуждение

Однократное введение препаратов «Феникс-1» и «Феникс-2» беспородным белым самкам мышей не приводило к летальности животных. Явлений тремора, конвульсий, судорог, слюноотделения, летаргии, комы, иных признаков изменения поведения не наблюдалось. На протяжении всего времени исследования все животные были активны, поведение ориентировано, глаза и слизистые чистые, бледно-розовые, дыхание ровное без особенностей, шерсть блестящая, кожа упругая. Мочеиспускание и дефекация соответствовали норме. Потребление корма и воды во всех группах было в пределах

физиологических норм.

При проведении некропсии мышей исследуемых групп видимых деформаций и увеличения в размерах частей тела не наблюдалось, не было выявлено признаков истощения животных. Волосяной покров сохранен, шерсть гладкая, повреждений кожного покрова не отмечалось. Слизистые оболочки розовые, отделяемое отсутствовало, глаза без помутнений. Аномалии и патологические образования органов грудной клетки не выявлялись. При осмотре брюшной полости признаков аномалий положения органов не обнаруживалось. Печень – темно-красно-коричневого цвета, плотно-эластичной консистенции, с блестящей поверхностью. Степень кровенаполнения печени несколько варьировала, но, с учетом предварительного взятия больших объемов крови для анализа, изменения были в пределах нормы. При осмотре желудка мышей исследуемых групп серозная оболочка гладкая, блестящая, без видимых изменений, при осмотре слизистой желудка язвы, гиперемии, объемные образования, диффузные утолщения стенок выявлены не были. При осмотре кишечника мышей исследуемых групп видимые изменения отсутствовали. Остальные органы брюшной полости – без особенностей.

Таблица 1

Показатели массы тела, печени и желудка у мышей экспериментальных групп при однократном внутривнутрибрюшинном введении препаратов «Феникс-1» и «Феникс-2» (n=5)

Table 1

Indicators of body weight, liver and stomach in mice of experimental groups with a single intraperitoneal administration of the drugs «Phoenix-1» and «Phoenix-2» (n=5)

Показатель Indicator	Контроль Control	«Феникс-1», 2×10 ⁶ кл/мл «Phoenix-1», 2×10 ⁶ cells/ ml	«Феникс-1», 5×10 ⁶ кл/мл «Phoenix-1», 5×10 ⁶ cells/ ml	«Феникс-1», 10×10 ⁶ кл/мл «Phoenix-1», 10×10 ⁶ cells/ ml	«Феникс-2», 2×10 ⁶ кл/мл «Phoenix-2», 2×10 ⁶ cells/ ml	«Феникс-2», 5×10 ⁶ кл/мл «Phoenix-2», 5×10 ⁶ cells/ ml	«Феникс-2», 10×10 ⁶ кл/мл «Phoenix-2», 10×10 ⁶ cells/ ml
Масса исходная, г Initial weight, g	26,20±0,97	24,08±0,64	24,96±0,75	22,58±0,74	27,34±0,54	28,50±0,92	26,10±0,84
Масса через 1 неделю, г Weight after 1 week, g	26,98±0,96	24,86±0,67	26,14±0,77	23,36±0,85	27,86±0,39	29,94±1,01	26,88±1,01
Масса при забое, г Weight at slaughter, g	25,78±1,04*	22,10±0,75*	24,50±0,74	21,07±0,69*	26,47±0,20	29,37±1,30	25,28±1,10
Привес за 2 недели, % Gain in 2 weeks, %	98,34±0,42	91,75±1,73	98,19±1,44	93,40±2,07	97,00±2,52	103,05±2,82	96,86±3,09
Масса печени, г Liver weight, g	1,11±0,06	1,05±0,08	1,07±0,02	0,88±0,07	1,24±0,07	1,27±0,05	1,01±0,05
Масса желудка, г Stomach weight, g	0,17±0,01	0,16±0,01	0,17±0,01	0,16±0,01	0,21±0,01	0,22±0,02	0,19±0,01
Относительная масса печени, % Relative liver weight, %	4,29±0,16	4,72±0,22	4,39±0,09	4,18±0,18	4,68±0,24	4,34±0,12	3,99±0,05
Относительная масса желудка, % Relative weight of the stomach, %	0,67±0,04	0,72±0,02	0,71±0,04	0,75±0,04	0,78±0,03	0,77±0,04	0,73±0,03

Примечание. * – различия между массой до исследования и при забое достоверны (критерий Вилкоксона; p<0,05)

Note. * – the differences between the weight before the study and at slaughter are significant (Wilcoxon test; p<0,05)

Таблица 2

Гематологические показатели периферической крови мышей экспериментальных групп при однократном внутрибрюшинном введении препаратов «Феникс-1» и «Феникс-2» (n=5)

Table 2

Hematological parameters of peripheral blood of mice of experimental groups with a single intraperitoneal administration of the drugs «Phoenix-1» and «Phoenix-2» (n=5)

Показатель Indicator	Контроль Control	«Феникс-1», 2×10 ⁶ кл/мл «Phoenix-1», 2×10 ⁶ cells/ml	«Феникс-1», 5×10 ⁶ кл/мл «Phoenix-1», 5×10 ⁶ cells/ml	«Феникс-1», 10×10 ⁶ кл/мл «Phoenix-1», 10×10 ⁶ cells/ml	«Феникс-2», 2×10 ⁶ кл/мл «Phoenix-2», 2×10 ⁶ cells/ml	«Феникс-2», 5×10 ⁶ кл/мл «Phoenix-2», 5×10 ⁶ cells/ml	«Феникс-2», 10×10 ⁶ кл/мл «Phoenix-2», 10×10 ⁶ cells/ml
WBC, 10 ³ /μL	5,52±1,08	2,36±0,52	3,98±1,05	5,00±0,44	3,88±0,29	3,84±0,59	3,84±1,36
Lym#, 10 ³ /μL	3,84±0,79	1,62±0,37	2,74±0,87	3,10±0,27	2,64±0,15	2,70±0,45	2,52±0,92
Mon#, 10 ³ /μL	0,18±0,05	0,08±0,02	0,12±0,04	0,16±0,02	0,16±0,02	0,12±0,02	0,10±0,03
Grn#, 10 ³ /μL	1,50±0,26	0,66±0,15*	1,12±0,20*	1,74±0,22*	1,08±0,15	1,02±0,16	1,22±0,42
Lym, %	68,30±1,52	67,14±3,35	66,66±3,97	61,30±2,79	68,74±2,77	69,12±2,74	64,70±3,17
Mon, %	3,78±0,25	3,64±0,50	3,38±0,72	3,50±0,14	4,16±0,49	3,44±0,21	3,54±0,35
Grn, %	27,92±1,47	29,22±2,94	29,96±3,37	35,20±2,69	27,10±2,31	27,44±2,60	31,76±3,21
RBC, 10 ⁶ /μL	9,09±0,07	8,34±1,02	9,72±0,28	9,66±0,19	8,32±0,14	8,86±0,42	8,89±0,78
Hb, g/L	145,40±2,34	131,60±17,32	157,20±3,94	148,00±4,29	136,00±1,48	145,80±8,48	140,00±13,93
Hct, %	43,54±0,64	39,84±4,96	47,28±1,37	44,52±1,10	40,20±0,64	43,40±2,42	42,40±3,84
MCV, fL	47,98±0,88	47,82±0,35*	48,72±0,47*	46,12±0,41*	48,42±0,66	48,98±0,63	47,70±0,92
MCH, pg	15,94±0,32	15,64±0,28	16,14±0,20	15,26±0,19	16,30±0,20	16,36±0,22	15,60±0,39
MCHC, g/L	333,60±3,70	328,20±4,81	332,00±1,64	332,00±2,92	338,00±5,32	335,40±2,34	328,20±4,51
RDW, %	13,42±0,51	12,92±0,32	12,76±0,21	13,00±0,33	13,44±0,65	13,10±0,43	13,32±0,32
PLT, 10 ³ /μL	1630,60±70,99	1363,00±310,07*	1209,23±315,28*	1917,00±41,60*	1133,60±88,67	1078,20±137,59	1359,40±220,80
MPV, fL	4,52±0,07	4,66±0,06	4,88±0,16	4,60±0,06	4,70±0,10	4,90±0,12	4,46±0,11
PDW, %	15,34±0,07	15,36±0,05	15,42±0,08	15,30±0,04	15,50±0,03	15,46±0,07	15,30±0,06
PCT, %	0,74±0,04	0,63±0,14	0,59±0,15	0,88±0,03	0,53±0,04	0,52±0,06	0,60±0,09
ESR, mm/h	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00

Примечание. * – введение препарата значительно влияет (Критерий Краскела-Уоллиса; p<0,05)

Note. * – administration of the drug has a significant effect (Kruskal-Wallis test; p<0,05)

Биохимический анализ периферической крови

У мышей, получавших внутрибрюшинно препарат «Феникс-1» во всех исследованных дозировках, обнаружено увеличение активности АСТ и АЛТ почти в 3 раза по сравнению с показателями животных, получавших внутрибрюшинно физраствор (Табл. 3).

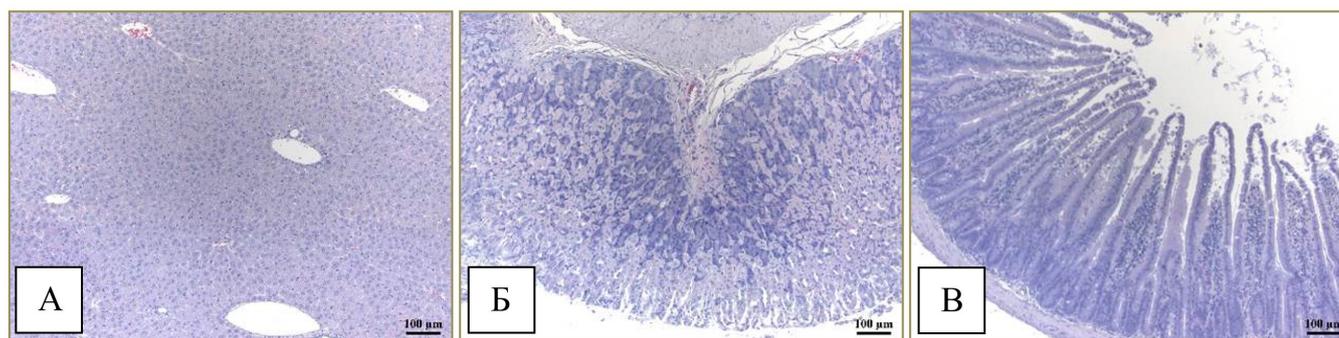


Рисунок 1. Печень (А), желудок (Б) и кишечник (В) контрольных мышей при внутрибрюшинном введении физиологического раствора

Примечание. Окрашивание гематоксилином и эозином. Ядра клеток – фиолетовые, цитоплазма, волокна – розовые. Увеличение ×10. Контрольный отрезок – 100 мкм

Figure 1. Liver (A), stomach (Б) and intestines (B) of control mice after intraperitoneal injection of saline

Note. Hematoxylin and eosin staining. Cell nuclei are purple, cytoplasm, fibers are pink. Magnification×10. Control segment – 100 μm

Таблица 3

Биохимические показатели в плазме крови мышей после внутрибрюшинного введения различных доз препаратов «Феникс-1» и «Феникс-2»

Tabl 3

Biochemical parameters in the blood plasma of mice after intraperitoneal administration of various doses of the drugs «Phoenix-1» and «Phoenix-2»

Показатель Indicator	Контроль Control	«Феникс-1», 2×10 ⁶ кл/мл «Phoenix-1», 2×10 ⁶ cells/ ml	«Феникс-1», 5×10 ⁶ кл/мл «Phoenix-1», 5×10 ⁶ cells/ ml	«Феникс-1», 10×10 ⁶ кл/мл «Phoenix-1», 10×10 ⁶ cells/ ml	«Феникс-2», 2×10 ⁶ кл/мл «Phoenix-2», 2×10 ⁶ cells/ ml	«Феникс-2», 5×10 ⁶ кл/мл «Phoenix-2», 5×10 ⁶ cells/ ml	«Феникс-2», 10×10 ⁶ кл/мл «Phoenix-2», 10×10 ⁶ cells/ ml
АСТ, мкмоль/ мин·л AST, μmol / min·L	5,41±0,48	18,92±2,23*	13,28±1,05*	14,92±0,36*	16,04±0,77*	16,67±1,97*	12,88±1,06*
АЛТ, мкмоль/ мин·л ALT, μmol / min·L	4,54±0,62	12,72±1,39*	13,43±1,03*	11,69±0,70*	18,73±1,42*	22,97±2,19*	10,54±1,23*
АСТ/АЛТ AST/ALT	1,23±0,09	1,49±0,08	1,00±0,08	1,29±0,07	0,89±0,10*	0,73±0,06*	1,24±0,05
Щелочная фосфатаза, мкмоль/ мин·л Alkaline phosphatase, μmol / min·L	3,79±0,48	5,33±1,14	7,05±1,50	6,15±0,99	4,96±0,53	5,70±0,72	6,43±1,25
Глюкоза, ммоль/л Glucose, mmol/L	4,10±0,22	5,17±0,40	6,21±0,58*	6,58±0,56*	8,00±0,49*	7,91±0,69*	4,12±0,24
Общий белок, г/л Total protein, g/L	52,8±2,1	66,7±3,5*	69,0±4,2*	69,0±3,0*	52,7±2,4	55,8±2,0	57,8±2,5
Общий холестерин, ммоль/л Total cholesterol, mmol/L	1,51±0,14	1,92±0,11	1,85±0,10	1,50±0,13	1,95±0,07*	2,14±0,13*	2,30±0,20*

Примечание. * – различия с контролем достоверны (Критерий Манна-Уитни; p<0,05)

Note. * – differences with control are significant (Mann-Whitney U-test; p<0,05)

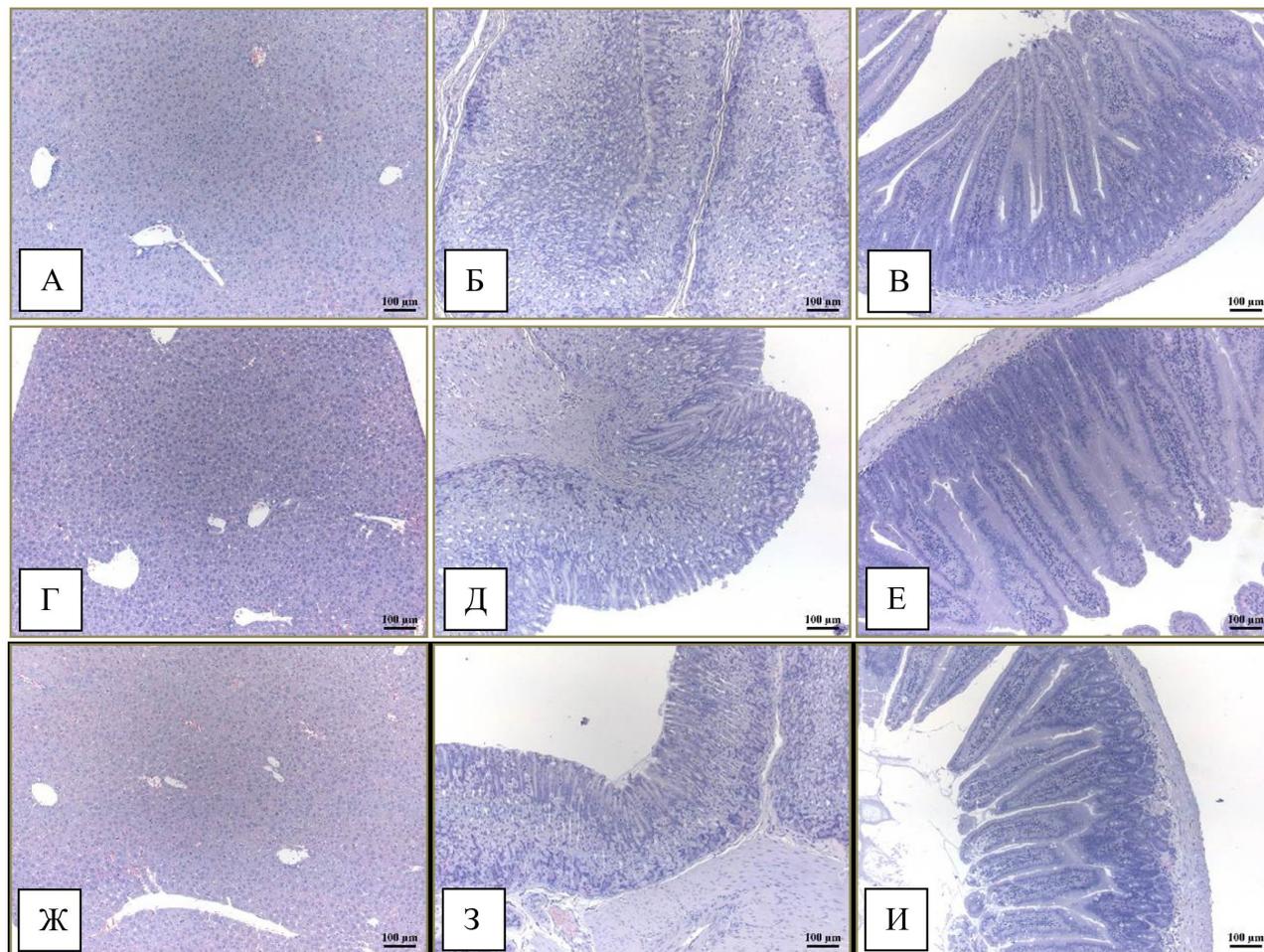


Рисунок 2. Печень (А, Г, Ж), желудок (Б, Д, З) и кишечник (В, Е, И) мышей при внутрибрюшинном введении препарата «Феникс-1» в дозировке 2×10^6 кл/мл (А-В), 5×10^6 кл/мл (Г-Е), 10×10^6 кл/мл (Ж-И)
 Примечание. Окрашивание гематоксилином и эозином. Ядра клеток – фиолетовые, цитоплазма, волокна – розовые. Увеличение $\times 10$. Контрольный отрезок – 100 мкм

Figure 2. Liver (А, Г, Ж), stomach (Б, Д, З) and intestines (В, Е, И) of mice with intraperitoneal administration of the drug «Phoenix-1» at a dosage of 2×10^6 cells/ml (А-В), 5×10^6 cells/ml (Г-Е), 10×10^6 cells/ml (Ж-И)
 Note. Hematoxylin and eosin staining. Cell nuclei are purple, cytoplasm, fibers are pink. Magnification $\times 10$. Control segment – 100 μm

Соотношение активности АСТ/АЛТ в группах с введением препарата «Феникс-1» не отличалось от контроля (Табл. 3). Активность щелочной фосфатазы и содержание холестерина у мышей после введения препарата «Феникс-1» во всех дозировках также оставались на уровне нормы. Было выявлено достоверно большее содержание глюкозы при внутрибрюшинном введении «Феникс-1» дозами 5×10^6 кл/мл и 10×10^6 кл/мл и увеличенное содержание белка для всех дозировок относительно контроля (Табл. 3). Выявление механизмов, повлекших повышение содержания глюкозы и белка в указанных группах, требует проведения дополнительных исследований, но предварительно можно отметить, что данные различия можно трактовать и как клинически незначимые, поскольку в литературных источниках имеются сведения о довольно широких границах физиологических норм для представленных показателей. Так, уровень глюкозы у здоровых мышей составляет $4,7 \pm 0,3$ ммоль/л, $6,1-11,0$ ммоль/л, $3,7 \pm 0,1$ ммоль/л, $8,8 \pm 2,2$ ммоль/л; содержание общего белка определяют как $57,0 \pm 0,8$ г/л, $50 - 74$ г/л, 47 ± 2 г/л.

Внутрибрюшинное введение мышам препарата «Феникс-2» дозами 2×10^6 кл/мл, 5×10^6 кл/мл и 10×10^6 кл/мл также сопровождалось увеличением активности АСТ и АЛТ в плазме крови относительно контроля (Табл. 3). Установлено снижение соотношения АСТ/АЛТ при введении «Феникс-2» в дозах 2×10^6 кл/мл и 5×10^6 кл/мл, что может быть связано с повышением цитолиза в печени, но при действии более высокой дозы «Феникс-2» (10×10^6 кл/мл) это соотношение остается в норме.

Возможно, препарат «Феникс-2» содержит компоненты, обладающие разнонаправленным действием (токсическим и пролиферативным, прооксидантным и антиоксидантным), и при разных дозах препарата может преобладать действие разных компонентов. Повышение уровня глюкозы при внутрибрюшинном введении «Феникс-2» в дозах 2×10^6 кл/мл и 5×10^6 кл/мл относительно контроля на фоне не отличающегося от нормы при действии более высокой дозы, свидетельствует о незначительном влиянии «Феникс-2» на этот показатель, а также может подтверждать предположение о двойственном действии «Феникс-2» (Табл. 3). При внутрибрюшинном введении «Феникс-2» во всех исследуемых дозировках обнаружено небольшое, но достоверное увеличение содержания холестерина в плазме крови (Табл. 3), поэтому можно предположить, что влияние «Феникс-2» на уровень холестерина незначительно, не выходит за пределы физиологических норм для мышей. Активность щелочной фосфатазы во всех исследованных группах оставалась на уровне нормы, что свидетельствует об отсутствии холестаза и влияния на остеобласты костной ткани при внутрибрюшинном введении «Феникс-1» и «Феникс-2».

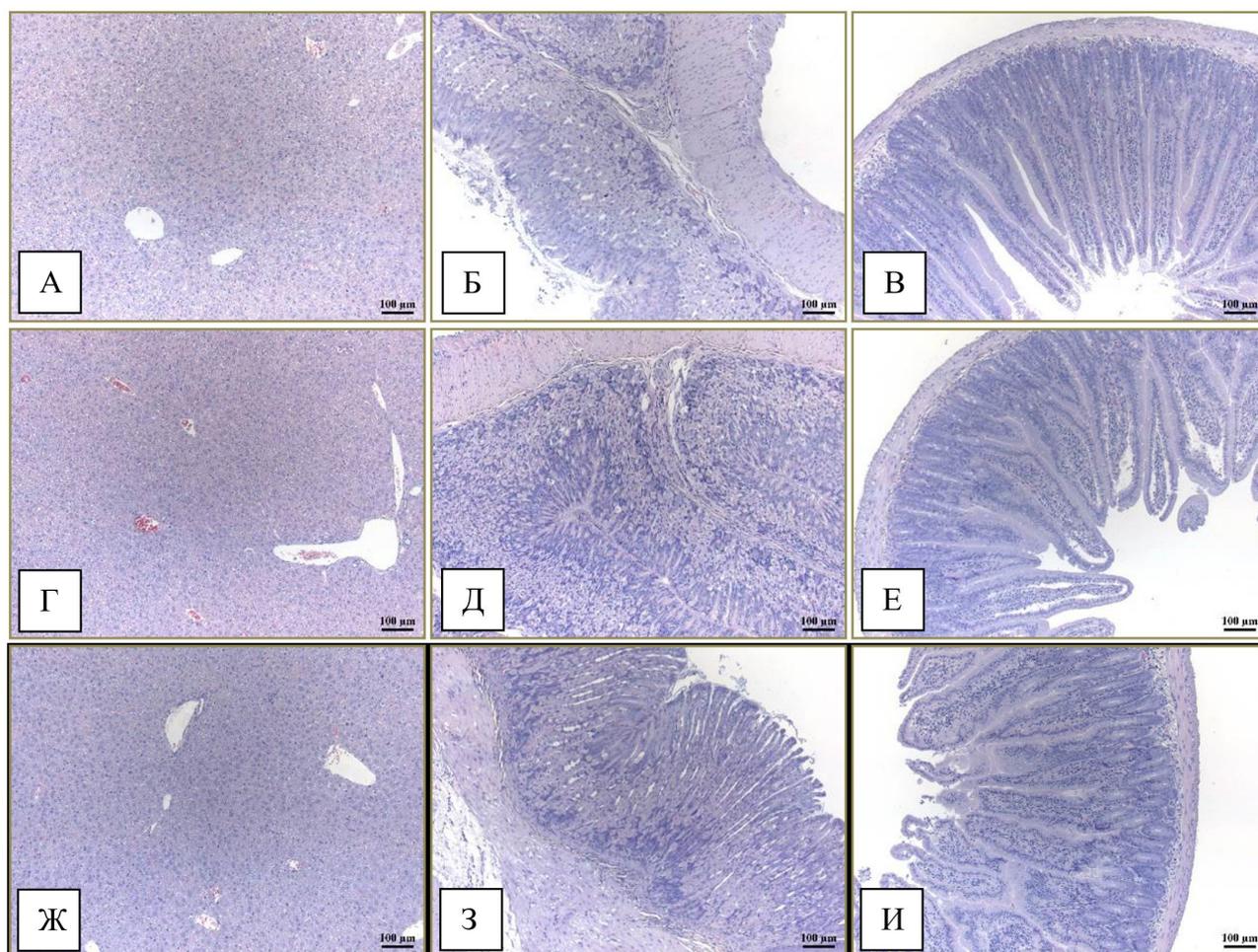


Рисунок 3. Печень (А, Г, Ж), желудок (Б, Д, З) и кишечник (В, Е, И) мышей при внутрибрюшинном введении препарата «Феникс-2» в дозировке 2×10^6 кл/мл (А-В), 5×10^6 кл/мл (Г-Е), 10×10^6 кл/мл (Ж-И)
Примечание. Окрашивание гематоксилином и эозином. Ядра клеток – фиолетовые, цитоплазма, волокна – розовые. Увеличение $\times 10$. Контрольный отрезок – 100 мкм

Figure 3. Liver (A, G, Zh), stomach (B, D, Z) and intestines (V, E, I) of mice with intraperitoneal administration of the drug «Phoenix-2» at a dosage of 2×10^6 cells/ml (A-B), 5×10^6 cells/ml (G-E), 10×10^6 cells/ml (Zh-I)
Note. Hematoxylin and eosin staining. Cell nuclei are purple, cytoplasm, fibers are pink. Magnification $\times 10$. Control segment – 100 μm

Заключение

Таким образом, изучаемые биосоединения «Феникс-1» и «Феникс-2» при внутрибрюшинном однократном введении мышам не обладают выраженной острой токсичностью. При внутрибрюшинном введении летальность животных отсутствует, влияние препаратов на состояние и поведение живот-

ных, массу тела, массу печени и желудка, макроскопическое состояние органов при вскрытии, микроскопическое состояние печени, желудка и тонкого кишечника не обнаружено; гематологические показатели периферической крови не отличаются от контроля и не выходят за пределы физиологических норм; отмечается повышение активности АЛТ, АСТ для обоих препаратов во всех дозировках, увеличение уровня глюкозы натощак для препарата «Феникс-1» в дозах 5×10^6 кл/мл и 10×10^6 кл/мл и «Феникс-2» в дозах 2×10^6 кл/мл и 5×10^6 кл/мл, повышение общего белка в группах, получавших «Феникс-1», и общего холестерина в группах, получавших «Феникс-2»; при этом биохимические показатели не выходят за пределы физиологических норм.

Благодарности

Работа выполнена в рамках госзадания ИИФ УрО РАН (№ гос. регистрации 122020900136-4).

ЛИТЕРАТУРА

1. Ардатская М.Д., Столярова Л.Г., Архипова Е.В., Филимонова О.Ю. Метабиотики как естественное развитие пробиотической концепции. Рецепт. 2019; 2(22):291-298.
2. Забокрицкий Н.А. Оценка иммуотропного действия пробиотика бацилакт в составе трансдермальных терапевтических систем. Российский иммунологический журнал. 2017; 11(2-20):126-129.
3. Забокрицкий Н.А. Принципиальные направления научных исследований по обоснованию и разработке новых иммунобиологических препаратов. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2018; S(81):85-86.
4. Забокрицкий Н.А., Сарапульцев П.А. Экспериментальное обоснование возможности создания нового метаболического препарата. Российский иммунологический журнал. 2018; 3(12-21):295-300. doi:10.31857/S102872210002398-2.
5. Забокрицкий Н.А. Фармакологическая оценка иммуотропной активности нового гелевого метабиотика на факторы клеточного и гуморального иммунитета при экспериментальном моделировании термических ожогов кожи. Российский иммунологический журнал. 2020; 2(23):125-132. doi:10.46235/1028-7221-314-РАО.
6. Забокрицкий Н.А. Изучение цитопротекторных свойств метаболитов штамма *Bacillus subtilis* В-9909 на культуре выделенных гепатоцитов. Вестник уральской медицинской академической науки. 2022; 19(3):203-209. doi:10.22138/2500-0918-2022-19-3-203-209.
7. Лабинская А.С., Блинкова Л.П., Ещина А.С., Булаева Г.В., Вертиев Ю.В., Винокуров А.Е., Горобец О.Б., Дарбеева О.С., Жиленков Е.Л., Зверьков Д.А., Иванова С.М., Иванова Т.С., Корн М.Я., Кривопалова Н.С., Лукин И.Н., Мельникова В.А., Нехорошева А.Г., Романова Ю.М., Сидоренко С.В., Скаженик В.Ю., Скала Л.З., Трухина Г.М. Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологических исследований. СПб:Лань, 2016; 588.
8. Lee N.K., Kim W.S., Paik H.D. *Bacillus* strains as human probiotics: characterization, safety, microbiome, and probiotic carrier. Food Sci Biotechnol. 2019; 28(5):1297-1305. doi:10.1007/s10068-019-00691-9.

Автор

Забокрицкий Николай Александрович
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук (ИИФ УрО РАН)
Д. м. н., старший научный сотрудник лаборатории иммунофизиологии и иммунофармакологии
Екатеринбург, Российская Федерация
pharmusma@rambler.ru

N.A. Zabokritskiy

EXPERIMENTAL PHARMACOLOGICAL ASSESSMENT OF THE SAFETY OF NEW BIOCOMBUNDERS

Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences,
Yekaterinburg, Russian Federation

Abstract. The paper presents experimental results on the pharmacological assessment of safety and toxicity in the use of newly developed biocompounds. *The purpose of the study* was to conduct an experimental pharmacological assessment of the acute toxicity in laboratory animals of the developed new biocompounds when administered intraperitoneally. *Material and methods.* An experimental pharmacological assessment of the acute toxicity of the developed new biocompounds was carried out on laboratory animals (white mice) with intraperitoneal administration. The work used experimental samples of new probiotics “Phoenix-1” and “Phoenix-2”, based on saprophytic microorganisms of the species *Bacillus subtilis*. The animals were observed for two weeks. During the observations, changes in appearance, condition of skin and fur, eyes and mucous membranes, breathing, behavior, motor activity, defecation and urination were recorded; special attention was paid to assessing the possible phenomena of tremor, convulsions and seizures, salivation, diarrhea, lethargy, sleep and coma. The animals’ body weights were measured weekly. **Results.** After two weeks, the experimental animals were removed on an empty stomach under anesthesia. The results of the study showed that the experimental samples “Phoenix-1” and “Phoenix-2”, when administered intraperitoneally to mice, do not have pronounced acute toxicity. With intraperitoneal administration, there is no mortality in animals, the effect of drugs on the condition and behavior of animals, body weight, weight of the liver and stomach, the macroscopic state of organs at autopsy, the microscopic state of the liver, stomach and small intestine were not detected; hematological parameters of peripheral blood do not differ from the control and do not go beyond physiological norms.

Keywords: probiotics, biocompounds, experimental evaluation, acute toxicity, safety in use

There is no conflict of interest.

Contact details of the corresponding author:

Nikolay A. Zabokritskiy

pharmusma@rambler.ru

Received: 01.09.2024

For citation: Zabokritskiy N.A. Experimental pharmacological assessment of the safety of new biocombunders. [Online] Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science. 2024, Vol. 21, no. 4, pp. 488–498. DOI: 10.22138/2500-0918-2024-21-4-488-498 (In Russ)

REFERENCES

1. Ardatskaya M.D., Stolyarova L.G., Arkhipova E.V., Filimonova O.Yu. Metabiotics as a natural development of a probiotic concept [Metabiotiki kak estestvennoe razvitie probioticheskoy koncepcii]. *Recipe= Recept.* 2019; 2(22):291-298. (In Russ).
2. Zabokritskiy N.A. Evaluation of the immunotropic effect of the probiotic acylact as part of transdermal therapeutic systems [Ocenka immunotropnogo dejstviya probiotika bacilakt v sostave transdermal'nyh terapevticheskikh system]. *Russian Journal of Immunology=Rossiyskiy immunologicheskij zhurnal.* 2017; 11(2-20):126-129. (In Russ).
3. Zabokritskiy N.A. Principal directions of scientific research on the substantiation and development of new immunobiological drugs [Principial'nye napravleniya nauchnyh issledovanij po obosnovaniju i razrabotke novyh immunobiologicheskikh preparatov]. *Experimental and clinical pharmacology=Jeksperimental'naja i klinicheskaja farmakologija.* 2018; S(81):85-86. (In Russ).
4. Zabokritskiy N.A., Sarapultsev P.A. Experimental justification of the possibility of creating the new metabolic drug [Jeksperimental'noe obosnovanie vozmozhnosti sozdaniya novogo metabolicheskogo

preparata]. Russian Journal of Immunology=Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal. 2018; 3(12-21):295-300. (In Russ). doi:10.31857/S102872210002398-2.

5. Zabokritskiy N.A. Pharmacological assessment of immunotropic activity of new gel metabiotic on cellular and humoral immunity in experimental modeled thermal skin burns [Farmakologicheskaya ocenka immunotropnoy aktivnosti novogo gelevogo metabiotika na faktory kletochnogo i gumoral'nogo immuniteta pri jeksperimental'nom modelirovanii termicheskikh ozhogov kozhi]. Russian Journal of Immunology=Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal. 2020; 2(23):125-132. (In Russ). doi:10.46235/1028-7221-314-PAO.

6. Zabokritskiy N.A. Experimental evaluation of the cytoprotective effect of probiotic metabolites of Bacillus subtilis B-9909 strain on the culture of isolated hepatocytes [Izuchenie citoprotekturnykh svoystv metabolitov shtamma Bacillus subtilis B-9909 na kul'ture vydelennykh gepatocitov]. Journal of Ural Medical Acedemic Science=Vestnik uralskoy medicinskoy akademicheskoy nauki. 2022; 19(3):203-209. (In Russ). doi:10.22138/2500-0918-2022-19-3-203-209.

7. Labinskaya A.S., Blinkova L.P., Eshina A.S., Bulaeva G.V., Vertiev Yu.V., Vinokurov A.E., Gorobets O.B., Darbeeva O.S., Zhilenkov E.L., Zverkov D.A., Ivanova S.M., Ivanova T.S., Korn M.Ya., Krivopalova N.S., Lukin I.N., Melnikova V.A., Nekhorosheva A.G., Romanova Yu.M., Sidorenko S.V., Skazenik V.Yu., Skala L.Z., Trukhina G.M. General and Sanitary Microbiology with the Technique of microbiological research [Obshhaya i sanitarnaya mikrobiologiya s tehnikoj mikrobiologicheskikh issledovaniy]. Saint Petersburg:Lan=SPb:Lan', 2016; 588. (In Russ).

8. Lee N.K., Kim W.S., Paik H.D. Bacillus strains as human probiotics: characterization, safety, microbiome, and probiotic carrier. Food Sci Biotechnol. 2019; 28(5):1297-1305. doi:10.1007/s10068-019-00691-9.

Auhtor

Nikolay A. Zabokritskiy

Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (IIP UB RAS)

MD, Associate Professor, Senior Researcher of the Laboratory of Immunophysiology and Immunopharmacology

Yekaterinburg, Russian Federation

pharmusma@rambler.ru