

Исследование хронической токсичности таблеток Гомеовокс

Мирошкина И. А.¹, Сорокина А. В.¹, Волкова А. В.¹, Забродина В. В.¹, Качалов К. С.¹,
Захаров А. Д.¹, Алексеева С. В.¹, Лапицкая А. С.²

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

² – ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва

Аннотация. *Актуальность.* Исследование хронической токсичности является необходимым этапом доклинического исследования таблеток Гомеовокс гомеопатических, применяемых для лечения ларингитов различной этиологии. *Целью* настоящей работы явилось изучение хронической токсичности таблеток Гомеовокс гомеопатических. *Методы.* Гомеовокс вводили ежедневно самцам и самкам крыс и кроликов перорально в дозах 100 и 1 000 мг/кг, в течение трёх месяцев. Наблюдала за внешним видом и общим состоянием животных, оценивали динамику массы тела, потребление корма и воды, поведенческие реакции, ректальную температуру, состояние сердечно-сосудистой системы (электрокардиография, измерение артериального давления), проводили гематологические, биохимические и патоморфологические исследования для определения возможных токсических эффектов и их обратимости, возможных органов-мишеней и местного раздражающего действия. *Результаты.* Параметры, регистрируемые в проведённых исследованиях, не выходили за пределы референтных значений для данных видов животных. Гомеовокс в условиях настоящего эксперимента не вызывал закономерных изменений структуры внутренних органов крыс и кроликов. *Заключение.* Гомеовокс, вводимый крысам и кроликам в течение трёх месяцев перорально ежедневно в дозах 100 и 1 000 мг/кг, не продемонстрировал токсических эффектов и местного раздражающего действия. Исследование, проведённое в соответствии с методическими рекомендациями, не установило данных, препятствующих клиническому испытанию таблеток Гомеовокс, покрытых оболочкой гомеопатических.

Ключевые слова: Гомеовокс; хроническая токсичность; крысы; кролики

Для цитирования:

Мирошкина И.А., Сорокина А.В., Волкова А.В., Забродина В.В., Качалов К.С., Захаров А.Д., Алексеева С.В., Лапицкая А.С. Исследование хронической токсичности таблеток Гомеовокс // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. – 2020. – № 1. – С. 42–52. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-1-42-52

Study of chronic toxicity of potential anxiolytic Homeovox

Miroshkina IA¹, Sorokina AV¹, Volkova AV¹, Zabrodina VV¹, Kachalov KS¹, Zakharov AD¹, Alekseeva SV¹, Lapitskaya AS²

¹ – FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow

² – Gabrichevsky institute of epidemiology and microbiology

Abstract. *Relevance.* Assessment of chronic toxicity is a necessary stage of preclinical research a tablets Homeovox homeopathic. *The aim* of present research is study of chronic toxicity of a tablets Homeovox homeopathic. *Methods.* Homeovox was administered orally to males and females of rats and rabbits in doses of 100 and 1 000 mg / kg for three months. The appearance and the general state of animals were observed, the dynamics of body weight, feed and water consumption, behavioral reactions, rectal temperature, state of the cardiovascular system (electrocardiography, blood pressure measurement) were evaluated, hematological, biochemical and pathomorphological examinations were conducted to determine possible toxic effects and their reversibility, possible target organs and local irritant effect. *Results.* Parameters registered in the conducted studies did not get out the limits of the reference values for these species of animals. Homeovox did not cause any regular changes in the structure of the internal organs of rats and rabbits. *Conclusion.* Homeovox, administered to rats and rabbits for three months orally daily in doses of 100 and 1 000 mg / kg, did not demonstrate toxic effects and local irritant effect.

Keywords: Homeovox; chronic toxicity; rats; rabbits

For citations:

Miroshkina IA, Sorokina AV, Volkova AV, Zabrodina VV, Kachalov KS, Zakharov AD, Alekseeva SV, Lapitskaya AS. Study of chronic toxicity of potential anxiolytic Homeovox. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2020;(1):42–52. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-1-42-52

Введение

Исследование хронической токсичности является необходимым этапом доклинической оценки безопасности таблеток Гомеовокс гомеопатических, применяемых для лечения ларингитов различной этиологии [1].

патических. Задачи исследования — определить возможные токсические эффекты таблеток Гомеовокс при ежедневном пероральном введении в течение трёх месяцев, возможные органы-мишени токсических воздействий, местное раздражающее действие и обратимость возможных токсических эффектов.

Цель исследования

Целью настоящей работы явилось изучение хронической токсичности таблеток Гомеовокс гомео-

Материалы и методы

Исследуемое вещество. В эксперименте использовали таблетки Гомеовокс гомеопатические, двояковыпуп-

кой формы, покрытые белой оболочкой, без запаха, номер серии M7100100. Масса одной таблетки составляла 300 мг, в её состав входили: *Aconitum napellus*, СЗ – 0,091 мг; *Arum triphyllum*, СЗ – 0,091 мг; *Ferrum phosphoricum*, СЗ – 0,091 мг; *Calendula officinalis*, СЗ – 0,091 мг; *Spongia tosta*, СЗ – 0,091 мг; *Belladonna*, СЗ – 0,091 мг; *Mercurius solubilis*, СЗ – 0,091 мг; *Hepar sulphur*, СЗ – 0,091 мг; *Kalium bichromicum*, СЗ – 0,091 мг; *Populus candicans*, СЗ – 0,091 мг; *Bryonia*, СЗ – 0,091 мг; вспомогательные компоненты (сахароза – 73,7 мг; лактоза – 87,1 мг; крахмал – 18,3 мг; магния стеарат – 0,9 мг), вспомогательные компоненты оболочки (акации камедь – 1,0 мг; желатин – следы; сахароза – 104,0 мг; тальк – 15,0 мг; воск пчелиный – следы; воск карнаубский – следы). Данный объект исследования был предоставлен Обществом с ограниченной ответственностью «Буарон», гарантировавшим качество и подлинность препарата. Таблетки измельчали в фарфоровой ступке, готовили суспензию *ex tempore* дисперсионным методом на 1 % растворе крахмала (далее суспензия Гомеовокс).

Животные. Исследование проводили на белых аутбредных крысах обоего пола ($n = 56$), а также кроликах породы шиншилла обоего пола ($n = 36$), как на видах, общепринятых для доклинических исследований лекарственных средств и доказавших свою релевантность в таких экспериментах. Все животные были получены из сертифицированных питомников и содержались в виварии в соответствии с ГОСТ 33044–2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики». Работы с крысами и кроликами выполняли в соответствии с общепринятыми нормами обращения с животными [2] на основе стандартных операционных процедур, принятых в ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», соответствующих правилам Европейской Конвенции ETS 123. Крыс разделили на 4 группы: 1-я группа – контроль; 2-я группа – Гомеовокс в фармакологически эффективной дозе (100 мг/кг); 3-я группа – Гомеовокс в дозе, превышающей фармакологически эффективную в 10 раз (1 000 мг/кг); 4-я группа – Гомеовокс в дозе 1 000 мг/кг («отставленная группа», сформированная для оценки обратимости возможных токсических эффектов). Кроликов делили на 3 группы: 1-я группа – контроль; 2-я группа – Гомеовокс в дозе 100 мг/кг; 3-я группа – Гомеовокс в дозе 1 000 мг/кг. Животные контрольных групп получали 1 % раствор крахмала в эквивалентном объёме. Суспензию Гомеовокс в 1 % растворе крахмала в экспериментальных группах или 1 % раствор крахмала в контроле вводили перорально (в соответствии с планируемым в клинике способом введения) с помощью металлического атравматического зонда крысам и с помощью одноразовых шприцов кроликам [3–5] ежедневно, в течение трёх месяцев. Перед каждым введением суспензии Гомеовокс или 1 % раствора крахмала оценивали внешний вид и поведение экспериментальных животных [6].

Исследование динамики массы тела. Массу крыс и кроликов определяли с помощью электронных весов SPU 601 (ОНАУС Corp., США). Измерения проводили до начала введения суспензии Гомеовокс или 1 % раствора крахмала, далее еженедельно, а также перед выведением животных из эксперимента. У крыс «отставленной» группы № 4 данные измерения проводили также через один месяц после заключительного введения суспензии Гомеовокс, для оценки обратимости возможных токсических эффектов.

Суточное потребление корма и воды у крыс всех групп определяли до начала введения суспензии Гомеовокс или 1 % раствора крахмала, далее еженедельно, а также через 24 ч (крысы групп №№ 1–4), через один месяц (только крысы «отставленной» группы № 4) после заключительного их введения.

Изучение поведенческих реакций у крыс проводили в течение 2 мин по тесту «Открытое поле» до начала введения суспензии Гомеовокс или 1 % раствора крахмала, через 24 ч (крысы групп №№ 1–3) или через один месяц (только крысы «отставленной» группы № 4) после заключительного их введения. Эксперименты проводили с помощью установки «Открытое поле», представляющей собой круглую арену диаметром 93 см, со стенками высотой 42 см, с отверстиями в полу диаметром 2 см. Установка освещалась бестеневой лампой мощностью 150 ватт, расположенной над центральной её частью. Оценивали следующие характеристики: ориентировочно-исследовательские реакции (локомоторная или горизонтально-двигательная активность), количество пересечённых секторов, вертикальная двигательная активность (количество вертикальных стоек), исследовательская активность «норковый рефлекс», а также эмоциональное состояние животных (количество фекальных болюсов, числа уринаций, груминговой активности, выходов в центр, время замирания) [7].

Электрокардиографические исследования (ЭКГ) у крыс проводили с помощью компьютерного электрокардиографа для ветеринарии «Поли-Спектр-8/В» во втором стандартном отведении. На нефиксированное животное надевали жилетку с беспроводным усилителем и электродами. Регистрацию данных проводили через 24 ч (крысы групп №№ 1–3) и через один месяц (только крысы «отставленной» группы № 4) после заключительного введения суспензии Гомеовокс или 1 % раствора крахмала.

Неинвазивное измерение пульса и артериального давления (АД) у крыс проводили с использованием модулей аппаратного комплекса ADInstruments и программного обеспечения LabChart (Австралия). На хвост бодрствующей крысы помещали манжету с преобразователем пульса, по которой определяли АД, основываясь на периодичности окклюзии крови в хвосте. Определяли пульс, систолическое, диастолическое и среднее артериальное давление. Исследования проводились до начала введения суспензии Гомеовокс

или 1 % раствора крахмала, через 24 ч (крысы групп №№ 1–3) и через один месяц (только крысы «отставленной» группы № 4) после заключительного их введения.

Измерения ректальной температуры у крыс осуществляли с использованием ректального датчика на оборудовании производства компании ADInstruments Ltd (Австралия). Исследования проводились до начала введения суспензии Гомеовокс или 1 % раствора крахмала, через 24 ч (крысы групп №№ 1–3) и через один месяц (только крысы «отставленной» группы № 4) после заключительного их введения.

Клиническое исследование крови у крыс и кроликов. Определяли следующие гематологические показатели периферической крови: количество гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, гематокрит, тромбокрит, средний объём эритроцитов, среднее содержание гемоглобина в эритроцитах (MCH), средняя концентрация гемоглобина (MCHC) в эритроците [8, 9]. Подсчёт форменных элементов крови и гемоглобина осуществляли с помощью автоматического гематологического анализатора «Abacus Unior vet», Австрия (крысы), автоматического гематологического анализатора BC-2800 «MINDRAY», Китай (кролики). Количество ретикулоцитов подсчитано на мазках (окраска во влажной камере, микроскоп «Nikon Eclipse E200», Япония). Соотношение различных видов лейкоцитов (окраска мазков крови по Романовскому) и морфометрические параметры эритроцитов были проанализированы на компьютеризированной микроскопической системе МЕКОС-Ц2. Для стандартизации процесса приготовления мазков крови использовали автоматическое устройство для приготовления мазков крови V-SAMPLER (Австрия). Препараты крови фиксировали и окрашивали автоматически на приборе-автомате ЭМКОСТЕЙНЕР-АВТО, АФОМК8-В-01, производитель Россия. Взятие материала проводили до начала введения суспензии Гомеовокс или 1 % раствора крахмала, через 24 ч (крысы групп №№ 1–3 и кролики всех групп) и через один месяц (только крысы «отставленной» группы № 4) после заключительного их введения.

Исследование гемостаза у крыс и кроликов проводили с использованием коагулометра TS 4000 (США). Определяли активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), тромбиновое время (ТВ), протромбиновое время (ПВ), количество фибриногена. Взятие материала проводили через 24 ч (крысы групп №№ 1–3 и кролики всех групп) и через один месяц (только крысы «отставленной» группы № 4) после заключительного введения суспензии Гомеовокс или 1 % раствора крахмала.

Биохимические исследования крови у крыс и кроликов осуществляли с помощью автоматического биохимического и иммуноферментного анализатора «Chem Well 2910 Combi» (США). Определяли содержание глюкозы, общего белка, альбумина, креатинина, мочевины, активность аланин- и аспартатамино-

трансферазы. Взятие материала проводили через 24 ч (крысы групп №№ 1–3 и кролики всех групп) и через один месяц (только крысы «отставленной» группы № 4) после заключительного введения суспензии Гомеовокс или 1 % раствора крахмала.

Клинико-биохимические исследования мочи у крыс. Определяли удельный вес, кислотность, содержание глюкозы, белка (полуколичественный метод анализа) диагностическими полосками LabStrip U1116 (Венгрия), с помощью анализатора мочи «Pro DocUReader 2» (Венгрия), а также содержание креатинина и мочевины с помощью автоматического биохимического и иммуноферментного анализатора «Chem Well 2910 Combi» (США) и наборов реагентов «SPINREACT S.A.» (Испания) для диагностики «*in vitro*». Взятие материала проводили до начала введения суспензии Гомеовокс или 1 % раствора крахмала, через 24 ч (крысы групп №№ 1–3) и через один месяц (только крысы «отставленной» группы № 4) после заключительного их введения.

Патоморфологические исследования. Все животные опытных и контрольных групп были подвергнуты эвтаназии и патологоанатомическому вскрытию с последующей оценкой микроскопической картины внутренних органов [3, 10], через 24 ч (крысы и кролики групп №№ 1–3) и через один месяц (только крысы «отставленной» группы № 4) после заключительного введения суспензии Гомеовокс или 1 % раствора крахмала. Образцы внутренних органов фиксировали в 10 % забуференном растворе формалина (фрагменты сердца, лёгких, трахеи, пищевода, желудка, тонкого и толстого кишечника, печени, поджелудочной железы, почек, мочевого пузыря, надпочечников, щитовидной железы, парашитовидной железы, тимуса, селезёнки, семенников и придатков семенников самцов, яичников и маточных труб самок крыс и кроликов) или 96 % этаноле (фрагменты головного мозга крыс). После окончания фиксации и стандартной гистологической проводки (автоматизированный тканевой процессор Leica TP1020, Германия) образцы заливали в парафиновые блоки (система заливки тканей с графическим дисплеем Tissue-Tek®TEK™, США). Готовили гистологические срезы толщиной 5 мкм (микротом ротационный Accu-Cut®SPM™, США), которые помещали на стекло с полилизинным покрытием (Menzel). Окрашивали галлоцианин-хромовыми красками с последующей докраской 1 % водным раствором эозина. Срезы микроскопировали (микроскоп Nikon eclipse 55i,) в проходящем свете [11–14].

Оценка местного раздражающего действия. Возможное местное раздражающее действие суспензии Гомеовокс при пероральном введении оценивали клинически, затем макроскопически при проведении патологоанатомического вскрытия, а также микроскопически при исследовании гистологических препаратов пищевода, желудка, тонкой и толстой кишки.

Статистическая обработка результатов

Проверка на нормальность распределения проводилась с применением общепринятых методов (критерий Шапиро–Уилка, критерий Колмогорова–Смирнова). При подтверждении гипотезы о нормальности распределения изучаемых количественных показателей проводили анализ на равенство внутригрупповых дисперсий с помощью теста Левена для одиночных и множественных сравнений. В случае не Гауссовского распределения использовали непараметрические методы оценки. Для проверки гипотезы об однородности групп исследования в исходном периоде проводили тестирование отсутствия различий между группами при помощи *t*-критерия Стьюдента (для интервальных показателей с нормальным распределением в исследуемой популяции), критерия Манна–Уитни (для ординальных показателей или для интервальных показателей с распределением, отличающимся от нормального). При межгрупповой оценке выборок животных использованы критерий χ^2 (для частотных показателей), однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) для непрерывных показателей. При невозможности использования данного метода анализа подбирали соответствующие непараметрические аналоги (ранговый критерий Краскела–Уоллиса для оценки разностей между медианами с поправкой Бонферрони для множественных сравнений) и проводили коррекцию с учётом множественности сравнений. Если основной тест показывал наличие значимой разницы, проводили дальнейшую обработку: для независимых выборок с помощью критерия Данна, для зависимых выборок — по Даннету. В случае множественных сравнений зависимых выборок применяли тест Фридмана, далее при установлении значимых различий использовали критерий Вилкоксона. При сравнении частотных показателей зависимых выборок применяли точный критерий Фишера.

Полученные результаты представляли в таблицах в виде частотных и/или процентных показателей или при помощи среднего, стандартного отклонения, медиан и нижнего и верхнего квартилей в зависимости от типа переменной. Во всех случаях различия считали значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Гомеовокс при ежедневном пероральном введении в течение трёх месяцев в дозах 100 и 1 000 мг/кг крысам и кроликам не вызывал изменений их общего состояния и внешнего вида.

Исследование динамики массы тела. Гомеовокс в изученных дозах при ежедневном пероральном введении в течение трёх месяцев не влиял на динамику массы экспериментальных крыс и кроликов.

Суточное потребление корма и воды у крыс. В ходе исследования было установлено, что крысы 1-й (контрольной) группы в течение всего эксперимента по-

требляли меньше корма, чем до введения 1 % раствора крахмала. Крысы 2-й группы (Гомеовокс в дозе 100 мг/кг) потребляли больше корма, чем животные контрольной группы (самки — в течение всего эксперимента, самцы — на 2 и 3 месяцах). Следует отметить, что у самок к окончанию эксперимента показатели потребления корма были выше показателей в контрольной группе на 17 %, у самцов — на 8 %. У животных 3-й группы (Гомеовокс в дозе 1 000 мг/кг) регистрировали такую же динамику снижения показателей потребления корма, как и в контрольной группе. Однако данные по потреблению корма были значимо выше контрольных в первый месяц у самок (на 33 %) и во второй месяц эксперимента у крыс обоего пола (у самок — на 31 %, у самцов — на 35 %). К окончанию эксперимента потребление корма животными этой группы не имело значимых различий с контрольной группой. Крысы «отставленной» 4-й группы, обследованные через месяц после отмены суспензии Гомеовокс, потребляли больше корма, чем животные контрольной и 3-й групп (табл. 1).

Потребление воды у животных 1-й (контрольной) группы в течение всего эксперимента было значимо меньше, чем до введения 1 % раствора крахмала. Колебание показателей потребления воды крысами опытных групп, получавших в течение трёх месяцев Гомеовокс в дозах 100 и 1 000 мг/кг, не имело закономерных различий с контрольной группой и исходными данными. Через месяц после отмены суспензии Гомеовокс самки и самцы «отставленной» 4-й группы пили закономерно больше воды, чем животные контрольной группы.

Следует отметить, что перечисленные изменения показателей потребления корма и воды не выходили за пределы обычных колебаний, наблюдаемых у лабораторных крыс.

Изучение поведенческих реакций у крыс. Гомеовокс в изученных дозах не вызывал значимых изменений показателей ориентировочно-исследовательской, вертикально-двигательной активности, количества пересечённых периферических секторов и эмоционального состояния крыс опытных групп в тесте «Открытое поле».

Электрокардиографические исследования у крыс. Гомеовокс в изученных дозах не вызывал значительных изменений, регистрируемых по показателям ЭКГ во втором отведении у экспериментальных животных.

Неинвазивное измерение пульса и АД у крыс. Было установлено, что при исследовании пульса и АД у крыс контрольной и опытных групп изученные показатели не выходили за пределы физиологической нормы для данного вида животных. Таким образом, Гомеовокс в дозах 100 и 1 000 мг/кг при ежедневном пероральном введении в течение трёх месяцев не вызывал изменений пульса и АД у экспериментальных крыс.

Измерения ректальной температуры у крыс. В ходе проведённого эксперимента не было выявлено зна-

Таблица 1

Влияние препарата Гомеовокс в дозах 100 мг/кг и 1000 мг/кг в течение трёх месяцев на суточное потребление корма и воды у крыс

Группа		Корм, г					Вода, мл				
		до введения	1 месяц	2 месяц	3 месяц	4 месяц	до введения	1 месяц	2 месяц	3 месяц	4 месяц
Контрольная (1 группа)	♀	19,3 19,1÷20,1	13,0* 12,8÷13,2	12,6* 11,7÷12,9	17,3* 16,2÷18,0		35,0 34,7÷36,5	15,6* 15,3÷15,7	29,1* 27,0÷29,8	21,7* 20,2÷22,6	
	♂	21,8 21,6÷22,1	18,8* 18,3÷19,0	15,8* 15,5÷16,6	18,6* 17,7÷18,9		35,2 34,9÷35,6	29,7* 29,0÷30,1	16,9* 16,6÷17,8	25,7* 24,6÷26,2	
Гомеовокс, 100 мг/кг (2 группа)	♀	18,1* 17,2÷18,6	18,2* 17,2÷18,5	16,2** 16,0÷17,1	20,3** 19,4÷21,7		25,9* 24,6÷26,6	23,2** 22,0÷23,6	26,8* 26,4÷28,3	28,4** 27,2÷30,3	
	♂	21,3 19,8÷23,6	18,6* 18,3÷21,0	19,5* 19,0÷22,2	20,1* 19,7÷23,7		29,6* 27,6÷32,8	27,2 26,8÷30,7	27,5* 26,7÷31,2	21,7* 21,3÷25,6	
Гомеовокс, 1000 мг/кг (3 и 4 группы)	♀	20,5* 20,1÷20,7	17,3** 16,5÷18,1	16,5** 15,2÷17,8	16,7* 15,1÷18,1	18,7**♦ 18,4÷22,5	34,2* 33,5÷34,6	24,4* 16,0÷35,2	18,6** 15,5÷23,6	24,6* 22,4÷27,2	26,8** 26,3÷32,1
	♂	23,6 22,9÷23,8	18,3* 17,1÷19,2	21,3** 18,9÷23,1	17,2* 14,9÷20,4	27,8**♦ 26,1÷29,5	35,9 35,0÷36,3	25,4* 22,1÷31,4	26,5** 23,6÷31,0	20,9* 16,4÷26,7	33,527,8**♦ 31,4÷35,6

Примечание: Данные представлены в виде медиан групп и 25 и 75 % квартилей; * — различие с фоновыми данными достоверно при уровне значимости $p < 0,05$; * — различие с контрольной группой достоверно при уровне значимости $p < 0,05$; ♦ — статистически значимые различия между 3- и 4-й группой при уровне значимости $p < 0,05$. Межгрупповая множественная оценка равенства медиан проводилась с применением критерия Краскела—Уоллиса; для проверки различий между связанными выборками применялся критерий Вилкоксона.

Примечание: Данные представлены в виде медиан групп и 25 и 75 % квартилей; * – различие с фоновыми данными достоверно при уровне значимости $p < 0,05$; ** – различие с контрольной группой достоверно при уровне значимости $p < 0,05$; ♦ – статистически значимые различия между 3- и 4-й группой при уровне значимости $p < 0,05$. Межгрупповая множественная оценка равенства медиан проводилась с применением критерия Краскела–Уоллиса; для проверки различий между связными выборками применялся критерий Вилкоксона.

чимых различий ректальной температуры у животных контрольной и опытных групп. Исследуемый показатель находился в пределах физиологической нормы у крыс.

Лабораторно-клиническое исследование крови у крыс и кроликов

Крысы. Через три месяца введения 1 % раствора крахмала у крыс 1-й (контрольной) группы регистрировали значимое снижение числа ретикулоцитов на 43–45 %. У самцов наблюдалось незначительное (6 %) увеличение МСНС. У самок к окончанию эксперимента отмечали уменьшение количества тромбоцитов (24 %) и, соответственно, процентного снижения количества этих клеток в объёме крови. Также у самок контрольной группы выявлено снижение уровня лейкоцитов на 30 %. В лейкоцитарной формуле регистрировали 5-кратное увеличение эозинофилов. При исследовании морфометрических показателей эритроцитов у крыс 1-й группы не наблюдалось значимых различий с исходными данными, за исключением незначительного уменьшения уровня анизоцитоза у самцов и повышения диаметра эритроцитов у крыс обоего пола. Следует отметить, что изменения всех показателей находились в референтных пределах для данного вида животных.

Через три месяца введения суспензии Гомеовокс в дозе 100 мг/кг у крыс 2-й группы не отмечено значимых различий с контрольной группой, за исключением 2-кратного увеличения эозинофилов в лейкоцитарной формуле у самок и сохранившегося с начала эксперимента низкого показателя среднего объёма тромбоцитов у самцов. В периферической крови животных этой группы отмечено снижение уровня лейкоцитов в среднем на 22 %. В лейкоцитарной формуле произошел сдвиг в сторону гранулоцитов: увеличение числа сегментоядерных нейтрофилов и эозинофилов, и, соответственно, уменьшение содержания лимфоцитов в лейкограмме. У самцов к окончанию эксперимента уменьшилось содержание тромбоцитов. Однако изменения всех этих показателей были незначительны и находились в референтных пределах для данного вида животных. При исследовании морфометрических показателей эритроцитов через три месяца введения препарата в дозе 100 мг/кг не было выявлено значимых различий с контрольной группой.

До начала эксперимента у крыс 3-й группы содержание гемоглобина в крови было выше значения, наблюдаемого в контрольной группе. Через три месяца введения суспензии Гомеовокс в дозе 1 000 мг/кг у крыс этой группы не было отмечено значимых различий в исследуемых показателях по сравнению с контрольной группой. При сопоставлении с исходными данными наблюдались схожие со 2-й группой изменения показателей красной крови. У самцов количество тромбоцитов снизилось на 29 % и, соответственно, понизился уровень тромбокриты. Так же, как и у крыс

2-й группы, наблюдалось уменьшение числа лейкоцитов (значимое у самок на 47 %). В лейкоцитарной формуле у самок регистрировали увеличение числа сегментоядерных нейтрофилов и эозинофилов на фоне снижения количества лимфоцитов.

Через месяц после отмены препарата у самцов крыс «отставленной» 4-й группы регистрировали увеличение содержания эритроцитов и гемоглобина по сравнению с контрольной группой и данными, полученными к окончанию трёхмесячного введения суспензии Гомеовокс крысам 3-й группы. При исследовании морфометрических показателей эритроцитов через три месяца введения препарата в дозе 1 000 мг/кг у крыс 3-й группы не наблюдалось значимых различий с контрольной группой. По сравнению с исходными данными, у самцов отмечали повышение диаметра эритроцитов. Следует отметить, что, хотя изменение этого показателя и было статистически значимым, оно было невелико (с 6,37 мкм до 6,64 мкм) и не выходило за пределы обычных колебаний, наблюдаемых у лабораторных крыс. Через месяц после отмены препарата у крыс «отставленной» 4-й группы не было зарегистрировано различий с контрольной группой, фоном и с данными, полученными к окончанию трёхмесячного введения препарата (3-я группа).

Таким образом, Гомеовокс в дозах 100 и 1 000 мг/кг не оказывал повреждающего действия на систему крови экспериментальных крыс.

Кролики. Через три месяца введения 1 % раствора крахмала у кроликов контрольной группы регистрировали увеличение содержания гемоглобина и остальных показателей красной крови: количество эритроцитов в среднем на 21 %, гематокрита на 24 %, МСН и МСНС на 6 %. К окончанию эксперимента у кроликов контрольной группы количество тромбоцитов и показатель тромбокриты понизились в среднем на 53 и 30 %, соответственно. Следует отметить, что колебания этих показателей часто встречаются у лабораторных животных данного вида и не выходят за референтные уровни.

При исследовании морфометрических показателей эритроцитов у кроликов контрольной группы через три месяца введения 1 % раствора крахмала не отмечено значимых различий в показателях с исходными данными, за исключением снижения уровня анизохромии у самцов на 19 %.

У кроликов 2-й группы к окончанию эксперимента не было выявлено значимых различий с данными контрольной группы. По сравнению с исходными значениями через три месяца введения суспензии Гомеовокс у самок этой группы регистрировали те же изменения показателей красной крови, что и в контрольной группе. У самцов вырос уровень эритроцитов на 16 % и, соответственно, их соотношение к общему объёму крови увеличилось на 19 %. Следует отметить, что колебания перечисленных выше показателей, хотя и были значимыми, не выходили

за границы референтных значений для данного вида животных.

При исследовании морфометрических показателей эритроцитов через три месяца введения суспензии Гомеовокс в дозе 100 мг/кг у самцов 2-й группы было выявлено значимое уменьшение числа дискоидных эритроцитов и, соответственно, возрастание числа пойкилоцитных форм по сравнению с данными контрольной группы. Однако колебания этих показателей не превышали 4 % и были характерны для лабораторных кроликов. Также у самцов выявлено снижение уровня анизоцитоза эритроцитов на 15 % по сравнению с исходными данными.

У самок 3-й группы через три месяца введения суспензии Гомеовокс в дозе 1 000 мг/кг показатели периферической крови не имели значимых различий с контрольной группой. У самцов показатели МСН и МСНС были выше уровня контрольной группы на 14 и 7 %. По сравнению с исходными данными у самцов было отмечено увеличение (в пределах нормы) количества гемоглобина и эритроцитов. При исследовании морфометрических показателей эритроцитов через три месяца введения суспензии Гомеовокс в дозе 1 000 мг/кг у самцов в цитоархитектонике клеток был зарегистрирован более низкий уровень нормальных (дискоидных) эритроцитов по сравнению с аналогичными показателями, наблюдаемыми в контрольной группе. У самок не выявлено значимых различий с контрольной группой. По сравнению с исходными данными отмечали небольшое, но статистически значимое понижение количества дискоцитов у самок (с 97,0 до 95,4 %), уменьшение количества анизохромных эритроцитов у самцов (с 16,5 до 13,0 %).

Колебания перечисленных выше показателей не выходили за границы референтных значений для данного вида животных.

Таким образом, Гомеовокс в дозах 100 и 1 000 мг/кг не оказывал повреждающего действия на систему крови экспериментальных кроликов. Обобщенный анализ данных проведенных гематологических исследований не выявил эффектов, которые могли бы быть обусловлены токсическим действием суспензии Гомеовокс у крыс и кроликов.

Исследование гемостаза у крыс и кроликов. Через три месяца введения суспензии Гомеовокс крысам в дозах 100 и 1 000 мг/кг у самок и самцов 2-й группы, а также самок 3-й группы не было выявлено значимых различий по сравнению с животными 1-й (контрольной) группы. У самцов 3-й группы, получавших Гомеовокс в дозе 1 000 мг/кг, наблюдалось значимое удлинение ТВ на 50,3 % по сравнению с контрольной группой. У самцов 4-й («отставленной») группы через месяц после отмены введения суспензии Гомеовокс наблюдалось значимое укорочение ТВ на 28 % по сравнению с крысами 3-й группы. У самок данной группы было установлено значимое удлинение ПВ по сравнению с контрольной (35,7 %) и 3-й группой

(21,9 %). Следует отметить, что вариабельность показателей протромбинового и тромбинового времени свертывания крови у крыс находились в пределах обычно наблюдаемых значений. Таким образом, у крыс, получавших Гомеовокс в дозах 100 и 1 000 мг/кг, все показатели гемостаза находились в пределах физиологической нормы.

Через три месяца введения суспензии Гомеовокс кроликам в дозах 100 и 1 000 мг/кг у экспериментальных животных не было выявлено значимых различий по сравнению с контрольной группой, за исключением самок, получавших Гомеовокс в дозе 100 мг/кг, у которых было отмечено значимое укорочение ПВ на 11,7 % по сравнению с кроликами контрольной группы. Наблюдаемое укорочение данного показателя находилось в границах допустимой вариабельности физиологической нормы для кроликов.

Таким образом, Гомеовокс в дозах 100 и 1 000 мг/кг не оказывал повреждающего действия на систему свертывания крови крыс и кроликов.

Биохимические исследования крови у крыс и кроликов. При биохимическом исследовании сыворотки крови крыс контрольной и опытных групп все показатели находились в границах обычно наблюдаемых значений.

Через 3 месяца введения суспензии Гомеовокс в дозе 100 мг/кг у крыс 2-й группы были выявлены значимые различия по сравнению с контрольной группой по всем исследуемым показателям, за исключением уровня АСТ. У самок наблюдалось значимое повышение содержания глюкозы (50,4 %), общего белка (31,3 %), альбумина (30 %), мочевины (34 %), креатинина (28,6 %) и активности АЛТ (56,9 %). У самцов было отмечено достоверное повышение концентрации глюкозы (25,8 %), общего белка (24,8 %), альбумина (30 %) и мочевины (53,3 %) по сравнению с аналогичными показателями у животных контрольной группы (табл. 2).

Через три месяца введения суспензии Гомеовокс в дозе 1 000 мг/кг у крыс 3-й группы не было выявлено значимых различий в биохимическом составе крови по сравнению с контрольной группой. Через месяц после отмены введения суспензии Гомеовокс у самок и самцов 4-й «отставленной» группы было отмечено статистически значимое повышение уровня биохимических показателей крови аналогичное изменениям, наблюдаемым в крови крыс 2-й группы, получавших Гомеовокс в дозе 100 мг/кг. У самок было зафиксировано значимое повышение содержания глюкозы (52,2 %), общего белка (31,4 %), альбумина (34 %), мочевины (30,1 %) и активности АСТ (в 2,1 раза). У самцов было отмечено статистически значимое повышение концентрации глюкозы (14,5 %), общего белка (23,7 %), альбумина (40 %), мочевины (38,8 %) и активности АЛТ (36,5 %) по сравнению с аналогичными показателями у животных контрольной группы. Также у самок и самцов 4-й «отставленной» группы были выявлены значимые различия с крысами 3-й группы

Таблица 2

Влияние препарата Гомеовокс в дозах 100 мг/кг и 1 000 мг/кг на биохимические показатели крови крыс

Показатели	Контроль Ме (25-75 %)	Гомеовокс, 100 мг/кг Ме (25-75%)	Гомеовокс, 1 000 мг/кг Ме (25-75 %)	Гомеовокс, 1 000 мг/кг (отст. группа) Ме (25-75 %)
Группа	1	2	3	4
Глюкоза ♀	5,75 (5,17÷6,33)	8,65* (7,86÷9,7)	6,22 (5,27÷7,01)	8,75 *♦ (7,73÷9,83)
ммоль/л ♂	6,75 (5,70÷7,12)	8,49 * (7,28÷9,07)	5,38 (4,90÷6,17)	7,73 *♦ (7,22÷8,64)
Общий белок ♀	59,01 (55,19÷62,24)	77,50 * (72,81÷80,44)	71,34 (49,03÷76,92)	77,56 * (72,54÷78,12)
г/л ♂	59,30 (58,42÷65,47)	73,98 * (71,63÷79,56)	54,60 (51,08÷67,23)	73,38 * (70,87÷77,56)
АСТ ♀	25,18 (23,01÷27,80)	32,74 * (31,51÷35,52)	31,51 (21,01÷34,44)	33,74 * (31,07÷36,41)
Ед/л ♂	22,55 (21,78÷24,40)	29,19 * (28,88÷30,12)	20,23 (18,07÷24,40)	31,57 *♦ (30,74÷32,57)
АЛТ ♀	23,40 (19,50÷36,60)	50,30 (23,70÷56,00)	35,70 (24,90÷47,80)	49,30 * (41,90÷60,40)
Ед/л ♂	40,40 (34,70÷48,70)	51,80 (38,10÷64,50)	27,90 (25,8÷63,6)	34,20 (33,90÷46,60)
Мочевина ♀	38,66 (35,68÷49,66)	60,66 * (51,74÷66,61)	52,63 (41,33÷57,39)	58,58 (41,33÷66,61)
ммоль/л ♂	49,66 (48,77÷53,53)	55,61 (44,31÷69,88)	61,85 (45,79÷73,15)	67,80 * (60,66÷73,75)
Креатинин ♀	5,75 (4,16÷6,41)	7,71 * (7,08÷9,06)	6,63 (4,57÷6,86)	7,48 *♦ (6,78÷8,19)
мкмоль/л ♂	5,42 (4,96÷6,44)	8,31 * (7,82÷8,67)	6,41 (5,23÷6,69)	7,52 * (6,81÷8,31)

Примечания: Данные представлены в виде медиан групп и 25 и 75 % квартилей; * – различие с контрольной группой достоверно при уровне значимости $p < 0,05$; ♦ – различия между 3 и 4 группой при уровне значимости $p < 0,05$. Межгрупповая множественная оценка равенства медиан проводилась с применением критерия Краскела–Уоллиса.

по содержанию биохимических показателей в крови. У самок было отмечено повышение концентрации глюкозы на 40,7 % и мочевины на 12,8 %, а у самцов глюкозы на 43,7 %, альбумина на 56 % и мочевины на 12,8 % по сравнению с аналогичными показателями у крыс 3-й группы (см. табл. 2).

Выявленные колебания биохимических показателей крови крыс всех опытных групп, получавших Гомеовокс, находились в пределах обычно наблюдаемых значений, характерных для этого вида животных.

При изучении сыворотки крови кроликов контрольной и опытных групп все исследуемые биохимические показатели находились в пределах физиологической нормы. У самок кроликов, получавших препарат в дозе 1 000 мг/кг, было установлено значимое повышение уровня АЛТ на 39,9 % по сравнению с контрольной группой (табл. 3). Наблюдаемое изменение данного показателя находилось в пределах референтных значений для кроликов.

Таким образом, исследование показало, что Гомеовокс в дозах 100 и 1 000 мг/кг не приводит к откло-

нению биохимических показателей крови от физиологической нормы у крыс и кроликов.

Биохимические исследования мочи у крыс. Исследование исходных физико-химических свойств мочи крыс 1-й (контрольной) группы в начале эксперимента не выявило отклонений биохимических показателей от референтных значений. Через три месяца введения 1% раствора крахмала у крыс 1-й группы не было зафиксировано значимых различий по биохимическим показателям мочи, за исключением статистически значимого повышения диуреза у самок в 2,2 раза, а у самцов в 2,9 раз по сравнению с исходными данными.

Через 3 месяца введения суспензии Гомеовокс в дозе 100 мг/кг у крыс 2-й группы наблюдалось статистически значимое увеличение диуреза: у самок в 4,3 раза, а у самцов в 1,7 раз, по сравнению с исходными данными. У самцов 2-й группы было отмечено значимое снижение концентрации мочевины на 40,7% и креатинина на 29% по сравнению с животными контрольной группы.

Таблица 3

Влияние препарата Гомеовокс в дозах 100 мг/кг и 1 000 мг/кг на биохимические показатели крови кроликов

Показатели	Контрольная (1 группа) Ме (25–75 %)	Гомеовокс, 100 мг/кг (2 группа) Ме (25–75 %)	Гомеовокс, 1 000 мг/кг (3 группа) Ме (25–75 %)
Группа	1	2	3
Глюкоза ♀	8,10 (7,62÷8,68)	8,82 (8,46÷9,63)	8,57 (8,23÷9,02)
ммоль/л ♂	7,98 (7,67÷8,74)	8,74 (8,01÷8,85)	7,81 (7,67÷8,12)
Общий белок ♀	73,10 (67,35÷85,76)	71,52 (69,36÷75,69)	71,66 (68,5÷77,42)
г/л ♂	67,64 (63,32÷72,81)	70,08 (69,07÷71,95)	68,21 (67,63÷68,50)
АСТ ♀	51,40 (43,00÷54,40)	43,90 (42,10÷44,20)	46,30 (43,00÷55,90)
Ед/л ♂	47,35 (45,70÷47,80)	51,10 (47,50÷56,80)	58,30 (51,40÷77,50)
АЛТ ♀	56,51 (44,61÷63,64)	63,94 (56,20÷82,97)	79,10 * (63,04÷83,86)
Ед/л ♂	69,59 (63,04÷71,37)	55,31 (49,07÷61,26)	65,13 (60,37÷67,50)
Мочевина ♀	9,10 (8,64÷9,86)	10,39 (7,93÷11,53)	8,50 (8,13÷10,14)
ммоль/л ♂	8,33 (7,57÷8,64)	8,25 (7,74÷8,76)	8,02 (7,23÷8,87)
Креатинин ♀	72,29 (52,97÷84,29)	62,27 (38,60÷93,54)	56,77 (46,21÷78,32)
мкмоль/л ♂	102,26 (45,36÷112,4)	83,67 (36,91÷98,04)	96,35 (59,45÷102,26)

Примечания: Данные представлены в виде медиан групп и 25 и 75 % квартилей; * — различие с контрольной группой достоверно при уровне значимости $p < 0,05$. Межгрупповая множественная оценка равенства медиан проводилась с применением критерия Краскела—Уоллиса.

В начале эксперимента у самцов крыс 3-й группы было выявлено значимое снижение содержание мочевины на 68,5 % по сравнению с контрольной группой. Через 3 мес введения суспензии Гомеовокс в дозе 1 000 мг/кг у самок крыс 3-й группы наблюдалось достоверное повышение диуреза в 4,3 раза по сравнению с исходными данными. У самцов 3-й группы было отмечено значимое увеличение диуреза в 2,9 раз и снижение концентрации креатинина на 25,6 % по сравнению с исходными показателями. Одновременно, у самцов этой группы было зарегистрировано

значимое снижение содержание мочевины на 35,5 % и креатинина на 30,1 %, по сравнению с крысами контрольной группы. Через месяц после отмены введения суспензии Гомеовокс у крыс 4-й «отставленной» группы сохранялось значимое повышение диуреза по сравнению с исходными данными и снижение концентрации креатинина у самцов по сравнению с результатами, полученными сразу после окончания трёхмесячного введения.

У самок 4-й «отставленной» группы объём диуреза значимо повысился в 4,7 раз, а у самцов в 3,4 раза, по сравнению с исходными значениями. У самцов 4-й группы было выявлено значимое снижение уровня креатинина на 36 % по сравнению с результатами, наблюдаемыми до отмены введения суспензии Гомеовокс.

Следует отметить, что наблюдаемые в контрольных и опытных группах изменения концентрации мочевины и креатинина не превышали физиологических значений, характерных для данного вида животных. Увеличение диуреза можно считать физиологическим, т. к. с увеличением общей массы животных увеличивается объём выделяемой мочи. Таким образом, проведённые биохимические исследования мочи не выявили токсического действия суспензии Гомеовокс.

Патоморфологические исследования. В результате проведённого патологоанатомического вскрытия, последующих макроскопических и микроскопических исследований установлено, что Гомеовокс в условиях настоящего эксперимента не вызывал закономерных изменений строения органов сердечно-сосудистой системы (сердце, магистральные сосуды), дыхательной системы (лёгкие, трахея), желудочно-кишечного тракта (пищевод, желудок, тонкий и толстый отделы кишечника, печень, поджелудочная железа), мочевыводящей системы (почки, мочевой пузырь), эндокринной системы (надпочечники, щитовидная железа, парашитовидная железа, островки Лангерганса поджелудочной железы), органов кроветворения (селезёнка, тимус, лимфатические узлы кишечника и лёгких), репродуктивной системы (семенники и придатки семенников самцов, яичники и маточные трубы самок) крыс и кроликов, нервной системы (головной мозг) крыс.

Оценка местного раздражающего действия. При осуществлении манипуляции перорального введения препарата все крысы и кролики контрольных и опытных групп вели себя спокойно, не проявляли признаков агрессии. При ежедневных осмотрах не было отмечено морфологических признаков раздражения слизистой оболочки ротовой полости ни у одного животного. В результате проведённого патоморфологического вскрытия не было обнаружено макроскопических изменений ротовой полости, языка, глотки, пищевода, желудка, тонкого и толстого отделов кишечника крыс и кроликов контрольных и опытных групп. Микроскопическая картина пищевода, желудка, тонкого и

толстого отделов кишечника крыс и кроликов экспериментальных групп, получавших Гомеовокс в дозах 100 и 1 000 мг/кг, не отличалась от таковой, наблюдаемой у контрольных крыс и кроликов, получавших 1 % раствор крахмала. Таким образом, Гомеовокс в изученных дозах не оказывал местного раздражающего действия на органы желудочно-кишечного тракта экспериментальных животных.

Заключение

Гомеовокс, вводимый крысам и кроликам перорально в дозах 100 и 1 000 мг/кг в течение трёх месяцев, не продемонстрировал токсических эффектов и местного раздражающего действия в комплексном исследовании, выполненном в объёме, рекомендованном Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ [3].

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Мирошкина Ирина Александровна
Автор, ответственный за переписку

e-mail: iris10.81@mail.ru

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

Corresponding author

e-mail: iris10.81@mail.ru

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

PhD in Biology, 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

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

Захаров Алексей Дмитриевич

SPIN-код: 9013-6228

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

Zakharov Aleksei

SPIN code: 9013-6228

Junior researcher of the laboratory of drug toxicology FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Алексеева Светлана Витальевна

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

ORCID ID: 0000-0002-1262-6997

SPIN code: 8985-3418

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

Лапицкая Анастасия Сергеевна

SPIN-код: 7966-8750

к. б. н., с. н. с., лаборатории диагностики и профилактики инфекционных заболеваний ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, Москва

Lapitskaya Anastasiya

SPIN code: 7966-8750

PhD in Biology, Senior Research Officer of laboratory of diagnostics and prevention of infectious diseases MRIEM, Moscow

Литература / References

1. Радциг Е.Ю., Ермилова Н.В. Нарушения голоса в различные периоды его становления: причины и алгоритм ведения пациентов // *РМЖ. Оториноларингология*. — 2016. — № 4. — С. 217–220. [Radtsig EYu, Ermilova NV. Voice disorders at different stages of its maturation: the causes and patient management. *RMJ. Otorhinolaryngology*. 2016;(4):217–220 (In Russ).]
2. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. National Academies Press (US). Washington (DC). 2011. DOI: 10.17226/12910
3. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Методические указания по изучению общетоксического действия фармакологических веществ. Изучение «хронической» токсичности. — М.: Медицина; 2005. 47–54. [Guideline for Experimental (Preclinical) Studying of New Pharmacological Substances. Metodicheskie ukazaniya po izucheniyu obshchetoksicheskogo deistviya farmakologicheskikh veshchestv. Izuchenie «khronicheskoi» toksichnosti. Moscow: Medicine; 2005. P. 41–47 (In Russ).]
4. Правила доклинической оценки безопасности фармакологических средств. РД 64-126-91. — М.: МЗ России, ФК; 1992. [Pravila doklinicheskoi otsenki bezopasnosti farmakologicheskikh sredstv. RD 64-126-91. Moscow: Rosminzdrav, FK; 1992.]
5. Diehl KH, Hull R, Morton D. A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes. *J Appl Toxicol*. 2001 Jan-Feb;21(1):15–23. DOI: 10.1002/jat.727
6. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. Методические рекомендации по изучению общетоксического действия лекарственных средств. Изучение хронической токсичности. — М.: Гриф и К; 2012. — С. 17–19. [Guidance on Preclinical Evaluation of Medicines. Part I. Metodicheskie rekomendatsii po izucheniyu obshchetoksicheskogo deistviya lekarstvennykh sredstv. Izuchenie khronicheskoi toksichnosti. Moscow: Grif i K; 2012. (In Russ).]

7. Балынина Е.С., Березовская И.В. Сравнительная оценка методов определения ориентировочной реакции крыс в токсикологическом эксперименте // *Фарм. и Токсикол.* — 1976. — № 5. — С. 635–638. [Balylnina ES, Berezovskaya IV. Sravnitel'naya otsenka metodov opredeleniya orientirovochnoi reaktzii krysv v toksikologicheskom eksperimente. *Russian Journal of Experimental and Clinical Pharmacology*. 1976;(5):635–638. (In Russ).]
8. Тэмл Х., Диам Х., Хаферлах Т. Атлас по гематологии. — М.: МЕДпресс-информ; 2010. [Theml H, Diem H, Haferlach T. Color Atlas of Hematology. Moscow: MEDpress-inform; 2010. (In Russ).]
9. Исследование системы крови в клинической практике / Под ред. Г.И. Козинца, В.А. Макарова. — М.: Триада-Х; 1997. [Studies of Blood System in Clinical Practice. Ed by Kozinets GI, Makarov VA. Moscow: Triada-X; 1997. (In Russ).]
10. Беленький М.Б. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. — Л.: Медгиз; 1963. [Belen'kii MB. Elementy kolichestvennoi otsenki farmakologicheskogo effekta. Leningrad: Medgiz; 1963. (In Russ).]
11. Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники. 5-е изд., испр. и доп. — Ленинград: Медицина. Ленингр. отд-ние; 1969. [Merkulov GA. Kurs patologistologicheskoi tekhniki. Leningrad: Medicine; 1969. (In Russ).]
12. Микроскопическая техника. Руководство для врачей и лаборантов / под ред. Д.С. Саркисова и Ю.Л. Перова. — М.: Медицина; 1996. [Mikroskopicheskaya tekhnika. Rukovodstvo dlya vrachei i laborantov. Ed by Sarkisov DS, Perov YuL. Moscow: Medicine; 1996. (In Russ).]
13. Гистологическая и микроскопическая техника: Руководство / А. Г. Сапожников, А. Е. Доросевич. — Смоленск: САУ; 2000. [Gistologicheskaya i mikroskopicheskaya tekhnika: Rukovodstvo. Sapozhnikov AG, Dorosevich AE. Smolensk: SAU; 2000. (In Russ).]
14. Rolls GO. 101 Steps to Better Histology — a Practical Guide to Good Histology Practice. Leica Biosystems. 2008.