

ISSN 2587-7836 (print)
ISSN 2686-8830 (online)

ФАРМАКОКИНЕТИКА *и* ДИНАМИКА

Включен в перечень рецензируемых
научных журналов ВАК РФ



№1.2025



Главный редактор

Жердев Владимир Павлович

д. м. н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, Москва

Зам. главного редактора

Смирнов Валерий Валерьевич

д. фарм. н., Москва

Ответственный секретарь

Литвин Александр Алексеевич

д. б. н., Москва

Редакционная коллегия

Бондарева Ирина Борисовна

д. б. н., Москва

Воронина

Татьяна Александровна

заслуженный деятель науки
РФ, д. м. н., профессор, Москва

Громова Ольга Алексеевна

д. м. н., профессор, Москва

Дорофеев Владимир Львович

д. фарм. н., профессор, Москва

Дурнев Андрей Дмитриевич

член-корр. РАН, д. м. н.,
профессор, Москва

Ковалёв Георгий Иванович

д. м. н., профессор, Москва

Колик Лариса Геннадьевна

д. б. н., профессор РАН, Москва

Колыванов Геннадий

Борисович, д. б. н., Москва

Мирзоян Рубен Симонович

заслуженный деятель науки
РФ, д. м. н., профессор, Москва

Мирошниченко Игорь Иванович

д. м. н., Москва

Рудакова Алла Всеволодовна

д. фарм. н., профессор,
Санкт-Петербург

Раменская

Галина Владиславовна

д. фарм. н., профессор, Москва

Спасов Александр Алексеевич

академик РАН, д. м. н.,
профессор, Волгоград

Стародубцев

Алексей Константинович

д. м. н., профессор, Москва

Сычёв Дмитрий Алексеевич

академик РАН, д. м. н.,
профессор, Москва

Тюрников Иван Николаевич

член-корр. РАН, д. м. н.,
профессор, Волгоград
д. б. н., профессор РАН, Москва

Хохлов Александр Леонидович

академик РАН, д. м. н.,
профессор, Ярославль

Выпускающая группа

Белоусов Дмитрий Юрьевич

Ответственный за выпуск журнала
+ 7 (910) 449-22-73
e-mail: clinvest@mail.ru

Афанасьева

Елена Владимировна

Генеральный директор
ООО «Издательство ОКИ»

подписка

+ 7 (916) 986-04-65

e-mail: eva88@list.ru

сайт: www.izdat-oki.ru

Жук Елена Владимировна

Дизайн и верстка
e-mail: elenazuk70@mail.ru

Подписано в печать 31.03.2025 г. Тираж 400 экз.

Типография: ООО «Буки Веди», www.bukivedi.com

115093, г. Москва, Партийный переулок, д. 1, корп. 58, стр. 3, пом. 11

Адрес редакции: 125315, Москва, ул. Балтийская, 8 ФГБУ «НИИ фармакологии имени В.В. Заскусова». Тел./Факс: + 7 (495) 601-21-57; e-mail: zherdevpharm@mail.ru

NEICON (лаборатория Elrub) — создание и поддержка сайта журнала www.pharmacokinetics.ru на платформе Elrub.

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор) 04.02.2021 года свидетельство о регистрации СМИ ПИ № ФС 77-80349. ISSN 2587-7836. Журнал включен в перечень ВАК. Авторские материалы не обязательно отражают точку зрения редакции. Редакция не несет ответственности за достоверность информации, содержащейся в рекламных материалах.

Сайты

www.Antibiotics-Chemotherapy.ru
www.ClinVest.ru
www.MyRWD.ru
www.Patient-Oriented.ru
www.PharmacoGenetics-Pharmaco-Genomics.ru

Журналы

Антибиотики и Химиотерапия
Качественная клиническая практика
Реальная клиническая практика: данные и доказательства
Пациентоориентированная медицина и фармация
Фармакогенетика и Фармакогеномика

WEB-порталы

www.HealthEconomics.ru
www.izdat-oki.ru

Центр Фармакоэкономических Исследований
Издательство ОКИ

ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

Доклинические исследования безопасности лекарственных средств в Евразийском экономическом союзе
Енгалычева Г. Н., Сюбаев Р. Д., Дурнев А. Д. 3

Ферроптоз и старение

Гаранин А. А., Богачева Т. Е., Громова О. А. 17

ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ФАРМАКОДИНАМИКИ

Изучение анксиолитической активности и возможных побочных эффектов дипептидного лиганда транслокаторного белка TSPO — соединения ГД-102 в широком диапазоне доз в экспериментах на крысах и мышах
Котельникова С. О., Деева О. А., Крайнева В. А., Гудашева Т. А., Воронина Т. А., Дорофеев В. Л. 27

Изучение возможности применения метформина при интраназальном введении для коррекции поведенческих и когнитивных дисфункций половозрелых крыс

Хафизова А. З., Семина И. И. 35

Исследование антипаркинсонической активности комбинации ладастена с фабомотизолом на модели паракват-индуцированного паркинсонического синдрома

Мариевский В. Е., Любанский И. А., Шангин С. В., Зайнуллина Л. Ф., Дорофеев В. Л. 43

МЕТОДЫ ФАРМАКОДИНАМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Перспективная биологическая модель гестационного сахарного диабета с выраженными нарушениями углеводного и липидного обменов у крыс

Качалов К. С., Соломина А. С., Родина А. В., Дурнев А. Д. 53

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование острой токсичности димерного дипептидного миметика нейротрофина-3 на мышах

Алексеев И. В., Мирошкина И. А., Сорокина А. В., Алексеева С. В., Волкова А. В., Саров А. Д., Качалов К. С., Цорин И. Б., Колик Л. Г., Дурнев А. Д. 60

ИССЛЕДОВАНИЯ КЛИНИЧЕСКОЙ ФАРМАКОКИНЕТИКИ

Фармакокинетика валсартана у пациентов с контролируемой и неконтролируемой артериальной гипертензией

Селезнев С. В., Мыльников П. Ю., Шулькин А. В. 69



Chief editor

Vladimir P. Zherdev

Ph.D., Professor, Honored Scientist of the Russian Federation, Moscow

Deputy chief editor

Valery V. Smirnov

Ph.D., Moscow

Executive secretary

Alexander A. Litvin

Ph.D., Moscow

EDITORIAL BOARD

Irina B. Bondareva

Ph.D., Moscow

Tatiana A. Voronina

Honored Scientist RF, Ph.D.,
Professor, Moscow

Olga A. Gromova

Ph.D., Professor, Ivanovo

Vladimir L. Dorofeev

Ph.D., Professor, Moscow

Andrey D. Durnev

Corresponding Member RAS,
Ph.D., Professor, Moscow

Georgy I. Kovalev

Ph.D., Professor, Moscow

Larisa G. Colic

Ph.D., Professor, Moscow

Gennady B. Kolyvanov

Ph.D., Moscow

Ruben S. Mirzoyan

Honored Scientist RF, Ph.D.,
Professor, Moscow

Igor I. Miroshnichenko

Ph.D., Moscow

Alla V. Rudakova

Ph.D., Professor, St. Petersburg

Galina V. Ramenskaya

Ph.D., Professor, Moscow

Alexander A. Spasov

Academician RAS, Ph.D.,
Professor, Moscow

Alex K. Starodubtsev

Ph.D., Professor, Moscow

Dmitry A. Sychev

Academician RAS,
Ph.D., Professor, Moscow

Ivan N. Tyurenkov

Corresponding Member PAS,
Ph.D., Professor, Volgograd

Alexander L. Khokhlov

Academician RAS, Ph.D.,
Professor, Yaroslavl

ISSUING GROUP

Dmitry Yu. Belousov

Managing Editor

+7 (910) 449-22-73

e-mail: clinvest@mail.ru

Elena V. Afanaseva

CEO in LLC «Publishing OKI»
subscription

+7(916)986-04-65

e-mail: eva88@list.ru

site: www.izdat-oki.ru

Elena V. Zhuk

Design and layout

e-mail: elenazuk70@mail.ru

Signed in print 31.03.2025. **Circulation** 400 copies.

Typography: LLC Buki Vedi, www.bukivedi.com

115093, Moscow, Partinyniy pereulok, 1/58, bld. 3, office 11

Editorial address: 125315, Moscow, ul. Baltiyskaya, 8 Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies

Tel./Fax: +7 (495) 601-21-57; e-mail: zherdevpharm@mail.ru

NEICON (Elpub Lab) — www.pharmacokinetics.ru creation and support on the Elpub Platform.

The journal was registered with the Federal Service for Supervision in the Sphere of Communications, Information Technology and Mass Media (Roskomnadzor) on 02/04/2021, the certificate of registration of the mass media PI No. FS 77-80349. ISSN 2587-7836. **The journal is included in the list of Higher Attestation Commission (HAC) of Russian Federation.** Copying material does not necessarily reflect the views of the publisher. We take no responsibility for the accuracy of the information contained in promotional materials.

Sites

www.Antibiotics-Chemotherapy.ru

www.ClinVest.ru

www.MyRWD.ru

www.Patient-Oriented.ru

www.PharmacoGenetics-PharmacoGenomics.ru

Journals

Antibiotics and Chemotherapy

Good Clinical Practice

Real-World Data & Evidence

Patient-Oriented Medicine and Pharmacy

Pharmacogenetics and Pharmacogenomics

WEB-portals

www.HealthEconomics.ru

www.izdat-oki.ru

Center of Pharmacoeconomics Research

Publisher OKI

REVIEW ARTICLES

Preclinical safety studies of medicines in the Eurasian economic union

Engalycheva GN, Syubaev RD, Durnev AD 3

Ferroptosis and ageing

Garanin AA, Bogacheva TE, Gromova OA 17

PRECLICAL PHARMACODYNAMIC STUDIES

Study of anxiolytic activity and possible side effects of the dipeptide ligand of the translocator protein TSPO — compound GD-102 in a wide range of doses in behavioral experiments using rats and mice

Kotel'nikova SO, Deeva OA, Kraineva VA, Gudasheva TA, Voronina TA, Dorofeev VL 27

Study of the possibility of using metformin by intranasal administration for the correction of behavioral and cognitive dysfunctions of rats

Hafizova AZ, Semina II 35

The study of antiparkinsonian activity of the combination of ladasten with fabomotizole in paraquat-induced model of parkinsonian syndrome

Marievskii VE, Lyubanskii IA, Shangin SV, Zainullina LF, Dorofeev VL 43

METHODS OF PHARMACODYNAMIC STUDIES

A promising biological model of gestational diabetes mellitus with specific impairments of carbohydrate and lipid metabolism in rats

Kachalov KS, Solomina AS, Rodina AV, Durnev AD 53

TOXICOLOGICAL STUDIES

Study of acute toxicity of dimeric dipeptide mimetic of neurotrophin-3 in mice

Alekseev IV, Miroshkina IA, Sorokina AV, Alekseeva SV, Volkova AV, Zakharov AD, Kachalov KS, Tsorin IB, Kolik LG, Durnev AD 60

CLINICAL PHARMACOKINETICS STUDIES

Valsartan pharmacokinetics in patients with controlled and uncontrolled arterial hypertension

Seleznev SV, Mylnikov PYu, Schulkin AV 69



Доклинические исследования безопасности лекарственных средств в Евразийском экономическом союзе

Енгальчева Г. Н.¹, Сюбаев Р. Д.¹, Дурнев А. Д.²

¹ ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, Москва, Российская Федерация (ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России)

² ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация

Аннотация

В статье проанализированы нормативные и научно-методические документы Евразийского экономического союза (ЕАЭС) и Российской Федерации, посвященные проведению доклинических исследований безопасности лекарственных средств. Выявлены области исследований, для которых целесообразна разработка специальных руководств ЕАЭС, посвященных стратегиям проведения доклинических исследований безопасности. На основе анализа международной нормативно-методической базы предложены элементы зарубежного опыта по доклинической оценке, безопасности лекарственных средств для переноса в практику ЕАЭС.

Ключевые слова: лекарственные средства; доклинические исследования; острая токсичность; токсичность при многократном введении; фармакологическая безопасность; токсикокинетические исследования; генотоксичность; местная переносимость; канцерогенность, репродуктивная и онтогенетическая безопасность; иммунооксичность; фототоксичность; лекарственная зависимость; оценка безопасности

Для цитирования:

Енгальчева Г. Н., Сюбаев Р. Д., Дурнев А. Д. Доклинические исследования безопасности лекарственных средств в Евразийском экономическом союзе. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2025;(1):3–16. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2025-1-3-16>. EDN: UYQHMO

Поступила: 04.12.2024. **В доработанном виде:** 20.01.2025. **Принята к печати:** 07.02.2025. **Опубликована:** 31.03.2025.

Preclinical safety studies of medicines in the Eurasian economic union

Galina N. Engalycheva¹, Rashid D. Syubaev¹, Andrey D. Durnev²

¹ Scientific Centre on Expertise of Medical Application Products MOH Russia, Moscow, Russian Federation

² Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation

Abstract

This article analyzes the regulatory, scientific, and methodological documents of the Eurasian Economic Union (EAEU) and the Russian Federation devoted to conducting preclinical studies on the safety of medicines. Areas for which it is advisable to develop special EAEU guidelines for conducting preclinical safety studies have been identified. Based on an analysis of the international regulatory and methodological framework, elements of foreign experience in preclinical assessment of the safety of medicines for transfer to the practice of the Union are proposed.

Keywords: medicines; preclinical studies; acute toxicity; repeated administration toxicity; pharmacological safety; toxicokinetic studies; genotoxicity; local tolerability; carcinogenicity; reproductive and ontogenetic toxicity; immunotoxicity; phototoxicity; drug dependence; safety assessment

For citations:

Engalycheva GN, Syubaev RD, Durnev AD. Preclinical safety studies of medicines in the Eurasian economic union. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2025;(1):3–16. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2025-1-3-16>. EDN: UYQHMO

Received: 04.12.2024. **Revision received:** 20.01.2025. **Accepted:** 07.02.2025. **Published:** 31.03.2025.

Введение / Introduction

В настоящее время в Российской Федерации обращение лекарственных средств (ЛС) осуществляется в соответствии с правилами регистрации и экспертизы Евразийского экономического союза (ЕАЭС) [1]. Отдельные процедуры, например, экспертиза с целью получения разрешения на проведение клинического исследования, подчиняются национальному законо-

дательству Российской Федерации [2]. Так, Приложение № 5 к приказу Министерства здравоохранения РФ от 24 августа 2017 г. № 558н [3] регламентирует форму заключения комиссии экспертов на основании комплексной оценки представленных разработчиком результатов доклинических исследований препарата.

В 2024 году в ФЗ-61 «Об обращении лекарственных средств» внесены изменения. С 30 января 2024 года доклинические исследования ЛС проводятся с пра-

вилами Надлежащей лабораторной практики ЕАЭС [4], клинические исследования — в соответствии с правилами Надлежащей клинической практики ЕАЭС [5]. С 1 сентября 2024 года для получения разрешения на проведение клинического исследования биологического лекарственного препарата (ЛП) подаются документы и сведения, предусмотренные правилами ЕАЭС [6].

Цель / Goal

Анализ норм и правил проведения доклинических исследований безопасности ЛС в ЕАЭС и за рубежом для оценки возможности переноса элементов зарубежного опыта в практику ЕАЭС.

Рассмотрены, прежде всего, подходы к доклиническому изучению оригинальных ЛП, которые представляют собой малые молекулы, полученные путём химического синтеза. В статье не обсуждаются требования к доклинической оценке комбинированных препаратов и ЛС для детей.

Методы и материалы / Materials and methods

Использован информационно-аналитический метод сравнительного анализа норм и требований ЕАЭС, Российской Федерации, зарубежных регуляторных систем.

Требования к объёму доклинических исследований безопасности лекарственных средств в ЕАЭС и Российской Федерации / Requirements for the volume of preclinical drug safety studies in the EAEU and the Russian Federation

Согласно Договору о Евразийском экономическом союзе [7], постоянно действующим регулирующим

органом ЕАЭС является Комиссия. Комиссия состоит из Совета Комиссии и Коллегии Комиссии. В соответствии с пунктом 13 Положения о Евразийской экономической комиссии (ЕЭК) [8], комиссия в пределах своих полномочий принимает решения, имеющие нормативно-правовой характер и обязательные для государств-членов, распоряжения, имеющие организационно-распорядительный характер, и рекомендации, не имеющие обязательного характера. Решения Комиссии входят в право ЕАЭС и подлежат непосредственному применению на территориях государств-членов.

Основным документом ЕАЭС, определяющим порядок проведения доклинических исследований, является Решение Коллегии ЕЭК № 202, которое включает «Руководство по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов» [9]. Руководство применяется на этапе разработки ЛП и содержит общие требования к процессу доклинической разработки ЛП. Необходимо отметить, что данный документ представляет собой перевод Руководства ICH (International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use — Международный совет по гармонизации технических требований к фармацевтическим препаратам для использования человеком) M3(R2) [10]. Соответственно, подходы ЕАЭС к доклиническим исследованиям безопасности ЛП в настоящее время максимально приближены к позиции зарубежных регуляторных органов.

Целью Решения Коллегии ЕЭК № 202 является введение международных стандартов для осуществления и ускорения гармонизации доклинических исследований безопасности, необходимых для проведения клинических исследований определённого характера

Таблица 1

Необходимый объём доклинических исследований лекарственных средств

Table 1

The required volume of preclinical studies of medicines

Необходимый объём доклинических исследований лекарственных средств	
Российская Федерация [11]	ЕАЭС [9]
Необходимый объём доклинических исследований: Общетоксические свойства: острая и подострая (субхроническая) токсичность, хроническая токсичность, местнораздражающее действие. Специфические виды токсичности: мутагенность; репродуктивная токсичность; канцерогенное действие; аллергизирующее действие; иммунотоксическое действие. Фармакологическая безопасность. Специфическая фармакологическая активность. Фармакокинетические исследования.	Доклиническая оценка безопасности лекарственных препаратов в целях их регистрации предусматривает проведение: а) фармакологических исследований; б) исследований общетоксических свойств; в) токсикокинетических и доклинических фармакокинетических исследований; г) исследований репродуктивной токсичности; д) исследований генотоксичности; е) оценки канцерогенного потенциала в отношении лекарственных препаратов, вызывающих особые опасения или предназначенных для длительного применения. Необходимость проведения доклинических исследований в целях оценки фототоксичности, иммунотоксичности, токсичности на неполовозрелых животных и склонности к возникновению лекарственной зависимости определяется в индивидуальном порядке.

и продолжительности, а также для регистрации ЛП в рамках Евразийского экономического союза.

Табл. 1 иллюстрирует объём доклинических исследований оригинального ЛС, которые традиционно проводили в Российской Федерации, и требования ЕАЭС.

Из табл. 1 видно, что требования ЕАЭС к объёму доклинических исследований безопасности оригинальных ЛС несколько отличаются от подходов, принятых в Российской Федерации. Так, Решение ЕЭК № 202 регламентирует проведение токсикокинетических исследований, в определённых случаях предусмотрена оценка фототоксичности. Эти виды исследований не рассматривались в отечественном руководстве по проведению доклинических исследований безопасности ЛС [11]. Решение ЕЭК № 202 не требует изучения алергизирующего действия препарата, вопросы о необходимости исследований иммуотоксичности, токсичности на половозрелых животных и склонности к возникновению лекарственной зависимости определяются в индивидуальном порядке.

Исследования фармакологической безопасности / Pharmacological safety studies

Согласно Решению Коллегии ЕЭК № 202 [9], исследования фармакологической безопасности проводятся в соответствии с руководством по исследованию фармакологической безопасности ЛП для медицинского применения, принимаемым Евразийской экономической комиссией. Руководство по изучению фармакологической безопасности ЕАЭС [12], которое действует с 2020 года, соответствует двум документам ИСН — S7A [13] и S7B [14], рассматривает общие подходы к проведению данного вида исследований, также содержит указания, по доклинической оценке, способности исследуемого вещества вызывать замедление реполяризации желудочков сердца в опытах *in vitro* и *in vivo*.

В соответствии с современной регуляторной классификацией [12] доклинические фармакологические исследования ЛП подразделяются на три категории исследований:

- первичной фармакодинамики — изучение механизма действия и (или) эффектов исследуемого вещества, связанных с его целевой терапевтической мишенью;
- вторичной фармакодинамики — изучение механизма действия и (или) эффектов исследуемого вещества, не связанных с его целевой терапевтической мишенью;
- фармакологической безопасности — исследования, направленные на изучение потенциальных нежелательных фармакодинамических эффектов исследуемого вещества на физиологические функции организма, при его применении в дозах, соответствующих терапевтическому диапазону и выше.

К доклиническим исследованиям безопасности ЛП относятся, прежде всего, исследования фармакологической безопасности. Если при оценке без-

опасности ЛП учитывается информация о первичных и вторичных фармакодинамических эффектах, её рекомендуется рассматривать совместно с результатами исследований фармакологической безопасности.

Цели исследований фармакологической безопасности [15]:

- Выявление нежелательных фармакодинамических свойств, имеющих отношение к безопасности человека.
- Оценка побочных фармакодинамических эффектов, наблюдаемых в токсикологических и/или клинических исследованиях.
- Изучение механизмов нежелательных фармакодинамических эффектов.

Основная батарея тестов фармакологической безопасности включает изучение влияния препарата на функции жизненно-важных систем организма. Признано, что для оценки влияния препарата на функцию дыхательной системы одного клинического наблюдения, как правило, недостаточно. Поэтому необходимо использовать количественное измерение частоты дыхания и других показателей (дыхательный объём, насыщение гемоглобина кислородом).

Последующие и дополнительные исследования фармакологической безопасности проводят в следующих случаях:

- Препарат принадлежит к определённому химическому классу или фармакотерапевтической группе, для которых известна способность вызывать нежелательные реакции.
- Проблемы, связанные с фармакологической безопасностью, выявлены в ходе клинических исследований, получены из источников фармаконадзора, из экспериментальных исследований препарата или источников литературы.

Исследования токсичности при однократном введении лекарственного препарата / Single-dose toxicity studies

Согласно Приложению № 1 к Решению Совета ЕЭК № 78 [16], исследования токсичности при однократном введении необходимо проводить в соответствии с руководствами Комиссии или при их отсутствии — соответствующими руководствами государств-членов.

Российское руководство по проведению доклинических исследований определяет острую токсичность как токсиметрическую характеристику фармакологического вещества или лекарственного препарата, выражающую его способность вызывать гибель животных при однократном введении или при введении через короткие (не более 6 ч) интервалы времени в течение суток [11].

Поскольку, как было указано выше, подходы ЕАЭС к доклиническим исследованиям ЛС совпадают со стандартами зарубежных регуляторов, представляет интерес рассмотреть позицию FDA (Food and Drug

administration — Управление по контролю за продуктами и лекарствами) и EMA (European Medicines Agency — Европейское медицинское агентство) к проведению исследований острой токсичности/токсичности при однократном введении.

Руководство FDA по изучению острой токсичности — это очень краткий документ, который содержит всего две страницы и, как указано в примечаниях, не является согласованным с позицией ICH. В документе дано следующее определение понятия «Острая токсичность» — это токсичность, вызываемая фармацевтическим препаратом при его введении в одной или нескольких дозах в течение периода, не превышающего 24 часов [17].

К настоящему времени EMA пересмотрело подходы к изучению острой токсичности ЛП. В июне 2008 года Комитет по лекарственным средствам для медицинского применения (Committee for Medicinal Products for Human Use — CHMP) опубликовал концептуальный документ, в котором было рекомендовано пересмотреть существующее руководство по изучению токсичности при однократном введении/острой токсичности. После дополнительных обсуждений в рамках Рабочей группы по безопасности (Safety Working Party — SWP) CHMP было решено отозвать данное руководство [18]. Это решение главным образом основано на признании того, что результаты, полученные в ходе традиционных исследований токсичности при однократном введении, имеют ограниченную ценность, а информация об острой токсичности может быть получена в ходе других видов токсикологических исследований. Также отмечено, что устранение необходимости в традиционных исследованиях токсичности при однократном введении уменьшит число животных, используемых в доклинических исследованиях безопасности, что будет способствовать выполнению принципов 3R.

Таким образом, в настоящее время основными нормативно-методическими документами, регла-

ментирующими в Европе оценку токсичности при однократном введении ЛП, является Руководство ICH M3R2 [10] и Руководство по изучению токсичности при введении в повторных дозах (Guideline on repeat dose toxicity) [19]. Поскольку Решение Коллегии ЕЭК № 202 создавалось на основе Руководства ICH M3(R2), подходы ЕАЭС к исследованиям токсичности при однократном введении лекарственного препарата в настоящее время максимально приближены к позиции ЕМА. Кратко резюмировать современные подходы к изучению токсичности при однократном введении можно следующим образом:

- Специальные (самостоятельные) исследования не являются строго необходимыми.
- Сведения о дозозимитирующей токсичности при краткосрочном введении могут быть получены из токсикологических исследований при повторном введении препарата.
- Летальность не является обязательной конечной точкой.
- Исследования могут быть ограничены только клиническим способом введения и не соответствовать правилам надлежащей лабораторной практики (но только в том случае, если клинический способ введения был изучен в эксперименте при повторном введении в соответствии с надлежащей лабораторной практикой).

В связи с отзывом руководства по изучению острой токсичности, 24 июля 2010 на сайте ЕМА были опубликованы вопросы и ответы агентства о том, как получить информацию об острой токсичности из других источников [20]. Один из вопросов касался отличий исследований «Токсичности при однократном введении» от «Расширенного исследования токсичности при однократном введении». Поскольку в Решении ЕЭК № 202 также используются эти два термина, представляет интерес разъяснение европейским регулятором этих понятий (табл. 2).

Таблица 2

Отличия исследований токсичности при однократном введении лекарственного препарата от «расширенных» исследований токсичности при однократном введении (по материалам [20])

Table 2

Differences between single-dose toxicity studies and “extended” single-dose toxicity studies (based on materials [20])

Токсичность при однократном введении	«Расширенное» исследование токсичности при однократном введении
Термин используется для обозначения традиционного дизайна исследования. Клинические проявления регулярно регистрируют в течение периода наблюдения, по крайней мере, 14 дней после однократного введения высоких доз вещества (вплоть до сублетальных или летальных доз). Вскрытие с макроскопическим наблюдением (и гистологической оценкой макроскопических изменений) проводят у животных, павших в период наблюдения и в конце эксперимента. Дополнительные исследования (например, гематология, биохимия, токсикокинетика, гистология) обычно не включают в дизайн эксперимента.	«Расширенное» исследование токсичности при однократном введении (термин, используемый в руководстве ICH M3(R2) проводят для получения гематологических, биохимических, макроскопических и гистопатологических данных после однократного введения препарата с дополнительной оценкой через 2 недели для выявления отсроченных токсических эффектов и их обратимости. По сравнению с традиционными исследованиями токсичности при однократном введении токсикологическая информация, полученная в результате расширенного исследования, более информативна. Данный вид исследований сходен с изучением токсичности при повторном введении.

Необходимо дать пояснение о регулировании поисковых клинических исследований. Согласно Руководству ICH M3(R2) [10] и Руководству по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации (Решение ЕЭК № 202) [9], расширенное исследование токсичности при однократном введении служит для обоснования проведения именно поисковых клинических исследований. Под «поисковыми клиническими исследованиями» в Руководстве ЕЭК № 202 понимаются исследования, проводимые на раннем этапе I фазы клинических исследований, предусматривающие ограниченную экспозицию у человека и не предполагающие проведение оценки терапевтической эффективности и клинической переносимости (иными словами, безопасности) препарата [9].

Важно отметить, что на момент написания статьи проведение клинических исследований в Российской Федерации регулируется в соответствии с национальным законодательством. Поэтому вышеозначенные цели поисковых клинических исследований не соответствуют целям клинических исследований, указанным в ФЗ-61 «Об обращении лекарственных средств» [2]. А именно, в соответствии со статьёй 38 клинические исследования лекарственных препаратов для медицинского применения проводятся в целях установления безопасности для здоровых добровольцев и (или) переносимости их здоровыми добровольцами или пациентами, т. е. обязательным является оценка именно безопасности препарата.

Токсичность при повторном (многократном) введении / Repeated administration toxicity

Согласно Решению Совета ЕЭК № 78 [1], продолжительность испытаний токсичности при многократном введении должна соответствовать руководствам Комиссии, а при их отсутствии — соответствующим руководствам государств-членов. В документе также отмечено, что в регистрационном досье предпочтительно приводить информацию, полученную в результате проведения 2 исследований: краткосрочного (продолжительностью 2–4 недели) и долгосрочного.

Подходы ЕАЭС к проведению исследований токсичности при повторном введении содержатся в Решении Коллегии ЕЭК № 202 и в рекомендации № 10, посвящённой доклиническому изучению токсичности при повторном (многократном) введении лекарственных средств [21]. По сравнению с традиционными российскими подходами к изучению токсичности при повторном введении ЛС принципиально новым является требование ЕАЭС оценивать токсикокинетические параметры при проведении эксперимента. Так, рекомендация ЕЭК № 10 [21] содержит указание, согласно которому системная экспозиция исследуемого вещества (лекарственного средства) и (или) его основных метаболитов при высокой дозе должна многократно превышать ожидаемую клиническую

системную экспозицию. В документе также отмечено, что основная цель исследований токсичности при повторном введении состоит в описании токсикологического профиля исследуемого вещества, что наряду с определением потенциальных органов-мишеней, предусматривает определение зависимости «экспозиция — ответ».

Выбор максимальных доз в исследованиях общей токсичности / Selection of maximum doses in general toxicity studies

Решение Коллегии ЕЭК № 202 [9] придаёт большое значение выбору максимальных доз в исследованиях общей токсичности. Согласно данному документу, если в токсикологических исследованиях удаётся охарактеризовать все потенциальные клинически значимые эффекты при введении диапазона доз ЛП ниже, чем его максимальная переносимая доза, то устанавливать максимальную переносимую дозу в каждом таком исследовании не требуется. Изученная доза признаётся достаточной, и дополнительные доклинические исследования не требуются, если достигнут один из критериев:

- Использована максимальная переносимая доза.
- Достигнуто насыщение экспозиции.
- Использована максимально достижимая доза.
- Показано превышение средней экспозиции по сравнению с клинической экспозицией в 50 и более раз (при условии, что установлена линейная зависимость доза — концентрация).

Если не выполнено ни одно из этих условий, необходимо следовать алгоритму по выбору максимальных доз в исследованиях общей токсичности, приведённому в Решении Коллегии ЕЭК № 202, может потребоваться проведение дополнительных исследований.

Если не выполнено ни одно из этих условий, необходимо следовать алгоритму по выбору максимальных доз в исследованиях общей токсичности, приведённому в Решении Коллегии ЕЭК № 202, может потребоваться проведение дополнительных исследований.

Выбор высокой дозы требует соблюдения баланса между необходимостью максимального сохранения спектра потенциальных токсических эффектов и обеспечением выживаемости экспериментальных животных. Ещё одна проблема заключается в том, что в соответствии с Правилами Надлежащей клинической практики ЕАЭС [5], производство исследуемых препаратов, необходимо осуществлять в соответствии с правилами надлежащей производственной практики. Данное требование приводит к тому, что разработчики оригинальных препаратов проводят основную часть изучения общетоксического действия с использованием не субстанции, а готовой лекарственной формы, предназначенной для человека, что не позволяет использовать максимальные дозы препарата и выявить органы-мишени и токсические эффекты ЛС. В свою очередь, это чревато возникновением проблем при определении диапазона безопасных доз и определения параметров мониторинга безопасности у человека при проведении клинического исследования.

Токсикокинетические исследования / Toxicokinetic study

В соответствии с современными требованиями токсикокинетические исследования — это необходимый вид исследований при доклиническом изучении безопасности лекарственных средств. В регионах ICH токсикокинетические исследования проводят уже давно — руководство ICH S3A «Note for guidance on toxicokinetics: the assessment of systemic exposure in toxicity studies» утверждено в 1994 году [22]. Рекомендация Коллегии Евразийской экономической комиссии № 33 «О Руководстве по изучению токсикокинетики и оценке системного воздействия в токсикологических исследованиях лекарственных препаратов» принята 22.12.2020 [23].

«Токсикокинетика» — получение в целях оценки системной экспозиции, фармакокинетических данных в рамках проведения доклинических токсикологических исследований или в специально спланированных вспомогательных исследованиях. Указанные данные используются для интерпретации результатов токсикологических исследований и их значимости для клинической безопасности [23].

Токсикокинетические исследования служат для получения фармакокинетических данных при проведении токсикологических исследований или в специально планируемых исследованиях с целью оценки системной экспозиции действующего вещества, в том числе в дозах токсического диапазона.

Основная цель токсикокинетических исследований — описание системной экспозиции вещества, достигаемой у животных, связи системной экспозиции с вводимой дозой, длительностью токсикологического исследования.

Сведения о кинетике нового терапевтически активного вещества при проведении токсикологического эксперимента необходимы:

- для лучшего понимания полученных результатов (например: подтверждения, что у животных достигалась соответствующая системная экспозиция вводимого вещества и/или его метаболитов);
- для сравнения системной экспозиции у животных с клиническими данными о фармакокинетике препарата у человека при интегральной оценке пользы и риска.

Основная задача исследователя-токсиколога — интерпретация результатов токсикологических исследований, а не изучение фармакокинетических параметров.

Токсикокинетические исследования позволяют:

- подтвердить достижение необходимой системной экспозиции препарата у животных;
- провести информативное сравнение данных, полученных на разных видах животных;
- подтвердить релевантность выбора вида животных (в том числе, схожесть с человеком профиля метаболизма препарата);
- провести интегральную оценку пользы и риска.

В соответствии с Приложением № 6 к Правилам регистрации и экспертизы лекарственных средств [24] эксперт рассматривает результаты токсикокинетических исследований при оценке результатов изучения токсичности при многократном введении, канцерогенности в долгосрочных исследованиях, репродуктивной токсичности.

Таким образом, при планировании программы доклинических исследований необходимо предусмотреть изучение токсикокинетических параметров, поскольку данный вид исследований является обязательным для оригинальных ЛС.

Исследования местной переносимости / Local tolerance studies

В соответствии с Приложением № 1 к Решению Совета ЕЭК № 78 [16], документы регистрационного досье (в формате общего технического документа) в модуле 4 должны содержать информацию о местной переносимости. Указанная информация отражает изучение и определение местного действия ЛП (активных и вспомогательных веществ) на ткани организма в участках, которые могут контактировать с ЛП в результате его введения при клиническом применении. В регистрационном досье должно быть доказано, что исследование местной переносимости осуществлялось с использованием ЛП, разработанного для применения человеком. Должен быть оценён сенсibilизирующий потенциал химических веществ, применяемых местно (например, наочно, ректально, вагинально), с использованием по меньшей мере, одной тест-системы (исследование на морских свинках или местных лимфатических узлах).

Специальных Российских рекомендаций и рекомендаций ЕАЭС по изучению местной переносимости лекарственных средств в настоящее время нет. Поскольку Решение Совета ЕЭК № 78 предписывает оценивать сенсibilизирующее действие при местном применении лекарственных препаратов, которые являются химическими веществами, представляет интерес рассмотреть позицию ЕМА по данному вопросу. Согласно руководству по изучению местной переносимости медицинских продуктов [25] для препаратов, которые наносятся на кожу или слизистые оболочки (наочные, трансдермальные, ректальные или вагинальные препараты) следует оценить их сенсibilизирующий потенциал. В отсутствие общепринятой стратегии комплексного тестирования *in vitro* оценка сенсibilизирующего потенциала должна проводиться, по крайней мере, в одной одобренной тест-системе *in vivo*, при этом физико-химические свойства соединения должны быть основным обоснованием для выбора метода анализа, например, гидрофильные соединения, соли металлов и металлы предпочтительно тестировать на морской свинке. Однако в руководстве ЕМА не содержится конкретной информации о стратегиях проведения эксперимента.

Для решения данного вопроса отечественным разработчикам рекомендуется следовать рекомендациям, которые содержатся в Руководстве по проведению доклинических исследований [11] или использовать другие валидированные методы.

В соответствии с Решением Коллегии ЕЭК № 202 не требуется проведение самостоятельного исследования местной переносимости лекарственного препарата, если она была оценена в исследованиях общей токсичности при использовании планируемого пути введения.

Исследования генотоксичности / Genotoxicity studies

Решение ЕЭК № 202 содержит краткие рекомендации по проведению исследований генотоксичности лекарственных препаратов. Так, для обоснования проведения всех клинических исследований с однократным введением ЛП достаточно оценить влияние ЛП на генные мутации. Если планируется в клиническом исследовании повторное (многократное) введение препарата, необходимо провести дополнительную оценку, позволяющую выявить хромосомные повреждения у млекопитающих. Полный набор (батарею) исследований на генотоксичность необходимо завершить до начала II фазы клинических исследований. В руководстве не разъясняется, что подразумевается под понятием «полный набор (батарея)» исследований на генотоксичность. При переводе Руководства ICH M3(R2) была утрачена ссылка на руководство ICH S2B 1997 года «Genotoxicity: A Standard Battery for Genotoxicity Testing for Pharmaceuticals», в котором был описан «полный набор (батарея)» тестов на генотоксичность. Вопрос о том, что считать «полным набором тестов на генотоксичность» является достаточно сложным. Так, в 2006 году ICH опубликовал концептуальный документ о необходимости пересмотра руководств, посвящённых изучению генотоксичности ЛС [26]. В документе указано, что рекомендации ICH по данному виду исследований были окончательно доработаны в 1995 году (S2A) и 1997 году (S2B). С тех пор появились новые разработки и огромное количество данных по анализу генотоксичности как *in vitro*, так и *in vivo*, которые потенциально могут дополнить или заменить рекомендации, приведённые в первоначальном руководстве. В качестве примеров было указано на микроядерный тест *in vitro* для выявления генотоксичных соединений (кластогенов и анеугенов), кометный тест *in vivo* и др. Как ещё одна серьёзная проблема, возникающая при проведении нормативных исследований генотоксичности, указана высокая частота положительных результатов, особенно в тестах на клетках млекопитающих в опытах *in vitro*, рекомендованных в руководстве S2B (мышинная лимфома и хромосомные аберрации). Регулятор привёл ссылки на данные научной литературы, подтверждающие повышенную чувствительность и недостаточную специфичность обеих моделей тестирования *in vitro* и

указал на необходимость более рационального подхода к условиям тестирования и интерпретации данных о генотоксичности. Этого можно достичь либо путём применения новых методов и/или модификации существующих моделей/подходов, либо — исключения требования о проведении такого исследования.

Целью пересмотра ICH S2A и S2B являлось достижение нескольких целей.

- Во-первых, сокращения количества животных, используемых при рутинном тестировании, путём совершенствования существующих процедур (ограничение количества животных, используемых в качестве положительного контроля) и уточнения порядка проведения последующих исследований в случае получения положительных результатов.

- Во-вторых, более адекватной интерпретации несущественных результатов, чтобы снизить барьеры на ранних этапах разработки лекарств путём улучшения оценки риска канцерогенных эффектов, которые основаны на изменениях в генетическом материале.

- Наконец, обновления и усовершенствования, согласованных на международном уровне стандартов тестирования и интерпретации положительных результатов, особенно экспериментов в условиях *in vitro*, при использовании стандартной батареи тестов на генотоксичность.

Результатом усилий ICH стала разработка и одобрение в 2011 году Руководства ICH S2(R1) [27]. В Российской Федерации существует национальный стандарт 2016 года [28], на основании которого в табл. 3 приведено описание двух вариантов стандартного набора тестов для изучения генотоксичности.

В Решении ЕЭК № 202 также описаны требования к необходимому объёму изучения генотоксичности при проведении поисковых клинических исследований. Поскольку проведение данного вида исследований не регламентируется ФЗ-61 «Об обращении лекарственных средств» (см. пояснения к табл. 2) в статье не рассматриваются данные подходы.

В прочих действующих документах ЕАЭС дополнительно обсуждаются некоторые аспекты исследований генотоксичности.

Так, согласно Рекомендации по изучению токсикокинетики [23] при получении отрицательных результатов исследований генотоксичности *in vivo* следует подтвердить системную экспозицию у исследуемых видов животных или охарактеризовать экспозицию в ткани-индикаторе.

При разработке ЛП необходимо учитывать рекомендации Руководства коллегии ЕЭК по оценке и контролю ДНК-реактивных (мутагенных) примесей в ЛС и установлению границ потенциального канцерогенного риска [29]. Настоящее Руководство распространяется на:

- а) новые фармацевтические субстанции и новые ЛП, находящиеся на этапе клинической разработки или в процессе регистрации;

Таблица 3

Стандартные наборы тестов для изучения генотоксичности (по материалам [28])

Table 3

The standard test battery for genotoxicity (based on materials [28])

Вариант 1	Вариант 2
1. Генные мутации в бактериях. 2. Цитогенетический тест хромосомных повреждений (метафазный анализ хромосомных aberrаций <i>in vitro</i> или микроядер <i>in vitro</i>) либо анализ генных мутаций в гене тимидинкиназы (Тк) лимфомы мышей <i>in vitro</i> . 3. Тест генотоксичности <i>in vivo</i> , обычно тест на хромосомные поломки на гемопоэтических клетках мышей в виде либо микроядерной пробы, либо анализа на хромосомные aberrации в метафазе.	1. Испытание генных мутаций в бактериях. 2. Оценка генотоксичности <i>in vivo</i> двух разных тканей, обычно микроядерная проба с использованием гемопоэтических клеток грызунов и второй анализ <i>in vivo</i> . Как правило, используется анализ поломки нитей ДНК в печени.
<i>Примечания:</i> несмотря на возможность использования обоих вариантов батареи тестов, конкретные данные об индивидуальном испытуемом веществе могут свидетельствовать о предпочтительности одного из вариантов. Например, если системные концентрации препарата у животных равны, либо ниже ожидаемой клинической концентрации у пациентов, могут использоваться анализы <i>in vitro</i>, вариант 1. С другой стороны, вариант 2, включая испытания в печени, рекомендован в случаях, когда предполагается, что в печени генерируются короткоживущие реактивные метаболиты. <i>Notes:</i> Despite the possibility of using both test battery options, specific data on the individual test substance may indicate the preference of one of the options. For example, if the systemic concentrations of the drug in animals are equal or lower than the expected clinical concentration in patients, <i>in vitro</i> assays may be used, option 1. On the other hand, option 2, including liver tests, is recommended in cases where it is assumed that short-lived reactive metabolites are generated in the liver.	

б) известные фармацевтические субстанции, вводимые в состав лекарственного препарата в процессе его разработки или в пострегистрационный период в следующих случаях:

- изменение синтеза известной фармацевтической субстанции приводит к образованию новых примесей или требует ужесточения критериев приемлемости существующих примесей;
- изменение производственной рецептуры (состава или технологического процесса производства) приводит к образованию новых продуктов деградации или к необходимости ужесточения критериев приемлемости для существующих продуктов деградации;
- изменение показания к применению или режима дозирования лекарственного препарата приводит к существенному изменению допустимого уровня канцерогенного риска.

Необходимо подчеркнуть, что документа ЕАЭС, посвященного проведению исследований генотоксичности ЛС, в настоящее время нет. С одной стороны, такой документ необходим, поскольку Решение ЕЭК предписывает до начала II фазы клинических исследований завершить полный набор (батарею) исследований на генотоксичность, который не описан в документах ЕАЭС. С другой стороны, создание Руководства ЕАЭС на основе простого перевода Руководства ICH S2(R1) от 2011 года представляется не вполне оправданным, поскольку необходимо учитывать опыт отечественных учёных-генотоксикологов и новые методы исследований (например, тест Pig-A) [30].

Таким образом, нормативно-методическая база ЕАЭС, посвящённая исследованиям генотоксичности,

нуждается в существенной доработке. Детально этот вопрос рассмотрен ранее [31].

Исследования канцерогенности / Carcinogenicity studies

В отличие от традиционных подходов, принятых в Российской Федерации, Решение Коллегии ЕЭК № 202 [9] указывает на необходимость при изучении канцерогенности в долгосрочных тестах оценить токсикокинетические параметры ЛП. Также предусмотрена возможность поэтапного проведения долгосрочных исследований канцерогенности, результаты которых необходимы к моменту регистрации препарата.

Согласно Решению ЕЭК № 202 [9] условия, требующие исследования канцерогенного потенциала лекарственного препарата, установлены в Руководстве по оценке и контролю ДНК-реактивных (мутагенных) примесей в лекарственных средствах и установлению границ потенциального канцерогенного риска (приложение к Рекомендации Коллегии Евразийской экономической комиссии от 6 августа 2019 г. № 23). Необходимо отметить, что в Решении ЕЭК № 202 присутствует неточность. Вышеозначенные рекомендации по оценке и контролю ДНК-реактивных (мутагенных) примесей не содержат приложения, посвящённого обсуждению условий, требующих проведения исследований канцерогенности ЛП. Руководство ЕЭК № 202 разработано на основе руководства ICH M3(R2). Согласно документу ICH [10], условия, которые определяют необходимость проведения исследований канцерогенности ЛП, обсуждаются в руководстве ICH S1A (Guideline on the Need for Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals — Руководство о необходимости

проведения исследований канцерогенности фармацевтических препаратов) [32]. К моменту написания статьи на основании руководства ICH S1A не создано документа ЕАЭС.

В Российской Федерации существует национальный стандарт [33], включающий в себя основные нормативные положения следующих документов:

- ICH S1A, 1995 «Guideline on need for carcinogenicity of pharmaceuticals» («Руководство о необходимости исследования канцерогенности фармацевтических препаратов») [32];

- ICH S1B, 1997 «Testing for carcinogenicity of pharmaceuticals» («Оценка канцерогенности лекарственных средств»);

- ICH S1C(R2), 2008 «Dose selection for carcinogenicity studies of pharmaceuticals» («Выбор доз при проведении исследований канцерогенности лекарственных средств») [34].

Необходимо отметить, что документ ICH S1B в 2022 году был существенно переработан и дополнен и издана новая редакция ICH S1B(R1) [35], поэтому ГОСТ Р 57146-2016 не соответствует современной позиции ICH и его можно считать устаревшим.

Таким образом, нормативная база ЕАЭС, посвящённая исследованиям канцерогенности, нуждается в доработке.

Исследования репродуктивной и онтогенетической токсичности / Studies of reproductive and ontogenetic toxicity

В Решении № 202 [9] достаточно подробно описаны подходы к изучению репродуктивной и онтогенетической токсичности лекарственных средств.

Документ предусматривает возможность поэтапного проведения исследований в зависимости от стадии клинической разработки препарата. Так, мужчины могут участвовать в клинических исследованиях I и II фаз до завершения исследований фертильности у самцов. При этом обязательна оценка репродуктивной системы самцов и самок по результатам стандартного гистопатологического исследования яичек и яичников в исследованиях токсичности с повторным (многократным) введением ЛП (как правило, у грызунов) не менее 2-недельной продолжительности. До начала крупномасштабных или длительных КИ (например, III фазы) необходимо завершить исследования фертильности у самцов.

После вступления в силу руководства ICH M3(R2) европейскому регулятору были заданы вопросы, касающиеся особенностей проведения исследований репродуктивной токсичности препаратов, предназначенных для применения только у мужчин [36]. Из ответов следует, что руководство ICH M3(R2) не содержит рекомендаций по проведению доклинических исследований препаратов, предназначенных только для мужчин, на эмбриофетальное развитие. Данный вопрос следует рассматривать в каждом конкретном

случае. Также указано, что при разработке подобных препаратов, общепринятой практикой является использование средств контрацепции мужчинами-участниками клинических исследований до тех пор, пока не будет определён потенциальный риск для репродуктивной системы и эмбрио-фетального развития.

Женщины с несохранным детородным потенциалом могут быть включены в клинические исследования без проведения исследований репродуктивной токсичности (при условии, что при изучении общетоксического действия при повторном введении оценивали влияние препарата на репродуктивную систему самок) [9]. Для участия в клиническом исследовании женщин с сохранным детородным потенциалом необходимо описать и минимизировать риск непреднамеренного воздействия на эмбрион или плод. Оценить риск препарата позволяет проведение исследований репродуктивной токсичности, ограничить риск — принятие мер по предотвращению наступления беременности. Также рассмотрены особые случаи, позволяющие включать в клинические исследования данную популяцию пациентов. Одним из условий участия до 150 пациентов в исследовании, предусматривающем применения препарата в течение периода до 3 месяцев, является проведение предварительного исследования эмбриофетального развития при введении препарата в «достаточных дозах» на двух видах животных (не менее 6 самок) [9]. Понятие «достаточности» использованных в доклинических исследованиях доз в Решении ЕЭК № 202 не расширяется.

ICH был задан вопрос, как обосновать, что исследования влияния препарата на эмбриофетальное развитие были проведены с использованием «достаточных доз». Регулятор ответил [36], что при выборе «достаточной дозы» следует использовать критерии выбора дозы, которые изложены в руководстве ICH S5(R2) от 2020 года [37]. В этом документе подробно описаны подходы к выбору дозы, в том числе на основании результатов токсикокинетических исследований, которые являются обязательными при изучении репродуктивной токсичности (см. раздел статьи, посвящённый исследованиям токсикокинетики).

Необходимо отметить, что в отечественном Руководстве по проведению доклинических исследований ЛС изложены краткие рекомендации по выбору дозы при проведении исследований репродуктивной токсичности без акцента на изучение токсикокинетики [11].

Для участия в клинических исследованиях беременных женщин необходимо провести исследование репродуктивной токсичности в полном объёме, изучить генотоксичность с использованием стандартного набора тестов (обсуждение данного понятия см. выше) и оценить имеющиеся данные о безопасности применения препарата у человека [9].

Отдельного документа ЕАЭС, посвящённого проведению исследований репродуктивной и онтогенетической токсичности ЛС в настоящее время нет.

Поскольку Решение № 202 не охватывает все аспекты исследований репродуктивной токсичности, представляется целесообразным разработать самостоятельный документ ЕАЭС, посвященный данному вопросу.

Исследования иммуотоксичности / Immunotoxicity studies

Согласно рекомендациям руководства ЕЭК № 202 [9], необходимость проведения доклинических исследований иммуотоксичности определяется в индивидуальном порядке. Для всех новых препаратов при проведении стандартных токсикологических исследований необходимо выявлять иммуоопосредованные сигналы. Если необходимы дополнительные исследования на иммуотоксичность, их следует провести до начала III фазы клинических исследований. На основе полученных результатов и анализа значимости доказательств оценивают иммуотоксический потенциал препарата.

Необходимо отметить, что руководства ЕАЭС по проведению исследований иммуотоксичности нет, в то время как руководство ICH M3(R2), на основании которого разработано Руководство ЕЭК № 202, прямо ссылается на документ ICH S8 по изучению иммуотоксичности лекарственных препаратов [38]. В документе ICH S8 описаны иммуоопосредованные сигналы, которые выявляют при проведении стандартных токсикологических исследований, приведены факторы, которые следует учитывать при анализе весомости доказательств (weight of evidence) при оценке риска потенциальной иммуотоксичности, а также даны примеры дополнительных исследований. Согласно руководству ICH S8, ответственностью заявителя является предоставление в регистрационном досье на лекарственный препарат обзора на основании анализа весомости доказательств (weight of evidence review). Цель этого обзора — подробный анализ всех ключевых факторов для оценки риска развития иммуотоксических реакций у человека. Если дополнительные исследования иммуотоксичности не проводили, заявитель обязан предоставить обоснование нецелесообразности их проведения.

Таким образом, для выполнения требований Решения ЕЭК № 202 [9] необходимо создание документа, посвященного оценке иммуотоксичности новых лекарственных средств.

Исследования фотобезопасности / Photo safety research

В соответствии с решением ЕЭК № 202 [9] необходимость проведения доклинических исследований в целях оценки фототоксичности определяется в индивидуальном порядке. Документ содержит определённую информацию о сроках проведения изучения фотобезопасности в зависимости от стадии клинической разработки. Рекомендовано проведение

аналитической оценки потенциальной фототоксичности и, при необходимости, её экспериментальное изучение до включения в клинические исследования большого количества субъектов (т. е. до начала фазы III). Согласно Решению Совета ЕЭК № 78 оценка фототоксичности необходима при проведении экспертизы лекарственного средства с целью его регистрации [1]. Европейские регуляторы требуют провести оценку потенциальной фотосенсибилизации кожных и трансдермальных ЛС [39].

Необходимо отметить, что Решение Коллегии ЕЭК № 202 не содержит конкретной информации о стратегиях проведения доклинических исследований фотобезопасности [9]. В Российской Федерации также нет научно-методических рекомендаций по доклиническому изучению фототоксичности ЛС. Исключение составляет межгосударственный стандарт, описывающий тест *in vitro* для оценки фототоксичности химической продукции [40]. В регионах ICH с 2013 года существует руководство ICH S10 по оценке фотобезопасности ЛП [41], которое разъясняет, в каких случаях необходимо проведение данного вида исследований и указаны возможные стратегии их проведения. В руководстве ICH S10 подчёркивается, что оно должно рассматриваться в сочетании с руководством ICH M3(R2). Таким образом, для полноценной доклинической оценки безопасности ЛС насущной потребностью является создание руководства ЕАЭС, посвященного оценке фототоксичности ЛП.

Доклиническая оценка развития лекарственной зависимости / Preclinical assessment of drug dependence development

В соответствии с Решением ЕЭК № 202 необходимость проведения доклинических исследований развития лекарственной зависимости определяется в индивидуальном порядке. Для препаратов, действующих на центральную нервную систему, оценка риска развития лекарственной зависимости является обязательной вне зависимости от показаний к применению. При планировании исследований, включающих в себя оценку возникновения лекарственной зависимости, разрешается использовать руководства государств-членов ЕАЭС [9]. В Российской Федерации методические рекомендации по доклиническому изучению аддиктивного потенциала лекарственных средств изложены в Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств [11]. Руководства ICH, посвященного доклинической оценке риска развития лекарственной зависимости, нет. Доступно руководство СНМР от 2006 года [42], рекомендации которого можно использовать наряду с отечественным научно-методическим документом при разработке программы доклинических исследований лекарственной зависимости.

Выводы и рекомендации / Conclusions and recommendations

В настоящее время обращение ЛС осуществляется в соответствии с правилами регистрации и экспертизы Евразийского экономического союза. Однако отдельные процедуры, например, экспертиза с целью получения разрешения на проведение клинического исследования, осуществляются в Российской Федерации в соответствии с национальным законодательством.

Документом ЕАЭС, устанавливающим единый порядок проведения доклинических исследований, является Решение Коллегии ЕЭК № 202, которое включает «Руководство по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов». Решения ЕЭК входят в право ЕАЭС и подлежат непосредственному применению на территориях государств-членов.

Анализ Решения Коллегии ЕЭК № 202 выявил следующее.

1. В Российской Федерации недостаточно урегулировано проведение поисковых клинических исследований ЛС, которые фигурируют в Решении № 202. Это связано с тем, что данный вид клинических исследований не предусматривает проведение оценки терапевтической эффективности и клинической переносимости ЛП, что не соответствует целям клинических исследований в соответствии со статьёй 38 ФЗ 61 «Об обращении лекарственных средств». Согласно ФЗ 61 клинические исследования лекарственных препаратов для медицинского применения проводятся в целях установления безопасности для здоровых добровольцев и (или) переносимости их здоровыми добровольцами или пациентами, т. е. обязательным является оценка безопасности препарата. Урегулирование данного вопроса возможно при соответствующем изменении действующего законодательства.

2. При доклиническом изучении безопасности ЛС необходимо проведение токсикокинетических исследований. В соответствии с Правилами регистрации и экспертизы лекарственных средств эксперт рассматривает результаты токсикокинетических исследований при оценке результатов изучения токсичности при многократном введении, канцерогенности в долгосрочных исследованиях, репродуктивной токсичности. Рекомендация Коллегии Евразийской экономической комиссии № 33 «О Руководстве по изучению токсикокинетики и оценке системного воздействия в токсикологических исследованиях лекарственных препаратов» принята 22.12.2020. При планировании программы доклинических исследований разработчикам ЛС необходимо предусмотреть изучения токсикокинетических параметров и внесение данной информации в досье на препарат.

3. Решение ЕЭК № 202 содержит указания о необходимости проведения полного набора (батареи)

тестов по изучению генотоксичности. Однако в руководстве не разъясняется, что подразумевается под понятием «полный набор (батарея)» исследований на генотоксичность. Проведённый анализ показал, что при подготовке документа (переводе Руководства ICH M3R2) была утрачена ссылка на руководство ICH S2B 1997 года «Genotoxicity: A Standard Battery for Genotoxicity Testing for Pharmaceuticals», в котором содержалось описание «полного набора (батареи)» тестов на генотоксичность. Необходимо пояснить, что вопрос о том, что считать «полным набором тестов на генотоксичность» является достаточно сложным и дискуссионным. В этой связи представляется целесообразным разработать рекомендации ЕАЭС по изучению генотоксичности ЛП с учётом современных достижений генотоксикологии. Также необходимо изменить название раздела X Решения № 202 («Клинические исследования генотоксичности лекарственного препарата» заменить на «Исследования генотоксичности лекарственного препарата»).

4. В Решении ЕЭК № 202 присутствует неточность в разделе, посвящённом изучению канцерогенности лекарственных препаратов — неверно указан документ, в котором описаны условия, требующие обязательного исследования канцерогенного потенциала ЛП. Дана ссылка на приложение к Руководству по оценке и контролю ДНК-реактивных (мутагенных) примесей в ЛС и установлению границ потенциального канцерогенного риска, которое не содержит этого приложения. Проведённый анализ показал, что при подготовке Решения № 202 (переводе Руководства ICH M3(R2)) была утрачена ссылка на руководство ICH S1B, посвящённое исследованиям канцерогенности ЛП. Представляется целесообразным внести соответствующее исправление в Решение № 202 и разработать руководство ЕАЭС по изучению канцерогенности на основании документа ICH S1B(R1) от 2022 года с учётом современных тенденций к проведению данного вида исследований.

5. Поскольку Решение № 202 не охватывает все аспекты исследований репродуктивной токсичности, представляется целесообразным разработать самостоятельный документ ЕАЭС, посвящённый данному вопросу с учётом рекомендаций ICH, изложенных в руководстве S5(R3) от 2020 года и современных тенденций к проведению данного вида исследований.

6. В связи с тем, что в соответствии с рекомендациями Решения № 202 необходимость проведения доклинических исследований иммунотоксичности определяется в индивидуальном порядке, необходим нормативный документ ЕАЭС, регламентирующий проведение данного вида исследований. Тем более, что руководство ICH M3(R2) прямо ссылается на документ ICH S8 по изучению иммунотоксичности ЛС. Именно в этом документе описаны иммунопосредованные сигналы, которые необходимо учитывать при проведении стандартных токсикологических иссле-

дований, приведены факторы, на основании которых проводят анализ весомости доказательств (WoE) при оценке риска потенциальной иммунотоксичности, а также даны примеры дополнительных исследований. Ответственностью заявителя является предоставление в регистрационном досье на ЛП обзора по иммунотоксичности.

7. Согласно Решению Совета ЕЭК № 78 при проведении экспертизы лекарственного средства с целью его регистрации необходима оценка фототоксичности. Решение Коллегии ЕЭК № 202 не содержит конкретной информации о стратегиях проведения

доклинических исследований фотобезопасности. В Российской Федерации также нет научно-методических рекомендаций по доклиническому изучению фототоксичности ЛС. В регионах ИСН с 2013 года существует руководство, которое разъясняет, в каких случаях необходимо проведение исследований фотобезопасности и указаны возможные стратегии их проведения. Для полноценной доклинической оценки безопасности ЛС насущной потребностью является создание руководства ЕАЭС, посвященного оценке фототоксичности ЛП, учитывающее международный опыт по проведению данного вида исследований.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Участие авторов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

ADDITIONAL INFORMATION

Authors' participation

The authors declare no conflict of interest.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Енгальчева Галина Нинелевна — к. б. н. ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, Москва, Российской Федерации

Автор, ответственный за переписку

e-mail: engalycheva@expmed.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5121-0858>

Galina N. Engalycheva — PhD, Cand. Sci. (Biol.), FSBI "SCEEMP" MOH Russia, Moscow, Russian Federation

Corresponding author

e-mail: engalycheva@expmed.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-5121-0858>

Сюбаев Рашид Даутович — д. м. н., ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, Москва, Российской Федерации

e-mail: subaev@expmed.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6729-2349>

Rashid D. Syubaev — PhD, Dr. Sci. (Med.), FSBI "SCEEMP" MOH Russia, Moscow, Russian Federation

e-mail: subaev@expmed.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6729-2349>

Дурнев Андрей Дмитриевич — д. м. н., профессор, член-корр. РАН, зав. отделом лекарственной токсикологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация

e-mail: durnev_ad@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0912-7684>

РИНЦ SPIN-код: 8426-0380

Andrei D. Durnev — PhD, Dr. Sci. (Med.), professor, corresponding member RAS, Head of the department of drug toxicology, Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation

e-mail: durnev_ad@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0912-7684>

RSCI SPIN code: 8426-0380

Список литературы / References

1. Решение Совета ЕЭК от 03.11.2016 N 78 «О Правилах регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения». [Reshenie Soveta EEK ot 03.11.2016 N 78 «O Pravilakh registratsii i ekspertizy lekarstvennykh sredstv dlya meditsinskogo primeneniya». (In Russ.)]. Доступно по: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_207379/?ysclid=m7permjhzg600081579. Ссылка активна на 16.08.2023.
2. Федеральный закон от 12.04.2010 N 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» [Federal'nyi zakon ot 12.04.2010 N 61-F3. «Ob obrashchenii lekarstvennykh sredstv». (In Russ.)]. Доступно по: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_99350/?ysclid=m7petqdd2n494366829. Ссылка активна на 16.08.2023.
3. Приказ Министерства здравоохранения РФ от 24 августа 2017 г. N 558н «Об утверждении Правил проведения экспертизы лекарственных средств для медицинского применения и особенности экспертизы» отдельных видов лекарственных препаратов для медицинского применения (референтных лекарственных препаратов, воспроизведенных лекарственных препаратов, биологических лекарственных препаратов, биоаналоговых (биоподобных) лекарственных препаратов (биоаналогов), гомеопатических лекарственных препаратов, лекарственных растительных препаратов, комбинаций лекарственных препаратов), форм заключений комиссии экспертов». [Prikaz Ministerstva zdravookhraneniya RF ot 24 avgusta 2017 g. N 558n «Ob utverzhdenii Pravil provedeniya ekspertizy lekarstvennykh sredstv dlya meditsinskogo primeneniya i osobennosti ekspertizy» ot del'nykh vidov lekarstvennykh preparatov dlya meditsinskogo primeneniya (referentnykh lekarstvennykh preparatov, vosproizvedennykh lekarstvennykh preparatov, biologicheskikh lekarstvennykh preparatov, bioanalogovykh (biopodobnykh) lekarstvennykh preparatov (bioanalogov), gomeopaticheskikh lekarstvennykh preparatov, lekarstvennykh rastitel'nykh preparatov, kombinatsii lekarstvennykh preparatov), form zaklyuchenii komissii ekspertov». (In Russ.)]. Доступно по: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_285813/2ff7a8c72de3994f30496a0ccbb1ddafdadf518/?ysclid=m7peukydwr503100487. Ссылка активна на 16.08.2023.
4. Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 N 81 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств». [Reshenie Soveta Evraziiskoi ekonomicheskoi komissii ot 03.11.2016 N 81 «Ob utverzhdenii Pravil nadležashchei laboratornoi praktiki Evraziiskogo ekonomicheskogo soyuza v sfere obrashcheniya lekarstvennykh sredstv». (In Russ.)]. Доступно по: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_207468/858be1253d34b776a78f795ba872443d0d58a4c8/?ysclid=m7pevg4ag4218474202. Ссылка активна на 16.08.2023.
5. Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 N 79 «Об утверждении Правил надлежащей клинической практики Евразийского экономического союза». [Reshenie Soveta Evraziiskoi ekonomicheskoi komissii ot 03.11.2016 N 79 «Ob utverzhdenii Pravil nadležashchei klinicheskoi praktiki Evraziiskogo ekonomicheskogo soyuza». (In Russ.)]. Доступно по: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_207651/?ysclid=m7pew9tfvp782539343. Ссылка активна на 16.08.2023.
6. Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 N 89 «Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза». [Reshenie Soveta Evraziiskoi ekonomicheskoi komissii ot 03.11.2016 N 89 «Ob utverzhdenii Pravil provedeniya issledovaniy biologicheskikh lekarstvennykh sredstv Evraziiskogo ekonomicheskogo soyuza». (In Russ.)]. Доступно по: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_207925/f8a9c8bf64d706d09eb016a900a33759fc93eaa9/?ysclid=m7peycebof124791063. Ссылка активна на 16.08.2023.
7. «Договор о Евразийском экономическом союзе» (Подписан в г. Астане 29.05.2014) (ред. от 25.05.2023) (с изм. и доп., вступ. в силу с 24.06.2024). [«Dogovor o Evraziiskom ekonomicheskom soyuze» (Podpisan v g. Astane 29.05.2014) (red. ot 25.05.2023) (s izm. i dop., vstup. v silu s 24.06.2024). (In Russ.)]. Доступно по: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_163855/?ysclid=m7pfaytdf750058162. Ссылка активна на 16.08.2023.
8. «Договор о Евразийском экономическом союзе» (Подписан в г. Астане 29.05.2014) (ред. от 25.05.2023) (с изм. и доп., вступ. в силу с 24.06.2024), Приложение №1. [«Dogovor o Evraziiskom ekonomicheskom soyuze» (Podpisan v g. Astane 29.05.2014) (red. ot 25.05.2023) (s izm. i dop., vstup. v silu s 24.06.2024), Prilozhenie №1. (In Russ.)]. Доступно по: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_163855/8e3543f8dc9861d6acfa6a0c6678b972da1d07d0. Ссылка активна на 16.08.2023.
9. Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 26.11.2019 N 202 (ред. от 11.10.2022) «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов». [Reshenie Kollegii Evraziiskoi ekonomicheskoi komissii ot 26.11.2019 N 202 (red. ot 11.10.2022) «Ob utverzhdenii Rukovodstva po doklinicheskim issledovaniyam bezopasnosti v tselyakh provedeniya klinicheskikh issledovaniy i registratsii lekarstvennykh preparatov». (In Russ.)]. Доступно по: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_339011/?ysclid=m7pfibzhv1386279121. Ссылка активна на 16.08.2023.
10. Guidance on nonclinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorization for pharmaceuticals M3(R2) - current step 4 version dated 11 june 2009. Available at: https://database.ich.org/sites/default/files/M3_R2_Guideline.pdf. Accessed August 16, 2023.
11. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. — М.: Гриф и К, 2012. — 944 с. [Guidelines for conducting preclinical studies of medicines. Part one. Moscow: Grif i K, 2012. (In Russ.)].
12. Рекомендация Коллегии Евразийской экономической комиссии от 27.10.2020 N 18 "О Руководстве по исследованию фармакологической безопасности лекарственных препаратов для медицинского применения". [Rekomendatsiya Kollegii Evraziiskoi ekonomicheskoi komissii ot 27.10.2020 N 18 "O Rukovodstve po issledovaniyu farmakologicheskoi bezopasnosti lekarstvennykh preparatov dlya meditsinskogo primeneniya". (In Russ.)]. Доступно по: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_366430/?ysclid=m7pfory0by303387178. Ссылка активна на 16.08.2023.
13. ICH S7A Guideline: «Safety pharmacology studies for human pharmaceuticals». 2000. Available at: https://database.ich.org/sites/default/files/S7A_Guideline.pdf. Accessed August 16, 2023.
14. ICH S7B «The non-clinical evaluation of the potential for delayed ventricular repolarization (QT interval prolongation) by human pharmaceuticals». 2005. Available at: https://database.ich.org/sites/default/files/S7B_Guideline.pdf. Accessed August 16, 2023.
15. M. Hashimoto «Guideline on safety pharmacology studies for human pharmaceuticals (S7A)» ICH Training Library: S7A Step 4 Presentation, developed in November 2000. Available at: https://database.ich.org/sites/default/files/S7A_Step4_Presentation.pdf. Accessed August 16, 2023.
16. Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 N 78 (ред. от 29.05.2024) «О Правилах регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения». Приложение N 1 «Требования к документам регистрационного досье (в формате общего технического документа)». [Reshenie Soveta Evraziiskoi ekonomicheskoi komissii ot 03.11.2016 N 78 (red. ot 29.05.2024) «O Pravilakh registratsii i ekspertizy lekarstvennykh sredstv dlya meditsinskogo primeneniya». Prilozhenie N 1 «Trebovaniya k dokumentam registratsionnogo dos'e (v formate obshchego tekhnicheskogo dokumenta)». (In Russ.)]. Доступно по: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_207379/83f4280af5e62662114c8830bb17a7a6f95549c1. Ссылка активна на 16.08.2023.
17. Guidance for industry «Single dose acute toxicity testing for pharmaceuticals» Center for Drug Evaluation and Research (CDER) August 1996. Available at: <https://www.fda.gov/media/72288/download>. Accessed August 16, 2023.
18. EMA Scientific guideline: Questions and answers on the withdrawal of the 'note for guidance on single dose toxicity'. 19.07.2010. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/questions-answers-withdrawal-note-guidance-single-dose-toxicity_en.pdf. Accessed August 16, 2023.
19. EMA CPMP/SWP/1042/99 Rev 1: «Guideline on repeat dose toxicity», 2010. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-repeated-dose-toxicity-revision-1_en.pdf. Accessed August 16, 2023.
20. Questions and answers on the withdrawal of the 'Note for guidance on single dose toxicity' Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP), 24 June 2010 EMA/CHMP/SWP/81714/2010. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/questions-answers-withdrawal-note-guidance-single-dose-toxicity_en.pdf. Accessed August 16, 2023.
21. Рекомендация Коллегии Евразийской экономической комиссии от 21.05.2020 N 10 «О Руководстве по проведению доклинических исследований токсичности при повторном (многократном) введении действующих веществ лекарственных препаратов для медицинского применения». [Rekomendatsiya Kollegii Evraziiskoi ekonomicheskoi komissii ot 21.05.2020 N 10 «O Rukovodstve po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy toksichnosti pri povtornom (mnogokratnom) vvedenii

deistvuyushchikh veshchestv lekarstvennykh preparatov dlya meditsinskogo primeneniya». In Russ.]. Доступно по: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_353508/?ysclid=m7pgshmppe48582519. Accessed August 16, 2023.

22. ICH S3A «Note for guidance on toxicokinetics: the assessment of systemic exposure in toxicity studies, 1994. Available at: https://database.ich.org/sites/default/files/S3A_Guideline.pdf. Accessed August 16, 2023.

23. Рекомендация Коллегии Евразийской экономической комиссии от 22.12.2020 № 33 «О Руководстве по изучению токсикокинетики и оценке системного воздействия в токсикологических исследованиях лекарственных препаратов». [Rekomendatsiya Kollegii Evraziiskoi ekonomicheskoi komissii ot 22.12.2020 N 33 «O Rukovodstve po izucheniyu toksikokinetiki i otsenke sistemnogo vozdeistviya v toksikologicheskikh issledovaniyakh lekarstvennykh preparatov». (In Russ.)]. Доступно по: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_372519/?ysclid=m7pglb95ej999344108. Ссылка активна на 16.08.2023.

24. Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 N 78 (ред. от 29.05.2024) «О Правилах регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения». Приложение N 6 «Форма экспертного отчета по оценке результатов доклинических (неклинических) исследований». [Reshenie Soveta Evraziiskoi ekonomicheskoi komissii ot 03.11.2016 N 78 (red. ot 29.05.2024) «O Pravilakh registratsii i ekspertizy lekarstvennykh sredstv dlya meditsinskogo primeneniya». Prilozhenie N 6 «Forma ekspertnogo otcheta po otsenke rezul'tatov doklinicheskikh (neklinicheskikh) issledovaniy». In Russ.]. Доступно по: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_207379/5655f7dfa255dddb5767ab4ed70fe0a9402637a1/. Ссылка активна на 16.08.2023.

25. «Guideline on non-clinical local tolerance testing of medicinal products». EMA/CHMP/SWP/2145/2000, 22 October 2015. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-non-clinical-local-tolerance-testing-medicinal-products_en.pdf. Accessed August 16, 2023.

26. Final Concept Paper S2(R1): Guidance on Genotoxicity Testing and Data Interpretation for Pharmaceuticals Intended for Human Use (Revision of the ICH S2 Guidelines: “Guidance on Specific Aspects of Regulatory Genotoxicity Tests for Pharmaceuticals” (S2A) and “Genotoxicity: A Standard Battery for Genotoxicity Testing of Pharmaceuticals” (S2B) 20 September 2006. Available at: https://database.ich.org/sites/default/files/S2_R1_Concept_Paper.pdf. Accessed August 16, 2023.

27. ICH S2(R1) «Guidance on genotoxicity testing and data interpretation for pharmaceuticals intended for human use», 2011. Available at: <https://database.ich.org/sites/default/files/S2%28R1%29%20Guideline.pdf>. Accessed August 16, 2023.

28. ГОСТ Р 57130-2016. Национальный стандарт Российской Федерации. «Лекарственные средства для медицинского применения. Исследование генотоксичности и интерпретация полученных данных» (утв. и введен в действие Приказом Росстандарта от 10.10.2016 № 1345-ст). [GOST R 57130-2016. Natsional'nyi standart Rossiiskoi Federatsii. «Lekarstvennye sredstva dlya meditsinskogo primeneniya. Issledovanie genotoksichnosti i interpretatsiya poluchennykh dannykh» (utv. i vveden v deistvie Prikazom Rosstandarta ot 10.10.2016 N 1345-st). (In Russ.)]. Доступно по: <https://www.consultant.ru/cons/cgi/online.cgi?req=doc&base=OTN&n=23065&ysclid=m7pimndgb9331705566#FSxR9eUmiNEjHlx71>. Ссылка активна на 16.08.2023.

29. Рекомендация Коллегии Евразийской экономической комиссии от 06.08.2019 N 23 «О Руководстве по оценке и контролю ДНК-реактивных (мутагенных) примесей в лекарственных средствах и установлению границ потенциального канцерогенного риска». [Rekomendatsiya Kollegii Evraziiskoi ekonomicheskoi komissii ot 06.08.2019 N 23 «O Rukovodstve po otsenke i kontrolyu DNK-reaktivnykh (mutagennykh) primesei v lekarstvennykh sredstvakh i ustanovleniyu granits potentsial'nogo kantserogennoogo riska». (In Russ.)]. Доступно по: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_331479/?ysclid=m7pj2mdxky93800378. Ссылка активна на 16.08.2023.

30. OECD (2022), Test No. 470: Mammalian Erythrocyte Pig-a Gene Mutation Assay, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris. doi: 10.1787/4faea90e-en.

31. Дурнев А.Д., Жанатаев А.К. Актуальные аспекты генетической токсикологии лекарственных средств. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. 2022;12(1):90-109. [Durnev AD, Zhanataev AK. Relevant aspects of drug genetic toxicology. Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya. *Regulyatornye issledovaniya i ekspertiza lekarstvennykh sredstv* = *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2022;12(1):90-109. (In Russ.)]. doi: 10.30895/1991-2919-2022-12-1-90-109.

32. ICH S1A Guideline: Guideline on the Need for Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals; 1995. Available at: <https://database.ich.org/sites/default/files/S1A%20Guideline.pdf>. Accessed August 16, 2023.

33. «ГОСТ Р 57146-2016. Национальный стандарт Российской Федерации. Лекарственные средства для медицинского применения. Изучение канцерогенности лекарственных средств и вспомогательных веществ» (утв. и введен в действие Приказом Росстандарта от 11.10.2016 № 1369-ст). [«GOST R 57146-2016. Natsional'nyi standart Rossiiskoi Federatsii. Lekarstvennye sredstva dlya meditsinskogo primeneniya. Izuchenie kantserogennosti lekarstvennykh sredstv i vspomogatel'nykh veshchestv» (utv. i vveden v deistvie Prikazom Rosstandarta ot 11.10.2016 N 1369-st). (In Russ.)]. doi: 10.30895/1991-2919-2022-12-1-90-109.

34. ICH S1C(R2) Guideline: «Dose selection for carcinogenicity studies of pharmaceuticals». Revised on 11 March 2008. Available at: <https://database.ich.org/sites/default/files/S1C%28R2%29%20Guideline.pdf>. Accessed August 16, 2023.

35. ICH S1B(R1) Guideline: «Testing for carcinogenicity of pharmaceuticals», 2022. Available at: https://database.ich.org/sites/default/files/S1B-R1_FinalGuideline_2022_0719.pdf. Accessed August 16, 2023.

36. M3(R2) Guideline: Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals Questions & Answers (R2), 2012. Available at: https://database.ich.org/sites/default/files/M3_R2_Q%26As_R2_Q%26As_0.pdf. Accessed August 16, 2023.

37. ICH S5(R2) Guideline: Detection of reproductive and developmental toxicity for human pharmaceuticals S5(R3), 2020. Final version Adopted on 18 February 2020. Available at: https://database.ich.org/sites/default/files/S5-R3_Step4_Guideline_2020_0218_1.pdf. Accessed August 16, 2023.

38. ICH S8 Guideline: «Immunotoxicity studies for human pharmaceuticals», 2005. Available at: https://database.ich.org/sites/default/files/S8_Guideline_0.pdf. Accessed August 16, 2023.

39. EMA/CHMP/SWP/2145/2000 Rev. 1, Corr. 1: «Guideline on non-clinical local tolerance testing of medicinal products». 22 October 2015. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-non-clinical-local-tolerance-testing-medicinal-products_en.pdf. Accessed August 16, 2023.

40. «ГОСТ 32372-2013. Межгосударственный стандарт. Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. In vitro 3T3 NRU тест на фототоксичность» (введен в действие Приказом Росстандарта от 22.11.2013 № 773-ст). [«GOST 32372-2013. Mezghosudarstvennyi standart. Metody ispytaniya po vozdeistviyu khimicheskoi produktsii na organizm cheloveka. In vitro 3T3 NRU test na fototoksichnost'» (vveden v deistvie Prikazom Rosstandarta ot 22.11.2013 N 773-st). (In Russ.)]. Доступно по: <https://www.consultant.ru/>. Ссылка активна на 16.08.2023.

41. ICH S10 Guideline: «Photosafety evaluation of pharmaceuticals», 2013. Available at: https://database.ich.org/sites/default/files/S10_Guideline.pdf. Accessed August 16, 2023.

42. EMEA/CHMP/SWP/94227/2004: Guideline on the non-clinical investigation of the dependence potential of medicinal products. Adoption by CHMP march 2006. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-non-clinical-investigation-dependence-potential-medicinal-products_en.pdf. Accessed August 16, 2023.



Ферроптоз и старение

Гаранин А. А., Богачева Т. Е., Громова О. А.

ФГБОУ ВО «Ивановский государственный медицинский университет» Минздрава России,
Иваново, Российская Федерация

Аннотация

Ферроптоз — это регулируемая форма гибели клеток, характеризующаяся железозависимым перекисным окислением липидов. С момента своего первоначального описания он привлёк значительное внимание из-за его последствий при различных заболеваниях, включая рак, нейродегенерацию и ишемически-реперфузионное повреждение. Процесс старения характеризуется прогрессирующим снижением клеточной функции и повышенной восприимчивостью к окислительному повреждению, оба из которых пересекаются с путями ферроптоза. В этом обзоре исследуется сложная связь между ферроптозом и старением, с упором на молекулярные механизмы, роль метаболизма железа, последствия при возрастных заболеваниях и потенциальные терапевтические стратегии. Понимая взаимодействие между ферроптозом и старением, исследователи могут обнаружить новые цели для содействия здоровому старению и смягчения возрастных расстройств.

Ключевые слова: ферроптоз; старение; метаболические нарушения; окислительный стресс; хроническая перегрузка железом; хелаторы железа; гепатопротективные пептиды ГПЧ; биомаркеры ферроптоза; модуляторы ферроптоза

Для цитирования:

Гаранин А. А., Богачева Т. Е., Громова О. А. Ферроптоз и старение. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2025;(1):17–26. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2025-1-17-26>. EDN: VWHUHM

Поступила: 15.01.2025. **В доработанном виде:** 20.02.2025. **Принята к печати:** 12.03.2025. **Опубликована:** 31.03.2025.

Ferroptosis and ageing

Alexey A. Garanin, Tatiana E. Bogacheva, Olga A. Gromova
Ivanovo State Medical University of MOH of Russia, Ivanovo, Russian Federation

Abstract

Ferroptosis is a regulated form of cell death characterized by iron-dependent lipid peroxidation. Since its initial description, it has garnered significant attention due to its implications in various diseases, including cancer, neurodegeneration, and ischemia-reperfusion injury. The ageing process is characterized by a progressive decline in cellular function and increased susceptibility to oxidative damage, both of which intersect with ferroptosis pathways. This review explores the intricate relationship between ferroptosis and ageing, focusing on molecular mechanisms, the role of iron metabolism, implications in age-related diseases, and potential therapeutic strategies. By understanding the interplay between ferroptosis and ageing, researchers can uncover novel targets for promoting healthy ageing and mitigating age-associated disorders.

Keywords: Ferroptosis; aging; metabolic disorders; oxidative stress; chronic iron overload; iron chelators; HPH hepatoprotective peptides; ferroptosis biomarkers; ferroptosis modulators

For citations:

Garanin AA, Bogacheva TE, Gromova OA. Ferroptosis and ageing. *Farmakokinetika i farmakodinamika* = *Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2025;(1):17–26. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2025-1-17-26>. EDN: VWHUHM

Received: 15.01.2025. **Revision received:** 20.02.2025. **Accepted:** 12.03.2025. **Published:** 31.03.2025.

Введение / Introduction

Ферроптоз — форма регулируемой гибели клеток, отличная от апоптоза, некроза и аутофагии, была впервые описана в 2012 году [1]. Этот процесс характеризуется окислительным повреждением клеточных мембран, в первую очередь из-за нарушения регуляции железа и перекисного окисления липидов. Ферроптоз особенно примечателен своей зависимостью от железа и активных форм кислорода (ROS), что отличает его от других механизмов гибели клеток. Открытие ферроптоза послужило толчком к существенным исследованиям его молекулярных механизмов и потенциальных

последствий как для здоровья, так и для болезней. Его роль в нормальных физиологических процессах, а также в патологиях сделала ферроптоз центром современных биомедицинских исследований [1].

По мере старения наши клетки претерпевают значительные молекулярные и метаболические изменения, которые тесно связаны с клеточным старением, окислительным стрессом и функциональным упадком. Эти характеристики старения поразительно напоминают молекулярные процессы, которые управляют ферроптозом [2]. Прогрессирующее накопление железа в сочетании с перекисным окислением липидов и снижением антиоксидантной защиты создает

среду, благоприятствующую активации ферроптоза. Это взаимодействие между старением и ферроптозом имеет решающее значение для понимания механизмов, лежащих в основе различных возрастных заболеваний, включая нейродегенеративные расстройства, сердечно-сосудистые заболевания и метаболические дисфункции [3].

Исследования показали, что накопление железа в мозге является одним из ключевых факторов, predisposing нейроны к ферроптозу, что делает нейродегенеративные заболевания, такие как болезнь Альцгеймера и Паркинсона, особенно уязвимыми для этого процесса [4]. Связь между метаболизмом железа, перекисным окислением липидов и гибелью нейрональных клеток предполагает, что ферроптоз может быть значимым фактором прогрессирования этих заболеваний. Кроме того, повышенная восприимчивость нейронов к окислительному повреждению во время старения выделяет ферроптоз как потенциальную терапевтическую цель для замедления прогрессирования нейродегенерации. Модуляция ферроптоза посредством регуляции гомеостаза железа, путей перекисного окисления липидов или механизмов антиоксидантной защиты может оказаться многообещающим новым подходом к лечению нейродегенеративных заболеваний, связанных с возрастом.

Помимо своей роли в нейродегенерации, ферроптоз участвует в старении сердечно-сосудистых тканей. Старение связано с усилением окислительного стресса, а накопление железа в эндотелиальных клетках и кардиомиоцитах может вызвать ферроптотическую гибель клеток. Этот процесс способствует ухудшению целостности сосудов, развитию атеросклероза и сердечной дисфункции [3]. Лучше понимая, как ферроптоз ускоряет возрастные сердечно-сосудистые заболевания, исследователи надеются найти новые способы вмешательства и предотвращения повреждений, вызванных опосредованным железом окислительным стрессом. Терапевтические стратегии, нацеленные на ферроптоз, могут, таким образом, предоставить инновационные средства для борьбы со старением сердечно-сосудистой системы и улучшения долгосрочного здоровья сердца.

Понимание связи между старением и ферроптозом имеет решающее значение для разработки эффективных терапевтических стратегий. Поскольку исследования продолжают раскрывать молекулярные основы ферроптоза, могут появиться новые потенциальные вмешательства для замедления старения и облегчения связанных с ним заболеваний. Этот растущий объём доказательств подчёркивает необходимость целевых подходов для модуляции ферроптоза тканеспецифичным образом, что может обеспечить значительные достижения в прецизионной медицине для заболеваний, связанных со старением.

Молекулярные механизмы ферроптоза / Molecular mechanisms of ferroptosis

Роль железа / Role of iron. Железо играет центральную роль в ферроптозе, катализируя образование активных форм кислорода (ROS) через реакцию Фентона. В этом процессе двухвалентное железо (Fe^{2+}) реагирует с перекисью водорода (H_2O_2) с образованием гидроксильных радикалов ($\text{OH}\cdot$), высокореактивных молекул, которые инициируют перекисное окисление липидов, что приводит к повреждению клеточной мембраны и гибели клеток [5].

Нарушение регуляции метаболизма железа увеличивает внутриклеточное лабильное железо, способствуя перекисному окислению липидов. Повышенные уровни свободного железа усиливают реакцию Фентона, что приводит к чрезмерному образованию ROS и последующему перекисному окислению липидов. Этот дисбаланс может вызвать ферроптоз, подчёркивая важность поддержания надлежащего гомеостаза железа [6].

Ферритинофагия, процесс, включающий деградацию ферритина для высвобождения свободного железа, также усиливает ферроптоз. Коактиватор ядерного рецептора 4 (NCOA4) опосредует селективную аутофагическую деградацию ферритина, что приводит к повышению уровня внутриклеточного свободного железа. Это повышение уровня свободного железа способствует перекисному окислению липидов и сенситилизует клетки к ферроптозу [7].

Гомеостаз железа жёстко регулируется такими белками, как трансферрин, ферритин и ферропортин, а нарушения в этих системах способствуют ферроптозу. Трансферрин облегчает усвоение железа, связывая Fe^{3+} и доставляя его в клетки через рецептор трансферрина 1 (TfR1). Попав внутрь клетки, Fe^{3+} восстанавливается до Fe^{2+} и хранится в ферритине, чтобы предотвратить накопление свободного железа. Ферропортин экспортирует избыток железа из клетки для поддержания баланса. Дисрегуляция этих белков может привести к перегрузке железом, увеличивая восприимчивость к ферроптозу [8].

Недавние исследования дополнительно прояснили сложную связь между метаболизмом железа и ферроптозом. Например, исследования показали, что ингибирование ферритинофагии может ограничить ферроптоз за счёт снижения доступности свободного железа, необходимого для перекисного окисления липидов. Кроме того, было продемонстрировано, что модуляция уровней экспрессии трансферрина и ферропортина влияет на клеточную чувствительность к ферроптозу, подчёркивая критическую роль регуляции железа в этой форме гибели клеток [9].

Понимание роли железа в ферроптозе даёт ценную информацию о потенциальных терапевтических стратегиях для заболеваний, связанных с дисрегуляцией железа и окислительным стрессом. Нацеливание на

ключевые регуляторы метаболизма железа может предложить многообещающие пути для модуляции ферроптоза при различных патологических состояниях.

Перекисное окисление липидов / Lipid Peroxidation.

Полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) в клеточных мембранах являются основными субстратами перекисного окисления липидов, ключевого события в осуществлении ферроптоза. Такие ферменты, как член семейства длинноцепочечных ацил-КоА-синтетаз 4 (ACSL4) и лизофосфатидилхолин-ацилтрансфераза 3 (LPCAT3), облегчают включение ПНЖК в мембранные фосфолипиды, тем самым увеличивая восприимчивость этих липидов к окислительному повреждению [10, 11]. Недавние исследования предоставили дополнительную информацию о регуляторных механизмах, лежащих в основе этого процесса. Например, [4] продемонстрировали, что повышение уровня ACSL4 значительно повышает выработку гидропероксидов липидов, тем самым увеличивая склонность к ферроптозной гибели клеток.

Перекисное окисление липидов включает окисление мембранных липидов с образованием токсичных гидропероксидов липидов, которые нарушают целостность мембран и вызывают гибель клеток. Накопление этих окисленных липидов усиливается повышенными уровнями активных форм кислорода (ROS), что ещё больше дестабилизирует клеточные мембраны [12]. Более того, исследования [13] подчеркнули важную роль ремоделирования липидов в регуляции клеточной чувствительности к ферроптозу, предполагая, что изменения в путях метаболизма липидов могут либо способствовать, либо смягчать ферроптозные процессы.

Взаимосвязь между липидным метаболизмом и ферроптозом подчёркивает важность ремоделирования липидов в поддержании клеточного гомеостаза. Целевая направленная модуляция ферментов, таких как ACSL4 и LPCAT3, наряду со стратегиями, направленными на восстановление окислительно-восстановительного баланса, может представлять собой многообещающие терапевтические пути для заболеваний, где ферроптоз является ключевым патологическим фактором.

Глутатионпероксидаза 4 (GPX4) / Glutathione Peroxidase 4 (GPX4). Глутатионпероксидаза 4 (GPX4), селенопротеин, играет решающую роль в восстановлении липидных гидропероксидов до нетоксичных липидных спиртов, тем самым защищая клетки от ферроптоза. Ингибирование или истощение GPX4 приводит к накоплению липидных пероксидов, ключевого триггера ферроптозной гибели клеток [14, 15]. Недавние исследования дополнительно прояснили важную роль GPX4 в регуляции окислительного стресса, при этом исследование [16] показало, что ингибирование GPX4 ускоряет липидное перекисное окисление и повышает чувствительность раковых клеток к ферроптозу, особенно в контексте резистентности к химиотерапии.

Активность GPX4 тесно связана с доступностью глутатиона, важнейшего антиоксиданта, который действует как кофактор для GPX4. Снижение глутатионом активных форм кислорода (ROS) необходимо для поддержания клеточного окислительно-восстановительного баланса и предотвращения ферроптоза. Нарушения в биосинтезе глутатиона или мутации в GPX4 могут привести к повышенной восприимчивости к ферроптозу, как показали [9], которые продемонстрировали, что ингибирование ключевого фермента биосинтеза глутатиона, γ -глутамилцистеинсинтетазы, запускает ферроптоз в нейрональных клетках.

Более того, недавние исследования подчеркнули потенциал GPX4 как терапевтической мишени при заболеваниях, где задействован ферроптоз. Модулируя активность GPX4 или доступность глутатиона, исследователи изучают новые стратегии, позволяющие либо защитить клетки от ферроптоза, либо избирательно вызвать его в раковых клетках [6].

Система Xc- / System Xc-. Цистин/глутаматная антипортирующая система Xc- отвечает за импорт цистина, ключевого предшественника синтеза глутатиона. Эта система играет важную роль в поддержании антиоксидантной способности клеток, поскольку цистин восстанавливается до цистеина, который затем используется для производства глутатиона. Нарушение системы Xc- истощает внутриклеточный глутатион, что снижает активность глутатионпероксидазы 4 (GPX4) и способствует ферроптозу [17, 18]. Недавние исследования выявили терапевтический потенциал модуляции системы Xc- для регуляции ферроптоза. Например, [16] продемонстрировали, что ингибирование системы Xc- сенсibiliзирует раковые клетки к ферроптозу, предлагая потенциальный подход к преодолению резистентности к химиотерапии.

Система Xc- регулируется различными факторами, включая белок-супрессор опухолей p53, который может подавлять её активность в условиях окислительного стресса. Эта регуляция служит защитным механизмом для предотвращения ферроптоза в клетках, находящихся в состоянии стресса, как показали [8], которые наблюдали, что индуцированное p53 ингибирование системы Xc- может снизить накопление токсичных липидных перекисей в ответ на окислительное повреждение. Кроме того, были выявлены другие регуляторные механизмы, включающие факторы транскрипции и сигнальные пути, которые модулируют функцию системы Xc-, что ещё больше подчеркивает её важность в контроле ферроптоза [2].

Нацеливание на систему Xc- стало многообещающей стратегией для модуляции ферроптоза в различных патологических контекстах, включая рак, нейродегенеративные заболевания и ишемическую травму. Ингибирование системы Xc- может быть использовано для индукции ферроптоза в раковых клетках, в то время как её активация может защитить

клетки от ферроптозного повреждения при заболеваниях, характеризующихся чрезмерной гибелью клеток [6].

Молекулярные механизмы, связывающие ферроптоз и старение / Molecular mechanisms linking ferroptosis and ageing

Метаболизм железа / Iron metabolism. Гомеостаз железа имеет решающее значение для здоровья клеток, однако с возрастом он становится нерегулируемым, что приводит к накоплению железа в тканях и органах. Это нарушение метаболизма железа связано с несколькими возрастными заболеваниями, включая нейродегенерацию и сердечно-сосудистые заболевания [19]. Возрастное повышение уровня лабильного железа повышает восприимчивость к ферроптозу через реакцию Фентона, которая генерирует активные формы кислорода (ROS), крайне разрушительные молекулы, которые вызывают клеточный окислительный стресс и повреждение [2].

Ферритинофагия, аутофагическая деградация ферритина, играет решающую роль в высвобождении свободного железа из запасов ферритина. Этот процесс усугубляет окислительное повреждение, увеличивая доступный пул лабильного железа, что, в свою очередь, способствует перекисному окислению липидов и ускоряет старение клеток. Недавние исследования [16] показали, что нарушение регуляции ферритинофагии во время старения способствует усилению окислительного стресса и ещё больше усугубляет повреждение тканей, особенно в мозге и печени. Кроме того, нарушения гомеостаза железа во время старения могут способствовать развитию возрастных заболеваний, поскольку свободное железо катализирует образование ROS, нарушая клеточную функцию [6].

Понимание связи между метаболизмом железа и старением открывает потенциальные пути для терапевтических стратегий, нацеленных на регуляцию железа, для смягчения возрастного повреждения клеток и содействия здоровому старению. Усилия по поддержанию гомеостаза железа и модуляции таких процессов, как ферритинофагия, могут оказаться многообещающими для профилактики заболеваний, связанных с ферроптозом, у стареющих популяций.

Перекисное окисление липидов / Lipid peroxidation. Старение связано с повышенным перекисным окислением липидов из-за накопления полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) в клеточных мембранах и снижения антиоксидантной способности [20]. ПНЖК очень восприимчивы к окислительному повреждению, а их включение в мембранные фосфолипиды делает их склонными к перекисному окислению. Этот процесс приводит к образованию гидроперексидов липидов, которые дестабилизируют клеточные мембраны и вызывают гибель клеток, включая ферроптоз. Недавние исследования показали, что такие

ферменты, как член семейства длинноцепочечных ацил-КоА-синтетаз 4 (ACSL4) и лизофосфатидилхолин ацилтрансфераза 3 (LPCAT3), которые облегчают включение ПНЖК в мембранные фосфолипиды, играют ключевую роль в регуляции чувствительности к ферроптозу [10, 11].

По мере старения людей активность этих ферментов увеличивается, что способствует усилению окислительного стресса и нестабильности мембран. Например, [10] продемонстрировали, что повышенная экспрессия ACSL4 в стареющих клетках усиливает включение ПНЖК в мембраны, что усугубляет перекисное окисление липидов и ускоряет клеточную дисфункцию. Аналогичным образом, обнаружили, что повышенная активность LPCAT3 в стареющих тканях усугубляет перекисное окисление липидов и способствует повреждению клеток посредством ферроптоза [5]. Эти результаты свидетельствуют о том, что процесс старения включает порочный круг окисления липидов, нестабильности мембран и клеточной дисфункции, что ещё больше вовлекает перекисное окисление липидов в возрастные заболевания, такие как нейродегенерация и сердечно-сосудистые заболевания [8].

Нацеливание на ферменты, участвующие во включении ПНЖК и ремоделировании липидов, может представлять собой терапевтическую стратегию для смягчения перекисного окисления липидов и предотвращения повреждений, связанных с ферроптозом, во время старения.

Снижение антиоксидантной защиты / Decline in antioxidant defenses. Глутатионпероксидаза 4 (GPX4), центральный регулятор ферроптоза, смягчает перекисное окисление липидов, восстанавливая токсичные гидроперекиси липидов до спиртов, тем самым защищая клетки от ферроптозной смерти [15]. Старение характеризуется снижением активности GPX4 и снижением внутриклеточного уровня глутатиона (GSH), оба из которых ухудшают способность клеток бороться с окислительным стрессом и ферроптозом [2]. Возрастное снижение активности GPX4 и синтеза глутатиона ослабляет клеточную защиту от сигналов, вызывающих ферроптоз, что приводит к усилению окислительного повреждения и клеточной дисфункции [3].

В дополнение к этому, нарушения в системе антипортера цистина/глутамата Xc⁻, отвечающей за поддержание внутриклеточного уровня цистеина, предшественника синтеза GSH, ещё больше усугубляют окислительный стресс во время старения [17]. Недавние исследования показали, что возрастное снижение функции системы Xc⁻ ускоряет истощение глутатиона, тем самым нарушая клеточную антиоксидантную защиту и способствуя ферроптозу [4]. Прогрессирующая дисфункция системы Xc⁻ в стареющих клетках способствует дисбалансу окислительно-восстановительного гомеостаза и значительно повышает уязвимость клеток к ферроптотическому стрессу [6].

Эти результаты подчеркивают сложную взаимосвязь между старением, механизмами антиоксидантной защиты и ферроптозом, предполагая, что терапевтические подходы, направленные на восстановление уровня глутатиона или модуляцию активности GPX4, могут предоставить новые пути для предотвращения или смягчения возрастных заболеваний и дисфункций, связанных с чрезмерным окислительным повреждением [18, 19].

Регуляция ферроптоза / Regulation of ferroptosis

Положительные регуляторы / Positive regulators. Ферроптоз положительно регулируется факторами, которые усиливают накопление железа, генерацию ROS или перекисное окисление липидов. Ключевые примеры включают железорегулирующие белки (IRP), которые контролируют гомеостаз внутриклеточного железа, и индукторы окислительного стресса, которые способствуют накоплению активных форм кислорода (ROS) [16]. Эти факторы повышают уязвимость клеток к ферроптозу, усугубляя окислительное повреждение и способствуя перекисному окислению липидов, процессам, которые являются центральными для ферроптозного каскада [21].

Кроме того, пути, включающие ферритинофагию, аутофагическую деградацию ферритина, играют решающую роль в регуляции ферроптоза. Ферритинофагия способствует высвобождению свободного железа, которое подпитывает реакцию Фентона и выработку ROS, что приводит к перекисному окислению липидов [17]. Такие ферменты, как член семейства длинноцепочечных ацил-КоА-синтетазы 4 (ACSL4), который включает полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) в мембранные фосфолипиды, также положительно регулируют ферроптоз, увеличивая восприимчивость липидов к перекисному окислению [22].

Понимание этих положительных регуляторов даёт представление о потенциальных терапевтических мишенях для индукции ферроптоза при патологических состояниях, таких как рак. Недавние исследования показали, что манипулирование этими путями может усилить ферроптоз в раковых клетках, открывая новые возможности для таргетной терапии рака [1].

Отрицательные регуляторы / Negative Regulators. Отрицательные регуляторы ферроптоза включают антиоксиданты, такие как витамин E и ферростатины, которые ингибируют перекисное окисление липидов и защищают клетки от ферроптозной гибели [16]. Витамин E, известный антиоксидант, удаляет свободные радикалы и предотвращает начало перекисного окисления липидов, тем самым уменьшая окислительное повреждение [23]. Ферростатины, ингибиторы малых молекул, специально нацелены на пути перекисного окисления липидов и, как было показано, эффективно предотвращают ферроптоз в различных клеточных моделях [16].

Кроме того, фактор 2, связанный с ядерным фактором эритроида 2 (NRF2), играет решающую роль в регуляции антиоксидантных реакций. NRF2 активирует экспрессию генов, участвующих в антиоксидантной защите и гомеостазе железа, что помогает смягчить ферроптоз за счёт снижения продукции ROS и поддержания уровня клеточного железа в безопасном диапазоне [8]. NRF2 был идентифицирован как ключевой фактор транскрипции в клеточной устойчивости к ферроптозу, особенно в условиях окислительного стресса [24].

Взаимодействие между отрицательными регуляторами и механизмом ферроптоза определяет восприимчивость клеток к ферроптозу. Следовательно, воздействие на эти молекулы может иметь значительный терапевтический потенциал для заболеваний, связанных с чрезмерным ферроптозом, таких как нейродегенеративные расстройства и ишемия/реперфузионное повреждение [2]. Разработка активаторов NRF2 и антиоксидантов, таких как ферростатины, активно изучается в качестве терапевтической стратегии для этих состояний.

Возможные заболевания / Implications in disease

Рак / Cancer. Ферроптоз играет двойную роль при раке, действуя как механизм подавления опухоли и как механизм, который может способствовать выживанию опухоли. С одной стороны, индукция ферроптоза может уничтожить раковые клетки, устойчивые к другим формам терапии, включая химиотерапию и радиацию [16]. Было показано, что ферроптоз эффективен в борьбе с агрессивными и резистентными к терапии опухолями, особенно с теми, которые устойчивы к апоптозу [6]. Способствуя окислительному стрессу и перекисному окислению липидов, ферроптоз может вызывать гибель злокачественных клеток, преодолевая терапевтическую резистентность [1].

С другой стороны, некоторые типы раковых клеток используют устойчивость к ферроптозу в качестве стратегии выживания. Микроокружение опухоли может адаптироваться к окислительному стрессу, активируя антиоксидантные системы, такие как глутатионпероксидаза 4 (GPX4) или белки, секвестрирующие железо [2]. Этот адаптивный ответ помогает опухолям избегать гибели ферроптозных клеток, повышая их выживаемость в условиях терапевтического стресса [25]. Например, некоторые виды рака увеличивают экспрессию белков, запасующих железо, таких как ферритин, для поддержания гомеостаза железа и снижения чувствительности к ферроптозу [19].

Таким образом, терапевтические стратегии, нацеленные на ферроптоз, имеют потенциал для преодоления устойчивости к традиционным методам лечения. Модулируя ферроптозные пути, можно повысить чувствительность опухолей к химиотерапии и иммунотерапии, что открывает новые возможности для лечения рака [16].

Нейродегенеративные заболевания / Neurodegenerative diseases. Нейродегенеративные заболевания, такие как болезнь Альцгеймера и болезнь Паркинсона, связаны с накоплением железа и окислительным стрессом, что связывает их с ферроптозом [16]. Уязвимость нейронов к ферроптозу во многом объясняется их высокой метаболической активностью и содержанием липидов, что делает их более склонными к окислительному повреждению и перекисному окислению липидов [2]. Железо, являющееся критическим фактором генерации АФК посредством реакции Фентона, усугубляет клеточное повреждение нейронов, ускоряя нейродегенерацию [6].

В этих условиях нарушение регуляции гомеостаза железа и нарушение антиоксидантной защиты способствуют началу ферроптоза, что способствует гибели нейронов. Например, накопление железа в мозге усугубляет окислительный стресс и запускает перекисное окисление липидов, что в конечном итоге приводит к гибели клеток [3]. Кроме того, ферроптоз участвует в патофизиологии болезней как Альцгеймера, так и Паркинсона, и исследования показывают, что терапевтические подходы, направленные на модуляцию ферроптоза, могут обеспечить новые стратегии лечения этих расстройств [16].

Вмешательства, направленные на гомеостаз железа, пути окислительного стресса и ферроптоз, активно изучаются в качестве потенциальных терапевтических подходов для лечения нейродегенеративных заболеваний [8]. Восстановление баланса железа и усиление антиоксидантной защиты являются многообещающими стратегиями для смягчения прогрессирования этих изнурительных заболеваний.

Повреждения при ишемии-реперфузии / Ischemia-reperfusion injury. Ферроптоз способствует повреждению тканей во время ишемически-реперфузионного повреждения, поскольку катализируемая железом генерация АФК усиливает окислительный стресс и усугубляет клеточное повреждение [16]. Этот процесс особенно актуален в таких органах, как сердце, мозг и почки, где реперфузия после ишемии запускает каскад событий, приводящих к окислительному повреждению, воспалению и гибели клеток [2]. В этих тканях ферроптоз был идентифицирован как основной фактор повреждения после реперфузии, что ещё больше усложняет восстановление и заживление.

Накопление железа во время ишемии приводит к увеличению продукции ROS через реакцию Фентона, которая ускоряет перекисное окисление липидов и дестабилизирует клеточные мембраны, в конечном итоге приводя к гибели клеток [6]. В сердце, мозге и почках эти эффекты особенно пагубны, способствуя таким состояниям, как инфаркт миокарда, инсульт и острое повреждение почек [16]. Таким образом, воздействие на ферроптоз может предложить новые терапевтические стратегии для смягчения ишемически-реперфузионного повреждения и улучшения

клинических результатов за счёт снижения окислительного повреждения [8].

Недавние исследования показали, что ингибирование ферроптоза с помощью различных подходов, таких как использование ферростатинов или других ингибиторов малых молекул, обещает защитить органы от повреждения, вызванного ишемией-реперфузией, и улучшить восстановление [5]. Эти результаты показывают, что ингибирование ферроптоза может быть жизнеспособной терапевтической стратегией для уменьшения повреждения тканей и улучшения прогноза при ишемических состояниях.

Другие расстройства / Other disorders. Ферроптоз связан с различными заболеваниями, включая острое повреждение почек, заболевания печени и инфекции, что подчёркивает его широкое патологическое значение [5]. При остром почечном повреждении (ОПП) ферроптоз способствует гибели клеток почечных канальцев и усугубляет дисфункцию почек после ишемического или токсического повреждения [4]. Аналогичным образом, при заболеваниях печени, таких как неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) и фиброз печени, ферроптоз был идентифицирован как ключевой игрок в гепатоцеллюлярном повреждении, способствующий прогрессированию заболевания [3]. Более того, ферроптоз был связан с инфекциями, когда иммунные клетки подвергаются ферроптозной гибели клеток во время микробной инвазии, влияя на реакцию организма на патогены [1].

Участие ферроптоза в этих различных заболеваниях подчёркивает необходимость всесторонних исследований для раскрытия его контекстно-зависимых ролей при различных патологических состояниях. Изучение того, как ферроптоз способствует повреждению тканей и дисфункции органов при таких заболеваниях, как острая почечная недостаточность (ОПН), заболевания печени и инфекции, имеет решающее значение для разработки целевых терапевтических вмешательств [2]. Кроме того, терапевтические стратегии, направленные на модуляцию ферроптоза, могут предложить новые варианты лечения этих заболеваний, особенно в случаях, когда традиционные методы лечения ограничены [6].

Ферроптоз при возрастных заболеваниях / Ferroptosis in age-related diseases

Нейродегенеративные заболевания / Neurodegenerative diseases. Нейродегенеративные заболевания, такие как болезнь Альцгеймера и болезнь Паркинсона, тесно связаны с ферроптозом из-за высокого содержания железа в мозге и уязвимости к окислительному стрессу [16]. Накопление железа и перекисное окисление липидов в нейрональных клетках способствуют синаптической дисфункции и гибели нейронов, что является ключевым моментом в патогенезе этих заболеваний [2]. При болезнях Альцгеймера и Паркинсона нарушение регуляции железа усугубляет окислительное повреждение,

способствуя образованию гидроперекисей липидов и дестабилизируя клеточные мембраны, что приводит к нейродегенерации [3].

Ферроптоз играет ключевую роль в прогрессировании нейродегенеративных заболеваний, ускоряя потерю нейронов и способствуя снижению когнитивных функций [8]. Участие ферроптоза в этих заболеваниях подчеркивает потенциал воздействия на этот путь в качестве терапевтической стратегии при нейродегенерации, связанной со старением. Модуляция гомеостаза железа, усиление антиоксидантной защиты и ингибирование ферроптоза могут предоставить новые пути лечения, потенциально замедляя прогрессирование заболевания и улучшая клинические результаты [4].

Сердечно-сосудистые заболевания / Cardiovascular diseases. Старение увеличивает риск сердечно-сосудистых заболеваний, частично из-за опосредованного ферроптозом повреждения эндотелиальных клеток и кардиомиоцитов. Перегрузка железом и перекисное окисление липидов нарушают целостность сосудов, способствуя развитию атеросклероза [5]. Накопление железа в сосудистых тканях усиливает окислительный стресс, который ускоряет эндотелиальную дисфункцию и гибель гладкомышечных клеток, тем самым способствуя образованию атеросклеротических бляшек и ригидности артерий [6]. Аналогичным образом, ферроптоз в кардиомиоцитах играет значительную роль при повреждении миокарда, особенно при ишемически-реперфузионном повреждении и сердечной недостаточности [8].

Воздействие на ферроптозные пути может предложить новые стратегии борьбы с возрастной сердечно-сосудистой дисфункцией. Ингибирование ферроптоза может помочь сохранить эндотелиальную функцию и предотвратить сердечно-сосудистые заболевания за счёт снижения окислительного повреждения и улучшения здоровья сосудов [4]. Учитывая важную роль ферроптоза в старении сердечно-сосудистой системы, терапевтические подходы, направленные на модуляцию гомеостаза железа и перекисного окисления липидов, могут оказать значительное влияние на профилактику и лечение возрастных сердечно-сосудистых заболеваний.

Метаболические нарушения / Metabolic disorders. Метаболические нарушения, включая диабет и ожирение, усугубляются с возрастом и тесно связаны с ферроптозом. Окислительный стресс и перекисное окисление липидов нарушают функцию бета-клеток поджелудочной железы и передачу сигналов инсулина, способствуя прогрессированию этих состояний [2]. При диабете накопление железа в островках поджелудочной железы и, как следствие, перекисное окисление липидов нарушают секрецию инсулина и метаболизм глюкозы, что приводит к ухудшению гликемического контроля [16]. Аналогичным образом, воспаление, вызванное ожирением, и нарушение регуляции железа способствуют ферроптозу в адипоцитах,

что ещё больше нарушает метаболический гомеостаз и способствует резистентности к инсулину [1].

Нацеливание на пути ферроптоза может предложить терапевтические стратегии для повышения метаболической устойчивости у стареющих популяций. Вмешательства, которые уменьшают окислительное повреждение, восстанавливают гомеостаз железа и подавляют ферроптоз, могут помочь смягчить последствия старения для метаболизма и предоставить новые подходы к лечению метаболических заболеваний [6]. Эти результаты подчеркивают потенциал модуляции ферроптоза как новой терапевтической цели в лечении возрастных метаболических расстройств.

Терапевтические стратегии / Therapeutic strategies

Индукция ферроптоза при раке / Inducing ferroptosis in cancer. Стратегии индукции ферроптоза при резистентных к терапии типах рака включают ингибиторы GPX4, хелаторы железа и индукторы активных форм кислорода (АФК) [6]. Ингибирование GPX4, центрального регулятора ферроптоза, приводит к накоплению гидроперекисей липидов, запуская ферроптоз в раковых клетках и преодолевая терапевтическую резистентность [1]. Кроме того, хелатирование железа может нарушать гомеостаз железа в опухолевых клетках, способствуя ферроптотической гибели клеток [2]. Индукция генерации ROS ещё больше усугубляет окислительный стресс, способствуя активации ферроптоза и повышая эффективность существующих методов лечения рака [16].

Избирательная индукция ферроптоза в раковых клетках предлагает многообещающий подход к преодолению лекарственной устойчивости и улучшению результатов лечения. Эта стратегия может дополнить традиционные методы лечения, такие как химиотерапия и иммунотерапия, путём сенсibilизации опухолевых клеток к лечению и снижения вероятности рецидива [6]. По мере развития исследований методов лечения рака, нацеленных на ферроптоз, это может проложить путь к новым, более эффективным методам лечения различных видов рака.

Ингибирование ферроптоза при дегенеративных заболеваниях / Inhibiting ferroptosis in degenerative diseases. Антиоксиданты, ингибиторы ферроптоза, такие как липрокстатин, и хелаторы железа обещают облегчить заболевания, связанные с ферроптозом [5]. Эти стратегии направлены на сохранение клеточной целостности и предотвращение повреждения тканей при состояниях, характеризующихся чрезмерным ферроптозом, таких как нейродегенеративные заболевания, ишемическое повреждение и метаболические нарушения [16]. Например, липрокстатин, который специфически ингибирует ферроптоз, воздействуя на перекисное окисление липидов, продемонстрировал терапевтический потенциал в моделях болезни Альцгеймера и болезни Паркинсона [6].

Хелатирование железа также играет важную роль в смягчении повреждения тканей, связанного с ферроптозом, за счёт снижения внутриклеточного уровня железа и продукции активных форм кислорода (ROS), которые играют центральную роль в патогенезе этих расстройств [8]. Кроме того, использование антиоксидантов для удаления ROS и восстановления клеточной антиоксидантной защиты изучается как терапевтический подход при различных дегенеративных состояниях [26].

Ингибирование ферроптоза при дегенеративных заболеваниях предлагает новую терапевтическую стратегию, потенциально открывающую новые пути для лечения заболеваний, при которых ферроптоз способствует дегенерации тканей и потере функции.

Системы доставки лекарственных средств / Drug delivery systems. Системы доставки ЛС на основе нанотехнологий повышают специфичность и эффективность агентов, модулирующих ферроптоз, минимизируя побочные эффекты [5]. Достижения в области наномедицины предоставили инновационные платформы для целенаправленной доставки регуляторов ферроптоза в определённые ткани или типы клеток, прокладывая путь для прецизионной медицины [6]. Наночастицы могут быть сконструированы для инкапсуляции ингибиторов или индукторов ферроптоза, облегчая их высвобождение в месте действия, избегая при этом системной токсичности [4]. Например, наночастицы, предназначенные для переноса липоксатинов, показали улучшенную биодоступность и терапевтическую эффективность в доклинических моделях нейродегенеративных заболеваний и рака [1].

Кроме того, возможность модификации поверхностей наночастиц с помощью целевых лигандов, таких как антитела или пептиды, позволяет осуществлять селективную доставку ферроптоз-таргетной терапии к опухолевым клеткам или тканям, поражённым окислительным стрессом [26]. Такой подход не только повышает эффективность лечения на основе ферроптоза, но и снижает потенциальные побочные эффекты, связанные с неспецифическим распределением лекарств.

Нанотехнологические системы доставки лекарств быстро развиваются, предлагая новые возможности для целевой терапии ферроптоза с потенциалом улучшения клинических результатов и снижения побочных эффектов при лечении рака, нейродегенеративных заболеваний и других расстройств, связанных с ферроптозом.

Терапевтический потенциал ГПЧ в модуляции ферроптоза / Therapeutic potential of HPH in ferroptosis modulation. При анализе пептидного профиля гидролизата плаценты человека (ГПЧ) были идентифицированы пептиды, имеющие решающее значение для элиминации тканевого гемосидероза, включая железо-хелатные пептиды, гормоноподобные пептиды (такие как геморфин и спинорфин) и пептиды, которые ингибируют целевые белки, такие как TMPRSS6,

FURIN, FKBP1A, CUL1 и SKP1 [27]. Эти пептиды регулируют уровень гепсидина (основного гормона, участвующего в гомеостазе железа), снижают синтез ферритина, оказывают противовоспалительное и иммуномодулирующее действие, что в совокупности способствует восстановлению метаболизма железа и уменьшению окислительного повреждения [28].

Экспериментальные исследования ГПЧ Laennec при хронической перегрузке железом, вызванной сульфатом железа, продемонстрировали снижение повреждения гепатоцитов, снижение уровня АСТ и уменьшение гемосидероза в печени, почках и мозге [28]. Эти результаты свидетельствуют о том, что пептиды ГПЧ не только регулируют гомеостаз железа, но и обладают потенциалом смягчать повреждения, вызванные ферроптозом, что делает их перспективным терапевтическим средством для лечения заболеваний, связанных с перегрузкой железом и окислительным стрессом.

Кроме того, продолжаются исследования по применению этих пептидов для модуляции ферроптоза при нейродегенеративных заболеваниях и раке. Их способность модулировать воспаление, регулировать метаболизм железа и ингибировать ферроптозные пути представляет ГПЧ как потенциальную стратегию лечения различных расстройств, связанных с ферроптозом [6].

Перспективы / Future directions

Несмотря на значительный прогресс, несколько вопросов остаются без ответа. Понимание тканеспецифичных механизмов, выявление надёжных биомаркеров и разработка модуляторов ферроптоза для клинического применения являются важнейшими шагами для перевода исследований в терапевтические вмешательства [29]. Будущие исследования должны быть сосредоточены на раскрытии тканеспецифичных ферроптозных путей, выявлении надёжных биомаркеров ферроптоза во время старения и разработке целевых терапевтических подходов для модуляции сигнальных путей ферроптоза. Достижения в области технологий отдельных клеток позволят глубже понять, как ферроптоз способствует старению и возрастным расстройствам [29].

Кроме того, совместные усилия в разных дисциплинах будут иметь ключевое значение для полного раскрытия терапевтического потенциала ферроптоза. Объединив знания из клеточной биологии, фармакологии и нанотехнологий, исследователи смогут разработать новые методы лечения, которые будут воздействовать на ферроптоз тканеспецифичным образом, улучшая результаты при заболеваниях, связанных со старением и окислительным стрессом [21]. Эти междисциплинарные подходы открывают перспективы для разработки стратегий точной медицины, направленных на модуляцию ферроптоза для лечения широкого спектра возрастных состояний.

Заключение / Conclusion

Ферроптоз представляет собой смену парадигмы общепринятого понимания гибели клеток, что несёт за собой внушительные последствия для биологии и терапии заболеваний. Ферроптоз — это ключевой механизм, лежащий в основе клеточных и молекулярных изменений, наблюдаемых при старении. Его роль в возрастных заболеваниях подчёркивает его потенциал в качестве терапевтической цели для содействия здоровому старению. Продолжение исследований

имеет важное значение для использования его полного потенциала в клинических условиях. Раскрывая взаимодействие между ферроптозом и старением, исследователи могут разрабатывать инновационные стратегии для увеличения продолжительности жизни и смягчения бремени возрастных заболеваний. Объединяя фундаментальные исследования с клиническими данными, мы можем разрабатывать инновационные стратегии диагностики, мониторинга и лечения состояний, связанных с ферроптозом, в конечном итоге улучшая результаты лечения пациентов.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Участие авторов

Все авторы в равной степени участвовали в подготовке публикации: разработка концепции статьи, получение и анализ фактических данных, написание и редактирование текста статьи, проверка и утверждение текста статьи.

ADDITIONAL INFORMATION

Authors' participation

All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Гаранин Алексей Алексеевич — ассистент кафедры фармакологии ФГБОУ ВО Ивановский ГМУ Минздрава России, Иваново, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку

e-mail: alexgaranin@icloud.com

ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0001-6673-554X>

Alexey A. Garanin — Associate Professor of the Department of Pharmacology of the FSBEI HE «Ivanovo SMU» of MOH of Russia, Ivanovo, Russian Federation

Corresponding author

e-mail: alexgaranin@icloud.com

ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0001-6673-554X>

Богачева Татьяна Евгеньевна — к. м. н., доцент кафедры фармакологии ФГБОУ ВО ИвГМА Минздрава России, Иваново, Российская Федерация

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5042-4886>

Tatiana E. Bogacheva — PhD, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor of the Department of Pharmacology of the FSBEI HE IvSMA MOH Russia, Ivanovo, Russian Federation

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5042-4886>

Громова Ольга Алексеевна — профессор кафедры фармакологии ФГБОУ ВО Ивановский ГМУ Минздрава России, Иваново, Российская Федерация; д. м. н, профессор, в. н. с. ФИЦ ИУ РАН, Москва, Российская Федерация

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7663-710X>
РИНЦ SPIN-код: 6317-9833

Olga A. Gromova — Professor of the Department of Pharmacology FSBEI HE «Ivanovo SMU» of MOH of Russia, Ivanovo, Russian Federation; Dr. Sci. (Med.), Professor, Leading researcher FRC CSC RAS, Moscow, Russian Federation

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7663-710X>
RSCI SPIN code: 6317-9833

Список литературы / References

- Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, Skouta R, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death. *Cell*. 2012 May 25;149(5):1060-72. doi: 10.1016/j.cell.2012.03.042.
- Di Micco R, Krizhanovsky V, Baker D, et al. Cellular senescence in ageing: from mechanisms to therapeutic opportunities. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2021 Feb;22(2):75-95. doi: 10.1038/s41580-020-00314-w.
- Fang X, Ardehali H, Min J, Wang F. The molecular and metabolic landscape of iron and ferroptosis in cardiovascular disease. *Nat Rev Cardiol*. 2023 Jan;20(1):7-23. doi: 10.1038/s41569-022-00735-4.
- Reichert CO, de Freitas FA, Sampaio-Silva J, et al. Ferroptosis Mechanisms Involved in Neurodegenerative Diseases. *Int J Mol Sci*. 2020 Nov 20;21(22):8765. doi: 10.3390/ijms21228765.
- Jiang X, Stockwell BR, Conrad M. Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2021 Apr;22(4):266-282. doi: 10.1038/s41580-020-00324-8.
- Zhang Y, Xin L, Xiang M, et al. The molecular mechanisms of ferroptosis and its role in cardiovascular disease. *Biomed Pharmacother*. 2022 Jan;145:112423. doi: 10.1016/j.biopha.2021.112423.
- Stockwell BR. Ferroptosis turns 10: Emerging mechanisms, physiological functions, and therapeutic applications. *Cell*. 2022 Jul 7;185(14):2401-2421. doi: 10.1016/j.cell.2022.06.003.
- Nemeth E, Ganz T. Hepcidin-Ferroportin Interaction Controls Systemic Iron Homeostasis. *Int J Mol Sci*. 2021 Jun 17;22(12):6493. doi: 10.3390/ijms22126493.
- Li L, Wang K, Jia R, et al. Ferroportin-dependent ferroptosis induced by ellagic acid retards liver fibrosis by impairing the SNARE complexes formation. *Redox Biol*. 2022 Oct;56:102435. doi: 10.1016/j.redox.2022.102435.
- Liao P, Wang W, Wang W, et al. CD8+ T cells and fatty acids orchestrate tumor ferroptosis and immunity via ACSL4. *Cancer Cell*. 2022 Apr 11;40(4):365-378.e6. doi: 10.1016/j.ccell.2022.02.003.
- Liang D, Minikes AM, Jiang X. Ferroptosis at the intersection of lipid metabolism and cellular signaling. *Mol Cell*. 2022 Jun 16;82(12):2215-2227. doi: 10.1016/j.molcel.2022.03.022.
- Rochette L, Dogon G, Rigal E, et al. Lipid Peroxidation and Iron Metabolism: Two Corner Stones in the Homeostasis Control of Ferroptosis. *Int J Mol Sci*. 2022 Dec 27;24(1):449. doi: 10.3390/ijms24010449.
- Minami JK, Morrow D, Bayley NA, et al. CDKN2A deletion remodels lipid metabolism to prime glioblastoma for ferroptosis. *Cancer Cell*. 2023 Jun 12;41(6):1048-1060.e9. doi: 10.1016/j.ccell.2023.05.001.
- Xue Q, Yan D, Chen X, et al. Copper-dependent autophagic degradation of GPX4 drives ferroptosis. *Autophagy*. 2023 Jul;19(7):1982-1996. doi: 10.1080/15548627.2023.2165323.
- Liu Y, Wan Y, Jiang Y, et al. GPX4: The hub of lipid oxidation, ferroptosis, disease and treatment. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. 2023 May;1878(3):188890. doi: 10.1016/j.bbcan.2023.188890.
- Li D, Wang Y, Dong C, et al. CST1 inhibits ferroptosis and promotes gastric cancer metastasis by regulating GPX4 protein stability via OTUB1. *Oncogene*. 2023 Jan;42(2):83-98. doi: 10.1038/s41388-022-02537-x.
- Liu J, Kang R, Tang D. Signaling pathways and defense mechanisms of ferroptosis. *FEBS J*. 2022 Nov;289(22):7038-7050. doi: 10.1111/febs.16059.
- Chen X, Yu C, Kang R, et al. Cellular degradation systems in ferroptosis. *Cell Death Differ*. 2021 Apr;28(4):1135-1148. doi: 10.1038/s41418-020-00728-1.
- Tian Y, Tian Y, Yuan Z, et al. Iron Metabolism in Aging and Age-Related Diseases. *Int J Mol Sci*. 2022 Mar 25;23(7):3612. doi: 10.3390/ijms23073612.
- Zhao T, Guo X, Sun Y. Iron Accumulation and Lipid Peroxidation in the Aging Retina: Implication of Ferroptosis in Age-Related Macular Degeneration. *Aging Dis*. 2021 Apr 1;12(2):529-551. doi: 10.14336/AD.2020.0912.
- Costa I, Barbosa DJ, Benfeito S, et al. Molecular mechanisms of ferroptosis and their involvement in brain diseases. *Pharmacol Ther*. 2023 Apr;244:108373. doi: 10.1016/j.pharmthera.2023.108373.
- Qiu B, Zandkarimi F, Bezjian CT, et al. Phospholipids with two polyunsaturated fatty acyl tails promote ferroptosis. *Cell*. 2024 Feb 29;187(5):1177-1190.e18. doi: 10.1016/j.cell.2024.01.030.
- Anandhan A, Dodson M, Shakya A, et al. NRF2 controls iron homeostasis and ferroptosis through HERC2 and VAMP8. *Sci Adv*. 2023 Feb 3;9(5):eade9585. doi: 10.1126/sciadv.ade9585.
- Chen GH, Song CC, Pantopoulos K, et al. Mitochondrial oxidative stress mediated Fe-induced ferroptosis via the NRF2-ARE pathway. *Free Radic Biol Med*. 2022 Feb 20;180:95-107. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2022.01.012.
- Niu B, Liao K, Zhou Y, et al. Application of glutathione depletion in cancer therapy: Enhanced ROS-based therapy, ferroptosis, and chemotherapy. *Biomaterials*. 2021 Oct;277:121110. doi: 10.1016/j.biomaterials.2021.121110.
- Yan D, Wu Z, Qi X. Ferroptosis-related metabolic mechanism and nanoparticulate anticancer drug delivery systems based on ferroptosis. *Saudi Pharm J*. 2023 Apr;31(4):554-568. doi: 10.1016/j.jsps.2023.02.008.
- Gromova OA, Torshin II, Chuchalin AG. [Ferritin as a biomarker of aging: geroprotective peptides of standardized human placental hydrolysate. A review]. *Ter Arkh*. 2024 Sep 14;96(8):826-835. Russian. doi: 10.26442/00403660.2024.08.202811.
- Torshin IY, Gromova OA, Tikhonova OV, Chuchalin AG. [Molecular mechanisms of the effect of standardized placental hydrolysate peptides on mitochondria functioning]. *Ter Arkh*. 2023 Dec 28;95(12):1133-1140. Russian. doi: 10.26442/00403660.2023.12.202494.
- Tian R, Abarientos A, Hong J, et al. Genome-wide CRISPRi/a screens in human neurons link lysosomal failure to ferroptosis. *Nat Neurosci*. 2021 Jul;24(7):1020-1034. doi: 10.1038/s41593-021-00862-0.



Изучение анксиолитической активности и возможных побочных эффектов дипептидного лиганда транслокаторного белка TSPO — соединения ГД-102 в широком диапазоне доз в экспериментах на крысах и мышах

Котельникова С. О., Деева О. А., Крайнева В. А., Гудашева Т. А., Воронина Т. А., Дорофеев В. Л.

ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»,
Москва, Российская Федерация

Аннотация

Обоснование. В ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий был сконструирован и синтезирован дипептидный лиганд TSPO — соединение амид N-фенилпропионил-L-триптофанил-L-лейцина (ГД-102), у которого ранее была установлена анксиолитическая и антидепрессантоподобная активности в опытах на мышах.

Цель работы — исследование анксиолитической активности и возможных побочных эффектов ГД-102 в широком диапазоне доз от 0,01 до 5,0 мг/кг в экспериментах на крысах и мышах.

Материалы и методы. Фармакологические эффекты ГД-102 изучали при его однократном внутривентральном введении. Анксиолитическую активность ГД-102 изучали на крысах в тесте приподнятого крестообразного лабиринта. Для регистрации ориентировочно-исследовательского поведения применяли тест «залезания на сетку», изучение миорелаксантных свойств проводили в тестах «вращающийся стержень» и «горизонтальная перекладина».

Результаты. Установлено, что ГД-102 при однократном введении в дозах 1,0 и 0,1 мг/кг оказывает выраженное анксиолитическое действие в тесте приподнятого крестообразного лабиринта, достоверно увеличивая время пребывания крыс в открытых рукавах лабиринта и количества заходов в открытые рукава лабиринта. Изучение седативного/активирующего эффектов на различных моделях поведения свидетельствует об отсутствии у соединения ГД-102 в широком диапазоне доз (от 0,01 до 5,0 мг/кг) способности изменять ориентировочно-исследовательское поведение. В диапазоне доз от 0,01 до 5,0 мг/кг соединение ГД-102 не нарушает координацию движений в тесте вращающегося стержня и рефлекс подтягивания на горизонтальной перекладине, что свидетельствует об отсутствии у соединения ГД-102 побочного миорелаксантного действия.

Заключение. Полученные результаты позволяют заключить, что дипептидный лиганд транслокаторного белка TSPO — соединения ГД-102 — обладает выраженным анксиолитическим действием и не оказывает в широком диапазоне доз седативного и миорелаксантного действия, что обуславливает целесообразность его дальнейшего расширенного преclinical изучения.

Ключевые слова: лиганды TSPO; ГД-102; анксиолитическая активность; двигательная активность; миорелаксантные свойства; мыши; крысы

Для цитирования:

Котельникова С. О., Деева О. А., Крайнева В. А., Гудашева Т. А., Воронина Т. А., Дорофеев В. Л. Изучение анксиолитической активности и возможных побочных эффектов дипептидного лиганда транслокаторного белка TSPO — соединения ГД-102 в широком диапазоне доз в экспериментах на крысах и мышах. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2025;(1):27–34. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2025-1-27-34>. EDN: JTDAIY

Поступила: 21.01.2025. В доработанном виде: 22.02.2025. Принята к печати: 17.03.2025. Опубликовано: 31.03.2025.

Study of anxiolytic activity and possible side effects of the dipeptide ligand of the translocator protein TSPO — compound GD-102 in a wide range of doses in behavioral experiments using rats and mice

Svetlana O. Kotelnikova, Olga A. Deeva, Valentina A. Kraineva, Tatiana A. Voronina, Tatiana A. Gudasheva, Vladimir L. Dorofeev
Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation

Abstract

Background. The dipeptide TSPO ligand, the compound amide N-phenylpropionyl-L-tryptophanyl-L-leucine (GD-102) was designed and synthesized in the Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies. It was shown that GD-102 possessed anxiolytic and antidepressant-like activity in behavioral experiments using mice.

The aim of this work was studying the anxiolytic activity and possible side effects of GD-102 in a wide range of doses from 0.01 to 5.0 mg/kg in experiments using rats and mice.

Materials and methods. The pharmacological effects of GD-102 were studied with single intraperitoneal administration. The anxiolytic activity of GD-102 was studied in rats in the elevated plus maze test. The "climbing on the net" test was used to record orientation-exploratory behavior; the muscle relaxant properties were studied in the "rotating rod" and "horizontal bar" tests.

Results. It was found that GD-102 at doses of 1.0 and 0.1 mg/kg (once administration), has a pronounced anxiolytic effect in the elevated plus maze test, significantly increasing the time the rats spent in the open arms of the maze and the number of entries into the open arms of the maze. The study of the

sedative/activating effects on various behavior models indicated that GD-102 in a wide range of doses (from 0.01 to 5.0 mg/kg) did not affect orientation-exploratory behavior. In the dose range from 0.01 to 5.0 mg/kg, compound GD-102 does not impair the coordination of movements in the rotating rod test and the pull-up reflex on a horizontal bar, which indicates that compound GD-102 have not side effect on muscle relaxantion.

Conclusion. The obtained results allow us to conclude that the dipeptide ligand of the TSPO translocator protein, compound GD-102, has a pronounced anxiolytic effect and does not have a sedative or muscle relaxant effect in a wide range of doses, which determines the feasibility of its further expanded preclinical study.

Keywords: TSPO ligands; GD-102; anxiolytic activity; locomotor activity; myorelaxant effect; mice; rats

For citations:

Kotel'nikova SO, Deeva OA, Kraineva VA, Gudasheva TA, Voronina TA, Dorofeev VL. Study of anxiolytic activity and possible side effects of the dipeptide ligand of the translocator protein TSPO — compound GD-102 in a wide range of doses in behavioral experiments using rats and mice. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2025;(1):27–34. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2025-1-27-34>. EDN: JTDAIY

Received: 21.01.2025. **Revision received:** 22.02.2025. **Accepted:** 17.03.2025. **Published:** 31.03.2025.

Введение / Introduction

Среди психических заболеваний тревожные расстройства являются одними из наиболее распространённых нарушений [1–7] и являются шестой по значимости причиной инвалидности во всём мире [8]. Тревожные расстройства включают: генерализованное тревожное расстройство, посттравматическое, стрессовое расстройство, паническое расстройство, обсессивно-компульсивное расстройство, социальные фобии, тревожно-депрессивное расстройство и другие. Классическими высокоэффективными анксиолитическими средствами являются препараты бензодиазепинового ряда (диазепам, феназепам, лоразепам, алпразолам и др.), однако они обладают, особенно при повышении дозы и длительном применении, существенными побочными эффектами, среди которых наиболее значимыми являются способность вызывать психическую и физическую зависимость и нежелательную миорелаксацию и седацию, что ограничивает их применение [3]. Анксиолитики следующего поколения не всегда эффективны и также имеют побочные эффекты.

В связи с этим перспективным представляется поиск соединений нового поколения, обладающих противотревожным действием, но лишённых побочных эффектов известных анксиолитиков, в рядах веществ, реализующих действие через новые мишени. К таким соединениям можно отнести лиганды транслокаторного белка TSPO [9].

В ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий в лаборатории пептидных биорегуляторов был сконструирован и синтезирован дипептидный лиганд транслокаторного белка (18 kDa, TSPO) — соединение амид N-фенилпропионил-L-триптофанил-L-лейцина (ГД-102) [10, 11]. Для дипептида ГД-102 была выявлена анксиолитическая активность в опытах на мышах в двух поведенческих тестах: тесте «открытое поле» со световой вспышкой на мышах линии Balb/c в дозах 0,01–0,1 мг/кг и «приподнятый крестообразный лабиринт» на мышах CD1 в дозах 0,1–1,0 мг/кг, а также антидепрессантоподобная активность на мышах Balb/c в дозах 0,01–0,05 мг/кг [12, 13].

Целью исследования явилось изучение анксиолитической активности дипептидного лиганда транслокаторного белка TSPO (ГД-102) в широком диапазоне доз (0,01–5,0 мг/кг) в экспериментах на крысах и исследование его возможных побочных эффектов на мышах (миорелаксантного и седативного).

Задачи исследования:

1. Исследовать анксиолитическую активность ГД-102 в тесте приподнятого крестообразного лабиринта в широком диапазоне доз (0,01–5,0 мг/кг) в опытах на крысах.
2. Изучить влияние ГД-102 на ориентировочно-исследовательское поведение в тесте «залезания на сетку».
3. Изучить миорелаксантные свойства ГД-102 в тестах «вращающийся стержень» и «горизонтальная перекладина».

Материалы и методы / Materials and Methods

Животные. Эксперименты проводили на беспородных крысах-самцах массой 220–240 г и беспородных мышах — самцах массой 22–24 г, полученных из Филиала «Андреевка» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства».

Условия содержания. Животные содержались в стандартных условиях вивария при температурном режиме 20–22 °С, при световом цикле — 12 ч светлый и 12 ч тёмный периоды, в пластмассовых клетках с верхней крышкой из нержавеющей стали с обеспыленной подстилкой из деревянной стружки, по 10 животных в каждой клетке, со свободным доступом к корму и воде при использовании полного рациона, экструдированного брикетированного корма и питьевой воды.

Животные содержались в контролируемых условиях окружающей среды (20–22 °С и 30–70 % относительная влажность в соответствии с ГОСТ 33216-2014).

Адаптация к условиям содержания до включения в эксперимент составляла 14 дней. Все эксперименты проводились в часовом интервале 10:00–16:00 ч. В экспериментальную комнату животных приносили в домашних клетках и возвращали в них после извлечения из установок.

Проведение экспериментов одобрено Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» (протокол от 16 мая 2024 г.).

Препараты и схема введения / Drugs and administration regimen

В исследовании был использован дипептидный лиганд транслокаторного белка (18 kDa, TSPO) — соединение амид N-фенилпропионил-L-триптофанил-L-лейцина (ГД-102) (табл. 1), синтезированный в ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий в лаборатории пептидных биорегуляторов как описано ранее в [11] (т. пл. 197–198 °C, $[\alpha]_D^{26} - 27^\circ \text{ с} = 1 \text{ ДМФА}$), в диапазоне доз от 0,01 до 5,0 мг/кг. В качестве препарата сравнения использовали афобазол для мышей в дозе 1 мг/кг, для крыс в дозе 5 мг/кг.

Дипептид ГД-102 растворяли в воде с добавлением 1 % Tween 80, афобазол растворяли в воде. Вещества вводили однократно внутривентриально за 30 минут до тестирования. Контрольные животные получали физиологический раствор, содержащий 1 % Tween 80 в эквивалентном объёме. Растворы готовились в день проведения эксперимента и хранились при $22 \pm 3^\circ \text{ C}$ не более часа.

Количество животных в группах: $n = 10$.

Методы / Methods

Приподнятый крестообразный лабиринт (ПКЛ).

В опытах на крысах был использован ПКЛ в модификации *Pellow Su соавт.* [14, 15]. Методика ПКЛ основана на врождённом страхе открытого пространства и высоты у грызунов. Сущность метода заключается в анализе соотношения реакции страха животных в незнакомом пространстве и высоты, с одной стороны, и поисковой активности в новой обстановке — с другой. В соответствии с характеристиками для лабораторных животных реакция страха характеризуется стремлением животных находиться в закрытых рукавах лабиринта, снижением двигательной активности.

Лабиринт представляет собой перекрещённые

плоскости размером $50 \times 10 \text{ см}$. Два противоположных отсека имеют вертикальные стенки высотой 40 см. Лабиринт приподнят от пола на 50 см. В месте перекреста плоскостей находится центральная платформа размером $10 \times 10 \text{ см}$. Крыс помещали на центральную площадку хвостом к светлому рукаву. Регистрировалось время, проведённое животными в открытых рукавах, время нахождения в закрытых рукавах, число заходов в светлый и тёмный рукава. Результаты представлены также в виде отношения времени пребывания крыс в открытых рукавах к суммарному времени пребывания (в %) животных в открытых и закрытых рукавах лабиринта в процентах. Также оценивали отношение числа заходов (в %) в открытые рукава к суммарному числу заходов в открытые и закрытые рукава. Общее время наблюдения для каждого животного составляло 5 минут. В качестве основных критериев анксиолитического действия использовали показатель времени, проведённого в открытых рукавах установки, и число заходов в открытые рукава лабиринта. В эксперименте использовались беспородные крысы-самцы массой 220–240 г.

Тест залезания на сетку [15, 16]. Для регистрации ориентировочно-исследовательского поведения применяли тест «залезания на сетку» в опытах на мышах. Регистрировали число животных, поднявшихся в течение 5 минут по проволоочной сетке, натянутой под углом 60° в верхний затемнённый отсек камеры. В опыте были использованы беспородные мыши-самцы массой 22–24 г.

Тест «вращающийся стержень» [15, 16]. На горизонтальный стержень диаметром 4 см, вращающийся со скоростью 3 об/мин, помещали мышей. Неспособность животных под влиянием вещества удерживать равновесие на стержне в течение 2 минут рассматривали как проявление нарушения координации движений и наличие миорелаксации. В опыте были использованы беспородные мыши-самцы массой 22–24 г.

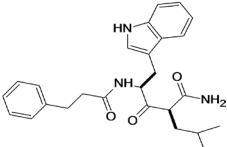
Тест подтягивания на «горизонтальной перекладине» [15, 16]. Тест является одним из методов оценки мышечного тонуса. Мышей подвешивали передними лапами на проволоку, натянутую на высоте 40 см от

Таблица 1

Структурная и химическая формулы исследуемого лиганда TSPO — соединения ГД-102

Table 1

Structural and chemical formulas of the studied compound TSPO ligand — compound GD-102

Формула	Сокращённая формула	Химическое название	Шифр	Растворимость в воде
	$\text{Ph}(\text{CH}_2)_2\text{C}(\text{O})\text{-L-Trp-L-LeuNH}_2$	Амид N-фенилпропионил-L-триптофанил-L-лейцина	ГД-102	Практически нерастворим

поверхности стола. Животные с ненарушенным мышечным тонусом быстро подтягиваются и удерживаются на перекладине всеми четырьмя лапами. Невыполнение этого рефлекса животными свидетельствует о нарушении мышечного тонуса и неврологическом дефиците. В опыте были использованы беспородные мыши-самцы массой 22–24 г.

Статистический анализ / Statistical analysis

Обработку результатов экспериментов проводили с помощью программы статистического анализа “GraphPad Prism 9.5.1”. Результаты обрабатывались с использованием непараметрического критерия Краскела–Уоллиса в случае отклонения от нормального распределения в данных, с последующим применением критерия множественных сравнений по Данну. Данные представлены в виде медианы и квартилей. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты / Results

Исследование анксиолитической активности ГД-102 в тесте приподнятого крестообразного лабиринта в опытах на крысах

Установлено, что в тесте ПКЛ соединение ГД-102 в дозах 1,0 и 0,1 мг/кг при однократном внутривенном введении статистически значимо увеличивало время пребывания крыс в открытых рукавах лабиринта (рис. 1), количество заходов в открытые рукава лабиринта (рис. 2), время (в %) пребывания в открытых рукавах по отношению к суммарному времени в открытых и закрытых рукавах ($T_{\text{откр}}/T_{\text{общ}}$) и число (в %) заходов в открытые рукава по отношению к суммарному числу заходов в открытые и закрытые рукава лабиринта ($N_{\text{откр}}/N_{\text{общ}}$) (табл. 2) по сравнению с контрольной группой.

По основным показателям оценки анксиолитического эффекта — времени пребывания крыс в от-

Таблица 2

Влияние соединения ГД-102 на отношение времени (%) пребывания в открытых рукавах к суммарному времени в открытых и закрытых рукавах ($T_{\text{откр}}/T_{\text{общ}}$), на отношение числа (%) заходов в открытые рукава к суммарному числу заходов в открытые и закрытые рукава ($N_{\text{откр}}/N_{\text{общ}}$) в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт»

Table 2

Effect of compound GD-102 on the ratio of time (%) spent in open arms to the total time in open and closed arms ($T_{\text{open}}/T_{\text{total}}$), on the ratio of number (%) of entries into open arms to the total number of entries into open arms and closed arms ($N_{\text{open}}/N_{\text{total}}$) in the test elevated plus maze

Соединение	Доза, мг/кг	$T_{\text{откр}}/T_{\text{откр}} + T_{\text{закр}}, \%$	$N_{\text{откр}}/N_{\text{откр}} + N_{\text{закр}}, \%$
Контроль	физ. р-р	3,9 (1,6; 8,5)	17,5 (8,3; 34,4)
ГД-102	5,0	16,2 (4,5; 26) $p = 0,13$	33,3 (32,1; 42,4) $p = 0,09$
	0,5	13,0 (2,6; 26,2) $p = 0,27$	26,7 (13,2; 54,2) $p = 0,68$
Афобазол	5,0	18,8 (7,5; 29,9) * $p = 0,05$	32,3 (27,5; 39,7) * $p = 0,05$
Контроль	физ. р-р	0,7 (0; 6,9)	8,4 (0; 33,3)
ГД-102	1,0	18,9 (8,8; 29,8) ** $p = 0,008$	39,2 (24,5; 47,4) * $p = 0,03$
	0,1	26,0 (8,0; 31,8) ** $p = 0,003$	33,9 (21,7; 43,4) $p = 0,12$
Афобазол	5,0	17,6 (10,2; 25,3) * $p = 0,011$	24,1 (22,0; 43,3) $p = 0,31$
Контроль	физ. р-р	5,2 (4,2; 11,7)	19,5 (15,7; 34,1)
ГД-102	0,05	17,1 (4,2; 32) $p = 0,50$	37,7 (30,0; 50) $p = 0,10$
	0,01	14,4 (5,5; 31,9) $p = 0,41$	36,7 (20,0; 45,4) $p = 0,22$
Афобазол	5,0	28,5 (22,0; 41,4) ** $p = 0,006$	38,8 (34,3; 46,6) * $p = 0,024$

Примечания: данные представлены в виде: Ме (q25; q75), где Ме — медиана, q25 — нижний квартиль, q75 — верхний квартиль (критерий Краскела–Уоллиса с последующим множественным сравнением по критерию Данна). $T_{\text{откр}}$ и $T_{\text{закр}}$ — время пребывания в открытых и закрытых рукавах; $N_{\text{откр}}$ и $N_{\text{закр}}$ — число заходов в открытые и закрытые рукава лабиринта. * — достоверность отличий от контроля при $p < 0,05$; ** — достоверность отличий от контроля при $p < 0,01$; $n = 10$.

Notes: The data are presented as: Me (q25; q75), where Me is the median, q25 — is the lower quartile, q75 — is the upper quartile (Kruskal–Wallis test followed by multiple comparison using Dunn’s test). T_{open} and T_{closed} are the time spent in open and closed arms; N_{open} and N_{closed} are the number of entries into open and closed arms of the labyrinth. * — reliability of differences from control at $p < 0,05$; ** — reliability of differences from control at $p < 0,01$; $n = 10$.

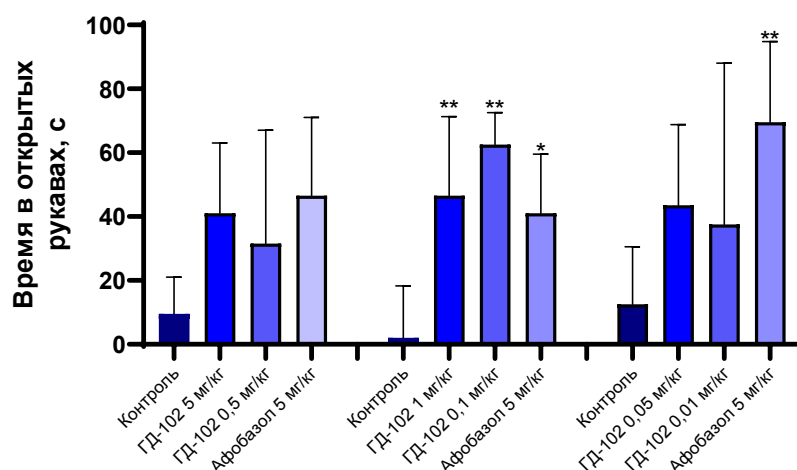


Рис. 1. Влияние соединения ГД-102 на время пребывания крыс в открытых рукавах приподнятого крестообразного лабиринта

Fig. 1. Effect of compound GD-102 for the duration of the rats' stay in the open arms of the elevated plus maze

Примечания: Данные представлены в виде: Me (q25; q75), где Me — медиана, q25 — нижний квартиль, q75 — верхний квартиль (критерий Краскела–Уоллиса с последующим множественным сравнением по критерию Данна). * — достоверность отличий от контроля при $p < 0,05$; ** — достоверность отличий от контроля при $p < 0,01$; $n = 10$

Notes: The data are presented as: Me (q25; q75), where Me is the median, q25 — is the lower quartile, q75 — is the upper quartile (Kruskal-Wallis test followed by multiple comparison using Dunn's test). * — reliability of differences from control at $p < 0,05$; ** — reliability of differences from control at $p < 0,01$; $n = 10$

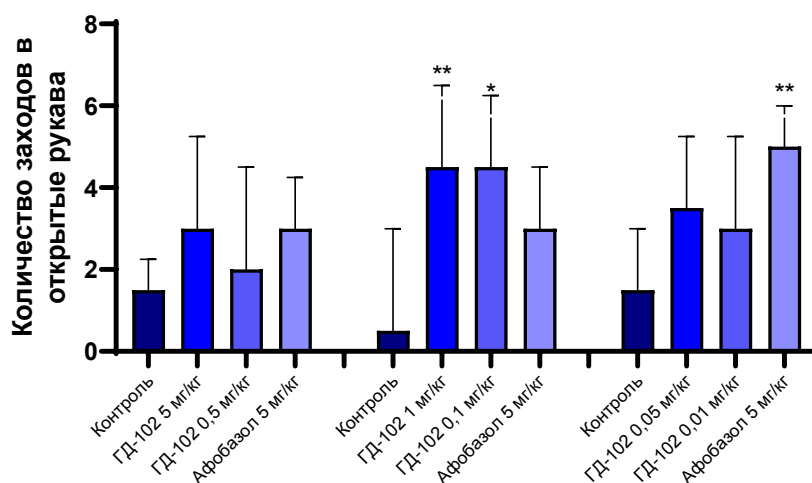


Рис. 2. Влияние соединения ГД-102 на количество заходов в открытые рукава приподнятого крестообразного лабиринта

Fig. 2. Effect of compound GD-102 on the number of entries into the open arms of the elevated plus maze

Примечания: Данные представлены в виде: Me (q25; q75), где Me — медиана, q25 — нижний квартиль, q75 — верхний квартиль (критерий Краскела–Уоллиса с последующим множественным сравнением по критерию Данна). * — достоверность отличий от контроля при $p < 0,05$; ** — достоверность отличий от контроля при $p < 0,01$; $n = 10$

Notes: The data are presented as: Me (q25; q75), where Me is the median, q25 — is the lower quartile, q75 — is the upper quartile (Kruskal-Wallis test followed by multiple comparison using Dunn's test). * — reliability of differences from control at $p < 0,05$; ** — reliability of differences from control at $p < 0,01$; $n = 10$

крытых рукавах и по числу заходов в открытые рукава лабиринта, — ГД-102 в дозах 0,1 и 1,0 мг/кг превосходит по активности препарат сравнения афобазол в дозе 5,0 мг/кг (рис. 1, рис. 2).

Полученные данные свидетельствуют о наличии у соединения ГД-102 выраженной анксиолитической активности.

Изучение миорелаксантных свойств ГД-102 в тестах «вращающийся стержень» и «горизонтальная перекладина»

Установлено, что в тесте «вращающегося стержня» животные контрольной группы в течение 2-минутного интервала времени наблюдения удерживались на вращающемся стержне, а соединение ГД-102 в диапазоне доз от 0,01 до 5,0 мг/кг не нарушало координацию движений — мыши опытной группы, так же как и контрольные животные, удерживались на стержне в течение 2 минут регистрации.

Соединение ГД-102 в диапазоне доз от 0,01 до 5,0 мг/кг не нарушает также рефлекс подтягивания на горизонтальной перекладине.

Изучение седативных свойств соединения ГД-102 в тесте «залезания на сетку»

В тесте «залезания на сетку» показано, что ГД-102 в диапазоне доз от 0,01 до 5,0 мг/кг, так же как препарат сравнения афобазол, не оказывает влияния на ориентировочно-исследовательское поведение животных: мыши как контрольных, так и опытных групп активно в течение 5 минут поднимались по сетке в верхнюю затемнённую часть установки (рис. 3).

Заключение/ Conclusion

Установлено, что соединение ГД-102 в эксперименте на крысах при однократном ведении в дозах 1,0 и 0,1 мг/кг (внутрибрюшинно) оказывает выраженное анксиолитическое действие в базисном тесте приподнятого крестообразного лабиринта, что характеризуется статистически достоверным увеличением времени пребывания крыс в открытых рукавах лабиринта и увеличением количества заходов в открытые рукава лабиринта. По выраженности анксиолитического эффекта соединение ГД-102 в дозах 1,0 и 0,1 мг/кг не уступает афобазолу в дозе 5,0 мг/кг. Полученные результаты согласуются с ранее установленными в исследовании на мышах данными [11–13] о наличии у соединения ГД-102 анксиолитической активности.

Изучение седативного действия ГД-102 в тесте залезания на сетку свидетельствует об отсутствии у соединения ГД-102 в широком диапазоне доз (от 0,01 до 5,0 мг/кг) способности изменять ориентировочно-исследовательское поведение.

Установлено, что в диапазоне доз от 0,01 до 5,0 мг/кг соединение ГД-102 не нарушает координацию движений в тесте вращающегося стержня и не нарушает рефлекс подтягивания на горизонтальной перекладине, что свидетельствует об отсутствии у соединения ГД-102 побочного миорелаксантного действия.

Таким образом, дипептид ГД-102 можно рассматривать как соединение перспективное для разработки в качестве анксиолитика.

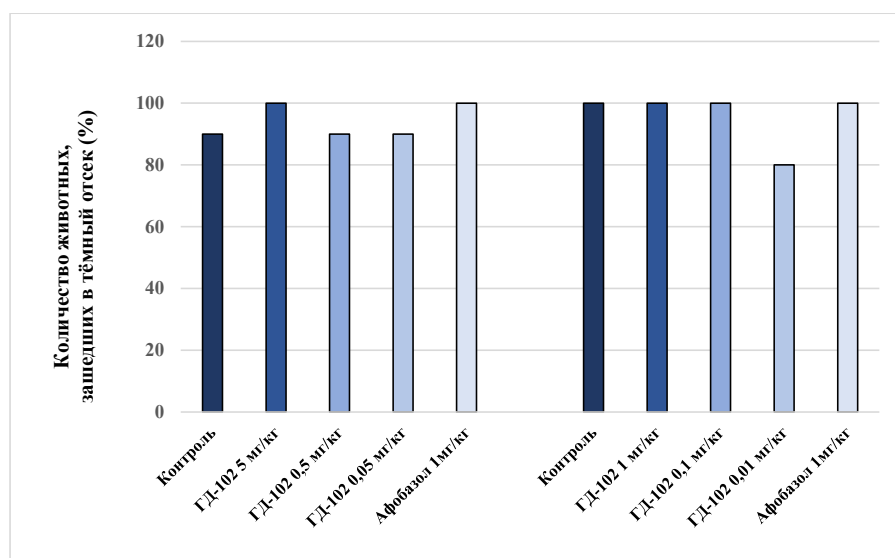


Рис. 3. Изучение влияния ГД-102 на ориентировочно-исследовательское поведение мышей в тесте «залезания на сетку»

Fig. 3. Effect of compound GD-102 on the orienting-exploratory behavior of mice in the “climbing on the grid” test

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов

Все авторы внесли существенный вклад в подготовку работы, прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией.

Соблюдение этических норм

Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей в качестве объектов.

ADDITIONAL INFORMATION

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interest.

Authors' participation

All authors made a significant contribution to the preparation of the work, read and approved the final version of the article before publication.

Compliance with ethical standards

This article does not describe any studies involving human subjects.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Котельникова Светлана Олеговна — к. б. н., с. н. с. лаборатории фармакологии психических заболеваний ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация

e-mail: kotelnikova_so@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7083-5298>

Деева Ольга Алексеевна — н. с. лаборатории пептидных биорегуляторов отдела химии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация

e-mail: deeva_oa@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9842-1545>

РИНЦ SPIN-код: 8877-9489

Крайнева Валентина Александровна — в. н. с. лаборатории фармакологии психических заболеваний ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку

e-mail: krayneva_va@academpharm.ru

РИНЦ SPIN-код: 7121-2357

Гудашева Татьяна Александровна — д. б. н., профессор, член-корреспондент РАН, руководитель отдела химии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация

e-mail: gudasheva_ta@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5185-4474>

РИНЦ SPIN-код: 4970-0006

Svetlana O. Kotel'nikova — PhD, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher at the Laboratory of Pharmacology of Mental Diseases Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation

e-mail: kotelnikova_so@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7083-5298>

Olga A. Deeva — Researcher at the Laboratory of Peptide Bioregulators of the Department of Drug Chemistry Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation

e-mail: deeva_oa@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9842-1545>

RSCI SPIN code: 8877-9489

Valentina A. Kraineva — Leading Researcher at the Laboratory of Pharmacology of Mental Diseases Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation

Corresponding author

e-mail: krayneva_va@academpharm.ru

RSCI SPIN code: 7121-2357

Tatiana A. Gudasheva — PhD, Dr. Sci. (Med.), professor, Head of laboratory pharmacokinetics Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2710-7134>

RSCI SPIN code: 2213-9592

Воронина Татьяна Александровна — д. м. н., профессор, г. н. с., руководитель отдела нейropsychофармакологии, заведующий лабораторией фармакологии психических заболеваний ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: voronina_ta@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7065-469X>
РИНЦ SPIN-код: 5766-3452

Tatiana A. Voronina — PhD, Dr. Sci. (Med.), professor, Chief Scientific Officer, Head of the Department of Neuropsychopharmacology, Head of the Laboratory of Pharmacology of Mental Diseases, Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: voronina_ta@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7065-469X>
RSCI SPIN code: 5766-3452

Дорофеев Владимир Львович — д. фарм. н., профессор, и/о генерального директора ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0004-3584-3742>

Vladimir L. Dorofeev — PhD, Dr. Sci. (Pharm), Professor, Acting General Director of Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0004-3584-3742>

Список литературы / References

1. Александровский Ю.А. Предболезненные состояния и пограничные психические расстройства (этиология, патогенез, специфические и неспецифические симптомы, терапия). М.: Литтерра, 2010. 272 с. [Aleksandrovsky YuA. Pre-morbid conditions and borderline mental disorders (etiology, pathogenesis, specific and nonspecific symptoms, therapy). Moscow: Litterra; 2010. (In Russ.)]. ISBN 978-5-904090-28-9.
2. Незнанов Н.Г., Мартынихин И.А., Мосолов С.Н. Диагностика и терапия тревожных расстройств в Российской Федерации: результаты опроса врачей-психиатров. *Современная терапия психических расстройств*. 2017;(2):2-13. [Neznanov NG, Martynikhin IA, Mosolov SN. Diagnosis and treatment of Anxiety Disorders in Russia: The Results of a Web-based Survey of Psychiatrists. *Current Therapy of Mental Disorders*. 2017;2:2-13. (In Russ.)]. doi: 10.21265/PSYPH.2017.41.6437.
3. Григорова О.В., Ахапкин Р.В., Александровский Ю.А. Современные представления о патогенетической терапии тревожных расстройств. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2019;119(10):111-120. [Grigороva OV, Akhapkin RV, Aleksandrovskii IuA. Modern concepts of pathogenetic therapy of anxiety disorders. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2019;119(10):111-120. (In Russ.)]. doi: 10.17116/jnevro201911910111.
4. Wittchen HU, Jacobi F, Rehm J, et al. The size and burden of mental disorders and other disorders of the brain in Europe 2010. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2011 Sep;21(9):655-79. doi: 10.1016/j.euroneuro.2011.07.018.
5. Sansone RA, Sansone LA. Psychiatric disorders: a global look at facts and figures. *Psychiatry (Edgmont)*. 2010 Dec;7(12):16-9.
6. Bahi A, Al Mansouri S, Al Memari E, et al. β -Caryophyllene, a CB2 receptor agonist produces multiple behavioral changes relevant to anxiety and depression in mice. *Physiol Behav*. 2014 Aug;135:119-24. doi: 10.1016/j.physbeh.2014.06.003.
7. Kandola A, Lewis G, Osborn DPJ, et al. Depressive symptoms and objectively measured physical activity and sedentary behaviour throughout adolescence: a prospective cohort study. *Lancet Psychiatry*. 2020 Mar;7(3):262-271. doi: 10.1016/S2215-0366(20)30034-1.
8. Baxter AJ, Scott KM, Ferrari AJ, et al. Challenging the myth of an "epidemic" of common mental disorders: trends in the global prevalence of anxiety and depression between 1990 and 2010. *Depress Anxiety*. 2014 Jun;31(6):506-16. doi: 10.1002/da.22230.
9. Мокров Г.В., Деева О.А., Яркова М.А., и др. Транслокационный белок TSPO 18 кДа и его лиганды: перспективный подход к созданию новых нейropsychотропных средств. *Фармакокинетика и фармакоди-*

10. намика. 2018;(4):3-27. [Mokrov GV, Deeva OA, Yarkova MA, et al. Translocator protein TSPO 18 kDa and its ligands: a promising approach to the creation of new neuropsychotropic drugs. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2018;(4):3-27. (In Russ.)]. doi: 10.24411/2588-0519-2018-10026.
10. Deeva OA, Pantileev AS, Rybina IV, et al. A Novel Dipeptide Ligand of TSPO. *Dokl Biochem Biophys*. 2019 May;484(1):17-20. doi: 10.1134/S1607672919010046.
11. Gudasheva TA, Deeva OA, Pantileev AS, et al. The New Dipeptide TSPO Ligands: Design, Synthesis and Structure-Anxiolytic Activity Relationship. *Molecules*. 2020 Nov 4;25(21):5132. doi: 10.3390/molecules25215132.
12. Середенин С.Б., Деева О.А., Гудашева Т.А., и др. Патент РФ № 2756772 06.12.2018. «Дипептидные лиганды TSPO, обладающие нейropsychотропной активностью». [Patent RU. № 2756772 06.12.2018. Dipeptide TSPO ligands with neuropsychotropic activity. (In Russ.)]. Доступно по: https://rusneb.ru/catalog/000224_000128_2018143150_20200608_A+_RU/?ysclid=m7uwe8foje535944644. Ссылка активна на 20.01.2025
13. Деева О.А., Яркова М.А., Мокров Г.В., и др. Дипептидные лиганды TSPO. *Химико-фармацевтический журнал*. 2022;56(9):14-23. [Deeva OA, Yarkova MA, Mokrov GV, et al. Dipeptide ligands of TSPO. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2022;56(9):1169-1178. (In Russ.)]. doi: 10.30906/0023-1134-2022-56-9-14-23.
14. Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. Validation of open/closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Methods*. 1985 Aug;14(3):149-67. doi: 10.1016/0165-0270(85)90031-7.
15. Воронина Т.А., Середенин С.Б., Яркова М.А., Воронин М.В. Методические рекомендации по доклиническому изучению транквилизирующего (анксиолитического) действия лекарственных средств. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К, 2012. С. 264-275. [Voronina TA, Seredenin SB, Yarkova MA, Voronin MV. Methodological recommendations for the preclinical study of the tranquilizing (anxiolytic) effect of drugs. Guidelines for conducting preclinical studies of medicines. Part one. Moscow: Grif i K; 2012;264-275. (In Russ.)].
16. Воронина Т.А., Островская Р.У., Гарибова Т.Л. Методические рекомендации по доклиническому изучению лекарственных средств с ноотропным типом действия. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К, 2012. С. 276-296. [Voronina TA, Ostrovskaya RU, Garibova TL. Methodological recommendations for the preclinical study of drugs with a nootropic type of action. Guidelines for conducting preclinical studies of medicines. Part one. Moscow: Grif i K; 2012;276-296. (In Russ.)].



Изучение возможности применения метформина при интраназальном введении для коррекции поведенческих и когнитивных дисфункций половозрелых крыс

Хафизова А. З., Семина И. И.

ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Казань, Российская Федерация

Аннотация

Актуальность. Метформин — противодиабетическое средство в терапии сахарного диабета 2-го типа, обладающего комплексом фармакологических эффектов, которые могут позволить применять его в качестве геропротектора и средства для лечения когнитивных и поведенческих нарушений. Метформин при пероральном применении имеет низкую биодоступность (50–60 %), а также риск развития побочных эффектов, что является обоснованием для изучения интраназального пути введения метформина.

Цель. Исследование поведенческих эффектов метформина при интраназальном введении как обоснование для разработки его интраназальной лекарственной формы.

Материалы и методы. Объект исследования — метформин, применяемый интраназально (и/н) крысам в дозе 70 мг/кг. Для сравнения был использован внутрижелудочный (в/ж) путь введения (70 мг/кг). После 30-дневного и/н и в/ж введения метформина крысам проведены поведенческие тесты: «Т-лабиринт», «Водный лабиринт Морриса», «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ), а также «Экстраполяционное извлечение» (ЭПИ). Для статистической обработки был использован t-критерий Стьюдента в программе Graph pad Prism 8.0.1.

Результаты. При и/н введении отмечалось снижение латентного периода выбора рукава в 5,6 раза ($p = 0,022$), а при в/ж — в 4,3 раза ($p = 0,046$) по сравнению с контролем в тесте «Т-лабиринт». При и/н применении статистически значимого результата не обнаружено в тесте «ПКЛ», в отличие от в/ж, при котором продолжительность пребывания крыс в «открытом рукаве» было в 3,0 раза ($p = 0,01$) больше контроля, а в «закрытом рукаве» — в 1,3 раза ($p = 0,01$) меньше. В тесте «ЭПИ» и/н введение метформина способствовало уменьшению продолжительности прыжков в 5,1 раза ($p = 0,02$), а при в/ж введении в 2,9 раза ($p = 0,038$) по сравнению с контролем.

Заключение. Интраназальное введение метформина может рассматриваться как альтернативный способ его применения и явиться основанием для разработки системы направленной доставки метформина.

Ключевые слова: метформин; интраназальное введение; субтерапевтические дозы; нейропротекторные свойства; поведенческие методы

Для цитирования:

Хафизова А. З., Семина И. И. Изучение возможности применения метформина при интраназальном введении для коррекции поведенческих и когнитивных дисфункций половозрелых крыс. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2025;(1):35–42. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2025-1-35-42>. EDN: NZTPRM

Поступила: 09.01.2025. В доработанном виде: 17.02.2025. Принята к печати: 15.03.2025. Опубликовано: 31.03.2025.

Study of the possibility of using metformin by intranasal administration for the correction of behavioral and cognitive dysfunctions of rats

Ajgul Z. Hafizova, Irina I. Semina

Kazan Medical University MOH Russia, Kazan, Russian Federation

Abstract

Relevance. Metformin is an antidiabetic agent in the therapy of type 2 diabetes mellitus, which has a complex of pharmacological effects that may allow its use as a geroprotector and a means for the treatment of cognitive and behavioral disorders. Metformin when administered orally has low bioavailability (50–60 %), as well as the risk of side effects, which is the rationale for studying the intranasal route of administration of metformin.

Objective. To investigate the behavioral effects of metformin during intranasal administration as a rationale for the development of its intranasal dosage form.

Materials and methods. The object of the study was metformin administered intranasally (i/n) to rats at a dose of 70 mg/kg. The intragastric (i/g) route of administration (70 mg/kg) was used for comparison. After 30-day i/n and i/g administration of metformin, the rats were subjected to behavioral tests: the T-Maze test, Water Maze test, Elevated Plus-Maze test (EPM), and Extrapolation Escape task (EE). The Student's t-test in Graph pad Prism 8.0.1 program was used for statistical processing.

Results. When administered i/n, there was 5.6 times ($p = 0.022$) decrease in the latent period of arm selection ($p = 0.022$), and when administered i/g, there was 2.9 times ($p = 0.01$) decrease in the “T-maze” test compared to the control. No statistically significant result was found in the “EPM” test when applied i/n, in contrast to i/g, in which the duration of stay of rats in the OA of the maze was 3.0 times ($p = 0.01$) more than the control, and in the CA — 1.3 times ($p = 0.01$) less. In the “EE” test, i/n administration of metformin contributed to 5.1 times ($p = 0.02$) decrease in jump duration compared to control. In case of i/g administration metformin, the duration of the jumping period was 2.9 times shorter ($p = 0.038$).

Conclusion. Intranasal administration of metformin can be considered as an alternative way of its use and be the basis for the development of a system of directed delivery of metformin.

Keywords: metformin; intranasal administration; subtherapeutic doses; neuroprotective properties; behavioral methods

For citations:

Hafizova AZ, Semina II. Study of the possibility of using metformin by intranasal administration for the correction of behavioral and cognitive dysfunctions of rats. *Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2025;(1):35–42. (In Russ.). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2025-1-35-42>. EDN: NZTPRM

Received: 09.01.2025. Revision received: 17.02.2025. Accepted: 15.03.2025. Published: 31.03.2025.

Введение / Introduction

Метформин является препаратом первой линии в терапии сахарного диабета 2-го типа, применяемого в клинической практике более 60 лет [1, 2]. В последние годы метформин привлекает внимание многих исследователей как препарат, обладающий комплексом фармакологических эффектов, которые могут позволить применять его в качестве геропротектора, средства для лечения когнитивных и поведенческих нарушений при различных психоневрологических расстройствах, в том числе нейродегенеративных заболеваниях [1, 3–5, 17]. Точный механизм нейропротекторной активности метформина до конца не изучен, но показано, что препарат обладает комплексным механизмом действия: проявляет антиоксидантные и противовоспалительные свойства [1, 2, 6], угнетает активность фермента ацетилхолинэстеразы, способствуя повышению уровня медиатора ацетилхолина, участвующего в процессах обучения и памяти [1, 4], повышает экспрессию ГАМК-рецепторов в гиппокампе [7]. Существенным фактором является то, что метформин обладает комплексом этих эффектов в субтерапевтических (по отношению к гипогликемическим) дозах, что может повысить его значимость как геропротектора [1, 3].

Недостатком метформина при пероральном применении является его низкая биодоступность (50–60 %), а также риск развития побочных эффектов, в основном со стороны ЖКТ [1, 3]. Интраназальный путь введения метформина непосредственно в мозг может иметь преимущества перед пероральным, включая более таргетное действие и снижение вероятности возникновения нежелательных реакций [8].

Таким образом, целью настоящей работы явилось исследование поведенческих эффектов метформина при интраназальном введении как обоснование для разработки его интраназальной лекарственной формы в качестве потенциального геропротектора и средства с нейропротекторной активностью.

Материалы и методы исследования / Materials and methods of research

Исследование проведено на 64 половозрелых крысах-самцах массой 200–250 г, полученных из филиала «Столбовая» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства». Животные содержались в стандартных условиях, при естественном световом режиме на полнорационной сбалансированной диете (согласно ГОСТ Р 50258-92) с соблюдением международных требований Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях, а также согласно «Правилам надлежащей лабораторной практики», утверждённым приказом Министерства здравоохранения РФ № 199н от 01.04.2016.

Объектом исследования явилось противодиабетическое средство метформин, применяемый путём интраназального (и/н) введения крысам в дозе 70 мг/кг. Для сравнения был использован внутрижелудочный (в/ж) путь введения в той же дозе 70 мг/кг.

После 30-дневного и/н и в/ж введения метформина половозрелым крысам были проведены поведенческие тесты: «Т-лабиринт», «Водный лабиринт Морриса», «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ), а также «Экстраполяционное избавление» (ЭПИ).

Введение метформина было продолжено и в дни тестирования (за 30 минут до проведения теста). Контрольным группам животных вводили физиологический раствор в эквивалентном объёме аналогичным (и/н или в/ж) способом.

Дизайн исследования представлен на рис. 1.

Изучение влияния на процессы обучения и когнитивные функции с применением следующих методов поведенческих тестов:

1. Тест «Т-лабиринт» (НПК «Открытая наука», Россия) применялся для изучения процессов памяти. Установка «Т-лабиринт» состоит из стартового рукава,

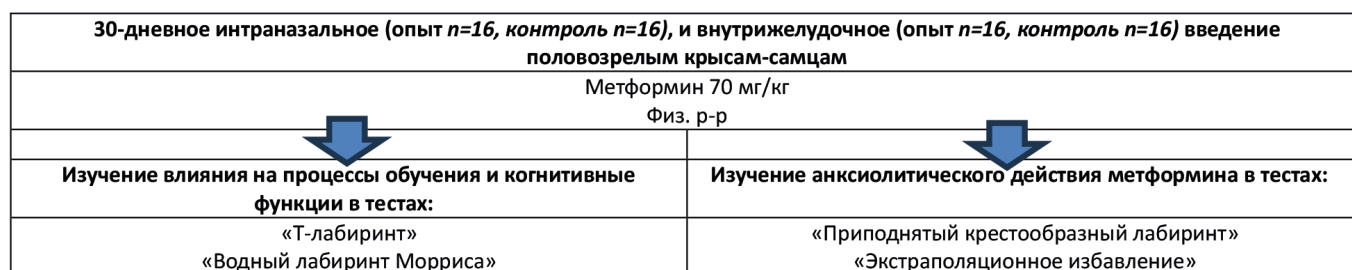


Рис. 1. Дизайн эксперимента

Fig. 1. Experiment Design

а также двух боковых рукавов. Тест служит оптимальным способом определения обучаемости, памяти и когнитивных функций животных путём выработки у них условного пищевого рефлекса и состоит из этапов обучения и тестирования, которым предшествовала стадия пищевой депривации (48 часов).

Этап обучения необходим для выработки у испытуемых животных понимания местонахождения пищи в лабиринте и состоит из 10 ежедневных попыток в течение 4 последовательных дней. Грызуна помещали в стартовый отсек «Т-лабиринта», в одном из рукавов которого была помещена кормушка с пищей. Через 30 с после посадки открывали дверцу стартового отсека и позволяли животному исследовать установку в течение 2 минут.

Второй этап (тестирование) был проведён на 5-й день эксперимента и состоял из 3 последовательных сессий поиска пищи, описанных выше. На данном этапе эксперимента регистрировали латентный период выбора рукава (с) (т. е. выбор рукава с пищевым подкреплением), что отражает состояние процессов памяти и когнитивных функций — правильно обученное животное стремится выбрать рукав с пищей и делает это быстрее. В качестве подкрепления применяли кусочки картофельных чипсов массой 0,15–0,2 г. В условиях, предшествующих выработке рефлекса пищевой депривации (48 ч), животные имели свободный доступ к воде. Кормление животных вне эксперимента осуществлялось в одно и то же время суток (обычно после окончания экспериментов) [9, 10].

2. Тест «Водный лабиринт Морриса» применялся для изучения пространственной памяти крыс [10]. Установка «Водный лабиринт Морриса» (НПК «Открытая наука», Россия) представляет собой круглый бассейн, который заполняется водой. В одном из секторов бассейна на глубине 2 см под водой устанавливается скрытая платформа, положение которой на этапе обучения животных неизменно. Перед началом эксперимента вода в бассейне подкрашивалась молочным порошком, для исключения платформы из поля зрения животного. Кроме того, по 4 сторонам света на стенки бассейна устанавливаются 4 чёрно-белых зрительных ориентира.

Первый этап эксперимента заключается в обучении животных находить платформу. Для этого каждое животное в течение 3 последовательных дней запускали в бассейн в одной из стартовых точек поочередно возле ориентиров и позволяли в течение 120 секунд самостоятельно искать платформу. Если в течение этого времени крыса не находила платформу, её аккуратно туда направляли. Крысе давали посидеть на платформе в течение 15 с, после чего её перемещали в клетку для просушки. На 4-й день после окончания этапа обучения проверяли показатели памяти [4, 9, 10].

Регистрировали длительность поиска платформы (с) на 4-й день опыта, что являлось критерием оценки пространственной памяти животных.

Изучение анксиолитического действия осуществ-

ляли с применением следующих методов поведенческого тестирования:

3. Тест «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) позиционируется как один из наиболее чувствительных для исследования тревожности животного. Установка ПКЛ (НПК «Открытая наука», Россия) представляет собой объединение четырёх пластиковых отсеков, два из которых окружены с 3 сторон непрозрачными стенками — «закрытые рукава» (ЗР). Два оставшихся не имеют стенок и являются «открытыми рукавами» (ОР). Закрытые рукава являются аналогом норы, а открытые — потенциально опасной областью. Исследуемое животное помещали в центральную часть установки, носом к открытому рукаву, и в течение 5 минут тестирования регистрировали продолжительность нахождения в ОР (с), что обратно пропорционально увеличению тревожного поведения [9, 10]. Критерием регистрации захождения в тот или иной отсек модели считалось наличие всех лап животного внутри соответствующего отсека [10].

4. Тест «Экстраполяционное избавление» (ЭПИ) Установка ЭПИ (НПК «Открытая наука», Россия) представляет собой ёмкость (высотой 23 см, диаметром 35 см), наполненную водой, с прозрачным сосудом в центре (диаметром 9,2 см), который не касается стенок и погружён в воду (210С) на 2 см. Исследуемое животное помещали (хвостом вниз) внутрь цилиндра, ограниченное водное пространство которого считается стрессогенными условиями, выйти из которых возможно только, поднырнув под нижний его край, а в случае предрасположенности к тревожному поведению и эмоциональной реактивности крысы стараются выпрыгнуть через верх цилиндра [11, 12]. Оценивали продолжительность аверсивных реакций в форме карабканий и прыжков внутри цилиндра, что отражает общий уровень стресса, т. е. чем больше продолжительность прыжков — тем больше уровень стресса.

Для регистрации и анализа поведенческих изменений животных использовали компьютерную программу «EthoVisionXT» (Noldus, Нидерланды) с автоматическим способом анализа треков. Для статистической обработки был использован *t*-критерий Стьюдента в программе Graph pad Prism 8.0.1. Результаты поведенческих тестов представлены графически в виде $M \pm SEM$, где *M* — среднее значение, *SEM* — стандартная ошибка среднего, *p* — уровень значимости.

Результаты / Results

Результаты оценки поведения крыс в Т-лабиринте после 30-дневного и/н и в/ж введения в течение 30 дней не выявили существенных отличий между этими группами. При и/н введении отмечалось снижение латентного периода выбора рукава в 5,6 раза ($p = 0,022$), а при в/ж — в 4,3 раза ($p = 0,046$) по сравнению с контрольной группой животных (рис. 2А, В).

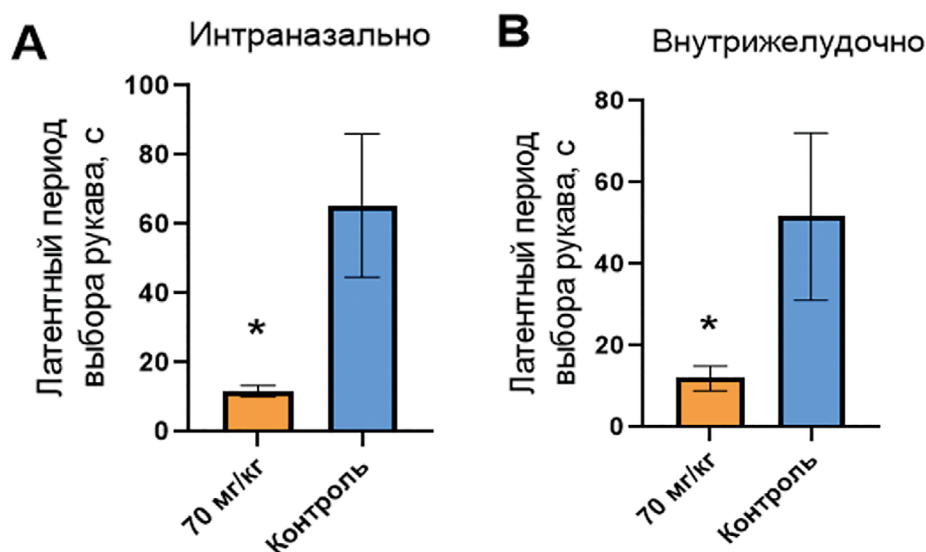


Рис. 2. Влияние интраназального (А) и в/ж (В) введения метформина на латентный период выбора рукава (с) половозрелых крыс в тесте «Т-лабиринт»
Fig. 2. Effect of intranasal (A) and ig (B) administration of metformin on the latent period of arm selection (c) of rats in the T-maze test

Примечания: по оси абсцисс — латентный период выбора рукава (с); по оси ординат — исследуемые группы крыс; $(p < 0,05)$ — статистически значимые различия по отношению к показателю контрольной группы.

Notes: abscissa axis — latent period of arm selection (s); ordinate axis — study groups; $(p < 0.05)$ — statistically significant differences with respect to the index of the control group.

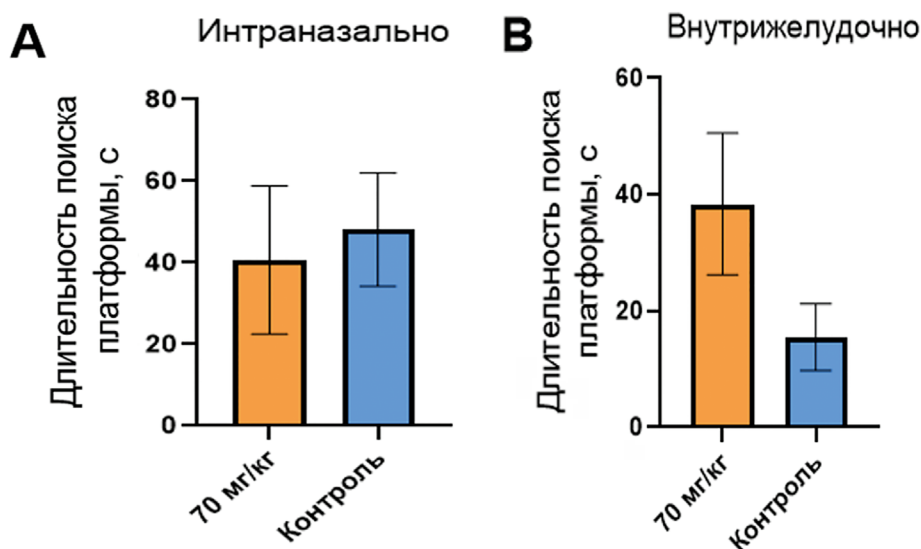


Рис. 3. Влияние 30-дневного интраназального (А) и в/ж (В) введения метформина на длительность поиска платформы (с) половозрелых крыс в тесте «Водный лабиринт Морриса»
Fig. 3. Effect of intranasal (A) and ig (B) administration of metformin on duration of the platform search (s) of rats in the Morris Water Maze test

Примечания: по оси абсцисс — длительность поиска платформы (с); по оси ординат — исследуемые группы; $(p < 0,05)$ — статистически значимые различия по отношению к показателю контрольной группы

Notes: abscissa axis — duration of platform search (s), ordinate axis — studied groups; $(p < 0.05)$ — statistically significant differences with respect to the index of the control group

В тесте «Водный лабиринт Морриса» по показателю «длительность поиска платформы» нами не было выявлено статистически значимых отличий по сравнению с контрольными значениями как при и/н, так и при в/ж введении метформина (рис. 3А, В).

Что касается исследования анксиолитического действия метформина в ПКЛ — мы не увидели эффекта при и/н применении (рис. 4А, В), в отличие от

в/ж, при котором продолжительность пребывания крыс в ОР лабиринта было в 3,0 раза ($p = 0,01$) больше контрольных значений, а в ЗР — в 1,3 раза ($p = 0,01$) меньше (рис. 4Г, Д).

Несмотря на то, что при и/н применении мы не наблюдали анксиолитического действия метформина в тесте «ПКЛ», в тесте «ЭПИ», которое позиционируется как состояние повышенной тревожности, и/н

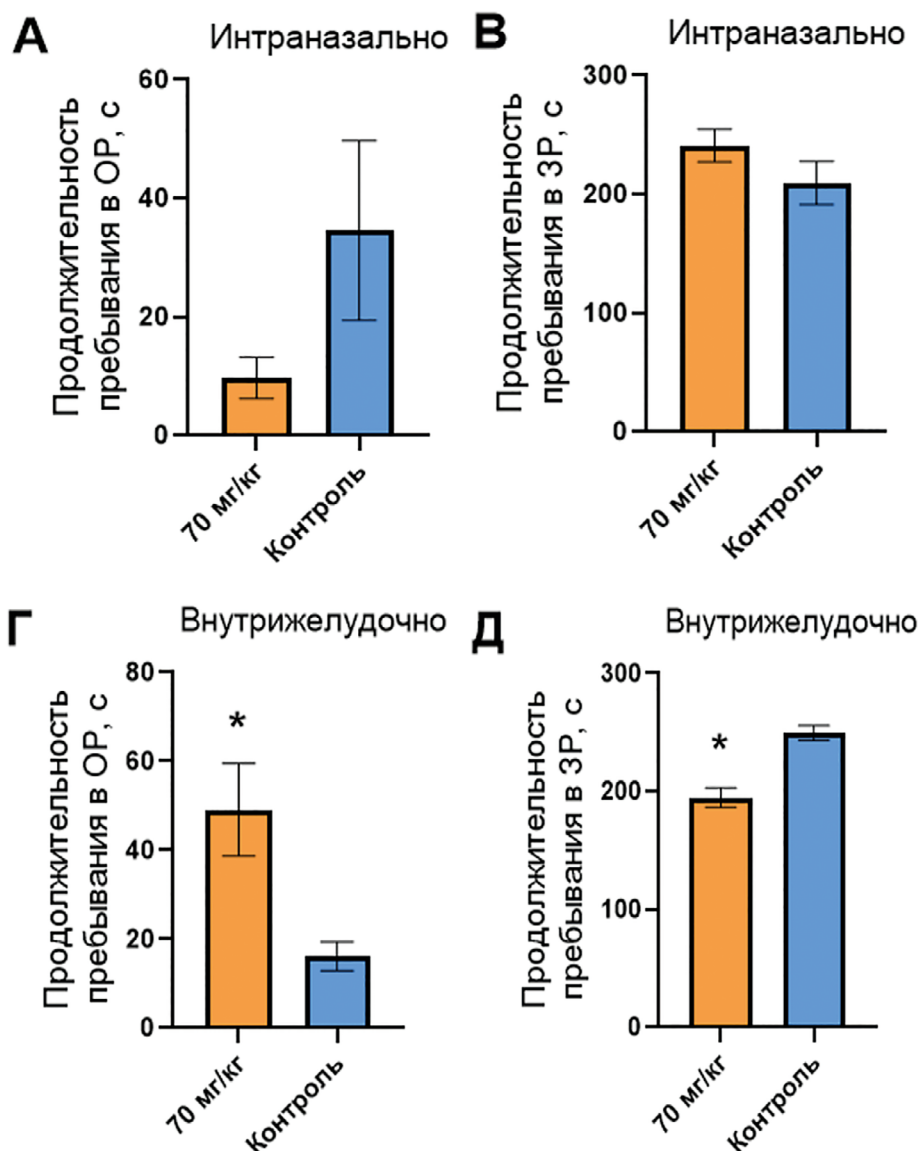


Рис. 4. Влияние 30-дневного интраназального (А, В) и в/ж (Г, Д) введения метформина на продолжительность пребывания в ОР (А, Г) и ЗР (В, Д) (с) половозрелых крыс в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт»

Fig. 4. Effect of intranasal (A, B) and ig (Г, Д) administration of metformin on the length of stay in the OR (A, Г) and OR (В, Д) (s) of rats in the test Elevated plus-maze test

Примечания: по оси абсцисс — продолжительность (с) пребывания крыс в ОР (А, Г) и ЗР (В, Д) лабиринта; по оси ординат — исследуемые группы; * ($p < 0,05$) — статистически значимые различия по отношению к показателю контрольной группы.

Notes: abscissa axis — duration of stay in OR (A, Г) and ZR (В, Д) (s); ordinate axis — study groups; * ($p < 0.05$) — statistically significant differences with respect to the index of the control group

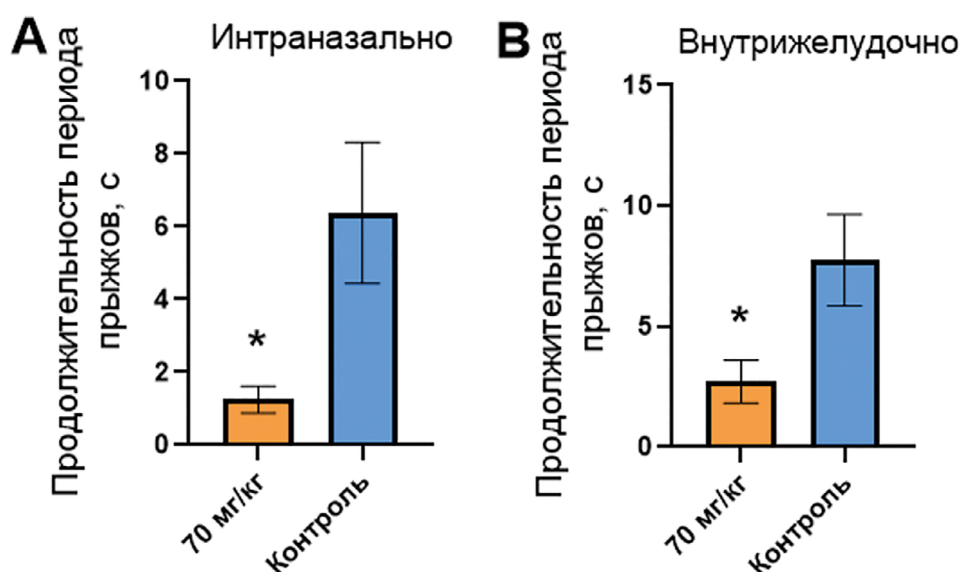


Рис. 5. Влияние интраназального (А) и в/ж (В) введения метформина на латентное время прыжков (с) половозрелых крыс в тесте «Экстраполяционное избегание»

Fig. 5. Effect of intranasal (A) and ig (B) administration of metformin on latent jumping time (s) of rats in the Extrapolation Escape task

Примечания: по оси абсцисс — продолжительность прыжков (с); по оси ординат — исследуемые группы; $*(p < 0,05)$ — статистически значимые различия по отношению к показателю контрольной группы.

Notes: abscissa axis — duration of jumps (s); ordinate axis — study groups; $*(p < 0.05)$ — statistically significant differences with respect to the index of the control group.

введение метформина способствовало уменьшению продолжительности прыжков в 5,1 раза ($p = 0,02$) по сравнению с контрольной группой животных, что свидетельствует об уменьшении тревожности в острых стрессогенных условиях (рис. 5А). При в/ж введении метформина продолжительность периода прыжков была меньше в 2,9 раза ($p = 0,038$) (рис. 5В).

Обсуждение / Discussion

В данной работе проведены пилотные исследования, которые показали, что метформин при интраназальном применении оказывает фармакологические эффекты, по выраженности сопоставимые с его пероральным действием. Для исследований была выбрана доза 70 мг/кг, являющаяся субтерапевтической по отношению к гипогликемическому действию и входящая в спектр тех доз, в которых метформин может проявлять нейропротекторное действие и использоваться как геропротектор [4, 7]. Хотя при внутрижелудочном применении метформин хорошо проникает через ГЭБ [13], побочные эффекты, особенно со стороны ЖКТ, могут ограничивать его использование как геропротектора, а также корректора когнитивных и поведенческих нарушений при деменциях различного происхождения, в том числе нейродегенеративного.

Интраназальное применение метформина в течение 30 дней показало его способность улучшать процессы памяти в «Т-лабиринте» как модели с положительным подкреплением, но в «Водном лабиринте Морриса» этот эффект не повторился, так же как и при его внутрижелудочном применении в этой дозе. Следует отметить, что по сравнению с «Т-лабиринтом» в водном тесте дополнительным компонентом является стрессовая ситуация, вызванная наличием воды, кроме того, в данном методе мы использовали только один показатель — длительность поиска спасательной платформы. Для продолжения исследований в этом тесте необходимо изучение более широкого спектра показателей — например, продолжительности плавания крыс в зоне платформы, которую необходимо предварительно убрать, разделить крыс, исходя из фенотипа нервной системы и др.

В отличие от внутрижелудочного введения, при интраназальном введении метформина мы не выявили анксиолитического действия. Видимо, для проявления этого эффекта необходима более высокая доза. В настоящем исследовании мы применяли метформин, растворённый в физиологическом растворе, а в этом случае препарат подвержен быстрому вымыванию со слизистой носа. Это недостаток интраназального применения, поэтому с целью повышения эффектив-

ности указанного пути введения необходима направленная разработка лекарственной формы на основе носителей, которые либо способствуют адгезии на слизистой носа с постепенным высвобождением лекарственного вещества, либо обеспечивают быстрое всасывание [7, 14–16].

Таким образом, отмеченные эффекты метформина при интраназальном введении дают основание для продолжения того направления, расширяя спектр его активности в других субтерапевтических дозах

с целью выявления оптимальных доз для последующей разработки интраназальной лекарственной формы.

Заключение / Conclusion

Таким образом, полученные результаты демонстрируют, что интраназальное введение метформина может рассматриваться как альтернативный способ его применения. В дальнейшем это может явиться основанием для разработки системы направленной доставки метформина напрямую из носа в мозг.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов

Хафизова А. З. — проведение экспериментов, обработка полученных результатов, написание текста; *Семина И. И.* — концепция и дизайн исследования, общий анализ полученных данных, написание текста статьи.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (проект № 23–25–00333)

Соблюдение этических норм

Выполненные исследования одобрены Локальным Этическим Комитетом ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России [Протокол заседания № 6 от 20.06.2023]

ADDITIONAL INFORMATION

Conflict of interests

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Authors' participation

Hafizova AZ — conducting experiments, processing the results obtained, writing the text; *Semina II* — concept and design of the study, general analysis of the data obtained, writing the text of the article.

Funding

The work was carried out with the financial support of the Russian Science Foundation (project No. 23-25-00333)

Compliance with ethical standards

The completed studies were approved by the Local Ethics Committee of the Kazan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation [Minutes of meeting No. 6 dated 06/20/2023]

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Хафизова Айгуль Зульфаровна — м. н. с. Молодежной научной лаборатории «Систем направлений доставки лекарственных средств» ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, Казань, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку

e-mail: aygul_khafizova_1997@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0007-3795-1407>

Ajgul Z. Hafizova — Junior Research of the Research Laboratory «Drug Delivery Systems», FSBEI HE Kazan SMU MOH Russia, Kazan, Russian Federation

Corresponding autor

e-mail: aygul_khafizova_1997@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0007-3795-1407>

Семина Ирина Ивановна — д. м. н., профессор кафедры фармакологии, заведующая Центральной научно-исследовательской лабораторией ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, Казань, Российская Федерация

e-mail: semina@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3515-0845>

Irina I. Semina — PhD, Dr. Sci. (Med.), Professor of the Department of Pharmacology, head of the Central Research Laboratory, FSBEI HE Kazan SMU MOH Russia, Kazan, Russian Federation

e-mail: semina@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3515-0845>

Список литературы / References

1. Markowicz-Piasecka M, Sikora J, Szydłowska A, et al. Metformin – a Future Therapy for Neurodegenerative Diseases : Theme: Drug Discovery, Development and Delivery in Alzheimer's Disease Guest Editor: Davide Brambilla. *Pharm Res.* 2017 Dec;34(12):2614–2627. doi: 10.1007/s11095-017-2199-y.
2. Li N, Zhou T, Fei E. Actions of Metformin in the Brain: A New Perspective of Metformin Treatments in Related Neurological Disorders. *Int J Mol Sci.* 2022 Jul 27;23(15):8281. doi: 10.3390/ijms23158281.
3. Alharbi I, Alharbi H, Almogbel Y, et al. Effect of Metformin on Doxorubicin-Induced Memory Dysfunction. *Brain Sci.* 2020 Mar 7;10(3):152. doi: 10.3390/brainsci10030152.
4. Ashrotaghi Z, Ganji F, Sepehri H. Effect of metformin on the spatial memory in aged rats. *National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology.* 2015;5(5):416–420. doi: 10.5455/njppp.2015.5.1208201564.
5. Zhang W, Zhao L, Zhang J, Li P, Lv Z. Metformin improves cognitive impairment in diabetic mice induced by a combination of streptozotocin and isoflurane anesthesia. *Bioengineered.* 2021 Dec;12(2):10982–10993. doi: 10.1080/21655979.2021.2004978.
6. Buldak Ł, Łabuzek K, Buldak RJ, et al. Metformin affects macrophages' phenotype and improves the activity of glutathione peroxidase, superoxide dismutase, catalase and decreases malondialdehyde concentration in a partially AMPK-independent manner in LPS-stimulated human monocytes/macrophages. *Pharmacol Rep.* 2014 Jun;66(3):418–29. doi: 10.1016/j.pharep.2013.11.008.
7. Fan J, Li D, Chen HS, et al. Metformin produces anxiolytic-like effects in rats by facilitating GABAA receptor trafficking to membrane. *Br J Pharmacol.* 2019 Jan;176(2):297–316. doi: 10.1111/bph.14519.
8. Порфирьева Н.Н., Семина И.И., Мустафин Р.И., Хуторянский В.В. Интраназальное введение как способ доставки лекарств в головной мозг (обзор). *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2021;10(4):117–127. [Porfiryeva NN, Semina II, Moustafine RI, Khutoryanskiy VV. Intranasal Administration as a Route to Deliver Drugs to the Brain (Review). *Drug development & registration.* 2021;10(4):117–127. (In Russ.)]. doi: 10.33380/2305-2066-2021-10-4-117-127.
9. Миронов А.Н., Бунятян Н.Д., Васильев А.Н. и др. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К, 2012. 944 с. [Mironov AN, Bunyatyan ND, Vasiliev AN, et al. Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part One. Moscow: Grif i K, 2012. (In Russ.)].
10. Семина И.И., Байчурина А.З., Никитин Д.О., и др. Поведенческая фармакология как основной подход в изучении эффективности потенциальных психотропных средств: анализ современных методов (обзор). *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2023;12(1):161–181. [Semina II, Baichurina AZ, Nikitin DO, et al. Behavioral Pharmacology as the Main Approach to Study the Efficiency of Potential Psychotropic Drugs: Analysis of Modern Methods (Review). *Drug development & registration.* 2023;12(1):161–181. (In Russ.)]. doi: 10.33380/2305-2066-2023-12-1-161-181.
11. Титович И.И., Радько С.В., Лисицкий Д.С., и др. Изучение влияния производного аминокэтанола на когнитивные функции лабораторных животных. *Биомедицина.* 2017;(3):102–110. [Titivich IA, Radko SV, Lisitskiy DS, et al. The study of the effect of the aminoethanol derivative on cognitive functions of laboratory animals. *Biomedicine.* 2017;(3):102–110. (In Russ.)].
12. Якимова Н.Л., Соседова Л.М. Дофамин-зависимое нарушение поведения белых крыс с интоксикацией сулемой в тесте экстраполяционного извлечения. *БЮЛЛЕТЕНЬ ВСНЦ СО РАМН.* 2013;1(89):130–133. [Yakimova NL, Sosedova LM. Dopamine-dependent disorder of conduct of albino rats with sublimate intoxication in the test of extrapolation deliverance. *Acta Biomedica Scientifica.* 2013;1(89):130–133. (In Russ.)].
13. Łabuzek K, Suchy D, Gabryel B, Bielecka A, Liber S, Okopień B. Quantification of metformin by the HPLC method in brain regions, cerebrospinal fluid and plasma of rats treated with lipopolysaccharide. *Pharmacol Rep.* 2010 Sep-Oct;62(5):956–65. doi: 10.1016/s1734-1140(10)70357-1.
14. Crowe TP, Greenlee MHW, Kanthasamy AG, Hsu WH. Mechanism of intranasal drug delivery directly to the brain. *Life Sci.* 2018 Feb 15;195:44–52. doi: 10.1016/j.lfs.2017.12.025.
15. Sharma G, Sharma AR, Lee SS, et al. Advances in nanocarriers enabled brain targeted drug delivery across blood brain barrier. *Int J Pharm.* 2019 Mar 25;559:360–372. doi: 10.1016/j.ijpharm.2019.01.056.
16. Kao HD, Traboulsi A, Itoh S, et al. Enhancement of the systemic and CNS specific delivery of L-dopa by the nasal administration of its water soluble prodrugs. *Pharm Res.* 2000 Aug;17(8):978–84. doi: 10.1023/a:1007583422634.
17. Хафизова А.З., Семина И.И., Никитин Д.О., и др. Перспективы применения противодиабетического средства метформина как способ замедления биологического старения и возраст-ассоциированных заболеваний. *Казанский медицинский журнал.* 2025;106(1):105–116. [Hafizova AZ, Semina II, Nikitin DO, et al. Perspectives for the use of the antidiabetic drug metformin as a strategy to slow biological aging and age-related diseases. *Kazan medical journal.* 2025;106(1):105–116. (In Russ.)]. doi: 10.17816/KMJ382686.



Исследование антипаркинсонической активности комбинации ладастена с фабототизолом на модели паракват-индуцированного паркинсонического синдрома

Мариевский В. Е., Любанский И. А., Шангин С. В., Зайнуллина Л. Ф., Дорофеев В. Л.

ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»,
Москва, Российская Федерация

Аннотация

Актуальность. Болезнь Паркинсона (БП) — нейродегенеративное заболевание, характеризующееся двигательными нарушениями. Используемая в настоящее время противопаркинсоническая фармакотерапия, несмотря на симптоматическое улучшение пациентов, сопряжена с выраженными побочными эффектами. Комбинация субстанций ладастена с фабототизолом может обладать потенциальным нейропротекторным эффектом в условиях нейродегенерации, наблюдаемой при БП, благодаря своему мультитаргетному механизму действия.

Цель работы. Изучение потенциальной антипаркинсонической активности комбинации субстанций ладастена с фабототизолом на модели паракват-индуцированного паркинсонического синдрома (ПС).

Методы. ПС моделировали внутрибрюшинным введением мышам линии C57Bl/6 параквата (10 мг/кг) 1 раз каждые 3–4 дня на протяжении 21 дня. Животные были разделены на 4 группы: 1) пассивный контроль, 2) активный контроль, 3) комбинация ладастен + фабототизол, 4) леводопы. Животные были протестированы в батарее поведенческих тестов на каждой неделе эксперимента.

Результаты. Комбинация субстанций ладастена с фабототизолом успешно устраняла все проявления ПС в батарее поведенческих тестов, причём наиболее выраженная разница по сравнению с активным контролем в большинстве тестов была обнаружена на 3-й неделе эксперимента. Так, на фоне данной комбинации время удержания в тесте «вращающийся стержень» было выше в 2,38 ($p < 0,0001$) и в 1,5 раза ($p < 0,01$) при постоянной и нарастающей скорости, время поворота и спуска в тесте «вертикальный стержень» сократилось в 1,4 ($p < 0,05$) и 1,53 раза ($p < 0,001$).

Заключение. Комбинация ладастена с фабототизолом снижала выраженность ПС, моделируемого внутрибрюшинным введением параквата, в батарее поведенческих тестов, при этом сопоставимо с эффектами леводопы.

Ключевые слова: паркинсонический синдром; ладастен; фабототизол; моторный дефицит; паракват; брадикинезия; ригидность; мыши C57Bl/6

Для цитирования:

Мариевский В. Е., Любанский И. А., Шангин С. В., Зайнуллина Л. Ф., Дорофеев В. Л. Исследование антипаркинсонической активности комбинации ладастена с фабототизолом на модели паракват-индуцированного паркинсонического синдрома. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2025;(1):43–52. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2025-1-43-52>. EDN: JGKWSH

Поступила: 04.02.2025. В доработанном виде: 05.03.2025. Принята к печати: 21.03.2025. Опубликовано: 31.03.2025.

The study of antiparkinsonian activity of the combination of ladasten with fabomotizole in paraquat-induced model of parkinsonian syndrome

Valentin E. Marievskii, Ivan A. Lyubanskii, Stanislav V. Shangin, Liana F. Zainullina, Vladimir L. Dorofeev

Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation

Abstract

Relevance. Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative disease characterized by motor impairments. The currently used antiparkinsonian pharmacotherapy, despite the symptomatic improvement of patients, is associated with severe side effects. The combination of ladasten with fabomotizole may have a potential neuroprotective effect in the neurodegeneration conditions observed in PD, due to its multitargeting action.

Objective. The study explores the potential antiparkinsonian activity of a combination of ladasten and fabomotizole in paraquat-induced model of parkinsonian syndrome (PS).

Methods. PS was modeled by intraperitoneal administration of paraquat (10 mg/kg) 1 time every 3–4 days for 21 days. The C57Bl/6 mice were divided into 4 groups: 1) passive control, 2) active control, 3) ladasten + fabomotizole combination, 4) levodopa. The animals were tested in the battery of behavioral tests each week of the experiment.

Results. The combination of ladasten with fabomotizole successfully treated all manifestations of PS in the battery of behavioral tests, and the greatest difference compared with the active control was found in most tests on the 3rd week of the experiment. Thus, the combination increased latency to fall in the «rotarod test» by 2,38 ($p < 0.0001$) and 1.5 times ($p < 0.01$) at fixed and accelerating speed, decreased the turning and descent time in the «pole test» by 1.4 ($p < 0.05$) and 1.53 times ($p < 0.001$).

Conclusion. The combination of ladasten with fabomotizole reduced the severity of paraquat-induced PS in the battery of behavioral tests, and it was comparable with the effects of levodopa.

Keywords: parkinsonian syndrome; ladasten; fabomotizole; motor deficit; paraquat; bradykinesia; rigidity; C57Bl/6 mice

For citations:

Marievskii VE, Lyubanskii IA, Shangin SV, Zainullina LF, Dorofeev VL. The study of antiparkinsonian activity of the combination of ladasten with fabomotizole in paraquat-induced model of parkinsonian syndrome. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2025;(1):43–52. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2025-1-43-52>. EDN: JGKWSH

Received: 04.02.2025. Revision received: 05.03.2025. Accepted: 21.03.2025. Published: 31.03.2025.

Введение / Introduction

Болезнь Паркинсона (БП) является одним из наиболее распространённых нейродегенеративных заболеваний, частота заболеваемости которым неуклонно повышается. По оценкам, основанным на предоставлении медицинских услуг, заболеваемость БП колеблется от 5/100000 до более чем 35/100000 новых случаев в год [1]. Несмотря на то что средний возраст пациентов с БП составляет 60 лет, 5 % заболеваемости приходится на 40 лет [2], причём наблюдается тенденция к «омоложению» болезни [3] и снижению возраста начала манифестации симптомов. Особенностью паркинсонизма является наличие выраженных клинических симптомов, которые в первую очередь проявляются двигательными нарушениями, например, тремором рук, брадикинезией, мышечной ригидностью, постуральной неустойчивостью [4, 5]. Однако зачастую присутствуют и немоторные проявления, например, резкое изменение настроения, нарушение сна, апатия, тревожность, депрессия и др. [6]. БП является мультифакторным заболеванием, однако среди основных звеньев патогенеза можно выделить агрегацию α -синуклеина в виде нерастворимых клеточных включений — телец Леви, что приводит к избирательной гибели дофаминергических нейронов чёрной субстанции (ЧС) [7], а также взаимосвязанную с накоплением альфа-синуклеина митохондриальную дисфункцию, приводящую в итоге к митофагии [8], нарушению в работе убиквитин-протеасомной системы [9] и индуцированию нейровоспаления [10]. Важно отметить, что диагностика БП крайне затруднена ввиду отсутствия специфических инструментальных методов подтверждения, поэтому диагноз ставится клинически в зависимости от наличия характерных двигательных проявлений [11].

В настоящее время фармакотерапия БП носит патогенетический и симптоматический характер, поскольку ещё не существует этиологического лечения. В качестве наиболее эффективных лекарственных средств (ЛС) используется леводопа в сочетании с агонистами дофаминовых рецепторов, что позволяет отсрочить срок наступления леводопа-ассоциированных дискинезий в первые 3–5 лет [12]. Несмотря на это, имеется высокий риск развития двигательных осложнений, таких как дискинезии и моторные флуктуации на фоне приёма леводопы, а также нейропсихические осложнения (тошнота, расстройства сна и др.) на фоне агонистов дофаминовых рецепторов [13]. Помимо вышеуказанных препаратов, используются также производные адамантана, ингибиторы МАО-Б и КОМТ, однако их эффективность менее выражена, в связи с чем данные ЛС назначаются при стартовой терапии БП [14]. Таким образом, поиск новых эффективных и хорошо переносимых противопаркинсонических препаратов остаётся актуальным.

Ладастен (N-(2-адамантил)-N-(2-п-бромфенил) амин), являющийся производным адамантана, и фабомотизол (5-этокси-2-[2-(морфолино)-этилтио] бензимидазола дигидрохлорида) были синтезированы и фармакологически охарактеризованы в ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» и являются потенциальными нейропротекторными препаратами. Так, ладастен показал себя в качестве дофамин-позитивного средства на интактных крысах, причём способным усиливать биосинтез дофамина (ДА) *de novo* в дофаминергических структурах головного мозга [15]. Фабомотизол, в свою очередь, способен оказывать нейропротекторное действие в моделях паркинсонического синдрома (ПС) у мышей, восстанавливая содержание ДА в стриатуме и улучшая двигательную активность животных [16]. Учитывая вышеизложенные свойства данных препаратов, можно предположить синергичное нейропротекторное действие в условиях нейродегенерации при их комбинировании, причём с «неистошающим» пул ДА принципом воздействия.

Таким образом, целью работы является изучение потенциальной антипаркинсонической активности комбинации ладастена с фабомотизолом на модели паракват-индуцированного ПС.

Материалы и методы / Materials and methods

Животные / Animals. Исследование выполнено на 24 мышах-самцах линии C57Bl/6 массой 21–24 г (питомник филиала «Столбовая» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства», Московская область). Животных содержали в условиях вивария при 20–22 °С, относительной влажности 30–70 % и 12-часовом световом цикле в пластиковых клетках по 6 особей. Мыши имели свободный доступ к воде и корму.

Все экспериментальные процедуры были одобрены комитетом по биоэтике ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий». Все процедуры с лабораторными животными выполнялись в соответствии с российскими и международными документами: Решением Совета ЕЭК №81 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств» от 03.11.2016, ГОСТом 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики» от 20.11.2014 и Рекомендацией Коллегии ЕЭК от 14.11.2023 № 33 «О Руководстве по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении Доклинических (неклинических) исследований».

Дизайн эксперимента / Experiment design. Общая продолжительность эксперимента составила 21 день. В данном исследовании использовалась методи-

ка воспроизведения ПС при длительном внутрибрюшинном введении параквата (1,1-диметил,4,4-дипиридил хлорид, PQ) [17].

PQ растворялся в физиологическом растворе NaCl 0,9 % (физ. р-р) и вводился внутрибрюшинно (в/б) в дозе 10 мг/кг на 1-, 5-, 8-, 12-, 15-, 19-й дни эксперимента. С первого дня исследования животным вводили перорально (п/о) плацебо (раствор твин-80 в воде) (группа активный контроль), комбинацию ладастена (50 мг/кг) с фабототизолом (10 мг/кг) и леводопу (50 мг/кг) (рис. 1). Выбранные дозы комбинации хорошо показали себя в устранении различных проявлений ПС на унилатеральной 6-OHDA модели заболевания [18]. Мышам группы пассивного контроля вводили физ. р-р аналогичным с паракватом образом и плацебо (п/о).

Таким образом, мыши случайно были разделены на 4 группы (см. рис. 1):

- 1) пассивный контроль (физ. р-р в/б + плацебо п/о) ($n = 6$);
- 2) активный контроль (PQ 10 мг/кг в/б + плацебо п/о) ($n = 6$);
- 3) комбинация ладастена с фабототизолом (PQ 10 мг/кг в/б + ладастен (50 мг/кг) п/о и фабототизол (10 мг/кг) п/о) ($n = 6$);
- 4) леводопы (PQ 10 мг/кг в/б + леводопы 50 мг/кг п/о) ($n = 6$).

Тест «вращающийся стержень». Тестирование проводилось на установке «Ротарод» (ООО «Нейроботикс», Москва) с диаметром стержня 4 см на 6-, 13- и 20-й дни эксперимента. Мышей адаптировали к установке посредством обучающей сессии за

день до проведения тестовой сессии. В обучающей сессии каждое животное дважды помещалось на стержень со скоростью вращения 10 оборотов в минуту, при этом с перерывом не менее 60 минут между попытками. Если мыши держались на стержне меньше 1 минуты в какой-либо из сессий, то они признавались малоподвижными и исключались из эксперимента. Тестовая сессия проводилась в двух режимах вращения стержня: при постоянной скорости вращения (20 оборотов/мин) и при нарастающей скорости вращения (от 4 до 30 оборотов/мин) [16]. Время пребывания животных на установке фиксировалось с момента помещения мыши на стержень до её падения, при этом мышам давалось 3 попытки для каждого тестового режима с перерывом в 30 минут. По окончании тестирования использовали максимальное время удержания мышей в каждом варианте теста из всех попыток.

Тест «вертикальный стержень». Тестирование проводилось на 7-, 14- и 21-й дни. Установка «вертикальный стержень» представляет собой металлический стержень (высота 50 см, диаметр 1 см), обёрнутый бинтом с пробковым набалдашником диаметром 1,5 см. Стержень плотно прикреплен к металлической подставке и помещён в клетку с опилками. Мыши помещались на верхнюю часть стержня таким образом, чтобы они располагались мордочками вверх. Затем фиксировалось время, которое требовалось животному для того, чтобы сориентироваться — повернуть голову вниз и спуститься по стержню. Всего предъявлялось по 5 проб в день тестирования. По полученным данным высчитывали среднее значение



Рис. 1. Дизайн эксперимента
Fig. 1. Design of experiment

из всех попыток для каждого параметра (поворота и спуска). За день до тестирования мышей адаптировали к установке, также предъявляя по 5 проб в день [19]. Максимальное время тестирования составляло 60 секунд [20].

Тест «длина шага». Тестирование проводилось на 7-, 14- и 21-й дни и осуществлялось в узком коридоре из акрилового стекла (высота 8 см, ширина 4 см) (ООО «НПК Открытая Наука», Красногорск), соединённого с чёрным приёмным боксом, под который был подложен лист белой бумаги. Лапки мышей окрашивали гуашью (передние лапы красили красным цветом, задние — синим) [21], после чего сразу же запускали мышь в коридор. Перед проведением тестирования мышам давали освоиться в коридоре и приёмном боксе с целью избежания поворачивания или прекращения прохода в установку. По окончании тестирования измеряли длину шага между передними и задними лапами. Вычисляли среднее между каждым шагом с обеих сторон, при этом не учитывались самые первые и самые последние шаги, совершённые животным [21].

Статистическая обработка экспериментальных данных / Statistical processing of experimental data. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы GraphPad Prism 8.4.3. Нормальность распределения проверяли при помощи критерия Шапиро—Уилка. Использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с множественным сравнением по Даннети.

Результаты / Results

Согласно результатам теста «вращающийся стержень» был зафиксирован моторный дефицит у мышей группы активного контроля на протяжении всех 3 недель эксперимента. Так, время удержания активного контроля на 1-й неделе (после двух инъекций PQ) в тесте «вращающийся стержень» при постоянной скорости вращения достоверно уменьшалось в 1,8 раза ($p < 0,001$), а при нарастающей — в 1,5 раза ($p < 0,01$) по сравнению с пассивным контролем (рис. 2А, Б). На 2-й экспериментальной неделе (после четырёх инъекций PQ) было отмечено сохранение ухудшения двигательной активности и координации движений в обоих режимах тестирования, однако более выражено снизилось время удержания в режиме вращения при постоянной скорости, а именно в 2,8 раза ($p < 0,0001$) по сравнению с пассивным контролем, а при нарастающей скорости время удержания было ниже в 1,4 раза ($p < 0,001$). На 3-й неделе исследования (после шести инъекций PQ) у группы активного контроля наблюдалось сохранение ухудшения координации движений мышей при постоянной скорости вращения (снижение в 2,5 раза по сравнению с пассивным

контролем ($p < 0,0001$), а также ещё большее ухудшение в способности удерживаться при нарастающей скорости по сравнению со 2-й неделей (снижение времени удержания в 1,7 раза по сравнению с пассивным контролем ($p < 0,001$)). Таким образом, на протяжении 3 недель эксперимента зафиксировано достоверное снижение двигательной активности и способности сохранять координацию движения у активного контроля.

Комбинация ладастена с фабомотизолом способствовала устранению моторного дефицита, причём с возрастанием эффективности на протяжении всех 3 недель эксперимента. Так, время удержания в тесте «вращающийся стержень» на 1-й неделе было достоверно выше в 1,8 раз ($p < 0,001$) при постоянной скорости вращения по сравнению с активным контролем, а на 2- и 3-й неделе время удержания было выше в 2,57 раза ($p < 0,0001$) и в 2,38 раза ($p < 0,0001$), соответственно (рис. 2А). При этом на фоне введения леводопы у мышей наблюдалось достоверное улучшение в способности удерживаться на вращающиеся с постоянной скоростью стержне в 1,6 раза ($p < 0,01$) на 1-й неделе, в 2,68 раза ($p < 0,0001$) — на 2-й неделе и в 2,3 раза ($p < 0,001$) — на 3-й неделе по сравнению с активным контролем, причём время удержания данной группы было сопоставимо с таковым для группы ладастена + фабомотизол (см. рис. 2А). Сходным образом было выявлено улучшение двигательной активности и способности сохранять координацию движений по сравнению с активным контролем в варианте тестирования при нарастающей скорости вращения на фоне введения комбинации ладастена с фабомотизолом и в группе с введением леводопы. Животные, получавшие комбинацию ладастена с фабомотизолом, удерживались на стержне в данном режиме работы в 1,5 раза ($p < 0,01$), в 1,23 раза ($p < 0,01$) и в 1,5 раза ($p < 0,01$) дольше по сравнению с активным контролем на 1-, 2- и 3-й неделе, соответственно (рис. 2Б). У экспериментальной группы, получавшей леводопу, наблюдалось улучшение двигательной активности на протяжении всех 3 недель эксперимента, а время удержания мышей в этом режиме было сопоставимо с таковым для группы, получавшей комбинацию ладастена с фабомотизолом (см. рис. 2Б).

В данной модели паракват-индуцированного паркинсонизма брадикинезия, проявляющаяся в виде замедленных действий животных на «вертикальном стержне», развилась только ко 2-й неделе эксперимента у активного контроля, поскольку на 1-й неделе не было обнаружено достоверных различий по времени поворота и спуска с установки у данной группы. Причём достоверные различия между контролями наблюдались только по времени спуска на 2-й неделе исследования, поскольку данный показатель был в 1,3 раза больше у группы

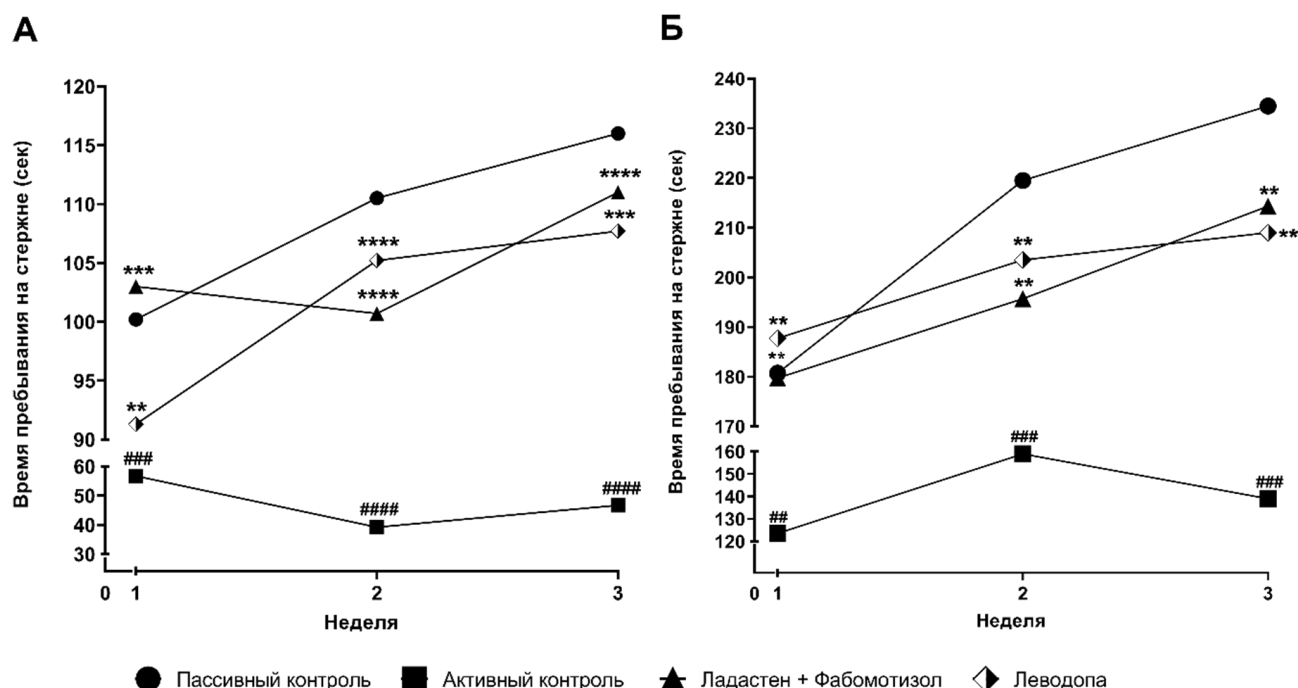


Рис. 2. Влияние комбинации ладастена с фабомотизолом на двигательную активность в тесте «вращающийся стержень» при постоянной (А) и нарастающей скорости (Б)

Fig. 2. The effect of the combination of ladasten and fabomotizole on motor activity in the «rotarod» test at fixed (A) and accelerating speed (B)

Примечания: Данные представлены в виде медианы: #### — $p < 0,0001$, ### — $p < 0,001$, ## — $p < 0,01$ — статистически значимые различия по сравнению с группой пассивного контроля (однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с множественным сравнением по Даннетту); **** — $p < 0,0001$, *** — $p < 0,001$, ** — $p < 0,01$ — статистически значимые различия с группой активного контроля (однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с множественным сравнением по Даннетту).

Notes: The data are presented as medians: #### — $p < 0.0001$, ### — $p < 0.001$, ## — $p < 0.01$ — statistically significant differences compared with the passive control group (one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Dunnett's post-hoc test); **** — $p < 0.0001$, *** — $p < 0.001$, ** — $p < 0.01$ — statistically significant differences with the active control group (one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Dunnett's post-hoc test).

активного контроля ($p < 0,05$) (рис. 3Б). К 3-й неделе эксперимента уже наблюдалось выраженное развитие брадикинезии, поскольку время поворота и спуска животных группы активного контроля достоверно превышало в 1,5 раза ($p < 0,01$) и 1,75 раза ($p < 0,0001$), соответственно, данные показатели группы пассивного контроля (см. рис. 3А и Б).

Вводимые субстанции значительно улучшали способность мышей ориентироваться на стержне, притом, что эффективность комбинации ладастена с фабомотизолом вновь была сопоставима с эффектами леводопы и даже несколько превосходила их. Так, на 3-й неделе исследования время поворота и спуска сократилось в 1,4 раза ($p < 0,05$) и 1,53 раза ($p < 0,001$) на фоне комбинации, в то время как на фоне леводопы достоверно сокращалось лишь время спуска в 1,4 раза ($p < 0,01$) по сравнению с активным контролем (рис. 3А, Б). На 2-й неделе эксперимента комбинация ладастена с фабомотизолом и группа с введением леводопы достоверно сокращали лишь время спуска в 1,2 раза ($p < 0,05$) и в 1,25 раза ($p < 0,05$), соответственно, по сравнению с активным контролем (см. рис. 3Б).

В тесте «длина шага» зафиксировано развитие экстрапирамидной ригидности животных группы активного контроля, проявляющейся в виде сокращения длины шагов передних и задних лап. Шаговая ригидность была установлена уже на 1-й неделе исследования, поскольку длина шага передних и задних лап у активного контроля была достоверно ниже на 1,5 см (18,3 %) ($p < 0,01$) и на 1,7 см (21,5 %) ($p < 0,001$) по сравнению с пассивным контролем (рис. 4А, Б). Далее наблюдалось небольшое увеличение длины шага передних и задних лап у активного контроля на 2-й неделе исследования, переходящее в резкое снижение данного показателя на 3-й неделе. Так, на 3-й неделе эксперимента зафиксировано достоверное снижение у группы активного контроля длины шага передних и задних лап на 1,05 см (13,3 %) ($p < 0,01$) и на 1,2 см (14,9 %) ($p < 0,01$) по сравнению с пассивным контролем (см. рис. 4А, Б).

Изучаемые субстанции снижали выраженность экстрапирамидной ригидности мышей, увеличивая длину шага до значений, сопоставимых с таковыми у группы пассивного контроля. На 1-й неделе эксперимента установлено достоверное увеличение

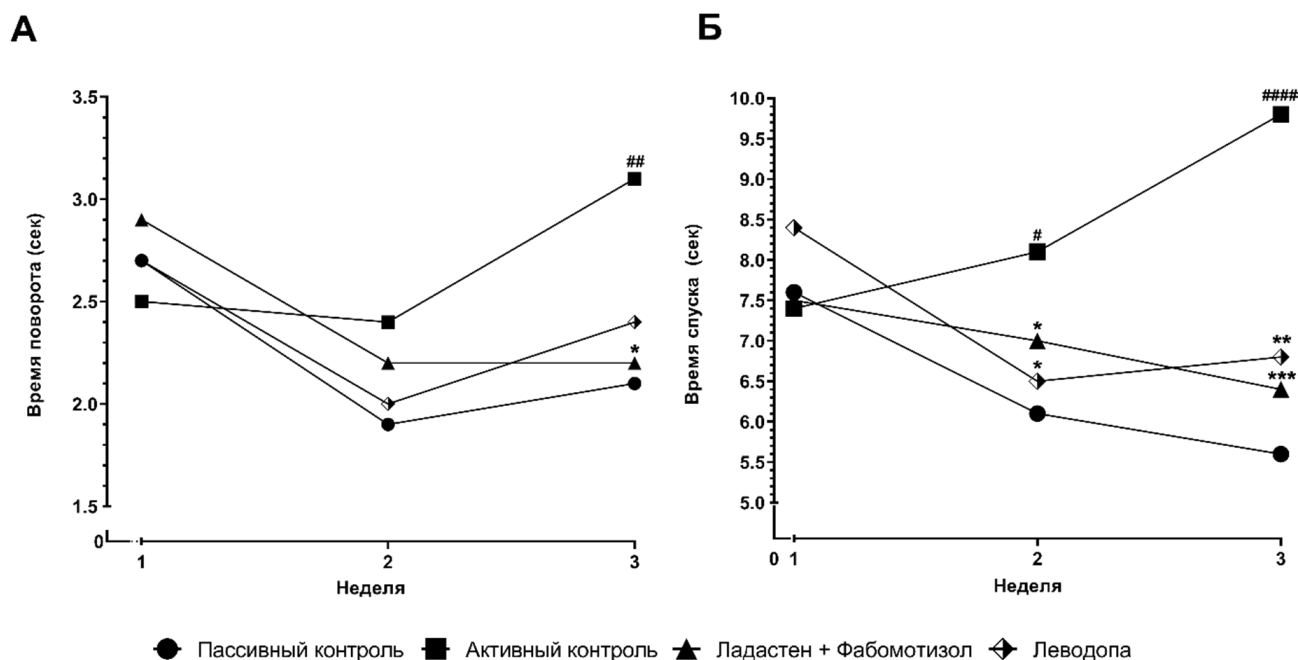


Рис. 3. Влияние комбинации ладастена с фабомотизолом на выраженность брадикинезии в тесте «вертикальный стержень» во время поворота (А) и спуска (Б) со стержня

Fig. 3. The effect of the combination of ladasten and fabomotizole on the severity of bradykinesia in the «pole test» during orientation downward (A) and descent (B) from the pole

Примечания: Данные представлены в виде медианы: #### — $p < 0.0001$, ## — $p < 0.01$, # — $p < 0.05$ — статистически значимые различия по сравнению с группой пассивного контроля (однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с множественным сравнением по Даннетту); *** — $p < 0.001$, ** — $p < 0.01$, * — $p < 0.05$ — статистически значимые различия с группой активный контроль (однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с множественным сравнением по Даннетту).

Notes: The data are presented as medians: #### — $p < 0.0001$, ## — $p < 0.01$, # — $p < 0.05$ — statistically significant differences compared with the passive control group (one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Dunnett's post-hoc test); *** — $p < 0.001$, ** — $p < 0.01$, * — $p < 0.05$ — statistically significant differences with the active control group (one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Dunnett's post-hoc test).

длины шага передних и задних лап на 1,1 см (16,4 %) ($p < 0,01$) и на 1,5 см (24,2 %) ($p < 0,001$) под действием комбинации ладастена с фабомотизолом по сравнению с активным контролем, в то время как на 2-й — на 1,1 см (15,5 %) ($p < 0,05$) и на 0,7 см (9,6 %) ($p < 0,05$), соответственно, а 3-й неделе длина между передними и задними лапами увеличивалась на 0,85 см (12,4 %) ($p < 0,05$) (рис. 4А, Б). Эффективность леводопы была сопоставима с комбинацией ладастена с фабомотизолом, однако наибольшая эффективность по всем исследуемым показателям наблюдалась только на 3-й неделе эксперимента, поскольку длина шага передних и задних лап превышала на 1 см (14,6 %) ($p < 0,05$) и на 1,45 см (21,2 %) ($p < 0,01$) длину шага группы активного контроля (см. рис. 4А, Б).

Обсуждение / Discussion

В данном исследовании была использована модель паракват-индуцированного паркинсонизма, предполагающая развитие двигательных нарушений на фоне потери дофаминергических нейронов ЧС

[22, 23]. PQ является пестицидом, который может выступать этиологическим фактором риска развития БП из внешней среды [24]. Однако в данный момент нет консенсуса по поводу этого предположения ввиду отсутствия однозначных доказательств развития БП после контакта человека с паракватом из-за ещё довольно ограниченных эпидемиологических данных [25]. Тем не менее на различных экспериментальных моделях, в том числе на мышиных, PQ широко используется для создания различных патологических проявлений БП [26]. PQ имеет структурное сходство с МПП + (активным метаболитом хорошо известного токсина для моделирования ПС — МФТП), но, несмотря на это, опровергается роль переносчика ДА DAT в транспорте пестицида через гематоэнцефалический барьер [27]. В настоящее время считается, что PQ попадает в нейроны за счёт ионного обмена с отдачей хлорид-ионов, а затем переносится через мембраны с помощью нейтрального переносчика аминокислот [28]. Далее PQ окисляется НАДФ-зависимой редуктазой, что приводит к образованию свободного радикала и дальнейшему формированию супероксид радикала и пероксида водорода.

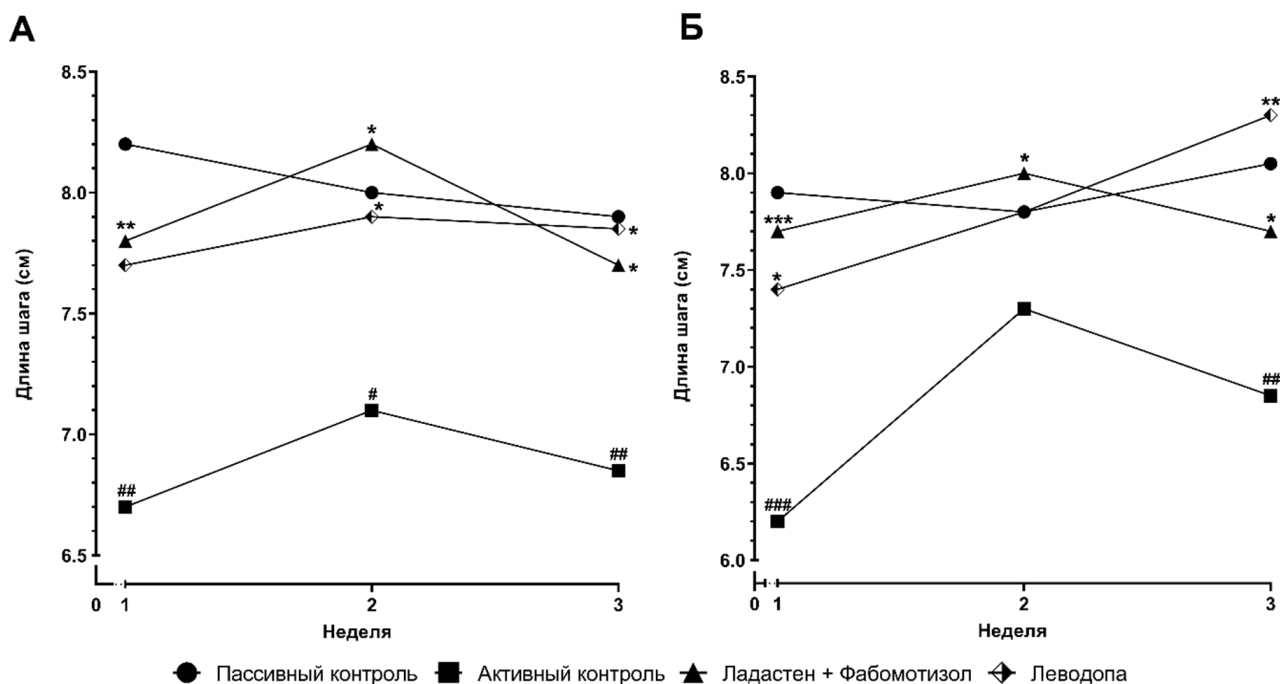


Рис. 4. Влияние комбинации ладастена с фаботизолом на выраженность экстрапирамидной ригидности в тесте «длина шага» передних (А) и задних (Б) лап

Fig. 4. The effect of the combination of ladasten and fabomotizole on the severity of extrapyramidal rigidity in the «stride length test» of forelimbs (A) and hindlimbs (B)

Примечания: Данные представлены в виде медианы: ### — $p < 0.001$, ## — $p < 0.01$, # — $p < 0.05$ — статистически значимые различия по сравнению с группой пассивного контроля (однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с множественным сравнением по Даннетту); *** — $p < 0.001$, ** — $p < 0.01$, * — $p < 0.05$ — статистически значимые различия с группой активный контроль (однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с множественным сравнением по Даннетту).

Notes: The data are presented as medians: ### — $p < 0.001$, ## — $p < 0.01$, # — $p < 0.05$ — statistically significant differences compared with the passive control group (one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Dunnett's post-hoc test); *** — $p < 0.001$, ** — $p < 0.01$, * — $p < 0.05$ — statistically significant differences with the active control group (one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Dunnett's post-hoc test).

Последний, гидролизуясь, приводит к образованию свободных форм кислорода, которые взаимодействуют с липидной мембраной, вызывая перекисное окисление липидов и гибель нейронов [29]. Кроме того, RQ может вызывать накопление α -синуклеина и дегенерацию дофаминовых нейронов в чёрной субстанции [30], и, более того, подавлять аутофагию, конкурентно нарушая формирование комплекса между амфотерином (HMGB1) и Beclin1 [31]. Таким образом, учитывая патофизиологический профиль RQ, он может быть использован в качестве индуктора экспериментального ПС.

Использованные в работе поведенческие тесты позволяют комплексно оценить развитие различных проявлений ПС, которые отражают диагностически важные симптомы БП. Тест «вращающийся стержень» выявил развитие моторного дефицита и нарушение в координации движений у группы активного контроля при тестировании в режиме постоянной и нарастающей скорости вращения стержня, что согласуется с характерным повреждением дофаминергической системы. Брадикинезия, зафиксированная в тесте «вертикальный стержень»,

и мышечная ригидность в тесте «длина шага» у группы активного контроля также позволяют сделать вывод о развитии нейродегенеративных изменений. Причём все вышеперечисленные проявления были зафиксированы во всех тестах на 3-й неделе эксперимента, однако уже могли наблюдаться почти на каждой неделе исследования, как в случае теста «вращающийся стержень», что может быть обусловлено его высокой чувствительностью при оценке двигательных нарушений ввиду морфологических и функциональных изменений нигростриатного пути [32]. Учитывая, что RQ оказывает системное воздействие, в том числе токсическое влияние на лёгкие [33], а значит, может повлиять на результаты поведенческих испытаний, появляется необходимость оценить, может ли леводоп облегчить двигательный дефицит по аналогии с другими моделями ПС, например, индуцированными МФТП и 6-гидроксидофамином (6-OHDA). Во всех поведенческих тестах было показано успешное устранение различных проявлений на фоне введения леводопы, что является подтверждением повреждения нигростриатального пути в данной модели ПС.

Комбинированное введение ладастена с фаботизолом успешно снижало выраженность всех проявлений ПС, причём по эффективности было сопоставимо с леводопой. Наличие подобной противопаркинсонической активности предположительно можно обосновать комплексным действием вводимых ЛС. Ладастен обладает выраженным дофамин-позитивным воздействием, что было продемонстрировано в ряде экспериментов на интактных крысах [15, 34, 35]. Обобщая данные этих исследований, можно заключить, что ладастен способен стимулировать синтез ДА *de novo*, снижать его обратный захват и ускорять его метаболизм. Помимо прямого влияния на дофаминергическую систему, ладастен повышает активность различных протеинкиназ и МАРК-зависимых киназ ERK1/ERK2 [15], что также может лежать в основе фосфорилирования тирозин-гидроксилазы и, в итоге, приводить к увеличению уровня ДА. Фаботизол, в свою очередь, является лигандным активатором Sigma1-рецептора [16], который представляет собой белок-шаперон и вовлечён в обеспечение нейропротекторного действия при БП. Ранее было показано, что фаботизол может оказывать нейропротекторное влияние на модели 6-ОНДА-индуцированного паркинсонизма, вероятно за счёт лигандной активации Sigma1-рецептора [16]. Также подобное действие фаботизола может быть объяснено ингибированием хинонредуктазы 2 (NQO2), что также было продемонстрировано в той же модели ПС [36]. Нейропротекторные эффекты фаботизола были доказаны и на других моделях, приводящих к повреждению нейронов [37, 38]. Кро-

ме того, ранее нами было установлено эффективное устранение различных проявлений ПС на фоне введения комбинации ладастена с фаботизолом на унилатеральной 6-ОНДА модели [18]. Учитывая отличия паракват-индуцированного паркинсонизма от 6-ОНДА в связи с более выраженным системным воздействием (способность проникать через гемато-энцефалический барьер без прямого введения в структуры головного мозга, а также поражать лёгкие и почки), можно сделать вывод о наличии нейропротекторного эффекта данной комбинации в других условиях, также приводящих к нейродегенерации.

Таким образом, учитывая вышеперечисленные эффекты ладастена и фаботизола по отдельности, можно заключить, что наблюдаемое устранение различных проявлений ПС в использованной модели может быть обусловлено комплексным дофамин-позитивным и нейропротекторным действием.

Заключение / Conclusion

В проведённом исследовании была использована модель паракват-индуцированного паркинсонизма, приводящего к развитию различных двигательных проявления ПС. Пероральное введение комбинации субстанций ладастена с фаботизолом снижало выраженность всех подобных проявлений, в том числе моторного дефицита и нарушенной координации движений, брадикинезии и экстрапирамидной ригидности. Стоит также отметить, что эффективность данной комбинации была сопоставима с таковой у леводопы.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов

Мариевский В. Е. — проведение экспериментов, анализ и обработка полученных результатов, написание текста статьи; *Любанский И. А.* — проведение экспериментов, обработка полученных результатов, написание текста статьи; *Шангин С. В.* — участие в проведении экспериментов; *Зайнуллина Л. Ф.* — анализ полученных результатов, написание текста статьи; *Дорофеев В. Л.* — консультация при написании текста статьи.

Финансирование

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № FGFG-2025-0004.

ADDITIONAL INFORMATION

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interest..

Authors' participation

Marievskii VE — conducting experiments, processing the results obtained, writing article's text; *Lubanskii IA* — conducting experiments, processing the results obtained, writing article's text; *Shangin SV* — participation in conducting experiments; *Zainullina LF* — analysis of the data obtained, writing article's text; *Dorofeev VL* — consultation when writing article's text.

Funding

This work was conducted under the government contracts of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Project FGFG-2025-0004).

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Мариевский Валентин Евгеньевич — м. н. с. лаборатории молекулярной фармакологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
Автор, ответственный за переписку
e-mail: marievskii@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8946-2989>
РИНЦ SPIN-код: 2760-7297

Valentin E. Marievskii — Junior Researcher at the Laboratory of Molecular Pharmacology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
Corresponding autor
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8946-2989>
RSCI SPIN code: 2760-7297

Любанский Иван Алексеевич — лаборант-исследователь лаборатории молекулярной фармакологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0000-1412-0060>

Ivan A. Lyubanskii — laboratory assistant-researcher of Laboratory of Molecular Pharmacology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0000-1412-0060>

Шангин Станислав Владимирович — м. н. с. лаборатории молекулярной фармакологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1065-8899>
РИНЦ SPIN-код: 6105-1054

Stanislav V. Shangin — Junior Researcher of Laboratory of Molecular Pharmacology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1065-8899>
RSCI SPIN code: 6105-1054

Зайнуллина Лиана Фанзилевна — к. б. н., заведующий лаборатории молекулярной фармакологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1019-9677>

Liana F. Zainullina — PhD, Cand. Sci. (Biology), Head of laboratory of molecular pharmacology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1019-9677>

Дорофеев Владимир Львович — д. фарм. н., профессор, и/о генерального директора ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0004-3584-3742>

Vladimir L. Dorofeev — PhD, Dr. Sci. (Pharm), Professor, Acting General Director of Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0004-3584>

Список литературы / References

1. Simon DK, Tanner CM, Brundin P. Parkinson Disease Epidemiology, Pathology, Genetics, and Pathophysiology. *Clin Geriatr Med*. 2020 Feb;36(1):1-12. doi: 10.1016/j.cger.2019.08.002.
2. Евтушенко С.К., Головченко Ю.И., Труфанов Е.А. Болезнь Паркинсона и паркинсонические синдромы (лекция). *Международный неврологический журнал*. 2014;4(66):16-31. [Yevtushenko SK, Golovchenko YuI, Trufanov YeA. Parkinson's disease and Parkinsonian syndromes (lecture). *International Neurological Journal*. 2014;4(66):16-31. (In Russ.)].

3. Иллариошкин С.Н. Современные подходы к лечению болезни Паркинсона. *Нервные болезни*. 2004;(4):14-21. [Illarioshkin SN. Modern approaches to the treatment of Parkinson's disease. *Nervous Diseases*. 2004;(4):14-21. (In Russ.)].
4. Tolosa E, Garrido A, Scholz SW, Poewe W. Challenges in the diagnosis of Parkinson's disease. *Lancet Neurol*. 2021 May;20(5):385-397. doi: 10.1016/S1474-4422(21)00030-2.
5. Poewe W, Seppi K, Tanner CM, et al. Parkinson disease. *Nat Rev Dis Primers*. 2017 Mar 23;3:17013. doi: 10.1038/nrdp.2017.13.

6. Goldman JG, Sieg E. Cognitive Impairment and Dementia in Parkinson Disease. *Clin Geriatr Med*. 2020 May;36(2):365-377. doi: 10.1016/j.cger.2020.01.001.
7. Ingelsson M. Alpha-Synuclein Oligomers-Neurotoxic Molecules in Parkinson's Disease and Other Lewy Body Disorders. *Front Neurosci*. 2016 Sep 5;10:408. doi: 10.3389/fnins.2016.00408.
8. Vekrellis K, Xilouri M, Emmanouilidou E, et al. Pathological roles of α -synuclein in neurological disorders. *Lancet Neurol*. 2011 Nov;10(11):1015-25. doi: 10.1016/S1474-4422(11)70213-7.
9. Bi M, Du X, Jiao Q, et al. Expanding the role of proteasome homeostasis in Parkinson's disease: beyond protein breakdown. *Cell Death Dis*. 2021 Feb 4;12(2):154. doi: 10.1038/s41419-021-03441-0.
10. Troncoso-Escudero P, Parra A, Nassif M, Vidal RL. Outside in: Unraveling the Role of Neuroinflammation in the Progression of Parkinson's Disease. *Front Neurol*. 2018 Oct 15;9:860. doi: 10.3389/fneur.2018.00860.
11. Ахметжанов В. К., Шашкин Ч. С., Керимбаев Т. Т. Болезнь Паркинсона. Критерии диагностики. Дифференциальная диагностика. *Нейрохирургия и неврология Казахстана*. 2016;4(45):18-25. [Axmetzhanov VK, Shashkin ChS, Kerimbaev TT. Parkinson's disease. Diagnostic criteria. Differential diagnosis. *Neurosurgery and Neurology of Kazakhstan*. 2016;4(45):18-25. (In Russ.)].
12. Bähr M. Neuroprotection: models, mechanisms and therapies. John Wiley & Sons; 2006.
13. Bloem BR, Okun MS, Klein C. Parkinson's disease. *Lancet*. 2021 Jun 12;397(10291):2284-2303. doi: 10.1016/S0140-6736(21)00218-X.
14. Титова Н.В., Портупеев А.А. Практические аспекты назначения противопаркинсонических препаратов. Место амантадинов в лечении болезни Паркинсона. *Медицинский совет*. 2021;(1):63-74. [Titova NV, Portupuev AA. Practical aspects of prescribing antiparkinsonian drugs. The place of amantadines in the management of Parkinson's disease. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*. 2021;(1):63-74. (In Russ.)]. doi: 10.21518/2079-701X-2021-2-63-74.
15. Вахитова Ю.В. О механизмах действия ладастена. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2021;84(2):34-40. [Vaxitova YuV. On the mechanism of ladasten action. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2021;84(2):34-40. (In Russ.)] doi: 10.30906/0869-2092-2021-84-2-34-40.
16. Voronin MV, Kadnikov IA, Voronkov DN, Seredenin SB. Chaperone Sigma1R mediates the neuroprotective action of afobazole in the 6-OHDA model of Parkinson's disease. *Sci Rep*. 2019 Nov 19;9(1):17020. doi: 10.1038/s41598-019-53413-w.
17. Rudyk C, Dwyer Z, McNeill J, et al. Chronic unpredictable stress influenced the behavioral but not the neurodegenerative impact of paraquat. *Neurobiol Stress*. 2019 May 31;11:100179. doi: 10.1016/j.ynstr.2019.100179.
18. Мариевский В. Е., Зайнуллина Л. Ф. Исследование антипаркинсонического действия комбинации ладастена с фабомотизолом на модели паркинсонического синдрома, вызванного 6-гидроксидофамином. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2024;87(9):9-14. [Marievskii VE, Zainullina LF. The study of the antiparkinsonian activity of the combination of ladasten with fabomotizole in 6-hydroxydopamine model of parkinsonian syndrome. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2024;87(9):9-14. (In Russ.)]. doi: 10.30906/0869-2092-2024-87-9-9-14.
19. Valdman E, Kapitsa I, Ivanova E, et al. Evolution of anti-parkinsonian activity of monoterpenoid (1R,2R,6S)-3-methyl-6-(prop-1-en-2-yl)cyclohex-3-ene-1,2-diol in various in vivo models. *Eur J Pharmacol*. 2017 Nov 15;815:351-363. doi: 10.1016/j.ejphar.2017.09.022.
20. Glajch KE, Fleming SM, Surmeier DJ, Osten P. Sensorimotor assessment of the unilateral 6-hydroxydopamine mouse model of Parkinson's disease. *Behav Brain Res*. 2012 May 1;230(2):309-16. doi: 10.1016/j.bbr.2011.12.007.
21. Brooks SP, Trueman RC, Dunnett SB. Assessment of Motor Coordination and Balance in Mice Using the Rotarod, Elevated Bridge, and Footprint Tests. *Curr Protoc Mouse Biol*. 2012 Mar 1;2(1):37-53. doi: 10.1002/9780470942390.mol10165.
22. Brooks AI, Chadwick CA, Gelbard HA, et al. Paraquat elicited neurobehavioral syndrome caused by dopaminergic neuron loss. *Brain Res*. 1999 Mar 27;823(1-2):1-10. doi: 10.1016/S0006-8993(98)01192-5.
23. McCormack AL, Thiruchelvam M, Manning-Bog AB, et al. Environmental risk factors and Parkinson's disease: selective degeneration of nigral dopaminergic neurons caused by the herbicide paraquat. *Neurobiol Dis*. 2002 Jul;10(2):119-27. doi: 10.1006/nbdi.2002.0507.
24. Dinis-Oliveira RJ, Remião F, Carmo H, et al. Paraquat exposure as an etiological factor of Parkinson's disease. *Neurotoxicology*. 2006 Dec;27(6):1110-22. doi: 10.1016/j.neuro.2006.05.012.
25. Darweesh SKL, Vermeulen RCH, Bloem BR. Paraquat and Parkinson's disease: has the burden of proof shifted? *Int J Epidemiol*. 2024 Aug 14;53(5):dyae126. doi: 10.1093/ije/dyae126.
26. Sharma P, Mittal P. Paraquat (herbicide) as a cause of Parkinson's Disease. *Parkinsonism Relat Disord*. 2024 Feb;119:105932. doi: 10.1016/j.parkreldis.2023.105932.
27. Richardson JR, Quan Y, Sherer TB, et al. Paraquat neurotoxicity is distinct from that of MPTP and rotenone. *Toxicol Sci*. 2005 Nov;88(1):193-201. doi: 10.1093/toxsci/kfi304.
28. Ishola IO, Akinyede AA, Adeluwa TP, Micah C. Novel action of vinpocetine in the prevention of paraquat-induced parkinsonism in mice: involvement of oxidative stress and neuroinflammation. *Metab Brain Dis*. 2018 Oct;33(5):1493-1500. doi: 10.1007/s11011-018-0256-9.
29. McKnight S, Hack N. Toxin-Induced Parkinsonism. *Neurol Clin*. 2020 Nov;38(4):853-865. doi: 10.1016/j.ncl.2020.08.003.
30. Bastias-Candia S, Zolezzi JM, Inestrosa NC. Revisiting the Paraquat-Induced Sporadic Parkinson's Disease-Like Model. *Mol Neurobiol*. 2019 Feb;56(2):1044-1055. doi: 10.1007/s12035-018-1148-z.
31. Wang K, Zhang B, Zhang B, et al. Paraquat Inhibits Autophagy Via Intensifying the Interaction Between HMGB1 and α -Synuclein. *Neurotox Res*. 2022 Apr;40(2):520-529. doi: 10.1007/s12640-022-00490-x.
32. Monville C, Torres EM, Dunnett SB. Comparison of incremental and accelerating protocols of the rotarod test for the assessment of motor deficits in the 6-OHDA model. *J Neurosci Methods*. 2006 Dec 15;158(2):219-23. doi: 10.1016/j.jneumeth.2006.06.001.
33. Dinis-Oliveira RJ, Duarte JA, Sánchez-Navarro A, et al. Paraquat poisonings: mechanisms of lung toxicity, clinical features, and treatment. *Crit Rev Toxicol*. 2008;38(1):13-71. doi: 10.1080/10408440701669959.
34. Мирошниченко И.И., Кудрин В.С., Сергеева С.А. и др. Влияние броматана на дофамин-и серотонинергическую систему головного мозга крыс. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 1995;58(4):8-11. [Miroshnichenko II, Kudrin VS, Sergeeva SA, et al. Vliyanie bromatana na dofamin-i serotoninergicheskuyu sistemu golovno mozga kry's. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 1995;58(4):8-11. (In Russ.)].
35. Морозов И.С., Пухова Г.С., Авдулов Н.А. др. Механизмы нейротропного действия броматана. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 1999;62(1):11-14. [Morozov IS, Pukhova GS, Avdulov NA, et al. Mechanisms of bromantan neurotropic effect. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 1999;62(1):11-14. (In Russ.)].
36. Кадников И.А., Воронков Д.Н., Воронин М.В. и др. Анализ роли хинонредуктазы 2 в механизме противопаркинсонического действия афобазола. *Нейрохимия*. 2020;37(2):173-182. [Kadnikov IA, Voronkov DN, Voronin MV, et al. Analysis of the Role of Quinone Reductase 2 in the Mechanism of Anti-Parkinsonic Action of Afobazole. *Neirokhimiya*. 2020;37(2):173-182. (In Russ.)]. doi: 10.31857/S1027813320010112.
37. Зенина Т.А., Гавриш И.В., Мелкумян Д.С. и др. Изучение нейротропных свойств афобазола в опытах *in vitro*. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2005;140(8):161-163. [Zenina TA, Gavrish IV, Melkumyan DS, et al. Neuroprotective properties of afobazol *in vitro*. *Byulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny*. 2005;140(8):161-163. (In Russ.)]. doi: 10.1007/s10517-005-0443-7.
38. Середенин С.Б., Поварова О.В., Медведев О.С. и др. Доказательство нейротропных свойств афобазола на экспериментальной модели фокальной ишемии головного мозга. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2006;69(4):3-5. [Seredenin SB, Povarova OV, Medvedev OS, et al. Evidence for the neuroprotective properties of afobazole in experimental model of focal brain ischemia. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2006;69(4):3-5. (In Russ.)]. doi: 10.30906/0869-2092-2006-69-4-3-5.



Перспективная биологическая модель гестационного сахарного диабета с выраженными нарушениями углеводного и липидного обменов у крыс

Качалов К. С., Соломина А. С., Родина А. В., Дурнев А. Д.

ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»,
Москва, Российская Федерация

Аннотация

Актуальность. Гестационный сахарный диабет (ГСД) является наиболее распространённым осложнением беременности. Отсутствие биологической модели ГСД осложняет поиск подходящей фармакотерапии и ставит задачу по разработке валидной модели этого заболевания.

Цель. Целью настоящей работы являлась разработка биологической модели ГСД, сопровождающейся метаболическими нарушениями у беременных крыс, при использовании в качестве диabetогенных факторов высококалорийной диеты в сочетании с тилоксаполом.

Материалы и методы. ГСД моделировали путём содержания беременных самок крыс Wistar на высококалорийной диете сроком не менее 7 недель в сочетании с внутривентральным введением тилоксапола в дозах 200 и 400 мг/кг в различные дни беременности, параллельно оценив дозозависимость эффектов тилоксапола путём его однократного внутривентрального введения самкам крыс Wistar в дозах 200, 300, 400 мг/кг.

Результаты. Исследование показало, что оптимальным при индукции ГСД по целевым показателям является сочетание высококалорийной диеты с введением тилоксапола в дозе 200 мг/кг. В этом случае наблюдается выраженное нарушение толерантности к глюкозе, увеличение уровней глюкозы, общего холестерина, триацилглицеридов и липопротеидов низкой плотности в сыворотке крови. При применении тилоксапола в дозе 400 мг/кг наблюдали выраженный эмбриолетальный эффект, а применение диabetогена в дозировке 300 мг/кг не приводило к изменению регистрируемых параметров.

Заключение. Предложенная биомодель демонстрирует основные патогномичные симптомы ГСД и может быть полезна при изучении механизмов развития и разработке новых средств лечения данной патологии.

Ключевые слова: гестационный сахарный диабет; высококалорийная диета; тилоксапол; крысы

Для цитирования:

Качалов К. С., Соломина А. С., Родина А. В., Дурнев А. Д. Перспективная биологическая модель гестационного сахарного диабета с выраженными нарушениями углеводного и липидного обменов у крыс. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2025;(1):53–59. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2025-1-53-59>. EDN: HEEFGN

Поступила: 15.02.2025. **В доработанном виде:** 15.03.2025. **Принята к печати:** 27.03.2025. **Опубликована:** 31.03.2025.

A promising biological model of gestational diabetes mellitus with specific impairments of carbohydrate and lipid metabolism in rats

Kirill S. Kachalov, Anna S. Solomina, Anastasia V. Rodina, Andrey D. Durnev

Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation

Abstract

Relevance. Gestational diabetes mellitus (GDM) is the most common complication of pregnancy. The lack of a biological model of GDM complicates the search for a suitable pharmacotherapy and presents the challenge of developing a valid model of this disease.

Objective. The objective of this study was to develop a biological model of GDM accompanied by metabolic disorders in pregnant rats by using a high-calorie diet in combination with tyloxapol as diabetogenic factors.

Materials and methods. GDM was modeled by keeping pregnant female Wistar rats on a high-calorie diet for at least 7 weeks in combination with intraperitoneal administration of tyloxapol at doses of 200 and 400 mg/kg on various days of pregnancy. In parallel we evaluated the dose dependence of the effects of tyloxapol by its single intraperitoneal administration to non-pregnant female Wistar rats at doses of 200, 300, 400 mg/kg.

Results. The study showed that the optimal combination of a high-calorie diet with the administration of tyloxapol at a dose of 200 mg/kg is optimal for GDM induction. In this case, there is a marked violation of glucose tolerance, an increase in the levels of glucose, total cholesterol, triacylglycerides and low-density lipoproteins in the blood serum. A pronounced embryoletal effect was observed with tyloxapol at a dose of 400 mg/kg. The use of tyloxapol at a dosage of 300 mg/kg did not lead to a change in the registered parameters.

Conclusion. The proposed biomodel demonstrates the main pathognomonic symptoms of GDM and may be useful in studying the mechanisms of development and searching new treatments for this pathology.

Keywords: gestational diabetes mellitus; high-calorie diet; tyloxapol; rats

For citations:

Kachalov KS, Solomina AS, Rodina AV, Durnev AD. A promising biological model of gestational diabetes mellitus with specific impairments of carbohydrate and lipid metabolism in rats. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2025;(1):53–59. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2025-1-53-59>. EDN: HEEFGN

Received: 15.02.2025. **Revision received:** 15.03.2025. **Accepted:** 27.03.2025. **Published:** 31.03.2025.

Введение / Introduction

Гестационный сахарный диабет (ГСД) является тяжёлым осложнением беременности и встречается у 9–25 % беременных женщин. Метаболические нарушения, в частности, ожирение существенно увеличивают риск развития ГСД [1].

Поиск средств профилактики и лечения ГСД требует разработки соответствующих экспериментальных биологических моделей, в идеале сочетающих нарушение толерантности к глюкозе, гипергликемию и нарушения липидного обмена. Практика показывает, что при моделировании ГСД предпочтение отдаётся использованию химических диабетогенов аллоксана (АЛ) и стрептозотоцина (СТЗ) либо применению их в комбинации с пищевыми нагрузками. Подобный подход имеет существенные недостатки, главным из которых является необратимое повреждение β -клеток поджелудочной железы, не адекватное патофизиологии ГСД, который в большинстве случаев разрешается после родов.

Известные биомодели ГСД требуют проведения многомесячной пищевой нагрузки и плохо воспроизводимы. Тот же недостаток присущ приёмам, сочетающим комбинированное воздействие высококалорийной диеты (ВКД) и низких доз диабетогенов. Практика показывает, что в этом случае умеренная гипергликемия к концу беременности наблюдается менее, чем у 50 % животных [2].

На основе анализа литературы [3, 4] в качестве возможного индуктора обратимого состояния ГСД в эксперименте был отмечен неионогенный сурфактант тилоксапол (Triton WR-1339). Проведённые собственные пилотные исследования подтвердили перспективу его использования в качестве индуктора ГСД у беременных животных [5].

Цель настоящей работы состояла в поиске и разработке биологической модели ГСД при использовании кратковременной пищевой нагрузки и тилоксапола, сопровождающейся метаболическими нарушениями у беременных крыс.

Материалы и методы / Materials and methods

Эксперименты выполнены на самках крыс Wistar ($n = 57$), в возрасте 8–10 недель, массой 200–220 г, поставленных из сертифицированного питомника Филиал «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России. Животных содержали в соответствии с правилами нормативных документов, действующих в области надлежащей лабораторной практики [6–8]. Проводимые исследования были одобрены биоэтической Комиссией ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий». Адаптация животных в лабораторном виварии осуществлялась в течение 5–7 дней с момента поступления и сопровождалась ежедневным клиническим

осмотром внешнего состояния и поведения животных. Крыс распределяли по группам согласно массе тела, разброс которой составил ± 10 г. При проведении экспериментов были приняты меры, позволяющие избежать излишних физических страданий у животных. Эвтаназию осуществляли декапитацией.

ГСД моделировали содержанием животных на высококалорийной диете (57 % жиров и 12 % углеводов) и 10 % растворе сахарозы в качестве единственного источника жидкости не менее 4 недель до беременности и на протяжении всего периода беременности длительностью 3 недели. Животным опытных групп внутрибрюшинно (в/б) вводили тилоксапол (Triton WR-1339, CAS Number: 25301-02-4, Sigma-Aldrich) в дозах 400 мг/кг либо 200 мг/кг в фосфатно-солевом буфере (ФСБ), pH=7,4, при разных режимах: каждые 48 ч или 72 ч с 7-го дня беременности (ДБ), трёхкратно (на 14-й, 17-й, 20-й ДБ) либо четырёхкратно (на 14-й, 16-й, 18-й и 20-й ДБ). Контрольная группа животных имела постоянный доступ к полнорационному экструдируемому корму [9] и питьевой фильтрованной воде (фильтр Аквафор Кристалл Квадро, Россия [10]) и получала в/б инъекции ФСБ (pH = 7,4) в режимы введения, аналогичные опытной группе. Каждая группа включала не менее 6 животных.

Беременность у крыс регистрировали микроскопически при увеличении 10 $\times$ по наличию сперматозоидов в вагинальном мазке. День обнаружения сперматозоидов в мазке принимали за первый ДБ.

Массу тела крыс контролировали в начале (1ДБ) и в конце беременности (20ДБ).

Внутривенный (в/в) глюкозотолерантный тест выполняли на 21ДБ в первой половине дня после 12-часового голодания [11]. Раствор D-глюкозы (ДиаЭМ, Россия [12]) вводили в/в в латеральную хвостовую вену однократно в дозе 0,5 г/кг сразу после отбора пробы крови в точке 0 минут. Пробы венозной крови отбирали в точках 0, 10, и 60 минут после введения. Уровень глюкозы в венозной крови измеряли при помощи глюкометра Diacont (Diacont, Россия [13]). На основе полученных данных производили расчёт площади под кривой (area under the curve (AUC)).

Для измерения концентрации липидов в крови, образцы крови отбирали в ходе декапитации животных в пробирки с активатором свёртывания и разделительным гелем с последующим центрифугированием при 1000 об/мин 10 минут. Биохимические параметры крови определяли на автоматическом биохимическом анализаторе ChemWell 2910 Combi (Awareness Technology, Inc., США). В сыворотке крови оценивали уровень общего холестерина, триацилглицеридов (ТАГ), а также липопротеинов высокой (ЛПВП) и низкой плотности (ЛПНП) с использованием наборов для биохимических исследований компании АО «Вектор-Бест» (Россия).

На небеременных самках крыс Wistar ($n = 24$, по 6 животных в группе) оценивали влияние тилоксапола

на концентрацию глюкозы и ТАГ. Тилоксапол вводили однократно в/б в дозах 200, 300 либо 400 мг/кг в ФСБ (рН = 7,4). Контрольная группа получала однократную в/б инъекцию ФСБ (рН = 7,4) в эквивалентном объеме. За 12 часов до взятия образцов крови животных всех групп ограничивали в доступе к корму и содержали только на воде. Через 24 часа у животных отбирали кровь из латеральной хвостовой вены для определения уровня глюкозы и ТАГ.

Статистический анализ полученных результатов проводили с помощью демоверсии программы GraphPad Prism. Статистическая обработка данных выполнена согласно Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств [14]. Нормальность распределения данных проверяли с использованием критерия Шапиро–Уилкса. В случае нормального распределения данных для сравнения нескольких экспериментальных групп использовали однофакторный дисперсионный анализ. В случае не Гауссовского распределения данных применяли ранговый критерий Манна–Уитни и Краскела–Уоллиса для оценки разностей между несколькими группами. При сравнении частотных показателей зависимых выборок применяли точный критерий Фишера. Различия между группами считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение / Results and Discussion

Ранее проведённые исследования на мышах различных линий продемонстрировали перспективность использования тилоксаполя в дозе 400 мг/кг в качестве индуктора гипергликемии и сопутствующих биохимических показателей липидного обмена [15]. Однако у беременных крыс введение тилоксаполя в дозе 400 мг/кг с 14ДБ каждые 72 часа или каждые 48 часов не приводило к значимому нарушению толерантности к глюкозе. Применение тилоксаполя в дозе 400 мг/кг с 7ДБ при в/б введении каждые 72 часа также не вызвало достоверного увеличения уровня глюкозы в крови и не нарушало толерантность к глюкозе (рис. 1), а при введении каждые 48 часов площадь под кривой достоверно увеличивалась, сопровождаясь высоким уровнем эмбриолетальности, о чём свидетельствовало достоверное увеличение постимплантационной гибели на 21ДБ достигавшее 86 %.

На основании полученных результатов было проведено дополнительное исследование по выявлению влияния тилоксаполя в разных дозах на концентрацию глюкозы и ТАГ у небеременных самок крыс. Установлено, что введение тилоксаполя только в дозе 200 мг/кг приводило к достоверному и умеренному повышению глюкозы до 7,3 ммоль/л. Уровень ТАГ значимо возрастал с увеличением дозы тилоксаполя: в дозе 200 мг/кг ТАГ составили 12,4 ммоль/л, в дозе 300 мг/кг — 35,5 ммоль/л, а в дозе 400 мг/кг — уже 53,1 ммоль/л (рис. 2).

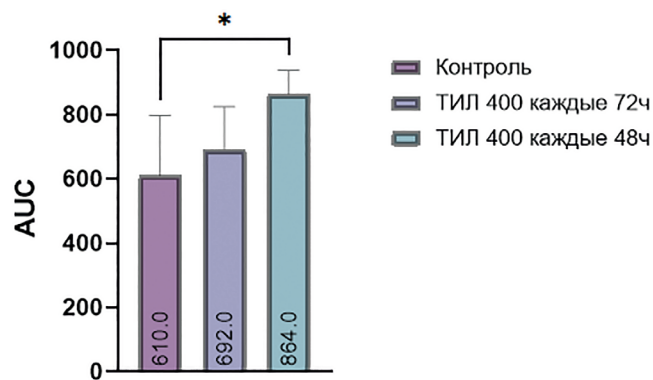


Рис. 1. Оценка нарушения толерантности к глюкозе при внутривенном глюкозотолерантном тесте у крыс на 21-й день беременности при разных режимах внутрибрюшинного введения тилоксаполя (ТИЛ) в дозе 400 мг/кг

Fig. 1. Assessment of impaired glucose tolerance test in rats on the 21st day of pregnancy with different modes of intraperitoneal administration of tyloxapol (TYL) at a dose of 400 mg/kg

Примечания: AUC — площадь под кривой; * — статистически значимые различия при $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой.

Notes: AUC is the area under the curve; * — statistically significant differences at $p < 0.05$ compared to the control group.

Таким образом, введение тилоксаполя в дозе 200 мг/кг отвечало критериям моделирования ГСД, умеренно и достоверно повышая уровень глюкозы и ТАГ в крови небеременных крыс.

В следующем эксперименте было установлено, что введение тилоксаполя в дозе 200 мг/кг беременным крысам с 14ДБ при разных режимах оказалось недостаточным для достижения значимого нарушения толерантности к глюкозе, поэтому модель была дополнена краткосрочной пищевой нагрузкой. Крыс содержали на ВКД 4 недели до беременности и 3 недели с момента подтверждения беременности. Тилоксапол в дозе 200 мг/кг вводили крысам во второй половине беременности в двух режимах: трёхкратно (3×) на 14ДБ, 17ДБ и 20ДБ и четырёхкратно (4×) на 14ДБ, 16ДБ, 18ДБ и 20ДБ. Комбинация тилоксаполя с ВКД продемонстрировала стабильный и воспроизводимый результат по нарушению толерантности к глюкозе у самок к концу беременности. На 21ДБ при проведении внутривенного глюкозотолерантного теста (ВГТТ) значимое повышение AUC по сравнению с контрольной группой отмечено при введении тилоксаполя в режимах 3× и 4× (рис. 3).

Вместе с тем, уровень глюкозы натощак при обоих режимах введения тилоксаполя был достоверно выше наблюдаемого в контрольной группе и составил при трёхкратном режиме 5,8 ммоль/л, при четырёхкратном 7,6 ммоль/л против контрольного 4,8 ммоль/л (рис. 3). Также, отмечено достоверное увеличение концентрации общего холестерина и ТАГ в сыворотке крови по сравнению с контролем. Несмотря на то, что в крови опытных групп животных отмечено повышение уровня

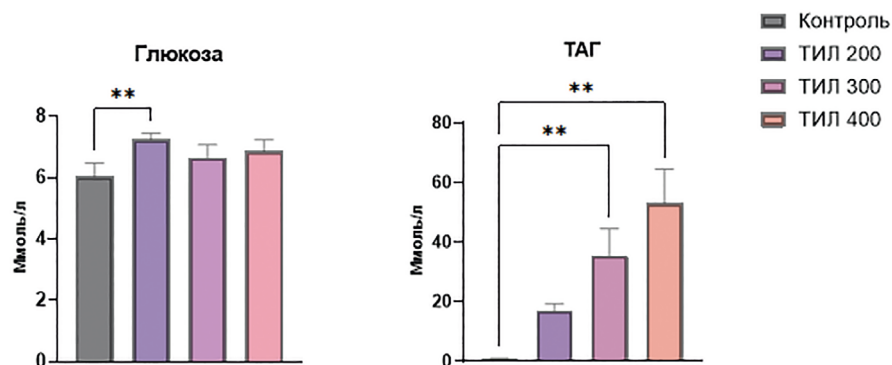


Рис. 2. Концентрация глюкозы и триацилглицеридов в крови небеременных крыс после однократного внутрибрюшинного введения тилоксапола в дозах 200 мг/кг, 300 мг/кг и 400 мг/кг

Fig. 2. Concentration of glucose and triacylglycerides in the blood of nonpregnant rats after a single intraperitoneal injection of tyloxapol at doses of 200 mg/kg, 300 mg/kg and 400 mg/kg

Примечания: ТАГ — триацилглицериды; ** — статистически значимые различия при $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой.

Notes: TAG — triacylglycerides; ** — statistically significant differences at $p < 0.01$ compared with the control group.

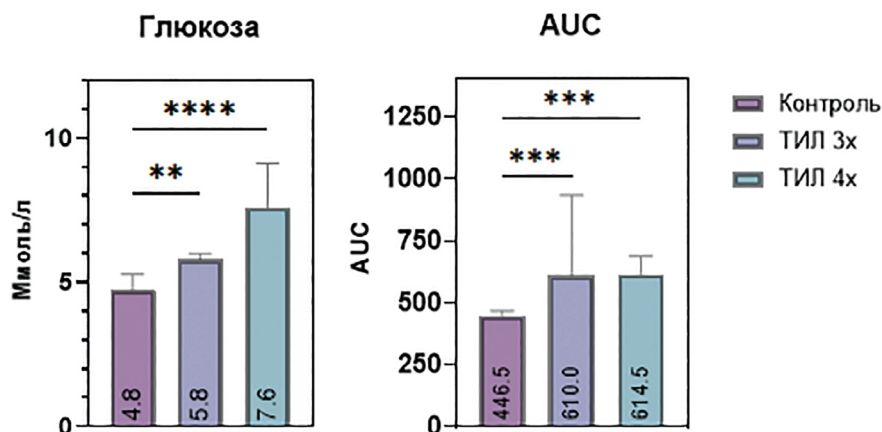


Рис. 3. Концентрация глюкозы в крови и площадь под кривой при проведении внутривенного глюкозотолерантного теста беременным самкам крыс на 21-й день беременности

Fig. 3. Blood glucose concentration and area under the curve during an intravenous glucose tolerance test in pregnant female rats on the 21st day of pregnancy

Примечания: AUC — площадь под кривой; ** — статистически значимые различия при $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой; *** — статистически значимые различия при $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой; **** — статистически значимые различия при $p < 0,0001$ по сравнению с контрольной группой.

Notes: AUC is the area under the curve; ** — statistically significant differences at $p < 0.01$ compared with the control group; *** — statistically significant differences at $p < 0.001$ compared with the control group; **** — statistically significant differences at $p < 0.0001$ compared with the control group.

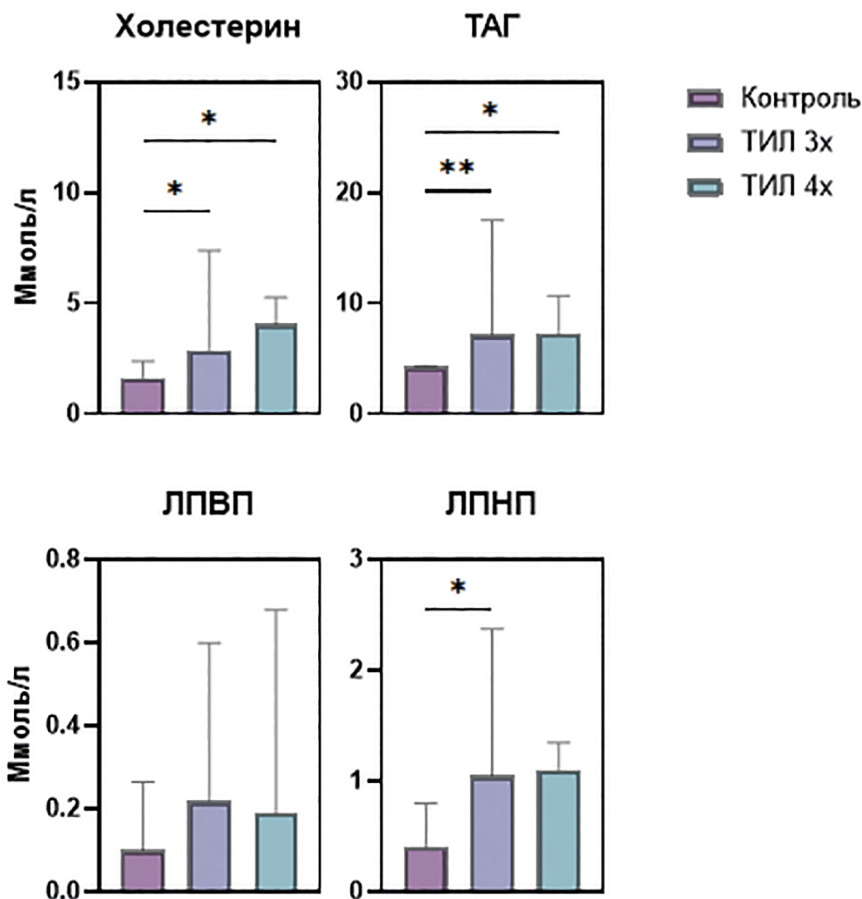


Рис. 4. Показатели липидного обмена беременных крыс на 21-й день беременности

Fig. 4. Indicators of lipid metabolism in pregnant rats on the 21st day of pregnancy

Примечания: * — статистически значимые различия при $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой; ** — статистически значимые различия при $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой.

Notes: * — statistically significant differences at $p < 0.05$ compared to the control group; ** — statistically significant differences at $p < 0.01$ compared to the control group.

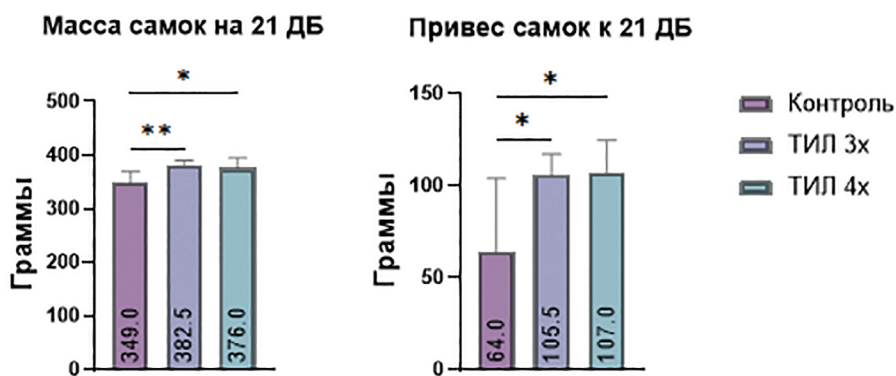


Рис. 5. Масса и привес беременных крыс к 21-му дню беременности

Fig. 5. Weight and weight gain of pregnant rats by the 21st day of pregnancy

Примечания: ДБ — день беременности; * — статистически значимые различия при $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой; ** — статистически значимые различия при $p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой.

Notes: ДБ is the day of pregnancy; * — statistically significant differences at $p < 0.05$ compared with the control group; ** — statistically significant differences at $p < 0.01$ compared with the control group.

ЛПВП, эти данные были статистически не значимы, при этом наблюдалось значимое увеличение концентрации ЛПНП в группе животных, получавших тилоксапол четырёхкратно (рис. 4).

Кроме того, содержание животных на ВКД в сочетании с тилоксаполом при всех использованных режимах введения приводило к достоверному увеличению массы тела с 1ДБ по 20ДБ по сравнению с контрольной группой (рис. 5).

Полученные данные согласуются с представлениями об этиопатогенезе ГСД, поскольку известно, что предшествующие беременности метаболические нарушения у женщин создают идеальные условия для развития ГСД [16]. На данный момент ГСД является наиболее часто встречающимся осложнением во время беременности, которое возникает в третьем, реже

во втором триместре беременности. В используемой нами модели ГСД применение только тилоксапола оказалось недостаточно эффективно для индукции устойчивой гипергликемии либо вызывало эмбриолетальность. Однако введение самкам тилоксапола на фоне ВКД, являющейся одним из этиологических факторов, моделирует приходящую на поздних сроках беременности гипергликемию.

Заключение / Conclusion

Полученные результаты свидетельствуют о возможности моделирования ГСД у крыс сочетанным применением тилоксапола и высококалорийной диеты. Данная биологическая модель может оказаться полезной для поиска средств профилактики и лечения ГСД.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов

Соломина А. С., Дурнев А. Д. — разработка дизайна исследования; Соломина А. С., Качалов К. С., Родина А. В. — руководили доклиническим этапом исследования; Качалов К. С. — статистическая обработка полученных результатов; Качалов К. С., Соломина А. С., Родина А. В. — оформление рукописи; все авторы участвовали в обсуждении полученных результатов.

ADDITIONAL INFORMATION

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interest.

Authors' participation

Solomina AS, Durnev AD — development of the study design; Solomina AS, Kachalov KS, Rodina AV — led the preclinical stage of the study; Kachalov KS — statistical processing of the results; Kachalov KS, Solomina AS, Rodina AV — design of the manuscript; all authors participated in the discussion of the results.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Качалов Кирилл Сергеевич — аспирант, м. н. с. отдела лекарственной токсикологии лаборатории генетической и репродуктивной токсикологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку

e-mail: kachalov_ks@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1340-5034>

РИНЦ SPIN-код: 2992-6789

Соломина Анна Сергеевна — к. б. н., в. н. с. отдел лекарственной токсикологии лаборатории генетической и репродуктивной токсикологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»

e-mail: solomina_as@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7048-4993>

РИНЦ SPIN-код: 7475-9613

Kirill S. Kachalov — Postgraduate student, Junior Research Scientist Department of Medicinal Toxicology of the Laboratory of Genetic and Reproductive Toxicology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation

Corresponding autor

e-mail: kachalov_ks@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1340-5034>

RSCI SPIN code: 2992-6789

Anna S. Solomina — PhD, Cand. Sci. (Biology), Leading Research Officer Department of Medicinal Toxicology of the Laboratory of Genetic and Reproductive Toxicology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation

e-mail: solomina_as@academpharm.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7048-4993>

RSCI SPIN code: 7475-9613

Родина Анастасия Владимировна — ведущий инженер отдела лекарственной токсикологии лаборатории репродуктивной и генетической токсикологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»
e-mail: rodina_av@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0002-4238-050X>
РИНЦ SPIN-код: 1254-7322

Дурнев Андрей Дмитриевич — д. м. н., профессор, член-корр. РАН, зав. отделом лекарственной токсикологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: durnev_ad@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0912-7684>
РИНЦ SPIN-код: 8426-0380

Anastasia V. Rodina — Senior researcher Department of Medicinal Toxicology of the laboratory of drug toxicology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: rodina_av@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0002-4238-050X>
RSCI SPIN code: 1254-7322

Andrei D. Durnev — PhD, Dr. Sci. (Med.), professor, corresponding member RAS, Head of the department of drug toxicology, Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: durnev_ad@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0912-7684>
RSCI SPIN code: 8426-0380

Список литературы / References

- McIntyre HD, Catalano P, Zhang C, et al. Gestational diabetes mellitus. *Nat Rev Dis Primers*. 2019 Jul 11;5(1):47. doi: 10.1038/s41572-019-0098-8.
- Соломина А. С., Родина А. В., Качалов К. С., и др. Оценка перспективы использования модели гестационного сахарного диабета для поиска средств фармакологической коррекции нарушений у потомства крыс. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2023;(2):45-53. [Solomina AS, Rodina AV, Kachalov KS, et al. Evaluating the prospects of using gestational diabetes mellitus model to find means of pharmacological correction of the disorders in rat offspring. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2023;(2):45-53. (In Russ.)]. doi: 10.37489/2587-7836-2023-2-45-53.
- De Sousa JA, Pereira P, Allgayer MDC, et al. Evaluation of DNA damage in Wistar rat tissues with hyperlipidemia induced by tyloxapol. *Exp Mol Pathol*. 2017;103(1):51-55. doi: 10.1016/j.yexmp.2017.06.009.
- Moacir Couto de Andrade Júnior. Lipoprotein Lipase: A General Review. *Insights Enzym Res*. 2018;2(1.3):1-14. doi: 10.21767/2573-4466.100013.
- Качалов К.С., Соломина А.С., Родина А.В. Репродуктивные нарушения у матерей и потомства крыс при моделировании гестационного диабета высококалорийной диетой в сочетании с тилоксаполом. *Биомедицина*. 2024;20(3E):191-196. [Kachalov KS, Solomina AS, Rodina AV. Reproductive Disorders in Mothers and Offspring of Rats in Gestational Diabetes Modelled with a High-Calorie Diet in Combination with Tyloxapol. *Journal Biomed*. 2024;20(3E):191-196. (In Russ.)]. doi: 10.33647/2713-0428-20-3E-191-196.
- Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 81 «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств». [The Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission dated November 3, 2016 № 81 «Ob utverzhdenii pravil nadležashchei laboratornoi praktiki Evrazijskogo ekonomicheskogo soyuza v sfere obrashcheniya lekarstvennykh sredstv». (In Russ.)]. Доступно по: https://docs.eaeunion.org/docs/ru-ru/01211928/cncd_21112016_81. Ссылка активна на 15.02.2025.
- ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур» (Переиздание). Межгосударственный стандарт: изд. офиц.: дата введения 2016-07-01. Москва: Стандартинформ. 2019. 13 с. [GOST 33215-2014 «Guidelines for accommodation and care of animals. Rules for the equipment of premises and the organization of procedures». (Reissue). Mezghosudarstvennyj. standart: izd. ofic.: data vvedeniya 2016-07-01. Moscow: Standartinform. 2019. (In Russ.)].
- ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами». (Переиздание). Межгосударственный стандарт: изд. офиц.: дата введения 2016-07-01. Москва: Стандартинформ. 2019. 10 с. [GOST 33216-2014 «Guidelines for accommodation and care of animals. Species-specific provisions for laboratory rodents and rabbits». (Reissue). Mezghosudarstvennyj. standart: izd. ofic.: data vvedeniya 2016-07-01. Moscow: Standartinform. 2019. (In Russ.)].
- vivariumlab.ru [Internet]. Корма и оборудование для лабораторных животных. Доступно по: <http://vivariumlab.ru/>. Ссылка активна на 15.02.2025.
- aquaphor.ru [Internet]. Российская компания Акфафор. Доступно по: <https://www.aquaphor.ru/>. Ссылка активна на 15.02.2025.
- Спасов А.А., Воронкова М.П., Снигур Г.Л. и др. Методические указания по доклиническому изучению пероральных лекарственных средств для лечения сахарного диабета. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1. / Под ред. Миронова А.Н. М.: Гриф и К. 2012. С. 673. [Spasov AA, Voronkova MP, Snigur GL, et al. Metodicheskie rekomendatsii po doklinicheskomu izucheniyu peroral'nykh lekarstvennykh sredstv dlya lecheniya sakharnogo diabeta. *Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovanii lekarstvennykh sredstv*. Part 1. Mironov AN, editor. Moscow: Grif i K; 2012. (In Russ.)].
- dia-m.ru [Internet]. Российская компания Диаэм. Доступно по: <https://www.dia-m.ru/>. Ссылка активна на 15.02.2025.
- diacntru.com [Internet]. Забота о людях, страдающих сахарным диабетом. Доступно по: <https://diacntru.com/>. Ссылка активна на 15.02.2025.
- Сергиенко В.И., Бондарева И.Б., Маевский Е.И. Методические рекомендации по статистической обработке результатов доклинических исследований лекарственных средств. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. / Под ред. Миронова А.Н. М.: Гриф и К. 2012. [Sergienko VI, Bondareva IB, Maevskii EI. Metodicheskie rekomendatsii po statisticheskoj obrabotke rezul'tatov doklinicheskikh issledovanii lekarstvennykh sredstv. *Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovanii lekarstvennykh sredstv*. Mironov AN, editor. Moscow: Grif i K; 2012. (In Russ.)].
- Качалов К.С., Соломина А.С., Родина А.В., и др. Индукция гипергликемии и сопутствующих биохимических и генотоксических изменений у мышей разных линий тилоксаполом. *Молекулярная медицина*. 2024;(3):45-52. [Kachalov KS, Solomina AS, Rodina AV, et al. Induction of hyperglycemia and accompanying biochemical and genotoxic changes in mice of different strains by tyloxapol. *Molekulyarnaya meditsina*. 2024;(3):45-52. (In Russ.)]. doi: 10.29296/24999490-2024-03-07.
- Habibi N, Mousa A, Tay CT, et al. Maternal metabolic factors and the association with gestational diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Metab Res Rev*. 2022 Jul;38(5):e3532. doi: 10.1002/dmrr.3532.



Исследование острой токсичности димерного дипептидного миметика нейротрофина-3 на мышах

Алексеев И. В., Мирошкина И. А., Сорокина А. В., Алексеева С. В., Волкова А. В., Захаров А. Д., Качалов К. С., Цорин И. Б., Колик Л. Г., Дурнев А. Д.

ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»,
Москва, Российская Федерация

Аннотация

Введение. Низкомолекулярные миметики нейротрофина-3 (NT-3) рассматриваются как перспективные соединения для создания новых лекарственных средств. Одним из первых обязательных этапов доклинического исследования лекарств-кандидатов является оценка острой токсичности. Целью настоящей работы явилась оценка острой токсичности вновь синтезированного димерного дипептидного миметика 4-й петли NT-3 (соединение ГТС-301), вводимого внутрибрюшинно самкам и самцам беспородных мышей.

Материалы и методы. ГТС-301 (гексаметилендиамид бис-(N-моносукцинил-аспарагинил-аспарагина, субстанция, в 1 % крахмале) вводили однократно внутрибрюшинно мышам в максимально возможном объёме и максимально возможной концентрации. Животные контрольной группы получили эквивалентный объём 1 % раствора крахмала. Регистрировали сроки развития интоксикации животных с подробным описанием наблюдаемой клинической картины. Эвтаназию и патологоанатомическое вскрытие проводили на 15-е сутки после введения ГТС-301.

Результаты. В ходе 14-дневного наблюдения за мышами, получившими ГТС-301 в дозах 1 и 2 г/кг, установлена гибель только одного животного после введения ГТС-301 в максимально допустимом объёме и максимально возможной концентрации (2 г/кг), что не позволило рассчитать среднесмертельную дозу соединения для мышей. Морфологическая картина внутренних органов, обнаруженная при патологоанатомическом вскрытии всех экспериментальных животных, не отличалась от таковой, наблюдаемой у контрольных животных.

Заключение. Установлено, что соединение ГТС-301 при внутрибрюшинном введении является практически нетоксичным и по классификации Сидорова К. К. (1973 г.) может быть отнесено к 5 классу токсичности.

Ключевые слова: миметик нейротрофина-3; ГТС-301; острая токсичность; мыши

Для цитирования:

Алексеев И. В., Мирошкина И. А., Сорокина А. В., Алексеева С. В., Волкова А. В., Захаров А. Д., Качалов К. С., Цорин И. Б., Колик Л. Г., Дурнев А. Д. Исследование острой токсичности димерного дипептидного миметика нейротрофина-3 на мышах. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2025;(1):60–68. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2025-1-60-68>. EDN: RTSIIW

Поступила: 15.01.2025. **В доработанном виде:** 20.02.2025. **Принята к печати:** 12.03.2025. **Опубликована:** 31.03.2025.

Study of acute toxicity of dimeric dipeptide mimetic of neurotrophin-3 in mice

Ivan V. Alekseev, Irina A. Miroshkina, Alexandra V. Sorokina, Svetlana V. Alekseeva, Anna V. Volkova, Aleksei D. Zakharov, Kirill S. Kachalov,
Iosif B. Tsorin, Larisa G. Kolik, Andrei D. Durnev

Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation

Abstract

Introduction. Low-molecular-weight mimetics of neurotrophin-3 (NT-3) are considered promising compounds for the development of novel drugs. One of the first stages in the preclinical studies of candidate drugs is the assessment of acute toxicity. The aim of this work was to evaluate the acute toxicity of the novel dimeric dipeptide mimic of the fourth loop of NT-3 (compound GTS-301) after intraperitoneal administration in female and male outbred mice.

Materials and methods. GTS-301 (hexamethylenediamide bis-(N-monosuccinyl L-asparaginy L-asparagine), substance in 1 % starch solution) was administered acutely intraperitoneally to mice in the maximum possible volume and concentration. The control group received an equivalent volume of 1 % starch solution. The time course of intoxication development in mice was recorded, along with a detailed description of the observed clinical signs. Euthanasia and postmortem examination were performed on the 15th day after GTS-301 administration.

Results. During a 14-day observation of mice that received GTS-301 at doses of 1 and 2 g/kg, caused the death of only one animal after the administration of the GTS-301 to the maximum permissible volume and the maximum possible concentration (2 g/kg) that did not allow calculating the median lethal dose of the compounds for mice. The morphological examination of internal organs during postmortem dissection of all experimental animals did not differ from that observed in controls.

Conclusion. It was determined that dipeptide mimetic of neurotrophin-3 (GTS-301) after acute intraperitoneal administration concerns to be practically non-toxic substance. According to classification by Sidorov K.K. (1973), this compound may be related to 5th toxicity class.

Keywords: Neurotrophin-3; GTS-301; acute toxicity; mice

For citations:

For citations: Alekseev IV, Miroshkina IA, Sorokina AV, Alekseeva SV, Volkova AV, Zakharov AD, Kachalov KS, Tsorin IB, Kolik LG, Durnev AD. Study of acute toxicity of dimeric dipeptide mimetic of neurotrophin-3 in mice. *Farmakokinetika i farmakodinamika* = *Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2025;(1):60–68. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2025-1-60-68>. EDN: RTSIIW

Received: 15.01.2025. **Revision received:** 20.02.2025. **Accepted:** 12.03.2025. **Published:** 31.03.2025.

Введение / Introduction

Нейротрофин-3 (NT-3), относящийся к семейству нейротрофических факторов, характеризуется стимулирующим действием на выживание и дифференцировку нейронов. NT-3 модулирует синаптический путь, включающий нейротрофиновый рецептор тирозинкиназу C (TrkC) и пресинаптический протеин тирозин-фосфатазу, являясь ключевым фактором в развитии возбуждающих синапсов, который может активировать различные внутриклеточные сигнальные каскады как положительный модулятор синаптогенеза [1]. Трудности доставки полноразмерных нейротрофинов в ЦНС млекопитающих при системном введении инициировали создание и разработку низкомолекулярных миметиков NT-3, которые рассматриваются как потенциальные средства для фармакотерапии психических расстройств [2].

На основе авторской стратегии создания фармакологически пригодных миметиков нейротрофинов на базе структуры наиболее экспонированного участка 4-й петли нейротрофина-3 сконструирован и синтезирован его оригинальный димерный дипептидный миметик гексаметилендиамид бис-(N-моносукцинил-L-аспарагинил-L-аспарагина) (ГТС-301) [3] (рис. 1).

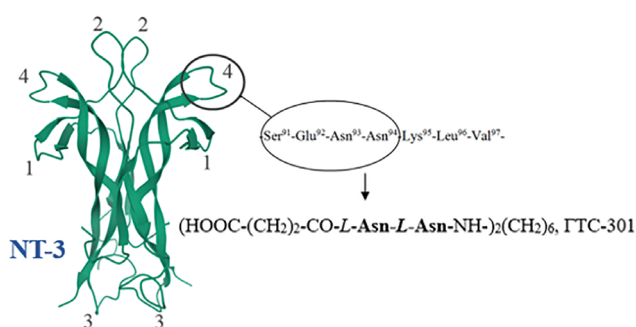


Рис. 1. Структура гомодимера NT-3 (pdb ID: 1nt3) с указанием петель 1–4 [3] и схемой дизайна ГТС-301

Fig. 1. The structure of the NT-3 homodimer (pdb ID: 1nt3) with the indication of loops 1–4 [3] and the design scheme of GTS-301

Спектр фармакологической активности ГТС-301 включает антидепрессантоподобные свойства [3], способность купировать соматические проявления отмены морфина у животных со сформированной зависимостью [4], а также нейропротективные свойства, выявленные на гиппокампальных клетках NT22 в условиях окислительного стресса [3].

Изучение распределения NT-3 в различных тканях у крыс с помощью иммуноферментного анализа позволило выявить широкое распространение нейротрофина в периферических тканях: в тимусе (31 нг/г), сердце (38 нг/г), диафрагме (21 нг/г), печени (45 нг/г), поджелудочной железе (892 нг/г), селезёнке (133 нг/г),

почках (40 нг/г) и надпочечниках (46 нг/г). У крыс NT-3 был обнаружен в высоких концентрациях в отдельных структурах головного мозга и в висцеральных мишенях узловых ганглиев, что указывает на возможные многочисленные биологически значимые роли NT-3 [5]. Оказалось, что NT-3 по разному регулирует синаптогенную активность TrkC: в концентрациях 10–25 нг/мл NT-3 усиливает увеличение плотности синапсов, вызванное избыточной экспрессией TrkC, а при повышении концентрации до 100 нг/мл NT-3 «отменяет» увеличение синаптической плотности [1]. Выявлен высокий уровень экспрессии TrkC-рецепторов в гладкомышечных клетках, в клетках лёгких, почек, сердца и сосудов [6, 7], где их биологическое действие остаётся до конца неясным. Согласно недавно полученным данным, интрамиокардиальные адипоциты и кардиомиоциты при аритмогенной дисплазии правого желудочка экспрессируют NT-3/TrkC, что позволяет предположить вовлечённость NT-3 и сопряжённых тирозинкиназных рецепторов в формировании электрической нестабильности миокарда [8].

Одним из первых обязательных этапов доклинического исследования перспективных лекарств-кандидатов является исследование острой токсичности. Целью настоящей работы явилась оценка острой токсичности вновь синтезированного димерного дипептидного миметика 4-й петли NT-3 (соединение ГТС-301), вводимого внутривенно самкам и самцам беспородных мышей.

Материалы и методы / Materials and methods

Животные. Исследование проводили на конвенциональных белых мышах из нелинейных популяций обоих полов в соотношении 1:1 (18 самок и 18 самцов) с начальной массой тела 18–20 г, возраст которых к началу эксперимента составлял 6–7 недель (Филиал «Андреевка» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства»). Животных содержали в стандартных контролируемых условиях вивария (20–26 °C, 30–70 % относительная влажность, 12-часовой цикл освещения и 8–10-кратная смена объёма воздуха в час) в течение 5 дней до начала эксперимента в полипропиленовых клетках Т/3 (370×200×150 мм) по 6 особей с предоставлением комбикорма для лабораторных животных ПК-120-191 (ООО «МЭСТ», Москва, Россия) и фильтрованной водопроводной воды *ad libitum*. Все работы с лабораторными животными утверждены комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» на предмет соответствия этическим принципам обращения с животными, выполнены в соответствии с ГОСТ 33044-2014 от 01.08.2015 «Принципы надлежащей лабораторной практики» и Рекомендациями Коллегии Евразийской экономической комиссии от 14.11.2023 г. № 33.

Препараты. В эксперименте использовали субстанцию гексаметилендиамид бис-(N- моносукцинил-аспарагинил-аспарагина т.пл. 214–229 °С (с разл.); $[\alpha]_{D22} - 20,2^\circ$ (с 1, DMSO)) (соединение ГТС-301), представляющую собой порошок белого цвета. Перед введением из субстанции готовили суспензию *ex tempore* дисперсионным методом на 1 % растворе крахмала.

ГТС-301 вводили однократно в дозах 1 и 2 г/кг внутрибрюшинно самкам и самцам мышей. Максимальная доза исследуемого соединения определялась максимально допустимым объёмом введения суспензии и его концентрацией, максимально возможной для технического прохождения через иглу. Животные контрольной группы однократно получили эквивалентный объём 1 % раствора крахмала, приготовленный непосредственно перед введением.

Протокол исследования. Наблюдение за контрольной и опытными группами мышей проводили в течение 14 суток. Первые 8 часов после введения препаратов каждая особь находилась в индивидуальной, прозрачной, пластиковой камере в целях непрерывного визуального наблюдения. Затем животных перемещали в клетки группового содержания, по 6 мышей в каждой. Дальнейшее наблюдение осуществляли ежедневно утром и вечером с целью выявления возможной гибели мышей. Оценивали общее состояние животных и особенности их поведения. Фиксировали следующие показатели: состояние шёрстного и кожного покрова; частота и глубина дыхания; ритм сердечных сокращений; угнетение исследовательского поведения и двигательной реакции (седация); возникновение активизации поведения (стимуляция); интенсивность и характер двигательной активности (гипо- или гиперактивность), наличие неврологического дефицита (нарушение координации движений, тремор и судороги); реакция на тактильные, болевые, звуковые и световые раздражители; эмоциональная напряжённость и груминг; наличие корнеального рефлекса, ушного рефлекса и рефлекса Штрауба; а также любые другие возможные показатели, свидетельствующие о токсических эффектах.

Массу тела животных определяли перед введением ГТС-301 или 1 % раствора крахмала, в первую неделю ежедневно, в дальнейшем — один раз в неделю. Мышей взвешивали на электронных весах SPU 601 (ОНАУС Соп.). Суточное потребление корма и воды мышами фиксировали до введения препаратов, в 1-е, 7-е и 14-е сутки, определяли суммарно по группе (клетке) посредством взвешивания, оставшегося в кормушке корма, и определения объёма выпитой из поилки воды (накануне фиксировали исходные значения показателей массы, корма и объёма воды).

Животных, павших в ходе исследования, вскрывали. Эвтаназию всех животных проводили способом дислокации шейных позвонков на 15-е сутки после однократного введения ГТС-301 или 1 % раствора

крахмала. При наружном осмотре павших мышей и выведенных из эксперимента животных оценивали их внешний вид, состояние кожного и шёрстного покровов, опорно-двигательного аппарата, естественных отверстий, видимых слизистых оболочек ротовой и носовой полости, конъюнктивы. В ходе патологоанатомического вскрытия с помощью макроскопической оценки исследовали головной мозг, органы дыхания, кровообращения, пищеварения, мочевыделения, репродукции, кроветворения, железы внутренней секреции.

Статистическую обработку полученных данных по динамике массы тела, потребления корма и воды проводили следующим образом. Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка, гомогенность дисперсий проверяли с помощью критерия Левена для множественных сравнений. Так как некоторые выборки отличались от нормального распределения, были использованы непараметрические критерии. Для сравнения зависимых выборок использовали непараметрический аналог дисперсионного анализа повторных сравнений по Фридману с последующей обработкой, методом множественных сравнений по Даннелу; для сравнения независимых выборок — непараметрический аналог однофакторного дисперсионного анализа по методу Краскела — Уоллиса с дальнейшей обработкой по Данну. Результаты были представлены в виде медиан и нижнего и верхнего квартилей. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение / Results and discussion

Установлено, что ГТС-301 в дозе 1 г/кг не вызывает гибели животных. В группе, получившей ГТС-301 в дозе 2 г/кг, отмечена гибель одной мыши (самки) на второй день наблюдения.

В ходе эксперимента у мышей развивалась сходная клиническая картина. Первые 2–4 минуты после введения ГТС-301 у животных наблюдалась двигательная активность. Также в этот период регистрировали наличие выраженного местнораздражающего действия на внутрибрюшинное введение (мышы втягивали бока, горбились и перемещались по клетке, вытягивая лапы так, чтобы не касаться животом пола). Затем отмечалось ухудшение состояния: мышы сидели неподвижно в углу. Периодически животные ложились, вытягивая задние лапы. У части мышей в этот же период наблюдали тремор, статическую атаксию и рефлекс Штрауба. Не было отмечено нарушений ушного и корнеального рефлексов. Когда через 8 часов животных перемещали в клетки группового содержания, все самки и самцы были активны и гиперактивны.

В течение всего 14-дневного периода исследования не было выявлено гибели мышей, за исключением самки № 4, найденной павшей в положении на животе утром на 2-е сутки после введения ГТС-301 в дозе

2 г/кг. Ухудшение её состояния (снижение активности, взъерошенность, сгорбленность) и снижение массы тела на 20 % было зафиксировано в 1-е сутки эксперимента. Выжившие мыши на 2-е и 3-и сутки после введения ГТС-301 были взъерошены и слегка горбились, проявляли активность и гиперактивность. Исключением являлась самка № 1 (группа, получившая ГТС-301 в дозе 2 г/кг), у которой двигательная активность была понижена в течение всего времени наблюдения. Остальные мыши с 2 или 3 суток и до окончания эксперимента были активны. При этом их дыхание, сердечно-сосудистая деятельность, состояние шёрстного покрова, кожи и видимых слизистых оболочек соответствовали норме. Нарушений ушного и корнеального рефлексов, а также рефлекса Штрауба не отмечали.

В контрольной группе после введения 1 % раствора крахмала в объёме, соответствующем максимальному для введения данному виду животных, у мышей не наблюдалось снижения двигательной активности. Через 2–3 минуты у большинства мышей отмечали активный груминг. Состояние шерсти, кожи и видимых слизистых оболочек, а также реакция на внешние раздражители соответствовали норме. В течение первых суток наблюдения состояние мышей не изменялось — животные оставались активными, охотно потребляли корм, пили воду. В дальнейшем в течение 14-дневного наблюдения за мышами контрольной группы нарушений рефлексов и других отклонений в состоянии не установлено.

Отличия в общем состоянии и поведении животных контрольной и опытных групп представлены в таблице 1.

В ходе наблюдения за потреблением корма и воды мышами после введения ГТС-301 в дозах 1 и 2 г/кг установлены значимые различия между экспериментальными и контрольной группами животных (табл. 2).

Показано, что в течение первых суток после однократного введения ГТС-301 у всех опытных самок (1 и 2 г/кг) и самцов (1 г/кг) потребление комбикорма было снижено по сравнению с таковым показателем контрольных животных. Однако на 7-е сутки приём корма у мышей этих групп восстанавливался практически до уровня контроля. Исключение составили самки, у которых после введения ГТС-301 в дозе 2 г/кг потребление корма было на 27 % меньше аналогичного показателя в контроле. К окончанию эксперимента значимое различие с контролем наблюдали только в группе, получившей ГТС-301 в дозе 1 г/кг: мыши потребляли комбикорм в среднем на 24 % больше, чем контрольные животные.

Показатели потребления воды, регистрируемые у мышей обоего пола после введения ГТС-301 в дозе 2 г/кг и у самцов в дозе 1 г/кг, на 1-е и 7-е сутки эксперимента были статистически значимо ниже данных контрольной группы. Однако к окончанию эксперимента значимые отличия в потреблении воды между опытными и контрольными мышами отсутствовали.

Наблюдение за динамикой массы и прироста массы тела мышей после введения ГТС-301 в дозах 1 и 2 г/кг

Таблица 1

Оценка показателей общего состояния животных и особенностей их поведения

Table 1

Assessment of indicators of the general condition of animals and features of their behavior

Показатель	ГТС-301 в дозах 1 г/кг и 2 г/кг	Контроль (1 % раствор крахмала)
Состояние шёрстного и кожного покровов	Бледность кожного покрова и видимых слизистых в течение 8 часов после введения ГТС-301, взъерошенность в течение 2–3 суток после введения ГТС-301, далее нормальное состояние шёрстного покрова	Без особенностей
Частота и глубина дыхания	Частое и поверхностное в течение 8 часов после введения ГТС-301	Без особенностей
Интенсивность и характер двигательной активности (гипо- или гиперактивность)	Гипоактивность через 3–4 минуты после введения ГТС-301, гиперактивность в течение 2–3 суток, далее активность	Без особенностей
Наличие неврологического дефицита (нарушение координации движений, тремор и судороги)	Тремор, статическая атаксия периодически, в течение 8 часов после введения ГТС-301	Без особенностей
Реакция на тактильные, болевые, звуковые и световые раздражители	Без особенностей	Без особенностей
Эмоциональная напряженность и груминг	Без особенностей	Без особенностей
Наличие корнеального рефлекса	Без особенностей	Без особенностей
Наличие ушного рефлекса	Без особенностей	Без особенностей
Наличие рефлекса Штрауба	У части мышей в первые минуты после введения ГТС-301	Отсутствовал

Таблица 2

Оценка суточного потребления воды и корма мышей в течение двух недель после однократного внутрибрюшинного введения ГТС-301 в дозах 1 и 2 г/кг

Table 2

Assessment of daily intake of water and feed in mice for two weeks after a single intraperitoneal injection of GTS-301 at doses of 1 and 2 g/kg

		Корм, г				Вода, мл			
		До введения	1-е сутки	7-е сутки	14-е сутки	До введения	1-е сутки	7-е сутки	14-е сутки
Контроль	♀	6,1 5,5÷6,7	4,8* 4,3÷5,4	5,2* 4,9÷5,8	5,2* 4,9÷5,5	5,0 4,4÷5,4	7,4* 6,7÷8,3	7,4* 6,9÷8,2	3,3* 3,2÷3,5
ГТС-301 1 г/кг	♀	4,2* 4,1÷4,6	2,9* 2,8÷3,1	5,6* 5,2÷6,0	6,4* 6,2÷6,8	8,0* 7,9÷8,8	7,2* 7,0÷7,9	8,2* 7,6÷8,8	4,9* 4,7÷5,3
ГТС-301 2 г/кг	♀	9,6 9,2÷10,0	2,5* 2,4÷2,7	3,5* 3,5÷3,9	4,5* 4,4÷4,9	4,2* 4,0÷4,3	5,0* 4,8÷5,4	2,9* 2,9÷3,2	3,9 3,8÷4,3
Контроль	♂	6,3 6,3÷6,4	4,7* 4,6÷4,7	7,0* 6,9÷7,2	6,1* 6,0÷6,1	5,0 4,9÷5,0	9,2* 9,1÷9,2	8,3* 8,2÷8,6	6,7* 6,7÷6,8
ГТС-301 1 г/кг	♂	6,5 6,4÷6,8	5,0* 4,9÷5,2	6,5 6,2÷6,5	7,6* 7,2÷7,8	8,4* 8,2÷8,7	7,5* 7,4÷7,8	6,8* 6,5÷6,8	6,9* 6,5÷7,1
ГТС-301 2 г/кг	♂	5,6* 5,2÷5,8	3,4* 3,1÷3,5	6,3* 6,0÷6,7	6,4* 6,0÷7,0	6,8* 6,3÷7,0	3,4* 3,1÷3,5	5,0* 4,8÷5,3	6,6 6,1÷7,2

Примечания: Данные представлены в виде медиан групп, нижних и верхних квартилей. Оценку значимости различий между выборочными средними осуществляли при условии, что статистическая совокупность включает не менее 4 наблюдений (числовых значений); * — статистически значимые различия ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой животных (обработка проведена по методу Краскела — Уоллиса с дальнейшими множественными сравнениями по Данну); * — статистически значимые различия ($p < 0,05$) по сравнению с исходными данными (обработка по критерию Фридмана с дальнейшими множественными сравнениями по Даннету).

Notes: The data are presented as medians of the groups, lower and upper quartiles. The significance of the differences between the sample averages was assessed on the condition that the statistical totality includes at least 4 observations (numerical values); * — statistically significant differences ($p < 0.05$) compared with the control group of animals (processing was carried out using the Kraskel-Wallis method with further multiple comparisons according to Data); * — statistically significant differences ($p < 0.05$) compared with the initial data (processing according to the Friedman criterion with further multiple comparisons according to the Data).

позволило установить значимые различия между экспериментальными и контрольной группами животных (рис. 2).

В течение первых суток эксперимента фиксировали снижение массы тела как у контрольных, так и экспериментальных животных. Со вторых суток наблюдалась тенденция к увеличению массы тела одновременно с улучшением общего состояния мышей. Однако показатели прироста массы оставались

отрицательными: у самок от 2 суток (1 г/кг) — до 4 суток (2 г/кг), у самцов от 1 (1 г/кг) и до 2 суток (2 г/кг). На протяжении 1-й недели значимые различия с контролем отмечали: только у самок, получивших ГТС-301 в дозе 2 г/кг (2–4 сутки); у самцов первые 3 суток (1 г/кг) и всю первую неделю (2 г/кг). На 7-й и 14-й день эксперимента показатели прироста массы тела у самцов, которым вводили ГТС-301 в дозе 2 г/кг, были на 35 % ниже, чем в контроле.

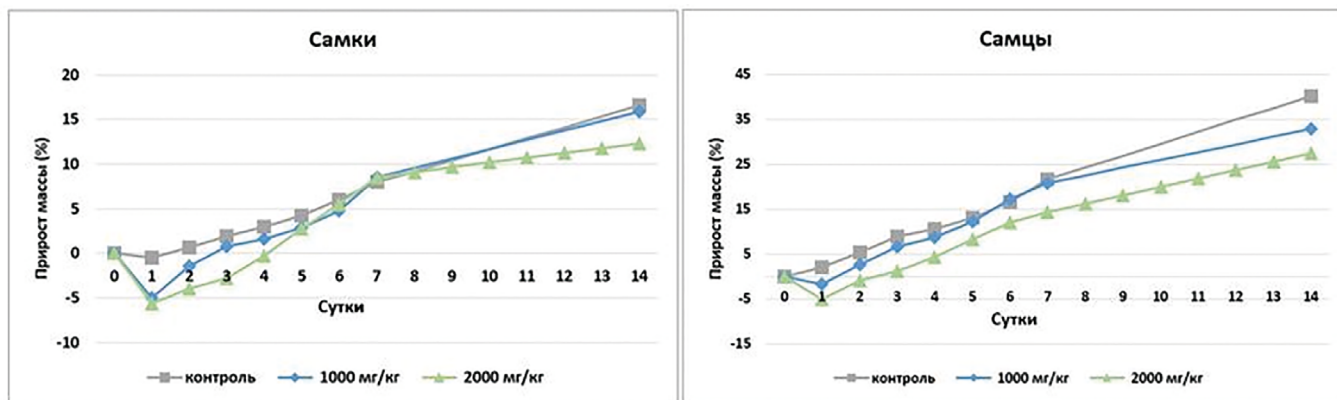


Рис. 2. Динамика прироста массы тела (%) у мышей после однократного внутрибрюшинного введения ГТС-301 в дозах 1 и 2 г/кг

Fig. 2. Dynamics of body weight gain (%) in mice after a single intraperitoneal injection of GTS-301 at doses of 1 and 2 g/kg

При патологоанатомическом вскрытии мыши № 4, павшей на 2-е сутки после введения ГТС-301 в дозе 2 г/кг, было обнаружено выраженное расстройство кровообращения. Венечные сосуды сердца были полнокровны. Полости желудочков и предсердий были переполнены тёмной, густой кровью. На поверхности почек и в их мозговом слое, а также на поверхности тимуса, яичников и надпочечников были обнаружены небольшие и точечные кровоизлияния. Была выявлена выраженная инъекция сосудов головного мозга, органов тазовой и брюшной полостей, а также брыжейки, тела и рогов матки.

В ходе патологоанатомического вскрытия всех выживших и выведенных на 15-е сутки после введения ГТС-301 из эксперимента мышей показано, что морфологическая картина их внутренних органов не отличалась от таковой, наблюдаемой у контрольных животных (табл. 3).

В процессе скрининга потенциальных лекарственных веществ возникает необходимость оценки их класса токсичности. На ранних этапах исследования, как правило, при определении острой токсичности предпочтение отдаётся парентеральным способам введения. Класс токсичности фармакологических ве-

Таблица 3

Данные патологоанатомического вскрытия мышей, выживших в ходе изучения острой токсичности ГТС-301

Table 3

Autopsy data from mice that survived the study of acute toxicity of GTS-301

Головной мозг	У мышей контрольной группы кости черепа без повреждений и изменений. Оболочки мозга гладкие, блестящие. Полушария большого мозга влажные, одинаковой формы и величины, упругой консистенции, умеренного кровенаполнения. Мозжечок и продолговатый мозг без изменений. В опытных группах изменений по сравнению с контрольной группой не выявлено.
Органы дыхания	У мышей контрольной группы гортань без особенностей, трахея и бронхи обычного вида и размеров. Слизистая оболочка без повреждений, бледноватого оттенка, гладкая, блестящая. Лёгкие бледно-розового цвета, на разрезе упругие, воздушные, без истечения жидкости. Висцеральная плевро гладкая. Паратрахеальные лимфатические узлы без особенностей. В опытных группах изменений по сравнению с контрольной группой не выявлено
Органы кровообращения	У мышей контрольной группы размеры сердца, консистенция сердечной мышцы, эпикард, миокард, эндокард обычного вида. Предсердно-желудочковые отверстия проходимы. Толщина стенки правого и левого желудочка без изменений. Кровенаполнение венечных сосудов умеренное. Интима аорты гладкая, блестящая, диаметр аорты неизменён. В опытных группах изменений по сравнению с контрольной группой не выявлено.
Органы пищеварения	У мышей контрольной группы язык, глотка, слизистая оболочка пищевода без видимых изменений. Желудок обычной формы и размеров, слизистая оболочка бледно-розовая, складчатая, блестящая. Тонкий и толстый кишечник заполнены характерным содержимым, их слизистая гладкая, блестящая. Лимфатические узлы стенок кишечника и брыжейки без особенностей. Печень по форме и величине изменений не имеет. Соскоб печени не выражен, капсула не напряжена. На разрезе заметен характерный рисунок дольчатости. Жёлчный пузырь заполнен прозрачной жидкостью жёлтого цвета. Поджелудочная железа не увеличена, мягкой консистенции, бледно-жёлтого цвета, на разрезе заметна дольчатая структура. В опытных группах изменений по сравнению с контрольной группой не выявлено.
Органы мочевыделения	У контрольных мышей величина, форма, и консистенция почек без изменений. Соотношение коркового и мозгового слоя правильное, слизистая лоханок не изменена. Слизистая оболочка мочевого пузыря не повреждена, бледно-серого цвета. В опытных группах изменений по сравнению с контрольной группой не выявлено.
Органы репродукции	У самок контрольных мышей тело матки плотное, величина и форма без изменений. Оба рога матки тонкие, слизистая оболочка бледноватая. Яичники по цвету и величине без изменений, плотные, с неровной поверхностью. У самцов контрольных мышей семенники эллипсоидной формы, бледно-серого цвета, их величина и консистенция без изменений. Придатки семенников и пузырьковые железы без особенностей. В опытных группах изменений по сравнению с контрольной группой не выявлено.
Органы кроветворения	У мышей контрольной группы селезёнка плотная, обычной величины, пульпа на разрезе зернистая, красно-коричневого цвета. Капсула селезёнки не напряжена, соскоб не выражен. В опытных группах изменений по сравнению с контрольной группой не выявлено.
Железы внутренней секреции	У мышей контрольной группы щитовидная железа по величине, форме, окраске и консистенции без изменений. Надпочечники обычного вида, размера, цвета и плотности. На разрезе заметна граница между корковым и мозговым слоем. Тимус бледно-жёлтого цвета, обычных формы, величины и консистенции. В опытных группах изменений по сравнению с контрольной группой не выявлено.

шеств, наряду с другими характеристиками, помогает в принятии решения о перспективности дальнейшей разработки лекарственного средства [9]. При изучении острой токсичности дипептидного миметика NT-3 соединения ГТС-301 на аутбредных мышах обоего пола при внутривенном введении в дозах 1 и 2 г/кг, в максимально допустимом объёме и концентрации наблюдалась гибель одного животного, при этом средняя смертельная доза не была определена из-за технической невозможности введения препарата в дозах, способных вызвать гибель большинства животных. Это позволяет отнести ГТС-301 к 5-му классу токсичности («практически нетоксично») по классификации Сидорова К. К. [10]

Сходные данные ранее были получены при токсикологических исследованиях низкомолекулярных миметиков других нейротрофинов, в частности, миметика фактора роста нервов (NGF) [11] и мозгового нейротрофического фактора (BDNF) [12]. Так, например, при исследовании острой токсичности лиофилизата дипептидного димерного миметика 4-й петли NGF соединения под шифром ГК-2 при внутривенном введении белым мышам LD₅₀ составила 15,4 г/кг для самок и 15,7 г/кг для самцов [13], что

позволило отнести ГК-2 к 6-му классу токсичности («относительно безвредный») [10]. Собственные исследования оригинальных лекарственных средств, разработанных на основе эндогенных регуляторных пептидов [14, 15], подтвердили безопасность препаратов пептидной природы и перспективность их разработки для внедрения в клиническую практику.

Заключение / Conclusion

Таким образом, ГТС-301 при однократном внутривенном введении является практически нетоксичным соединением и по классификации Сидорова К. К. [10] может быть отнесён к 5 классу токсичности («практически нетоксично»). Вместе с ранее опубликованными данными о фармакологической активности ГТС-301, полученные результаты предоставляют дополнительные доказательства, подтверждающие целесообразность дальнейшей разработки нового синтетического дипептидного миметика нейротрофина-3 в качестве первого в своём классе пептидного лекарственного кандидата для фармакотерапии психических нарушений, сопровождающихся когнитивными дисфункциями и снижением болевого порога.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ADDITIONAL INFORMATION

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interest.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Алексеев Иван Владимирович — врач-детский онколог отделения детской онкологии, н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку

e-mail: alekseev_iv@academpharm.ru

РИНЦ SPIN-код: 9757-6210

Ivan V. Alekseev — Junior Research Scientist of the Laboratory of Drug Toxicology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation

Corresponding autor

e-mail: alekseev_iv@academpharm.ru

RSCI SPIN code: 9757-6210

Мирошкина Ирина Александровна — к. б. н., с. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии, ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3208-198X>

SPIN-код: 4697-7938

Irina A. Miroshkina — PhD, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher of Laboratory of Drug Toxicology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3208-198X>

SPIN code: 4697-7938

Сорокина Александра Валериановна — к. б. н., в. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9600-7244>

Alexandra V. Sorokina — PhD, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher of the Laboratory of Drug Toxicology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9600-7244>

Алексеева Светлана Витальевна — с. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1262-6997>
РИНЦ SPIN-код: 8985-3418

Svetlana V. Alekseeva — Senior researcher of the laboratory of drug toxicology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1262-6997>
RSCI SPIN code: 8985-3418

Волкова Анна Валерьевна — с. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
РИНЦ SPIN-код: 9587-6581

Anna V. Volkova — Senior Research Scientist of the Laboratory of Drug Toxicology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
RSCI SPIN code: 9587-6581

Захаров Алексей Дмитриевич — м. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
РИНЦ SPIN-код: 9013-6228

Aleksei D. Zakharov — Junior Research Scientist of the Laboratory of Drug Toxicology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
RSCI SPIN code: 9013-6228

Качалов Кирилл Сергеевич — м. н. с. лаборатории генетической и репродуктивной токсикологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1340-5034>
РИНЦ SPIN-код: 2992-6789

Kirill S. Kachalov — Junior Research Scientist of the Laboratory of Genetic and Reproductive Toxicology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1340-5034>
RSCI SPIN code: 2992-6789

Цорин Иосиф Борисович — д. б. н., в. н. с. лаборатории фармакологии кровообращения ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3988-7724>
РИНЦ SPIN-код: 4015-3025

Iosif B. Tsorin — PhD, Dr. Sci. (Biology), Leading Researcher of Laboratory of Circulation Pharmacology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3988-7724>
RSCI SPIN code: 4015-3025

Колик Лариса Геннадьевна — д. б. н., профессор РАН, руководитель лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9847-8058>
РИНЦ SPIN-код: 9126-6922

Дурнев Андрей Дмитриевич — д. м. н., профессор, член-корр. РАН, зав. отделом лекарственной токсикологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация
e-mail: durnev_ad@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0912-7684>
РИНЦ SPIN-код: 8426-0380

Larisa G. Kolik — PhD, Dr. Sci. (Biology), Professor of the Russian Academy of Sciences, Head of laboratory of medicinal toxicology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9847-8058>
RSCI SPIN code: 9126-6922

Andrei D. Durnev — PhD, Dr. Sci. (Med.), professor, corresponding member RAS, Head of the department of drug toxicology, Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation
e-mail: durnev_ad@academpharm.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0912-7684>
RSCI SPIN code: 8426-0380

Список литературы / References

- Han KA, Woo D, Kim S, et al. Neurotrophin-3 Regulates Synapse Development by Modulating TrkC-PTP α Synaptic Adhesion and Intracellular Signaling Pathways. *J Neurosci*. 2016 Apr 27;36(17):4816-31. doi: 10.1523/jneurosci.4024-15.2016.
- De Miranda AS, de Barros JLV, Teixeira AL. Is neurotrophin-3 (NT-3): a potential therapeutic target for depression and anxiety? *Expert Opin Ther Targets*. 2020 Dec; 24(12):1225-1238. doi: 10.1080/14728222.2020.1846720.
- Гудашева Т.А., Сазонова Н.М., Тарасюк А.В., и др. Первый дипептидный миметик нейротрофина-3: дизайн и фармакологические свойства. *Доклады Российской академии наук. Науки о жизни*. 2022;505(1):303-309. [Gudasheva TA, Sazonova NM, Tarasiuk AV, et al. The First Dipeptide Mimetic of Neurotrophin-3: Design and Pharmacological Properties. *Dokl Biochem Biophys*. 2022;505(1):160-165. (In Russ)]. doi: 10.1134/S1607672922040032.
- Kolik LG, Konstantinopolsky MA, Nikolaev SV, et al. Low-Molecular Neurotrophin-3 Mimetics with Different Patterns of Postreceptor Signaling Activation Attenuate Differentially Morphine Withdrawal in Rats. *Biochemistry (Mosc)*. 2024 Nov;89(11):1961-1969. doi: 10.1134/S0006297924110105.
- Katoh-Semba R, Kaisho Y, Shintani A, et al. Tissue distribution and immunocytochemical localization of neurotrophin-3 in the brain and peripheral tissues of rats. *J Neurochem*. 1996 Jan; 66(1):330-7. doi: 10.1046/j.1471-4159.1996.66010330.x.
- Donovan MJ, Miranda RC, Kraemer R, et al. Neurotrophin and neurotrophin receptors in vascular smooth muscle cells. Regulation of expression in response to injury. *Am J Pathol*. 1995 Aug;147(2):309-24.
- Tessarollo L, Tsoulfas P, Martin-Zanca D, et al. trkC, a receptor for neurotrophin-3, is widely expressed in the developing nervous system and in non-neuronal tissues. *Development*. 1993 Jun;118(2):463-75. doi: 10.1242/dev.118.2.463.
- Ghenev P, Kitanova M, Popov H, et al. Neuroadipobiology of arrhythmogenic right ventricular dysplasia. An immunohistochemical study of neurotrophins. *Adipobiology*. 2017;8:55. doi: 10.14748/adipo.v8.2214.
- Березовская И.В. Классификация химических веществ по параметрам острой токсичности при парентеральных способах введения. *Химико-фармацевтический журнал*. 2003;37(3):32-34. [Berezovskaya IV. Klassifikatsiya khimicheskikh veshchestv po parametram ostroi toksichnosti pri parenteral'nykh sposobakh vvedeniya. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2003;37:32-34. (In Russ)]. Доступно по: <http://chem.folium.ru/index.php/chem/article/view/13>. Ссылка активна на 10.01.2025.
- Сидоров К.К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения. *Токсикология новых промышленных химических веществ*. 1973;13:47-51. [Sidorov KK. O klassifikatsii toksichnosti yadov pri parenteral'nykh sposobakh vvedeniya. *Toksikologiya novykh promyshlennyykh khimicheskikh veshchestv*. 1973;13:47-51. (In Russ)].
- Сорокина А.В., Алексеева С.В., Мирошкина И.А., и др. Исследование острой и хронической токсичности готовой лекарственной формы ГК-2. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2019;(2):51-58. [Sorokina AV, Alekseeva SV, Miroshkina IA, et al. GK-2 new drug with neuroprotective properties the study of acute and chronic toxicity of the finished dosage forms. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2019;(2):51-58. (In Russ)]. doi: 10.24411/2588-0519-2019-10048.
- Алексеева С.В., Сорокина А.В., Волкова А.В., и др. Исследование острой и хронической токсичности готовой лекарственной формы дипептидного миметика мозгового нейротрофического фактора ГСБ-106. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2019;(2):46-50. [Alekseeva SV, Sorokina AV, Volkova AV, Zabrodina VV, Miroshkina IA, Kachalov KS, Alekseev IV, Zaharov AD, Povarnina PYu, Durnev AD. The study of the acute and chronic toxicity dipeptide mimetic of brain-derived neurotrophic factor GSB-106 finished dosage form. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2019;(2):46-50. (In Russ)]. doi: 10.24411/2588-0519-2019-10047.
- Сорокина А.В., Мирошкина И.А., Волкова А.В., Алексеева С.В. Исследование острой токсичности препарата ГК-2. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2018;81(5):229. [Sorokina AV, Miroshkina IA, Volkova AV, Alekseeva SV. Issledovanie ostroi toksichnosti preparata GK-2. *Ekspperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2018; 81(5):229. (In Russ)].
- Коваленко Л.П., Смольникова Н.М., Алексеева С.В. и др. Доклиническое изучение токсичности ноопепта. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2002;65(1):62-64. [Kovalenko LP, Smol'nikova NM, Alekseeva SV, et al. Doklinicheskoe izuchenie toksichnosti noopepta. *Ekspperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2002;65(1):62-64. (In Russ)]. doi: 10.30906/0869-2092-2002-65-1-62-64.
- Сорокина А.В., Алексеева С.В., Немова Е.П., и др. Доклиническое исследование безопасности дипептидного соединения ГБ-115. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2010;73(6):29-32. [Sorokina AV, Alekseeva SV, Nemova EP, et al. Doklinicheskoe issledovanie bezopasnosti dipeptidnogo soedineniya GB-115. *Ekspperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2010;73(6):29-32. (In Russ)]. doi: 10.30906/0869-2092-2010-73-6-29-32.



Фармакокинетика валсартана у пациентов с контролируемой и неконтролируемой артериальной гипертензией

Селезнев С. В., Мыльников П. Ю., Шулькин А. В.

ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова»
Минздрава России, Рязань, Российская Федерация

Аннотация

Актуальность. Артериальная гипертензия (АГ) широко распространена во всём мире. К сожалению, лишь небольшая часть пациентов достигает целевых показателей артериального давления (АД). Одной из возможных причин неэффективности лечения АГ являются особенности фармакокинетики антигипертензивных препаратов.

Цель. Оценить фармакокинетику валсартана у пациентов с АГ.

Методы. Проведено открытое когортное исследование. В анализ включены 28 пациентов, из них 15 (53,6 %) с неконтролируемой АГ. Все пациенты регулярно принимали валсартан, амлодипин, индапамид в течение месяца. Утром натощак перед и через 2 ч после приёма валсартана у всех больных брали образцы венозной крови для оценки его концентрации методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией.

Результаты. По основным сопутствующим заболеваниям пациенты двух групп были сопоставимы. C_{0h} и C_{2h} валсартана статистически значимо не отличались у пациентов с контролируемой и неконтролируемой АГ. У 39,3 % пациентов C_{0h} и C_{2h} валсартана находились в границах терапевтического диапазона (ТД). У 50 % пациентов C_{0h} не достигла нижней границы ТД, а у трёх пациентов концентрация валсартана превысила верхнюю границу ТД, у одного из них превышала верхнюю границу ТД почти в три раза. У 13 пациентов, которым валсартан не был рекомендован к приёму, он был найден в следовых количествах.

Заключение. Таким образом, для повышения эффективности и безопасности терапии валсартаном целесообразно мониторирование его концентрации в сыворотке крови.

Ключевые слова: фармакокинетика; валсартан; артериальная гипертензия; высокоэффективная жидкостная хроматография с тандемной масс-спектрометрией

Для цитирования:

Селезнев С. В., Мыльников П. Ю., Шулькин А. В. Фармакокинетика валсартана у пациентов с контролируемой и неконтролируемой артериальной гипертензией. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2025;(1):69–75. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2025-1-69-75>. EDN: XGAUKX

Поступила: 07.12.2024. **В доработанном виде:** 20.01.2025. **Принята к печати:** 12.02.2025. **Опубликована:** 31.03.2025.

Valsartan pharmacokinetics in patients with controlled and uncontrolled arterial hypertension

Sergey V. Seleznev, Pavel Yu. Mylnikov, Aleksey V. Shchulkin
Ryazan State Medical University, Ryazan, Russian Federation

Abstract

Relevance. Arterial hypertension (AH) is widespread throughout the world. Unfortunately, only a small proportion of patients achieve target blood pressure (BP). One of the possible reasons for the ineffectiveness of AH treatment is the pharmacokinetics of antihypertensive drugs.

Objective. To test valsartan pharmacokinetics in patients with AH.

Material and methods. An open cohort study was conducted. The analysis included 28 patients, including 15 (53.6 %) with uncontrolled AH. All patients regularly took valsartan, amlodipine, indapamide for a month. In the morning before and 2 hours after taking valsartan, venous blood samples were taken from all patients to assess its concentration using high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry.

Results. Patients of the two groups were comparable in terms of major comorbidities. C_{0h} and C_{2h} of valsartan did not statistically differ in patients with controlled and uncontrolled AH. In 39.3 % of patients, C_{0h} and C_{2h} of valsartan were within the therapeutic range (TD). In 50 % of patients, C_{0h} did not reach the lower limit of TD, and in three patients, the concentration of valsartan exceeded the upper limit of TD, in one of them it exceeded the upper limit of TD almost three times. In 13 patients for whom valsartan was not recommended, it was found in trace amounts.

Conclusion. Thus, to improve the efficacy and safety of valsartan therapy, it is advisable to monitor its concentration in the blood serum.

Keywords: pharmacokinetics; valsartan; arterial hypertension; high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry

For citations:

Seleznev SV, Mylnikov PYu, Schulkin AV. Valsartan pharmacokinetics in patients with controlled and uncontrolled arterial hypertension. *Farmakokinetika i farmakodina-mika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2025;(1):69–75. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2025-1-69-75>. EDN: XGAUKX

Received: 07.12.2024. **Revision received:** 20.01.2025. **Accepted:** 12.02.2025. **Published:** 31.03.2025.

Введение / Introduction

Артериальная гипертензия (АГ) широко распространена во всём мире [1]. Исследование ЭССЕ-РФ показало, что в 2017 г. в России встречаемость АГ среди взрослого населения в России составила 44,2 % [2].

К большому сожалению, лишь небольшая доля пациентов, страдающих АГ, достигают целевых показателей артериального давления (АД) — от 10 до 44 % [3, 4], что существенно повышает риск развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий [5–7].

Одной из возможных причин неэффективности лечения может являться изменение фармакокинетики антигипертензивных препаратов, когда после их приёма не достигаются терапевтические концентрации в плазме/сыворотке крови [8].

Ранее нами были изучены концентрации амлодипина [9] и лизиноприла [10] у пациентов с контролируемой и неконтролируемой АГ.

Целью данной работы явился анализ фармакокинетики антагониста рецепторов ангиотензина II (БРА) валсартана у пациентов с АГ.

Материалы и методы / Materials and methods

Проведено клиническое одноэтапное контролируемое исследование на базе Рязанского областного клинического кардиологического диспансера (г. Рязань, Россия), период исследования — февраль 2022 г.—февраль 2024 г.

Исследование было одобрено Локальным этическим комитетом при Рязанском государственном медицинском университете имени академика И.П. Павлова (Протокол заседания № 11 от 04.03.2022).

Критерии включения были следующими:

- возраст старше 18 лет;
- подписанная форма информированного согласия;
- установленный диагноз АГ на основании клинических рекомендаций «Артериальная гипертензия у взрослых», утверждённых Научно-практическим советом Минздрава РФ, 2020 г. [11];
- обязательное соблюдение пациентами рекомендаций по модификации образа жизни в соответствии с клиническими рекомендациями «Артериальная гипертензия у взрослых», утверждёнными Научно-практическим советом Минздрава РФ, 2020 г. [11].
- регулярный приём блокатора ренин в течение месяца, возможно, в фиксированных комбинациях, в стабильных дозировках;
- фертильные пациентки женского пола должны использовать надлежащие методы контрацепции на протяжении всего периода исследования.

Критерий исключения:

- связь пациента с организацией или проведением исследования;
- беременность.

Всем пациентам проводилось плановое обследование, которое включало: антропометрию, оценку АД, частоты сердечных сокращений (ЧСС), общий и биохимический анализы крови, анализ мочи, эхокардиографию.

Кроме того, всем пациентам проводилось круглосуточное мониторирование артериального давления (СМАД). По результатам СМАД были сформированы две группы пациентов:

1. *Контролируемая АГ.* Пациенты, которые по данным СМАД соответствовали следующим критериям: среднесуточное систолическое артериальное давление (САД) < 135 мм рт. ст., среднесуточное диастолическое артериальное давление (ДАД) < 85 мм рт. ст., среднее ночное САД < 120 мм рт. ст., среднее ночное ДАД < 80 мм рт. ст.

2. *Неконтролируемая АГ.* Пациенты, у которых, по данным СМАД имелся хотя бы один из следующих маркеров плохого контроля АД: среднесуточное САД ≥ 135 мм рт. ст., среднесуточное ДАД ≥ 85 мм рт. ст., среднее ночное САД ≥ 120 мм рт. ст., среднее ночное ДАД ≥ 80 мм рт. ст.

После рандомизации утром перед следующим приёмом антигипертензивных препаратов и через 2 ч после проводился сбор образцов венозной крови для оценки концентрации валсартана методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией с помощью хроматографа Ultimate 3000 и масс-спектрометра TSQ Fortis (ThermoFisher).

В качестве внутреннего стандарта использовали фексофенадин в концентрации 10 нг/мл. Для пробоподготовки к 200 мкл сыворотки крови добавляли 600 мкл метанола с внутренним стандартом, встряхивали на шейкере 1 минуту, а затем центрифугировали при 19000×g (Avanti JXN-3, Beckman Coulter) в течение 10 минут при 4 °С. 600 мкл супернатанта переносили в вials и помещали в автосамплер для дальнейшего анализа. Объём инъекции составил 20 мкл. Для хроматографического анализа использовали колонку UCT Selectra C18 4,6×100 мм, 3 мкм, 100А с предколонкой Selectra C18 Guard Cartridges SLC-18GDC46-3UM, температуру 35 °С, градиентный режим элюирования (соотношение 0,1 % муравьиной кислоты/ацетонитрила: 0 мин — 80 %/20 %, 0,1 мин — 60 %/40 %, 6 мин — 15 %/85 %, 10 мин — 15 %/95 %, 10 мин — 80 %/20 %) и скорость потока 400 мкл/мин.

Условия детектирования были следующими: ионизация электроспреем в положительном режиме, напряжение 3500 В, температура испарителя 350 °С, температура трубки для переноса ионов 300 °С, режим — мониторинг множественных реакций (MRM).

Оценивали следующие переходы: для валсартана 436,2 → 206,3* (энергия столкновения 27 В, напряжение линз 104 В), 436,2 → 234,9 (энергия столкновения 18 В, напряжение линз 104 В), для

фексофенадина 502,3 → 171 (энергия столкновения 27 В, напряжение линз 110 В), 502,3 → 466,2* (энергия столкновения 27 В, напряжение линз 110 В).

Аналитический метод был валидирован по следующим параметрам: селективность, калибровочная кривая, точность, прецизионность, предел количественного определения, перенос образца, стабильность образца и матричный эффект.

Линейность была получена путём построения различных калибровочных кривых в пределах концентрации 1–1000 нг/мл. Калибровочные кривые показали хорошую линейность с коэффициентами корреляции ($R^2 \geq 0,99$) в диапазоне от 1 до 1000 нг/мл [12].

Полученные результаты обрабатывали с использованием программ StatSoft Statistica 13.0 (США, номер лицензии JPZ811I521319AR25ACD-W) и Microsoft Excel for MAC ver. 16.24 (ID 02984-001-000001). Распределение полученных данных оценивали с помощью критерия Шапиро–Уилка. Если значение имело нормальное распределение, использовали t-критерий Стьюдента для оценки статистической значимости различий. В остальных случаях использовался тест Манна–Уитни. Значения частот сравнивались с помощью точного критерия Фишера. Полученные результаты представлены в таблицах и графиках в виде среднего арифметического и стандартного отклонения ($M \pm SD$) при нормальном распределении данных или медианы, верхних и нижних квартилей (Me ($Q1$; $Q2$)) для ненормального распределения.

Результаты / Results

В исследование было включено 28 пациентов, из которых целевые показатели АД были достигнуты у 13 человек (46 %).

Демографические показатели пациентов приведены в таблице 1.

Пациенты с контролируемой и неконтролируемой АГ статистически значимо не отличались ни по полу, ни по среднему возрасту, ни по медиане массы тела. Результаты СМАД представлены в таблице 2.

Пациенты в сравниваемых группах статистически значимо отличались по дневному САД, ДАД и ночному САД. Статистически значимых отличий по ночному ДАД в сравниваемых группах выявлено не было.

Информация по сопутствующим заболеваниям представлена в таблице 3.

По основным сопутствующим заболеваниям пациенты двух групп были сопоставимы между собой. Частота заболеваний желудочно-кишечного тракта и почек, которые могли повлиять на фармакокинетику валсартана, в двух группах была сопоставима.

Медиана суточной дозы и режим приёма валсартана представлен в таблице 4. Ни медиана суточной дозы, ни кратность приёма изучаемого препарата статистически значимо не отличались у пациентов с контролируемой и неконтролируемой АГ. Также статистически значимые различия не были выявлены при сопоставлении равновесной концентрации ($C_{0ч}$) и концентрации через 2 часа после приёма ($C_{2ч}$) анализируемого препарата.

Таблица 1

Демографические данные пациентов

Table 1

Patient demographics

Показатель	Вся выборка (n = 28)	Неконтролируемая АГ (n = 13)	Контролируемая АГ (n = 15)	p (Стьюдента, Манна–Уитни, точный критерий Фишера)
Пол, муж	11 (39,3 %)	6 (46,2 %)	5 (33,3 %)	0,7
Средний возраст, лет	63,6 (12)	60,5 (14,4)	66,4 (9,2)	0,19
Масса тела, кг	89 (79,3; 98,5)	90 (82; 100)	87 (75,5; 98)	0,34

Таблица 2

Данные суточного мониторинга АД (Me ($Q1$; $Q2$))

Table 2

Data of daily blood pressure monitoring (Me ($Q1$; $Q2$))

Показатель	Вся выборка (n = 28)	Неконтролируемая АГ (n = 13)	Контролируемая АГ (n = 15)	p (Манна–Уитни)
САД день, мм рт. ст.	130 (122,5; 141,3)	142 (139; 157)	123 (118,5; 125,5)	<0,001
ДАД день, мм рт. ст.	75,5 (66,8; 82,3)	83 (75; 91)	67 (61,5; 77)	0,002
САД ночь, мм рт. ст.	115 (107,5; 121,5)	126 (117; 148)	109 (103,5; 115)	0,003
ДАД ночь, мм рт. ст.	57,5 (52,8; 67)	63 (54; 76)	55 (49,5; 65)	0,065

Таблица 3

Сопутствующие заболевания

Table 3

Concomitant diseases

Показатель	Вся выборка (n = 28)	Неконтролируемая АГ (n = 13)	Контролируемая АГ (n = 15)	p (точный критерий Фишера)
Коронарный атеросклероз	7 (25%)	4 (30,8 %)	3 (20 %)	0,67
ХСН есть	6 (21,4%)	2 (15,4 %)	4 (26,7 %)	0,65
Перенесённое ОНМК	1 (3,6%)	0 (0 %)	1 (6,7 %)	1
Фибрилляция предсердий	11 (39,3%)	4 (30,8 %)	7 (46,7 %)	0,46
Сахарный диабет	5 (17,9%)	3 (23,1 %)	2 (13,3 %)	0,63
Заболевания почек и мочевыводящих путей	11 (39,3%)	7 (53,8 %)	4 (26,7 %)	0,24
Патология желудочно- кишечного тракта	12 (42,9%)	6 (46,2 %)	6 (40 %)	1

Таблица 4

Медиана суточной дозы, режим приёма $C_{0ч}$ и $C_{2ч}$ валсартана

Table 4

Median daily dose, dosing regimen of valsartan C_{0h} and C_{2h}

Показатель	Вся выборка (n = 28)	Неконтролируемая АГ (n = 13)	Контролируемая АГ (n = 15)	p (Манна-Уитни, точный критерий Фишера)
Медиана суточной дозы, мг	160 (97,1; 320)	80 (80; 160)	80 (60; 160)	0,65
Однократный приём	2 (7,1 %)	1 (7,7 %)	1 (6,7 %)	1
Двухкратный приём	26 (92,9 %)	12 (92,3 %)	14 (93,3 %)	
$C_{0ч}$, нг/мл	698,6 (431,7; 1019,1)	844,9 (549,5; 1154)	521,3 (362,8; 1014,2)	0,4
$C_{2ч}$, нг/мл	1 651,9 (835,6; 3191)	1 609,4 (843; 3323,1)	1 694,4 (836,3; 3075,8)	0,8

Согласно данным литературы, терапевтический диапазон (ТД) концентрации валсартана в сыворотке крови составляет 800–6000 нг/мл [13].

Диаграмма рассеивания $C_{0ч}$ и $C_{2ч}$ валсартана в зависимости от суточной дозы представлена на рисунке 1.

Обращает на себя внимание один случай почти трёхкратного превышения верхней границы ТД $C_{0ч}$ и два случая незначительного превышения ТД $C_{2ч}$ валсартана.

Мы сопоставили концентрацию валсартана, а также её соответствие ТД у пациентов с контролируемой и неконтролируемой АГ (табл. 5).

Было установлено, что лишь около 40 % пациентов имели концентрацию валсартана в крови, соответствующую ТД. У 2 пациентов (1 — в группе, контролируемой АГ, 1 — в группе неконтролируемой АГ) концентрация валсартана превышала терапевтический диапазон. У 5 пациентов ни $C_{0ч}$, ни $C_{2ч}$ не достигли нижней границы ТД. У одного пациента из группы контролируемой АГ валсартан не был обнаружен ни в одной пробе сыворотки крови.

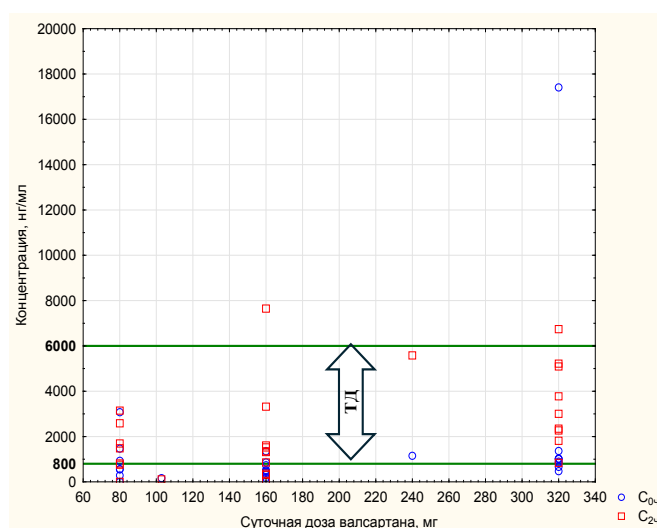


Рис. 1. Диаграмма рассеивания концентрации валсартана в зависимости от суточной дозы

Fig. 1. Scatter plot of valsartan concentrations as a function of daily dose

Таблица 5

Результаты анализа крови на концентрацию валсартана и её соответствие терапевтическому диапазону

Table 5

Results of blood analysis for valsartan concentration and its compliance with the therapeutic range

Показатель	Вся выборка (n = 28)	Неконтролируемая АГ (n = 13)	Контролируемая АГ (n = 15)	p (точный критерий Фишера)
Соответствует ТД				
C _{0ч} , C _{2ч} в ТД	11 (39,3 %)	6 (46,2 %)	5 (33,3 %)	0,7
Потенциальная передозировка				
C _{0ч} и C _{2ч} выше верхней границы ТД	1 (3,6 %)	0 (0 %)	1 (6,7 %)	1
C _{0ч} в ТД, C _{2ч} выше верхней границы ТД	1 (3,6 %)	1 (7,7 %)	0 (0 %)	0,46
Низкая концентрация				
C _{0ч} и C _{2ч} ниже нижней границы ТД	5 (17,9 %)	3 (23,1 %)	3 (13,3 %)	1
C _{0ч} ниже нижней границы ТД, C _{2ч} в ТД	9 (32,1 %)	3 (23,1 %)	6 (40 %)	0,43
Препарат не найден	1 (3,6 %)	0 (0 %)	1 (6,7 %)	1

Следует также отметить, что среди участников исследования, которым валсартан не был назначен, у 13 пациентов данный препарат был выявлен в анализируемых пробах — у 7 (7,1 %) пациентов в группе неконтролируемой и 6 (7,1 %) — в группе, контролируемой АГ, $p = 0,75$).

Обсуждение / Discussion

Валсартан является одним из представителей фармакологического класса БРА, являющимся одним из основных в лечении АГ [11] и характеризующимся меньшей частотой побочных эффектов по сравнению с другими классами антигипертензивных препаратов [7, 14].

Валсартан является активной молекулой, не требующей предварительного пресистемного метаболизма [15]. Для валсартана характерен дозозависимый антигипертензивный эффект [16]. После всасывания максимальная концентрация валсартана в плазме крови достигается через 2–4 ч после приёма [17].

Биотрансформация валсартана осуществляется цитохромом CYP2C8, мутации в гене, которого приводят к существенному замедлению его метаболизма и увеличению C_{max} и AUC [18].

В ходе настоящего исследования в российской популяции впервые была оценена фармакокинетика валсартана у пациентов с контролируемой и неконтролируемой АГ.

Сопоставление C_{0ч} и C_{2ч} валсартана у пациентов с контролируемой и неконтролируемой АГ статистически значимых различий не выявило. Это может свидетельствовать о том, что фармакокинетика

валсартана не вносит существенного вклада в неэффективность лечения АГ.

При определении соответствия концентраций валсартана ТД установлено, что лишь у 39,3 % пациентов C_{0ч} и C_{2ч} находились в границах ТД, что может гарантировать достаточную эффективность и безопасность лечения. У 50 % пациентов C_{0ч} не достигла нижней границы ТД, что говорит о возможном резерве увеличения дозы для достижения ТД.

У трёх пациентов в одной из анализируемых точек концентрация валсартана превысила верхнюю границу ТД, при этом у одного из них C_{0ч} превысила верхнюю границу ТД почти в 3 раза. Данный факт может быть следствием как бесконтрольного приёма препарата, так и полиморфизма системы цитохромов, приводящего к замедлению метаболизма данного препарата и росту его плазменной концентрации [18].

При этом у одного пациента валсартан в сыворотке крови выявлен не был. Причиной невыявления валсартана может явиться неприверженность пациента к лечению, а также нарушение всасывания препарата в желудочно-кишечном тракте [19].

Интересным является также факт выявления валсартана в следовых количествах у пациентов, которые принимали ингибитор ангиотензинпревращающего фермента лизиноприл, а валсартан не был рекомендован к приёму (7,1 %), что является следствием несоблюдения врачебных рекомендаций и потенциально может привести к нежелательным лекарственным реакциям вследствие комбинирования двух препаратов, влияющих на активность ренин-ангиотензин-альдостероновой системы [20].

Заключение / Conclusion

Таким образом, в ходе настоящего исследования установлено, что эффективность лечения артериальной гипертензии не зависит от концентрации валсартана в сыворотке крови. При этом у 50 % пациентов как с контролем, так и без контроля АД равновесная концентрация валсартана в плазме крови находится ниже нижней границы ТД, что свидетельствует о том, что пациенты принимают

данный лекарственный препарат не эффективно. У 3 пациентов концентрация валсартана превышала терапевтический диапазон, что может привести к развитию нежелательных лекарственных реакций, а у 13 пациентов, которым валсартан не был назначен, он был выявлен в следовых количествах. Полученные результаты свидетельствуют о том, что мониторинг концентрации валсартана в сыворотке крови может быть полезным для повышения эффективности и безопасности проводимой терапии.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов

Все авторы внесли существенный вклад в подготовку работы, прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией. *Селезнев С. В.* — ответственен за выполнение клинической части исследования, статистический анализ полученных результатов; *Мыльников П. Ю.* — выполнение ВЭЖХ-МС/МС анализа; *Шулькин А. В.* — автор научной идеи, дизайна, общей концепции исследования, занимался обработкой, интерпретацией полученных данных и окончательной корректурой статьи.

Финансирование

Работа поддержана грантом Президента РФ № МД-13.10.2022.3.

ADDITIONAL INFORMATION

Conflict of interests

The team of authors declares that there is no conflict of interest in the preparation of this article.

Authors' participation

All the authors made a significant contribution to the preparation of the work, read and approved the final version of the article before publication. *Seleznev SV* — responsible for the implementation of the clinical part of the study, statistical analysis of the obtained results; *Mylnikov PYu* — performing HPLC-MS/MS analysis; *Shchulkin AV* — author of the scientific idea, design, general concept of the study, was engaged in processing, interpretation of the obtained data and final proofreading of the article.

Funding

Работа поддержана грантом Президента РФ № МД-13.10.2022.3.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Селезнев Сергей Владимирович — к. м. н., доцент, доцент кафедры госпитальной терапии с курсом медико-социальной экспертизы ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, Рязань, Российская Федерация
e-mail: sv.seleznev@gmail.com
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4069-8082>

Мыльников Павел Юрьевич — к. б. н., доцент кафедры фармакологии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, Рязань, Российская Федерация
Автор, ответственный за переписку
e-mail: dukeviperlr@gmail.com
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7829-2494>

Sergey V. Seleznev — PhD, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Associate Professor of the Department of Hospital Therapy with a Course in Medical and Social Expertise, Ryazan State Medical University, Ryazan, Russian Federation
e-mail: sv.seleznev@gmail.com
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4069-8082>

Pavel Yu. Mylnikov — PhD, Cand. Sci. (Biol.), Associate Professor of the Department of Pharmacology Ryazan State Medical University, Ryazan, Russian Federation

Corresponding author

e-mail: dukeviperlr@gmail.com
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7829-2494>

Шулькин Алексей Владимирович — д. м. н., доцент, профессор кафедры фармакологии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, Рязань, Российская Федерация
e-mail: alekseyshulkin@rambler.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1688-0017>

Aleksey V. Shchulkin — PhD, Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Professor of the Department of Pharmacology, Ryazan State Medical University, Ryazan, Russian Federation
e-mail: alekseyshulkin@rambler.ru
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1688-0017>

Список литературы / References

1. Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, et al. 2013 ESH/ESC guidelines for the management of arterial hypertension: the Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2013 Jul;34(28):2159-219. doi: 10.1093/eurheartj/ehd151.
2. Баланова Ю.А., Шальнова С.А., Имаева А.Э., и др. Распространенность артериальной гипертензии, охват лечением и его эффективность в Российской Федерации (данные наблюдательного исследования ЭССЕ-РФ-2). *Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии*. 2019;15(4):450-466. [Balanova YA, Shalnova SA, Imaeva AE. Prevalence, Awareness, Treatment and Control of Hypertension in Russian Federation (Data of Observational ESSE-RF-2 Study). *Rational Pharmacotherapy in Cardiology*. 2019;15(4):450-466. (In Russ.)]. doi: 10.20996/1819-6446-2019-15-4-450-466.
3. Fang J, Alderman MH, Keenan NL, et al. Hypertension control at physicians' offices in the United States. *Am J Hypertens*. 2008 Feb;21(2):136-42. doi: 10.1038/ajh.2007.35.
4. Pereira M, Lunet N, Azevedo A, Barros H. Differences in prevalence, awareness, treatment and control of hypertension between developing and developed countries. *J Hypertens*. 2009 May;27(5):963-75. doi: 10.1097/hjh.0b013e3283282f65.
5. Ettehad D, Emdin CA, Kiran A, et al. Blood pressure lowering for prevention of cardiovascular disease and death: a systematic review and meta-analysis. *Lancet*. 2016 Mar 5;387(10022):957-967. doi: 10.1016/S0140-6736(15)01225-8.
6. Lewington S, Clarke R, Qizilbash N, et al. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet*. 2002 Dec 14;360(9349):1903-13. doi: 10.1016/S0140-6736(02)11911-8.
7. Thomopoulos C, Parati G, Zanchetti A. Effects of blood pressure lowering on outcome incidence in hypertension. 1. Overview, meta-analyses, and meta-regression analyses of randomized trials. *J Hypertens*. 2014 Dec;32(12):2285-95. doi: 10.1097/HJH.0000000000000378.
8. Punt AM, Stienstra NA, van Kleef MEA, et al. Screening of cardiovascular agents in plasma with LC-MS/MS: A valuable tool for objective drug adherence assessment. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2019 Jul 15;1121:103-110. doi: 10.1016/j.jchromb.2019.05.013.
9. Селезнев С.В., Косяков А.В., Мыльников П.Ю., и др. Фармакокинетика амлодипина у пациентов с артериальной гипертензией. *Доктор.Ру*. 2024;23(1):27-32. [Seleznev SV, Kosyakov AV, Mylnikov PYu, et al. Pharmacokinetics of amlodipine in patients with arterial hypertension. *Doctor.Ru*. 2024;23(1):27-32. (In Russ.)]. doi: 10.31550/1727-2378-2024-23-1-27-32.
10. Селезнев С.В., Шулькин А.В., Косяков А.В., и др. Фармакокинетика лизиноприла у пациентов с контролируемой и неконтролируемой артериальной гипертензией. *Научно-медицинский вестник Центрального Черноземья*. 2023;24(4):25-34. [Seleznev SV, Shchulkin AV,

Kosyakov AV, et al. Farmakokinetika lizinopriila u pacientov s kontroliruemoy i nekontroliruemoy arterial'noj gipertenziej. *Nauchno-medicinskij vestnik Central'nogo Chernozem'ya*. 2023;24(4):25-34. (In Russ.)]. doi: 10.18499/1990-472X-2023-24-4-[%]p.

11. Кобалава Ж.Д., Конради А.О., Недогода С.В., и др. Артериальная гипертензия у взрослых. Клинические рекомендации 2020. *Российский кардиологический журнал*. 2020;25(3):3786. [Kobalava ZhD, Konradi AO, Nedogoda SV, et al. Arterial hypertension in adults. Clinical guidelines 2020. *Russian Journal of Cardiology*. 2020;25(3):3786. (In Russ.)]. doi: 10.15829/1560-4071-2020-3-3786.

12. Мыльников П.Ю., Шулькин А.В., Селезнев С.В., и др. Разработка и валидация метода количественного определения лизиноприла, индапамида, метопролола, валсартана и амлодипина в сыворотке крови людей методом ВЭЖХ-МС/МС. *Химико-фармацевтический журнал*. 2024;58(3):49-53. [Mylnikov PYu, Shchulkin AV, Seleznev SV, et al. Development and validation of a method for quantitative determination of lisinopril, indapamide, metoprolol, valsartan and amlodipine in human serum by HPLC-MS/MS. *Chemical and Pharmaceutical Journal*. 2024;58(3):49-53. (In Russ.)]. doi: 10.30906/0023-1134-2024-58-3-49-53.

13. Sutherland JJ, Morrison RD, McNaughton CD, et al. Assessment of Patient Medication Adherence, Medical Record Accuracy, and Medication Blood Concentrations for Prescription and Over-the-Counter Medications. *JAMA Netw Open*. 2018 Nov 2;1(7):e184196. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2018.4196.

14. Kronish IM, Woodward M, Sergie Z, et al. Meta-analysis: impact of drug class on adherence to antihypertensives. *Circulation*. 2011. Apr 19;123(15):1611-21. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.110.983874.

15. Леонова М.В. Клиническая фармакология антагонистов рецепторов АТ II: особенности валсартана. *Медицинский совет*. 2014;(17):66-71. [Leonova MV. Klinicheskaya farmakologiya antagonistov receptorov AT II: osobennosti valsartana. *Medicinskij sovet*. 2014;(17):66-71. (In Russ.)].

16. Israeli ZH. Clinical pharmacokinetics of angiotensin II (AT1) receptor blockers in hypertension. *J Hum Hypertens*. 2000 Apr;14 Suppl 1:S73-86. doi: 10.1038/sj.jhh.1000991.

17. Waldmeier F, Flesch G, Müller P, et al. Pharmacokinetics, disposition and biotransformation of [¹⁴C]-radiolabelled valsartan in healthy male volunteers after a single oral dose. *Xenobiotica*. 1997 Jan;27(1):59-71. doi: 10.1080/004982597240767.

18. Cabaleiro T, Román M, Ochoa D, et al. Evaluation of the relationship between sex, polymorphisms in CYP2C8 and CYP2C9, and pharmacokinetics of angiotensin receptor blockers. *Drug Metab Dispos*. 2013 Jan;41(1):224-9. doi: 10.1124/dmd.112.046292.

19. Ward N. The impact of intestinal failure on oral drug absorption: a review. *J Gastrointest Surg*. 2010 Jun;14(6):1045-51. doi: 10.1007/s11605-009-1151-9.

20. McAlister FA, Zhang J, Tonelli M, et al. The safety of combining angiotensin-converting-enzyme inhibitors with angiotensin-receptor blockers in elderly patients: a population-based longitudinal analysis. *CMAJ*. 2011 Apr 5;183(6):655-62. doi: 10.1503/cmaj.101333.



Журнал непрерывного профессионального образования «Пациентоориентированная медицина и фармация» создан для развития и внедрения в клиническую практику технологий персонализированной медицины, включая «омиксные» биомаркеры, выбора методов лечения, а также клеточную и генную терапию; улучшения результатов лечения отдельных пациентов в реальной клинической практике с учётом целей, предпочтений, ценностей пациента, а также имеющихся экономических ресурсов, как на уровне пациента, так и на уровне системы здравоохранения.

Сайт журнала: www.patient-oriented.ru



Журнал «Качественная клиническая практика» публикует материалы по планированию и проведению клинических исследований лекарственных средств, фармакоэкономике, фармакоэпидемиологии, биомедицинской этике, фармаконадзору, которые используются в преподавательской работе во многих медицинских ВУЗах.

Сайт журнала: www.clinvest.ru



Журнал «Фармакокинетика и Фармакодинамика» освещает фундаментальные и прикладные аспекты доклинических и клинических исследований фармакокинетики, в частности терапевтического лекарственного мониторинга, фармакодинамического и биофармацевтического изучения препаратов, их взаимодействия, оценки их биодоступности и биоэквивалентности.

Сайт журнала: www.pharmacokinetica.ru



Журнал «Фармакогенетика и фармакогеномика» публикует оригинальные статьи о проведённых клинических, клинико-экспериментальных и фундаментальных научных работах, обзоры, лекции, описания клинических случаев, а также вспомогательные материалы по всем актуальным проблемам персонализированной медицины.

Сайт журнала: www.pharmacogenetics-pharmacogenomics.ru



Журнал «Антибиотики и химиотерапия» освещает проблемы поиска и получения новых антибиотиков, ферментов, биологически активных веществ, а также вопросы экспериментальной химиотерапии бактериальных и вирусных инфекций.

Сайт журнала: www.antibiotics-chemotherapy.ru



Журнал «Реальная клиническая практика: данные и доказательства» ставит своей целью предоставить средство для распространения и форум для обсуждения информации о том, как лекарственные препараты действуют в рутинной медицинской практике. Рубрики журнала включают как оригинальные исследования, так и обзоры использования реальных данных для оценки исходов лечения, принятия обоснованных медицинских решений в отношении лекарственных препаратов, медицинских изделий и других вмешательств.

Сайт журнала: www.myrwd.ru

