

Некоторые особенности токсикологических свойств специфического иммунобиостимулятора «Трансфер-фактор» в доклинических испытаниях

П. В. Бурков¹, П. Н. Щербаков¹, М. А. Дерхо¹, М. Б. Ребезов^{2,3✉}, А. О. Дерхо¹

¹ Южно-Уральский государственный аграрный университет, Троицк, Россия

² Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук, Москва, Россия

³ Уральский государственный аграрный университет, Екатеринбург, Россия

✉ E-mail: rebezov@yandex.ru

Аннотация. Цель работы – оценить некоторые аспекты токсикологической безопасности специфического иммунобиостимулятора «Трансфер-фактор» в моделях лабораторных животных. **Методы.** Эксперименты выполнены на мышах, крысах и морских свинках. Оценка токсикологической безопасности препарата «Трансфер-фактор» включала определение следующих характеристик: хроническая токсичность, оценка специфической активности, оценка эмбриотоксических и тератогенных свойств, оценка аллергизирующих свойств. **Результаты.** Установлено, что введение препарата «Трансфер-фактор» в хроническом токсикологическом эксперименте сопровождается развитием в организме грызунов тремора мышц, продолжительность которого зависит от вводимой дозы, способа введения и времени экспозиции, но при этом увеличивается их масса тела на 6,29–10,63 %. При аутопсии животных опытных групп не выявлено видимых изменений в расположении внутренних органов и скопления жидкости в брюшной и плевральной полостях, хотя отмечены некоторые патологические изменения цвета, консистенции и размера легких, селезенки, печени и сердца. Массовые коэффициенты данных органов изменяются на фоне увеличения дозы препарата «Трансфер-фактор», особенно при внутрибрюшинном способе введения, до 10,39 %. Тестируемый препарат в реакции бласттрансформации лимфоцитов увеличивает количество бластов с 0,20 до 1,40 %. Совокупность данных позволяет констатировать, что препарат «Трансфер-фактор» в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76 относится к IV классу опасности «вещества малоопасные» и может быть рекомендован для дальнейших клинических испытаний, в которых не будет использована дозировка, превышающая 6 мл/кг живой массы, при введении которой у лабораторных животных развивается комплекс изменений во внутренних органах. **Научная новизна.** Введение «Трансфер-фактора» не оказывает влияния на состояние и функции репродуктивных органов (матка, яичники) беременных крыс, а также не проявляет отрицательного эмбриотоксического и тератогенного эффекта в их организме. При исследовании аллергизирующих свойств препарата выявлено, что он не вызывает в организме морских свинок реакцию общей анафилаксии, не оказывает раздражающего действия на кожу в реакции иммунных комплексов и конъюнктиву глаза в конъюнктивальном тесте.

Ключевые слова: трансфер-фактор, острая токсичность, мыши, крысы, морские свинки, аллергизирующие свойства, бласттрансформация лейкоцитов

Благодарности. Исследования выполнены в рамках регионального конкурса Российского научного фонда 2021 года «Проведение фундаментальных научных исследований и поисковых научных исследований отдельными научными группами» (соглашение № 22-16-20007 от 25.03.2022 г.).

Для цитирования: Бурков П. В., Щербаков П. Н., Дерхо М. А., Ребезов М. Б., Дерхо А. О. Некоторые особенности токсикологических свойств специфического иммунобиостимулятора «Трансфер-фактор» в доклинических испытаниях // Аграрный вестник Урала. 2024. Т. 24, № 09. С. 1172–1192. <https://doi.org/10.32417/1997-4868-2024-24-09-1172-1192>.

Дата поступления статьи: 12.07.2024, **дата рецензирования:** 19.08.2024, **дата принятия:** 22.08.2024.

Some features of toxicological properties of a specific immunobiostimulator “Transfer factor” in preclinical trials

P. V. Burkov¹, P. N. Shcherbakov¹, M. A. Derkho¹, M. B. Rebezov^{2,3✉}, A. O. Derkho¹

¹South Ural State Agrarian University, Troitsk, Chelyabinsk region, Russia

²Gorbatov Research Center for Food Systems, Moscow, Russia

³Ural State Agrarian University, Ekaterinburg, Russia

✉E-mail: rebezov@yandex.ru

Abstract. The purpose of the study is to evaluate some aspects of toxicological safety of a specific immunobiostimulant “Transfer factor” in laboratory animal models. **Methods.** The experiments were performed on mice, rats and guinea pigs. The toxicological safety assessment of the “Transfer factor” preparation included the determination of the following characteristics: chronic toxicity, assessment of specific activity, assessment of embryotoxic and teratogenic properties, assessment of allergenic properties. **Results.** It was established that the introduction of the “Transfer factor” preparation in a chronic toxicological experiment is accompanied by the development of muscle tremor in the rodents’ body, the duration of which depends on the administered dose, route of administration and exposure time, but their body weight increases by 6.29–10.63 %. Autopsy of experimental group animals revealed no visible changes in the arrangement of internal organs and fluid accumulation in the abdominal and pleural cavities, although some pathological changes in color, consistency and size of the lungs, spleen, liver and heart were noted. The mass coefficients of these organs change with an increase in the dose of the administered drug “Transfer factor”, especially with the intraperitoneal route of administration up to 10.39 %. The tested drug in the reaction of lymphocyte blast transformation increases the number of blasts from 0.20 to 1.40 %. The totality of data allows us to state that the drug “Transfer factor” in accordance with GOST 12.1.007-76 belongs to the IV hazard class “low-hazard substances” and it can be recommended for further clinical trials, in which a dosage exceeding 6 ml/kg of live weight will not be used, when administered to laboratory animals, a complex of changes in the internal organs develops. **Scientific novelty.** The introduction of “Transfer factor” does not affect the condition and functions of the reproductive organs (uterus, ovaries) of pregnant rats, and the drug does not exhibit a negative embryotoxic and teratogenic effect in their body. When studying the allergenic properties of the drug, it was found that it does not cause a general anaphylaxis reaction in the body of guinea pigs, does not irritate the skin in the reaction of immune complexes and the conjunctiva of the eye in the conjunctival test.

Keywords: transfer factor, acute toxicity, mice, rats, guinea pigs, allergenic properties, leukocyte blast transformation

Acknowledgements. The research was carried out within the framework of the regional competition of the Russian Science Foundation 2021 “Conducting fundamental scientific research and exploratory scientific research by individual scientific groups” (agreement No. 22-16-20007 dated March 25, 2022).

For citation: Burkov P. V., Shcherbakov P. N., Derkho M. A., Rebezov M. B., Derkho A. O. Some features of toxicological properties of a specific immunobiostimulator “Transfer factor” in preclinical trials. *Agrarian Bulletin of the Urals*. 2024; 24 (09): 1172–1192. <https://doi.org/10.32417/1997-4868-2024-24-09-1172-1192>. (In Russ.)

Date of paper submission: 12.07.2024, **date of review:** 19.08.2024, **date of acceptance:** 22.08.2024.

Постановка проблемы (Introduction)

Неотъемлемой частью доклинических испытаний является оценка всех видов токсичности нового лекарственного препарата, поскольку только те соединения, которые продемонстрировали безопасность применения, могут быть апробированы в клинических исследованиях [1]. При этом под безопасностью фармакологических препаратов понимают баланс между его терапевтической эффективностью и риском развития различных эффектов, включая и токсические [2].

Для характеристики токсикологических свойств новых фармсредств для ветеринарного применения используется несколько моделей, позволяющих оценить и прогнозировать действие соединений в организме животных с учетом специфики их метаболизма [3]. Алгоритм исследований определяется правилами лабораторной практики, регламентируемыми федеральным законодательством [4] и нормативными принципами [5], в совокупности позволяющими выполнить точный сбор токсикологических данных. При этом в качестве объекта исследований

используется несколько видов экспериментальных животных, имеющих сходство с животным организмом, для которого разрабатывается препарат, с точки зрения развития различных процессов живых (биологических) систем.

Модель доклинических испытаний позволяет охарактеризовать определенные свойства тестируемых препаратов, среди которых важную роль играют токсикологические характеристики действующего вещества (общетоксические свойства, местная переносимость, гено-, репродуктивно- и иммунотоксичность, канцерогенность и т. д.) [2], так как они определяют его потенциальную безопасность для животного организма, а также являются решающими при определении суточной дозы введения разрабатываемого препарата.

Однако необходимо четко соблюдать баланс между экспериментами *in vivo* и *in vitro* с учетом требований процедуры оценки безопасности лекарственного средства и этических соображений при использовании животных [6].

Токсические эффекты действующего вещества разрабатываемых препаратов наиболее ярко проявляются в органах-мишенях животного организма. При этом они дозозависимы, сопряжены с экспозицией и потенциальной обратимостью действия [7]. Согласно данным [8], токсические реакции животного организма на лекарства – это «биологические реакции на чужеродные вещества». Их проявление обусловлено наличием молекулярных мишеней, которые можно делить на две категории: целевые и нецелевые. В то же время существует точка зрения, что лекарственные препараты по своей сути токсичны, так как для живого организма являются ксенобиотиками [9] и инициируют изменения на молекулярном, клеточном и/или тканевом уровнях.

Модель дисбаланса – это результат формирования адаптационного процесса в животном организме на фоне фармакологической активности препарата, определяющего риски при его использовании [10].

В работе [11] утверждается, что токсикологический эффект, проявляющийся в ходе тестирования фармпрепарата, можно рассматривать как неблагоприятный результат, который позволяет проанализировать механизмы токсичности и корректировать их за счет внесения изменений в структуру и свойства нового препарата.

Поэтому при разработке новых фармакологических препаратов раннее выявление проблем с их токсичностью предотвращает неудачи на поздних этапах исследований [6].

При этом основными аспектами, формирующими прогноз о безопасности лекарственных форм, являются результаты определения его острой и хронической токсичности [12].

Цель настоящего исследования включала оценку некоторых аспектов токсикологической безопасности специфического иммунобиостимулятора «Трансфер-фактор» в моделях лабораторных животных (хроническая токсичность, эмбрио-, тератогенные и аллергизирующие свойства, специфическая активность лимфоцитов).

Методология и методы исследования (Methods)

Особенности токсикологических свойств препарата «Трансфер-фактор» изучены в лаборатории иммунологии и патобиохимии Уральского научно-исследовательского ветеринарного института (Уральского НИВИ, г. Екатеринбург, Россия), имеющей аккредитацию на проведение данных исследований. Исследования проводились по договору с ФГБОУ ВО Южно-Уральский ГАУ (г. Челябинск, Россия).

Протокол экспериментальных исследований был одобрен комитетом по биоэтике ФГБНУ «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», далее по тексту УрФАНИЦ УрО РАН (г. Екатеринбург, Россия). Уральский НИВИ является структурным подразделением УрФАНИЦ УрО РАН.

Работа планировалась и проводилась в соответствии с учебным пособием «Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте» [13] и Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ [14; 15].

Общая характеристика препарата «Трансфер-фактор»

Препарат «Трансфер-фактор» – это специфический иммунобиостимулятор, полученный из крови крупного рогатого скота, вакцинированного против респираторно-репродуктивной и цирковирусной инфекции свиней, при помощи современных биотехнологических методов [16–20]. Его действующим веществом являются белки и пептиды, полученные из лейкоцитов крови гипериммунизированных доноров.

Внешний вид и цвет препарата «Трансфер-фактор», представленного для испытания, определялся визуально. Установлено, что он представляет собой прозрачную, слегка опалесцирующую жидкость, соответствующая заявленным органолептическим показателям.

Характеристика животных

Лабораторные животные в первый раз использовались в экспериментальной работе. Для этого они все прошли через 14-суточный карантин. У них визуально были оценены состояние здоровья и возможность использования в работе.

Содержание животных и уход за ними регламентировалось Приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации № 199н от 01.04.2016

«Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики» [21], ГОСТ 33216-2014 [22] и ГОСТ 33215-2014 [23].

Основным кормом в рационе лабораторных животных являлся комбикорм, рецептура которого соответствовала биологическим потребностям организма грызунов. Комбикорм был изготовлен на Богдановичском комбикормовом заводе (г. Богдановичи, Россия) по ГОСТ 34566-2019 [24]. Кроме этого, животные имели свободный доступ к водопроводной питьевой воде. Ее качество и безопасность соответствовали ГОСТ Р 51232-98 [25].

Лабораторные животные содержались в помещениях вивария Уральского НИВИ. Микроклимат характеризовался стандартными условиями, в которых контролировался режим освещения (12-часовой цикл света и темноты), температура воздуха (20–22 °С) и относительная влажность (50–60 %). Последние определялись при помощи гигрометра психрометрического ВИТ-2 (АО «Термоприбор», Россия), показания которого регистрировались ежедневно. Средства измерения поверены.

В качестве критерия здоровья лабораторных животных использовали массу тела. Она служила основанием для их включения в опытные группы. Массу тела лабораторных животных определяли путем индивидуального взвешивания на весах CAS SW-10 (Южная Корея). Средства измерения поверены.

Разброс особей по массе тела, оцененный при помощи коэффициента вариации, в опытных группах не превышал 10 %.

Для каждой экспериментальной модели опытные группы формировались за 5 дней до начала работы. При этом каждая особь маркировалась.

Оценка токсикологической безопасности препарата «Трансфер-фактор» включала определение следующих характеристик (рис. 1).

1. *Хроническая токсичность.* Мы использовали минимальную продолжительность хронического

эксперимента – 14 дней. Она изучалась на двух видах грызунов, опытные группы формировались из самок:

а) белых мышей. Их возраст составлял 9–10 недель, масса тела – 18–22 г. В эксперименте участвовало 40 особей;

б) белых крыс. Возраст животных варьировал от 8 до 10 недель, масса тела – от 150 до 160 г. В работе использовано 40 особей.

Биологические особенности лабораторных животных, из которых были созданы опытные группы, характеризовались тем, что особи были половозрелыми, условно здоровыми, не имели в анамнезе беременность и роды. Сорок белых мышей случайным образом были рандомизированы в четыре группы по 10 голов в каждой.

Аналогичный подход был использован и при формировании опытных групп из белых крыс.

Всего было сформировано восемь опытных групп.

Тестируемый препарат вводился лабораторным животным ежедневно в следующих дозировках (таблица 1).

Детальный осмотр животных проводили 1 раз в день по общепринятой схеме. Обращали внимание на смертность, пищевое поведение (потребление корма, воды), состояние кожи и волосяного покрова, цвет видимых слизистых оболочек, поведенческую активность. В то же время массу тела грызунов измеряли один раз в неделю.

Эксперимент заканчивался эвтаназией, при проведении которой руководствовались принципами гуманного отношения к животным. После эвтаназии была выполнена аутопсия, в ходе которой проводили взвешивание внутренних органов с целью расчета их массовых коэффициентов [14].

2. *Оценка специфической активности.* Для этих целей использовали реакцию бласттрансформации лейкоцитов (лимфоцитов), основанной на их способности переходить в бластоподобные формы под действием определенных антигенов [26].



Рис. 1. Оценка токсикологической безопасности препарата «Трансфер-фактор»

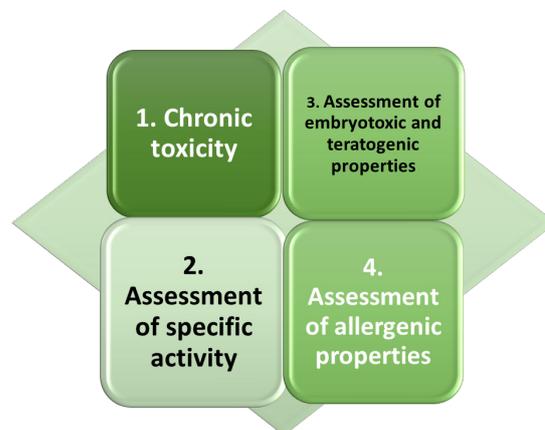


Fig. 1. Assessment of toxicological safety of the drug "Transfer Factor"

Таблица 1
Экспериментальный дизайн

Вид лабораторных животных	Маркировка опытных групп	Способ введения препарата	Суточная доза препарата, мл/гол
Белые мыши ($n = 10$)	I	Внутримышечно	0,10
Белые мыши ($n = 10$)	II	Внутримышечно	0,25
Белые мыши ($n = 10$)	III	Внутрибрюшинно	0,50
Белые мыши ($n = 10$)	IV	Внутрибрюшинно	0,75
Белые крысы ($n = 10$)	V	Внутримышечно	1,00
Белые крысы ($n = 10$)	VI	Внутримышечно	2,50
Белые крысы ($n = 10$)	VII	Внутрибрюшинно	2,50
Белые крысы ($n = 10$)	VIII	Внутрибрюшинно	3,75

Table 1
Experimental design

Type of laboratory animals	Labeling of experimental groups	Route of administration of the drug	Daily dose of the drug, ml/head
White mice ($n = 10$)	I	Intramuscularly	0.10
White mice ($n = 10$)	II	Intramuscularly	0.25
White mice ($n = 10$)	III	Intraperitoneally	0.50
White mice ($n = 10$)	IV	Intraperitoneally	0.75
White rats ($n = 10$)	V	Intramuscularly	1.00
White rats ($n = 10$)	VI	Intramuscularly	2.50
White rats ($n = 10$)	VII	Intraperitoneally	2.50
White rats ($n = 10$)	VIII	Intraperitoneally	3.75

Таблица 2

Дизайн экспериментов по изучению эмбриотоксических и тератогенных свойств препарата

Маркировка опытных групп	Способ введения препарата	Суточная доза, мл/гол	Препарат
I группа (опытная)	Подкожно	2,50 мл/гол	Трансфер-фактор
II группа (контрольная)			Физиологический раствор
III группа (опытная)		3,75 мл/гол	Трансфер-фактор
IV группа (контрольная)			Физиологический раствор

Table 2
Design of experiments to study the embryotoxic and teratogenic properties of the drug

Labeling of experimental groups	Method of drug administration	Daily dose, ml/head	Preparation
Group I (experimental)	Subcutaneously	2.50	Transfer factor
Group II (control)			Saline
Group III (experimental)		3.75	Transfer factor
Group IV (control)			Saline

3. Оценка эмбриотоксических и тератогенных свойств. В данных исследованиях использовались беременные белые крысы. В начале эксперимента их масса тела колебалась от 150 до 160 г.

Период введения препарата «Трансфер-фактор» и наблюдения за животными колебался с 1-го по 19-й день беременности.

Дизайн эксперимента приведен в таблице 2.

Он основан на формировании четырех групп животных по 10 особей в каждой. Беременным крысам опытных групп (I и III группы) препарат

«Трансфер-фактор» вводили подкожно. Суточная доза составляла 2,50 и 3,75 мл/гол соответственно. Животным II и IV групп (контрольные) по той же схеме вводили аналогичный объем физиологического раствора.

Эксперимент заканчивался эвтаназией беременных крыс. Ее выполняли на 20-й день беременности, т. е. по завершении курса введения препарата «Трансфер-фактор».

Эвтаназию проводили путем дислокации шейных позвонков.

Экспериментальный дизайн для изучения реакции общей анафилаксии

Маркировка опытных групп	Интъектируемый препарат	Доза, мл/кг	I инъекция	II и III инъекции	Интервал между инъекциями
I группа (опытная)	«Трансфер-фактор»	0,1	Подкожно	Внутримышечно в области бедра	24 часа
II группа (контрольная)	Физраствор				
III группа (опытная)	«Трансфер-фактор»	1,0			
IV группа (контрольная)	Физраствор				

Table 3

Experimental design for studying the reaction of general anaphylaxis

Labeling of experimental groups	Injectable drug	Dose, ml/kg	I injection	II and III injections	Interval between injections
Group I (experimental)	“Transfer factor”	0.1	Subcutaneously	Intramuscularly in the thigh area	24 hours
Group II (control)	Physical solution				
Group III (experimental)	“Transfer factor”	1.0			
Group IV (control)	Physical solution				

После этого трупы беременных самок вскрывали. Сначала у каждой беременной крысы разрезали брюшную полость и извлекали матку. Далее её помещали в чашку Петри, заполненную физиологическим раствором, что позволило отмыть орган от крови.

Затем проводили вскрытие рогов матки. Это позволило визуализировать содержащиеся в ней плоды и провести их подсчет (живые, мертвые, резорбированные).

Кроме этого, оценивалось состояние плаценты и эндометрия. В плаценте особое внимание уделяли наличию мест имплантации плодов.

При оценке состояния яичников крыс опытных групп учитывали количество желтых тел.

Плоды, извлеченные из матки крыс после их эвтаназии, взвешивали и подвергали наружному осмотру с определением кранио-каудального размера и пола.

Все извлеченные плоды были разделены на две части.

Первую часть фиксировали в жидкости Буэна. Через 2 недели фиксации их использовали для определения состояния внутренних органов плода по методике Вильсона, регистрируя наличие отклонений.

Вторую часть плодов фиксировали 2 недели в 96-градусном этиловом спирте. Фиксированные образцы промывали в проточной воде, выдерживали в растворе гидроксида калия и окрашивали ализарином по методике Доусона.

Образцы окрашенных плодов изучали в проходящем свете с помощью стереомикроскопа, определяя степень окостенения в грудине, количество ребер, развитие позвоночника, наличие аномалий в костях. Это позволило изучить состояние костной системы у извлеченных плодов [14].

4. Оценка аллергизирующих свойств, то есть способности действующего вещества тестируемого препарата вызывать в организме животных после его введения различные виды гиперчувствительности [15].

Аллергизирующие свойства препарата «Трансфер-фактор» изучали в следующих реакциях и тестах:

4.1. Реакция общей анафилаксии

Оценка анафилактогенной активности выполнена с использованием морских свинок. Данный тест является обязательным при исследовании новых лекарственных средств [15]. Для инициации анафилактического шока из морских свинок по принципу пар-аналогов сформировали четыре группы ($n = 10$).

Сенсибилизацию организма свинок опытных групп (I и III группы) инициировали подкожным и внутримышечным введением тестируемого препарата. В контрольных группах (II и IV группы) животных препарат заменяли физиологическим раствором.

Дизайн сенсибилизации животных для изучения реакции общей анафилаксии представлен в таблице 3.

Разрешающая внутрисердечная доза препарата «Трансфер-фактор» рассчитывалась как сумма сенсибилизирующих доз. Она вводилась морским свинкам на 14-й день после последней сенсибилизирующей инъекции. Разрешающая доза для животных I опытной группы составила 0,3 мл/кг, а для III – 3,0 мл/кг. Разрешающая инъекция животным контрольных групп (II и IV) была выполнена с использованием физиологического раствора [14]. Аллергические реакции, развившиеся у морских свинок после внутрисердечной инъекции, наблюдали и оценивали на основе симптомов в течение 30 минут.

4.2. Реакции иммунных комплексов

Для проведения реакции сформировали две опытные группы из морских свинок ($n = 10$). Морские свинки были sensibilizированы путем пятикратной подкожной инъекции препарата «Трансфер-фактор», разведенного физиологическим раствором, с интервалом 6 дней. В I опытной группе суточная доза препарата для введения была равна 0,1 мл/кг, а во II – превышала ее в 10 раз (1,0 мл/кг).

При этом учитывали общий объем вводимого препарата, который не превышал величины 0,2 мл.

Разрешающая доза «Трансфер-фактора» в объеме 0,05 мл была введена предварительно sensibilizированным животным подкожно через 10 дней после последней инъекции.

Контролем служил участок кожи на противоположной стороне тела животных. В него инъецировали аналогичный объем физиологического раствора.

Учет местной воспалительной реакции (наличие эритемы, инфильтрации, отеков) проводили через 30 минут, 2 и 3 часа [14].

4.3. Конъюнктивальный тест

Методика проведения теста, во-первых, включает предварительную sensibilizацию лабораторных животных. У морских свинок (10 особей) ее инициировали подкожным введением препарата «Трансфер-фактор» (доза 0,1 мл/кг). Во-вторых, роль аллергена при конъюнктивальном тесте выполнял тестируемый препарат («Трансфер-фактор»). Аллерген капали (1 капля) под верхнее веко правого глаза морских свинок через 14 дней после последней sensibilizующей инъекции.

Контролем при оценке конъюнктивального теста служил левый глаз животных. В него капали физиологический раствор.

В качестве точек учета реакции организма морских свинок на конъюнктивальный тест являлись следующие временные интервалы: через 15 минут, 24 и 48 часов.

Оценка состояния глаз (степень покраснения слезного протока, склеры, конъюнктивы) в данных точках характеризовали возможность развития быстрой аллергической реакции и реакцию гиперчувствительности замедленного типа [14].

Статистическую обработку эмпирических данных проводили с использованием программы IBM SPSS Statistics (США). Достоверными считали различия при $p \leq 0,05$.

Результаты (Results)

Хотя токсикологические исследования на животных и были выполнены с использованием различных протоколов, но все они соответствовали правилам лабораторной практики [14].

В совокупности результаты токсикологических анализов характеризуют местное и системное воздействие действующего вещества тестируемого препарата на животных и устанавливают связь

между введенной дозой и проявлением токсичности как результат его накопления в определенном органе и/или ткани [27].

Исследование хронической токсичности препарата «Трансфер-фактор» позволило выявить определенные сдвиги в функционировании отдельных органов, тканей и систем в процессе его 14-суточного применения как результат накопления действующего вещества в организме животных или в исходном виде, или в виде метаболитов. При этом не было зарегистрировано смертельных случаев.

При оценке пищевого поведения лабораторных животных (потребление корма, воды) было установлено, что оно не имело межгрупповых различий и соответствовало физиологической норме. При этом волосяной покров грызунов сохранял блеск и гладкость, а видимые слизистые оболочки – бледно-розовый цвет.

В начале эксперимента у животных наблюдался тремор мышц, исчезающий через 15–20 минут после введения препарата «Трансфер-фактор». У мышей он развивался при внутримышечном и внутрибрюшинном способе введения суточной дозы тестируемого средства 0,25 мл/гол (II группа) и 0,50 мл/гол (III группа) соответственно, а у крыс – при внутримышечном (VI группа) и внутрибрюшинном (VII группа) способе введения дозы 2,50 мл/гол.

При использовании более высоких суточных доз продолжительность тремора достигала 40 минут. Это было выявлено у мышей и крыс при внутрибрюшинном введении «Трансфер-фактора» в количестве 0,75 мл/гол (IV группа) и 3,75 мл/гол (VIII группа) соответственно.

Значит, в эксперименте по определению хронической токсичности препарата была установлена взаимосвязь между дозой введенного препарата и длительностью тремора.

Положительным фактом является то, что к концу эксперимента продолжительность тремора после введения препарата в вышеописанных дозировках уменьшалась в 2 раза, что может быть связано или с привыканием организма лабораторных животных к компонентам исследуемого препарата, или запуском механизмов, повышающих скорость биотрансформации действующего вещества.

По данным [28], мышечный тремор является результатом попеременного или синхронного сокращения реципрокно иннервируемых мышц. В нашем исследовании он был «лекарственно индуцирован» и обусловлен введением препарата в более высоких дозах. Вероятно, тремор в ходе определения хронической токсичности препарата «Трансфер-фактор» развивался за счет периферических механизмов, протекающих в мышцах [29].

Также важными аспектами мышечного тремора после введения «Трансфер-фактора» являются его постепенная регрессия и уменьшение длитель-

ности, что свидетельствует о высокой скорости метаболизма действующего вещества препарата и отсутствии органических повреждений в нервно-мышечном аппарате организма лабораторных животных.

Об уровне проявления препаратом «Трансфер-фактор» токсических свойств можно судить по массе тела лабораторных животных, так как она сопряжена с состоянием основного обмена, энергетически обеспечивающим функционирование органов и тканей, в том числе сопряженных с метаболическими потоками [30].

В то же время показатели роста и развития животного организма являются чувствительными индикаторами уровня его здоровья, так как обусловлены не только генетическими, но и средовыми факторами.

Например, при воздействии факторов, инициирующих в организме животных процессы воспаления, провоспалительные цитокины стимулируют катаболизм скелетных мышц, обеспечивая иммунные ткани аминокислотами и энергетическими

субстратами. При этом печень как основной орган метаболизма ориентирует метаболические потоки на производство белков острой фазы, обеспечивая защиту организма животных [31].

Анализ динамики массы тела в опытных группах, сформированных из белых мышей, выявил, что она в ходе эксперимента увеличивалась на 6,29–7,70 % (таблица 4), свидетельствуя об обеспеченности организма животных пластическим и энергетическим материалом, а также преобладании в общем метаболизме анаболически направленных процессов.

Следовательно, ежедневное введение препарата «Трансфер-фактор» независимо от суточной дозы и способа применения не отразилось на пищевом поведении мышей, способности усваивать компоненты корма и использовать их для построения структур организма и формирования метаболического статуса.

Аналогичная тенденция выявлена и в группах белых крыс. Прирост массы тела в ходе 14-суточного эксперимента составил 6,55–10,63 % (таблица 5).

Таблица 4
Изменчивость массы тела (г) белых мышей в ходе испытания хронической токсичности препарата «Трансфер-фактор»

Точки контроля массы тела	Опытные группы белых мышей			
	I (n = 10)	II (n = 10)	III (n = 10)	IV (n = 10)
Перед экспериментом	18,80 ± 1,17	18,56 ± 1,25	18,42 ± 1,33	18,61 ± 1,29
Через 7 дней	19,43 ± 1,51	19,29 ± 1,36	19,10 ± 1,47	19,19 ± 1,35
Через 14 дней	20,21 ± 1,43	19,99 ± 1,50	19,72 ± 1,54	19,78 ± 1,19

Table 4
Variability of body weight (g) of white mice during the test of chronic toxicity of the drug "Transfer factor"

Body weight control points	Experimental groups of white mice			
	I (n = 10)	II (n = 10)	III (n = 10)	IV (n = 10)
Before the experiment	18.80 ± 1.17	18.56 ± 1.25	18.42 ± 1.33	18.61 ± 1.29
After 7 days	19.43 ± 1.51	19.29 ± 1.36	19.10 ± 1.47	19.19 ± 1.35
After 14 days	20.21 ± 1.43	19.99 ± 1.50	19.72 ± 1.54	19.78 ± 1.19

Таблица 5
Изменчивость массы тела (г) белых крыс в ходе испытания хронической токсичности препарата «Трансфер-фактор»

Точки контроля массы тела	Опытные группы белых крыс			
	V (n = 10)	VI (n = 10)	VII (n = 10)	VIII (n = 10)
Перед экспериментом	158,00 ± 6,33	150,50 ± 7,24	157,00 ± 10,17	152,50 ± 5,69
Через 7 дней	162,00 ± 7,57	161,00 ± 6,78	163,50 ± 7,53	159,50 ± 6,85
Через 14 дней	173,50 ± 6,71	166,50 ± 9,28	169,00 ± 9,06	162,50 ± 5,23

Table 5
Variability of body weight (g) of white rats during the test of chronic toxicity of the drug "Transfer factor"

Body weight control points	Experimental groups of white rats			
	V (n = 10)	VI (n = 10)	VII (n = 10)	VIII (n = 10)
Before the experiment	158.00 ± 6.33	150.50 ± 7.24	157.00 ± 10.17	152.50 ± 5.69
After 7 days	162.00 ± 7.57	161.00 ± 6.78	163.50 ± 7.53	159.50 ± 6.85
After 14 days	173.50 ± 6.71	166.50 ± 9.28	169.00 ± 9.06	162.50 ± 5.23

Значит, препарат «Трансфер-фактор» и в организме белых крыс не оказал влияния на процессы роста и развития в ходе их постнатального онтогенеза.

При этом положительная динамика массы тела свидетельствовала о сохранении биологического здоровья животных, обеспечивающего также и соответствующее увеличение размеров тела и его органов.

Для проверки данного вывода после окончания эксперимента были выполнены эвтаназия мышей и крыс, их аутопсия, позволившая провести макроскопическую оценку внутренних органов.

Согласно данным [32], оценка морфологии органов/тканей в токсикологических экспериментах позволяет выявить повреждения, вызванные исследуемым препаратом, а также определить их биологическое значение.

При вскрытии трупов лабораторных грызунов не было выявлено видимых изменений в расположении органов, жидкость в брюшной и плевральной полостях отсутствовала.

Однако установлены некоторые патологические изменения цвета, консистенции и размера внутренних органов (таблица 6).

Основываясь на том, что макроскопический анализ позволяет выявить органы-мишени, сопряженные с механизмом действия исследуемого препарата [32], можно заключить, что процесс биотрансформации действующего вещества «Трансфер-фактор» в ходе определения его хронической токсичности сопряжен с функциональной активностью легких, селезенки, печени и сердца.

Данная информация также служит основанием для подбора лечебной и профилактической дозы.

Таблица 6
Результаты аутопсии лабораторных животных [20]

Опытные группы	Данные аутопсии
I группа (белые мыши) V группа (белые крысы)	Легкие не увеличены, серо-розового цвета, частично спавшиеся – от 10 до 40 % от объема органа, присутствуют участки глубокого некроза. Сердце не увеличено, умеренно кровенаполнено, у 10 % животных миокард дряблый. Почки гладкие, бобовидной формы, темно-коричневого цвета. Цвет селезенки у 70 % животных темно-вишневый, орган увеличен в размере, по всей длине имеет выпуклую поверхность и частично бугристую. Край селезенки утолщен и волнистый. Цвет печени темно-вишневый, края органа острые, он не имеет видимых изменений. Цвет кишечника бледно-розовый, гиперемированные участки отсутствуют. Кишечник умеренно наполнен содержимым. Место инъекции – кровоизлияние и отечность в межмышечном пространстве, гематома в подкожной клетчатке
II группа (белые мыши) VI группа (белые крысы)	Цвет легких изменялся от серо-розового до серо-вишневого. Орган имел участки некроза вишневого цвета. Спавшаяся часть легких составляла от 10 до 70 % от объема органа. Размер сердца не увеличен. Орган умеренно кровенаполнен. Почки имеют бобовидную форму и гладкую поверхность, цвет темно-коричневый, видимые изменения органа отсутствуют. Цвет селезенки у 90 % животных темно-вишневый, по всей длине имеет выпуклую поверхность и частично бугристую. Край селезенки утолщен и волнистый. Цвет печени темно-вишневый, края органа острые, на поверхности печени имеются точечные очаги некроза, занимающие до 20 % его площади. Цвет кишечника бледно-розовый, гиперемированные участки отсутствуют. Кишечник умеренно наполнен содержимым. Место инъекции – кровоизлияние и отечность в межмышечном пространстве (обширное – у 20 % животных), гематома в подкожной клетчатке
III группа (белые мыши) VII группа (белые крысы)	Цвет легких изменялся от серо-розового до серо-вишневого. Орган имел спавшиеся участки, которые составляли от 30 до 90 % от объема органа и имели участки некроза саловидной консистенции. Размер сердца не увеличен, орган умеренно кровенаполнен. Дряблая консистенция сердца выявлялась у 50 % животных. Почки имеют бобовидную форму и гладкую поверхность, цвет темно-коричневый, видимые изменения органа отсутствуют. Цвет селезенки у 90 % животных темно-вишневый, по всей длине имеет выпуклую поверхность и частично бугристую. Край селезенки утолщен и волнистый. Цвет печени темно-вишневый, края органа острые, на поверхности печени имеются участки просветлений, занимающие до 40 % его площади. Цвет кишечника бледно-розовый, гиперемированные участки отсутствуют. Кишечник умеренно наполнен содержимым. Место инъекции – незначительные кровоизлияния в тканях брюшной стенки
IV группа (белые мыши) VIII группа (белые крысы)	Цвет легких изменялся от серо-розового до серо-вишневого у 100 % животных. В органе присутствовали выражено спавшиеся и наркотизированные участки вишнево-черного цвета. Размер сердца не увеличен, цвет вишнево-коричневый, консистенция дряблая, орган умеренно кровенаполнен. Форма почек бобовидная, поверхность органа гладкая, цвет темно-коричневый, видимые изменения органа отсутствуют. Цвет селезенки у 100 % животных темно-вишневый, орган увеличен в размере. Орган по всей длине имеет выпуклую поверхность и частично бугристую, с утолщенным волнистым краем, при разрезе края не смыкаются. Печень темно-вишневого цвета с участками просветлений площадью от 40 до 60 %, увеличена, край острый, но на всем протяжении светло-вишневой окраски. Кишечник бледно-розового цвета, без участков гиперемии, умеренно наполнен содержимым. Место инъекции – незначительные кровоизлияния в тканях брюшной стенки

Experienced groups	Autopsy data
Group I (white mice) Group V (white rats)	The lungs are not enlarged, gray-pink in color, partially collapsed - from 10% to 40% of the organ volume, there are areas of deep necrosis. The heart is not enlarged, moderately filled with blood, and in 10% of animals the myocardium is flabby. The buds are smooth, bean-shaped, dark brown in color. The color of the spleen in 70% of animals is dark cherry, the organ is increased in size, has a convex surface along its entire length and is partially lumpy. The edge of the spleen is thickened and wavy. The color of the liver is dark cherry, the edges of the organ are sharp, it has no visible changes. The color of the intestines is pale pink, there are no hyperemic areas. The intestines are moderately filled with contents. Injection site: hemorrhage and swelling in the intermuscular space, hematoma in the subcutaneous tissue
Group II (white mice) Group VI (white rats)	The color of the lungs changed from gray-pink to gray-cherry. The organ had cherry-colored areas of necrosis. The collapsed part of the lungs ranged from 10 to 70 % of the organ volume. The heart size is not increased. The organ is moderately filled with blood. The kidneys have a bean-shaped shape and a smooth surface, the color is dark brown, there are no visible changes in the organ. The color of the spleen in 90% of animals is dark cherry, has a convex surface along its entire length and is partially lumpy. The edge of the spleen is thickened and wavy. The color of the liver is dark cherry, the edges of the organ are sharp, there are pinpoint foci of necrosis on the surface of the liver, occupying up to 20% of its area. The color of the intestines is pale pink, there are no hyperemic areas. The intestines are moderately filled with contents. The injection site is hemorrhage and swelling in the intermuscular space (extensive - in 20% of animals), hematoma in the subcutaneous tissue
Group III (white mice) Group VII (white rats)	The color of the lungs changed from gray-pink to gray-cherry. The organ had collapsed areas, which ranged from 30 to 90% of the organ volume and had areas of necrosis with a lard-like consistency. The size of the heart is not increased, the organ is moderately filled with blood. Flabby heart consistency was detected in 50% of animals. The kidneys have a bean-shaped shape and a smooth surface, the color is dark brown, there are no visible changes in the organ. The color of the spleen in 90% of animals is dark cherry, has a convex surface along its entire length and is partially lumpy. The edge of the spleen is thickened and wavy. The color of the liver is dark cherry, the edges of the organ are sharp, there are areas of clearing on the surface of the liver, occupying up to 40% of its area. The color of the intestines is pale pink, there are no hyperemic areas. The intestines are moderately filled with contents. The injection site is minor hemorrhages in the tissues of the abdominal wall
Group IV (white mice) Group VIII (white rats)	The color of the lungs changed from gray-pink to gray-cherry in 100% of animals. The organ contained distinctly collapsed and anesthetized areas of a cherry-black color. The size of the heart is not enlarged, the color is cherry-brown, the consistency is flabby, the organ is moderately filled with blood. The shape of the kidneys is bean-shaped, the surface of the organ is smooth, the color is dark brown, there are no visible changes in the organ. The color of the spleen in 100% of animals is dark cherry, the organ is increased in size. The entire length of the organ has a convex surface and is partially lumpy, with a thickened wavy edge; when cut, the edges do not meet. The liver is dark cherry in color with areas of clearing ranging from 40% to 60%, enlarged, the edge is sharp, but light cherry in color throughout. The intestines are pale pink in color, without areas of hyperemia, and are moderately filled with contents. The injection site is minor hemorrhages in the tissues of the abdominal wall

В доклинических исследованиях при оценке токсических эффектов исследуемых препаратов проводится также определение массы внутренних органов и их массовых коэффициентов [33].

При этом под массовым коэффициентом (относительной массой) органа понимают отношение абсолютной массы органа к массе тела животных до вскрытия, выражая результат в процентах.

Динамика изменений массовых коэффициентов органов на фоне введения исследуемого препарата характеризует их объективное состояние, так как оно сопряжено с их метаболическим и функциональным статусом.

Физиологически массовые коэффициенты внутренних органов уменьшаются, что обусловлено планомерным приростом массы тела грызунов в ходе постнатального онтогенеза за счет мышечной и жировой тканей [33].

В условиях эксперимента по определению хронической токсичности препарата «Трансфер-фактор» были выявлены различия в массовых коэффициентах легких, печени, почек, селезенки в группах мышей и крыс в зависимости от способа его введения (таблица 7).

Максимально их величина изменилась в группах грызунов при внутрибрюшинном способе введения наибольшей суточной дозы «Трансфер-фактора» (у белых мышей – 0,75 мл/гол; у белых крыс – 3,75 мл/гол). В группе мышей (IV группа) наиболее значимые сдвиги в величине массовых коэффициентов органов выявились у почек (5,79 %) и селезенки (10,39 %), в группе крыс (VIII группа) – легких (9,25 %) и селезенки (10,34 %).

Если учесть, что масса тела грызунов в ходе токсикологического эксперимента увеличивалась, то изменения массовых коэффициентов были сопряжены с изменением массы внутренних органов за счет развития в них патологических процессов.

Таблица 7

Массовые коэффициенты внутренних органов белых мышей при оценке хронической токсичности препарата «Трансфер-фактор»

Опытные группы	Масса тела, г	Массовые коэффициенты внутренних органов, %				
		Сердце	Легкое	Печень	Почки	Селезенка
Белые мыши						
I	20,21 ± 1,43	0,46 ± 0,03	0,95 ± 0,04	5,66 ± 0,34	1,33 ± 0,09	0,65 ± 0,05
II	19,99 ± 1,50	0,44 ± 0,02	0,94 ± 0,03	5,67 ± 0,29	1,30 ± 0,11	0,69 ± 0,06
III	19,72 ± 1,54	0,47 ± 0,02	0,96 ± 0,04	5,84 ± 0,37	1,27 ± 0,08	0,75 ± 0,04
IV	19,78 ± 1,19	0,46 ± 0,04	0,99 ± 0,05	5,85 ± 0,19	1,38 ± 0,06	0,77 ± 0,04
Белые крысы						
V	173,50 ± 6,71	0,36 ± 0,02	0,55 ± 0,05	5,22 ± 0,20	0,86 ± 0,02	0,25 ± 0,01
VI	166,50 ± 9,28	0,35 ± 0,01	0,54 ± 0,03	5,31 ± 0,11	0,82 ± 0,07	0,29 ± 0,05
VII	169,00 ± 9,06	0,36 ± 0,02	0,54 ± 0,02	5,54 ± 0,07	0,81 ± 0,02	0,29 ± 0,03
VIII	162,50 ± 5,23	0,37 ± 0,02	0,49 ± 0,03	5,64 ± 0,20	0,87 ± 0,02	0,26 ± 0,02

Table 7

Mass coefficients of internal organs of white mice when assessing the chronic toxicity of the drug "Transfer factor"

Experienced groups	Body mass, g	Mass coefficients of internal organs, %				
		Heart	Lung	Liver	Kidneys	Spleen
White mice						
I	20.21 ± 1.43	0.46 ± 0.03	0.95 ± 0.04	5.66 ± 0.34	1.33 ± 0.09	0.65 ± 0.05
II	19.99 ± 1.50	0.44 ± 0.02	0.94 ± 0.03	5.67 ± 0.29	1.30 ± 0.11	0.69 ± 0.06
III	19.72 ± 1.54	0.47 ± 0.02	0.96 ± 0.04	5.84 ± 0.37	1.27 ± 0.08	0.75 ± 0.04
IV	19.78 ± 1.19	0.46 ± 0.04	0.99 ± 0.05	5.85 ± 0.19	1.38 ± 0.06	0.77 ± 0.04
White rats						
V	173.50 ± 6.71	0.36 ± 0.02	0.55 ± 0.05	5.22 ± 0.20	0.86 ± 0.02	0.25 ± 0.01
VI	166.50 ± 9.28	0.35 ± 0.01	0.54 ± 0.03	5.31 ± 0.11	0.82 ± 0.07	0.29 ± 0.05
VII	169.00 ± 9.06	0.36 ± 0.02	0.54 ± 0.02	5.54 ± 0.07	0.81 ± 0.02	0.29 ± 0.03
VIII	162.50 ± 5.23	0.37 ± 0.02	0.49 ± 0.03	5.64 ± 0.20	0.87 ± 0.02	0.26 ± 0.02

Следовательно, изменения внутренних органов в токсикологическом эксперименте были следствием адаптационно-компенсаторных сдвигов в организме лабораторных животных в ответ на многократно повторяющееся введение препарата «Трансфер-фактор» в высоких дозировках.

Оценка специфической активности препарата «Трансфер-фактор» в реакции бласттрансформации лейкоцитов (РБТЛ). Специфический иммунобиостимулятор предназначен для коррекции функций иммунной системы с целью профилактики цирковирусных заболеваний свиней [16–20].

По данным [34], развитие иммунного ответа в организме животных определяется кооперативным действием лимфоцитов и макрофагов, что влияет на скорость процесса активации, пролиферации и дифференциации иммунокомпетентных клеток.

Поэтому тестируемый специфический иммунобиостимулятор для проявления своих фармакологических свойств должен обладать свойством активации иммунокомпетентных клеток в животном организме.

Для оценки данного действия «Трансфер-фактора» нами выбрана реакция бласттрансформации

лимфоцитов, которая позволяет охарактеризовать пролиферативный ответ лимфоцитов на воздействие соответствующего стимулятора [35; 36].

При анализе результатов реакции бласттрансформации лейкоцитов [26] было установлено, что в контрольном образце крови крыс средний уровень бластов составил 0,20 %, а в опытном – 1,40 % (таблица 8).

Общий вид клеток при проведении реакции бласттрансформации лимфоцитов представлен на рис. 2.

Следовательно, препарат «Трансфер-фактор» способен стимулировать лимфоциты к бластообразованию в организме лабораторных животных, то есть препарат обладает иммунокорректирующими свойствами.

Оценка эмбриотоксических, тератогенных свойств препарата «Трансфер-фактор». Исследование эмбриотоксических и тератогенных свойств новых лекарственных средств является важной частью доклинических испытаний и определяет возможности его «ввода» в клинические исследования [37; 38].

Таблица 8
Результаты реакции бласттрансформации лейкоцитов

№ крысы	Результат РБТЛ (n/%)*	
	Контроль	Опыт
Крыса-контроль (0,9 % р-р NaCl)	0/0	0/0
Крыса 1 (препарат «Трансфер-фактор»)	0/0	3/3
Крыса 2 (препарат «Трансфер-фактор»)	1/1	0/0
Крыса 3 (препарат «Трансфер-фактор»)	0/0	1/1
Крыса 4 (препарат «Трансфер-фактор»)	0/0	3/3
Крыса 5 (препарат «Трансфер-фактор»)	0/0	0/0
∑ по 5 крысам (препарат «Трансфер-фактор»), n = 500 лейкоцитов	0,20	1,40

Примечание. * Референтный показатель в лейкоцитарной формуле лабораторных крыс равен 0–0,55% клеток-бластов (мегакариоцитов) [32].

Table 8
Results of the leukocyte blast transformation reaction

Rat no.	RBTL result (n/%)*	
	Control	Experience
Control rat (0.9 % NaCl solution)	0/0	0/0
Rat 1 ("Transfer factor")	0/0	3/3
Rat 2 ("Transfer factor")	1/1	0/0
Rat 3 ("Transfer factor")	0/0	1/1
Rat 4 ("Transfer factor")	0/0	3/3
Rat 5 ("Transfer factor")	0/0	0/0
∑ 5 rats each ("Transfer factor"), n = 500 leukocytes	0.20	1.40

Note. * The reference value in the leukocyte formula of laboratory rats is 0–0.55 % blast cells (megakaryocytes) [32].

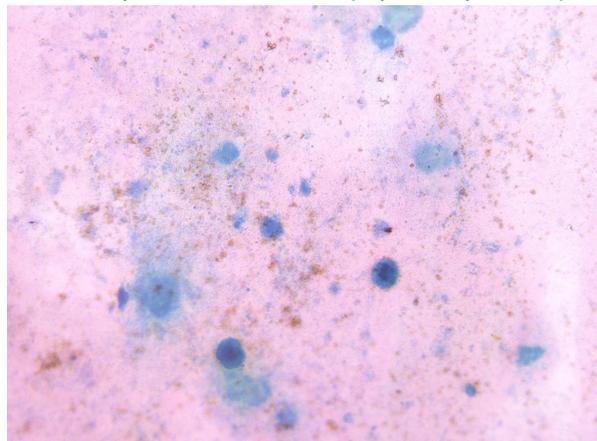


Рис. 2. Общий вид клеток при реакции бласттрансформации лейкоцитов

Fig. 2. General view of cells during the blast transformation reaction of leukocytes

Данные свойства препаратов сопряжены с их способностью мигрировать через плацентарный барьер и влиять на процессы гомеостаза у плода. Поэтому отсутствие анатомических и физиологических аномалий у плодов свидетельствует о том, что тестируемый препарат не обладает эмбриотоксическими и тератогенными свойствами [39].

При доклинических испытаниях препарата «Трансфер-фактор» данные свойства изучали на беременных крысах.

Ежедневный осмотр беременных крыс опытных групп гол (I и III группы) показал, что их физиологическое состояние существенно не отличается от контроля. Сопоставимо изменяется масса тела животных в ходе беременности (таблица 9).

Сравнение самок опытных и контрольных групп по показателям плодовитости тоже не позволило установить статистически значимые различия.

К аналогичным выводам пришли и при сопоставлении результатов исследований, отражающих изменчивость макроскопического состояния плодов у опытных и контрольных крыс.

Так, их внешний вид, средний вес, краниокаудальный размер статистически значимо не различались в опытной и контрольной группах.

О влиянии препарата «Трансфер-фактор» на организм беременных крыс судили по макроскопическому состоянию органов репродуктивной системы (матки, яичников), которые были извлечены из их организма в процессе аутопсии.

При характеристике эмбриотоксического действия препарата, оцениваемого по количеству желтых тел в яичниках, и мест имплантации плодов в матке [40], числу резорбций, живых и мертвых плодов животные опытных и контрольных групп статистически значимо не различались. Аналогичные данные получены и при сравнении пред- и постимплантационной гибели эмбрионов.

Все показатели в группах опыта и контроля соответствовали стадии беременности крыс, то есть находились в пределах физиологических колебаний. Сравнение плодов по величине зоометрических параметров тоже не позволило выявить достоверные изменения в опытной и контрольной группах (таблица 9).

Таблица 9

Показатели беременности крыс и эмбриогенеза крысят при применении препарата «Трансфер-фактор»

Биология и биотехнологии

Показатели	Опытные группы беременных крыс			
	I опытная группа	II группа (контрольная)	III опытная группа	IV группа (контрольная)
Масса тела (г) крыс:				
– до опыта	160,24 ± 9,57	159,38 ± 8,13	156,79 ± 7,29	158,56 ± 8,46
– на 20-е сутки беременности	275,81 ± 13,48	276,13 ± 10,22	269,07 ± 9,51	272,12 ± 11,23
Количество желтых тел*, шт.	14,06 ± 0,53	13,78 ± 0,39	11,89 ± 0,40	12,28 ± 0,41
Общее количество плодов*, шт.	12,85 ± 0,29	12,47 ± 0,18	11,72 ± 0,32	10,57 ± 0,37
Количество живых плодов*, шт.	12,85 ± 0,29	12,47 ± 0,18	11,72 ± 0,32	10,57 ± 0,37
Количество мертвых плодов*, шт.	0,00	0,00	0,00	0,00
Резорбировано плодов*, шт.	0,17 ± 0,17	0,00	0,00	0,83 ± 0,54
Средний вес плода, г	4,15 ± 0,04	4,12 ± 0,03	4,31 ± 0,03	4,27 ± 0,03
Краниокаудальный размер плода, мм	37,42 ± 0,94	37,48 ± 0,89	37,87 ± 1,12	38,12 ± 1,07
Количество эмбрионов самок, шт.	6,69 ± 0,34	6,70 ± 0,30	6,33 ± 0,29	5,68 ± 0,21
Количество эмбрионов самцов, шт.	6,16 ± 0,28	5,77 ± 0,23	5,39 ± 0,18	4,89 ± 0,25

Примечание. * Показатели приводятся из расчета на 1 самку.

Table 9

Indicators of rat pregnancy and embryogenesis of rat pups when using the drug “Transfer factor”

Indicators	Experimental groups of pregnant rats			
	Group I (experimental)	Group II (control)	Group III (experimental)	Group IV (control)
Body weight (g) of rats:				
– before experience	160.24 ± 9.57	159.38 ± 8.13	156.79 ± 7.29	158.56 ± 8.46
– on the 20th day of pregnancy	275.81 ± 13.48	276.13 ± 10.22	269.07 ± 9.51	272.12 ± 11.23
Number of corpora lutea*, pcs.	14.06 ± 0.53	13.78 ± 0.39	11.89 ± 0.40	12.28 ± 0.41
Total number of fruits*, pcs.	12.85 ± 0.29	12.47 ± 0.18	11.72 ± 0.32	10.57 ± 0.37
Number of live fruits*, pcs.	12.85 ± 0.29	12.47 ± 0.18	11.72 ± 0.32	10.57 ± 0.37
Number of dead fruits*, pcs.	0.00	0.00	0.00	0.00
Fruits resorbed*, pcs.	0.17 ± 0.17	0.00	0.00	0.83 ± 0.54
Average fruit weight, g	4.15 ± 0.04	4.12 ± 0.03	4.31 ± 0.03	4.27 ± 0.03
Cranio-caudal size of the fetus, mm	37.42 ± 0.94	37.48 ± 0.89	37.87 ± 1.12	38.12 ± 1.07
Number of female embryos, pcs.	6.69 ± 0.34	6.70 ± 0.30	6.33 ± 0.29	5.68 ± 0.21
Number of male embryos, pcs.	6.16 ± 0.28	5.77 ± 0.23	5.39 ± 0.18	4.89 ± 0.25

Note. * Indicators are based on 1 female.

Метод Вильсона, используемый нами при обследовании плодов, не выявил аномалий в развитии их внутренних органов. Так, у плодов из групп опыта и групп контроля основные анатомические системы формировались однотипно, без особенностей (рис. 3).

Для макроанатомических обзорных исследований скелета плодов нами использован метод Дуосона.

Анализ полученных данных показал, что в опыте и контроле отсутствуют аномалии в развитии костей скелета плодов (рис. 4).

Так, кости черепа, позвоночника, конечностей, ребра и т. д. были развиты пропорционально.

К аналогичным выводам пришли и при оценке процесса окостенения трубчатых костей конечностей плодов в опыте и контроле, а также при их сравнении по количеству ребер, центров окостенения в метатарзальных и метакарпальных костях скелета (таблица 10).

Таким образом, ежедневное подкожное введение препарата «Трансфер-фактор» в дозах 2,5 мл/гол и 3,75 мл/гол в период беременности не влияет на плодовитость крыс, пред- и постимплантационную гибель эмбрионов, а также не вызывает развития аномалий скелета и внутренних органов, то есть препарат «Трансфер-фактор» не обладает эмбриотоксическими и тератогенными свойствами.

Оценка аллергизирующих свойств препарата «Трансфер-фактор». Программа доклинических исследований включает оценку аллергизирующих свойств разрабатываемых препаратов в модели лабораторных животных [41; 42], так как лекарственная аллергия – это одна из значимых проблем современности [43].

Для этих целей нами были изучены:

А. Реакция общей анафилаксии – проведена с использованием морских свинок и предусматривала использование внутрисердечной инъекции физиологического раствора (контроль) и препарата «Трансфер-фактор» (опыт) в дозах 0,3 и 3,0 мл/кг.



a)



b)



c)

Рис. 3. Состояние внутренних органов плодов, оцененное по методике Вильсона: а) плоды от самок крыс IV группы (контрольной); б) плоды от самок I опытной группы; в) плоды от самок III опытной группы
 Fig. 3. The condition of the internal organs of the fetuses, assessed using the Wilson method: a) fetuses from female rats of group IV (control); b) fetuses from females of experimental group I; c) fetuses from females of experimental group III

При наблюдении за морскими свинками контрольной группы после инъекций не было выявлено отклонений в их поведении и физиологическом состоянии.

В то же время внутрисердечная инъекция препарата «Трансфер-фактор» в дозировке 0,3 мл/кг инициировала у животных учащение пульса и дыхания, проходящее через 2–3 минуты. Все морские свинки остались живы.

После внутрисердечной инъекции морским свинкам препарата «Трансфер-фактор» в дозировке 3,0 мл/кг в течение 10–20 минут отмечали редкое



a)



b)



c)

Рис. 4. Обзорное исследование скелета плодов по методу Доусона: а) плоды от самок крыс IV группы (контрольной); б) плоды от самок I опытной группы; в) плоды от самок III опытной группы
 Fig. 4. Survey study of the fetal skeleton using the Dawson method: a) fetuses from female rats of group IV (control); b) fetuses from females of experimental group I; c) fetuses from females of experimental group III

подергивание, слабый тремор, ступор-оцепенение, учащение дыхания и пульса. Через 20 минут частота дыхания и пульса восстановились до значений, близких к нормативным. Все животные остались живы.

Таблица 10

Макроскопическая оценка эмбрионов крыс

Показатели	Маркировка опытных групп			
	I группа (опытная)	II группа (контрольная)	III группа (опытная)	IV группа (контрольная)
Количество исследованных эмбрионов, шт.	30	30	30	30
Число центров оссификации грудины, шт.	5,83 ± 0,44	5,86 ± 0,29	5,78 ± 0,36	5,96 ± 0,39
Количество метатарзальных костей				
Справа, шт.	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00
Слева, шт.	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00
Количество метакарпальных костей				
Справа, шт.	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00
Слева, шт.	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00
Количество ребер				
Справа, шт.	13,00 ± 0,00	13,00 ± 0,00	13,00 ± 0,00	13,00 ± 0,00
Слева, шт.	13,00 ± 0,00	13,00 ± 0,00	13,00 ± 0,00	13,00 ± 0,00

Table 10

Macroscopic evaluation of rat embryos

Indicators	Labeling of experimental groups			
	Group I (experimental)	Group II (control)	Group III (experimental)	Group IV (control)
Number of embryos studied, pcs.	30	30	30	30
Number of ossification centers sternum, pcs.	5.83 ± 0.44	5.86 ± 0.29	5.78 ± 0.36	5.96 ± 0.39
Number of metatarsal bones				
Case, pcs.	4.00 ± 0.00	4.00 ± 0.00	4.00 ± 0.00	4.00 ± 0.00
Left, pcs.	4.00 ± 0.00	4.00 ± 0.00	4.00 ± 0.00	4.00 ± 0.00
Number of metacarpal bones				
Case, pcs.	4.00 ± 0.00	4.00 ± 0.00	4.00 ± 0.00	4.00 ± 0.00
Left, pcs.	4.00 ± 0.00	4.00 ± 0.00	4.00 ± 0.00	4.00 ± 0.00
Number of edges				
Case, pcs.	13.00 ± 0.00	13.00 ± 0.00	13.00 ± 0.00	13.00 ± 0.00
Left, pcs.	13.00 ± 0.00	13.00 ± 0.00	13.00 ± 0.00	13.00 ± 0.00

Таблица 11

Результаты измерения толщины кожной складки морских свинок после внутрикожной инъекции препарата «Трансфер-фактор»

Учет реакции	Предварительная сенсибилизация			
	0,1 мл/кг		1,0 мл/кг	
	Справа («Трансфер-фактор»), мм	Слева (NaCl 0,9 %), мм	Справа («Трансфер-фактор»), мм	Слева (NaCl 0,9 %), мм
Через 30 минут	7,06 ± 0,34	6,95 ± 0,19	7,37 ± 0,28	7,14 ± 0,22
Через 2 часа	4,15 ± 0,17	3,19 ± 0,31	5,48 ± 0,42	3,05 ± 0,27
Через 3 часа	2,97 ± 0,18	2,11 ± 0,11	4,24 ± 0,29	2,23 ± 0,14

Table 11

Results of measuring the thickness of the skin fold of guinea pigs after intradermal injection of the drug "Transfer factor"

Accounting for reaction	Pre-sensitization			
	0.1 ml/kg		1.0 ml/kg	
	Case ("Transfer factor"), mm	Left (NaCl 0.9 %), mm	Case ("Transfer factor"), mm	Left (NaCl 0.9 %), mm
In 30 minutes	7.06 ± 0.34	6.95 ± 0.19	7.37 ± 0.28	7.14 ± 0.22
In 2 hours	4.15 ± 0.17	3.19 ± 0.31	5.48 ± 0.42	3.05 ± 0.27
In 3 hours	2.97 ± 0.18	2.11 ± 0.11	4.24 ± 0.29	2.23 ± 0.14

Б. Реакция иммунных комплексов. Результаты измерения толщины кожной складки после внутрикожной инъекции препарата «Трансфер-фактор» и физиологического раствора натрия хлорида в количестве 0,05 мл предварительно сенсибилизированным морским свинкам представлены в таблице 11.

В течение всего периода наблюдений морские свинки были активны. Их физиологические и пищевые реакции соответствовали таковым у здоровых животных. При этом на коже не установлено наличие расчесов, трещин, изъязвлений и струпов.

В местах подкожной инъекции препарата «Трансфер-фактор» отмечали безболезненную припухлость, которая по толщине кожной складки превосходила место введения физиологического раствора натрия хлорида.

В. Конъюнктивальный тест, предусматривающий введение предварительно сенсибилизированным морским свинкам под верхнее веко глаз препарата «Трансфер-фактор» и плацебо (физиологический раствор), показал, что через 15 минут после его инициации не развиваются покраснение слезного протока и внутренней стороны века, а также отечность. Животные активны, глаза не прикрывают, слезотечение отсутствует.

Через 24 и 48 часов после постановки конъюнктивального теста видимых различий в состоянии слизистых оболочек правых и левых глаз морских свинок не установлено, покраснения склеры и слезного протока не выявлено.

Следовательно, препарат «Трансфер-фактор» не обладает аллергизирующими свойствами.

Обсуждение и выводы (Discussion and Conclusion)

Таким образом, результаты оценки токсикологической безопасности специфического иммунобиостимулятора «Трансфер-фактор» в моделях лабораторных животных показывают, что тестируемый препарат обладает следующими характеристиками.

Препарат в экспериментах по изучению его хронической токсичности инициирует развитие тремора мышц в организме грызунов, продолжительность которого зависит от вводимой дозы (от 15–20 до 40 минут), способа введения и времени экспозиции.

При этом масса тела белых мышей и белых крыс увеличивается на 6,29–7,70 и 6,55–10,63 % соответственно, свидетельствуя о том, что препарат не влияет на пищевое поведение животных и процесс усвоения компонентов корма. Аутопсия животных опытных групп в конце эксперимента показывает, что видимые изменения в расположении органов

отсутствуют, жидкость в брюшной и плевральной полостях не скапливается.

Однако установлены некоторые патологические изменения цвета, консистенции и размера таких внутренних органов, как легкие, селезенка, печень и сердце, которые можно отнести к органам-мишеням препарата в условиях использования.

Поэтому изменяются массовые коэффициенты данных органов и у мышей, и у крыс в сопряженности с увеличением дозы вводимого препарата «Трансфер-фактор» и способом введения до 10,39 %.

Препарат «Трансфер-фактор» в реакции бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ) увеличивает количество бластов с 0,20 до 1,40 %, что свидетельствует о его иммуностимулирующей способности.

Тестируемый препарат не влияет на репродуктивные органы (матка, яичники) беременных крыс, а также не проявляет отрицательного эмбриотоксического и тератогенного эффекта в их организме, о чем свидетельствует сопоставимость данных в опыте и контроле по приросту массы тела животных в ходе беременности, количеству желтых тел в яичниках и мест имплантации плодов матке, числу резорбций, живых и мертвых плодов, пред- и постимплантационной гибели эмбрионов, величине зоометрических параметров плодов, а также отсутствие аномалий в развитии внутренних органов и скелета плодов.

При исследовании аллергизирующих свойств препарата «Трансфер-фактор» выявлено, что он не вызывает в организме морских свинок анафилактического шока, а также не раздражает кожу в реакции иммунных комплексов и конъюнктиву глаза в конъюнктивальном тесте.

Совокупность полученных данных позволяет констатировать, что препарат «Трансфер-фактор» в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76 «Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности» относится к IV классу опасности «Вещества малоопасные».

Поэтому препарат «Трансфер-фактор» может быть рекомендован для дальнейших клинических испытаний, в которых не будет использована дозировка, превышающая 6 мл/кг живой массы. При введении препарата в данных концентрациях в организме лабораторных животных развивается комплекс изменений во внутренних органах, которые из компенсаторных и приспособительных реакций могут перейти в патологические.

Библиографический список

1. Brai A., Poggialini F., Vagaggini C., Pasqualini C., Simoni S., Francardi V., Dreassi E. Tenebrio molitor as a Simple and Cheap Preclinical Pharmacokinetic and Toxicity Model. // International Journal of Molecular Sciences. 2023. No. 24 (3). Article number 2296. DOI: 10.3390/ijms24032296.
2. Гуськова Т. А. Доклиническое токсикологическое изучение лекарственных средств как гарантия безопасности проведения их клинических исследований // Токсикологический вестник. 2010. № 5 (104). С. 2–5.

3. Martignoni M., Groothuis G. M., de Kanter R. Species differences between mouse, rat, dog, monkey and human CYP-mediated drug metabolism, inhibition and induction // *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*. 2006. No. 2 (6). Pp. 875–894. DOI: 10.1517/17425255.2.6.875.
4. Федеральный закон РФ «Об обращении лекарственных средств» № 61 от 12.04.2010 (ред. от 30.01.2024). Статья 4. Основные понятия, используемые в настоящем Федеральном законе [Электронный ресурс]. URL: <https://sudact.ru/law/federalnyi-zakon-ot-12042010-n-61-fz-ob-glava-1/statia-4/> (дата обращения: 27.06.2024).
5. Yamagata Y., Yamada H., Horii I. Current status and future perspective of computational toxicology in drug safety assessment under ontological intellection // *The Journal of Toxicological Sciences*. 2019. No. 44 (11). Pp. 721–735. DOI: 10.2131/jts.44.721.
6. Liodice S., Nogueira da Costa A., Atienzar F. Current trends in silico, in vitro toxicology, and safety biomarkers in early drug development // *Drug and Chemical Toxicology*. 2019. No. 42 (2). Pp. 113–121. DOI: 10.1080/01480545.2017.1400044.
7. Васильев А. Н. Качественные доклинические исследования – необходимый этап разработки и внедрения в клиническую практику новых лекарственных препаратов // *Антибиотики и химиотерапия*. 2012. № 57 (1-2). С. 41–49.
8. Horii I. The principle of safety evaluation in medicinal drug – how can toxicology contribute to drug discovery and development as a multidisciplinary science? // *The Journal of Toxicological Sciences*. 2016. No. 41 (Special). Pp. SP49–SP67. DOI: 10.2131/jts.41.SP49.
9. Yamagata Y., Yamada H. Ontological approach to the knowledge systematization of a toxic process and toxic course representation framework for early drug risk management. // *Scientific Reports*. 2020. No. 10 (1). Article number 14581. DOI: 10.1038/s41598-020-71370-7.
10. Ankley G. T., Edwards S. W. The Adverse Outcome Pathway: A Multifaceted Framework Supporting 21st Century Toxicology // *Current Opinion in Toxicology*. 2018. No. 9. Pp. 1–7. DOI: 10.1016/j.cotox.2018.03.004.
11. Draskau M. K., Spiller C. M., Boberg J., Bowles J., Svingen T. Developmental biology meets toxicology: contributing reproductive mechanisms to build adverse outcome pathways. // *Molecular Human Reproduction*. 2020. No. 26 (2). Pp. 111–116. DOI: 10.1093/molehr/gaaa001.
12. Гуськова Т. А. Лекарственная токсикология и безопасность лекарственных средств // *Токсикологический вестник*. 2014. № 2 (125). С. 2–5.
13. Западнюк И. П., Западнюк В. И., Захария Е. А., Западнюк Б. В. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте: учебное пособие / 3-е изд., перераб. и доп. Киев: Вища школа, 1983. 383 с.
14. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общей редакцией члена-корреспондента РАМН, профессора Р. У. Хабриева. 2-изд., перераб. и доп. Москва: ОАО «Издательство „Медицина“», 2005. 832 с.
15. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Под общей редакцией А. Н. Миронова. Ч. 1. Москва: Гриф и К, 2012. 944 с.
16. Бурков П. В., Дерхо М. А., Ребезов М. Б., Щербаков П. Н., Дерхо А. О., Степанова К. В. Иммунологический статус свиноматок в ходе репродуктивного цикла и коррекция его состояния биостимулятором антигенаправленного действия // *Аграрная наука*. 2023. № 12. С. 58–66. DOI: 10.32634/0869-8155-2023-377-12-58-66.
17. Burkov P. V., Shcherbakov P. N., Derkho M. A., Rebezov M. B., Stepanova K. V., Derkho A. O., Ansoni A. N. M. Pathological features of the lungs and liver of piglets under conditions of constant vaccination of livestock against circovirus infection // *Theory and Practice of Meat Processing*. 2023. No. 1. Pp. 4–11. DOI: 10.21323/2414-438X-2023-378-1-4-11.
18. Бурков П. В., Дерхо М. А., Ребезов М. Б., Щербаков П. Н. Цирковироз как фактор контролирующей беременность // *Аграрная наука*. 2023. № 8. С. 27–35. DOI: 10.32634/0869-8155-2023-373-8-27-35.
19. Бурков П. В., Ребезов М. Б., Дерхо М. А., Щербаков П. Н., Дерхо А. О. Иммунометаболические особенности формирования поствакцинального иммунитета против ЦВС-2 у свиноматок // *Аграрная наука*. 2024. № 7. С. 38–48. DOI: 10.32634/0869-8155-2024-384-7-38-48.
20. Бурков П. В., Дерхо М. А., Ребезов М. Б., Щербаков П. Н., Дерхо А. О. Экспериментальное исследование острой токсичности внутримышечной формы специфического иммунобиостимулятора – трансферфактора. // *Аграрная наука*. 2024. № 9. С. 40–47. DOI: 10.32634/0869-8155-2024-386-9-40-47.
21. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 01.04.2016 № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики» [Электронный ресурс]. URL: <https://normativ.kontur.ru/document?moduleId=1&documentId=278397> (дата обращения: 07.06.2024).

22. ГОСТ 33216-2014 Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами [Электронный ресурс]. URL: <https://internet-law.ru/gosts/gost/62388> (дата обращения: 03.05.2024).
23. ГОСТ 33215-2014 Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур [Электронный ресурс]. URL: <https://internet-law.ru/gosts/gost/61242/> (дата обращения: 03.05.2024).
24. ГОСТ 34566-2019 Комбикорма полнорационные для лабораторных животных. Технические условия. [Электронный ресурс]. URL: <https://internet-law.ru/gosts/gost/71578> (дата обращения: 03.05.2024).
25. ГОСТ Р 51232-98 Вода питьевая. Общие требования к организации и методам контроля качества [Электронный ресурс]. URL: <https://internet-law.ru/gosts/gost/8951> (дата обращения: 28.05.2024).
26. Манина И. В., Сергеев В. Ю., Голубцова Н. В., Сергеев А. Ю. Модификация реакции бласттрансформации лимфоцитов для применения в аллергологической практике // Российский биотерапевтический журнал. 2018. Т. 17, № 2. С. 88–92. DOI: 10.17650/1726-9784-2018-17-2-88-92
27. Andrade E. L., Bento A. F., Cavalli J., Oliveira S. K., Schwanke R. C., Siqueira J. M., Freitas C. S., Marcon R., Calixto J. B. Non-clinical studies in the process of new drug development - Part II: Good laboratory practice, metabolism, pharmacokinetics, safety and dose translation to clinical studies. // Brazilian Journal of Medical and Biological Research. 2016. № 49 (12). Pp. e5646. DOI: 10.1590/1414-431X20165646.
28. Остроумова Т. М., Толмачева В. А. Остроумова О. Д. Лекарственно-индуцированный тремор // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2022. № 14 (2). С. 4–10. DOI: 10.14412/2074-2711-2022-2-4-10
29. Morgan J. C., Kurek J. A., Davis J. L., Sethi K. D. Insights into Pathophysiology from Medication-induced Tremor // Tremor Other Hyperkinet Mov (N. Y.). 2017. No. 7. Article number 442. DOI: 10.7916/D8FJ2V9Q.
30. Выборная К. В., Соколов А. И., Кобелькова И. В., Лавриненко С. В., Клочкова С. В., Никитюк Д. Б. Основной обмен как интегральный количественный показатель интенсивности метаболизма // Вопросы питания. 2017. Т. 86. № 5. С. 5–10. DOI: 10.24411/0042-8833-2017-00069.
31. Gifford C. A., Holland B. P., Mills R. L., Maxwell C. L., Farney J. K., Terrill S. J., Step D. L., Richards C. J., Burciaga Robles L. O., Krehbiel C. R. Growth and Development Symposium: Impacts of inflammation on cattle growth and carcass merit. // Journal of Animal Science. 2012. No. 90 (5). Pp. 1438–1451. DOI: 10.2527/jas.2011-4846.
32. Сорокина А. В., Алексеева С. В., Еремина Н. В., Дурнев А. Д. Опыт проведения клинко-лабораторных исследований в доклинической оценке безопасности лекарств (часть 2: биохимические и патоморфологические исследования) // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2019. № 9 (4). С. 272–279. DOI: 10.30895/1991-2919-2019-9-4-272-279.
33. Луговик И. А., Макарова М. Н. Токсикологические исследования. Референтные интервалы массовых коэффициентов внутренних органов на выборке, состоящей из 1000 аутбредных крыс // Лабораторные животные для научных исследований. 2021. № 1. DOI: 10.29296/2618723X-2021-01-01.
34. Юшков Б. Г., Климин В. Г., Северин М. В. Система крови и экстремальные воздействия на организм / Екатеринбург: УРО РАН, 1999. 199 с.
35. Iliina T., Kashpur N., Granica S., Bazytko A., Shinkovenko I., Kovalyova A., Goryacha O., Koshovyi O. Phytochemical Profiles and In Vitro Immunomodulatory Activity of Ethanolic Extracts from *Galium aparine* L. // Plants (Basel). 2019. № 8 (12). Article number 541. DOI: 10.3390/plants8120541.
36. Булычева Т. И., Дейнеко Н. Л., Григорьев А. А. Иммунохимическая оценка стимуляции лимфоцитов фитогемагглютинином реакции бласттрансформации лимфоцитов с моноклональными антителами КИ-67 // Клиническая лабораторная диагностика. 2014. № 7. С. 51–54.
37. Pletnev V. V. Study of embryotoxic and teratogenic properties of Medicine No. 60 and evaluation of its effect on the reproductive function of rats. // Journal of Population Therapeutics and Clinical Pharmacology. 2022. No. 29 (1). Pp. e40–e49. DOI: 10.47750/jptcp.2022.885.
38. Dong Z., Tang S. S., Ma X. L., Tan B., Tang Z. S., Li C. H., Yang Z. H., Zeng J. G. Acute, chronic, and genotoxic studies on the protopine total alkaloids of the *Macleaya cordata* (willd.) R. Br. in rodents. // Front Pharmacology. 2022. № 13. Pp. 987800. DOI: 10.3389/fphar.2022.987800.
39. Seegmiller R. E., Cook N., Goodwin K., Leishman T., Graf M. Assessment of Gross Fetal Malformations: The Modernized Wilson Technique and Skeletal Staining. // Methods in Molecular Biology. 2019; № 1965. Pp. 421–434. DOI: 10.1007/978-1-4939-9182-2_27.
40. Бородина А. Ю., Крышень К. Л., Савченко А. Ю., Макарова М. Н., Макаров В. Г. Изучение эмбриотоксического, фетотоксического и тератогенного действия нового противотуберкулезного препарата тиозонид у беременных кроликов // Безопасность и риск фармакотерапии. 2023. Т. 11, № 2. С. 191–204. DOI: 10.30895/2312-7821-2023-11-2-191-204.

41. Крышень К. Л., Кательникова А. Е., Мужикян А. А., Макарова М. Н., Макаров В.Г. Регуляторные и методические аспекты изучения алергизирующих свойств новых лекарственных средств на этапе доклинических исследований // Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2018. № 8 (1). С. 44–55. DOI: 10.30895/1991-2919-2018-8-1-44-55.

42. Ампилогова И. Н., Карлина М. В., Макаров В. Г., Макарова М. Н. Взаимосвязь фармацевтической разработки и доклинических исследований (обзор) // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2023. Т. 12. № 2. С. 155–163. DOI: 10.33380/2305-2066-2023-12-2-155-163.

43. Гущин И. С. Сомнения и надежды в учении об аллергии. // Иммунология. 2023. Т. 44, № 4. С. 471–480. DOI: 10.33029/0206-4952-2023-44-4-471-480.

Об авторах:

Павел Валерьевич Бурков, кандидат ветеринарных наук, руководитель научно-исследовательского центра биотехнологии репродукции животных, Южно-Уральский государственный аграрный университет, Троицк, Россия; ORCID 0000-0001-7515-5670, AuthorID 6276. E-mail: burcovpavel@mail.ru

Павел Николаевич Щербakov, доктор ветеринарных наук, профессор кафедры инфекционных болезней и ветеринарно-санитарной экспертизы, Южно-Уральский государственный аграрный университет, Троицк, Россия; ORCID 0000-0001-8685-4645, AuthorID 677525. E-mail: scherbakov_pavel@mail.ru

Марина Аркадьевна Дерхо, доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой естественнонаучных дисциплин, Южно-Уральский государственный аграрный университет, Троицк, Россия; ORCID 0000-0003-3818-0556, AuthorID 310613. E-mail: derkho2010@yandex.ru

Максим Борисович Ребезов, доктор сельскохозяйственных наук, кандидат ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук, Москва, Россия; профессор кафедры биотехнологии и пищевых продуктов, Уральский государственный аграрный университет, Екатеринбург, Россия; ORCID 0000-0003-0857-5143, AuthorID 419764. E-mail: rebezov@ya.ru

Арина Олеговна Дерхо, аспирант, Южно-Уральский государственный аграрный университет, Троицк, Россия; ORCID 0000-0002-1914-8721, AuthorID 1092200. E-mail: arina_avrora@mail.ru

References

1. Brai A., Poggialini F., Vagaggini C., Pasqualini C., Simoni S., Francardi V., Dreassi E. Tenebrio molitor as a Simple and Cheap Preclinical Pharmacokinetic and Toxicity Model. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023; 24 (3): 2296. DOI: 10.3390/ijms24032296.

2. Guskova T. A. Preclinical toxicological study of drugs as a guarantee of safety of their clinical trials. *Toxicological Bulletin*. 2010; 5 (104): 2–5. (In Russ.)

3. Martignoni M., Groothuis G. M., de Kanter R. Species differences between mouse, rat, dog, monkey and human CYP-mediated drug metabolism, inhibition and induction. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*. 2006; 2 (6): 875–894. DOI: 10.1517/17425255.2.6.875.

4. Federal Law of the Russian Federation “On Circulation of Medicines” No. 61 of 12.04.2010 (as amended on 30.01.2024). Article 4. Basic concepts used in this Federal Law [Internet] [cited 2024 Jun 17]. URL: <https://sudac.ru/law/federalnyi-zakon-ot-12042010-n-61-fz-ob-glava-1/statia-4>. (In Russ.)

5. Yamagata Y., Yamada H., Horii I. Current status and future perspective of computational toxicology in drug safety assessment under ontological intellection. *The Journal of Toxicological Sciences*. 2019; 44 (11): 721–735. DOI: 10.2131/jts.44.721.

6. Loiodice S., Nogueira da Costa A., Atienzar F. Current trends in in silico, in vitro toxicology, and safety biomarkers in early drug development. *Drug and Chemical Toxicology*. 2019; 42 (2): 113–121. DOI: 10.1080/01480545.2017.1400044.

7. Vasilyev A. N. High-quality preclinical studies are a necessary stage in the development and introduction of new drugs into clinical practice. *Antibiotics and Chemotherapy*. 2012; 57 (1-2): 41–49. (In Russ.)

8. Horii I. The principle of safety evaluation in medicinal drug – how can toxicology contribute to drug discovery and development as a multidisciplinary science? *The Journal of Toxicological Sciences*. 2016; 41: SP49–SP67. DOI: 10.2131/jts.41.SP49.

9. Yamagata Y., Yamada H. Ontological approach to the knowledge systematization of a toxic process and toxic course representation framework for early drug risk management. *Scientific Reports*. 2020; 10 (1): 14581. DOI: 10.1038/s41598-020-71370-7.

10. Ankley G. T., Edwards S. W. The Adverse Outcome Pathway: A Multifaceted Framework Supporting 21st Century Toxicology. *Current Opinion in Toxicology*. 2018; 9: 1–7. DOI: 10.1016/j.cotox.2018.03.004.

11. Draskau M. K., Spiller C. M., Boberg J., Bowles J., Svingen T. Developmental biology meets toxicology: contributing reproductive mechanisms to build adverse outcome pathways. *Molecular Human Reproduction*. 2020; 26 (2): 111–116. DOI: 10.1093/molehr/gaaa001.
12. Guskova T. A. Drug toxicology and drug safety. *Toxicological Bulletin*. 2014; 2 (125): 2–5. (In Russ.)
13. Zapadnyuk I. P., Zapadnyuk V. I., Zakharia E. A., Zapadnyuk B. V. *Laboratory Animals. Breeding, Maintenance, Use in Experiments: a textbook*. 3rd ed., revised. and enlarged. Kiev: *Vishcha shkola*, 1983. 383 p. (In Russ.)
14. *Guide to Experimental (Preclinical) Study of New Pharmacological Substances*. Under the general editorship of corresponding member of the Russian Academy of Medical Sciences, professor R. U. Khabriev. 2nd ed., revised and enlarged. Moscow: Publishing house “Medicine” JSC. 2005. 832 p. (In Russ.)
15. *Guide to Conducting Preclinical Studies of Drugs*. Under the general editorship of A.N. Mironov. Part 1. Moscow: Grif i K. 2012. 944 p. (In Russ.)
16. Burkov P. V., Derkho M. A., Rebezov M. B., Shcherbakov P. N., Derkho A. O., Stepanova K. V. Immunological status of sows during the reproductive cycle and correction of its condition with an antigen-directed biosimulator. *Agrarian Science*. 2023; 12: 58–66. DOI: 10.32634/0869-8155-2023-377-12-58-66. (In Russ.)
17. Burkov P. V., Shcherbakov P. N., Derkho M. A., Rebezov M. B., Stepanova K. V., Derkho A. O., Ansoni A. N. M. Pathological features of the lungs and liver of piglets under conditions of constant vaccination of livestock against circovirus infection. *Theory and Practice of Meat Processing*. 2023; 8 (1): 4–11. DOI: 10.21323/2414-438X-2023-8-1-4-11.
18. Burkov P. V., Derkho M. A., Rebezov M. B., Shcherbakov P. N. Circovirus as a factor controlling the effectiveness of pregnancy in sows. *Agrarian Science*. 2023; 8: 27–35. DOI: 10.32634/0869-8155-2023-373-8-27-35. (In Russ.)
19. Burkov P. V., Rebezov M. B., Derkho M. A., Shcherbakov P. N., Derkho A. O. Immunometabolic features of the formation of post-vaccination immunity against porcine circovirus type 2 in sows. *Agrarian Science*. 2024; 7: 38–48. DOI: 10.32634/0869-8155-2024-384-7-38-48. (In Russ.)
20. Burkov P. V., Derkho M. A., Rebezov M. B., Shcherbakov P. N., Derkho A. O. Experimental study of acute toxicity of the intramuscular form of a specific immunobiostimulator – transfer factor. *Agrarian Science*. 2024; 9: 40–47. DOI: 10.32634/0869-8155-2024-386-9-40-47. (In Russ.)
21. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation dated 01.04.2016 No. 199n “On approval of the Rules of Good Laboratory Practice” [Internet] [cited 2024 Jun 07]. URL: <https://normativ.kontur.ru/document?moduleId=1&documentId=278397>. (In Russ.)
22. GOST 33216-2014. Guidelines for the maintenance and care of laboratory animals. Rules for the maintenance and care of laboratory rodents and rabbits [Internet] [cited 2024 May 03]. URL: <https://internet-law.ru/gosts/gost/62388>. (In Russ.)
23. GOST 33215-2014. Guidelines for the maintenance and care of laboratory animals. Rules for equipping premises and organizing procedures [Internet] [cited 2024 May 03]. URL: <https://internet-law.ru/gosts/gost/61242>. (In Russ.)
24. GOST 34566-2019. Complete compound feed for laboratory animals. Technical conditions. [Internet] [cited 2024 May 03]. URL: <https://internet-law.ru/gosts/gost/71578>. (In Russ.)
25. GOST R 51232-98. Drinking water. General requirements for the organization and methods of quality control [Internet] [cited 2024 May 28]. URL: <https://internet-law.ru/gosts/gost/8951>. (In Russ.)
26. Manina I. V., Sergeev V. Yu., Golubtsova N. V., Sergeev A. Yu. Modification of the lymphocyte blast transformation reaction for use in allergological practice. *Russian Biotherapeutic Journal*. 2018; 17 (2): 88–92. DOI: 10.17650/1726-9784-2018-17-2-88-92. (In Russ.)
27. Andrade E. L., Bento A. F., Cavalli J., Oliveira S. K., Schwanke R. C., Siqueira J. M., Freitas C. S., Marcon R., Calixto J. B. Non-clinical studies in the process of new drug development - Part II: Good laboratory practice, metabolism, pharmacokinetics, safety and dose translation to clinical studies. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2016; 49 (12): e5646. DOI: 10.1590/1414-431X20165646.
28. Ostroumova T. M., Tolmacheva V. A., Ostroumova O. D. Drug-induced tremor. *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2022; 14 (2): 4–10. DOI: 10.14412/2074-2711-2022-2-4-10. (In Russ.)
29. Morgan J. C., Kurek J. A., Davis J. L., Sethi K. D. Insights into Pathophysiology from Medication-induced Tremor. *Tremor Other Hyperkinet Mov (N. Y.)*. 2017; 7: 442. DOI: 10.7916/D8FJ2V9Q.
30. Vybornaya K. V., Sokolov A. I., Kobelkova I. V., Lavrinenko S. V., Klochkova S. V., Nikityuk D. B. Basal metabolism as an integral quantitative indicator of metabolic intensity. *Nutrition Issues*. 2017; 86 (5): 5–10. DOI: 10.24411/0042-8833-2017-00069. (In Russ.)
31. Gifford C. A., Holland B. P., Mills R. L., Maxwell C. L., Farney J. K., Terrill S. J., Step D. L., Richards C. J., Burciaga Robles L. O., Krehbiel C. R. Growth and Development Symposium: Impacts of inflam-

mation on cattle growth and carcass merit. *Journal of Animal Science*. 2012; 90 (5): 1438–1451. DOI: 10.2527/jas.2011-4846.

32. Sorokina A. V., Alekseeva S. V., Eremina N. V., Durnev A. D. Experience in conducting clinical and laboratory studies in preclinical assessment of drug safety (part 2: biochemical and pathomorphological studies). *Bulletin of the Scientific Center for Expertise of Medical Products*. 2019; 9 (4): 272–279. DOI: 10.30895/1991-2919-2019-9-4-272-279. (In Russ.)

33. Lugovik I. A., Makarova M. N. Toxicological studies. Reference intervals of mass coefficients of internal organs in a sample consisting of 1000 outbred rats. *Laboratory Animals for Scientific Research*. 2021; 1. DOI: 10.29296/2618723X-2021-01-01. (In Russ.)

34. Yushkov B. G., Klimin V. G., Severin M. V. *Blood System and Extreme Effects on the Body*. Ekaterinburg: Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 1999. 199 p. (In Russ.)

35. Ilina T., Kashpur N., Granica S., Bazylko A., Shinkovenko I., Kovalyova A., Goryacha O., Koshovyi O. Phytochemical Profiles and In Vitro Immunomodulatory Activity of Ethanolic Extracts from *Galium aparine L. Plants (Basel)*. 2019; 8 (12): 541. DOI: 10.3390/plants8120541.

36. Bulycheva T. I., Deineko N. L., Grigoriev A. A. Immunochemical assessment of lymphocyte stimulation by phytohemagglutinin of the lymphocyte blast transformation reaction with monoclonal antibodies KI-67. *Clinical Laboratory Diagnostics*. 2014; 7: 51–54. (In Russ.)

37. Pletnev V. V. Study of embryotoxic and teratogenic properties of Medicine No. 60 and evaluation of its effect on the reproductive function of rats. *Journal of Population Therapeutics and Clinical Pharmacology*. 2022; 29 (1): e40–e49. DOI: 10.47750/jptcp.2022.885.

38. Dong Z., Tang S. S., Ma X. L., Tan B., Tang Z. S., Li C. H., Yang Z. H., Zeng J. G. Acute, chronic, and genotoxic studies on the protopine total alkaloids of the *Macleaya cordata* (willd.) R. Br. in rodents. *Front Pharmacology*. 2022; 13: 987800. DOI: 10.3389/fphar.2022.987800.

39. Seegmiller R. E., Cook N., Goodwin K., Leishman T., Graf M. Assessment of Gross Fetal Malformations: The Modernized Wilson Technique and Skeletal Staining. *Methods in Molecular Biology*. 2019; 1965: 421–434. DOI: 10.1007/978-1-4939-9182-2_27.

40. Borodina A. Yu., Kryshen K. L., Savchenko A. Yu., Makarova M. N., Makarov V. G. Study of embryotoxic, fetotoxic and teratogenic effects of the new anti-tuberculosis drug thiozonide in pregnant rabbits. *Safety and Risk of Pharmacotherapy*. 2023; 11 (2): 191–204. DOI: 10.30895/2312-7821-2023-11-2-191-204. (In Russ.)

41. Kryshen K. L., Katelnikova A. E., Muzhikyan A. A., Makarova M. N., Makarov V. G. Regulatory and methodological aspects of studying the allergenic properties of new drugs at the stage of preclinical studies. *Bulletin of the Scientific Center for Expertise of Medical Products*. 2018; 8 (1): 44–55. DOI: 10.30895/1991-2919-2018-8-1-44-55. (In Russ.)

42. Ampilogova I. N., Karlina M. V., Makarov V. G., Makarova M. N. The interconnection between pharmaceutical development and preclinical research (review). *Development and Registration of Medicines*. 2023; 12 (2): 155–163. DOI: 10.33380/2305-2066-2023-12-2-155-163. (In Russ.)

43. Gushchin I. S. Doubts and hopes in the study of allergies. *Immunology*. 2023; 44 (4): 471–480. DOI: 10.33029/0206-4952-2023-44-4-471-480. (In Russ.)

Autors' information:

Pavel V. Burkov, candidate of veterinary sciences, head of the research center for animal reproduction biotechnology, South Ural State Agrarian University, Troitsk, Russia; ORCID 0000-0001-7515-5670, AuthorID 6276. *E-mail: burcovpavel@mail.ru*

Pavel N. Shcherbakov, doctor of veterinary science, professor, department of infectious diseases and veterinary-sanitary expertise, South Ural State Agrarian University, Troitsk, Russia; ORCID 0000-0001-8685-4645, AuthorID 677525. *E-mail: scherbakov_pavel@mail.ru*

Marina A. Derkho, doctor of biological sciences, professor, head of the department of natural sciences, South Ural State Agrarian University, Troitsk, Russia; ORCID 0000-0003-3818-0556, AuthorID 310613. *E-mail: derkho2010@yandex.ru*

Maksim B. Rebezov, doctor of agricultural sciences, Candidate of Veterinary Sciences, professor, Chief researcher, Gorbатов Scientific Center of Food Systems, Moscow, Russia; Professor of the Department of Biotechnology and Food Products, department of biotechnology and food products, Ural State Agrarian University, Ekaterinburg, Russia; ORCID 0000-0003-0857-5143, AuthorID 419764. *E-mail: rebezov@ya.ru*

Arina O. Derkho, postgraduate, South Ural State Agrarian University, Troitsk, Russia; ORCID 0000-0002-1914-8721, AuthorID 1092200. *E-mail: arina_avrora@mail.ru*