



ИЗУЧЕНИЕ ОБЩЕТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПРЕПАРАТА БАКТЕРИОСЕНС, ПРЕДНАЗНАЧЕННОГО ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ НА ГРЫЗУНАХ И КРУПНЫХ ЖИВОТНЫХ

Н.Б.Морозова¹, А.А.Панкратов¹, Е.А.Плотникова¹, М.С.Воронцова¹,
Е.А.Макарова², Е.А.Луканец², А.Д.Каприн¹

1. Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125284, Российская Федерация, г. Москва, 2-й Боткинский проезд, д. 3
2. ФГУП «Государственный научный центр «Научно-исследовательский институт органических полупродуктов и красителей», 123001, Российская Федерация, г. Москва, ул. Большая Садовая, д. 1, корп. 4

Резюме

Цель исследования. Определение потенциального токсического действия препарата Бактериосенс при его однократном («острая» токсичность) и многократном («хроническая» токсичность) введении животным, а также совместимости с кровью. Материалы и методы. Препарат Бактериосенс, активным компонентом которого является мезо-тетра-(3-пиридил)-бактериохлорин с $\lambda_{\text{max}}=747$ нм. Совместимость с кровью изучали *ex vivo*, оценивая влияние раствора препарата на свертываемость нестабилизированной венозной крови. Для оценки гемолитического потенциала препарата Бактериосенс использовали метод определения осмотической резистентности эритроцитов *in vitro*. «Острую» токсичность исследовали на мышах-гибридах F₁ (СВА x C57Bl/6j) и неинбредных крысах, самцах и самках, при однократном внутривенном и внутрибрюшинном введении Бактериосенса, «хроническую» токсичность — на неинбредных крысах (самцах и самках) и кроликах, самцах породы советская шиншилла при многократном (14 дней) внутривенном введении препарата. Оценивали сроки гибели животных от токсичности, клиническую картину интоксикации, влияние препарата на состояние внутренних органов и систем организма с использованием физиологических, клинико-лабораторных и патологоанатомических методов исследования.

Результаты. При инкубации раствора препарата Бактериосенс в концентрациях от 0,5 мг/мл до 0,005 мг/мл с нестабилизированной кровью крыс изменений в пробах, которые свидетельствовали бы о несовместимости данного препарата с кровью, не выявлено. Водный раствор препарата Бактериосенс животным, а впоследствии и человеку, следует вводить в концентрации, не превышающей 0,5 мг/мл, медленно или капельно. Однократное внутривенное и внутрибрюшинное введение препарата Бактериосенс мышам и крысам (самцам и самкам) в дозах: от 5,0 мг/кг до 50,0 мг/кг и от 1,3 мг/кг до 20,8 мг/кг соответственно было удовлетворительно перенесено животными. Гибель от токсичности и кожная фототоксичность отсутствовали. Исследованные дозы препарата Бактериосенс превышали расчетную эквитерапевтическую дозу для человека в 25–250 раз у мышей и в 6,5–104 раза у крыс. Бактериосенс при многократном (14 дней) внутривенном введении крысам обоего пола и кроликам-самцам в суммарных дозах от 18,2 мг/кг до 72,8 мг/кг и от 8,3 мг/кг до 33 мг/кг соответственно не приводил к гибели животных от токсичности, не оказывал токсического действия на периферическую кровь, почки, сердце, состояние системы гемостаза и ЦНС. Препарат не оказывал негативного влияния на углеводный и липидный обмен.

Заключение. Бактериосенс при однократном и многократном применении в диапазоне исследуемых доз не оказывал выраженного токсического действия на мышей, крыс и кроликов. Исследуемые дозы препарата превышали расчетную эквитерапевтическую дозу для человека в 91–364 раза у крыс и в 41–165 раз у кроликов.

Ключевые слова:

Бактериосенс, фотодинамическая терапия, токсикологические исследования, «острая» токсичность, «хроническая» токсичность, эквитерапевтическая доза

Оформление ссылки для цитирования статьи

Морозова Н.Б., Панкратов А.А., Плотникова Е.А., Воронцова М.С., Макарова Е.А., Луканец Е.А., Каприн А.Д. Изучение общетоксических свойств препарата Бактериосенс, предназначенного для фотодинамической терапии злокачественных новообразований на грызунах и крупных животных. Исследования и практика в медицине 2019; 6(4): 67-83. DOI: 10.17709/2409-2231-2019-6-4-7

Для корреспонденции

Морозова Наталья Борисовна, к.б.н., научный сотрудник отделения модификаторов и протекторов противоопухолевой терапии Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Адрес: 125284, Российская Федерация, г. Москва, 2-й Боткинский проезд, д. 3
E-mail: n.b.morozova@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7159-805X>

Информация о финансировании. Исследования проведены при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (государственный контракт № 14.N08.12.0049).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 19.06.2019 г., принята к печати 01.12.2019 г.

STUDY OF GENERAL TOXIC EFFECT OF BACTERIOSENS IN RODENTS AND LARGE LABORATORY ANIMALS

N.B.Morozova¹, A.A.Pankratov¹, E.A.Plotnikova¹, M.S.Vorontsova¹, E.A.Makarova², E.A.Lukyanets², A.D.Kaprin¹

1. P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – Branch of the National Medical Research Radiological Centre, 3 2nd Botkinskiy proezd, Moscow 125284, Russian Federation
2. State Scientific Center Research Institute of Intermediates and Dyes, 1/4 B.Sadovaya str., Moscow 123001, Russian Federation

Abstract

Purpose of the study. The objectives of the research are to evaluate the potential toxicity of Bacteriosens when administered to animals once only («acute» toxicity) or repeatedly («chronic» toxicity) and to study its biocompatibility with blood components.

Materials and methods. Bacteriosens is the medicine on the basis of photoactive compound of *mezo*-tetra (3-pyridyl) bacteriochlorin with λ_{max} of 747 nm. *Ex vivo* study of its biocompatibility with blood components included the evaluation of the impact of the solution on the coagulability of non-stabilized venous blood. The *in vitro* method of detecting erythrocyte osmotic resistance to hemolytic ability of Bacteriosens was used. The «acute» toxicity was studied in F1 hybrid mice (CBA x C57Bl/6j) and non-bred rats, male and female, after single intravenous and intraperitoneal injections of Bacteriosens. The «chronic» toxicity was studied in non-bred rats, male and female, and Soviet Chinchilla rabbits after multiple intravenous injection of the drug (over the period of 14 days). Time period before toxicity-induced death of animals, clinical signs of intoxication, and the impact of the medicine on the inner organs and body systems were evaluated using physiologic and pathophysiologic, clinical, and laboratory methods.

Results. Incompatibility of non-stabilized rat blood with Bacteriosens after the incubation with the medicine in concentrations varying from 0.5 till 0.005 mg/ml has not been discovered. The aquatic solution of Bacteriosens should be injected into animals and later on into humans slowly or by drip feed in concentrations not exceeding 0.5 mg/ml. A single injection of Bacteriosens in doses from 5.0 to 50.0 mg/kg and from 1.3 to 20.8 mg/kg to mice and rats (male and female), respectively, was tolerated by the animals satisfactorily. No toxicity-induced deaths or skin phototoxicity have been detected. The studied doses of Bacteriosens in mice 25–250 times exceeded the calculated equitherapeutic dose for humans, and in rats, 6.5–104 times. Bacteriosens in total doses from 18.2 to 72.8 mg/kg and from 8.3 to 33 mg/kg administered as multiple intravenous injections for 14 days to rats and rabbits respectively, did not induce the death of the animals and demonstrated no toxic impact on blood, liver, kidneys, heart, hemostasis system, or central nervous system. The drug did not adversely affect carbohydrate and lipid metabolism.

Conclusion. Bacteriosens when administered as a single dose or as multiple injections in the range of studied doses did not have adverse toxic effect on mice, rats, and rabbits. The studied doses of Bacteriosens in rats 91–364 times exceeded the calculated equitherapeutic dose for humans, and 41–165 times, in rabbits.

Keywords:

Bacteriosens, photodynamic therapy, toxicological study, «acute» toxicity, «chronic» toxicity, equitherapeutic dose

For citation

Morozova N.B., Pankratov A.A., Plotnikova E.A., Vorontsova M.S., Makarova E.A., Lukyanets E.A., Kaprin A.D. Study of general toxic effect of Bacteriosens in rodents and large laboratory animals. Research and Practical Medicine Journal (Issled. prakt. med.). 2019; 6(4): 67-83. DOI: 10.17709/2409-2231-2019-6-4-7

For correspondence

Natalya B. Morozova, PhD (Biology), researcher of the department of modifiers and protectors of antitumor therapy P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – Branch of the National Medical Research Radiological Centre
Address: 3 2nd Botkinskiy proezd, Moscow 125284, Russian Federation
E-mail: n.b.morozova@yandex.ru
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7159-805X>

Information about funding. The research was carried out with the financial support of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (state contract No. 14.N08.12.0049).

Conflict of interest. Authors report no conflict of interest.

The article was received 19.06.2019, accepted for publication 01.12.2019.

ВВЕДЕНИЕ

Фотодинамическая терапия (ФДТ) является эффективным методом лечения различных видов злокачественных опухолей [1, 2]. Облучение накопившегося фотосенсибилизатора (ФС) светом соответствующей длины волны генерирует цитотоксический синглетный кислород и свободные радикалы, что приводит к разрушению опухолевых клеток и ткани [3]. Фотосенсибилизатор может генерировать синглетный кислород и флуоресценцию одновременно, что делает возможным его использование как для визуализации, так и для терапии злокачественных новообразований [4].

Разработка новых ФС является сложной задачей для ФДТ. Особое внимание в последние годы уделяется изучению биологических свойств фотосенсибилизаторов бактериохлоринового ряда, поглощающих в ближнем ИК-диапазоне (700–850 нм), где собственное поглощение несенсибилизированной ткани минимально и, соответственно, эффективная терапевтическая глубина воздействия значительно больше [5, 6].

Бактериохлорины, показывая высокую фототоксичность и низкую темную токсичность в исследованиях *in vitro*, высокую фотоиндуцированную противоопухолевую эффективность на мышах с перевиваемыми опухолями, являются мощными и перспективными противоопухолевыми фотосенсибилизаторами для ФДТ [7, 8]. Производные бактериохлорина имеют ограниченную фототоксичность кожи, что дает им дополнительное преимущество перед клинически одобренными ФС, применяемыми в настоящее время [9].

В ФГУП «ГНЦ «НИОПИК» совместно с ФГБУ «НМИЦ радиологии» МЗ России на основе стандартной субстанции разработан препарат Бактериосенс, который предназначен для ФДТ злокачественных новообразований различных локализаций.

Препарат обладает высокой фотоиндуцированной активностью в отношении опухолевых клеток человека эпителиального происхождения и опухолевых клеток мыши различного генеза (величина IK_{50} составляет 0,08–1,21 мкМ в зависимости от клеточной линии) [10]. Применение ФДТ с Бактериосенсом обеспечивает высокую дозозависимую противоопухолевую эффективность у мышей с опухолями различного гистогенеза. Использование оптимальных режимов проведения ФДТ позволяет добиться 100% излеченности мышей с опухолями малого размера; 100% торможения роста опухолей и 38–100% излеченности мышей с опухолями большого размера [10, 11]. Бактериосенс в течение 3–4 суток выводился из кровотока животных (мышей и кроликов) при использова-

нии дозы, в 2,5 раза превышающей терапевтическую. Продолжительность периода полувыведения Бактериосенса не превышает 24 мин. В коже препарат регистрируется не более 4 сут. Основные пути элиминирования Бактериосенса из организма животных происходили через почки и печень [11, 12].

Целью исследования являлось определение потенциального токсического действия препарата Бактериосенс при его однократном («острая» токсичность) и многократном («хроническая» токсичность) введении животным, а также совместимости с кровью.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Фотосенсибилизатор. Препарат Бактериосенс — лиофилизат для приготовления раствора для инфузий производства ФГУП «ГНЦ «НИОПИК» (Россия). Активный компонент — **мезо-тетра-(3-пиридил)-бактериохлорин** с $\lambda_{max}=747$ нм; вспомогательные компоненты: kolliphor® ELP, D (-)-Маннит, лимонная кислота [12]. В качестве растворителя использовали 0,025% раствор гидрокарбоната натрия ($NaHCO_3$). Для проведения исследований раствор препарата нужной концентрации готовили *ex tempore*. Концентрация раствора препарата для введения мышам, крысам и кроликам составила 0,5 мг/мл.

Животные. Для оценки токсических свойств использовали интактных животных: мышей-гибридов F_1 (СВА х С57Bl/6j), самцов и самок в возрасте 8–10 нед; неинбредных крыс, самцов и самок в возрасте 8–10 нед и кроликов, самцов породы советская шиншилла в возрасте 11–13 нед. Мышей и крыс получали из питомника Научного центра биомедицинских технологий РАМН (филиал «Андреевка»), кроликов — ООО «Кролинфо». Животные находились на стандартной сбалансированной диете с использованием экструдированного комбикорма для содержания мелких лабораторных грызунов (мышей и крыс) и кроликов «ЧАРА» (ЗАО «Ассортимент-Агро»). Животные получали чистую питьевую воду III типа, полученную из водопроводной воды, путем ее пропускания через систему фильтров и систему обратного осмоса Osmos Stream Compact OD 200. В качестве подстилки у мышей и крыс использовали специальный сертифицированный подстил RENOFIX МК 2000 (J. Rettenmaer & Sohne, Германия).

Исследования были одобрены комиссией по биоэтике и проведены с соблюдением принципов гуманности в соответствии с национальными и международными стандартами [13–16].

Изучение совместимости раствора препарата Бактериосенс с кровью.

Исследования проводили *ex vivo* с использованием нестабилизированной и стабилизированной

крови, полученной от 3 крыс для каждого вида исследования. Кровь для анализа забирали из нижней полой вены. Эвтаназию животных для этих целей осуществляли путем передозировки эфира для наркоза. Тесты воспроизводили три раза.

При изучении влияния раствора препарата Бактериосенс на свертываемость нестабилизированной венозной крови к 0,1 мл раствору препарата в концентрациях, равных 0,5 мг/мл, 0,05 мг/мл и 0,005 мг/мл, добавляли 1,0 мл крови крыс, аккуратно перемешивали и оценивали время образования сгустка с помощью секундомера. В контрольную пробу вместо препарата Бактериосенс вносили изотонический (0,9%) раствор хлористого натрия. Определяли любые изменения в пробах крови в течение первой минуты после контакта крови с препаратом и время свертывания крови.

Для оценки гемолитического потенциала препарата исследовали резистентность эритроцитов к воздействию раствора препарата Бактериосенс. В основу этих исследований положен унифицированный метод определения осмотической резистентности эритроцитов в модификации Л. И. Идельсона [17].

В пластиковые центрифужные пробирки разливали по 2,0 мл: раствора препарата Бактериосенс с концентрациями 0,5 мг/мл, 0,005 мг/мл и 0,005 мг/мл (опытные пробы); 0,9% раствора хлористого натрия (отрицательный контроль); 0,1% раствора хлористого натрия (положительный контроль). Далее в каждую пробирку вносили по 8 мкл гепаринизированной крови крыс. Содержимое пробирок аккуратно перемешивали и оставляли на 15 и 30 мин в термостате при температуре 37 °С. Через указанные промежутки времени пробы центрифугировали на CENTRIFUGE CM-6M ELM1 (Латвия) при 2000 об/мин в течение 5 мин. Из каждой пробирки удаляли надосадочную жидкость и измеряли оптическое поглощение на спектрофотометре Genesys 2 Thermo Spectronic (США) при длине волны, равной 546 нм, в кювете с толщиной слоя 10 мм против соответствующего контроля (препарата Бактериосенс в концентрациях 0,5; 0,05 и 0,005 мг/мл; 0,9% и 0,1% растворов хлористого натрия).

За 100% гемолиз принимали гемолиз в пробе, в которой кровь инкубировали с 0,1% раствором хлористого натрия (положительный контроль). Рассчитывали процент гемолиза в каждой пробе путем сравнения величины экстинкций надосадочной жидкости опытных проб с экстинкцией пробы, содержащей 0,1% хлористого натрия (100% гемолиз), по формуле: $[E_x \times 100] / E_{0,1\%NaCl}$, где E_x — экстинкция надосадочной жидкости исследуемых проб; $E_{0,1\%NaCl}$ — экстинкция надосадочной жидкости в пробирке с 0,1% раствором хлористого натрия;

100 — процент гемолиза эритроцитов в пробирке с 0,1% раствором хлористого натрия.

Изучение «острой» токсичности препарата Бактериосенс. При изучении «острой» токсичности определяли величины летальных и токсических доз Бактериосенса для мышей и крыс обоего пола, используя два пути введения: внутривенный (рекомендован для клинического применения у человека) и внутрибрюшинный (в качестве дополнительного). Мышам и крысам препарат Бактериосенс вводили однократно (или дробно в течение 6 ч). Контрольным животным вводили изотонический (0,9%) раствор хлористого натрия, используя тот же путь и режим введения, что и животным в опытных группах. У животных регистрировали клинические признаки интоксикации, гибель животных от токсичности, сроки их гибели, изменение массы тела мышей и крыс. Взвешивание животных осуществляли до введения препарата, а также на 1, 7, 14, 21 и 30-е сутки после его введения.

При выборе доз препарата Бактериосенс для изучения его «острой» токсичности на мышах исходили из его терапевтической дозы (ТД), которая была определена на этапе изучения противоопухолевой эффективности ФДТ на мышах с перевиваемыми опухолями и составила 2,5 мг/кг. Мышам препарат Бактериосенс вводили в дозах: 5 мг/кг (2 ТД), 10 мг/кг (4 ТД), 20 мг/кг (8 ТД), 40 мг/кг (16 ТД) и 50 мг/кг (20 ТД).

При выборе доз препарата для изучения его «острой» токсичности на крысах исходили из эквивалентной дозы (ЭТД) для крыс, которая была рассчитана, исходя из ТД для мышей, и составила 1,3 мг/кг. Межвидовой перенос доз лекарственных средств осуществляли по методам Freireich E. J. и Улановой И. П. [18, 19]. Крысам препарат Бактериосенс вводили в дозах: 2,6 мг/кг (2ЭТД_{крыс}), 5,2 мг/кг (4ЭТД_{крыс}), 10,4 мг/кг (8ЭТД_{крыс}), 20,8 мг/кг (16ЭТД_{крыс}).

Для оценки повреждающего действия препарата на внутренние органы и ткани каждое животное было подвергнуто аутопсии после плановой эвтаназии парами эфира для наркоза. При аутопсии детально исследовали внешнее состояние тела, полость черепа, грудную и брюшную полости с органами и тканями, шею с органами и тканями и скелетно-мышечную систему.

Изучение «хронической» токсичности препарата Бактериосенс. Препарат Бактериосенс вводили крысам и кроликам в течение 14 дней, один раз в день внутривенно в ЭТД, которые были рассчитаны, исходя из терапевтической дозы для мышей, равной 2,5 мг/кг [10]. Межвидовой перенос доз лекарственных средств осуществлялся по методам Freireich E. J. и Улановой И. П. [18, 19].

Для крыс эта доза составила 1,3 мг/кг (ЭТД_{крыс}). При изучении «хронической» токсичности препарата Бактериосенс на крысах исследованы следующие суммарные дозы: 18,2 мг/кг (14ЭТД_{крыс}), 36,4 мг/кг (28ЭТД_{крыс}), 72,8 мг/кг (56ЭТД_{крыс}).

Для кроликов эквитерапевтическая доза составила 0,6 мг/кг (ЭТД_{кролик}). При изучении «хронической» токсичности препарата Бактериосенс на кроликах исследованы следующие суммарные дозы: 8,4 мг/кг (14ЭТД_{кролик}), 16,5 мг/кг (28ЭТД_{кролик}), 33 мг/кг (56ЭТД_{кролик}).

Препарат животным вводили внутривенно, так как внутривенный путь введения препарата Бактериосенс рекомендован для клинического применения у человека. Крысам препарат вводили внутривенно в хвостовую вену, кроликам — в наружную ушную вену. Контрольным животным вводили изотонический (0,9%) раствор хлористого натрия, используя тот же путь и режим введения, что и животным в опытных группах.

Исследование проводили в соответствии с общепринятой методикой [20]. При регистрации внешних проявлений интоксикации большое внимание уделялось поведенческим реакциям. Оценивалась степень возбудимости животных по уровню двигательной активности и агрессивности, писку животных (вокализации). Обращали внимание на нервно-мышечную возбудимость (спонтанный тремор, судороги, изменение мышечного тонуса). Оценивали рефлексы «позы», «походки», «реакцию на человека», «реакцию на болевое раздражение», «реакцию на звуковое раздражение» и другие нарушения. Состояние вегетативных эффектов оценивали по величине зрачка (миоз, мидриаз), наличию или отсутствию экзофтальма. Так как основным побочным эффектом использования метода ФДТ является кожная фототоксичность, данный параметр был внесен в перечень критериев оценки токсических проявлений. Оценку проводили при естественном освещении по наличию на коже слизистых оболочек, ушей и хвоста гиперемии, шелушения, отека, ожога, струпа и других проявлений. Фиксировали все патологические изменения в поведении и клиническом состоянии животных.

Массу тела у крыс и кроликов определяли на 1, 3, 10, 14, 21 и 30-е сутки после окончания введения препарата.

Гематологические исследования у животных проводили на 1, 7, 14, 21 и 30-е сутки после введения препарата на автоматическом гематологическом анализаторе Medonic (Швеция). Для подсчета лейкоцитарной формулы делали мазки крови на предметных стеклах, которые были зафиксированы по Майн–Грюнвальду, и далее окрашены по методу

Гимзы–Романовского и исследованы в световом микроскопе MC-300 Micros (Австрия).

Биохимическое исследование сыворотки крови и коагулометрическое исследование плазмы крови животных проводили на 1 и 30-е сутки после последнего введения препарата на автоматическом биохимическом анализаторе A-25 BioSystems (Испания) и на автоматическом коагулометре ACL Elite PRO (Италия) соответственно.

Физиологические исследования, а также клинический анализ мочи у крыс (ЭКГ, оценка суточного диуреза) проводили на 1, 14 и 30-е сутки наблюдений.

Электрокардиограммы снимали на 3-канальном электрокардиографе AT-101 Schiller (Швейцария).

Для оценки спонтанного диуреза и клинического анализа мочи у крыс мочу собирали путем помещения животных в метаболические клетки (Metabolic cage TECNIPLAST, Италия). Для клинического анализа мочи использовали полуавтоматический анализатор мочи LabUReader Plus (Венгрия). Лейкоциты и эритроциты в моче определяли при микроскопическом исследовании осадка мочи в световом микроскопе MC-300, Micros (Австрия).

В процессе исследования животные были подвергнуты плановой эвтаназии путем передозировки эфира для наркоза (крысы) и внутривенного введения 10% раствора тиопентала натрия в дозе 150–200 мг/животное (кролики).

Патологоанатомические исследования у крыс и кроликов (аутопсия, морфометрический анализ внутренних органов, гистологические исследования) осуществляли на 1-е и 30-е сутки. На каждый срок исследования использовали биологический материал, полученный от 6 животных из каждой группы, общее количество животных в группе составило 12 голов. Фрагменты внутренних органов и тканей (головной мозг, щитовидная железа, тимус, сердце, легкие, печень, селезенка, почки, надпочечники, фрагмент желудка, фрагменты тонкой и толстой кишки, семенники (у самцов), яичники (у самок)) были зафиксированы в 10% растворе формалина и подвергнуты стандартной проводке с последующим заключением в парафин для последующего гистологического исследования. Срезы органов и тканей были стандартно окрашены гематоксилином и эозином и подвергнуты гистологическому исследованию на световом микроскопе MC-300, Micros (Австрия).

Для всех количественных данных вычисляли групповое среднее арифметическое (M) и стандартную ошибку среднего (m). Статистический анализ проводили с использованием программы Statistica for Windows ver. 7.0 (StatSoft, Inc). Достоверность различий между группами данных оценивали

с применением t-критерия Стьюдента и U-критерия Манна–Уитни. Различия считались достоверными при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Изучение совместимости препарата Бактериосенс с кровью.

Включало оценку влияния раствора Бактериосенс на свертываемость крови крыс и его гемолитическую активность *ex vivo*.

1.1. Влияние препарата Бактериосенс на свертываемость цельной крови крыс.

Данные, характеризующие влияние препарата Бактериосенс на свертываемость крови крыс, представлены в таблице 1.

Раствор препарата Бактериосенс в концентрациях, равных 0,5 мг/мл, 0,05 мг/мл и 0,005 мг/мл, и изотонический (0,9%) раствор хлористого натрия (контрольное вещество) хорошо смешивались с кровью и не приводили к мгновенному образованию сгустков при визуальной оценке в течение 1-й минуты.

При использовании раствора препарата Бактериосенс в исследованных концентрациях наблюда-

ли умеренное дозозависимое увеличение времени свертывания крови крыс. Так, при инкубации крови с раствором препарата в концентрации, равной 0,5 мг/мл, наблюдали увеличение времени свертывания нестабилизированной венозной крови крыс на 141 с (время свертывания крови в пробе составило 359 ± 94 с). Раствор препарата Бактериосенс в концентрациях 0,05 и 0,005 мг/мл и при инкубировании с кровью крыс практически не влиял на ее свертываемость (см. табл. 1).

Таким образом, при инкубации раствора препарата Бактериосенс в концентрациях от 0,5 мг/мл до 0,005 мг/мл, с нестабилизированной кровью крыс, изменений в пробах, которые свидетельствовали бы о несовместимости данного препарата с кровью, не выявлено.

1.2. Оценка гемолитического потенциала препарата Бактериосенс.

При оценке гемолитического потенциала препарата Бактериосенс показано, что инкубация крови с раствором препарата в концентрации, равной 0,5 мг/мл, в течение 15 мин не приводит к гемолизу эритроцитов (см. табл. 1). При увеличении времени инкубации крови с препаратом в этой concentra-

Таблица 1. Влияние препарата Бактериосенс на время свертывания крови крыс и гемолиз эритроцитов
Table 1. The influence of the drug Bacteriocins on the clotting time of rats and hemolysis of red blood cells

Время свертывания крови, с / The clotting time, sec.					
Исследуемое лекарственное средство / The investigational medicinal product			Контрольное вещество / Control substance		
Препарат Бактериосенс / Drug Bacteriosens			Хлористый натрий 0,9% раствор / Sodium chloride 0.9% solution		
Концентрация мг/мл / Concentration mg / ml					
0,5	0,05	0,005			
$359 \pm 94^*$	284 ± 58	226 ± 22	218 ± 24		
Гемолитическая активность / Hemolytic activity					
Время инкубации с кровью / The incubation time of blood	Гемолиз эритроцитов, % / Hemolysis of red blood cells, %				
	Препарат Бактериосенс, концентрация, мг/мл / Drug Bacteriosens, concentration, mg / ml			Хлористый натрий, концентрация, % / Sodium chloride, density, %	
	0,5	0,05	0,005	0,9	0,1
15 мин	$2,6 \pm 1,0$	$2,2 \pm 0,9$	$2,3 \pm 0,6$	$1,9 \pm 0,4$	100
30 мин	$12,8 \pm 5,4^*$	$2,6 \pm 0,8$	$1,8 \pm 0,9$	$2,2 \pm 0,4$	

Примечание: Пробы инкубировали в термостате при температуре 37°C.

* – Различия достоверны, $p \leq 0,05$ относительно группы, в которой использовали контрольное вещество
 Note: the samples were incubated in a thermostat at 37°C.

* – Differences are significant, $p \leq 0,05$ relative to the group in which the control substance was used

Таблица 2. Проявления интоксикации у мышей после однократного (или дробного в течение не более 6 ч) внутривенного введения препарата Бактериосенс
Table 2. Manifestations of intoxication in mice after a single (or fractional for no more than 6 hours) intravenous administration of the drug Bacteriosens

Доза, мг/кг (характеристика дозы) / Dose, mg / kg (characterization of dose)	Гибель животных от токсичности и внешние проявления интоксикации / Death of animals from toxicity and external manifestations of intoxication	Масса тела животных / Animal body weight					
		До введения / before injection	Сутки после введения / Day after injection				
			1	7	14	21	30
Мыши-самцы / Male mice							
5,0 (2ТД) / 5,0 (2TD)	Гибель мышей от токсичности отсутствовала; внешние проявления интоксикации отсутствовали; кожная фототоксичность отсутствовала / The death of mice from toxicity was absent; external manifestations of intoxication were absent; cutaneous phototoxicity was absent	21,4±0,2	21,5±0,3	23,9±0,6	24,7±0,9	26,0±1,3	26,8±1,1
10 (4ТД) / 10 (4TD)	Гибель мышей от токсичности отсутствовала; внешние проявления интоксикации отсутствовали; кожная фототоксичность отсутствовала / The death of mice from toxicity was absent; external manifestations of intoxication were absent; cutaneous phototoxicity was absent	22,5±0,3	22,5±0,5	25,0±0,7	25,6±1,4	27,1±1,8	27,7±1,6
20 (8ТД) / 20 (8TD)	Гибель мышей от токсичности отсутствовала; снижение двигательной активности, вялость, длительность сохранения токсических проявлений – до 2 сут; кожная фототоксичность отсутствовала / Death of mice from toxicity was absent; reduction of motor activity, lethargy, duration of preservation of toxic manifestations-up to 2 days; cutaneous phototoxicity was absent	23,4±0,3	23,5±0,5	25,7±1,0	26,0±1,7	27,3±1,9	28,1±1,8
40 (16ТД) / 40 (16TD)	Гибель мышей от токсичности отсутствовала; снижение двигательной активности, вялость, длительность сохранения токсических проявлений – до 2 сут; кожная фототоксичность отсутствовала / Death of mice from toxicity was absent; reduction of motor activity, lethargy, duration of preservation of toxic manifestations-up to 2 days; cutaneous phototoxicity was absent	22,4±0,3	22,8±0,2	24,0±0,9	24,9±1,0	25,9±1,4	26,7±1,3
50 (20ТД) / 50 (20TD)	Гибель мышей от токсичности отсутствовала; снижение двигательной активности, вялость, длительность сохранения токсических проявлений – до 2 сут; кожная фототоксичность отсутствовала / Death of mice from toxicity was absent; reduction of motor activity, lethargy, duration of preservation of toxic manifestations-up to 2 days; cutaneous phototoxicity was absent	23,5±0,3	23,7±0,4	25,1±1,7	26,2±1,9	27,7±1,9	28,6±0,9
Контроль / Control	Внешние проявления интоксикации отсутствовали / External manifestations of intoxication were absent	22,0±1,2	22,2±1,4	24,5±1,3	25,4±1,3	26,7±1,3	27,2±1,2
Мыши-самки / Female mice							
5,0 (2ТД) / 5,0 (2TD)	Гибель мышей от токсичности отсутствовала; внешние проявления интоксикации отсутствовали; кожная фототоксичность отсутствовала / The death of mice from toxicity was absent; external manifestations of intoxication were absent; cutaneous phototoxicity was absent	18,4±0,3	18,5±0,3	20,1±0,4	20,8±0,5	21,0±0,6	21,3±0,5
10 (4ТД) / 10 (4TD)	Гибель мышей от токсичности отсутствовала; внешние проявления интоксикации отсутствовали; кожная фототоксичность отсутствовала / The death of mice from toxicity was absent; external manifestations of intoxication were absent; cutaneous phototoxicity was absent	18,3±0,3	18,4±0,3	20,6±0,5	21,3±0,5	21,8±0,4	22,3±0,5
20 (8ТД) / 20 (8TD)	Гибель мышей от токсичности отсутствовала; снижение двигательной активности, вялость, длительность сохранения токсических проявлений – до 2 сут; кожная фототоксичность отсутствовала / Death of mice from toxicity was absent; reduction of motor activity, lethargy, duration of preservation of toxic manifestations-up to 2 days; cutaneous phototoxicity was absent	18,5±0,3	19,0±0,3	20,1±0,5	20,8±0,5	21,8±0,4	22,1±0,3
40 (16ТД) / 40 (16TD)	Гибель мышей от токсичности отсутствовала; снижение двигательной активности, вялость, длительность сохранения токсических проявлений – до 2 сут; кожная фототоксичность отсутствовала / Death of mice from toxicity was absent; reduction of motor activity, lethargy, duration of preservation of toxic manifestations-up to 2 days; cutaneous phototoxicity was absent	18,5±0,3	19,1±0,7	19,8±0,7	20,8±0,4	21,4±0,8	22,0±0,6
50 (20ТД) / 50 (20TD)	Гибель мышей от токсичности отсутствовала; снижение двигательной активности, вялость, длительность сохранения токсических проявлений – до 2 сут; кожная фототоксичность отсутствовала / Death of mice from toxicity was absent; reduction of motor activity, lethargy, duration of preservation of toxic manifestations-up to 2 days; cutaneous phototoxicity was absent	19,2±0,3	19,6±0,2	20,2±0,3	20,9±0,4	22,1±0,7	22,7±0,9
Контроль / Control	Внешние проявления интоксикации отсутствовали / External manifestations of intoxication were absent	18,6±1,1	19,1±1,3	19,9±1,2	20,7±1,4	21,4±1,7	22,0±1,6

Примечание: Количество животных для забора биологического материала на каждую точку – 6 голов; всего в группе – 12 животных. Препарат

Бактериосенс вводили однократно или дробно в течение 6 ч. Контрольным животным вводили 0,9% раствор NaCl – 100 мл/кг

Note: the number of animals to collect biological material for each point – 6 heads; total in the group – 12 animals. The drug Bacteriosens was administered once or fractional for 6 hours. Control animals were administered 0.9% NaCl solution – 100 ml/kg

Таблица 3. Проявления интоксикации у мышей после однократного (или дробного в течение не более 6 ч) внутривентриального введения препарата Бактериосенс
Table 3. Manifestations of intoxication in mice after a single (or fractional for no more than 6 hours) intraperitoneal administration of the drug Bacteriosens

Доза, мг/кг (характеристика дозы) / Dose, mg / kg (characterization of dose)	Гибель животных от токсичности и внешние проявления интоксикации / Death of animals from toxicity and external manifestations of intoxication	Масса тела животных / Animal body weight					
		до введения / before injection	Сутки после введения / Day after injection				
Мыши-самцы / Male mice							
5,0 (2ТД) / 5,0 (2TD)	Гибель мышей от токсичности отсутствовала; внешние проявления интоксикации отсутствовали; кожная фототоксичность отсутствовала / The death of mice from toxicity was absent; external manifestations of intoxication were absent; cutaneous phototoxicity was absent	19,5±0,2	19,5±0,5	20,8±1,0	21,4±0,8	22,8±0,9	23,5±0,9
10 (4ТД) / 10 (4TD)	Гибель мышей от токсичности отсутствовала; внешние проявления интоксикации отсутствовали; кожная фототоксичность отсутствовала / The death of mice from toxicity was absent; external manifestations of intoxication were absent; cutaneous phototoxicity was absent	20,5±0,2	20,6±0,2	22,3±0,7	23,5±0,7	24,8±1,0	25,5±0,9
20 (8ТД) / 20 (8TD)	Гибель мышей от токсичности отсутствовала; внешние проявления интоксикации отсутствовали; кожная фототоксичность отсутствовала / The death of mice from toxicity was absent; external manifestations of intoxication were absent; cutaneous phototoxicity was absent	20,6±0,2	20,8±0,3	22,3±0,5	22,8±0,8	24,2±1,2	24,9±1,1
40 (16ТД) / 40 (16TD)	Гибель мышей от токсичности отсутствовала; снижение двигательной активности, вялость, длительность сохранения токсических проявлений – в течение 24 ч; кожная фототоксичность отсутствовала / Death of mice from toxicity was absent; reduction of motor activity, lethargy, duration of preservation of toxic manifestations-within 24 hours; cutaneous phototoxicity was absent	21,4±0,2	21,7±0,3	23,0±0,5	23,7±1,2	25,3±1,3	25,9±1,3
50 (20ТД) / 50 (20TD)	Гибель мышей от токсичности отсутствовала; снижение двигательной активности, вялость, длительность сохранения токсических проявлений – в течение 24 ч; кожная фототоксичность отсутствовала / Death of mice from toxicity was absent; reduction of motor activity, lethargy, duration of preservation of toxic manifestations-within 24 hours; cutaneous phototoxicity was absent	21,4±0,2	22,8±0,9	23,9±0,5	24,4±0,2	26,0±0,6	26,7±0,6
Контроль / Control	Внешние проявления интоксикации отсутствовали / External manifestations of intoxication were absent	24,0±1,9	24,0±1,8	25,5±1,9	26,9±2,3	28,7±2,7	29,3±2,6
Мыши-самки / Female mice							
5,0 (2ТД) / 5,0 (2TD)	Гибель мышей от токсичности отсутствовала; внешние проявления интоксикации отсутствовали; кожная фототоксичность отсутствовала / The death of mice from toxicity was absent; external manifestations of intoxication were absent; cutaneous phototoxicity was absent	16,2±0,4	16,9±0,8	17,6±0,4	18,0±0,7	18,9±0,5	19,8±0,4
10 (4ТД) / 10 (4TD)	Гибель мышей от токсичности отсутствовала; внешние проявления интоксикации отсутствовали; кожная фототоксичность отсутствовала / The death of mice from toxicity was absent; external manifestations of intoxication were absent; cutaneous phototoxicity was absent	16,6±0,4	17,0±1,0	18,1±1,5	19,1±1,3	19,6±1,1	20,4±0,8
20 (8ТД) / 20 (8TD)	Гибель мышей от токсичности отсутствовала; внешние проявления интоксикации отсутствовали; кожная фототоксичность отсутствовала / The death of mice from toxicity was absent; external manifestations of intoxication were absent; cutaneous phototoxicity was absent	17,6±0,2	17,4±0,3	19,1±0,4	19,8±0,3	20,3±0,5	21,0±0,5
40 (16ТД) / 40 (16TD)	Гибель мышей от токсичности отсутствовала; снижение двигательной активности, вялость, длительность сохранения токсических проявлений – в течение 24 ч; кожная фототоксичность отсутствовала / Death of mice from toxicity was absent; reduction of motor activity, lethargy, duration of preservation of toxic manifestations-within 24 hours; cutaneous phototoxicity was absent	17,4±0,2	18,1±0,5	19,0±0,7	19,5±0,9	20,5±0,7	21,0±0,7
50 (20ТД) / 50 (20TD)	Гибель мышей от токсичности отсутствовала; снижение двигательной активности, вялость, длительность сохранения токсических проявлений – в течение 24 ч; кожная фототоксичность отсутствовала / Death of mice from toxicity was absent; reduction of motor activity, lethargy, duration of preservation of toxic manifestations-within 24 hours; cutaneous phototoxicity was absent	17,8±0,2	18,5±0,4	19,1±0,4	19,8±0,6	20,7±0,8	21,4±0,7
Контроль / Control	Внешние проявления интоксикации отсутствовали / External manifestations of intoxication were absent	18,2±0,3	18,3±0,4	19,7±0,6	20,6±0,3	21,1±0,4	22,0±0,4

Примечание: Количество животных для забора биологического материала на каждую точку – 6 голов; всего в группе – 12 животных. Препарат Бактериосенс вводили однократно или дробно в течение 6 часов. Контрольным животным вводили 0,9% раствор NaCl – 100 мл/кг

Note: the number of animals to collect biological material for each point – 6 heads; total in the group – 12 animals. The drug Bacteriosens was administered once or fractional for 6 hours. Control animals were administered 0.9% NaCl solution – 100 ml/kg

Таблица 4. Проявления интоксикации у крыс после однократного (или дробного в течение не более 6 ч) внутривенного введения препарата Бактериосенс
Table 4. Manifestations of intoxication in rats after a single (or fractional for no more than 6 hours) intravenous administration of the drug Bacteriosens

Доза, мг/кг (характеристика дозы) / Dose, mg / kg (characterization of dose)	Гибель животных от токсичности и внешние проявления интоксикации / Death of animals from toxicity and external manifestations of intoxication	Масса тела животных / Animal body weight					
		до введения / before injection	Сутки после введения / Day after injection				
			1	7	14	21	30
Крысы-самцы / Male rats							
1,3 (ЭТД _{крыс}) / 1,3 (ETDrats)	Гибель крыс от токсичности отсутствовала; внешние проявления интоксикации отсутствовали	185±2	194±4	226±8	257±11	287±9	315±17
2,6 (2ЭТД _{крыс}) / 2,6 (2ETDrats)	Гибель крыс от токсичности отсутствовала; внешние проявления интоксикации отсутствовали, кожная фототоксичность отсутствовала	185±3	190±4	227±7	268±8	287±6	312±8
5,2 (4ЭТД _{крыс}) / 5,2 (4ETDrats)	Гибель крыс от токсичности отсутствовала; внешние проявления интоксикации отсутствовали, кожная фототоксичность отсутствовала	186±3	192±4	227±8	256±15	277±15	307±22
10,4 (8ЭТД _{крыс}) / 10,4 (8ETDrats)	Гибель крыс от токсичности отсутствовала; внешние проявления интоксикации отсутствовали, кожная фототоксичность отсутствовала	191±1	191±12	227±12	275±16	300±18	333±19
20,8 (16ЭТД _{крыс}) / 20,8 (16ETDrats)	Гибель крыс от токсичности отсутствовала; снижение двигательной активности, вялость, длительность сохранения токсических проявлений – до 24 ч, кожная фототоксичность отсутствовала	193±3	197±7	232±12	274±9	303±11	327±16
Контроль / Control	Внешние проявления интоксикации отсутствовали	195±4	206±4	246±14	289±22	307±27	335±25
Крысы-самки / Female rats							
1,3 (ЭТД _{крыс}) / 1,3 (ETDrats)	Гибель крыс от токсичности отсутствовала; внешние проявления интоксикации отсутствовали	173±2	174±5	198±5	211±6	224±7	232±12
2,6 (2ЭТД _{крыс}) / 2,6 (2ETDrats)	Гибель крыс от токсичности отсутствовала; внешние проявления интоксикации отсутствовали, кожная фототоксичность отсутствовала	164±3	173±5	193±6	209±4	222±4	228±5
5,2 (4ЭТД _{крыс}) / 5,2 (4ETDrats)	Гибель крыс от токсичности отсутствовала; внешние проявления интоксикации отсутствовали, кожная фототоксичность отсутствовала	175±3	178±5	199±7	214±11	223±11	236±16
10,4 (8ЭТД _{крыс}) / 10,4 (8ETDrats)	Гибель крыс от токсичности отсутствовала; внешние проявления интоксикации отсутствовали, кожная фототоксичность отсутствовала	174±3	177±3	200±10	219±16	231±20	242±27
20,8 (16ЭТД _{крыс}) / 20,8 (16ETDrats)	Гибель крыс от токсичности отсутствовала; снижение двигательной активности, вялость, длительность сохранения токсических проявлений – до 24 ч, кожная фототоксичность отсутствовала	174±3	177±3	199±6	213±5	227±6	238±10
Контроль / Control	Внешние проявления интоксикации отсутствовали	173±4	177±5	197±6	212±5	221±3	234±4

Примечание: Количество животных для забора биологического материала на каждую точку – 6 голов; всего в группе – 12 животных. ЭТД_{крыс} – расчетная эквивалентная доза для крыс, рассчитанная исходя из терапевтической дозы для мышей. Препарат Бактериосенс вводили однократно или дробно в течение не более 6 ч. Контрольным животным вводили 0,9% раствор NaCl – 41 мл/кг

Note: the number of animals to collect biological material for each point – 6 heads; total in the group – 12 animals. Andkris – equitisations the calculated dose for the rats was calculated on the basis of the therapeutic dose for mice. Drug Bacteriocins was administered once or divided over no more than 6 hours. Control animals were administered 0.9% NaCl solution – 41 ml/kg

Таблица 5. Проявления интоксикации у крыс после однократного (или дробного в течение не более 6 ч) внутрибрюшинного введения препарата Бактериосенс
Table 5. Manifestations of intoxication in rats after a single (or fractional for no more than 6 hours) intraperitoneal administration of the drug Bacteriosens

Доза, мг/кг (характеристика дозы) / Dose, mg / kg (characterization of dose)	Гибель животных от токсичности и внешние проявления интоксикации / Death of animals from toxicity and external manifestations of intoxication	Масса тела животных / Animal body weight					
		до введения / before injection	Сутки после введения / Day after injection				
			1	7	14	21	30
Крысы-самцы / Male rats							
1,3 (ЭТД _{крыс}) / 1,3 (ETDrats)	Гибель крыс от токсичности отсутствовала; внешние проявления интоксикации отсутствовали	183±2	190±4	225±6	260±8	283±11	311±10
2,6 (2ЭТД _{крыс}) / 2,6 (2ETDrats)	Гибель крыс от токсичности отсутствовала; внешние проявления интоксикации отсутствовали, кожная фототоксичность отсутствовала / Death of rats from toxicity was absent; external manifestations of intoxication were absent, cutaneous phototoxicity was absent	163±3	169±5	199±8	232±19	262±17	292±21
5,2 (4ЭТД _{крыс}) / 5,2 (4ETDrats)	Гибель крыс от токсичности отсутствовала; внешние проявления интоксикации отсутствовали, кожная фототоксичность отсутствовала / Death of rats from toxicity was absent; external manifestations of intoxication were absent, cutaneous phototoxicity was absent	174±3	181±7	219±9	256±8	290±14	310±13
10,4 (8ЭТД _{крыс}) / 10,4 (8ETDrats)	Гибель крыс от токсичности отсутствовала; внешние проявления интоксикации отсутствовали, кожная фототоксичность отсутствовала / Death of rats from toxicity was absent; external manifestations of intoxication were absent, cutaneous phototoxicity was absent	177±2	186±3	219±12	256±15	281±10	316±13
20,8 (16ЭТД _{крыс}) / 20,8 (16ETDrats)	Гибель крыс от токсичности отсутствовала; снижение двигательной активности, вялость, длительность сохранения токсических проявлений – до 24 ч, кожная фототоксичность отсутствовала / Death of rats from toxicity was absent; reduction of motor activity, lethargy, duration of preservation of toxic manifestations-up to 24 hours, skin phototoxicity was absent	187±2	194±5	223±15	255±16	280±13	309±16
Контроль / Control	Внешние проявления интоксикации отсутствовали / External manifestations of intoxication were absent	185±24	198±15	242±22	265±27	290±24	335±24
Крысы-самки / Female rats							
1,3 (ЭТД _{крыс}) / 1,3 (ETDrats)	Гибель крыс от токсичности отсутствовала; внешние проявления интоксикации отсутствовали	166±4	168±4	186±2	200±4	211±5	221±4
2,6 (2ЭТД _{крыс}) / 2,6 (2ETDrats)	Гибель крыс от токсичности отсутствовала; внешние проявления интоксикации отсутствовали, кожная фототоксичность отсутствовала / Death of rats from toxicity was absent; external manifestations of intoxication were absent, cutaneous phototoxicity was absent	155±3	161±4	182±8	201±8	213±6	220±12
5,2 (4ЭТД _{крыс}) / 5,2 (4ETDrats)	Гибель крыс от токсичности отсутствовала; внешние проявления интоксикации отсутствовали, кожная фототоксичность отсутствовала / Death of rats from toxicity was absent; external manifestations of intoxication were absent, cutaneous phototoxicity was absent	155±2	160±4	182±8	203±9	219±10	229±24
10,4 (8ЭТД _{крыс}) / 10,4 (8ETDrats)	Гибель крыс от токсичности отсутствовала; внешние проявления интоксикации отсутствовали, кожная фототоксичность отсутствовала / Death of rats from toxicity was absent; external manifestations of intoxication were absent, cutaneous phototoxicity was absent	166±4	173±4	194±7	211±3	222±8	229±21
20,8 16ЭТД _{крыс}) / 20,8 (16ETDrats)	Гибель крыс от токсичности отсутствовала; снижение двигательной активности, вялость, длительность сохранения токсических проявлений – до 24 ч, кожная фототоксичность отсутствовала / Death of rats from toxicity was absent; reduction of motor activity, lethargy, duration of preservation of toxic manifestations-up to 24 hours, skin phototoxicity was absent	164±4	172±7	188±3	211±17	221±21	232±25
Контроль / Control	Внешние проявления интоксикации отсутствовали / External manifestations of intoxication were absent	164±2	169±3	189±7	207±9	220±8	231±12

Примечание: Количество животных для забора биологического материала на каждую точку – 6 голов; всего в группе – 12 животных. ЭТД_{крыс} – расчетная эквивалентная доза для крыс, рассчитанная исходя из терапевтической дозы для мышей. Препарат Бактериосенс вводили однократно или дробно в течение 6 ч. Контрольным животным вводили 0,9% раствор NaCl – 41 мл/кг.

Note: the number of animals to collect biological material for each point – 6 heads; total in the group – 12 animals. Andkris – equitisations the calculated dose for the rats was calculated on the basis of the therapeutic dose for mice. The drug Bacteriosens was administered once or fractional for 6 hours. Control animals were administered 0.9% NaCl solution – 41 ml/kg

ции до 30 мин наблюдали нарастание гемолиза эритроцитов, который составил 12,8% (в контрольной группе гемолиз эритроцитов не превысил 2,2%; см. табл. 1).

Таким образом, данные, полученные в модельной системе, свидетельствуют о наличии у препарата Бактериосенс в концентрации, равной 0,5 мг/кг, гемолитической активности.

Однако, в отличие от «закрытой» модельной системы, при медленном болюсном внутривенном введении препарата Бактериосенс человеку произойдет практически мгновенное (в течение нескольких секунд) разбавление препарата кровью более чем в 300 раз до концентрации 0,0015 мг/мл — концентрации, не приводящей к разрушению эритроцитов.

При инкубации крови крыс с раствором препарата Бактериосенс в концентрациях 0,05 и 0,005 мг/мл в течение 30 мин гемолиз эритроцитов в опытных и контрольных пробах не превысил величину в 2,6% (см. табл. 1).

2. Изучение «острой» токсичности препарата Бактериосенс на мышах и крысах.

2.1. Исследования на мышах.

Данные, характеризующие токсичность препарата Бактериосенс при однократном (или дробном в течение не более 6 ч) внутривенном и внутрибрюшинном введении мышам (самцам и самкам), представлены в таблицах 2 и 3. Как видно из представленных данных, однократное внутривенное и внутрибрюшинное введение Бактериосенса мышам, как самцам, так и самкам, в дозах от 5,0 мг/кг (соответствует 2 ТД) до 50 мг/кг (соответствует 20 ТД), не приводило к гибели животных от токсичности и развитию патологических фототоксических реакций.

При внутривенном использовании препарата в дозах, равных 5,0 мг/кг и 10 мг/кг, и внутрибрюшинном — в дозах от 5,0 мг/кг до 20,0 мг/кг у животных внешние признаки интоксикации отсутствовали в течение всего срока наблюдения за мышами (30 сут). После внутривенного введения Бактериосенса в дозах, равных 20 мг/кг, 40 мг/кг и 50 мг/кг и внутрибрюшинного в дозах 40 мг/кг и 50 мг/кг, у мышей наблюдали признаки интоксикации, которые были выражены в снижении двигательной активности и вялости. Длительность сохранения указанной симптоматики составляла при внутривенном введении 2 сут, а при внутрибрюшинном — 1 сут. Вес мышей, получавших Бактериосенс независимо от способа введения в дозах от 5,0 мг/кг до 50 мг/кг и 0,9% раствор хлористого натрия (контрольная группа), равномерно увели-

чивался на протяжении всего срока наблюдения за животными (30 сут). Различий во внешних проявлениях интоксикации у мышей-самцов и мышей-самок не отмечено.

В результате макроскопического исследования внутренних органов и тканей мышей (самцов и самок), подвергнутых эвтаназии на 30-е сутки после введения исследуемого лекарственного средства в дозах от 5,0 мг/кг до 50 мг/кг, различий у животных опытных и контрольных групп выявлено не было. При ревизии брюшной полости после внутрибрюшинного введения местнотканевые патологические изменения, свидетельствующие о местно-раздражающем действии препарата Бактериосенс, отсутствовали.

2.2. Исследования на крысах.

Данные, характеризующие токсичность препарата Бактериосенс при однократном (или дробном, в течение не более 6 ч) внутривенном и внутрибрюшинном введении крысам (самцам и самкам), представлены в таблицах 4 и 5.

Анализ представленных данных показал, что однократное внутривенное и внутрибрюшинное введение препарата Бактериосенс крысам самцам и самкам в дозах от 1,3 мг/кг (соответствует ЭТД_{крыс}) до 20,8 мг/кг (соответствует 16ЭТД_{крыс}) было удовлетворительно перенесено животными. Гибель крыс от токсичности отсутствовала. Введение препарата Бактериосенс во всех исследованных дозах не приводило к развитию патологических фототоксических реакций.

При внутривенном и внутрибрюшинном введении препарата Бактериосенс в дозах от 1,3 мг/кг до 10,4 мг/кг внешние признаки интоксикации отсутствовали. После введения препарата Бактериосенс в дозе, равной 20,8 мг/кг, у крыс, независимо от способа введения, наблюдали клиническую картину интоксикации, выраженную в снижении двигательной активности и вялости животных. Длительность сохранения указанных внешних проявлений интоксикации не превышала 24 ч. Других внешних проявлений интоксикации у крыс (самцов и самок) выявлено не было в течение всего срока наблюдения за животными (30 сут). Различий во внешних проявлениях интоксикации у крыс-самцов и крыс-самок не выявлено.

Как видно из представленных данных, вес крыс (самцов и самок), получавших препарат Бактериосенс внутривенно и внутрибрюшинно в дозах от 1,3 мг/кг до 20,8 мг/кг, равномерно увеличивался на протяжении всего срока наблюдения за животными (30 сут).

В результате макроскопического исследования внутренних органов и тканей крыс (самцов и самок),

подвергнутых эвтаназии на 30-е сутки после введения Бактериосенса в дозах от 1,3 мг/кг до 20,8 мг/кг, различий у животных опытных и контрольных групп выявлено не было. При ревизии брюшной полости после внутрибрюшинного введения местнотканевые патологические изменения, свидетельствующие о местнораздражающем действии препарата Бактериосенс, отсутствовали.

3. Изучение «хронической» токсичности препарата Бактериосенс на крысах и кроликах.

3.1. Исследования на крысах.

Данные, характеризующие токсичность препарата Бактериосенс при его многократном внутривенном применении крысам-самцам и самкам, представлены в таблице 6.

При изучении «хронической» токсичности Бактериосенса на крысах показано, что многократное внутривенное применение препарата (ежедневно в течение 14 суток) в исследуемых суммарных дозах 18,2 мг/кг, 36,4 мг/кг, 72,8 мг/кг (разовые дозы 1,3 мг/кг, 2,6 мг/кг и 5,2 мг/кг соответственно) удовлетворительно переносилось животными и не приводило к их гибели от токсичности. Внешние проявления интоксикации отсутствовали в течение всего срока наблюдения за животными (30 сут) как у самцов, так и у самок.

Масса тела у крыс обоего пола, получавших многократно препарат, и у крыс в контрольной группе, получавших 0,9% раствор NaCl, равномерно увеличивалась на протяжении всего срока исследования — 30 сут (данные для 1-х и 30-х суток представлены в таблице 6).

Бактериосенс не оказывал гематологического, гепатотоксического и нефротоксического действия на периферическую кровь, печень и почки.

Препарат не проявлял кардиотоксического действия, не оказывал влияния на углеводный и липидный обмен, не приводил к клинически и статистически значимым изменениям основных показателей, характеризующих состояние коагуляционного гомеостаза у крыс. На основании анализа поведенческих реакций животных, Бактериосенс не оказывал влияния на ЦНС животных.

По данным патологоанатомического исследования (макроскопическая оценка) и морфометрического анализа внутренних органов крыс-самцов и самок, получавших препарат Бактериосенс, патологических изменений выявлено не было в течение всего срока наблюдения за животными (30 сут).

В связи с отсутствием токсических эффектов у крыс-самцов и самок после многократного внутривенного введения препарата Бактериосенс в диапазоне доз от 18,2 мг/кг до 72,8 мг/кг гистологическое

исследование внутренних органов было проведено в максимальной суммарной дозе 72,8 мг/кг, которая соответствовала $56ЭТ_{крыс}$. Гистологическое исследование внутренних органов и тканей крыс проводили на 1-е и 30-е сутки после последнего введения тестируемого средства.

На 1-е сутки после многократного (ежедневного в течение 14 дней) внутривенного применения препарата Бактериосенс в суммарной дозе 72,8 мг/кг, у некоторых крыс (самцов и самок) слабовыраженные морфологические изменения были выявлены только в щитовидной железе и почках. В щитовидной железе у 2 из 5 крыс-самцов и 1 из 5 крыс-самок обнаружены морфофункциональные реактивные изменения. В почках у 2 из 5 крыс-самцов выявлены деструктивные изменения. В других внутренних органах и у остальных крыс опытных групп морфологическая картина не отличалась от морфологической картины крыс контрольной группы.

На 30-е сутки после окончания применения препарата Бактериосенс в суммарной дозе 72,8 мг/кг, морфологические изменения во внутренних органах крыс-самцов и самок (головном мозге, щитовидной железе, тимусе, сердце, легких, печени, селезенки, желудка, почках, надпочечников, семенников (у самцов), яичников (у самок)) выявлены не были.

Исследуемые суммарные дозы препарата Бактериосенс: 18,2 мг/кг, 36,4 мг/кг, 72,8 мг/кг превышали расчетную ЭТД для человека в 91, 182 и 364 раза соответственно.

3.2. Исследования на кроликах.

Данные, характеризующие токсичность Бактериосенс при его многократном внутривенном применении у кроликов-самцов, представлены в таблице 7.

Показано, что многократное внутривенное введение препарата Бактериосенс (ежедневно в течение 14 сут) в суммарных дозах 8,3 мг/кг, 16,5 мг/кг и 33 мг/кг (разовые дозы 0,6 мг/кг, 1,2 мг/кг и 2,4 мг/кг соответственно) удовлетворительно переносилось животными и не приводило к гибели животных от токсичности. У кроликов (самцов), получавших препарат в указанных дозах, внешние проявления интоксикации отсутствовали в течение всего срока наблюдения за животными (30 сут).

Масса тела кроликов, получавших препарат в суммарных дозах, равных 8,3 мг/кг, 16,5 мг/кг и 33 мг/кг, и у кроликов в контрольной группе, получавших внутривенно 0,9% раствор хлористого натрия (контрольное вещество), равномерно увеличивалась в течение всего периода времени наблюдения за животными — 30 сут.

Многократное применение препарата Бактериосенс не оказывало гематотоксического действия,

Таблица 6. Проявления интоксикации у крыс после многократного (ежедневного в течение 14 сут) внутривенного введения препарата Бактериосенс
Table 6. Manifestations of intoxication in rats after repeated (daily for 14 days) intravenous administration of Bacteriosens

Доза, мг/кг разовая/ суммарная / Dose, mg / kg (characterization of dose)	Масса тела крыс, г / Body weight of rats			Исследование крови / Blood test					Результаты аутопсии, абсолютная и относительная масса внутренних органов ⁷ / Autopsy results, absolute and relative weight of internal organs ⁷			
	Сутки после введения препарата / Day after administration of the drug			Клинический анализ ¹ / Clinical analysis ¹	Лейкоцитарная формула ² / Leukocyte formula ²	Биохимический анализ ³ / Biochemical analysis ³	Коагулометрический анализ ⁴ / Coagulometric analyzer ⁴	Клинический анализ мочи ⁵ / Clinical analysis of urine ⁵	ЭКГ ⁶ / ECG ⁶	Сутки после введения препарата / Day after injection of the drug		
	До введения / before injection	1	30							1	30	
Крысы-самцы / Male rats												
1,3 / 18,2	279±2	315±15	388±20	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	
2,6 / 36,4	264±3	293±11	360±25	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	
5,2 / 72,5	255±3	281±9	338±30	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	
Контроль / Control	272±3	306±9	372±6	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	
Крысы-самки / Female rats												
1,3 / 18,2	192±2	222±10	248±9	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	
2,6 / 36,4	202±3	225±11	246±15	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	
5,2 / 72,5	212±2	238±11	267±17	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	
Контроль / Control	187±2	226±24	246±34	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	

Примечание: Количество животных для забора биологического материала на каждую точку – 6 голов; всего в группе – 12 животных.

1 – Оценивали: общее число лейкоцитов ($\times 10^9/\text{л}$), число эритроцитов ($\times 10^{12}/\text{л}$), количество гемоглобина (г/л), тромбоциты ($\times 10^9/\text{л}$), гематокрит (%), среднее содержание гемоглобина в клетке (МСН, пг), среднюю концентрацию гемоглобина в клетке (МСНС, г/л);

2 – Оценивали в % количество: лимфоцитов, моноцитов, эозинофилов, базофилов, сегментоядерных нейтрофилов, палочкоядерных нейтрофилов;

3 – Оценивали: АЛТ (Е/л), АСТ (Е/л), билирубин общий (мкмоль/л), мочевины (ммоль/л), креатинин (мкмоль/л), общий белок (г/л), альбумин (г/л), глюкозу (ммоль/л), холестерин (ммоль/л);

4 – Оценивали: протромбиновое время (с), протромбин по Квику (%), АЧТВ (с), фибриноген (г/л), тромбиновое время (с);

5 – Оценивали: плотность, рН, белок (г/л), глюкозу (ммоль/л), лейкоциты (кл/мл), эритроциты (кл/мл), билирубин (мкмоль/л), уробилиноген (мкмоль/л), кетоны (ммоль/л);

6 – Оценивали: ЧСС (уд/мин), интервал QRS (с), интервал QT (с), интервал PQ (с), СП (%), зубец P (амплитуда, мВ), зубец R (амплитуда, мВ), зубец S (амплитуда, мВ), зубец T (амплитуда, мВ);

7 – Оценивали массу: тимуса, сердца, легких, печени, селезенки, почек, надпочечников, головного мозга.

Note: the number of animals to collect biological material for each point – 6 heads; total in the group – 12 animals.

1 – the total number of leukocytes ($\times 10^9/\text{l}$), the number of erythrocytes ($\times 10^{12}/\text{l}$), the amount of hemoglobin (g/l), platelets ($\times 10^9/\text{l}$), hematocrit (%), the average content of hemoglobin in the cell (MSN, pg), the average concentration of hemoglobin in the cell (msns, g/l);

2 – Estimated in % the number of: lymphocytes, monocytes, eosinophils, basophils, segmentonuclear neutrophils, rod neutrophils;

3 – Evaluated: ALT (u/l) AST (u/l), total bilirubin ($\mu\text{mol/l}$) urea (mmol/l) creatinine ($\mu\text{mol/l}$), total protein (g/l) albumin (g/l) glucose (mmol/l) cholesterol (mmol/l);

4 – Evaluated: prothrombin time (sec), prothrombin Quick (%), ACTV (sec), fibrinogen (g/l), thrombin time (sec);

5 – Assessed: density, pH, protein (g/l), glucose (mmol/l), leukocytes (CL/ml), erythrocytes (CL/ml), bilirubin (mmol/l), urobilinogen (mmol/l), ketones (mmol/l);

6 – Evaluated: HR (beats/min), QRS interval (sec), QT interval (sec), PQ interval (sec), SP (%), p wave (amplitude, mV), R wave (amplitude, mV), s wave (amplitude, mV), t wave (amplitude, mV);

7 – Estimated mass: thymus, heart, lungs, spleen, kidneys, adrenal glands, brain.

Таблица 7. Проявления интоксикации у кроликов после многократного (ежедневного в течение 14 сут) внутривенного введения препарата Бактериосенс
Table 7. Manifestations of intoxication in rabbits after repeated (daily for 14 days) intravenous administration of the drug Bacteriosens

Доза, мг/кг разовая/ суммарная / Dose, mg / kg (characterization of dose)	Масса тела крыс, г / Body weight of rats			Исследование крови / Blood test						Результаты аутопсии, абсолютная и относительная масса внутренних органов ⁷ / Autopsy results, absolute and relative weight of internal organs ⁷		
	Сутки после введения препарата / Day after administration of the drug			Клинический анализ ¹ / Clinical analysis ¹	Лейкоцитарная формула ² / Leukocyte formula ²	Биохимический анализ ³ / Biochemical analysis ³	Коагулометрический анализ ⁴ / Coagulometric analyzer ⁴	Клинический анализ мочи ⁵ / Clinical analysis of urine ⁵	ЭКГ ⁶ / ECG ⁶	Сутки после введения препарата / Day after injection of the drug		
	до введения / before injection	1	30							1	30	
Многократное введение крысам самцам / Multiple injections to male rats												
0,6 / 8,3	2443±364	2937±422	3540±415	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm
1,2 / 16,5	2283±189	2600±151	3040±221	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm
2,4 / 33	2248±224	2677±383	3163±393	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm
Контроль / control	1853±239	2000±234	3157±492	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm	Норма / Norm

Примечание: Количество животных для забора биологического материала на каждую точку – 6 голов; всего в группе – 12 животных.

1 – Оценивали: общее число лейкоцитов (×10⁹/л), число эритроцитов (×10¹²/л), количество гемоглобина (г/л), тромбоциты (×10⁹/л), гематокрит (%), среднее содержание гемоглобина в клетке (МСН, пг), средняя концентрация гемоглобина в клетке (МСНС, г/л);

2 – Оценивали в % количество: лимфоцитов, моноцитов, эозинофилов, базофилов, сегментоядерных нейтрофилов, палочкоядерных нейтрофилов;

3 – Оценивали: АЛТ (Е/л), АСТ (Е/л), билирубин общий (мкмоль/л), мочевины (ммоль/л), креатинин (мкмоль/л), общий белок (г/л), альбумин (г/л), глюкоза (ммоль/л), холестерин (ммоль/л);

4 – Оценивали: протромбиновое время (сек), протромбин по Квику (%), АЧТВ (сек), фибриноген (г/л), тромбиновое время (сек);

5 – Оценивали: плотность, рН, белок (г/л), глюкоза (ммоль/л), лейкоциты (кл/мл), эритроциты (кл/мл), билирубин (мкмоль/л), уробилиноген (мкмоль/л), кетоны (ммоль/л);

6 – Оценивали: ЧСС (уд/мин), интервал QRS (сек), интервал QT (сек), интервал PQ (сек), СП (%), зубец P (амплитуда, мВ), зубец R (амплитуда, мВ), зубец S (амплитуда, мВ), зубец T (амплитуда, мВ);

7 – Оценивали массу: тимуса, сердца, легких, печени, селезенки, почек, надпочечников, головного мозга.

Note: the number of animals to collect biological material for each point – 6 heads; total in the group-12 animals.

1 – the total number of leukocytes (×10⁹/l), the number of erythrocytes (×10¹²/l), the amount of hemoglobin(g/l), platelets (×10⁹/l), hematocrit (%), the average content of hemoglobin in the cell (MSN, PG), the average concentration of hemoglobin in the cell (msns, g/l);

2 – Estimated in % the number of: lymphocytes, monocytes, eosinophils, basophils, segmentonuclear neutrophils, rod neutrophils;

3 – Evaluated: ALT (u/l) AST (u/l), total bilirubin (μmol/l) urea (mmol/l) creatinine (μmol/l), total protein (g/l) glucose (mmol/l) cholesterol (mmol/l);

4 – Evaluated: prothrombin time (sec), prothrombin Quick (%), ACTV (sec), fibrinogen (g/l), thrombin time (sec);

5 – Assessed: density, pH, protein (g/l), glucose (mmol/l), leukocytes (CL/ml), erythrocytes (CL/ml), bilirubin (mmol/l), urobilinogen (mmol/l), ketones (mmol/l);

6 – Evaluated: HR (beats/min), QRs interval (sec), Qt interval (sec), PQ interval (sec), SP (%), p wave (amplitude, mV), R wave (amplitude, mV), s wave (amplitude, mV), t wave (amplitude, mV);

7 – Estimated mass: thymus, heart, lungs, liver, spleen, kidneys, adrenal glands, brain.

не приводило к развитию анемии, лейкопении, тромбоцитопении и агранулоцитоза. При анализе лейкоцитарной формулы кроликов, получавших препарат Бактериосенс в указанных дозах, изменений в показателях лейкограммы выявлено не было.

Бактериосенс не оказывал гепатотоксического и нефротоксического действия на периферическую кровь, печень и почки у кроликов.

Препарат не проявлял кардиотоксического действия, не оказывал влияния на углеводный и липидный обмен, не приводил к клинически и статистически значимым изменениям основных показателей, характеризующих состояние коагуляционного гемостаза у кроликов. На основании анализа поведенческих реакций животных Бактериосенс не оказывал влияния на ЦНС у кроликов-самцов.

В результате макроскопического исследования внутренних органов и тканей кроликов (самцов), которым вводили препарат Бактериосенс в суммарных дозах, равных 8,3 мг/кг, 16,5 мг/кг и 33 мг/кг, изменения во внутренних органах и тканях кроликов, связанные с токсическим действием препарата, отсутствовали в течение всего срока наблюдения за животными (30 сут).

Исследуемые суммарные дозы препарата Бактериосенс: 8,3 мг/кг, 16,5 мг/кг и 33 мг/кг превышали расчетную ЭТД для человека в 41, 82 и 165 раз соответственно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При инкубации раствора препарата Бактериосенс в концентрациях от 0,5 мг/мл до 0,005 мг/мл с нестабилизированной кровью крыс изменений в пробах, которые свидетельствовали бы о несовместимости данного препарата с кровью, не выявлено. Препарат Бактериосенс в концентрации, равной 0,5 мг/мл, приводил к умеренному увеличению времени свертывания крови крыс в 1,6 раза.

Раствор препарата Бактериосенс в концентрации, равной 0,5 мг/мл, характеризовался гемолитической активностью, а в концентрациях, равных

0,05 и 0,005 мг/мл, при инкубации с кровью не приводил к разрушению эритроцитов.

В результате изучения совместимости раствора препарата Бактериосенс в концентрациях, равных 0,5 мг/мл, 0,05 мг/мл и 0,005 мг/мл, противопоказаний для его внутривенного применения не выявлено. Водный раствор препарата Бактериосенс животным, а впоследствии и человеку, следует вводить в концентрации, не превышающей 0,5 мг/мл, медленно (со скоростью не более 1 мл в минуту) или капельно.

Однократное внутривенное и внутривентральное введение препарата Бактериосенс мышам и крысам (самцам и самкам) в дозах: от 5,0 мг/кг до 50,0 мг/кг и от 1,3 мг/кг до 20,8 мг/кг соответственно было удовлетворительно перенесено животными. Гибель от токсичности и кожная фототоксичность отсутствовали. Различий в чувствительности самцов и самок к токсическому действию препарата не выявлено. Исследованные дозы препарата Бактериосенс превышали расчетную ЭТД для человека в 25–250 раз у мышей и в 6,5–104 раза у крыс.

Многочисленное внутривенное введение препарата Бактериосенс (ежедневно в течение 14 дней) крысам обоего пола и кроликам-самцам в суммарных дозах от 18,2 мг/кг до 72,8 мг/кг и от 8,3 мг/кг до 33 мг/кг соответственно не приводило к гибели животных от токсичности, не оказывало токсического действия на периферическую кровь, почки, сердце, состояние системы гемостаза и ЦНС. Препарат не оказывал негативного влияния на углеводный и липидный обмен.

По данным гистологических исследований, у некоторых крыс (самцов и самок) были выявлены слабо выраженные обратимые морфологические изменения в щитовидной железе (морфофункциональные реактивные изменения) и почках (деструктивные изменения) только на 1-е сутки после внутривенного многократного применения препарата Бактериосенс и только в максимальной суммарной дозе, равной 72,8 мг/кг. Исследуемые дозы препарата Бактериосенс превышали расчетную ЭТД для человека в 91–364 раза у крыс и в 41–165 раз у кроликов.

Список литературы

1. Филоненко Е. В. Флюоресцентная диагностика и фотодинамическая терапия — обоснование применения и возможности в онкологии. Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. 2014; 3(1):3–7.
2. Shafirstein G., Bellnier D., Oakley E., Hamilton S., Potasek M., Beeson K., et al. Interstitial Photodynamic Therapy-A Focused Review. *Cancers (Basel)*. 2017; 9(2):12. DOI: 10.3390/cancers9020012
3. Son J, Yi G, Kwak MH, Yang SM, Park JM, Lee BI et al. Gelatin-chlorin e6 conjugate for in vivo photodynamic therapy. *J Nanobiotechnology*

4. Tada DB, Baptista MS. Photosensitizing nanoparticles and the modulation of ROS generation. *Front Chem*. 2015; 27(3):33. DOI: 10.3389/fchem.2015.00033
5. Chilakamarthi U, Giribabu L. Photodynamic Therapy: Past, Present and Future. *Chem Rec*. 2017 Aug; 17(8):775–802. DOI: 10.1002/ctcr.201600121
6. Миронов А. Ф., Грин М. А. Сенситизаторы бактериохлороинового ряда: перспективы использования в фотодинамической терапии. *Вестник МИТХТ* 2006; (4):5–28.

7. Zhu W, Gao YH, Liao PY, Chen DY, Sun NN, Nguyen Thi PA et al. Comparison between porphyrin, chlorin and bacteriochlorin derivatives for photodynamic therapy: Synthesis, photophysical properties, and biological activity. *Eur J Med Chem.* 2018 Dec 5; 160:146–156. DOI: 10.1016/j.ejmech.2018.10.005
8. Luz AFS, Pucelik B, Pereira MM, Dąbrowski JM, Arnaut LG. Translating phototherapeutic indices from in vitro to in vivo photodynamic therapy with bacteriochlorins. *Lasers Surg Med.* 2018 Jul; 50(5):451–459. DOI: 10.1002/lsm.22931
9. Patel N, Pera P, Joshi P, Dukh M, Tabaczynski WA, Sifers KE et al. Highly Effective Dual-Function Near-Infrared (NIR) Photosensitizer for Fluorescence Imaging and Photodynamic Therapy (PDT) of Cancer. *J Med Chem.* 2016 Dec; 59(21):9774–9787. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.6b00890
10. Морозова Н. Б., Плотникова Е. А., Плютинская А. Д., Стримова В. О., Воронцова М. С., Панкратов А. А. и др. Доклиническое изучение препарата «Бактериосенс», предназначенного для фотодинамической терапии злокачественных новообразований, в том числе рака предстательной железы. *Российский биотерапевтический журнал* 2018; 17(3):55–64. DOI: 10.17650/1726–9784–2018–17–3–55–64
11. Макарова Е. А., Якубовская Р. И., Ворожцов Г. Н., Ластовой А. П., Лукьянец Е. А., Морозова Н. Б. и др. Фотосенсибилизатор для фотодинамической терапии. Патент РФ на изобретение № 2549953. 2015 май 10. Бюл. № 13. Доступно по: <https://www1.fips.ru/Archive/PAT/2015FULL/2015.05.10/DOC/RUNWC2/000/000/002/549/953/DOCCLAIM.PDF>.
12. Лукьянец Е. А., Макарова Е. А., Калиниченко А. Н., Старкова Н. Н., Безуленко В. Н., Кобзева Е. С. и др. Водорасстворимая лекарственная форма мезо-тетра (3-пиридил) бактериохлорина для фотодинамической терапии. Патент РФ на изобретение № 2663900. 2018 август 13. Бюл. № 23. Доступно по: https://www1.fips.ru/wps/PA_FipsPub/res/Doc/IZPM/RUNWC1/000/000/002/663/900/ИЗ-02663900–00001/DOCCLAIM.PDF
13. ГОСТ 33216–2014 «Правила работы с лабораторными грызунами и кроликами», М., Стандартинформ, 2016.
14. ГОСТ 33215–2014 «Правила оборудования помещений

References

1. Filonenko EV. Fluorescence diagnostics and photodynamic therapy justification of applications and opportunities in oncology. *Photodynamic therapy and photodiagnosis* 2014; 3(1):3–7. (In Russian).
2. Shafirstein G, Bellnier D, Oakley E, Hamilton S, Potasek M, Beeson K, et al. Interstitial Photodynamic Therapy-A Focused Review. *Cancers (Basel).* 2017; 9(2):12. DOI: 10.3390/cancers9020012
3. Son J, Yi G, Kwak MH, Yang SM, Park JM, Lee BI, et al. Gelatin-chlorin e6 conjugate for in vivo photodynamic therapy. *J Nanobiotechnology.* 2019; Apr 5; 17(1):50. DOI: 10.1186/s12951–019–0475–1
4. Tada DB, Baptista MS. Photosensitizing nanoparticles and the modulation of ROS generation. *Front Chem.* 2015; 27(3):33. DOI: 10.3389/fchem.2015.00033
5. Chilakamarthi U, Giribabu L. Photodynamic Therapy: Past, Present and Future. *Chem Rec.* 2017 Aug; 17(8):775–802. DOI: 10.1002/tcr.201600121
6. Mironov A. F., Grin M. A. Bacteriochlorin sensitizers: prospects of use in photodynamic therapy. *Vestnik MITHT* 2006; (4):5–28. (in Russian).
7. Zhu W, Gao YH, Liao PY, Chen DY, Sun NN, Nguyen Thi PA et al. Comparison between porphyrin, chlorin and bacteriochlorin de-

- и организации процедур при работе с лабораторными животными». М.: Стандартинформ. 2016.
15. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях. Под ред. Н. Н. Каркищенко, С. В. Грачева, М., Профиль, 2010, 358 с.
16. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes, *Official Journal of the European Union*, 10.10.2010. Доступно по: <https://publications.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/169b16db-cb47–46e3-aff5-caa8009ec295/language-en>
17. Меньшиков В. В., Делекторская Л. Н., Золотницкая Р. П., Андреева З. М., Анкирская А. С., Балаховский И. С. и др. Методы гематологических исследований. Резистентность эритроцитов. В справочнике: *Лабораторные методы исследования в клинике.* Под редакцией В. В. Меньшикова, Москва, «Медицина», 1987, 119–120 с. Доступно по: <http://dissers.ru/1/6392–1-spravochnik-laboratornie-metodi-issledovaniya-klinike-pod-redakciey-professora-vmenshikova-moskva-me.php>
18. Freireich EJ, Gehan EA, Rall DP, Schmidt LH, Skipper HE. Quantitative comparison of toxicity of anticancer agents in mouse, rat, hamster, dog, monkey, and man. *Cancer Chemother Rep.* 1966; 50(4):219–44.
19. Уланова И. П., Сидоров К. К., Халепо А. Н. К вопросу об учете поверхности тела экспериментальных животных при токсикологическом исследовании. В сборнике: *Токсикология новых промышленных химических веществ.* Под ред. А. А. Летавета, И. В. Саноцкого, Ленинград, «Медицина». 1968; 10:18–25.
20. Арзамасцев Е. В., Березовская И. В., Верстакова О. Л., Гуськова Т. А., Дурнев А. Д., Иванова А. С. и др. Методические рекомендации по изучению общетоксического действия лекарственных средств. В кн.: *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая.* Под ред. А. Н. Миронова. Москва. «Гриф и К»; 2012, 13–23 с.

- rivatives for photodynamic therapy: Synthesis, photophysical properties, and biological activity. *Eur J Med Chem.* 2018 Dec 5; 160:146–156. DOI: 10.1016/j.ejmech.2018.10.005
8. Luz AFS, Pucelik B, Pereira MM, Dąbrowski JM, Arnaut LG. Translating phototherapeutic indices from in vitro to in vivo photodynamic therapy with bacteriochlorins. *Lasers Surg Med.* 2018 Jul; 50(5):451–459. DOI: 10.1002/lsm.22931
9. Patel N, Pera P, Joshi P, Dukh M, Tabaczynski WA, Sifers KE, et al. Highly Effective Dual-Function Near-Infrared (NIR) Photosensitizer for Fluorescence Imaging and Photodynamic Therapy (PDT) of Cancer. *J Med Chem.* 2016 Dec; 59(21):9774–9787. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.6b00890
10. Morozova NB, Plotnikova EA, Plyutinskaya AD, Stramova VO, Vorontsova MS, Pankratov AA, et al. Preclinical trial of Bacteriosens used for the photodynamic therapy of malignant tumors, including prostate cancer. *Russian Journal of Biotherapy.* 2018; 17(3):55–64. (In Russian). DOI: 10.17650/1726–9784–2018–17–3–55–64
11. Makarova EA, Yakubovskaya RI, Vorozhtsov GN, Lastovoi AP, Lukyanets EA, Morozova NB, et al. Photosensitizer for photodynamic therapy. RF patent for invention No. 2549953. 2015 May 10. Bull. No. 13. (in Russian).

12. Lukyanets EA, Makarova EA, Kalinichenko AN, Starkova NN, Bezulenko VN, Kobzeva ES, et al. Water-soluble dosage form of meso-tetra (3-pyridyl) bacteriochlorin for photodynamic therapy. RF patent for invention No. 2663900. 2018 August 13. Bull. No. 23. (in Russian). Available at: https://www1.fips.ru/wps/PA_FipsPub/res/Doc/IZPM/RUNWC1/000/000/002/663/900/ИЗ-02663900-00001/DOCCLAIM. PDF
13. GOST 33216–2014 «Rules for working with laboratory rodents and rabbits», Moscow, Standardinform, 2016. (in Russian).
14. GOST 33215–2014 «Rules for the equipment of premises and the organization of procedures when working with laboratory animals», Moscow, Standardinform, 2016. (in Russian).
15. Guide to laboratory animals and alternative models in biomedical research. Ed. N. N. Karkishchenko, S. V. Gracheva, Moscow, Profile, 2010, 358 p.
16. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes, Official Journal of the European Union, 10.10.2010. Available at: <https://publications.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/169b16db-cb47-46e3-aff5-caa8009ec295/language-en>
17. Menshikov VV, Delektorskaya LN, Zolotnitskaya RP, Andreeva ZM, Ankirskaya AS, Balakhovskii IS, et al. Methods of hematological research. Resistance of erythrocytes. In the directory: Laboratory methods of research in the clinic. Under the editorship of V. V. Menshikov, Moscow, Medicine, 1987, 119–120 p. (in Russian).
18. Freireich EJ, Gehan EA, Rall DP, Schmidt LH, Skipper HE. Quantitative comparison of toxicity of anticancer agents in mouse, rat, hamster, dog, monkey, and man. Cancer Chemother Rep. 1966; 50(4):219–244.
19. Ulanova IP, Sidorov KK, Khalepo AN. On the issue of accounting for the body surface of experimental animals in Toxicological study. In: Toxicology of new industrial chemicals. Edited by A. A. Letavet, I. V. Sanotsky, Leningrad, Medicine, 1968; 10:18–25. (in Russian).
20. Arzamastsev EV, Berezovskaya IV, Verstakova OL, Guskova TA, Durnev AD, Ivanova AS, et al. Guidelines for the study of the general toxic effects of drugs. In the book: Guidelines for preclinical studies of drugs. Part one. Ed. A. N. Mironova, Moscow, Vulture and K; 2012, 13–23 p. (in Russian).

Информация об авторах:

Морозова Наталья Борисовна, к.б.н., научный сотрудник отделения модификаторов и протекторов противоопухолевой терапии Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П. А. Герцена — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7159-805X>

Панкратов Андрей Александрович, к.б.н., заведующий отделением модификаторов и протекторов противоопухолевой терапии Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П. А. Герцена — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7291-9743>

Плотникова Екатерина Александровна, к.б.н., научный сотрудник отделения модификаторов и протекторов противоопухолевой терапии Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П. А. Герцена — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Воронцова Мария Сергеевна, младший научный сотрудник отделения модификаторов и протекторов противоопухолевой терапии Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П. А. Герцена — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9320-1746>

Макарова Елена Александровна, к.х.н., ведущий научный сотрудник лаборатории синтеза функциональных красителей ФГУП «Государственный научный центр «Научно-исследовательский институт органических полупродуктов и красителей» Россия. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4144-6159>

Луканец Евгений Антонович, д.х.н., профессор, заведующий лабораторией синтеза функциональных красителей ФГУП «Государственный научный центр «Научно-исследовательский институт органических полупродуктов и красителей» Россия. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8853-6912>

Каприн Андрей Дмитриевич, академик РАН, д.м.н., генеральный директор ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8784-8415>

Information about authors:

Natalya B. Morozova, candidate of biological Sciences, researcher of the department of modifiers and protectors of antitumor therapy P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute — Branch of the National Medical Research Radiological Centre. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7159-805X>

Andrey A. Pankratov, PhD (Biology), head of the department of modifiers and protectors of antitumor therapy P.A.Hertsen Moscow Oncology Research Institute — Branch of the National Medical Research Radiological Centre. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7291-9743>

Ekaterina A. Plotnikova, PhD (Biology), researcher of the department of modifiers and protectors of antitumor therapy P.A.Hertsen Moscow Oncology Research Institute — Branch of the National Medical Research Radiological Centre.

Mariya S. Vorontsova, junior researcher of the department of modifiers and protectors of antitumor therapy P.A.Hertsen Moscow Oncology Research Institute — Branch of the National Medical Research Radiological Centre. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9320-1746>

Elena A. Makarova, candidate of chemical sciences, leading researcher of the laboratory of synthesis of functional dyes

State Scientific Center Research Institute of Intermediates and Dyes. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4144-6159>

Evgeniy A. Lukyanets, doctor of chemical sciences, Professor, headmaster of the laboratory of synthesis of functional dyes State Scientific Center Research Institute of Intermediates and Dyes. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8853-6912>

Andrey D. Kaprin, academician of RAS, MD, PhD, DSc, general director of National Medical Radiology Research Centre. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8784-8415>