

Исследование субхронической токсичности препарата Дантинорм Бэби

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

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

² – ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им Г.Н. Габричевского»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Россия

Аннотация. Представлены результаты исследования субхронической токсичности гомеопатического препарата Дантинорм Бэби в готовой лекарственной форме. Препарат в виде готового раствора вводили ежедневно перорально в течение одного месяца аутбредным крысам инфантам и кроликам породы шиншилла в дозе 0,3 мл/кг, соответствующей терапевтической, и 3 мл/кг, превышающей терапевтическую дозу в 10 раз. Клинико-лабораторные и патогистологические исследования, выполненные в соответствии с общепринятым протоколом, продемонстрировали отсутствие токсических эффектов гомеопатического препарата Дантинорм Бэби. Совокупность полученных данных субхронического эксперимента свидетельствует об отсутствии препятствий к клиническому исследованию препарата Дантинорм Бэби в диапазоне терапевтических дозировок.

Ключевые слова: Дантинорм Бэби; гомеопатический препарат; готовая лекарственная форма; субхроническая токсичность; крысы; кролики

Для цитирования:

Сорокина А.В., Алексеева С.В., Мирошкина И.А., Качалов К.С., Захаров А.Д., Алексеев И.В., Лапицкая А.С. Исследование субхронической токсичности препарата Дантинорм Бэби // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. – 2020. – № 3. – С. 52–60. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-3-52-60

Study the subchronic toxicity of the drug Dantinorm Baby

Sorokina AV¹, Alekseeva SV¹, Miroshkina IA¹, Kachalov KS¹, Zaharov AD¹, Alekseev IV¹, Lapizkaya AS²

¹ – FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow, Russia

² – Gabricheysky Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

Abstract. Presents results of a study of subchronic toxicity of homeopathic drug Dantinorm Baby in finished dosage form. The drug in the form of a ready solution was administered daily orally for one month to outbred rats Infanta and chinchilla rabbits at a dose of 0.3 ml/kg, corresponding to the therapeutic, and 3 ml/kg, exceeding the therapeutic dose 10 times. Clinical, laboratory and histopathological studies performed in accordance with the General Protocol, showed no toxic effects of homeopathic preparation of Dantinorm Baby. The totality of the obtained data of the subchronic experiment indicates that there are no obstacles to the clinical study of the drug Dantinorm Baby in the range of therapeutic dosages.

Keywords: Dantinorm Baby; homeopathic medicine; finished dosage form; subchronic toxicity; rats; rabbits

For citations:

Sorokina AV, Alekseeva SV, Miroshkina IA, Kachalov KS, Zaharov AD, Alekseev IV, Lapizkaya AS. Study the subchronic toxicity of the drug Dantinorm Baby. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2020;(3):52–60. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-3-52-60

Введение

Фармакотерапия патологических состояний при прорезывании молочных зубов у детей младенческого возраста остаётся важнейшей задачей для педиатрической практики [1]. Патологические симптомы дентации наблюдаются у 40–70 % младенцев. Эти реакции зачастую сходны с проявлениями острой респираторной инфекции и острой кишечной инфекции [2]. Терапия таких состояний лидокаин-содержащими дентальными гелями из-за риска осложнений представляется нежелательной для развивающегося организма младенцев [2].

Комплексный препарат Дантинорм Бэби в жидкой лекарственной форме, созданный на основе растительных субстанций, обладает пролонгированным воздействием [3]. Дантинорм Бэби облегчает основные болезненные симптомы, возникающие у детей при прорезывании зубов: воспаление десен, повышенная температура, ринорея, нарушение пищеварения и плаксивость [1, 2].

Оценка субхронической токсичности является обязательным этапом доклинического изучения безопасности готовой лекарственной формы препарата Дантинорм Бэби.

Цель исследования

Целью данной работы стало изучение субхронической токсичности препарата Дантинорм Бэби.

Задачами настоящей работы стали выявление возможных токсических эффектов и поиск органов-мишеней токсического действия препарата Дантинорм Бэби при его ежедневном пероральном введении в течение одного месяца аутбредным крысам инфантам и кроликам породы шиншилла в дозе 0,3 мл/кг (соответствует терапевтической дозе) и 3 мл/кг (превышает терапевтическую дозу в 10 раз). Необходимо было установить, обратимыми ли будут последствия применения препарата Дантинорм Бэби. Важно также

было оценить степень местнораздражающего действия при пероральном введении готовой лекарственной формы препарата.

Материалы и методы

При проведении исследования использовали жидкую лекарственную форму препарата Дантинорм Бэби, серия № 15107. Препарат представляет собой смесь *Chamomilla vulgaris* – C9, *Phitollaca decandra* – C5, *Reum officinale* – C5 в равных долях (по 333,3 мг каждого компонента) с добавлением очищенной воды до 1 мл. Готовая лекарственная форма упакована в полиэтиленовые контейнеры ёмкостью 1 мл. Спаянные между собой 5 контейнеров были упакованы в пакет-саше из полиэтилена и алюминиевой фольги. Препарат, заявленный производителем как гомеопатический, был предоставлен Лабораторией БУАРОН, которая гарантировала его качество и подлинность.

Для исследования были отобраны аутбредные крысы инфанты начальной массой 50–60 г и кролики породы шиншилла начальной массой 2–2,5 кг, как виды, общепринятые для доклинических исследований безопасности лекарств-кандидатов и доказавшие свою релевантность в таких исследованиях. Все экспериментальные животные были получены из сертифицированных питомников (питомник Филиал «Столовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России и питомник «Белый мох»). Крысы и кролики содержались в условиях вивария ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» в соответствии с ГОСТ 33044–2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики». Эксперименты с использованием крыс и кроликов были выполнены в соответствии с общепринятыми нормами обращения с животными [4]. За основу также были взяты стандартные операционные процедуры, принятые в ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», находящиеся в полном соответствии с правилами Европейской Конвенции ETS 123.

В результате двухнедельной акклиматизации и последующей рандомизации из 80 крыс инфантов обоего пола в эксперимент было отобрано 60 животных; из 40 кроликов обоего пола было отобрано 36 животных.

Дантинорм Бэби в виде готового раствора вводили крысам внутривенно с использованием атравматичного металлического зонда и кроликам перорально — с помощью шприца-дозатора.

Введение осуществляли ежедневно, в течение одного месяца в дозе, соответствующей терапевтической — 0,3 мл/кг (2-я группа крыс и 2-я группа кроликов), и дозе, превышающей терапевтическую в десять раз — 3 мл/кг (3- и 4-я группы крыс и 3-я группа кроликов). Животным контрольной группы (1-я группа крыс и 1-я группа кроликов) вводили дистиллированную воду перорально в тех же объёмах, что и при оценке максимальной (субтоксической) дозы.

Объём и продолжительность исследования, набор использованных методов, регистрируемых параметров и другие условия проведения исследования регламентировались соответствующими Руководствами [5–8]. Забор биоматериала и его исследование выполнялось до начала эксперимента, через 24 часа (для крыс и кроликов всех групп, кроме 4-й группы крыс) и через две недели (только для крыс 4-й «отставленной» группы) после заключительного введения препарата.

Массу экспериментальных животных определяли еженедельно с помощью электронных весов SPU 601 (OHAUS Corp., США).

Изучение поведенческих реакций у крыс проводили по тесту «Открытое поле». Оценивали следующие характеристики: ориентировочно-исследовательские реакции (локомоторная или горизонтально-двигательная активность), количество пересечённых периферических секторов, вертикальная двигательная активность (количество вертикальных стоек), исследовательская активность «норковый рефлекс», а также эмоциональное состояние животных (количество фекальных болюсов, число уринаций, груминговая активность, выходы в центр, время замирания).

Электрокардиографическое исследование проводили у крыс с использованием беспроводной системы Физиобелт (Нейроботикс, Россия) во втором стандартном отведении. Данные анализировали с использованием программного обеспечения LabChart (Австралия). На нефиксированное животное надевали жилетку с беспроводным усилителем и электродами.

Неинвазивное измерение артериального давления у крыс проводили с использованием модулей аппаратного комплекса ADInstruments и программного обеспечения LabChart (Австралия). На хвост бодрствующей крысы надевалась манжета с преобразователем пульса, по которой можно было определить артериальное давление, основываясь на периодичности окклюзии крови в хвосте. Функцию сердечно-сосудистой системы оценивали по следующим показателям: САД (систолическое артериальное давление), ДАД (диастолическое артериальное давление), среднее артериальное давление и пульс.

Измерения ректальной температуры у крыс осуществляли с использованием ректального датчика на оборудовании производства компании AD Instruments Ltd (Австралия).

Влияние препарата Дантинорм Бэби на систему крови было оценено по следующим гематологическим показателям периферической крови: количеству гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, гематокриту, тромбокриту, среднему объёму эритроцитов, среднему содержанию гемоглобина в эритроцитах, средней концентрации гемоглобина в эритроците [9]. Подсчёт форменных элементов крови и гемоглобина у крыс проводили на автоматическом гематологическом анализаторе «Abacus junior vet», Австрия. Подсчёт форменных элементов крови и гемоглобина у кроли-

ков проводили на автоматическом гематологическом анализаторе BC-2800, производитель «MINDRAY», Германия. Количество ретикулоцитов подсчитано на мазках (окраска во влажной камере, микроскоп «Nikon Eclipse E200», Япония). Соотношение различных видов лейкоцитов (окраска мазков крови по Романовскому) и морфометрические параметры эритроцитов были проанализированы на компьютеризированной микроскопической системе МЕКОС-Ц1. Для стандартизации процесса приготовления мазков крови использовали автоматическое устройство для приготовления мазков крови V-SAMPLER (Австрия). Препараты крови фиксировали и окрашивали автоматически на приборе-автомате ЭМКОСТЕЙНЕР-АВТО, АФОМК8-В-01, производитель Россия.

Исследование гемостаза у крыс и кроликов проводили с использованием коагулометра TS 4000 (США). Определяли активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), тромбиновое время (ТВ), протромбиновое время (ПВ), количество фибриногена.

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

Биохимические исследования мочи у крыс проводили с помощью анализатора мочи «HandUReader» (Венгрия) и автоматического биохимического и иммуноферментного анализатора «ChemWell 2910 Combi», США, используя наборы реагентов для диагностики «*in vitro*» производства компании «SPINREACTS.A.» (Испания). Определяли удельный вес, кислотность, содержание глюкозы, белка.

Через 24 часа после заключительного введения препарата Дантинорм Бэби (крысы 2- и 3-й групп и кролики 2- и 3-й групп)/дистиллированной воды (крысы 1-й группы и кролики 1-й группы) всех животных подвергали патологоанатомическому вскрытию. Крыс «отставленной» группы (4-я группа) вскрывали через две недели после заключительного введения препарата. В ходе патологоанатомического вскрытия определяли массовые коэффициенты наиболее реактивных внутренних органов. Были оценены и отобраны для дальнейшего исследования фрагменты внутренних органов крыс и кроликов (сердца, лёгких, трахеи, пищевода, желудка, тонкого и толстого кишечника, печени, поджелудочной железы, почек, мочевого пузыря, надпочечников, щитовидной железы, парашитовидной железы, тимуса, селезёнки, семенников и придатков семенников самцов, яичников и маточных труб самок). Эти фрагменты фиксировали в 10 % забуференном растворе формалина. Головной мозг крыс забирали целиком и фиксировали его в 96 % этаноле [10]. После окончания фиксации фрагменты органов промывали в проточной водопроводной воде. Затем

из отобранных фрагментов иссекали более тонкие участки тканей и осуществляли их гистологическую проводку по стандартному протоколу (автоматизированный тканевой процессор Leica TP1020, Германия). Обезвоженные и пропитанные парафином образцы тканей заливали в готовые стандартные блоки (система заливки тканей с графическим дисплеем Tissue-Tek®ТЕК™, США). Гистологические срезы толщиной 5 мкм, приготовленные с помощью ротационного микротомы (Accu-Cut®SPM™, США), помещали на стекло с полилизинным покрытием (Menzel). Окрашивали галлоцианин-хромовыми квасцами с последующей докраской 1 % водным раствором эозина [11, 12]. Залитые в монтирующую среду и подсушенные гистологические препараты микроскопировали в проходящем свете (микроскоп Nikon Eclipse 55i).

Возможное местное раздражающее действие препарата Дантинорм Бэби при пероральном введении оценивали клинически (ежедневные осмотры животных), затем макроскопически при проведении патологоанатомического вскрытия и микроскопически при исследовании гистологических препаратов пищевода, желудка, тонкой и толстой кишки.

Статистический анализ полученных данных проводили следующим образом. Нормальность распределения определяли с помощью критерия Шапиро—Уилка. В случае нормального или близкого к нему распределения для определения значимости изменений использовали *t*-критерий Стьюдента, однофакторный дисперсионный анализ (в случае множественных сравнений) с последующей обработкой с помощью критерия Даннета. Полученные результаты описывали с помощью средних арифметических и их стандартных ошибок. В случае значительного отклонения распределения от нормального использовали непараметрические методы статистики: критерий Манна—Уитни, аналог дисперсионного анализа по Краскеллу—Уоллису с последующей обработкой методом множественных сравнений по Данну. Полученные результаты описывали с помощью медиан, нижнего и верхнего квартилей.

Статистическую значимость различий качественных признаков определяли с помощью метода точной вероятности Фишера с учётом множественных сравнений.

Результаты считались статистически значимыми, если значение *p* оказывалось меньшим или равным 0,05 [13, 14].

Результаты и обсуждение

При пероральном введении препарата Дантинорм Бэби в течение одного месяца в дозах 0,3 и 3 мл/кг крысам инфантам и кроликам их внешний вид и поведение не отличались от соответствующих характеристик контрольных животных, получавших перорально дистиллированную воду. Состояние шерстного покрова, кожи и видимых слизистых оболочек, а также реакция

на внешние раздражители соответствовали норме. В ходе эксперимента не погибло ни одно животное.

Дантинорм Бэби при ежедневном введении крысам в течение одного месяца в дозах 0,3 и 3 мл/кг не вызывал выраженных изменений ориентировочно-исследовательской активности и эмоциональной реакции экспериментальных животных в тесте «открытое поле».

Наблюдение за динамикой массы тела контрольных и опытных крыс инфантов выявило независимое от введения препарата, закономерное для активно растущих животных увеличение массы тела и скорости её прироста как у контрольных, так и у опытных животных. Анализ данных по динамике массы тела кроликов также не выявил эффектов, которые могли бы быть обусловлены токсическим действием препарата Дантинорм Бэби.

Еженедельные наблюдения за потреблением корма и воды опытными крысами инфантами, которым перорально вводили Дантинорм Бэби в дозах 0,3 и 3 мл/кг, не показали закономерных различий с контролем.

Фоновое исследование ЭКГ крыс инфантов во втором стандартном отведении показало, что у всех животных в начале эксперимента был нормальный синусовый ритм сокращений сердца (350–450 уд/мин.). Изучение ЭКГ, проведённое по окончании эксперимента, позволило заключить, что Дантинорм Бэби в исследованных дозах (0,3 мл/кг и 3 мл/кг) не вызывает значимых изменений электрокардиограмм у крыс экспериментальных групп по сравнению с контролем.

Изучение артериального давления у крыс инфантов контрольной и опытных групп продемонстрировало, что все исследуемые показатели находились в пределах референтных значений [15]. Сравнительный анализ полученных данных не выявил значимых различий между контрольной и опытными группами. Исключение составило незначительное снижение диастолического давления у крыс «отставленной» группы, исследованных через две недели после отмены Дантинорм Бэби в дозе 3 мл/кг (в среднем на 16,5 % по сравнению с контролем). Выявленное различие может трактоваться как нормальная вариабельность в границах физиологической нормы (табл. 1).

Исследование ректальной температуры крыс контрольной и опытных групп, проведённое на заключительном этапе эксперимента, показало, что у всех животных данный показатель находился в пределах физиологической нормы.

При изучении периферической крови крыс инфантов было установлено, что большинство показателей животных 2- и 3-й групп, получавших Дантинорм Бэби в дозах 0,3 и 3 мл/кг, значимо не отличается от таковых у контрольных крыс. Исследование морфометрических показателей эритроцитов также не выявило значимых различий с контролем. Исключение составило наблюдаемое у крыс (2- и 3-й групп) повышенное, по сравнению с контролем, содержание ретикулоцитов. При изучении периферической крови крыс «отставленной» 4-й группы, получавших Дантинорм Бэби в дозе 3 мл/кг, также не было зафиксировано значимых различий с контролем по большинству показателей. Однако и в

Таблица 1

Влияние препарата Дантинорм Бэби на артериальное давление крыс инфантов при пероральном введении в дозах 0,3 мл/кг и 3 мл/кг в течение месяца

Группа		Артериальное давление мм рт. ст.			
		Систолическое давление, мм рт. ст.	Диастолическое Давление, мм рт. ст.	Среднее артериальное давление, мм рт. ст.	Пульс, уд/мин
1-я гр. Контроль дист. вода	♀	129,80 (124,50÷135,40)	98,30 (87,50÷103,30)	109,47 (98,43÷113,27)	346,00 (331,00÷428,00)
	♂	127,50 (123,20÷139,20)	93,70 (85,30÷95,10)	104,67 (97,93÷109,80)	382,00 (377,00÷428,00)
2-я гр. Дантинорм Бэби 0,3 мл/кг	♀	120,70 (112,70÷129,60)	90,00 (84,40÷93,80)	101,87 (94,10÷105,03)	361,00 (333,00÷402,00)
	♂	124,70 (118,00÷138,10)	92,30 (91,90÷93,90)	104,08 (100,87÷109,53)	398,50 (392,00÷423,00)
3-я гр. Дантинорм Бэби 3 мл/кг	♀	123,30 (113,80÷126,20)	86,30 (84,00÷89,00)	97,10 (95,07÷103,90)	392,00 (372,00÷408,00)
	♂	121,65 (120,40÷124,30)	89,25 (87,10÷89,90)	99,43 (98,20÷100,43)	410,00 (397,00÷413,00)
4-я гр. «отстав.» Дантинорм Бэби 3 мл/кг	♀	121,50 (116,40÷132,10)	82,50* (77,50÷84,70)	94,10 (92,17÷100,93)	372,00 (357,00÷422,00)
	♂	127,20 (123,70÷129,20)	77,40* (73,60÷81,50)	92,87 (91,40÷97,40)	384,00 (352,00÷425,00)

Примечание: * – статистически значимые различия ($P < 0,05$) по сравнению с контролем.

Таблица 2

Влияние Дантинорм Бэби на показатели периферической крови крыс, получавших препарат в дозах 0,3 мл/кг и 3 мл/кг по сравнению с контролем

Показатель	Крысы самки				Крысы самцы			
	контроль	0,3 мл/кг	3 мл/кг	0,3 мл/кг «отстав. гр.»	контроль	0,3 мл/кг	3 мл/кг	3 мл/кг «отстав. гр.»
Гемоглобин, г/л HGB	143,5 (136,5÷157,0)	164,0 (154,0÷165,0)	150,0 (136,0÷184,0)	152,0 (125,0÷173,0)	152,5 (143,5÷168,0)	154,0 (131,0÷156,50)	143,5 (143,0÷160,0)	161,0 (149,0÷175,0)
Эритроциты млн RBC	8,29 (7,58÷8,82)	8,27 (8,21÷8,95)	8,41 (7,55÷9,30)	8,10 (7,36÷9,42)	7,78 (7,64÷8,97)	8,21 (6,42÷8,29)	7,64 (7,30÷7,95)	8,31 (7,38÷8,58)
Ретикулоциты, % RET	2,0 (1,7÷2,1)	3,5* (3,2÷3,8)	3,2* (2,4÷4,3)	3,2* (2,9÷3,7)	2,1 (1,8÷2,3)	3,3* (3,0÷3,9)	3,5* (3,3÷3,7)	3,1* (2,9÷4,3)
Гематокрит, % HCT	43,5 (41,4÷48,2)	49,3 (45,4÷49,9)	45,6 (42,6÷56,4)	44,5 (37,2÷51,9)	46,2 (42,6÷49,3)	45,0 (37,7÷45,8)	43,7 (42,1÷48,9)	46,6 (44,1÷49,1)
Ср. объём Э, фл. MCV	53,5 (51,0÷56,5)	58,0 (56,0÷59,0)	54,0 (53,0÷61,0)	54,0 (50,0÷56,0)	57,0 (52,5÷59,0)	55,0 (54,0÷57,0)	58,0 (56,0÷59,0)	57,0 (56,0÷59,0)
Ср. сод. Г в Э, пг MCH	17,5 (16,4÷18,7)	18,8 (18,6÷18,9)	17,9 (17,4÷20,3)	18,2 (17,0÷19,1)	19,0 (18,1÷19,4)	18,9 (18,2÷19,1)	19,4 (19,1÷20,0)	19,9 (19,4÷20,3)
Ср. конц. Г в Э, г/д MCHC	327,0 (324,5÷331,5)	332,0 (314,0÷338,0)	325,0 (321,0÷329,0)	335,0 (333,0÷341,0)	336,0 (329,5÷339,0)	342,0 (337,5÷343,0)	333,0 (326,0÷342,0)	348,0* (339,0÷358,0)
Тромбоциты, тыс. PLT	492,0 (443,5÷541,5)	510,0 (477,0÷525,0)	468,0 (398,0÷557,0)	560,0 (444,0÷584,0)	510,5 (426,5÷533,5)	526,0 (396,0÷596,5)	503,0 (432,0÷582,0)	502,0 (498,0÷571,0)
Ср. объём Тр., фл. PV	6,5 (6,4÷7,1)	6,6 (6,6÷6,9)	6,7 (6,6÷6,7)	6,8 (6,7÷6,8)	6,6 (6,3÷6,9)	6,7 (6,5÷6,9)	6,7 (6,7÷6,8)	6,7 (6,7÷7,6)
Тромбоцит, % PCT	0,3 (0,3÷0,3)	0,3 (0,3÷0,3)	0,3 (0,2÷0,3)	0,3 (0,3÷0,4)	0,3 (0,2÷0,3)	0,3 (0,2÷0,4)	0,3 (0,3÷0,3)	0,3 (0,3÷0,3)
Лейкоциты, тыс. WBC	14,56 (11,92÷21,07)	17,60 (13,68÷19,69)	14,11 (11,37÷20,01)	18,45 (17,24÷21,91)	11,08 (8,97÷15,74)	18,87 (17,01÷22,18)	15,83 (11,99÷18,01)	14,16 (11,63÷19,03)
Лейкотграмма	П 0,50 (0,0÷1,0)	1,0 (0,0÷2,0)	0,0 (0,0÷2,0)	0,00 (0,0÷0,0)	0,0 (0,0÷1,0)	0,5 (0,0÷1,0)	0,0 (0,0÷1,0)	1,0 (1,0÷1,0)
	С 19,0 (14,5÷23,5)	19,0 17,0÷37,0)	18,0 (12,0÷18,0)	18,0 (11,0÷21,0)	14,0 (12,0÷16,5)	13,5 (10,5÷21,0)	19,0 (16,0÷23,0)	16,0 (14,0÷17,0)
	Э 0,5 (0,0÷0,0)	1,0 (0,0÷2,0)	1,0 (0,0÷1,0)	0,0 (0,0÷1,0)	1,0 (0,0÷2,0)	1,0 (0,0÷2,0)	1,5 (1,0÷2,0)	2,0 (1,0÷3,0)
	Б 0,0 (0,0÷0,0)	0,0 (0,0÷0,0)	0,0 (0,0÷0,0)	0,0 (0,0÷0,0)	0,0 (0,0÷0,0)	0,0 (0,0÷0,0)	0,0 (0,0÷0,0)	0,0 (0,0÷0,0)
	М 2,5 (2,0÷3,5)	2,0 (2,0÷2,0)	0,0 (0,0÷0,0)	1,0 (1,0÷2,0)	2,5 (2,0÷3,0)	2,0 (2,0÷3,0)	2,0 (2,0÷3,0)	3,0 (2,0÷3,0)
Л 77,5 (72,0÷81,5)	70,0 (60,0÷78,0)	79,0 (77,0÷84,0)	80,0 (77,0÷86,0)	82,0 (79,5÷82,0)	83,5 (75,0÷84,5)	75,5 (75,0÷77,0)	78,0 (77,0÷81,0)	

Примечания: * – различие с контролем достоверно с уровнем значимости $p < 0,05$; ÷ – статистически значимые различия ($p < 0,05$) между 3- и 4-й группами.

этой группе наблюдали более высокое, чем в контроле, содержание ретикулоцитов (табл. 2). Отмечено также повышение (на 3 %) показателя средней концентрации гемоглобина в эритроците (МСНС) по сравнению с контролем. Следует отметить, что различия в этих показателях, хотя и было статистически значимым, но находились в пределах колебаний, обычно наблюдаемых у беспородных крыс [15, 16].

Обобщённый анализ данных проведённых гематологических исследований экспериментальных кроликов не выявил эффектов, которые могли бы быть обусловлены токсическим действием препарата Дантинорм Бэби.

Установлено, что до введения Дантинорм Бэби в дозе 0,3 мл/кг показатели периферической крови кроликов, не имели значимых различий с показателями контрольной группы. За исключением несколько более низкой (11 %) средней концентрации гемоглобина в крови у самцов.

При исследовании морфометрических данных эритроцитов кроликов этой группы в начале эксперимента, не наблюдалось значимых различий с контролем в регистрируемых показателях. Установлено, что у кроликов 2-й группы к окончанию эксперимента большинство показателей периферической крови не имели значимых различий с контролем. За исключением среднего объёма эритроцитов, который у самок этой группы был значимо выше контрольного на 13 %. По сравнению с первоначальными данными через месяц введения препарата у кроликов регистрировали те же изменения показателей красной крови, что в контроле: содержание гемоглобина и количество эритроцитов увеличилось в среднем на 23 и 15 %, соответственно. Показатель гематокрита у кроликов вырос на 12 % по сравнению с исходными данными. Отмечены некоторые изменения эритроцитарных индексов, которые хотя и были статистически значимыми, были незначительны и не выходили за границы референтных значений для данного вида животных. Снижение содержания тромбоцитов и, соответственно, доли того объёма цельной крови, который забирают на себя кровяные пластинки (тромбокрита), фиксировали только у самок. Однако изменение этих показателей не выходило за пределы физиологической нормы. При исследовании морфометрических показателей эритроцитов, проведённом через 24 часа после заключительного введения Дантинорм Бэби в дозе 0,3 мл/кг, у кроликов отмечено значимое улучшение морфологических показателей эритроцитов: увеличение содержания дискоидных клеток и, как следствие, снижение дегенеративных форм эритроцитов у кроликов обоего пола, а также уменьшение анизоцитоза и полихроматофильных эритроцитов у самок.

Установлено, что до введения Дантинорм Бэби у самок 3-й группы не отмечалось значимых различий с контролем по регистрируемым показателям периферической крови. При исследовании морфометри-

ческих данных эритроцитов в начале эксперимента, не наблюдалось значимых различий с контролем в регистрируемых показателях, за исключением значимо более высокого показателя анизохромии у самцов по сравнению с аналогичным контрольным значением. Установлено, что у кроликов 3-й группы через месяц введения Дантинорм Бэби в дозе 3 мл/кг к окончанию эксперимента показатели периферической крови не имели значительных различий с контролем. По сравнению с первоначальными данными у животных регистрировали те же изменения показателей крови, что и у кроликов 2-й группы.

При исследовании морфометрических показателей эритроцитов через месяц перорального введения препарата Дантинорм в дозе 3 мл/кг не выявлено значимых различий с контролем. По сравнению с исходными данными отмечено улучшение качественного состава эритроцитарных клеток — уменьшение анизоцитоза и количества анизохромных эритроцитов у кроликов обоего пола. В цитоархитектонике эритроцитов у самцов был зарегистрирован более высокий уровень нормальных (дискоидных) эритроцитов по сравнению с аналогичным контрольным показателем.

Исследование системы гемостаза, выполненное на крысах инфантах, позволило установить, что все показатели контрольных животных находились в пределах обычно наблюдаемых значений, за исключением укороченного значения АЧТВ у самцов. У самок крыс, получавших препарат в дозе 0,3 и 3 мл/кг, не выявлено значимых различий по сравнению с контрольными животными. В то же время у самцов, получавших препарат в дозе 3 мл/кг (3-я группа), наблюдалось значимое удлинение АЧТВ на 22,8 % и снижение концентрации фибриногена на 40,5 % («отставленная» группа) по сравнению с аналогичными показателями у контрольных крыс. Следует отметить, что изменения показателей АЧТВ и фибриногена у самцов крыс находились в пределах обычно наблюдаемых значений [16].

Исследование системы гемостаза, выполненное на кроликах, не выявило значимых различий между контрольной и опытными группами по показателям, характеризующим свёртывающую способность крови кроликов. Следует отметить, что все исследуемые показатели гемостаза животных контрольных и опытных групп находились в пределах физиологической нормы [15, 16].

При биохимическом исследовании сыворотки крови крыс инфантов установлено, что все выявленные колебания изученных показателей всех опытных групп, получавших Дантинорм Бэби, находились в пределах обычно наблюдаемых значений, характерных для этого вида животных. Так, у крыс, получавших Дантинорм Бэби в дозе 0,3 мл/кг (2-я группа), по сравнению с контролем, не было выявлено значимых различий в биохимическом составе крови. При исследовании крови крыс, получавших препарат в дозе 3 мл/кг (3-я группа), у самок было зарегистрировано значимое

повышение концентрации общего белка на 30,8 % и альбумина на 18,5 % по сравнению с аналогичными показателями в контрольной группе животных. У самок «отставленной» группы (4-я группа) было также отмечено значимо повышенное содержание общего белка (20,7 %) и альбумина (16,5 %) по сравнению с показателями, наблюдаемыми у контрольных животных. У самцов отставленной группы не выявлено значимых различий по сравнению с группой контроля.

При биохимическом изучении сыворотки крови кроликов контрольной и опытных групп, все исследуемые биохимические показатели находились в пределах физиологической нормы для данного вида животных.

У кроликов, получавших Дантинорм Бэби в дозе 0,3 мл/кг (2-я группа), по сравнению с контрольными животными, не установлено значимых различий в биохимическом составе крови.

У кроликов обоего пола, получавших препарат в дозе 3,0 мл/кг (3-я группа), наблюдалось значимое повышение концентрации общего белка и альбумина. У самок было установлено значимое повышение концентрации общего белка на 33,2 %, альбумина — на 53 %, а у самцов — на 43,4 % и 40,7 %, соответственно, по сравнению с аналогичными показателями в контрольной группе. У самок этой группы также было зарегистрировано значимое увеличение уровня глюкозы (42,7 %) и мочевины (28,7 %) и снижение содержания креатинина в 2,8 раз по сравнению с контролем.

Выявленные изменения биохимических показателей у кроликов, получавших препарат в дозе 3,0 мл/кг, находились в границах физиологической нормы для данного вида животных.

Проведённые исследования физико-химических свойств мочи крыс инфантов контрольной и опытных групп не выявили эффектов, которые могли бы трактоваться как обусловленные токсическим действием препарата Дантинорм Бэби. Все изученные показатели не отклонялись от референтных значений.

В результате патологоанатомического вскрытия, последующего статистического анализа массовых коэффициентов наиболее реактивных внутренних органов, а также макроскопического и микроскопического исследования установлено следующее.

Макроскопическая картина внутренних органов, обнаруженная при патологоанатомическом вскрытии животных всех экспериментальных групп, не отличалась от таковой у животных контрольных групп (крыс инфантов и кроликов). Следует отметить, что макроскопическая картина внутренних органов крыс «отставленной» группы, также не отличалась от наблюдаемой у животных, обследованных через 24 часа после заключительного введения препарата (2- и 3-я группы) и дистиллированной воды (1-я группа).

Микроскопическая картина всех изученных внутренних органов и головного мозга крыс инфантов, выведенных из эксперимента через 24 часа или две недели после заключительного перорального введения

препарата Дантинорм Бэби в дозах 0,3 и 3 мл/кг, была аналогична таковой, наблюдаемой у крыс контрольной группы.

Изученная микроскопическая картина всех внутренних органов кроликов, выведенных из эксперимента через 24 часа после заключительного перорального введения препарата Дантинорм Бэби в дозах 0,3 и 3 мл/кг, также была аналогична наблюдаемой у кроликов контрольной группы.

При исследовании местного действия Дантинорм Бэби в дозах 0,3 и 3 мл/кг показано, что препарат не обладает раздражающим эффектом в отношении органов желудочно-кишечного тракта экспериментальных животных.

Так, при проведении манипуляции перорального введения отмечали, что все животные контрольных и экспериментальных групп вели себя одинаково спокойно, не проявляли признаков агрессии. При ежедневных осмотрах крыс и кроликов контрольной группы, а также крыс и кроликов экспериментальных групп, которым препарат Дантинорм Бэби вводили перорально в дозах 0,3 и 3 мл/кг, не было отмечено морфологических признаков раздражения слизистой оболочки ротовой полости ни у одного животного. У крыс «отставленной» группы после 14-дневного периода отмены клинических признаков местной реакции также обнаружено не было.

Патологоанатомическое вскрытие животных контрольных и экспериментальных групп не выявило у них макроскопических изменений ротовой полости, языка, глотки, пищевода, желудка, тонкого и толстого отделов кишечника. Микроскопическая картина пищевода, желудка, тонкого и толстого отделов кишечника крыс и кроликов экспериментальных групп, получавших Дантинорм Бэби в дозах 0,3 и 3 мл/кг, была идентичной таковой, наблюдаемой у контрольных крыс и кроликов, получавших дистиллированную воду.

При последующем микроскопическом изучении пищевода, желудка, тонкого и толстого отделов кишечника крыс и кроликов установлено, что микроскопическая картина органов пищеварения у животных всех экспериментальных групп, получавших Дантинорм Бэби в дозах 0,3 и 3 мл/кг, является идентичной таковой, наблюдаемой у контрольных животных.

Заключение

Клинико-лабораторные и патогистологические исследования, выполненные в соответствии с общепринятым протоколом [4–8], продемонстрировали отсутствие токсических эффектов гомеопатического препарата Дантинорм Бэби.

В результате проведённых исследований установлено, что препарат Дантинорм Бэби, вводимый ежедневно перорально в течение одного месяца в дозах 0,3 и 3 мл/кг беспородным белым крысам и кроликам, в использованных дозах не вызывает потенциальных

нежелательных фармакодинамических эффектов на физиологические функции организма (центральную нервную систему, сердечно-сосудистую систему и дыхание).

Совокупность полученных данных свидетельствует

об отсутствии препятствий к клиническому испытанию препарата Дантинорм Бэби в диапазоне терапевтических дозировок.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Сорокина Александра Валериановна

ORCID ID: 0000-0002-9600-7244

к. б. н., в. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия

Sorokina Aleksandra V.

ORCID ID: 0000-0002-9600-7244

PhD in Biology, Leading researcher of the laboratory of drug toxicology FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow, Russia

Алексеева Светлана Витальевна

Автор, ответственный за переписку

e-mail: alexeeva.sv@mail.ru

ORCID ID: 0000-0002-1262-6997

SPIN-код: 8985-3418

в. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия

Alekseeva Svetlana V.

Corresponding author

e-mail: alexeeva.sv@mail.ru

ORCID ID: 0000-0002-1262-6997

SPIN code: 8985-3418

Leading researcher of laboratory of drug toxicology FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow, Russia

Мирошкина Ирина Александровна

ORCID ID: 0000-0002-3208-198X

SPIN-код: 4697-7938

н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия

Miroshkina Irina A.

ORCID ID: 0000-0002-3208-198X

SPIN code: 4697-7938

Research scientist of the laboratory of drug toxicology FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow, Russia

Качалов Кирилл Сергеевич

SPIN-код: 2992-6789

инженер 1-й категории лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия; студент фармацевтического факультета Московского медицинского университета «Реавиз», Москва, Россия

Kachalov Kirill S.

SPIN code: 2992-6789

Engineer of the 1st category of the laboratory of drug toxicology FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow, Russia; student of the pharmaceutical faculty of the Moscow medical university «Reaviz», Moscow, Russia

Захаров Алексей Дмитриевич

SPIN-код: 9013-6228

м. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия

Zakharov Aleksei D.

SPIN code: 9013-6228

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

Алексеев Иван Владимирович

SPIN-код: 9757-6210

инженер 1-й категории лаборатории фармакологии мутагенеза ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия; студент фармацевтического факультета Московского медицинского университета «Реавиз», Москва, Россия

Alekseev Ivan V.

SPIN code: 9757-6210

Engineer of the 1st category of the Laboratory of Pharmacology of mutagenesis FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow, Russia; student of the faculty of pharmacy Moscow Medical University «Reaviz», Moscow, Russia

Лапицкая Анастасия Сергеевна

SPIN-код: 7966-8750

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

Volkova Anna V.

PhD in Biology, Senior Research Officer of the
Laboratory of Diagnostics and Prevention of
MRIEM, Moscow, Russia

Литература / References

1. Казюкова Т.В., Ильенко Л.И., Котлуков В.К. Длительность и эффективность воздействия различных лекарственных средств при симптомах патологической дентации у младенцев // *Педиатрия. Журнал имени Г.Н. Сперанского*. 2019;98(2):133-140. [Kazyukova TV, Ilyenko LI, Kotlukov VK. Duration and effectiveness of exposure of various drugs for pathological teething symptoms in infants. *Pediatrics. Journal named after G.N. Speransky*. 2019;98 (2):133-140. (In Russ).]
2. Казюкова Т.В., Радциг Е.Ю., Панкратов И.В., Алеев А.С. Сравнение клинической эффективности и безопасности двух лекарственных препаратов в терапии симптомов прорезывания молочных зубов у детей раннего возраста («Дантинорм Бэби®» VS «Калгель®») // *Педиатрия. Журнал имени Г.Н. Сперанского*. 2018;97(1):122-130. [Kazyukova TV, Radzig EYu, Pankratov IV, Aleev AS. Comparison of clinical efficacy and safety of the two drugs in the therapy of symptoms of eruption of infant teeth («Dantinorm Baby®» VS «Calgel®»). *Pediatrics. Journal named after G.N. Speransky*. 2018;97(1):122-130. (In Russ).]
3. Казюкова Т.В., Котлуков В.К., Шевченко Н.Н., Русакова В.Д. Симптомы прорезывания зубов у младенцев: состояние или болезнь? // *Педиатрия. Журнал имени Г.Н. Сперанского*. 2013;92(4):62-63. [Kazyukova TV, Kotlukov VK, Shevchenko NN, Rusakova VD. Simptomy prorezyvaniya zubov u mladencev: sostoyanie ili bolezn? *Pediatrics. Journal named after G.N. Speransky*. 2013;92(4):62-63. (In Russ).]
4. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. National Research Council (US) Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 8th edition. Washington (DC): National Academies Press (US); 2011. DOI: 10.17226/12910
5. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Методические указания по изучению общетоксического действия фармакологических веществ. Изучение «хронической» токсичности. — М.: Медицина; 2005, 47-54. [Guideline for Experimental (Preclinical) Studying of New Pharmacological Substances. Metodicheskie ukazaniya po izucheniyu obshchetoksicheskogo deistviya farmakologicheskikh veshchestv. Izuchenie «khronicheskoi» toksichnosti. Moscow: Medicine; 2005. P. 47-54 (In Russ).]
6. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. Методические рекомендации по изучению общетоксического действия лекарственных средств. Изучение хронической токсичности. — М.: Гриф и К; 2012, С. 17- 24. [Guidance on Preclinical Evaluation of Medicines. Part I. Metodicheskie rekomendatsii po izucheniyu obshchetoksicheskogo deistviya lekarstvennykh sredstv. Izuchenie hronicheskoi toksichnosti. Moscow: Grif i K; 2012, P. 17- 24. (In Russ).]
7. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Том I. — М.: Гриф и К, 2013. — 328 с. [Rukovodstvo po ekspertize lekarstvennykh sredstv. Tom I. Moscow: Grif i K, 2013. (In Russ).]
8. Diehl KH, Hull R, Morton D et al. A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes. *J Appl Toxicol*. Jan-Feb 2001;21(1):15-23. DOI: 10.1002/jat.727.
9. Исследование системы крови в клинической практике / [Козинет Г. И., Арустамян Ю. С., Ашуров Г. Д. и др.]; Под ред. Г. И. Козинца, В. А. Макарова. — М.: Триада-Х; 1997. — 480 с. [Issledovanie sistemy krovi v klinicheskoy praktike / [Kozinets GI, Arustamyan YuS, Ashurov GD et al.]; Ed by GI Kozinets, VA Makarov. Moscow: Triada-X; 1997. (In Russ).] ISBN 5-86021-006-X
10. Микроскопическая техника. Руководство для врачей и лаборантов / Под ред. Д.С. Саркисова и Ю.Л. Перова. — М.: Медицина; 1996. — 544 с. [Mikroskopicheskaya tekhnika. Rukovodstvo dlya vrachei i laborantov / Ed by DS Sarkisov and YuL Perov. Moscow: Medicine; 1996. (In Russ).] ISBN: 5-225-02820-9
11. Гистологическая и микроскопическая техника: Руководство / А.Г. Сапожников, А.Е. Доросевич; — Смоленск: САУ; 2000. — 475 с. [Histological and microscopical technique: Rukovodstvo / AG Sapozhnikov, AE Dorosevich. Smolensk: SAU; 2000. (In Russ).]
12. Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники. 5-е изд., испр. и доп. — Ленинград: Медицина; Ленингр. отд.-ние, 1969. [Merkulov GA. Kurs patologistologicheskoi tekhniki. Leningrad: Medicine; 1969. (In Russ).]
13. Гланц С. Медико-биологическая статистика. — М.: Практика; 1998, — 359 с. [Glanc S. Mediko-biologicheskaya statistika Moscow: Praktika; 1998. (In Russ).]
14. Бельский М.Б. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. — Ленинград: Медгиз; 1963. [Belenky MB. Elementy kolichestvennoy ocenki farmakologicheskogo effekta. Leningrad: Medgiz; 1963. (In Russ).]
15. Проблемы нормы в токсикологии / Под ред. проф. И.М. Трахтенберга. — М.; Медицина; 1991. — 203 с. [Problemy normy v toksikologii / Ed by prof. IM Trahtenberga. Moscow: Medicina; 1991. (In Russ).]
16. Справочник. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных / Под ред. Макарова В.Г., Макаровой М.Н. — СПб: Изд-во «ЛЕМА»; 2013. — 116 с. [Spravochnik Fiziologicheskie, biohimicheskie i biometricheskie pokazateli normy eksperimental'nykh zhivotnykh / Ed by Makarova VG, Makarovo MN. SBP: «LEMA»; 2013, (In Russ).] ISBN 978-5-98709-619-2