

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ КЫРГЫЗСКОЙ  
РЕСПУБЛИКИ**

**КЫРГЫЗСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ  
ИМЕНИ И.К. АХУНБАЕВА**

**НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ  
ИНСТИТУТ ХИМИИ И ФИТОТЕХНОЛОГИЙ**

На правах рукописи

УДК 615. 012.8 : 616 - 006 (575.2) (043.3)

**КАМЧИБЕКОВА ЧОЛПОН**

**РАЗРАБОТКА НОВОГО ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО  
ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА ГЛИКОЗИЛ-  
НИТРОЗОМЕТИЛМОЧЕВИНА-1**

**14.03.06 - фармакология, клиническая фармакология**

Диссертация на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

**Научный консультант:**

Член-корр. НАН КР,

д.м.н., проф. Зурдинов А.З.

**Бишкек – 2019**

**РАЗРАБОТКА НОВОГО ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО  
ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА  
ГЛИКОЗИЛ-НИТРОЗОМЕТИЛМОЧЕВИНА-1**

**14.03.06 - фармакология, клиническая фармакология**

## ОГЛАВЛЕНИЕ

	Стр.
ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	9
1.1. Современное состояние проблемы химиотерапии опухолей.....	9
1.2. Перспективы поиска и разработка противоопухолевых средств. ...	33
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	42
2.1. Методы изучения физико-химических свойств субстанции гликозил-НММ-1.....	42
2.2. Методики фармакологического эксперимента.....	44
ГЛАВА 3. СОСТАВ, СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СУБСТАНЦИИ ГЛИКОЗИЛ-НММ-1.....	52
ГЛАВА 4. ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ГЛИКОЗИЛ-НММ-1 В СРАВНЕНИИ С ЦИКЛОФОСФАМИДОМ.....	61
4.1. Изучение острой токсичности гликозил-НММ-1.....	61
4.1.1. Анатомо-морфологическое состояние внутренних органов животных на фоне применения субстанции.....	67
4.2. Хроническая токсичность гликозил-НММ-1.....	72
4.2.10. Морфологическое изучение внутренних органов животных в условиях хронической токсичности .....	102
ГЛАВА 5. ИЗУЧЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ГЛИКОЗИЛ-НММ-1 НА ЖИВОТНЫХ С АСЦИТНОЙ ОПУХОЛЬЮ ЭРЛИХА (ДИПЛОИДНЫЙ ВАРИАНТ) В СРАВНЕНИИ С ЦИКЛОФОСФАМИДОМ .....	130
5.1. Изучение противоопухолевой активности гликозил-НММ-1 на асцитном варианте Асцитной опухоли Эрлиха на животных-опухоленосителях.....	130

5.2. Специфическая активность гликозил-НММ-1 при подкожном варианте Асцитной опухоли Эрлиха на животных.....	143
<b>ГЛАВА 6. ИЗУЧЕНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ</b>	
<b>ГЛИКОЗИЛ-НММ-1 В СРАВНЕНИИ С</b>	
<b>ЦИКЛОФОСФАМИДОМ.....</b>	
6.1. Местно-раздражающее действие субстанции.....	157
6.2. Исследование аллергогенного свойства гликозил-НММ-1.....	161
6.3. Изучение кумулятивных свойств субстанции.....	168
6.4. Влияние гликозил-НММ-1 на иммунную систему у животных....	169
6.5. Исследование возможных канцерогенных свойств субстанции...184	
6.6. Изучение мутагенных свойств субстанции гликозил-НММ-1.....	199
6.7. Эмбриотоксические и тератогенные свойства гликозил-НММ-1.....	203
6.8. Изучение фармакокинетики субстанции.....	211
<b>ГЛАВА 7. СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ АСЦИТНОЙ ОПУХОЛИ ЭРЛИХА</b>	
<b>(ДИПЛОИДНЫЙ ВАРИАНТ) С ГЛИКОЗИЛ-НММ-1.....</b>	
7.1. Лечение асцитного варианта АОЭ с применением гликозил-НММ-1 у животных-опухоленосителей.....	217
7.2. Способ лечения подкожного варианта АОЭ с гликозил-НММ-1 у опухоленосителей.....	233
<b>ВЫВОДЫ.....</b>	<b>248</b>
<b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....</b>	<b>249</b>
<b>УКАЗАТЕЛЬ ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>	<b>251</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ.....</b>	<b>292</b>

## ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- АОЭ – Асцитная опухоль Эрлиха
- АСNU - лемустин, нидран
- ВСNU – кармустин, глиадел
- ГЭБ - гематозэнцефалический барьер
- Гликозил-НММ-1 - гликозил-нитрозометилмочевина-1;  
N-метил-N'-(β-D-ксилопиранозил)- N-нитрозомочевина
- КРР – колоректальный рак
- ЛТ - лучевая терапия
- МКА – моноклональные антитела
- МРЛ – мелкоклеточный рак легкого
- НАМ – нитрозоалкилмочевина
- НМРЛ – немелкоклеточный рак легкого
- НММ – нитрозометилмочевина
- ОЛ - острый лейкоз
- ПО - противоопухолевый
- ПОА – противоопухолевая активность
- РЖ – рак желудка
- РЛ – рак легкого
- РМЖ - рак молочной железы
- СОЭ - скорость оседания эритроцитов
- РШМ – рак шейки матки
- РЯ – рак яичника
- СПЖ – средняя продолжительность жизни
- ТРО - торможение роста опухоли
- УПЖ – удлинение продолжительности жизни
- ХТ - химиотерапия
- ХТО - химиотерапия опухолей

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы.** В связи с повсеместным ростом онкологической заболеваемости, в мире уделяют пристальное внимание созданию эффективных и безопасных ПО лекарственных средств. Обостренный интерес к данной проблеме объясняется и расширением сферы побочных действий известных препаратов. Например, большая часть ПО препаратов проявляют гематотоксичность, иммунотоксичность, нейротоксичность, вызывают изменения в эндокринной системе и т.д. [4, 6-7, 19-20, 203].

Современная медицина наряду с достижениями научно-технического прогресса заинтересована в создании новых ПО средств близких к естественным метаболитам организма, поскольку они обладают хорошей растворимостью, малой токсичностью, избирательностью действия [1, 30, 32-34, 36, 42]. Среди перспективных ПО препаратов значимое место занимают цитостатические средства производные НММ: N-Нитрозо-N-метилмочевина; арабинопиранозил-N-метил-N-нитрозомочевина; этилнитрозомочевина; кармустин; ломустин и др. [8, 110, 147, 186, 216, 223, 245, 319]. Препараты данного типа являются алкилирующими агентами и обладают широким спектром ПО действия, часть препаратов входит в признанные международные схемы ХТ. Производные НММ являются высокоэффективными лечебными препаратами и современная ХТ ряда опухолей немыслима без их использования (например, ломустина и кармустина при лимфомах и миеломах). Но достаточно высокая токсичность нитрозомочевины (НМ) ограничивает спектр показаний и область использования таких препаратов [148, 165-166, 172]. В связи с этими обстоятельствами поиск новых субстанций с потенциалом ПОА и с приемлемым уровнем токсичности в группе производных НММ является актуальным и интенсивно ведется в последние годы и в мире [155, 227], и в России [17], и в Кыргызстане [58, 64-65, 67, 302, 328-329].

Предполагается, что введение углеводных остатков в структуру биологически активных соединений приводит к резкому снижению их токсичности, что позволяет использовать метод гликозилирования соединения как один из возможных путей получения малотоксичных лекарственных средств [42, 67]. На основании этой гипотезы в Институте химии и фитотехнологий НАН КР проводился в течение ряда лет направленный синтез производных НММ и в результате этих работ была получена гликозил-нитрозометилмочевина-1 (гликозил-НММ-1) [63, 68, 70, 93, 102, 120, 301].

**Связь темы диссертации с плановыми исследованиями.** Работа выполнена в соответствии с планом научных исследований, проводимых КГМА им. И. К. Ахунбаева и ИХФ НАН КР, финансируемого МОН КР (госрегистр. № 0005351), в рамках темы «Разработка нового противоопухолевого лекарственного препарата гликозил-нитрозометилмочевина-1».

**Цель исследования** является научное обоснование разработки новой цитостатической ПО субстанции со сниженным потенциалом токсичности в группе производных НММ, доклиническое исследование фармакологии и токсикологии оригинальной субстанции гликозил-НММ-1.

**Задачи исследования:**

1. Изучить физико-химические свойства субстанции гликозил-НММ-1;
2. Исследовать острую и хроническую токсичность гликозил-НММ-1;
3. Выявить специфическую ПОА субстанции гликозил-НММ-1;
4. Исследовать фармакологические свойства гликозил-НММ-1 (местно-раздражающее, алергогенное, иммунотоксические, кумулятивные, канцерогенные, мутагенные, эмбриотоксические и тератогенные);
5. Изучить фармакокинетические параметры субстанции гликозил-НММ-1;
6. Определить перспективность разработки нового ПО препарата на основе субстанции гликозил-НММ-1.

**Научная новизна исследования**

- Впервые изучены физико-химические свойства гликозил-НММ-1,

установлены параметры неспецифической и специфической токсичности, исследована фармакокинетика;

- Впервые среди производных НММ найдена субстанция с минимальным уровнем токсичности;
- Впервые установлено ПО терапевтическое действие гликозил-НММ-1;
- Впервые оригинальная субстанция из группы производных НММ обоснована в качестве основы для создания нового ПО препарата;
- Получен Патент КР на изобретение № 1129 от 31.12.2008 г. «Способ лечения АОЭ» с использованием гликозил-НММ-1.

**Практическая значимость** заключается в том, результаты данного исследования могут быть использованы в качестве основы для планирования и проведения клинических исследований и, в последующем, для создания нового ПО препарата из группы производных НММ с низким потенциалом токсичности, расширяющего возможности ПО ХТ.

**Экономическая значимость полученных результатов** определяется тем, что итоги проведенной нами работы, в дальнейшем станут основанием для использования гликозил-НММ-1 в качестве фармацевтического продукта.

**Основные положения диссертации, выносимые на защиту:**

1. Разработана новая субстанция из производных НММ - гликозил-НММ-1, изучен состав, физико-химические свойства;
2. Изучена острая и хроническая токсичность гликозил-НММ-1;
3. Доказано наличие специфической ПОА субстанции гликозил-НММ-1;
4. Исследованы фармакологические свойства гликозил-НММ-1 (местно-раздражающее, алергогенное, иммунотоксические, кумулятивные, канцерогенные, мутагенные, эмбриотоксические и тератогенные);
5. Изучена фармакокинетика соединения гликозил-НММ-1;
6. Обоснована возможность создания нового ПО препарата на основе субстанции гликозил-НММ-1.

**Личный вклад соискателя.** Автором проводилось изучение физико-



химических, фармако-токсикологических свойств гликозил-НММ-1, специфической ПОА, способ лечения животных с АОЭ, сбор, обработка материала, систематизация полученных результатов, их анализ, обобщение и интерпретация в рамках цели исследования.

**Апробация результатов исследования.** В диссертации основные положения и результаты работы доложены: на II съезде РНО фармакологов (Москва, 2003); I съезде фармацевтов КР (Бишкек, 2003); международном симпозиуме «Молекулярные механизмы регуляции функции клетки» (Тюмень, 2005); международных конференциях: «Современные проблемы геохимической экологии и сохранения биоразнообразия», «Сохранение и устойчивое использование растительных ресурсов», «Актуальные проблемы сохранения и рационального использования биологических ресурсов – как основы развития фармацевтической промышленности» (Бишкек, 1998, 2002-2004, 2010, 2015); «Проблемы современной микробиологии и биотехнологии» (Ташкент, 1999); республиканских конференциях: «Экология и природные ресурсы Тянь-Шаня» (Ош, 2002), «Экологическая безопасность горной страны и новые информационные технологии в образовании», «Физиология, морфология, патология человека и животных в климато-географических условиях Кыргызстана», «Старт в большую науку» (Бишкек, 2002-2004, 2013).

**Полнота отражения результатов диссертации в публикациях.** Основные результаты диссертации отражены в 28-и публикациях, в том числе в 7-и журналах, вошедших в Перечень рецензируемых научных изданий, утвержденных президиумом ВАК КР.

**Структура и объем.** Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материала и методов исследования, 5-и глав собственных исследований и их обсуждения, выводов, списка литературы и приложения. Объём диссертации – 250 страниц, содержит 127 рисунков, 9 таблиц. Библиографических источников – 359, собственных публикаций - 28.

# ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

## 1.1. Современное состояние проблемы химиотерапии опухолей

Проблема злокачественных новообразований (ЗНО) несмотря на успехи в области изучения опухолевого процесса, разработку эффективных и безопасных средств, методов профилактики, диагностики и лечения остается открытой и актуальной [19-20, 29, 32-33, 49, 51, 64, 87, 132]. ХТ как одна из методов лечения опухолей вошла в клинику в 1940 г и имеет важное значение в терапии ЗНО [4, 34, 156, 188].

В настоящее время медицинской науке известно около 500 онкологических заболеваний. Наиболее часто встречающиеся опухоли составляют более 90 %. С появлением новых методов диагностики и лечения ЗНО расширились возможности клинической онкологии. Медицина в состоянии излечить опухоли почти всех локализаций, если диагностированы в ранней стадии. Например, в результате лечения у детей сохраняется долгосрочная функциональность и качество жизни. Уровень выживаемости составляет более 80 % [1, 8, 42, 45-46, 52, 73, 81-85, 221].

В современной медицине проблема рака остается одной из главных, разрешить которую пытаются ученые всего мира. Частота опухолевых заболеваний обусловлена канцерогенными факторами окружающей среды, недостаточным знанием фундаментальной природы опухолевого процесса, патогенеза ЗНО и условий, способствующих их развитию. Эти причины, действуя опосредованно, нарушают механизмы иммунной системы [2, 53-54, 56, 70, 103, 145, 157, 207].

Главное в терапии - вера пациента в излечение, выбор максимально эффективных методов лечения, оценка факторов, позволяющих предсказать реакцию на применение ХТ и её переносимости, зависящих от генотипа пациента, маркеров, метаболизма, молекулярно-генетической характеристики опухоли - наличия специфической мишени [26, 95-97, 100-101, 117].

По статистическим данным Российской Федерации (РФ) в каждую минуту 1 человек заболевает ЗНО, что составляет около 0,5 млн. случаев в год и продолжая прогрессировать до 4,5-5 %. В настоящее время официально на учете состоят более 2 млн. 300 тыс. пациентов. Смертность населения от ЗНО занимает в ряду заболеваний 2-3 место. Выявление рака на I-II стадии – редкий случай (не более 10-15 %), а выявляемость на III-V стадии рака намного возросла (80 %), является инкурабельной и при этом большую часть больных занимают люди трудоспособного возраста. Онкологический регистр г. Санкт-Петербурга показывает, что 1990-2009 гг. онкозаболеваемость населения выросла на 16,4 %, в том числе ЗНО составляют 12,9 %, а общее количество больных – 82 %. В 2010 г. из числа больных ЗНО (31,3 %), получавших ХТ и лучевую терапию (ЛТ) составляли 1,8 % (ЛТ – 4,1%, ХТ – 1,6 %), а остальные 61,2 % больных получали хирургическое лечение [19-20, 115, 150]. В мировой статистике в высокоразвитых странах опухолевые заболевания кроветворной, лимфоидной тканей занимают одно из ведущих мест среди причин смертности населения и ежегодно умирают 7-8 млн. человек. По прогнозам ВОЗ, смертность от рака продолжает расти, и с 2030 по 2050 гг. произойдет 13,1-16 млн случаев смерти (ВОЗ. Информ. бюлл. № 297 2012 г.) [29, 37-38, 40].

Для того, чтобы изменить ситуацию с лечением больных в РФ внедрена система ранней диагностики ЗНО в рамках Государственной программы. Опухоли обнаруживаются на ранних стадиях развития при помощи молекулярных технологий. В основу данной программы положен специфический иммунологический Рo-тест, разработанный в 1992 г. проф. А. И. Агеенко. В РФ и странах государств содружеств клинические

испытания проводились более 15 лет. Ро-тест *in vitro* обладает высокой чувствительностью и специфичностью до 95 %. Другие маркеры реагируют только на опухоль определенной локализации, а показатель эффективности равна 50 %. Экономическая эффективность Ро-тест составляет сотни тысяч спасенных людей трудоспособного возраста (75 %) [323].

В современной ХТО применяются ряд известных методов лечения: хирургические, ХТ, комбинированные и комплексные. По мнению специалистов ХТ препарат должен быть эффективным, разным механизмом действия, малотоксичным и оптимальным. Чаще всего специалисты прибегают к полихимиотерапии (полиХТ), используя при этом комбинацию двух и более обоснованно подобранных препаратов, что повышает эффективность лечения и широко используется в сочетании с другими методами лечения. Как известно, принцип достижения максимального лечебного эффекта в короткий срок и ПО действие препаратов оценивают после каждого курса лечения. Интервалы между курсами определяются задачей лечения и характеристикой побочного действия препаратов. Обязательным считается проведение повторных курсов [115, 126-127, 129, 134, 144-146, 159].

В ХТ в зависимости от целей применения используются адъювантная (АХТ), неадъювантная (НАХТ), паллиативные варианты лечения. Разработаны новые подходы к АХТ и НАХТ с целью профилактики метастазирования и рецидивов опухоли после радикальной хирургической операции или ЛТ используется АХТ, и показана целесообразность использования таксанов. При оптимальной циторедуктивной операции АХТ больных длится 1-2 года. Медиана выживаемости составляет 39 месяцев. АХТ эффективна при тестикулярной карциноме, карциноме молочной железы и остеогенной саркоме (III стадия) и др. ХТ не показана при отсутствии поражения регионарных лимфоузлов в размерах первичной опухоли до 1 см и I степени ее злокачественности. Выбор определяется факторами риска. НАХТ уменьшает объем опухоли, расширяет возможности оперативного вмешательства,

улучшает выживаемость при РМЖ, остеогенной саркоме, КРР и т.д. При солидных опухолях перспективной является комплексная терапия [88, 90, 147, 170, 316, 357].

Отдельные ХТ препараты действуя на клетки образуют ковалентные связи с дезоксирибонуклеиновой кислотой (ДНК) на молекулярном уровне, повреждают генетическую функцию опухолевой клетки, нарушают синтез ДНК, рибонуклеиновой кислоты (РНК) и неспособность деления клеток приводит к её гибели. Мишенями являются рецепторы фактора роста опухоли, механизмы передачи ростового сигнала, апоптоз и неоангиогенез. Известно, что многие ПО препараты обладают специфичностью действия. Обоснованием для применения является теоретическая возможность относительно избирательного подавления роста злокачественной клетки, без значительного повреждения здоровых тканей и органов больного [124].

На рубеже XX-XXI вв. внедрены более 100 препаратов: производные НАМ, таксаны, ингибиторы топоизомеразы и др. с разным механизмом действия, широтой спектра и ПОА, которые эффективны при редких формах ЗНО. Появилась возможность успешного лечения солидных форм опухолей, заболеваний кроветворных и лимфоидных тканей, считавшихся неизлечимыми. Например, ремиссии наблюдаются у 65-75 % больных с нелимфобластным ОЛ, у 85 % - лимфобластным ОЛ и у 25-40 % больных достигнута полная ремиссия, которая сохранялась в течение 5 лет [227]. ХТ эффективна при овариальной карциноме, миелоидном лейкозе, фолликулярной лимфоме, излечивает трофобластическую болезнь, злокачественные герминогенные опухоли яичка и др. [230, 291]. При НМРЛ, раке ЖКТ, диссеминированном РМЖ наблюдается улучшение - реже полная регрессия опухоли на более или менее длительные сроки [164, 290]. Одной из причин низкой эффективности ХТ является то, что применяемые средства при лечении опухолей отбираются по принципу цитостатического и цитотоксического действия на делящиеся клетки. В результате они могут повреждать не только

клетки опухоли, но и пролиферирующие клетки организма [163, 208, 233, 295-296, 300].

В современной ХТ применяются алкилирующие средства - препараты платины: цисплатин, карбоплатин и оксалиплатин. Цисплатин относится к метилирующим триазинам, является координационным комплексом, гидролизуется внутриклеточно и вызывает сильную реакцию [297, 320-321]. Карбоплатин - слабореактивный состав платины II поколения. Снижает количество плазменного белка, быстро выводится почками в течение 4-6 ч. Производные платины III поколения - оксалиплатин и ингибитор топоизомеразы I - иринотекан являются активными при КРР [303, 346]. Препараты платины остаются эффективными и включаются в различные схемы ХТ инвазивного рака мочевого пузыря (РМП). Дибунол также является эффективным средством при лечении больных РМП, например, в комбинации МУАС. Высокая токсичность данного режима ассоциируется с 3-5 % летальностью и ограничивает использование МУАС. Комбинации, которые включают производные фторпиримидина, обладают ПОА порядка 50-60 %, а их применение позволяет увеличить медиану выживаемости у больных с метастазированным КРР до 20 месяцев [347]. Гидроксимочевина блокирует преобразование рибонуклеотида в дезоксирибонуклеотид, ингибирует рибонуклеозидную редуктазу. Ферментный препарат - L-аспарагиназа определяет процесс между нормальными клетками и клетками лимфобластного лейкоза у детей. Она используется тогда, когда другие препараты не в состоянии вызвать ремиссию и неэффективны при солидных опухолях [264, 324].

Антиметаболиты - метотрексат взаимодействует с компонентами ДНК, коферментами, которые вовлечены в синтез нуклеиновой кислоты. Ингибируют формирующиеся дисфункциональные макромолекулы. Блокируют преобразование дигидрофолевой кислоты в тетрагидрофолиевую, которая является коферментом, требуемым для передачи в *de novo* углеродные реакции. Торможение является

псевдонеобратимым, так как метотрексат имеет в 50 тыс. раз большую близость к ферменту. Применение фолиевой кислоты способствует назначению высокой дозы препарата при трудноизлечимых опухолях. Пуриновые антагонисты - меркаптопурин Р и тиогуанин являются более действенными, преобразуются при передаче монорибонуклеотидов, которые ингибируют преобразование монофосфата инозина к нуклеотидам гуанина и аденина. Азатиоприн оказывает эффект на Т-лимфоциты, подавляет клеточный иммунитет, применяется как иммунодепрессант при трансплантации органа и ревматоидных артритах. Имуран и 6-МР метаболизируются ксантинооксидазой и ингибируются аллопуринолом. Тиогуанин не является субстратом для ксантинооксидазы и имеет отличие в S-метилировании метаболической части. Производное фторпиримидина - 5-фторурацил является основой ПО ХТ КРР. Фторурацил связывается с ДНК и приводит к токсичности [342].

Пиримидиновые антагонисты являются аналогами пиримидина, но имеют разные применения. Капецитабин активизируется опухолью при КРР, включается в режимы комбинированной ХТ. Цитарабин фосфорилируется в нуклеотид и ингибирует синтез ДНК [102, 209].

ПО антибиотики полученные из микроорганизмов обладают ПОА. В АХТ вошли антрациклины, которые вначале использовались в качестве II линии при диссеминированных формах РМЖ, затем стали методом выбора I линии ХТ. Комбинации CMF, содержащие антрациклины, считаются "золотым стандартом". Использование таксанов после применения антрациклинов содержащих комбинаций улучшает результаты АХТ операбельных форм РМЖ. В настоящее время имеется выбор ПО препаратов, к которым относятся доксорубицин, эпирубицин и таксол, таксотер, навельбин и ПОА цитостатиков составляет 43–70 %. ПО антибиотик даунорубицин используется при ОЛ. Доксорубицин и его аналог митоксантрон эффективны при солидных опухолях. Однако, обладают мутагенным и канцерогенным эффектами [270]. Блеомицин – смесь, связанных гликопептидных антибиотиков, которые имеют сильную

ПОА. Митомидин С - высокоактивное средство, но токсически поражает костный мозг и ЖКТ. Митрамицин - высокоактивен, используется при эмбриональной тестикулярной опухоли, костном метастазе, гиперкальциемии и др. Актиномицин Д является высокоактивным средством, действует при неподдающихся метатрексату хориокарциноме и других раковых заболеваниях [256].

Препараты растительного происхождения - алкалоиды барвинка - митотические ингибиторы связываются с микротрубочатым белком «тубулином», блокируют микротрубки, вызывают разрушение митотического цикла. Винкаалкалоиды - винкристин и винбластин имеют разные спектры ПОА и токсичности. Винкристин активен, вызывает ремиссию у детей при ОЛ, лимфосаркоме, болезни Ходжкина и др. [233]. Таксаны улучшили возможность действия ХТ при РЯ. Доказано преимущество комбинации таксола с цисплатином и таксаны с антрациклинами в качестве I линии ХТ при РМЖ. «Золотым стандартом» стала комбинация таксола и карбоплатина, позволяющая получить клинический эффект у 70-80 % больных, при ремиссии у 30-50 %. ПОА паклитаксела и доцетаксела одинакова при РМЖ. Дуцитахел высокоактивный, комбинация ингибитора топоизомеразы I, IFL оказали эффект у 35 % больных [350].

Топотекан и иринотекан - полусинтетические аналоги камптотецина, взаимодействуют с ферментами ДНК топоизомеразы I. Иринотекан представляет собой пролекарство, которое декарбоксилируется в печени до активного метаболита [252, 274, 352]. Этопозид - полусинтетическое производное растительного гликозида подофиллотоксина и используется при тестикулярных опухолях, РЛ и др., вызывает облысение, лейкопению и т.д. [309, 315, 325, 344].

При лечении опухолей большую роль сыграли НАМ и метаболиты, отличающиеся избирательностью действия на опухолевую ткань. Основатель ХТ рака чл.-корр. АМН б. СССР Л. Ф. Ларионов выдвинул идею об использовании в клинике сарколизина и допана. Высокая ПОА



циклофосфида, превращающая *in vivo* в активную форму, стимулировала поиск средств с латентной активностью [228]. Применяемые в онкологии

методы хирургического, ЛТ и ХТ часто не приводили к излечению больных. Поэтому уделялось большое внимание изысканию новых эффективных ХТ средств [42, 194, 330].

В клинической онкологии трудно переоценить роль НАМ, которые являются препаратами I ряда, отличаются широтой спектра, обладают высокой ПОА, радиомиметическими, карбамоилирующими свойствами и широко используются в комбинации с другими средствами. При лечении ЗНО НАМ отличаются избирательностью действия на опухолевую ткань различного происхождения и гистогенеза [148, 165-166, 174]. Выявлены преимущества НАМ: долговременная эффективность на выживаемость, качество жизни больных [155, 227]. Основными показаниями для применения НАМ являлись: опухоли мозга, РЛ, ЖКТ и др. При наиболее распространенных опухолях, как РЖ, РМЖ и т.д., была малоэффективной, которые в той или иной степени были чувствительны к определенным препаратам [290-291, 352].

Действие НАМ на синтез ДНК и РНК зависит от стабильности *in vitro*, реакционной способности продуктов разложения, карбониевых ионов и др. В опухолевых клетках нарушаются процессы репликации, транскрипции и трансляции путем алкилирования, карбамоилирования ДНК и белков рибосом. Важным свойством НАМ является индукция в структурных повреждениях хромосом, которая длительно существует в растущих опухолевых клетках, а в нормальных - хромосомные аберрации быстро удаляются. Поэтому вопрос об изыскании более активных препаратов оставался открытым. Разработка рациональных форм, схем, режимов и методов применения средств находила новые пути синтеза малотоксичных веществ. Продолжалось исследование эффективных ПО средств, которые обладают высокой ПОА, действуют на биосинтез, структуру, функции нуклеиновых кислот и приводят к регрессии

опухолей [89, 210, 233, 331].

Была выявлена эффективность НАМ по отношению к 30 типам опухолей, включая спонтанные и индуцированные. Высокая чувствительность покоящихся опухолевых клеток объяснялась наличием ПОА НАМ при медленно растущих опухолях большого размера. Для разных генераций спонтанного РМЖ, который отличался интенсивным ростом клеток, была установлена обратная зависимость между исходным пролиферативным пулом и чувствительностью к НАМ. ПОА наблюдалась тогда, когда фракция размножающихся клеток не превышала 20 %. Эту зависимость вызывало возрастание активности НАМ с увеличением размера опухоли. Злокачественные клетки с приобретенной устойчивостью были чувствительными к НАМ, антифолиевым средствам и др., что ускорило разработку терапевтических схем [243, 258, 266, 273, 334]. НАМ использовались как самостоятельно, так и в комплексном лечении ЗНО [296-297, 308].

На основе производных НАМ разрабатывались эффективные комбинированные режимы ХТ с разными механизмами действия: усиленные, рациональные, малотоксичные и оптимальные для лечения острого лимфоцитарного лейкоза, болезни Ходжкина, лимфомы Беркитта и др. [158, 233]. Одной из популярных комбинаций является режим МОРР, который дает более 80 % эффекта при болезни Ходжкина. Международное рандомизированное исследование MOSAIC включало 2246 больных раком ободочной кишки II-III стадии. Результаты послеоперационной АХТ у больных в режиме FOLFOX4 превосходили данные стандартной вспомогательной терапии ФУ/ЛВ, а в показателях трехлетней безрецидивной выживаемости наблюдалось снижение (23 %) относительного риска [5, 170, 250-251, 258, 269]. Т.о., для разных опухолей разработаны аналогичные режимы: VAMP, COAP, POMP, CART, VASOP и др. [163, 176, 179, 181, 183]. В 1963 г по инициативе И.А. Рапопорта звучалась НММ, обладающая мутагенной активностью. Токсичность НММ

меняется в зависимости от способа введения. Кумулирующий эффект наблюдался при внутрибрюшинных (в/б) и внутривенных (в/в) введениях. У крыс развивалась интоксикация после 10-и кратного перорального (п/о) применения в сублетальной дозе [322]. Было установлено, что 20-25 % больных РМЖ, РЯ, РЖ и др. имели широкий диапазон чувствительности к НММ. Высокочувствительными опухолями оказались: хорионэпителиома матки, семинома яичка, опухоль Беркитта и др. [6, 269, 254].

В лечебную практику были внедрены: НММ, фторафур, цитарабин и др., которые отличались своеобразием физико-химических свойств, механизмом действия, сочетанием реакции алкилирования и карбамоилирования [344]. Появились препараты класса НАМ: кармустин, позже - араноза, ЦГНМ, АСНУ, метил-ССНУ и др. [42, 194]. С 1966 г были разработаны эффективные схемы комбинированной ХТ НММ при лечении больных лимфогранулематозом, лимфосаркомой, меланомой и др. Применение таких схем привело к полной ремиссии – у 163 больных; у 73 - (45 %), частичное, уменьшение размеров опухолевых узлов наблюдалось более, чем на 50 %, а у 42 больных - (26 %). Результаты полной ремиссии комбинированной ХТ составляли в среднем 1,5 г, а у некоторых больных от 5 до 15 лет [233, 334, 350]. При использовании НММ в комбинации с другими препаратами рассасываются: карциносаркома Уокера, РМЖ (90-95 %); лейкозы НК / Ly (85-90 %); лейкемии L-1210, P-388 - 50-100 % и др. [219, 320-321, 325, 343]. При ЗНО головного мозга, мультиформной глиобластоме у крыс УПЖ увеличивается на 40 % [152, 276].

В ОНЦ РАМН проведено исследование комбинации АСНУ (лемустин или нидран), которая показала ПОА при опухолях и метастазах в головной мозг, ЖКТ и др. У больных РЖ эффект замечен в 5,2 % случаев, у 28 больных с МРЛ эффект зарегистрирован у 57,1 % больных с регрессией метастазов в печень, головной мозг и надпочечники. 175 больных со злокачественными глиомами получали разные режимы АХТ после операций. У 23 % больных

ремиссии приобретены при комбинации интерферона и ЛТ. При нейробластоме комбинация ACNU с ЛТ дал эффект 30-48 %. ACNU уменьшает массу ДНК за счет алкилирования и ингибирования синтеза ДНК. Проходит через ГЭБ, имеет широкий спектр ПО действия, также эффективен при лейкозах L-1210, С-1498, карциноме Эрлиха и др. [1675, 180]. Были разработаны другие эффективные комбинации с разными механизмами действия [157, 230]. Японским ученым Т. Morikawa был предложен комбинированный режим МСССТ – это разные комбинации ACNU для больных с распространенным МРЛ. ПО терапия ACNU у нелеченных больных дала 90 % эффекта, а у больных ранее принимавших лечение – 20 %. Другие авторы считают, что такую комбинацию можно использовать при МРЛ с метастазами в головной мозг [139, 154, 195, 197, 199, 204-205, 209].

В ОНЦ АМН б. СССР синтезирована араноза - метильное производное НММ. Обладает ПОА, иммунодепрессивными свойствами при гемобластозах, угнетает синтез ДНК. Труднее проходит через ГЭБ, по сравнению с НММ и стрептозотоцином. Быстро исчезает из кровотока, после введения через 15 минут в плазме крови определяются следы. При проведении I фазы клинического изучения НММ была эффективна у больных злокачественной меланомой и НМРЛ, обладала токсичностью, вызывала миелосупрессию. Во II фазе изучения была эффективна у 337 больных с меланомой, НМРЛ, РЖ и др. Проведено изучение аранозы, нитруллина и биокарбазина на 70-и больных с диссеминированной меланомой. Эффект отмечен у 18,2 % больных, 15 и 11,8 % [102, 130-131, 234].

ПО антибиотик стрептозотоцин преодолевает ГЭБ, проникает в ЦНС и проявляет ПОА при солидных опухолях. Между агентами НАМ (нимустин, нидран) отсутствует перекрестная резистентность с алкилирующими агентами (хлорэтиламины, эфиры дисульфоновых кислот и др.), которые эффективны при ЗНО головного мозга, РЛ, ЖКТ и др. Цистемустин обладает высокой ПОА

при глиоме. ПОА доксорубици составляет 43–70 %, обладает мутагенным свойством, эффективен при солидных опухолях и ОЛ [153, 227].

Нитруллин состоит из активной и неактивной форм, является стимулятором Т-клеточного иммунитета, не влияет на показатели В-клеточного иммунитета. Оказывает симптоматический эффект у 51,2 % больных НМРЛ. Ингибирует синтез ДНК в опухолевых клетках на 80 %. Высокоэффективной оказалась активная форма. Через 72-96 часов после введения синтеза ДНК полностью происходило торможение. Отмечен 100 % эффект при гемобластозах, солидных опухолях у мышей и крыс. ТРО отмечено при аденокарциноме молочной железы Ca755, меланоме В-16 и раке толстого кишечника. Эффекты получены при однократном введении в дозах близких к максимально переносимой дозе (МПД) [167, 176, 179, 189, 275, 345].

Производное НАМ - мюстофоран (фотемустин) применяют при ХТ диссеминированной злокачественной меланомы в 32-х странах, включая Австралию, где распространенность заболевания высока (у 41/100 тыс. мужчин и 33/100 тыс. женщин) с рецидивирующей злокачественной глиомой [92]. Мюстофоран изучался в РОНЦ РАН группой Сервье, является высокоэффективным при лечении диссеминированной меланомы. При проведении I фазы клинических исследований при метастазах меланомы в печень, эффект наблюдался у 61,5 % больных. Во II фазе показана эффективность при повышении дозы каждые 2 недели. При метастазе меланомы в головной мозг ПО эффект получен у 22,2 % больных, при неоперабельных опухолях в сочетании с ЛТ - у 27,1 %, стабилизация процесса была у 44,4 % больных. Результаты II фазы клинических испытаний являлись ориентиром для дальнейших исследований и были лучше результатов многоцентровых проверок, проводимых в III фазе клинической апробации, хотя, последние были ближе к реальности. Оценивался риск ХТ при равной эффективности, предпочтение отдавалось менее токсичному режиму [94, 335].

Режим комбинированной ХТ - модифицированный режим Dartmouth с первой заменой кармустина на мюстофоран показал эффективность. Анализ результатов лечения диссеминированной меланомы кожи обнаружил, что действенность комбинации составляет 50 %, а в 25 % случаев достигнуты полные регрессии метастатических поражений (в т.ч. висцеральных). В I фазе клинических исследований эффективность мюстофорана наблюдается при метастазах меланомы в печень. У 61,5% больных наблюдалась высокоэффективная результативность при внепеченочном метастатическом поражении, метастазах меланомы в глаза и др. Полученные результаты подтверждают, что монотерапия замедляет прогрессирование заболевания с рецидивирующими первичными опухолями головного мозга до 6 месяцев и увеличивает выживаемость 2/3 больных. При метастазах солидных опухолей в головной мозг эффект наблюдался в 26,3 % случаях. Разработана модель предсказания гематологической токсичности на основании типа опухоли, возраста и предшествовавшего лечения. Во II фазе - у больных меланомой показано улучшение эффективности при повышении дозы каждые 2 недели. Эффект при метастазах меланомы в головной мозг получен при лечении у 22,2% больных, стабилизация процесса - у 44,4 %. Мюстофоран необходим при комплексном лечении первичных опухолей мозга, рецидивах, когда единственным методом лечения становится ХТ в сочетании с ЛТ при неоперабельных опухолях. Эффект получен у 27,1 % больных, а стабилизация процесса – у 44,1 % [79]. В исследованиях Semb с соавт. (1993 г) комбинация мюстофорана с цисплатином и тамоксифеном оказалась эффективной у 40 % больных с метастатической меланомой. Мюстофоран является высокоэффективным при лечении диссеминированной меланомы, независимо от локализации метастатических поражений, в том числе, и внутримозговой. Перспективным является сочетание с темозоломидом и многокомпонентной схемой химиоиммунотерапии, включающий мюстофоран, цисплатин, дакарбазин и интерферон- $\alpha 2b$  [9, 123, 143, 152, 186, 200, 204, 227].

Тауромустин (TCNU) - новый НАМ, является носителем информации того, что аминокислота взаимодействует с фосфолипидами мембраны. В предклинических исследованиях активен, при резистентных к НАМ опухолях и имеет высокую ПОА, менее гепатотоксичен чем лемустин [12, 27, 349]. Белустин и СииНУ (CeeNU) относятся к НАМ, первый подавляет ферментативный синтез ДНК, оба растворимы в жирах и проникают через ГЭБ [6, 354-355].

Актуален вопрос о рациональных режимах ХТ НАМ в зависимости от лечебной задачи. Такой режим может быть интенсивным, умеренно токсичным или нетоксичным. Побочные эффекты ХТ средств подразделяют по срокам возникновения: непосредственные, ближайшие и отсроченные [232].

С увеличением количества ПО средств возникают побочные реакции. Для алкилирующих агентов является характерным угнетение кроветворения и обратимые реакции со стороны ЖКТ. Некоторые препараты проявляют иммунодепрессивное действие и нейротоксичность. Препараты в подавляющем большинстве случаев вызывают токсические реакции, повреждающее или разрушающее действие не только на злокачественные клетки, но и на здоровые ткани. Для уменьшения побочного действия в ХТ используют большие дозы ПО препаратов и интенсивные режимы. Например, применение фолиевой кислоты уменьшает токсичность в 100 раз, при этом нормальные клетки сохраняются дольше, а терапевтический индекс (ТИ) увеличивается. Изучалось использование высокодозной терапии и интенсификация лечения на основе «уплотненных» режимов. Интенсивная терапия оправдана в том случае, когда целью являлось излечение герминогенной опухоли яичка, лимфомы и диссеминированного РМЖ и др. В 1990 г. Picard M. опубликовал положительные результаты аналогичных 104-х исследований [55-56, 231, 343, 352].

Разработаны и испытаны разные эффективные схемы комбинированной ХТ при лимфогранулематозе, меланоме и др., когда полная ремиссия

составляет в среднем 1,5 года, а у некоторых больных от 5 до 15 лет. Роль ХТ в сохранении функции гортани доказана в рандомизированных исследованиях с последующей ЛТ, позволившим сохранить гортань у 2/3 больных и сфинктера анального канала при карциномах. При ЗНО значение придается изучению качества жизни больных, субъективному, симптоматическому эффекту как: сжатие опухоли, облегчение симптомов, УПЖ при РЛ, неходжкинской лимфоме легкого, раке головы и шеи, и др. [256, 258, 294, 309, 317-318].

Профилактическая ХТО последнего поколения назначается после хирургического лечения для полного блокирования ЗНО и снятия болевых синдромов при метастазах. При ХТ метастаза головного мозга используется брахитерапия, аппаратное облучение «Novalis» с системой SIRT, иммунотерапия, препараты антиангиогенеза и др. При метастазах РМЖ эффективность лечения составляет 30-60 %. Максимальный эффект достигается при комплексном лечении. Лечение метастаза рака кишечника проводится на стадии метастазирования в печень. При этом используется комбинированный подход: специфическая ХТ и внутреннее облучение печени SIRT [9, 270, 272-274, 276, 279, 281, 354].

Для лечения метастазов печени применяют ХТ и удаление метастаза инновационным методом СИРТ. Используются современные методы обезболивания, радиохирургия СИРТ и ХТ. Метод выполняется катетеризацией артерий с введением радиоактивных частиц, которые концентрируются в очаге опухоли и уничтожают её. Для лечения метастаза, проникших в лёгкие, используются: ХТ, внутреннее и внешнее облучение и радиотерапия SBRT [27].

Изменилась ХТО с введением в практику комбинаций ПО средств с гормонотерапией. У больных с КРР, гемобластозом и РМЖ считается оптимальным терапевтическим режимом. Гормоны не являются цитотоксическими, но изменяют рост гормонозависимых опухолей и являются паллиативными. При метастатическом раке предстательной железы (РПЖ) гормонотерапия, не излечивая больного, позволяет контролировать процесс в



течение длительного времени. Учитывая переносимость больных к гормонотерапии, можно расценивать как терапию выбора и переходить к НАМ или др. цитостатикам тогда, когда возможности лечения исчерпаны. Например, при костных метастазах применяют бисфосфонаты. Гормонотерапия используется в первичных случаях, когда невозможна хирургия или ЛТ [339].

Прогестины вызывают ремиссию при метастатическом внутриматочном раке, если требуются большие дозы. Глюкокортикоиды оказывают лимфолитическое действие, используются у детей при ОЛ и лимфомах, вызывают ремиссию. Рецидивы после изменения интервалов теряют реактивность. Кортикостероиды ценны для контроля осложнений при гиперкальциемии, гемолизе, кровотечении и после ЛТ. Эстрогены используются для терапии при паллиативном лечении карциномы груди у мужчин. Так, например, фосфэстрол применяется при карциноме простаты [106, 142, 332].

Гормональные ингибиторы ароматазы III поколения, модуляторы биологических реакций и бисфосфонаты блокируют активность остеокластов. Колонiestимулирующие факторы предупреждают миелосупрессию. Расширился выбор препаратов для гормонотерапии у больных с рецепторположительными опухолями. Кроме селективных модуляторов для эстрогенных рецепторов: тамоксифена, торемифена и суперагонистов RH-LH в практику вошли селективные ингибиторы ароматазы III поколения. Избирательный супрессор эстрогенных рецепторов фульвестрант и др. позволяют продлевать гормонотерапию у рецепторположительных больных. Тамохифен эффективен при положительном и отрицательном эстрогенном рецепторе рака груди и является препаратом I линии для паллиативного лечения после мастэктомии [8, 25, 28-29, 41, 222, 339].

Антиандроген флутамид противодействует андрогену при раке простаты, оказывает паллиативный эффект при первичных метастатических случаях. Агонисты GnRH ингибируют секреции эстрогена и андрогена, подавляя фолликулостимулирующий гормон (ФСГ) и

оказывают паллиативный эффект при первичном раке груди и простаты. Ингибитор 5 $\alpha$ -редуктазы финастерид подавляет преобразование тестостерона в дигидротестостерон простаты, оказывает паллиативное действие при запущенном раке простаты [48, 101].

Модификаторами биологических реакций рекомбинантного GM-CSF /G-CSF можно назвать цитокины, неспецифические иммуномодуляторы и бисфосфонаты, которые не являются ХТ препаратами, применяются при метастазах. Человеческий интерферон-2 $\alpha$  и интерлейкин-2 - цитокинный модификатор биологической реакции обладает ПО свойством. Оба усиливают реакцию киллера - Т-лимфоцита и фактора некроза опухоли, могут изменить реакции опухолевых клеток [2415-242, 262, 347]. Талидомид запрещен с 1960 г из-за тератогенного эффекта, но действует против кахексии при раке, который модулирует интерлейкин-2. Использование дифференцирующих агентов и ретиноидов, при промиелоцитарном ОЛ, позволило превратить фатальный тип в прогностически благоприятный вариант заболевания. Молграмостим является колониестимулирующим фактором, который ускоряет восстановление количества нейтрофилов и вводится после последней дозы миелосуппрессанта в ХТ [274-275, 334].

Клинические исследования тиразона, везнаринона, TAS-103 и других иммуномодуляторов, цитокинов, моноклональных антител (МКА) показали, что обладают нецитостатическим механизмом действия [258, 297-298, 307]. Опухолевые маркеры, оценка прогностического и предсказательного факторов экспрессии генов в опухоли и определение генотипа больного позволяют сделать выбор оптимальной терапевтической тактики. Выделены не только прогностические факторы, определяющие прогноз РМЖ: размер опухоли, вовлечение в процесс подмышечных лимфоузлов, гистологическую степень злокачественности, так называемые, предсказательные факторы, позволяющие предсказать возможный ответ на планируемую терапию. Таким фактором является рецепторный статус опухоли: рецепторы эстрогенов и прогестерона,

возраст больных, состояние их овариальной функции и др. В качестве прогностических и предсказательных факторов являются онкогены p53 и HER-2/neu. Гиперэкспрессия последних является неблагоприятным прогностическим признаком. Для таких больных тамоксифен малоактивен, но имеется ответ при применении герцептина – гуманизованного МКА к HER-2/neu. Имеются данные об активности антрациклинов у таких больных. Ген-супрессор опухоли p53, участвующий в контроле апоптоза опухолевых клеток, инициирует апоптоз, индуцируемый НАМ, средствами платины, антимабололитами, ингибиторами топоизомеразы I, II. Таксаны, винкаалкалоиды вызывают апоптоз без участия p53, чем объясняется их активность в случае устойчивости опухоли к др. препаратам [125, 159, 182, 250, 294, 306, 313].

Выбор терапевтической тактики, например, при метастазированном РМЖ учитывает содержание рецепторов эстрадиола в опухоли, характеристику больных и наличия или отсутствия гиперэкспрессии HER-2/neu. Примером предсказания ответа на терапию является определение рецепторов эстрогена и прогестерона и оценка гиперэкспрессии HER-2/neu. Если при рецепторположительном РМЖ эффективность гормонотерапии составляет 60%, то при отрицательном рецепторном статусе ответ не превышает 10 %. Рецепторный статус опухоли позволяет прогнозировать ответ на гормонотерапию. При получении положительного ответа на гормонотерапию продолжает работать, т.е. до признаков прогрессирования. У таких больных можно рассчитывать на эффект гормонотерапии II линии, которая включает избирательные ингибиторы ароматазы, в дальнейшем на возможность применения прогестинов в качестве III линии. При рецепторотрицательной опухоли, прогрессировании процесса и висцеральных метастазах лечение начинают с цитостатиков: I линия препаратов, антрациклинсодержащие комбинации, если больная не получала АХТ, II линия – таксаны или

комбинации, содержащие винорельбин, митоксантрон, производные платины и др., либо капецитабин, УФТ и гемцитабин. В зависимости от типа и стадии развития РЛ на ранних стадиях применяется ЛТ и ХТ: гамситабин, тексол, тексотер, невальбин. Подбор лекарств проводится на основе тестов молекулярной диагностики по системам INFINITI и REAL TIME PCR. Также разработано лечение биотерапией и антителами [213, 239, 253, 258, 277, 305-306].

Использование трастузумаба в АХТ HER-2, гуманизированного МКА к рецептору HER-2/neu (c-erbB2) у рецепторпозитивных больных с начальной стадией РМЖ, вызывает гиперэкспрессию в клетках у 20–30 % больных. Анти HER-2/neu обладает ПОА у больных с гиперэкспрессией HER-2/neu, резистентных к стандартному лечению и эффективность составляет 25 %. Использование комбинации с паклитакселом и доксорубицином у больных с HER-2/neu+ опухолями позволяет повысить ПОА. Эффективность герцептина при HER-2/neu рецепторположительных опухолях составляет 26 %. После безуспешной ХТ местно-распространенного и диссеминированного НМРЛ в 2004 году разрешен для клинического применения в монотерапии Эрлотиниб. При использовании иматиниба гематологический эффект достигается у 90-95% больных в хронической стадии [150, 269, 271, 291, 334, 349].

Целесообразность использования таргетных препаратов определяется наличием специфической мишени, т.е. молекулярно-генетических характеристик опухоли. Таргетные средства являются апробированным составным элементом ХТ. Молекулярно-нацеленными препаратами являются МКА к рецепторам эпидермального фактора роста. Цетуксимаб, малые молекулы-блокаторы тирозинкиназ EGFR – гефитиниб и др., которые изменили терапию миелолейкоза, гастроинтестинальных стромальных опухолей. МКА к рецепторам сосудистого эндотелиального фактора роста [288, 293, 333]. Для лечения с ГЦР применяется препарат - нексавар (сорафениб), который позволяет проводить таргетную терапию, что повышает эффективность лечения

печени и УПЖ пациента. Бевацизумаб - к рецептору VEGF в комбинации с иринотеканом и 5-фторурацилом рекомендован для больных с диссеминированным процессом и обладает ПОА при КРР, НМРЛ и др. [336]. Ритуксимаб получил применение в онкогематологии – МКА к антигену CD20 В-лимфоцитов. Включение таргетных препаратов в составе комбинаций повышает эффективность ХТ при метастатическом КРР [240-241, 243, 280]. Бисфосфонаты - аредиа, бондронат и бонефос используются при лечении костных метастазов и РМЖ. Аредиа ингибирует разрушение костной ткани, увеличивает выживаемость и улучшает качество жизни больных [143, 161, 278]. На протяжении всей истории человечества ЗНО находились в центре внимания в силу своей опасности и неясности причин их появления. Хотя многие годы известно о существовании собственного ПО иммунитета организма. Исследования белков-цитокинов, которые проводятся в рамках самостоятельной научной дисциплины, онкоиммунологии, привели к созданию новых гибридных препаратов, способных существенно увеличить шансы выздоровления больных с ЗНО [67, 70, 103, 315].

Метод биотерапии - новая перспективная область медицины, развитие которой тесно связано с совершенствованием тестирования иммунологических реакций человека, получением рекомбинантных новых препаратов: (интерфероны, интерлейкины и т.д.), вакцины, активированные лимфоциты, иммуномодулирующие препараты: Т-активин, леакадин, реаферон и т.д. [13, 68, 233, 275]. Получены сведения о биологических эффектах интерферонов: интерлейкин-2, фактор некроза опухоли (ФНО) и др. Важной задачей являлась разработка рациональных режимов для применения цитокинов. В клинической практике популярны: интерферон- $\alpha$  ( $\alpha$ -ИФН), интерферон- $\gamma$  ( $\gamma$ -ИФН), интерлейкин-2 и др. ФНО- $\alpha$  действует через клеточные рецепторы, соединяется с рецепторами опухолевых клеток и запускает программируемую клеточную гибель. В связи с высокой токсичностью применяют в региональной перфузии, когда пораженный орган выключают из общего кровотока [127, 160]. В РФ

разработан эффективный метод лечения рака с помощью синтезированных белков-цитокинов: интерферон- $\alpha$  и интерлейкин-2, которые воздействуют на ПО иммунитет и применяются при раке почек, меланоме кожи и др. В 1990 г на основе  $\gamma$ -ИФН в РОНЦ им. Н.Н.Блохина и НИИОим. Н.Н.Петрова синтезирован препарат Ингарон и с 2005 г разрешен для применения. Ингарон активирует рецепторы злокачественных клеток с которыми соединяется Рефнот.

Противопоказаниями к применению Ингарона являются аутоиммунные заболевания и беременность. С 2009 г Рефнот разрешен для применения, который получен путем слияния генов ФНО и Тимозина- $\alpha$ -1 (ФНО-Т), имеет низкую токсичность и сохраняет ПОА ФНО. При снижении токсичности воздействует, как на опухоль, так и на метастазы. Усиливает действие ХТ, модифицирует ПО действие цитостатиков к лекарственной устойчивости опухолевых клеток. Также усиливают иммунный статус, соединяясь с рецепторами злокачественных клеток, запуская механизмы, приводящие к уничтожению клетки и её генетического субстрата. Метод цитокинотерапии является эффективным профилактическим средством и повышает переносимость ХТ, её можно использовать в качестве вспомогательного лечения, для укрепления иммунитета и снижения риска рецидивов [106, 128, 262, 265, 288].

Одним из современных направлений является изучение роли цитокинов в лечении ЗНО, которые способствуют преодолению резистентности опухолевых клеток к ХТ, избирательно запускают механизмы апоптоза и уничтожают злокачественные клетки [127-128, 215, 308].

Под влиянием препаратов апоптогенный эффект на клеточном уровне не только увеличивается, но и снижается в 116 раз при трехкомпонентной комбинации. Высокая чувствительность к апоптозиндуцирующему действию одного из компонентов не оказывает ПО действия, по сравнению с препаратом в эквитоксичной дозе, и смещает клеточный механизм на цитотоксическое и цитостатическое [305].

Это послужило основанием для использования цитокинотерапии, как самостоятельного метода в монорежиме, так и в комплексном лечении с ХТ, ЛТ и традиционной [314, 359].

На современном этапе проводится комплексное лечение детских и подростковых заболеваний крови и рака: нейробластомы, рабдомиосаркомы, лейкозов, лейкемии и др. путем пересадки стволовых клеток и пуповинной крови. Эффективность лечения составляет 85 % [52, 119].

В последние годы в Республике Казахстан (РК) имеет важное значение ХТ РМЖ, которая колеблется от 40 до 50 %. Системная ХТ и гормонотерапия РМЖ вызывает объективно регистрируемую регрессию опухоли и метастазов, что позволяет продлить жизнь больным. Из ХТ средств применяют циклофосфан, метотрексат, 5-фторурацил и др. и ЛТ. Наиболее оптимальна радикальная мастэктомия с удалением лимфатических узлов [5, 191]. Также используется инновационный метод лечения рака печени - химиоэмболизация, которая требует минимального хирургического вмешательства. Проводится внедрение нового альтернативного метода лечения РПЖ – брахитерапии, которая позволяет лечить ЗНО без радикального вмешательства [159]. В ОЦ гг. Алматы и Астаны проводят лечение лейкоза у детей и сотрудничают с клиникой Шарите (Германия) и ОЦ МЗ РФ [342]. Используются комбинированные методы лечения: ЛТ и хирургические операции по трансплантации костного мозга [151].

В РК разрабатывается новая методология на основе существующих ХТ препаратов с целью восстановления нормальных функций организма, иммунной системы перед ХТ и стандартного процесса ХТ. Применяется Т-клеточная иммунотерапия, которая предназначена для лечения меланомы. Проводились клинические испытания новых препаратов платины и их комбинаций, которые применяются для лечения РЯ. Действия препаратов направлены на то, чтобы РЯ вновь стал чувствительным к цисплатину и карбоплатину, где МКА способны специфически распознавать и оказывать

действие на клетки РЯ. Некоторые МКА направляются против белковых структур на поверхности клеток РЯ. Это связано с тем, что когда препараты платины становятся неактивными, тогда РЯ становится устойчивым к влияниям этих лекарств. Другой вид разрабатываемых МКА способствуют лечению асцитной опухоли при введении в брюшную полость [163, 300].

Другим новым методом лечения рака является таргетная терапия для нескольких видов ЗНО. При применении данного лечения повреждение здоровых клеток становится минимальным. Каждый вид таргетной терапии направлен для определения различия между раковыми и нормальными клетками организма. Например, препарат Бевацизумаб (Авастин) используется для лечения нескольких видов ЗНО. А другие препараты Pazopanib, Olaparib действуют, как и Бевацизумаб, на рост опухоли и новые кровеносные сосуды, питающие раковые клетки. В последнее время разрабатывается новый подход к вакцинации, который заключается в развитии вакцин для программирования иммунной системы, чтобы лучше распознавать раковые клетки.

ПО препарат "Арглабин" применяется во всех онкологических клиниках Казахстана, в США (New Oncology Labs), Германии (Leonardis Klinik), России (РОНЦ им. Н. Блохина) и НЦО Грузии и Кыргызстана для лечения рака печени, РЯ, РШМ, РЛ и РМЖ. Положительный эффект от применения лекарства выявлен в 76 % случаев. Также удалось установить, что сочетание препарата и ЛТ позволяют уменьшить случаи послеоперационных осложнений в 4,5 раза. Кроме того, у лекарства было обнаружено радиосенсибилизирующее действие, что помогает уменьшению опухоли и исчезновению признаков раковых заболеваний. Лимфомы лечат настойкой аконита джунгарского, который применяется внутрь и наружно. Для снижения токсичности аконита используются настои трав: душица, шиповник, карагана и др., также назначаются витамины: А, В, Е, С и др. [10, 108-109, 148, 163, 197, 205, 218, 342].



В последние годы в Кыргызстане проводится стандартизация методов лечения онкологических заболеваний. Например, в республике в большинстве случаев РШМ предотвратим, когда соответствующее лечебное воздействие начинается на ранних стадиях заболевания. По данным ВОЗ, ежегодно в мире выявляют примерно 500 тыс. заболевших РШМ, из которых каждый второй случай заканчивается смертью пациентки в течение первого года после установления диагноза. Несмотря на разработанный алгоритм диагностики и лечения у онкологических больных РШМ, частота патологии остается достаточно высокой [22, 226, 283, 312]. Анализируя результаты лечения, можно отметить, что ХТ лечение РШМ проводится с использованием комплексного метода. Показатели выживаемости при данном методе лечения сопоставимы с результатами комбинированной терапии. Также рассмотрены вопросы обоснованности комплексного лечения РШМ на ранних стадиях заболевания. Применяются различные методы лечения РШМ на ранних стадиях при неинвазивных и малоинвазивных формах. Статистические данные по заболеваемости женского населения г. Бишкека показали, что комбинированное лечение РШМ проводилось у 38,8 % больных [21, 145, 155, 165, 225].

В НЦО МЗ Кыргызской Республики (КР) терапия больных РПЖ с метастазами в кости проводится бисфосфонатами. Применение бондроната является высокоэффективным лечением, снижается риск развития костных осложнений и рассматривается в качестве стандартной сопроводительной терапии. Методами лечения РПЖ являются: ХТ, комбинированные и комплексные способы, которые включают хирургические (лимфаденэктомия, криотерапия). В КР РПЖ диагностируется в 10 раз чаще, чем 15 лет тому назад [311]. Пациентам 3-4 стадий применяется ГА-40. После первого курса лечения у 91 % больных наблюдается стабилизация процесса. Для лечения МКРЛ применяют ХТ, ЛТ и биотерапию [196].

В КР распространенность лейкозов по регионам республики является неравномерной: более высокие показатели заболеваемости острым лимфобластическим лейкозом (ОЛЛ) зарегистрированы в Жалалабатской и

Ошской областях, острым миелолейкозом (ОМЛ) в г. Бишкек и Ошской области, острым нелимфобластическим (ОНЛ) в г. Бишкек и Чуйской области, хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ) в г. Бишкек и Чуйской области и ХМЛТ в г. Бишкек и Нарынской области. При всех формах лейкозов, за исключением ОЛЛ, показатели заболеваемости у городского населения оказались выше, чем у проживающих в сельской местности. При острых лейкозах показатель 5-летней выживаемости составляет 36%, а смертность 0,89 на 100 тыс. населения. При хронических лейкозах 5-летняя выживаемость равна 57%, смертность на 100 тыс. населения составляет 0,59 [2, 149, 224].

Таким образом, современное состояние проблемы ХТО в мире решаются общими усилиями всех стран. Методами лечения рака остаются: ХТ, хирургическое лечение, ЛТ. Разработаны эффективные комбинации ХТ, рациональные режимы, синергизм лекарств в зависимости от лечебной задачи и целей применения. Важное значение имеют современные методы диагностики, профилактики и лечения общим воздействием на опухоль. В профилактической ХТ последнего поколения назначаются НАМ для полного блокирования ЗНО и снятия болевых синдромов при метастазах.

## **1.2. Перспективы поиска и разработка противоопухолевых средств**

Первые исследования ХТ средств начались в 1945 г, когда появились алкилирующие средства и были синтезированы из разных классов соединений. Эффективные препараты были внедрены в практику, и после этого началось быстрое продвижение в раскрытии патологии опухолей [104, 126, 134, 181].

В конце 1950 г проводились исследования ПО соединений на основе свободнорадикальных процессов. Применение вычислительной техники позволили установить закономерности развития опухолей и их регрессии в результате лечения. С целью выявления эффективных средств были предложены простые методы, критерии количественного скрининга, одним из

которых являлся коэффициент ТРО, показывающий во сколько раз медленнее, по сравнению с контролем растет опухоль. Исследования показали, что алкилирующие соединения по активности, величине ТРО, характеру действия на живые организмы превосходят значения, известных к этому времени ПО препаратов и использовались в качестве ХТ средств [116, 195].

Основное направление в изыскании ПО средств базировалось на фундаментальных исследованиях Р. Е. Кавецкого и его учеников, установивших взаимоотношения между растущей опухолью и возникающими изменениями в организме [83, 147, 161, 167, 188, 261]. Большое значение имело изучение фармакокинетики препаратов [92, 261, 285, 317-319]. ПО средства относятся к классическим, работающим на макромолекулярном уровне, не обладают избирательным действием на опухолевые клетки, имеют специфический и неспецифический клеточный цикл [130-131, 356]. В первом цикле уничтожаются активно делящиеся клетки. Эффективность средств зависит от фазы клеточного цикла кинетически размножающихся клеток. Токсичность выражается в фазе S. Во втором цикле уничтожаются покоящиеся и делящиеся клетки. Принцип опухолевого роста имеет большое значение для ХТ и регулируется посредством экспоненциального замедления. Развитие опухоли выражается увеличением массы в соответствии с функцией Гомпертциана. Злокачественный фенотип клетки является результатом разных механизмов [260, 289].

Важной причиной циклической системы клеток является то, что не все клетки опухоли делятся одновременно, часть из них находится в неактивном состоянии, выйдя из которого становятся максимально чувствительными к ХТ. Препараты с небольшой активностью снижают лечебный результат последующей ХТ. Это объясняется свойством опухолевых клеток развивать устойчивость к ПО препаратам в короткие сроки [6, 89, 105, 126, 134].

По количеству чувствительности клетки опухоли могут быть нечувствительными к используемому ПО агенту. Лекарственная устойчивость

клеток опухолей бывает *de novo* и приобретенной. Первая - отражает тенденцию клеток солидных карцином не реагировать на ХТ средства. Во втором случае она исходно отвечает на ХТ в процессе лечения и развивается устойчивость к появлению резистентных опухолевых клеток-клонов в популяциях клеток. К отдельным ПО средствам существует постоянство опухолевых клеток, вызванное дефектом их при транспортировке. Снижается активность ферментов, инактивирующих препарат, повышается инертность ферментов-мишеней в молекулах-мишенях. Множественная лекарственная устойчивость клеток развивается экспрессией мембранного гликопротеина Р, отвечающего за выход средств из клеток и др. [17-18, 35, 41, 46, 82, 132, 222].

Субпопуляции клеток при раке отличаются скоростью пролиферации и восприимчивостью к средствам, которые кинетически убивают определенные фракции. Важное значение имеет изучение влияния ПО препарата на кинетику клеточной пролиферации опухолевых и нормальных тканей, и установление молекулярных механизмов действия. Используются кинетические методы, которые дают количественные характеристики ПОА, оцениваются эффекты торможения, регрессий, ремиссий, рецидивирования опухолей. При лечении препаратами должно быть ТРО опухолевых клеток. Время выживания таких клеток связано с ХТ. Неконтролируемый рост клеток приводит к метастазированию, которое является вторичным по отношению к генетическим механизмам и не несёт ответственность за нормальную клеточную адгезию и миграцию. Бластные клетки вызывают экспрессию рецепторов мембраны, отрываясь способны к ферментативному разрушению [3, 7, 28, 225, 298, 304, 313, 351, 353-354, 357, 359].

В 1952 г. в ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Институте экспериментальной и клинической онкологии АМН б. СССР были созданы лаборатории опытной ХТ, где проводились первые исследования ПО средств на основе которых были разработаны препараты [250, 264, 266, 273, 284, 328,

354]. С 1960 г началось интенсивное развитие в области ХТО. Организован скрининг потенциально активных веществ, касающихся направленного поиска действующих веществ. Появились исследования по количественному описанию закономерностей опухолевого роста, разработке объективной оценки критериев и эффективности средств. Стало очевидно возможность улучшить результаты лечения опухолей полиХТ. Клиническая онкология располагала препаратами, излечивающими, примерно, 50% больных с опухолями: метастазирующая хорионэпителиома, лимфома Беркитта, некоторые формы ОЛ и др. [6, 11, 23, 67, 153, 181, 163, 173, 192, 195, 215, 284, 337].

В 1968 г в НИИ экспериментальной и клинической онкологии АМН б. СССР создана лаборатория лекарственных форм, которая обеспечивала ПО препаратами, в т.ч. изготавливаемыми *ex tempore*, а в 1970 г получено разрешение на медицинское применение. Разработана методология, общие подходы стандартизации по контролю качества средств, относящихся к НАМ, хлорэтиламинам, комплексным соединениям металлов и др. [11, 107, 157, 161, 163, 167, 178].

В 1970-е годы ХТ стала самостоятельным и перспективным направлением в онкологии. Во многих странах проводились методы синтеза, изучение физико-химических и ПО свойств соединений разных групп, среди которых удельный вес имели синтетические средства [191, 244, 249-251, 253-254, 309]. С 1970-85 гг. в б. СССР, США, Японии и Франции были синтезированы и изучены большое количество НАМ, часть которых вошли в арсенал ПО ХТ [37, 42, 44, 133, 188, 194].

По данным ВОЗ в развитых странах среди причин смертности злокачественные заболевания занимали ведущее место. Ежегодно умирало 7-8 млн. человек. Так, например, в РФ в 1970 г. число больных с первым установленным диагнозом новообразований составило 430 тыс. человек; в 1980г. — 544 тыс., в 1989 г. — 676,5 тыс., а в 1991 г. было зарегистрировано —

8 млн. С годами число смертности увеличивалось и к 1998 г. было диагностировано 20 млн. свежих случаев больных [20, 22, 114-115, 149, 168].

В 1971 г. основатель ХТ рака акад. РАМН Л. Ф. Ларионовым и проф. А.К. Белоусовой создана лаборатория биохимической фармакологии, которая изучала специфическую ПОА. Проводился отбор соединений, ориентированных на определенные клеточные мишени, ферментами которых являлись протеинкиназы А, С,  $\alpha$ -,  $\beta$ -адренорецепторы и др. Изучались биохимические, молекулярные основы лекарственной чувствительности, устойчивости опухолей и принципы рационального комбинирования. Использовались методы компьютерного моделирования биохимических механизмов и их комбинаций; оценки ПОА средств на культурах нормальных и опухолевых клеток; исследования периферического кроветворения; флуоресцентных зондов, радиолигандные способы; перевивки опухолевых клеток животным и др. [11, 47, 89, 117, 211].

С 1972–86 гг. проф. З. П. Софьина внесла большой вклад в становление экспериментальной ХТ. Для клинического испытания было передано более 10 ПО препаратов. Проводился поиск новых синтетических и природных соединений. Изучалась специфическая ПОА высокоэффективных средств и воспроизведенных генерических препаратов. Развивалась компьютерное прогнозирование новых препаратов с ПОА и доклиническое изучение зарубежных препаратов. Разрабатывались новые подходы в лечении опухолей головного мозга, предстательной железы в сочетании с ЛТ. Углубленное изучение *in vivo* проводилось на бестимусных мышах с использованием перевиваемых, индуцированных опухолей животных и гетеротрансплантатов человека [9, 12, 93, 113-114, 116, 134-138].

В 1973 г в Секторе кинетики химических и биологических процессов Института химической физики (ИХФ) АН б. СССР продолжались экспериментальные и клинические исследования ХТО антиоксидантами, которые показали высокую ПОА и выявлены группы малотоксичных

ингибиторов [146-147, 149, 161, 163, 167]. В 1974 г. организован НИИ экспериментальной и клинической онкологии АМН б. СССР. Открылись лаборатории по исследованию ПО средств и разработке лекарственных форм, которыми руководили к.ф.н. П. В. Лопатин и Н. А. Оборотова. Суть методологии заключалась в системном, комплексном подходе к созданию готовых лекарств, отобранных в эксперименте. В лаборатории разработки лекарственных средств, и связанных с ней подразделениях НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, проводилось изучение синтеза, выделения биологически активных веществ (БАВ), химико-фармацевтического анализа. Основной задачей исследовательской группы был первичный скрининг химических и природных веществ на культурах опухолевых клеток человека *in vitro*, с целью определения потенциальной ПОА лекарственной устойчивости. Осуществлялось углубленное изучение ПОА и токсичности разработанных форм, химико-фармацевтической стандартизации и масштабировалась технология производства [175, 180, 183, 185, 190, 192, 212]. С 1974 по 1987 гг. создавались лаборатории фармакологии и токсикологии по изучению групп лекарств, возглавляемые проф. М. Ф. Меркуловым и д.б.н. Л. М. Михайловой. Были разработаны «Методические указания по изучению общетоксического действия противоопухолевых веществ». Более 100 препаратам проведено доклиническое изучение токсичности [158, 221, 234, 238, 256, 259]. В 1980 г. акад. Н. М. Эммануэль предложил новую классификацию ПО препаратов, основанную на химической реакционной способности. К I группе относились средства, принимающие участие в метаболических процессах, биохимически функционально активных опухолевых клеток. Ко II группе - агенты, осуществляющие взаимодействие с молекулами клеток - химически [175, 178, 270, 284, 295, 299, 354].

Прогресс в ХТ опухолевых заболеваний определялась разработкой новых ПО препаратов. С 1990 г. исследования по созданию препаратов

интенсифицировались и были связаны с развитием молекулярной биологии, открывшей перспективу создания принципиально новых ПО средств [319]. С целью внедрения в онкологическую практику изучаются на ПОА синтетические и природные средства. Десятки из них передаются для клинических испытаний, и только часть находит практическое применение. Например, не все локализации и формы ЗНО одинаково чувствительны к ПО препаратам. Хорионэпителиома матки излечивается методом ХТ, а РШМ и плоскоклеточный РЛ устойчивы к ПО средствам [11, 156, 167, 219, 286, 326, 328-329, 331, 341, 354, 358].

На стыке XX-XXI вв. создавались лаборатории экспериментальной ХТ синтетических ПО препаратов, комбинированной ХТО и по изучению гормональных средств. Разрабатывались «Методические рекомендации по доклиническому изучению специфической активности фармакологических веществ», проводились исследования по контролю качества средств, находящихся на I, II и III фазах клинических испытаний и на пирогенность аптечных инфузионных растворов [1, 13, 15-16, 30-33, 35, 41, 209, 222].

В компьютерной базе данных ГУ РОНЦ РАМН содержались сведения о более 11500 потенциальных ПО средств, изученных с 1953 г. в отделе экспериментальной ХТ. Это дало возможность комбинирования критериев поиска ПО средств по номенклатурным, физико-химическим характеристикам и биологической активности. Информационные технологии Банковых данных соответствовали уровню мировых исследований. Использование системы PASS НИИ биомолекулярной химии РАМН позволяло прогнозировать комплекс эффектов ПО действия на определенную опухоль [46, 49-51, 53, 87, 104, 287].

На современном этапе в РФ также проводятся фармакоэкономические и -эпидемиологические исследования, которые выявляют эффективные методы ХТО и используются современные подходы к лечебно-профилактическим мероприятиям. Основной задачей является комплексное изучение организации лекарственного обеспечения [46, 116, 163]. В РК намечены планы по развитию



радиационной онкологии и ядерной медицины. Поставлена задача по улучшению диагностики и лечения ЗНО, пути создания новых препаратов и их апробации, современные схемы лечения: РМЖ, РЛ, РЖ, толстой кишки, саркомы мягких тканей и костей и т.д. Особую актуальность приобретают научные исследования, направленные на поиск новых и совершенствование имеющихся методов лечения. Разрабатываются новые методики лечения рака головного мозга, которые направлены на предупреждение осложняющих факторов опухолевого процесса [58, 63, 65, 68, 90, 98, 139-140, 154, 157, 197, 199, 212, 335].

Т. о., в области ХТО проводятся исследования с целью разработки более новых эффективных и безопасных лекарственных препаратов. В России были созданы лаборатории опытной ХТ, где проводились первые исследования средств на основе которых были разработаны ХТ препараты. Основное направление базировалось на взаимоотношениях между растущей опухолью и возникающими изменениями в организме. В процессе исследований организован скрининг потенциально активных препаратов, касающихся направленного поиска действующих веществ. Созданы лаборатории лекарственных форм и изучены большое количество производных НАМ. Использовались методы компьютерного моделирования биохимических механизмов и их комбинаций. Появились новые подходы в лечении опухолей головного мозга, РМЖ, РПЖ с ЛТ и др. Проводились первичные скрининговые исследования химических и природных веществ, и доклиническое изучение токсичности гормональных средств. При проведении скрининга использовалась система PASS НИИ биомолекулярной химии РАМН, которая позволяла прогнозировать комплекс эффектов ПО действия препаратов на определенную опухоль.

*Заключение.* На основании вышеизложенных данных можно констатировать, что современное состояние проблемы ХТО в мире решаются общими усилиями многих стран. Важное значение имеют методы лечения

опухолей: лекарственная ХТ, комбинированные и комплексные, которые являются эффективными при трудноизлечимых опухолях, таких как солидные опухоли, заболевания кроветворных и лимфоидных тканей. Разработаны эффективные комбинации с разными механизмами действия: усиленные, малотоксичные и оптимальные. Актуальны рациональные режимы ХТ, с учетом синергизма лекарств в зависимости от лечебной задачи и целей применения. Внедрены в практику производные НАМ - препараты I ряда, которые обладают радиомиметическими и карбамоилирующими свойствами, таксаны, ингибиторы топоизомеразы и др. разным механизмом действия, широтой спектра и высокой ПОА. На современном этапе ХТО оформилась как перспективный метод общего воздействия на опухоль. В профилактической ХТ последнего поколения назначаются комбинации НАМ для полного блокирования ЗНО и снятия болевых синдромов при метастазах. Проводятся исследования по созданию более совершенных методов ХТ почти при всех видах ЗНО. Положительные результаты получены по разработке эффективных способов ХТ в сочетании с другими видами лечения, нацеленными на излечение или продление жизни больного. Т.о., резюмирование по обоснованию поиска из числа производных НАМ показало, что гликозил-НММ-1 может обладать ПО свойствами. В связи с этим нами проведена разработка более нового эффективного и безопасного ПО препарата, который основывается на результатах физико-химических, фармако-токсикологических характеристик, морфологии внутренних органов, специфической ПОА и способа лечения с гликозил-НММ-1 опухоленосителей с АОЭ.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В данной главе представлены: *объекты исследования*: субстанция гликозил-НММ-1, препарат сравнения - циклофосамид; 2368 животных: 1340 белые беспородные мыши и линии мышей BALBC массой 18-22 г, 888 крысы Вистар (160-200 г), 96 морские свинки (360-420 г) и 44 кролики породы Шиншилла (3-3,5 кг) обоих полов.

*Физико-химические методы исследования* субстанции для парентерального введения проведены в соответствии Государственной Фармакопеей (ГФ) XI (М., 1987, 1990) и XIII изд. (М., 2015) [77, 89, 161, 168, 190, 244, 293].

*Фармакологические методы исследования* проводились в соответствии с «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств», (М., 2012.) и «Временными методическими рекомендациями Департамента лекарственного обеспечения и медицинской техники. Требованиями к доклиническому изучению общетоксического действия новых фармакологических веществ», (Б., 2000) [77, 89, 161, 168, 190, 244, 293].

### **2.1. Методы изучения физико-химических свойств субстанции гликозил-НММ-1**

Цвет исследуемого гликозил-НММ-1 определялся руководствуясь оценкой характеристик соответствующими положениями Государственной фармакопеи (ГФ) XI и XIII изд.; подлинность 0,1% раствора устанавливалось спектрофотометрическим методом в ультрафиолетовой (УФ) и видимой областях, и выверялась в воде методом УФ-спектра; температура плавления устанавливалась по ГФ XI изд. (метод 1 и 1 а); удельное вращение ( $\alpha$ ) определялось расчетным путем, как угол поворота плоскости поляризации

монохроматического света на пути длиной 1 дм в среде, содержащей оптически активное вещество при концентрации вещества равной 0,01%; удельный показатель поглощения 0,1 % раствора в воде при длине волны 240 нм в кювете с толщиной слоя 0,0102 мм вычислялся спектрофотометрическим методом; цветность раствора определялась путем сравнения с эталонными растворами; механические включения в растворе - соответственно «Инструкции по контролю на механические включения сухих лекарственных средств для инъекций, применяемых в виде растворов» (И 68-175-99); калибровка и проверка рН-метра проводилась колориметрическим методом по стандартным буферным растворам гидрофталата калия и NaOH (0,2 моль/л); посторонние примеси определялись методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) с использованием пластинки «Силуфол» размером 3x15 см закрепленным силикагелем марки ЛСЛ 5/40; для испытания на хлориды и сульфаты 0,5 г субстанция растворялась в 25 мл воды; содержание воды определялось методом К. Фишера; сульфатная зола находилась из 0,5 г субстанции; испытание на тяжелые металлы должно выдерживать не более 0,0001 %; отклонение массы содержимого одного флакона от средней массы и стерильность раствора гликозил-НММ-1 устанавливалось в соответствии с ГФ XI и XIII изд.; количественное содержание субстанции в одном флаконе и её компонентов: *ксилоза безводная, метилмочевина, n-аминобензойная кислота, этанол, кислота хлористоводородная, натрия нитрит, вода дистиллированная* определялось методом титрования [1, 31-33, 36, 77, 187].

Физико-химические свойства и метрологические характеристики количественного определения гликозил-НММ-1 проводились согласно ГФ XI изд. [263, 301]. При изучении физико-химических свойств гликозил-НММ-1 использовались методы определения для сухих лекарственных средств, предназначенных для парентерального введения по ГФ XI изд.

Таким образом, приводятся материалы и методы изучения физико-химических свойств гликозил-НММ-1: цвет; температура плавления; удельное

вращение ( $\alpha$ ); удельный показатель поглощения 0,1 % раствора в воде; цветность раствора; механические включения (И 68-175-99); калибровка и проверка рН-метра; посторонние примеси; испытания на хлориды, сульфаты; тяжелые металлы; сульфатная зола; отклонение массы содержимого одного флакона от средней массы и стерильность раствора, количественное содержание и её компонентов в одном флаконе определялось в соответствии с ГФ XI изд.

## **2.2. Методики фармакологического эксперимента**

Для токсикологической характеристики субстанции гликозил-НММ-1 использовались «Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств», (М., 2012.) и «Временные методические рекомендации Департамента лекарственного обеспечения и медицинской техники (ДЛО и МТ) МЗ КР. Требования к доклиническому изучению общетоксического действия новых фармакологических веществ» ФК ДЛО и МТ МЗ КР (Б., 2000) [15, 39, 72, 75-76, 169].

Исследования проводились согласно методикам фармакологических экспериментов: по изучению острой и хронической токсичности субстанции гликозил-НММ-1. Для выявления токсического резорбтивного действия и в дополнение к изучению токсичности проводилось анатомо-морфологическое изучение органов и тканей экспериментальных животных в соответствии с Методическими рекомендациями ФК МЗ РФ, ДЛО и МТ МЗ КР в сравнении с циклофосфамидом.

Фармакологические эксперименты по изучению субстанции проводились на 2368 животных: 1340 белых беспородных мышах и линии BALBC массой 20-22 г, 888 крысах Вистар (160-180 г), 96 морских свинок (360-420 г) и 44 кроликах (3-3,5 кг) обоего пола. Животные содержались в условиях вивария.

Острая токсичность изучена на 60 белых беспородных мышах-самцах и 60 крысах при однократном внутрибрюшинном (в/б) и внутривенном (в/в)

введениях субстанции гликозил-НММ-1 в дозах (1800; 1900; 2100; 2200 и 2400 мг/кг) и (600, 700, 800, 900 и 1000 мг/кг) в сравнении с циклофосфамидом (80; 90, 110; 120; 140 мг/кг) и (70; 90; 110; 130; 150 мг/кг) соответственно, определялась летальная доза ЛД<sub>50</sub>; ЛД<sub>16</sub> и ЛД<sub>84</sub> по методу Литчфильда и Уилкоксона.

Для выявления токсического резорбтивного действия при острой токсичности субстанции гликозил-НММ-1 проводилось анатомо-морфологическое изучение органов и тканей экспериментальных животных. При морфологическом исследовании из каждой группы забивалось по 3 животных. Оценка результатов опыта проводилась через 24 часа. Погибшие животные вскрывались согласно общепринятым методам, у выживших животных проводился ежедневный контроль массы тела. Наблюдение проводилось в течение 7-и суток, после которого животные забивались под эфирным наркозом. У всех животных для гистологического исследования забирались внутренние органы (кожа с подлежащей мышечной тканью, почки, надпочечники, тимус, селезенку, лимфатические узлы, тонкий кишечник, печень, сердце и легкие и др.). Образцы ткани фиксировались в 10 % нейтральном формалине, обрабатывались общепринятыми способами, окрашивались гематоксилином и эозином. Микроскопию проводили на микроскопе МБИ-15-2.

Токсичность субстанции гликозил-НММ-1 в условиях хронического опыта изучалась на 160 белых беспородных мышах и 240 крысах-самцах при ежедневном в/б введении в сравнении с циклофосфамидом [61]. Животные были разделены на 8 групп (мыши и крысы): I-II - контрольные (1 и 2) и III-VIII – опытные. III-VIII группам вводились гликозил-НММ-1 в/б в дозах: 1/5, 1/10 и 1/20 от ЛД<sub>50</sub> (40; 20 и 10 мг/кг) и (65; 33 и 16 мг/кг) и циклофосфамид (2; 1 и 0,5 мг/кг) и (3; 2 и 1 мг/кг) по 0,4 мл 1 раз в сутки в течение 1, 2 и 3-х месяцев. Животным контрольной группы вводился изотонический раствор хлорида натрия (0,9 %).

В ходе опыта учитывались следующие показатели: изменение состояния животных, ректальная температура, масса тела, биоэлектрическая активность сердечной мышцы, дыхательная система, анализ периферической крови (количество эритроцитов, лейкоцитов, цветной показатель, лейкоцитарная формула крови, СОЭ); биохимические показатели, характеризующие состояние белкового, углеводного и липидного обмена веществ; клеточные элементы костного мозга, изменения со стороны ЦНС: поведенческие реакции, нервно-мышечная возбудимость и др. [113, 119, 203, 217].

Определялась масса тела животных по общеизвестной методике [172]. Способность оказывать пирогенное действие на организм животных изучалось методом измерения базальной температуры с помощью медицинского электротермометра марки ТПЭМ-1. до опыта и через 1; 2 и 3 месяца измерением базальной температуры. Препарат считался, не вызывающим пирогенного действия тогда, если ни у одной из трех крыс в группе повышение температуры не превышало  $0,6^{\circ}\text{C}$ , а по сумме трех измерений не должен превышать не более чем на  $1,4^{\circ}\text{C}$ .

Влияние соединения на сердечно-сосудистую систему (ССС) и дыхательную систему изучалось методом записи биоэлектрической активности миокарда на электрокардиографе «ЭКК-01» во втором стандартном отведении с последующим анализом электрокардиограммы (ЭКГ) (Трахтенберг И. М. и др., 1991) и подсчета дыханий в 1 минуту (Западнюк И. П., 1974) [50].

Изучение влияния гликозил-НММ-1 на картину периферической крови подопытных животных проводилось на гематологическом анализаторе. У крыс взята кровь из хвостовой вены до опыта, на 1, 2 и 3 месяца. Подсчитывалось количественное содержание гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов, лейкоцитарная формула и скорость оседания эритроцитов (СОЭ). Содержание гемоглобина определялось спектрофотометрическим методом по Сали. Количество эритроцитов и лейкоцитов подсчитывалось в камере Горяева, лейкоцитарная формула – в мазках, окрашенных по Май-Грюнвальда, СОЭ – в

аппарате Панченкова [26, 91-92]. Действие соединения на клеточные элементы костного мозга у животных изучалось определением количества лимфоцитов, моноцитов, плазматических клеток, ретикулоцитов, мегакариоцитов, незрелых клеток миелоидного ряда, элементов эритропоэза, гемопоэза, костно-мозгового индекса нейтрофилов, лейко-эритробластического соотношения и индекса созревания эритробластов по методу (Камышникова В. С., 2011).

Влияние субстанции гликозил-НММ-1 на обмен веществ (белковый, углеводный, жировой липидный), биохимические показатели сыворотки крови у животных: общий белок, белковые фракции, общие липиды,  $\beta$ -липопротеиды, креатинин, мочевина, остаточный азот, холестерин, сахар крови изучалось по общеизвестному методу (Меньшикова В. В., 2003). Активность неспецифических оксидаз печени оценивалось по продолжительности сна животных после введения гексенала (Plea et al., 1958). Функциональное состояние мочевыводящей системы оценивалось по величине диуреза и анализам мочи (Предтеченский В. Е., 1960).

Для оценки влияния гликозил-НММ-1 на центральную нервную систему (ЦНС) животных, ориентировочно-исследовательские реакции у мышей изучались по методике «открытого поля» (Андронати С. А. и др., 1982). Изучалось влияние гликозил-НММ-1 на нейродинамическую активность (поведенческие реакции) животных. Изменения координации движений у животных оценивались с помощью теста «вращающегося стержня». Состояние ориентировочных рефлексов у животных изучалось с использованием тестов «залезание на сетку» и «боковое положение». Действие гликозил-НММ-1 на тонус скелетной мускулатуры оценивалось способностью нарушать реакцию «подтягивания» задних конечностей при помещении передних конечностей на горизонтально натянутую проволоку. Данные эксперимента учитывались до опыта. Животные тестировались до начала введения изучаемых средств. Полученные данные сравнивались с результатами повторных исследований через 1, 2 и 3 месяца [171].



С целью выявления возможного токсического резорбтивного действия в условиях хронического эксперимента проведено анатомо-морфологическое изучение органов и тканей подопытных животных в сравнении с циклофосфамидом. Исследования проводились у мышей и крыс в течение 1, 2 и 3 месяцев и из каждой группы забивалось по 3 животных. В конце опыта животные забивались под эфирным наркозом методом декапитации и подвергались аутопсии для морфологического исследования внутренних органов. Учитывался процент погибших животных.

У всех экспериментальных групп животных для гистологического исследования забирались внутренние органы (кожа с подлежащей мышечной тканью, головной, костный мозг, сердце, легкие, печень, поджелудочная железа, желудок, тонкий и толстый кишечника, почки, надпочечники, щитовидная железа, семенники, тимус, селезенка и др.), которые фиксировались в 10 % формалине, жидкости Карнуа и 96 % спирте. Микротомировались на санном микротоме. Гистологическая обработка материалов проводилась по общепринятым методикам (Наyat M. A., 1993). Микроскопия тканевых структур внутренних органов проводилась по алгоритмам, разработанным для каждого органа на светооптическом микроскопе МБИ-15-2 по общеизвестным методам (Автандилов Г. Г., 1990), также проводили при помощи светооптического микроскопа Leica DM LS (Германия) при увеличении 200 и 400. Микрофотографирование проводили при помощи цифровой фотокамеры Leica DC320 (Германия) [39].

Изучение специфической ПОА гликозил-НММ-1 проводилось согласно «Методическим рекомендациям по доклиническому изучению специфической активности фармакологических веществ» ФК МЗ РФ (М., 2005) в сопоставлении с циклофосфамидом на 320 стандартной линии мышей BALBC с АОЭ (диплоидный вариант) [3, 109, 111, 114, 192, 211]. Нами проводилось морфологическое исследование специфической ПОА субстанции на асцитном и подкожном вариантах АОЭ у опухоленосителей. Для исследования забирались

внутренние органы: сердце, легкие, печень, поджелудочная железа, желудок, тонкий и толстый кишечник, почки, надпочечники, тимус, селезенка.

Исследование фармако-токсикологических свойств субстанции гликозил-НММ-1 проводилось в сравнении с циклофосфамидом. Изучение местно-раздражающего действия и морфологического состояния внутренних органов и тканей проводилось в двух сериях опыта на 60 морских свинках согласно «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств (М., 2012) [171].

Исследование аллергогенного действия субстанции гликозил-НММ-1 и морфологическое состояние внутренних органов и тканей изучалось в соответствии с «Методическими рекомендациями по оценке аллергических свойств фармакологических средств» на 60 морских свинках и 60 крысах в сопоставлении с циклофосфамидом [117].

Изучение кумулятивных свойств гликозил-НММ-1 в сравнении с циклофосфамидом проводилось по "тесту субхронической токсичности" на 120 крысах и определялась количественная оценка «кумулятивное™».

Оценка состояния иммунной системы под влиянием гликозил-НММ-1 и морфологическое исследование иммунокомпетентных внутренних органов проводилось на 240 мышах и 24 кроликах в сравнении с циклофосфамидом. Использовались методы I и II уровня в микроварианте. Содержание Т-лимфоцитов определялось методом спонтанного розеткообразования (Е-РОК) с эритроцитами кролика и с помощью эритроцитов, заполненными антителами и комплементом (ЕАС-РОК). Влияние гликозил-НММ-1 на гуморальную систему проводилось по методу антителообразующих клеток (АОК) по Каннингему и Jerne (1974). По методу Каннингема и Шенберга (1968) определялось число АОК, первичная (JgM) и вторичная иммунные реакции (JgG) по Морозову В. Л. и др. (1989) [74].

Изучение канцерогенных свойств гликозил-НММ-1 и морфологические исследования внутренних органов проводились на 160 мышах и 160 крысах в

течение 24 месяцев наблюдения согласно «Методическому письму по исследованию бластомогенных (канцерогенных) свойств различных веществ в опытах на животных» ФК МЗ РФ в сопоставлении с препаратом сравнения циклофосфамидом.

При изучении мутагенной активности субстанции гликозил-НММ-1 была использована культура клеток из Т-клеточной лимфомы *Mus musculus* L5178Y, полученная из Американской коллекции типовых культур (АТСС). Клетки размножались в концентрации  $2-9 \times 10^5$  клеток/см<sup>2</sup>, достигая 100 % роста через 2-3 дня культивирования. Затем клетки были субклонированы в лабораторных условиях, культура клеток хранилась в жидком азоте. В экспериментах с культурой клеток в качестве среды использовали RPMI-1640 с 10% фетальной телячьей сыворотки (ФТС), 2% L-глутамина, 1% раствора антибиотика-антимикотика. Культивирование клеток осуществляли в CO<sub>2</sub>-инкубаторе MCO-20AIC (Япония) при температуре 37°C, 5 % CO<sub>2</sub> и 95 % влажности. Используемая суспензионная культура клеток L5178Y рекомендована для проведения исследований мутагенности согласно Руководством OECD по испытаниям химических веществ № 487 [323, 349].

Исследования эмбриотоксических и тератогенных свойств проводились на 60 крысах самках и самцах, из которых формировались группы беременных опытных и контрольных самок в соответствии «Методическими указаниями изучения эмбриотоксического действия фармакологических веществ и их влияния на репродуктивную функцию» (М., 2012) [175] в сравнении с циклофосфамидом. Проводилось анатомо-морфологическое исследование тератогенного и эмбриотоксического действия гликозил-НММ-1, состояния внутренних органов плодов, эмбрионального материала, репродуктивных органов самок, линейных размеров, массы плодов, число желтых тел и мест имплантации живых плодов.

Изучение фармакокинетических параметров гликозил-НММ-1 в сыворотке крови крыс после внутривенного введения проводилось в

сопоставлении со временем циркуляции в кровотоке [292, 317] в сравнении с фармакокинетическими характеристиками собственно нитрозомочевины [359].

Изучение способа лечения АОЭ (диплоидный вариант) с гликозил-НММ-1 и патоморфологические исследования проводились на 360 стандартной линии мышцах BALBC согласно «Методическим рекомендациям по первичному отбору ПО препаратов», ФК МЗ РФ (М., 1980) [6, 137, 141, 192-193] в сопоставлении с препаратом сравнения.

Для статистической обработки результатов полученных данных использовался метод статистической программы «Статистика-6» Excel с использованием критерия Стьюдента (StatSoft Inc, USA) [114-115, 168].

*Заключение.* Во II главе в материалах и методах исследования приведены методы определения для сухих лекарственных средств, предназначенных для парентерального введения по ГФ XI и XIII изд. по изучению физико-химических свойств субстанции гликозил-НММ-1. В методиках фармакологического эксперимента описаны методы по изучению токсикологических свойств субстанции, специфической ПОА на АОЭ (диплоидный вариант), фармакологических свойств, фармакокинетических параметров гликозил-НММ-1 в сыворотке крови крыс после внутривенного введения в сопоставлении со временем циркуляции в кровотоке и способа лечения с гликозил-НММ-1 АОЭ (диплоидный вариант) у животных в сравнении с циклофосфамидом.

### ГЛАВА 3. СОСТАВ, СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СУБСТАНЦИИ ГЛИКОЗИЛ-НММ-1

В состав субстанции гликозил-НММ-1 входят: *ксилоза безводная, метилмочевина, п-аминобензойная кислота, этанол (спирт этиловый 90 %), кислота хлористоводородная (соляная), натрия нитрит, вода дистиллированная и кислота уксусная ледяная*, которые широко используются в фармацевтической практике.

Субстанция гликозил-НММ-1 состоит из следующих составных частей, в граммах (рис. 3.1):

Ксилозы безводной (ГФ XI, В. 1, С. 295; Т. 2, С. 376)	15 г
Метилмочевины (ВФС 42-2017-90)	8,3 г
Парааминобензойной кислоты (ГФ XI, В. 2, С. 115)	0,4 г
Этанола (ГФ X, ст. 632, С. 646)	60 мл
Кислоты хлористоводородной (HCl) (ГФ XI, Т. 2, С. 117)	0,4 мл
Натрия нитрита (NaNO <sub>2</sub> ) (ГФ XI, Т. 2, С. 120), (ГОСТ 4197-74)	3 г
Воды дистиллированной (ГФ X, ст. 73, С. 107)	4,8 мл
Кислоты уксусной ледяной (ГФ XI, Т. 2, С. 117), (ГОСТ 61-75)	25 мл

Приведена структурная (3.1) и химическая формула, молекулярная масса, и химическое название субстанции гликозил-НММ-1.

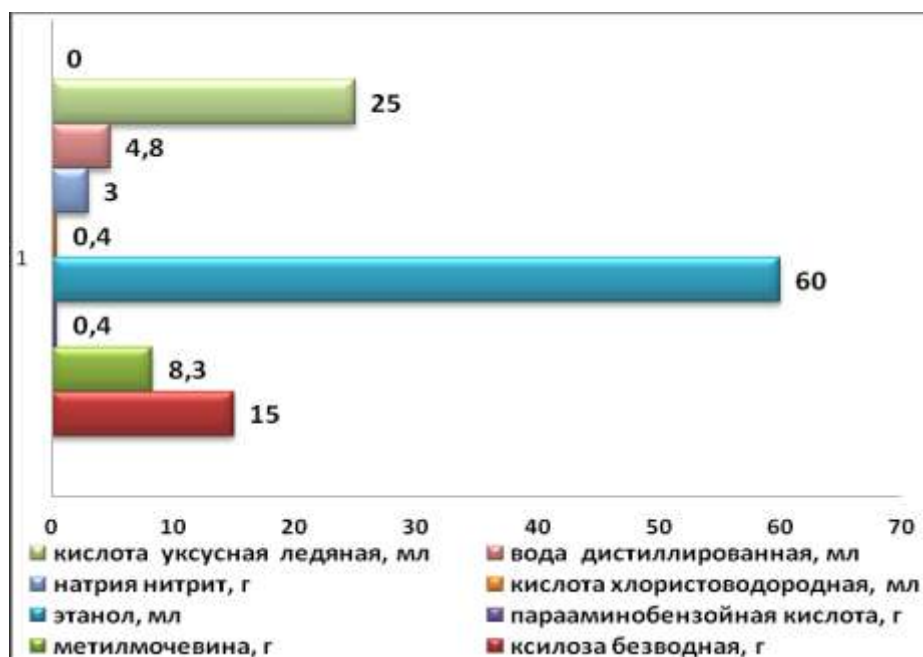
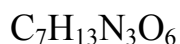
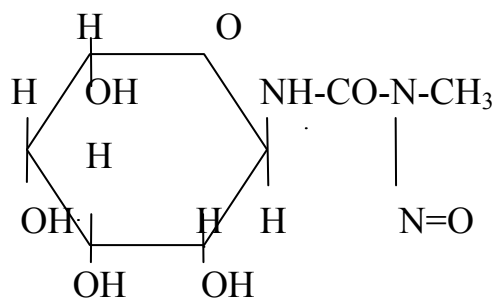


Рис. 3.1. Состав субстанции гликозил-НММ-1

(3.1)



Молекулярная масса 235,2

N - метил - N' - (β - D - ксилопиранозил) - N - нитрозомочевина

Способ получения соединения состоит из реакции взаимодействия моносахаридов с алкилмочевинами в условиях нуклеофильного катализа с добавлением ариламинов и нитрозирования N-алкил-гликозилмочевин [1, 42, 57, 67, 340]. Гликозил-НММ-1 можно получить методом синтеза, которая по ативам соответствует ГФ Х1 изд.

Цвет гликозил-НММ-1 представляет собой сухую лиофилизированную, пористую массу белого цвета с желтоватым оттенком (табл. 3.1) [1]. Подлинность 0,1% раствора соединения в воде спектрофотометрически в ультрафиолетовой и видимой областях методом УФ-спектра в области 240 до 290 нм имеет максимум поглощения при  $253 \pm 2,11$  нм [206]. Температура плавления устанавливалась методом 1 и 1 а, колебания которой находились в пределах  $114^{\circ}$ - $116^{\circ}$ С по ГФ Х1 изд. [43, 198]. Величина удельного вращения ( $\alpha$ ) устанавливалась расчетным путем, как угол поворота плоскости поляризации монохроматического света в среде на пути длиной 1 дм. Вещество является оптически активным при концентрации равной 0,01 %. Удельное вращение  $[\alpha]$  для веществ, находящихся в растворе, рассчитывается по формуле:

$$[\alpha] = \frac{\alpha \cdot 100}{\ell \cdot c} \quad \text{где,}$$

$\alpha$  – измеренный угол вращения в градусах;

$\ell$  - толщина слоя жидкости в дециметрах;

$c$  – концентрация раствора, выраженная в граммах вещества на 100 мл раствора.

Удельное вращение 0,01 % раствора субстанции в воде равняется  $[\alpha]_D^{20} = -22,4^{\circ}$  ( $C_D = 1$ ;  $H_2O$ ). Удельный показатель поглощения ( $E_{1\%}^{1\text{ см}}$ ) 0,1 % раствора при длине волны 240 нм в кювете с толщиной слоя 0,0102 мм имеет не более 0,237 при 240 нм в 0,1 % растворе воды.

Для определения цветности раствора к содержимому флакона добавлялось 10 мл воды, окраска жидкости устанавливалась путем сравнения с эталонным раствором № 7 б. Механические включения в растворе 0,1 г гликозил-НММ-1 в 10 мл воды определялись соответственно требованиям «Инструкции по контролю на механические включения сухих лекарственных средств для инъекций, применяемых в виде растворов» И 68-175-99. Калибровка и проверка рН-метра по стандартным буферным растворам

гидрофталата калия и NaOH составляет по 0,2 моль / л. РН 1 % раствора в воде потенциометрически равняется от 4 до 6. Посторонние примеси определялись ТСХ, на хроматограмме проявляется пятно серого цвета ( $R_f = 0,59$ ).

Для установления хлоридов, 0,5 г гликозил-НММ-1 растворяли в 25 мл воды. 10 мл полученного раствора испытывали на хлориды. К 2 мл раствора добавляли воду до 10 мл, в котором содержание хлоридов было не более 0,02%. Для определения сульфатов, к 2 мл раствора добавляли воду до 10 мл, в котором было не более 0,05 % сульфатов.

Содержание воды определялось: около 0,15 г субстанции помещали в сухую колбу вместимостью 100 мл, в которую предварительно вносили 5 мл метилового спирта. Перемешивали в течение 1 минуты и титровали реактивом К. Фишера, добавляя его при приближении к конечной точке по 0,1-0,05 мл. Конец титрования определялся визуально по изменению окраски - от желтой до красновато-коричневой. Параллельно титровалось 5 мл метилового спирта (контроль). Содержание воды в процентах (X) вычислялось по формуле:

$$X = \frac{(a - б) \cdot T \cdot 100}{a}$$

а где,

а – объем реактива К. Фишера, израсходованный на титрование в основном опыте, в мл;

б – объем реактива К. Фишера, израсходованный на титрование в контрольном опыте, в мл;

в – навеска субстанции, в г ;

T – титр реактива К. Фишера. В 0,15 г субстанции гликозил-НММ-1 содержание воды составило не более 10%.

В опыте сульфатная зола определялась из 0,5 г субстанции, которая не превышала 0,1%. Проводилось испытание на тяжелые металлы, которая



**Таблица 3.1. - Физико-химические свойства субстанции гликозил-НММ-1**

№	Субстанция	Методы исследования	Результаты
№	гликозил-НММ-1	по ГФ Х1 изд.	
1	цвет	визуально	белого цвета с желтоватым оттенком
2	подлинность	метод спектрофотометрии и УФ-спектра	от 240 до 290 нм
3	максимум поглощения	---//---	253± 2,11 нм
4	температура плавления	метод 1 и 1а	114°-116°С
5	удельное вращение 0,01 % раствора	расчетный метод при концентрации 0,01% раствора	$[\alpha]_{20D} = -22,4^\circ$ ( $C_D=1$ ; $H_2O$ )
6	показатель поглощения ( $E_{1\%}^{1cm}$ ) 0,1 % раствора	метод спектрофотометрии	не более 0,237 при 240 нм
7	цветность раствора	сравнение с эталонным раствором	№ 7 б
8	рН	по ГФ Х1 изд.	4-6
9	Стерильность по ГФ Х1 изд.	механические включения для сухих лекарственных средств для инъекций	И 68-175-99 стерильна
10	ТСХ	метод ТСХ	$R_f = 0,59$
11	Механич. включения (хлориды, сульфаты)	(И 68-175-99)	не более 0,02 %, 0,05 %
12	количественное содержание воды	метод К.Фишера	10 %
13	сульфатная зола	по ГФ Х1 изд.	0,1 %
14	тяжелые металлы	---//---	0,0001 %
15	масса содержимого 1 флакона	---//---	± 15 %
16	гликозил-НММ-1 во 1 флаконе и её компонентов в 1 г	---//---	от 0,169-0,210
17	Хранение	---//---	(-10°С).

выдерживала не более 0,0001%. Отклонение массы содержимого одного флакона в опыте от средней массы не превышало  $0,185 \text{ г} \pm 15 \%$  по ОСТ. Количественное содержание гликозил-НММ-1 в одном флаконе определялось методом титрования и составляло от 0,169 до 0,210 г. Содержание компонентов: ксилозы безводной в 1 г субстанции составляло 56 %; метилмочевины - 30,7%; п-аминобензойной кислоты - 1,44%; этанола - 0,2%; кислоты хлористоводородной - 0,001%; натрия нитрита - 11%; воды дистиллированной - 0,02 % [77].

Физико-химические свойства и метрологические характеристики (табл. 3.2) количественного определения гликозил-НММ-1 проводились согласно ГФ Х1 изд. Хранение проводилось в сухом, защищенном от света месте при температуре ( $-10^{\circ}\text{C}$ ) по списку А. Срок годности определялся после изучения 5-и серий гликозил-НММ-1, хранившегося в течение 2 года 3 месяца. Исследования проб проводились каждые полгода.

- Примечание :
1. Упаковка – флаконы стеклянные вместимостью 20 мл. Укупорены пробками из силиконовой резины под обкатку алюминиевыми колпачками.
  2. Хранение – в сухом, защищенном от света места при температуре не выше  $+10^{\circ}\text{C}$ .
  3. Все образцы представляют собой порошок желтовато-белого цвета, легко растворяются воде с образованием прозрачного раствора, интенсивность окрашивания которого не превышает эталон № 3 Ж.

Таблица 3.2. - Метрологические характеристики количественного определения компонентов субстанции гликозил-НММ-1

№№	Количество	μ,%	f	X	S <sup>2</sup>	S
1.	ксилозы безводной	12.83	4	12.95	0.25	0.22
2.	метилмочевины	7.10	4	7.17	0.14	0.12
3.	парааминобензойной кислоты	0.342	4	0.35	0.007	0.006
4.	этанола (спирт этиловый 90 %)	51.33	4	51.80	0.99	0.88
5.	кислоты хлористоводородной	0,342	4	0.345	0.007	0.006
6.	натрия нитрита (NaNO <sub>2</sub> )	5.13	4	5.12	0.099	0.088
7.	воды дистиллированной	4,11	4	0.33	0.08	0.070
8.	кислоты уксусной ледяной	21.39	4	21.59	0.41	0.37
9.	содержание C <sub>7</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>6</sub> ( гликозил-НММ-1)	0.137- 0.180	4	0.003	3.067	2.73

№№	Количество	P, %	t (P, f)	X	ε, %	δ
1.	ксилозы безводной	95	0.55	0.27	0.42	-
2.	метилмочевины	95	0.30	0.16	0.23	-
3.	парааминобензойной кислоты	95	0.015	0.007	0.011	
4.	этанола (спирт этиловый 90 %)	95	2.20	1.10	1.67	-
5.	кислоты хлористоводородной	95	0.015	0.007	0.011	-
6.	натрия нитрита (NaNO <sub>2</sub> )	95	0.22	0.11	0.17	-
7.	воды дистиллированной	95	0.18	0.09	0.13	-
8.	кислоты уксусной ледяной	95	0.92	0.46	0.70	-
9.	содержание C <sub>7</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>6</sub> ( гликозил-НММ-1)	95	6.81	3.41	5.17	

Т.о., проводилось изучение физико-химических свойств субстанции гликозил-НММ-1 в соответствии с ГФ XI изд. для сухих лекарственных средств, предназначенных для инъекций. Дана оценка гликозил-НММ-1 и характеристика её составных частей: *ксилоза безводная, метилмочевина, парааминобензойная кислота, этанол, кислота хлористоводородная, натрия нитрит, вода дистиллированная и кислота уксусная ледяная*. Технология получения гликозил-НММ-1 состоит из реакции взаимодействия моносахаридов с алкилмочевинами в условиях нуклеофильного катализа с добавлением ариламинов и нитрозирования N-алкилгликозилмочевин. Гликозил-НММ-1 представляет сухую лиофилизированную пористую массу белого цвета с желтоватым оттенком.

*Заключение.* В III главе приводятся результаты исследований, дана оценка, характеристика составных частей и технология получения гликозил-НММ-1. Проводилось изучение физико-химических свойств в соответствии с ГФ XI и XIII изд. для сухих лекарственных веществ, предназначенных для парентерального введения.

# **ГЛАВА 4. ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ГЛИКОЗИЛ-НММ-1 В СРАВНЕНИИ С ЦИКЛОФОСФАМИДОМ**

## **4.1. Изучение острой токсичности субстанции гликозил-НММ-1**

Исследование острой токсичности гликозил-НММ-1 проводилось в соответствии с «Временными методическими рекомендациями МЗ РФ. Требования к доклиническому изучению общетоксического действия новых фармакологических веществ» и «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств», Ч. 1, 2. (М., 2012.).

Опыты проведены на 120 белых беспородных мышках-самцах массой 20-22 г и крысах массой 180-200 г обоих полов, содержащихся в условиях вивария [65, 68-69].

Испытанию подвергалась гликозил-НММ-1 при в/б и в/в введениях, приготовленная в дозах: (1800; 1900; 2100; 2200 и 2400 мг/кг ) и (600; 700; 800; 900 и 1000 мг/кг ); циклофосфамид (80; 90, 110; 120; 140 мг/кг) и (70; 90; 110; 130; 150 мг/кг) соответственно. Исходя из предельно допустимых объемов вводимой жидкости на 1 животное, растворы изучаемых средств, вводились однократно по 1 мл на 1 мышку и крысу в/б и в/в (Першин Г. Н., 1971) соответственно. Оценка результатов опыта проводилась через 24 часа после введения. Учитывалось состояние и процент погибших животных. Наблюдение за животными проводилось в течение 7 суток. По методу Литчфилда и Уилкоксона определялась ЛД<sub>50</sub> - доза, вызывающая гибель 50 % животных.

Было сформировано по 5 групп. Каждая доза изучалась на 6 мышках и 6 крысах. I серия опыта проводилась на 30 белых беспородных мышках после в/б введения субстанции гликозил-НММ-1 в дозах: 1800 и 1900 мг/кг (табл. 4.1).

Таблица 4.1 - Определение острой токсичности субстанции гликозил-НММ-1 на белых беспородных мышах путем внутрибрюшинного введения

№	Показатели	Доза субстанции, мг/кг				
		1800	1900	2100	2200	2400
1.	Наблюдающийся эффект	0/6	2/6	4/6	5/6	6/6
2.	в пробитах	3,76	4,20	5,43	5,97	6,20
3.	в процентах	29,79	33,3	66,6	83,3	88,4
	Ожидаемый эффект					
4.	в пробитах	4,88	5,45	5,55	5,70	5,80
5.	в процентах	45,2	50,52	70,8	75,8	78,8
	Разность между эффектами					
6.	в процентах	34,4	38,47	4,2	7,5	9,6
7.	$\chi^2$	0,48	0,54	0,009	0,03	0,05

$LD_{16} = 1712$  мг/кг;  $LD_{50} = 1950$  мг/кг;  $LD_{84} = 2275$  мг/кг;  
 $LD_{50} = 1950 (1795 \div 2321)$  мг/кг при  $P = 0,05$ .

Клиническая картина проявлялась в кратковременном беспокойстве, умеренной бледности мордочек, ушей, передних и задних конечностей, хвоста. Животные были активными, принимали корм и адекватно реагировали на внешние раздражители. При повышении дозы до 2100 мг/кг интенсивность вышеуказанных признаков увеличивалась, держалась длительно, животные становились пассивными. После увеличения дозы до 2200 мг/кг на фоне общей бледности, акроцианоза наблюдались вялость, влажность шерстного покрова, учащение дыхания, адинамия. Число погибших - 5 мышей. В дозе 2400 мг/кг в течение 2,5-3 часов животные погибали при клинической картине интоксикации ( $LD_{16} = 1712$  мг/кг;  $LD_{50} = 1950$  мг/кг; и  $LD_{84} = 2275$  мг/кг;  $LD_{50} = 1950 (1795 \div 2321)$  мг/кг при  $P = 0,05$ ).

II серия эксперимента проведена на 30 крысах (табл. 4.2). После в/в введения гликозил-НММ-1 в дозах: 600 и 700 мг/кг клиническая картина

Таблица 4.2 - Определение острой токсичности соединения гликозил-НММ-1 на белых беспородных крысах при внутривенном введении

№	Показатели	Доза гликозил-НММ-1, мг/кг				
		600	700	800	900	1000
1.	Наблюдающийся эффект	0/6	2/6	4/6	5/6	6/6
2.	В пробитах	1,32	1,54	2,44	2,84	3,1
3.	В процентах	28,54	33,3	66,6	83,3	88,4
	Ожидаемый эффект					
4.	В пробитах	1,72	2,00	2,50	2,71	2,9
5.	В процентах	45,2	52,7	70,8	75,8	78,8
	Разность между эффектами					
6.	В процентах	34,4	40,1	4,2	7,5	9,6
7.	$\chi^2$	0,16	0,19	0,004	0,014	0,025

$LD_{16} = 629$  мг/кг;  $LD_{50} = 717$  мг/кг;  $LD_{84} = 836$  мг/кг;

$LD_{50} = 717 (623 \div 853)$  мг/кг при  $P = 0,05$ .

выражалась в кратковременном беспокойстве, гиперсаливации, учащении дыхания, появлении икотных движений, бледности мордочек, ушей, передних и задних конечностей, хвоста. Животные принимали корм, были подвижны и реагировали на внешние раздражители. При повышении дозы до 800 мг/кг интенсивность, указанной клинической картины усилилась. Животные стали бездейственными. При увеличении дозы до 900 мг/кг на фоне общей бледности и акроцианоза наблюдалась апатичность, влажность шерстного покрова, учащенное дыхание, адинамия и число погибших – 5 крыс. В дозе 1000 мг/кг в



течение 2,5-3 часов погибли все животные при клинической картине интоксикации ( $LD_{16} = 629$  мг/кг;  $LD_{50} = 717$  мг/кг;  $LD_{84} = 836$  мг/кг;  $LD_{50} = 717 (623 \div 853)$  мг/кг при  $P = 0,05$ ).

Результаты эксперимента проведенные на белых беспородных мышах и крысах по изучению острой токсичности субстанции гликозил-НММ-1 при однократном в/б и в/в введении высоких доз показали, что  $LD_{50}$  составляет 1950 мг/кг и 717 мг/кг является малотоксичной, по степени токсичности относится IV классу. Приготовленные растворы субстанции гликозил-НММ-1 в соотношении 1:5 малотоксичны, а 1:10 и 1:20 – нетоксичны.

В III серии опыта на 30 мышах при в/б введении циклофосфамида в дозах: 80 и 90 мг/кг дал следующую клиническую картину: кратковременное беспокойство подопытных животных, умеренная бледность мордочек, ушей, передних и задних конечностей. Увеличение интенсивности признаков при повышении дозы препарата до 110 мг/кг и увеличение пассивности. А при дозе циклофосфамида в до 120 мг/кг на фоне общей бледности и акроцианоза появилась вялость, влажность шерстного покрова. Участилось дыхание, наблюдалась адинамия, и число погибших возросло. Доза 140 мг/кг привела к гибели всех животных в течение 2-2,5 часов при ярко выраженной токсикологической картине ( $LD_{16} = 88$  мг/кг;  $LD_{50} = 100$  мг/кг;  $LD_{84} = 117$  мг/кг;  $LD_{50} = 100 (87 \div 119)$  мг/кг при  $P = 0,05$ ) (табл. 4.3).

В IV серии опыта проведено сравнение результатов опытов на 30 крысах после введения циклофосфамида в дозах: 60 и 90 мг/кг. У крыс наблюдалось кратковременное беспокойство. Дыхание частое. Появилась икота, животные пассивные, движения умеренные, бледность мордочек, ушей, передних и задних конечностей, хвоста. Интенсивность перечисленных признаков усилилась при дозе 110 мг/кг. Животные стали бездеятельными. При постепенном увеличении дозы до 130 мг/кг на фоне общей бледности, акроцианоза появилась апатичность. Шерстный покров стал влажным

Таблица 4.3 - Определение острой токсичности циклофосфамида на белых беспородных мышах путем внутрибрюшинного введения

№	Показатели, мг/кг	Доза циклофосфамида, мг/кг				
		80	90	110	120	140
1.	Наблюдающийся эффект	0/6	2/6	4/6	5/6	6/6
2.	В пробитах	0,19	0,22	0,28	0,31	0,32
3.	В процентах	1,53	1,71	3,42	0,43	4,53
	Ожидаемый эффект					
4.	В пробитах	0,25	0,28	0,28	2,29	4,36
5.	В процентах	2,32	2,59	3,63	3,88	4,04
6.	Разность между эффектами, в %	1,76	1,97	0,22	0,38	0,49
7.	$\chi^2$	0,02	0,03	4,62	0,002	0,003

$LD_{16} = 88$  мг/кг;  $LD_{50} = 100$  мг/кг;  $LD_{84} = 117$  мг/кг;  $LD_{50} = 100 (87 \div 119)$  мг/кг при  $P = 0,05$ .

(табл. 4.4). Наблюдалось тахипное, адинамия. Число погибших увеличилось. Доза в 150 мг/кг привела к гибели всех животных. В течение 2,5-3-х часов при ярко выраженной клинической картине интоксикации ( $LD_{16} = 88$  мг/кг;  $LD_{50} = 100$  мг/кг;  $LD_{84} = 117$  мг/кг;  $LD_{50} = 100 (87 \div 95)$  мг/кг при  $P = 0,05$ ).

В III-IV сериях опыта циклофосфамид обладает невысокой, умеренной токсичностью.  $LD_{50}$  равняется 100 мг/кг при однократном в/б и в/в введениях. Токсическое влияние однократно высокой дозы выражается в ухудшении состояния животных, снижения массы тела, сонливости, вялости, появлении цистита, нарушения функции ЖКТ и угнетения гемопоэза. Возникают конъюнктивиты с мелкими кровоизлияниями, иногда некрозы на коже.

Таблица 4.4. - Определение острой токсичности циклофосфамида на белых беспородных крысах путем внутривенного введения

№	Показатели, мг/кг	Доза циклофосфамида, мг/кг				
		60	90	110	130	150
1.	Наблюдающийся эффект	0/6	2/6	4/6	5/6	6/6
2.	В пробитах	1,32	1,54	2,44	2,84	3,1
3.	В процентах	28,54	33,3	66,6	83,3	88,4
	Ожидаемый эффект					
4.	В пробитах	1,72	2,00	2,50	2,71	2,9
5.	В процентах	45,2	52,7	70,8	75,8	78,8
	Разность между эффектами					
6.	В процентах	34,4	40,1	4,2	7,5	9,6
7.	$\chi^2$	0,16	0,19	0,004	0,014	0,025

$LD_{16} = 88$  мг/кг;  $LD_{50} = 100$  мг/кг;  $LD_{84} = 117$  мг/кг;  $LD_{95} = 100$  (87÷95) мг/кг при  $P = 0,05$ .

Обладает слабой обратимостью токсического действия. Гибель животных наступает через 1-1,5 часов. Гибель животных после однократного введения препарата наступает в течение трех недель. Следует заметить, что субстанция гликозил-НММ-1 менее токсична по сравнению с циклофосфамидом.

Циклофосфамид по классификации степени токсического действия лекарственных средств относится к умеренно токсичным препаратам (Березовская И. В., 2010).

Т.о., в 2-х сериях опыта на 60 белых беспородных мышах и 60 крысах изучена острая токсичность гликозил-НММ-1 в сравнении с циклофосфамидом при однократном введении высоких доз. Установлено, что субстанции является малотоксичным,  $LD_{50}$  при в/б введении равняется 1950 мг/кг, при в/в - 717

мг/кг и по степени токсичности относится IV классу. ЛД<sub>50</sub> гликозил-НММ-1 при в/б введении в 19-20 раз, а при в/в - 7 раз больше, чем у препарата сравнения. ЛД<sub>50</sub> циклофосфида соответствует 100 мг/кг. Гибель животных после введения субстанции наступала в течение 2-3-х часов, а при введении циклофосфида - в течение трех недель.

#### **4.1.1. Анатомо-морфологическое состояние внутренних органов животных на фоне применения гликозил-НММ-1**

В опытах на животных по изучению острой токсичности испытуемого вещества нами проводилось исследование морфологической структуры кожи и внутренних органов: мозга, легких, печени, почек, надпочечников, селезенки, лимфоузлов, желудка, кишечника. Исследование органов у интактных животных (мыши) показало нормальную структуру. При введении гликозил-НММ-1 в дозе 195 мг/кг в микроструктуре кожи наблюдаются лимфоциты и гистиоциты. В гиподерме выявляются тучные клетки [73]. Нейроны мягкой оболочки (сосудистая) мозга сморщены с гиперхромными ядрами, периваскулярные пространства расширены.

В микроструктуре сердца отмечаются периваскулярные и межмиокардиотарные лимфоцитарные инфильтраты.

Легкие макроскопически воздушны. Стенка крупного бронха утолщена, альвеолярный интерстиций отечный. Капилляры альвеол переполнены кровью. Артериальные сосуды находятся в состоянии повышенного тонуса, венозные – расширены, содержат плазму. В просветах сосудов альвеол выявляются эритроциты и лейкоциты.

В печени гепатоциты с темноокрашенной оксифильной цитоплазмой, отмечается расширение синусоидов, их полнокровие, немногочисленные

периваскулярные инфильтраты и редкие мелкие мононуклеарные гранулемы (рис. 4.1).

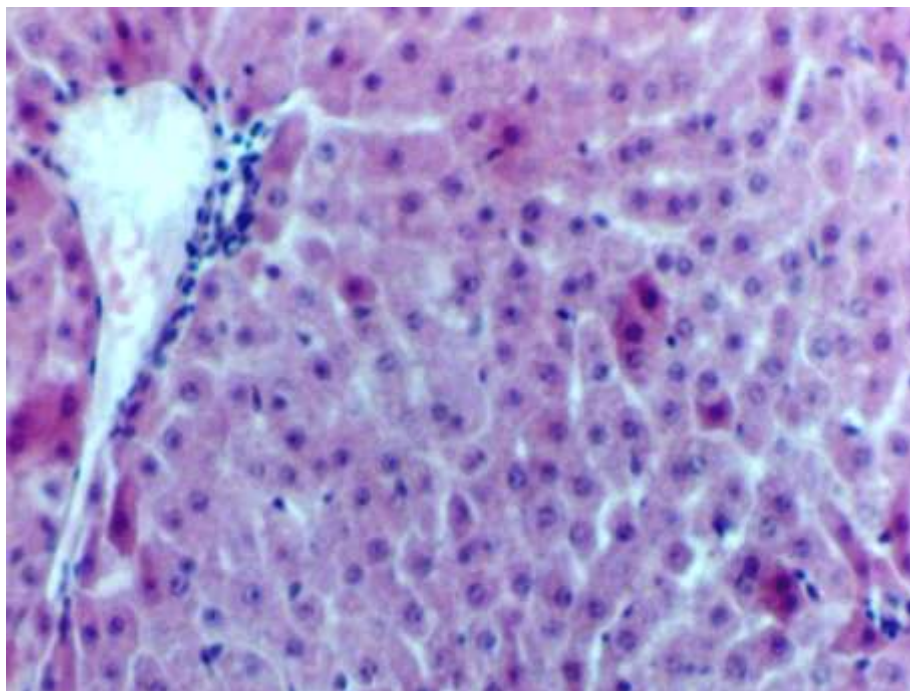


Рис. 4.1. Печень. Гликозил-НММ-1. 195 мг/кг. Гепатоциты с темноокрашенной оксифильной цитоплазмой, отмечается расширение синусоидов, их полнокровие, немногочисленные периваскулярные инфильтраты и редкие мелкие мононуклеарные гранулемы. Окраска гематоксилином и эозином. x400.

Просветы канальцев почек расширены. Микроскопически наблюдаются клеточные инфильтраты. В корковом веществе определяются единичные дистрофически измененные нефроциты (рис. 4.2).

Визуально клубочковый слой коры надпочечников плотные, с делением на корковый и мозговой слой. Единичные клетки пучковой зоны имеют просветленную цитоплазму. Мозговой слой представлен крупными клетками, содержащими эритроциты и единичные лимфоциты.

Медуллярная часть тимуса содержит лимфоциты, ретикулярные клетки, тельца Гассалья и скопления жировых клеток. Сосуды капсулы полнокровны,



Рис. 4.2. Почка. Гликозил-НММ-1. 195 мг/кг. Мономорфные почечные клубочки, капиллярные петли ажурного рисунка. Просветы канальцев расширены. В корковом веществе - выраженные мозговые лучи. Окраска гематоксилином и эозином. x400.

видны тучные клетки. Во внутренней части тельца встречаются гранулоциты. Микроскопически белая пульпа селезенки представлена лимфоидными фолликулами, в которых находятся малые лимфоциты. В фолликулах лимфатических узлов выявляются реактивные центры, плазмобласты, плазматические клетки и макрофаги. Мозговое вещество рыхлое, представлено лимфоцитами, макрофагами, определяются ретикулярные клетки, эритроциты, бластные клетки и лаброциты.

На слизистой желудка определяются скопления эозинофильно окрашенных масс. Имеются дистрофические изменения клеток, микроэрозии. Собственная пластинка слизистой отечна, гиперемирована, инфильтрирована лимфоцитами и макрофагами. В подслизистой оболочке наблюдается лимфолейкоцитарная инфильтрация. Местами секреторный эпителий желез

дистрофически изменен, границы между клетками стерты. Просветы желез кистообразно расширены, местами заполнены слизью.

Поверхностный эпителий ворсин тонкого кишечника уплощен, имеет нечеткие контуры, во многих участках некротизирован и отслаивается пластами. Энтероциты ворсинок и крипт с выраженными дистрофическими изменениями, лишены щеточной каймы. Резко увеличено количество бокаловидных клеток, которые десквамируют. Повышенная лимфоидно-клеточная инфильтрация стромы кишечных ворсинок. Сосуды резко полнокровны, отмечены геморрагии. Характерны участки эрозии слизистой оболочки, когда переполненные кровью сосуды обращены в просвет кишки.

В структуре толстого кишечника определяется набухание клеток с участками очаговой деструкции, десквамации до разрушения эпителиоцитов, местами клетки слущены. Неравномерность глубины крипт, в их просветах - детрит, в строме - умеренная лимфоидная инфильтрация, эритростаз в капиллярах. В строме подслизистой оболочки отмечаются единичные периваскулярные лимфоцитарно-плазмоцитарные инфильтраты. В отдельных участках слущен, базальная мембрана оголена. Строма крипт разрыхлена, местами отслоена от покровного эпителия. Количество и размеры лимфоидных фолликулов увеличены, в них наблюдаются светлые центры. Кровеносные капилляры утолщены и расширены. В мышечной пластинке отмечается инфильтрация межмышечной соединительной ткани.

Результаты морфологического изучения токсического действия гликозил-НММ-1 в дозе 195 мг/кг показали некоторые структурные изменения в органах животных. Как отмечалось выше, у опытных групп животных признаков патологических изменений в коже, подлежащей мышечной ткани, в микроструктуре головного мозга не обнаружено. В структуре почек субстанция в токсической дозе приводит к набуханию стенок артериол, дегенерацию эпителия канальцев. Микроскопически в подслизистой оболочке желудка наблюдается лимфо-лейкоцитарная инфильтрация. На аутопсии признаков

токсического резорбтивного действия субстанции на внутренние органы не выявлено. Установлено, что гликозил-НММ-1 не вызывает повреждений внутренних органов у мышей и крыс.

Влияние циклофосфида в токсической дозе 10 мг/кг на внутренние органы мышей показали, что вызывает нарушения функций ряда органов и систем. Обладает выраженной гепатотропностью, приводит к быстро наступающему и продолжительному обеднению печеночных клеток гликогеном, развивается жировая дистрофия, некроз и повышается сорбционная способность печени. В почках происходит набухание стенок артериол и дегенерация эпителия канальцев. Приводит к изменениям в эндокринной системе, нарушается эстральный цикл, снижается функция щитовидной железы, накопление клеточных элементов соединительной ткани и активность макрофагов. В костном мозге увеличивается число незрелых клеток миелоидного ряда с повышенной базофилией цитоплазмы и уменьшается количество элементов эритропоэза. Появляются палочкоядерные, сегментоядерные нейтрофилы больших размеров, с гиперсегментированными и -фрагментированными ядрами и многоядерные клетки. Миелопоэз восстанавливается через неделю. Репаративные процессы сопровождаются. Возникают очаги гемопоэза и стволовые гемопоэтические клетки в печени.

Т.о., морфологическое исследование органов животных при острой токсичности под влиянием гликозил-НММ-1 выявило некоторые структурные изменения, но признаков патологических изменений не обнаружены. Микроскопически в подслизистой оболочке желудка наблюдается незначительная лимфо-лейкоцитарная инфильтрация. После введения циклофосфида в слизистой оболочке желудка, тонкого и толстого кишечника наблюдаются атрофические, дистрофические изменения, воспалительная инфильтрация стромы и подслизистого слоя. Отмечается некроз печеночных клеток. В структуре почек выявляется набухание стенок артериол, дегенерация



эпителия канальцев, развитие жировой дистрофии. В селезенке и лимфатических узлах прослеживается уменьшение лимфоидных элементов.

## **4.2. Хроническая токсичность субстанции гликозил-НММ-1**

Животные содержались в условиях вивария и при проведении экспериментов были разделены на 8 групп (мыши и крысы): I-II - контрольные (1 и 2) и III-VIII – опытные. III-VIII группам вводились гликозил-НММ-1 в/б в дозах: 1/5, 1/10 и 1/20 от ЛД<sub>50</sub> (40; 20 и 10 мг/кг) и (65; 33 и 16 мг/кг) и циклофосфамид (2, 1 и 0,5 мг/кг) и (3; 2 и 1 мг/кг) по 0,4 мл 1 раз в сутки в течение 1, 2 и 3-х месяцев. Животным контрольной группы вводился изотонический раствор хлорида натрия (0,9 %).

### **4.2.1. Влияние субстанции гликозил-НММ-1 на массу тела экспериментальных животных**

В ходе опыта у крыс масса тела определялась ежемесячно по общеизвестной методике [217]. В первые дни опыта масса тела животных, как у опытных ( $159,3 \pm 7,26$ ;  $164,8 \pm 5,08$ ;  $163,7 \pm 3,92$ ;  $160,3 \pm 6,20$ ;  $164,4 \pm 6,03$  и  $161,6 \pm 1,42$ ), так и у контрольных групп ( $161,4 \pm 6,12$  и  $167,9 \pm 6,12$ ) находилась в пределах физиологической нормы (рис. 4.3), однако средние значения имели групповые различия. В течение трех месяцев опыта, по сравнению с исходными данными ( $161,4 \pm 4,91$  и  $167,9 \pm 6,12$ ), масса тела у животных в контрольных группах ( $167 \pm 6,14$ ;  $165 \pm 7,51$  и  $167 \pm 4,7$  в контроле 1) и ( $170 \pm 6,66$ ;  $171 \pm 8,19$  и  $173 \pm 5,06$  в контроле 2) находились в норме. После введения гликозил-НММ-1 в дозе 65 мг/кг в III опытной группе в течение трех месяцев опыта прибавка в массе находилась ( $164,6 \pm 5,7$ ,  $167,13 \pm 5,27$  и  $169,7 \pm 3,02$  против  $170 \pm 6,66$ ;  $171 \pm 8,19$  и  $173 \pm 5,06$  в контроле 2) в

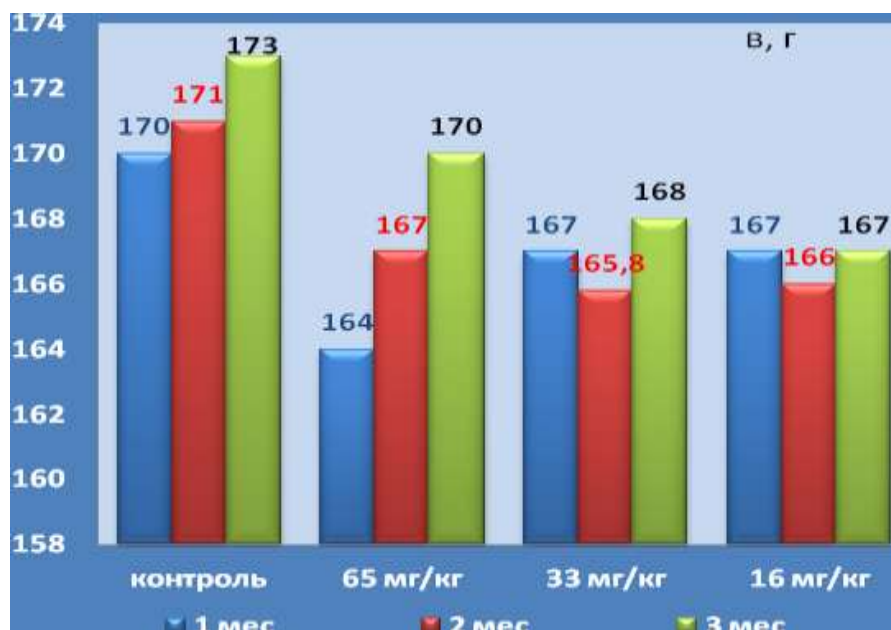


Рис. 4.3. Динамика массы тела у крыс в течение трех месяцев при введении гликозил-НММ-1 в дозах: 65, 33 и 16 мг/кг (абс. зн.  $M \pm m$ ).

пределах физиологических колебаний. В дозах 33 и 16 мг/кг в IV-V опытных группах потеря в массе тела ( $166,4 \pm 4,8$ ;  $165,8 \pm 9,2$ ;  $167,8 \pm 6,8$ ; и  $166,7 \pm 2,90$ ;  $165,9 \pm 5,7$ ;  $166,9 \pm 4,3$  против  $170 \pm 6,66$ ;  $171 \pm 8,19$  и  $173 \pm 5,06$  в контроле 2) по сравнению с контролем 2 не наблюдалось.

После введения циклофосфида (рис. 4.4), в дозе 3 мг/кг в VI опытной группе в течение трех месяцев опыта отмечалась снижение в массе тела ( $160,5 \pm 5,4$ ;  $164,3 \pm 5,24$  и  $166,3 \pm 3,00$  против  $170 \pm 6,66$ ;  $171 \pm 8,19$  и  $173 \pm 5,06$  в контроле 2 при  $P \leq 0,05$ ) у животных. В дозах 2 и 1 мг/кг в VII и VIII опытных группах наблюдалась потеря в массе тела ( $162,1 \pm 4,8$ ;  $162,8 \pm 9,0$ ;  $166,8 \pm 6,6$ ; и  $163,3 \pm 2,80$ ;  $164,5 \pm 5,5$ ;  $166,7 \pm 4,2$  против  $170 \pm 6,66$ ;  $171 \pm 8,19$  и  $173 \pm 5,06$  в контроле 2 при  $P \leq 0,05$ ) на 1-2-й месяц опыта по сравнению с контрольными животными.

Результаты изучения гликозил-НММ-1 показали, что во все периоды наблюдения до опыта у животных, как у контрольных, так и у опытных групп, масса тела находилась в норме. После введения субстанции в исследуемых

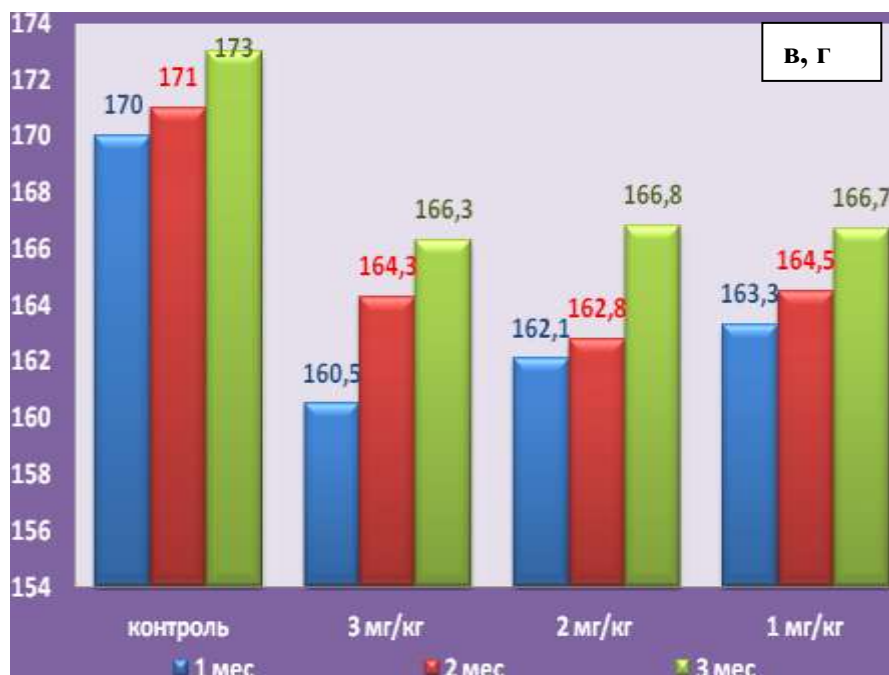


Рис. 4.4. Показатели массы тела у крыс в течение трех месяцев при введении циклофосамида в дозах: 3; 2 и 1 мг/кг ( $P \leq 0,05$ ).

дозах в течение трех месяцев опыта масса тела находилась в пределах нормы. При введении циклофосамида у животных VI и VII опытных групп на 1-2-й месяцы опыта наблюдалось уменьшение в массе тела, у VIII опытной группы в течение трех месяцев отмечалась незначительная потеря в массе тела у животных.

Т.о., гликозил-НММ-1 в исследуемых дозах в течение трех месяцев опыта не изменяет массу тела. При введении препаратом сравнения отмечалась потеря в массе тела.

#### 4.2.2. Изучение пирогенного действия гликозил-НММ-1 на организм животных

Пирогенное действие гликозил-НММ-1 и циклофосамида на организм крыс изучалось до опыта ( $36,2 \pm 0,2$ ) и через 1; 2 и 3 месяца ( $36,6 \pm 0,2$ ;  $35,8 \pm 0,3$

и  $36,4 \pm 0,4$ ) измерением базальной температуры. Препарат считался, не вызывающим пирогенного действия тогда, если ни у одной из трех крыс в группе повышение температуры не превышала  $0,6^{\circ}\text{C}$ , а по сумме трех измерений не должен превышать не более чем на  $1,4^{\circ}\text{C}$ .

После введения гликозил-НММ-1 и циклофосаида в дозах 65 и 33 мг / кг в течение трех месяцев у животных III и VI опытных групп , 4-х из испытанных групп, из III ( $36,6 \pm 0,2$ ;  $36,1 \pm 0,3$  и  $35,8 \pm 0,3$ ;  $36,6 \pm 0,3$ , и  $36,7 \pm 0,3$ ;  $36,1 \pm 0,5$  против  $36,1 \pm 0,5$  и  $36,9 \pm 0,5$ ) и VI групп ( $36,8 \pm 0,4$ ;  $36,9 \pm 0,2$  и  $36,7 \pm 0,3$ ;  $36,9 \pm 0,6$  и  $37,1 \pm 0,3$ ;  $36,6 \pm 0,5$  против  $36,7 \pm 0,4$  и  $36,6 \pm 0,4$  в исходных значениях) разность температуры не превышала  $0,6^{\circ}\text{C}$  (рис. 4.5-4.6). Введение гликозил-НММ-1 и циклофосаида у животных, 4-х из испытанных групп, из III и VI опытных групп, разность температуры, не превышала  $0,6^{\circ}\text{C}$  по сравнению с исходными данными.

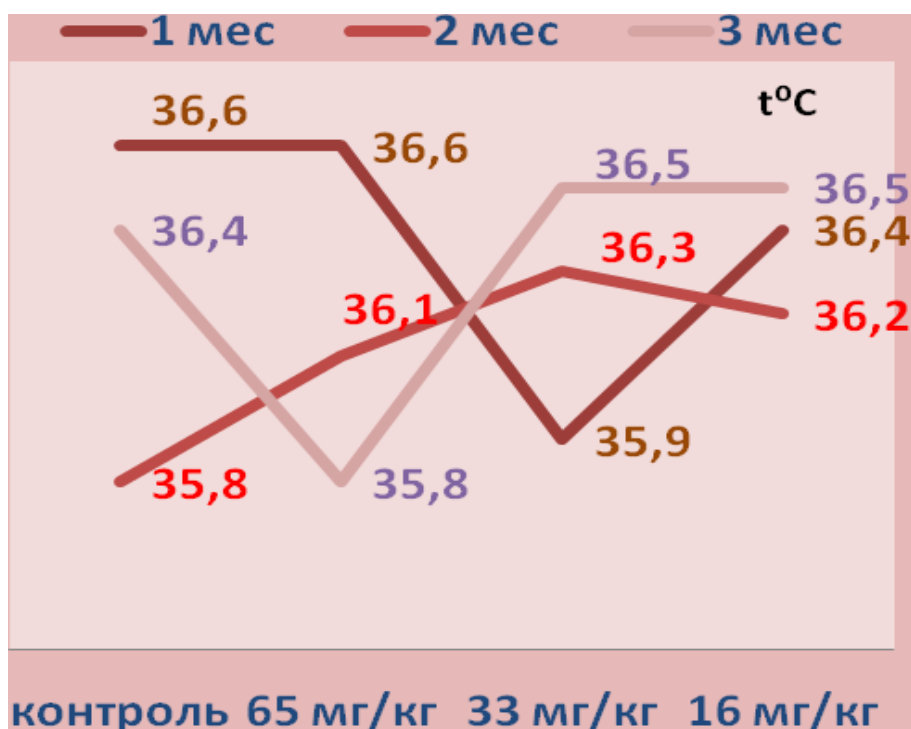


Рис. 4.5. Влияние субстанции гликозил-НММ-1 в дозах 65; 33 и 16 мг/кг на температуру тела белых беспородных крыс (абс. зн.  $M \pm m$ ).

Введение гликозил-НММ-1 и циклофосфамида в дозах 3 и 2 мг / кг на 2-й месяц опыта у животных IV и VII опытных групп, из 4-х из испытанных групп, у IV и ( $35,9 \pm 0,4$ ;  $36,3 \pm 0,4$  и  $36,6 \pm 0,6$ ;  $36,7 \pm 0,6$  и  $36,7 \pm 0,4$ ;  $36,4 \pm 0,4$



Рис. 4.6. Влияние циклофосфамида на температуру тела белых беспородных крыс (абс. зн.  $M \pm m$ ).

против  $36,6 \pm 0,2$  и  $36,6 \pm 0,2$  в исходных значениях) VII групп ( $36,9 \pm 0,5$ ;  $36,6 \pm 0,3$  и  $36,6 \pm 0,5$ ;  $37,1 \pm 0,6$  и  $36,7 \pm 0,3$ ;  $36,7 \pm 0,5$  против  $36,6 \pm 0,3$  и  $36,9 \pm 0,4$  в исходных значениях) VIII группы ( $36,4 \pm 0,4$ ;  $36,3 \pm 0,3$  и  $36,5 \pm 0,5$ ;  $36,0 \pm 0,3$  и  $36,3 \pm 0,6$ ;  $36,8 \pm 0,4$  против  $36,0 \pm 0,5$  и  $36,7 \pm 0,3$  в исходных значениях) температура не превышала  $0,6^\circ\text{C}$  по сравнению с исходными показателями.

Т.о., результаты измерения ректальной температуры у крыс в течение трех месяцев при введении гликозил-НММ-1 и циклофосфамида в испытываемых дозах показали, что в определенные сроки опыта не повышают температуру не более  $0,6^\circ\text{C}$  и не обладают пирогенными свойствами.

### 4.2.3. Влияние субстанции гликозил-НММ-1 на биоэлектрическую активность сердечной мышцы

Влияние гликозил-НММ-1 и циклофосаида на ССС и дыхательную системы изучалось методом записи биоэлектрической активности миокарда на электрокардиографе ЭКК-01 во II стандартном отведении с последующим анализом ЭКГ и подсчетом числа дыханий в 1 мин [87].

Учитывая то, что в эксперименте были использованы белые беспородные крысы, у которых кривая ЭКГ (рис. 4.7) несколько отличается от других видов.

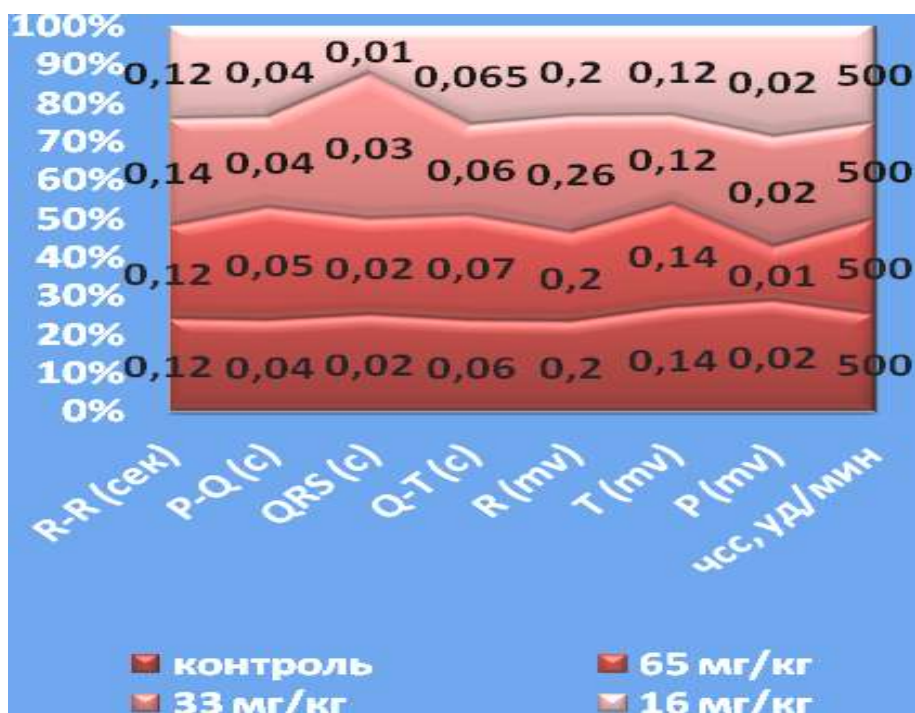


Рис. 4.7. Влияние гликозил-НММ-1 на биоэлектрическую активность сердечной мышцы у крыс в течение трех месяцев (абс. зн.  $M \pm m$ ).

Влияние гликозил-НММ-1 в дозе 65 мг/кг у животных III опытной группы на деятельность сердца оценивалось по ЭКГ, где определялись форма зубцов, число сокращений в 1 мин ( $P_s$ ), величины интервалов R-R (сек), P-Q

(с), QRS (с), Q-T (с), R (mv), T (mv), P (mv) и чсс, уд/мин ( $0,15 \pm 0,005$ ;  $0,12 \pm 0$ ), ( $0,04 \pm 0,01$ ;  $0,05 \pm 0,003$ ), ( $0,01 \pm 0,004$ ;  $0,02 \pm 0,005$ ), ( $0,08 \pm 0,01$ ;  $0,07 \pm 0,004$ ), ( $0,24 \pm 0,015$ ;  $0,20 \pm 0,024$ ), ( $0,16 \pm 0,015$ ;  $0,14 \pm 0,002$ ), ( $0,09 \pm 0,008$ ;  $0,01 \pm 0,003$ ), ( $500 \pm 1$ ;  $500 \pm 0$ ) и систолический показатель (Антропов Г. А., 1965, в модификации для крыс Зайцевой Л. А.). Действие субстанции в дозе 33 мг/кг у животных IV опытной группы на деятельность сердца оценивалось по ЭКГ, где определялись форма зубцов, число сокращений в 1 мин (Ps), величины интервалов R-R (сек), P-Q (с), QRS (с), Q-T (с), R (mv), T (mv), P (mv) и чсс, уд/мин ( $0,14 \pm 0,004$ ;  $0,29 \pm 0,009$ ), ( $0,04 \pm 0,003$ ;  $0,05 \pm 0,003$ ), ( $0,01 \pm 0,006$ ;  $0,03 \pm 0,005$ ), ( $0,06 \pm 0,005$ ;  $0,06 \pm 0,002$ ), ( $0,26 \pm 0,033$ ;  $0,27 \pm 0,040$ ), ( $0,20 \pm 0,020$ ;  $0,12 \pm 0,031$ ), ( $0,07 \pm 0,001$ ;  $0,02 \pm 0,004$ ), ( $500 \pm 4$ ;  $500 \pm 2$ ) и систолический показатель. Влияние гликозил-НММ-1 в дозе 16 мг/кг у животных V опытной группы на деятельность сердца оценивалось по ЭКГ, где определялись форма зубцов, число сокращений в 1 мин (Ps), величины интервалов R-R (сек), P-Q (с), QRS (с), Q-T (с), R (mv), T (mv), P (mv) и чсс, уд/мин ( $0,12 \pm 0,002$ ;  $0,12 \pm 0,01$ ), ( $0,04 \pm 0,04$ ;  $0,04 \pm 0,09$ ), ( $0,01 \pm 0,01$ ;  $0,01 \pm 0,008$ ), ( $0,065 \pm 0,002$ ;  $0,070 \pm 0,003$ ), ( $0,22 \pm 0,02$ ;  $0,20 \pm 0,03$ ), ( $0,14 \pm 0,002$ ;  $0,16 \pm 0,02$ ), ( $0,07 \pm 0,02$ ;  $0,07 \pm 0,001$ ), ( $500 \pm 0$ ;  $500 \pm 1$ ) против ( $0,15 \pm 0,003$ ;  $0,12 \pm 0,003$ ), ( $0,04 \pm 0,02$ ;  $0,06 \pm 0,005$ ), ( $0,01 \pm 0,02$ ;  $0,04 \pm 0,005$ ), ( $0,068 \pm 0,01$ ;  $0,07 \pm 0,010$ ), ( $0,25 \pm 0,12$ ;  $0,24 \pm 0,052$ ), ( $0,19 \pm 0,02$ ;  $0,17 \pm 0,02$ ), ( $0,11 \pm 0,08$ ;  $0,12 \pm 0,16$ ), ( $500 \pm 0$ ;  $494 \pm 2$ ) в исходных данных и в конце опыта) и систолический показатель.

Действие циклофосамида в дозе 3 мг/кг у животных VI опытной группы на деятельность сердца оценивалось по ЭКГ, определялись форма зубцов, число сокращений в 1 мин (Ps), величины интервалов R-R (сек), P-Q (с), QRS (с), Q-T (с), R (mv), T (mv), P (mv) и чсс, уд/мин ( $0,16 \pm 0,007$ ;  $0,13 \pm 1$ ), ( $0,03 \pm 0,02$ ;  $0,04 \pm 0,002$ ), ( $0,02 \pm 0,002$ ;  $0,03 \pm 0,04$ ), ( $0,07 \pm 0,02$ ;  $0,02 \pm 0,003$ ), ( $0,22 \pm 0,023$ ;  $0,28 \pm 0,09$ ), ( $0,14 \pm 0,05$ ;  $0,10 \pm 0,01$ ), ( $0,06 \pm 0,007$ ;  $0,012 \pm 0,003$ ), ( $500 \pm 2$ ;  $500 \pm 3$ ) и систолический показатель (рис. 4.8).

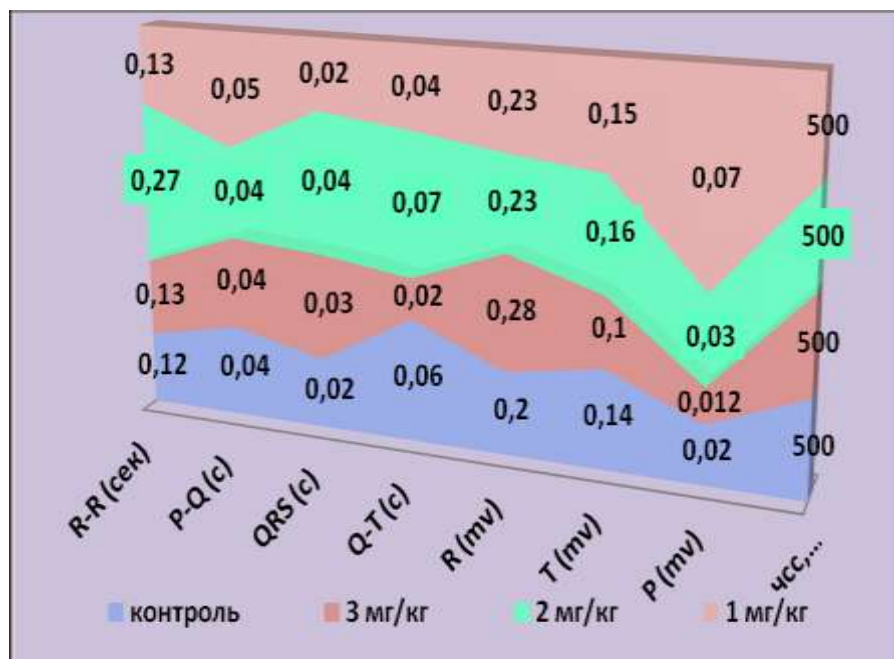


Рис. 4.8. Действие циклофосфамида на биоэлектрическую активность сердечной мышцы у крыс в течение трех месяцев (абс. зн.  $M \pm m$ ).

Влияние циклофосфамида в дозе 2 мг/кг у животных VII опытной группы на функции сердца оценивалось по ЭКГ, определялись форма зубцов, число сокращений в 1 мин ( $P_s$ ), величины интервалов R-R (сек), P-Q (c), QRS (c), Q-T (c), R (mv), T (mv), P (mv) и чсс, уд/мин ( $0,13 \pm 0,002$ ;  $0,27 \pm 0,008$ ), ( $0,03 \pm 0,004$ ;  $0,04 \pm 0,005$ ), ( $0,02 \pm 0,003$ ;  $0,04 \pm 0,005$ ), ( $0,05 \pm 0,006$ ;  $0,07 \pm 0,003$ ), ( $0,25 \pm 0,036$ ;  $0,23 \pm 0,045$ ), ( $0,24 \pm 0,025$ ;  $0,16 \pm 0,04$ ), ( $0,06 \pm 0,003$ ;  $0,03 \pm 0,005$ ), ( $500 \pm 3$ ;  $500 \pm 1$ ) и систолический показатель.

Действие препарата сравнения в дозе 1 мг/кг у животных VIII опытной группы на деятельность сердца оценивалось по ЭКГ, определялись форма зубцов, число сокращений в 1 мин ( $P_s$ ), величины интервалов R-R (сек), P-Q (c), QRS (c), Q-T (c), R (mv), T (mv), P (mv) и чсс, уд/мин ( $0,14 \pm 0,005$ ;  $0,13 \pm 0,04$ ), ( $0,06 \pm 0,07$ ;  $0,05 \pm 0,06$ ), ( $0,02 \pm 0,01$ ;  $0,02 \pm 0,003$ ), ( $0,07 \pm 0,008$ ;  $0,040 \pm 0,005$ ), ( $0,21 \pm 0,03$ ;  $0,23 \pm 0,04$ ), ( $0,15 \pm 0,003$ ;  $0,15 \pm 0,06$ ), ( $0,04 \pm 0,05$ ;  $0,07 \pm 0,08$ ), ( $500 \pm 2$ ;  $500 \pm 2$ ) против ( $0,14 \pm 0,005$ ;  $0,12 \pm 0,002$ ), ( $0,06 \pm 0,03$ ;  $0,04 \pm 0,006$ ), ( $0,02 \pm 0,03$ ;  $0,02 \pm 0,004$ ), ( $0,06 \pm 0,02$ ;  $0,06 \pm 0,06$ ), ( $0,22 \pm 0,013$ ;  $0,20 \pm 0,022$ ),



( $0,14 \pm 0,015$ ;  $0,14 \pm 0,004$ ), ( $0,089 \pm 0,009$ ;  $0,02 \pm 0,004$ ), ( $500 \pm 0$ ;  $500 \pm 1$ ) в исходных данных и в конце опыта) и систолический показатель. Анализы результатов ЭКГ и частоты дыхания показали, что у животных III-VIII групп, которым вводились гликозил-НММ-1 и циклофосфамид в исследуемых дозах, сопоставимы с результатами II контрольной группы и не отличаются от показателей нормы для данного вида животных (Трахтенберг И. М. и др., 1991). Субстанция гликозил-НММ-1 и циклофосфамид не оказывают влияния на ССС и органы дыхания.

Таким образом, гликозил-НММ-1 и циклофосфамид в течение трех месяцев не оказывают токсического действия на функции ССС и органов дыхания.

#### **4.2.4. Влияние гликозил-НММ-1 на картину периферической крови животных**

Проводилось изучение влияния гликозил-НММ-1 и циклофосфамида на картину периферической крови подопытных крыс [26, 66]. В процессе трехмесячного введения учитывались показатели периферической крови (цветной показатель, число эритроцитов, лейкоцитов и лейкоцитарная формула крови) с целью выявления возможного отрицательного влияния субстанции на эритро- и лейкопоз у экспериментальных животных.

Показатели гемоглобина под влиянием гликозил-НММ-1 в течение трех месяцев находились в норме для данного вида крыс (Трахтенберг И. М., 1991). Количество эритроцитов в периферической крови у контрольных групп во все сроки эксперимента оставалось на уровне исходных значений. Субстанция гликозил-НММ-1 и циклофосфамид не оказывают влияния на эритропоз.

Из рис. 4.9.-4.10 видно, что число лейкоцитов в крови у контрольных групп ( $16,25 \pm 3,2$ ;  $18,34 \pm 1,67$  и  $17,67 \pm 1,75$  против  $11,58 \pm 1,26$  в исходных

значениях) во все сроки эксперимента находилось в норме. После введения субстанции в дозе 65 мг/кг у животных III опытной группы на 1-й месяц

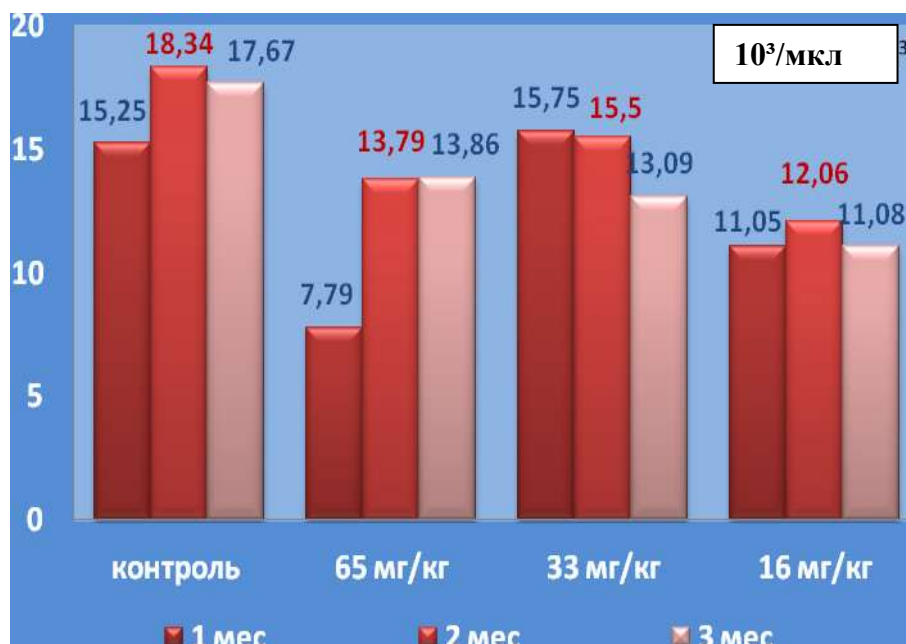


Рис. 4.9. Динамика показателей лейкоцитов в периферической крови у крыс в течение трех месяцев при введении гликозил-НММ-1 ( $P \leq 0,05$ ).

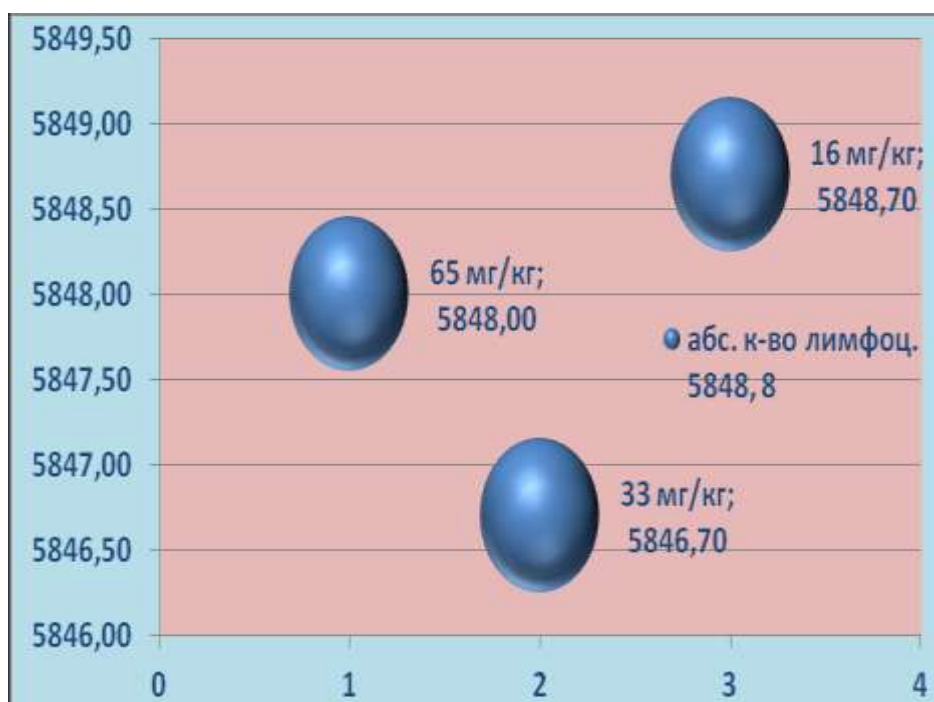


Рис. 4.10. Показатели абсолютного количества лимфоцитов крови при введении гликозил-НММ-1 в течение трех месяцев (абс. зн.  $M \pm m$ ).

наблюдалась тенденция к незначительному снижению количества лейкоцитов ( $10,79 \pm 0,35$  против  $16,25 \pm 3,2$  в контроле 2 при выраженной лейкопении ( $5,09 \pm 0,70$  против  $15,31 \pm 2,2$  в контроле 2 при  $P \leq 0,5$ ) в периферической крови. После введения гликозил-НММ-1 у животных III опытной группы на 2-3-й месяц ( $13,79 \pm 0,35$  и  $13,86 \pm 0,78$  против  $18,34 \pm 1,67$  и  $17,67 \pm 1,75$  в контроле 2) лейкопении не отмечалось. В течение трех месяцев опыта уровни абсолютного количества нейтрофилов и лимфоцитов ( $3343,6 \pm 663,6$ ;  $3345 \pm 281,7$ ;  $3351,8 \pm 513,5$  и  $5848 \pm 332,2$ ;  $5846,7 \pm 479,0$ ;  $5848,7 \pm 413,5$  против  $3346,9 \pm 125,0$ ;  $3350,9 \pm$  лейкоцитов в крови не наблюдалось.

Под влиянием циклофосфида в исследуемых дозах у животных VI-VIII опытных групп в первый месяц отмечается выраженная лейкопения ( $5,09 \pm 0,70$ ;  $7,05 \pm 0,26$ ;  $7,07 \pm 0,68$  против  $15,31 \pm 2,2$ ;  $14,1 \pm 1,02$  и  $14,79 \pm 0,10$  в контроле 2) и тромбоцитопения ( $510 \pm 33$ ;  $519 \pm 70$  и  $520 \pm 40$  против  $520 \pm 30$ ;  $526 \pm 40$  и  $530 \pm 25$  в контроле 2 при  $P \leq 0,05$ ) (рис. 4.11).

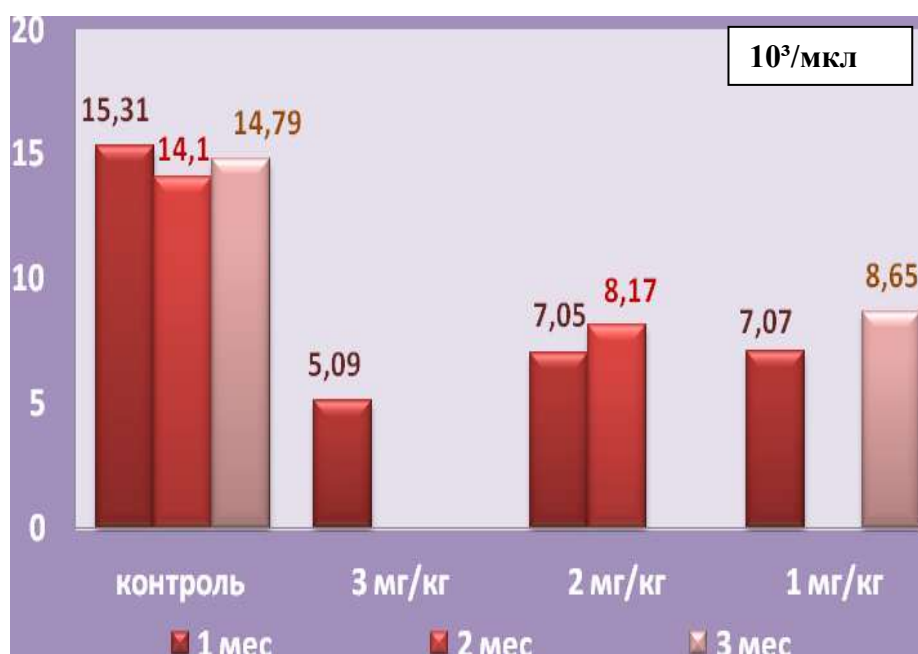


Рис. 4.11. Динамика показателей лейкоцитов в периферической крови у крыс в течение трех месяцев при введении циклофосфида (при  $P \leq 0,05$ ).

Введение циклофосаида в дозе 3 мг/кг первый месяц у животных VI группы появляется выраженная лейкопения ( $5,09 \pm 0,70$  против  $15,31 \pm 2,2$  в контроле 2 при  $P \leq 0,05$ ) до 64 %, угнетение лейкопоза за счет и абсолютного количества лимфоцитов крови ( $50,7 \pm 3,16$  и  $5842 \pm 332,2$  против  $59,8 \pm 10,9$  и  $5854,9 \pm 301,2$  в контроле 2 при  $P \leq 0,05$ ) (рис. 4.12) и тенденция

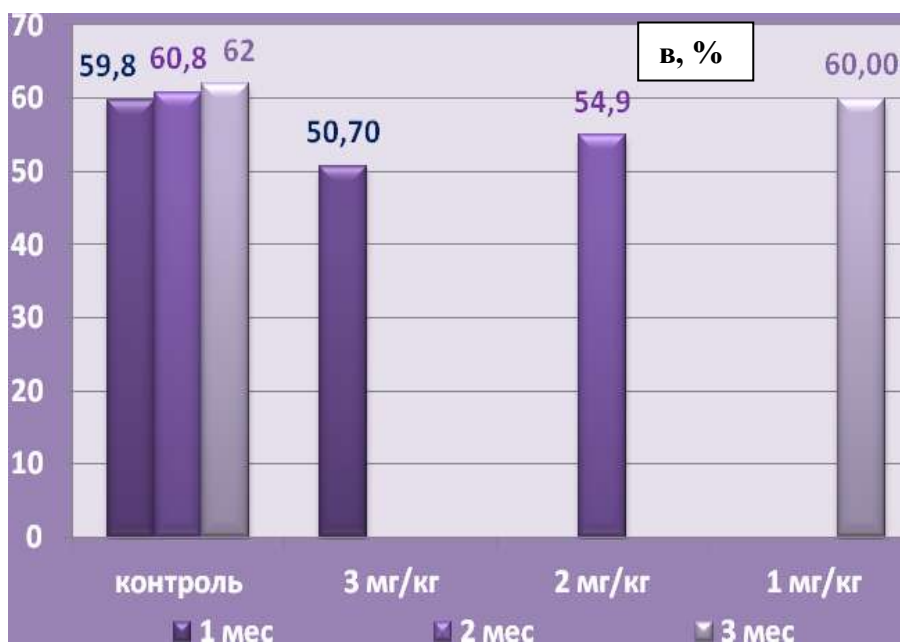


Рис. 4.12. Показатели относительного количества лимфоцитов крови при введении циклофосаида в течение трех месяцев (при  $P \leq 0,05$ ).

к появлению миелоцитов. В дозе 2 мг / кг на 2-й месяц опыта у животных VII в контроле 2), незначительное снижение относительного и абсолютного количества лимфоцитов крови ( $54,9 \pm 8,10$  и  $5762,3 \pm 411,4$  против  $60,8 \pm 9,9$  и  $5767,6 \pm 201,2$  в контроле 2), тромбоцитопения ( $670 \pm 35$  против  $675 \pm 40$  в контроле 2), незначительно повышаются показатели красной крови ( $12,77 \pm 0,38$  против  $7,23 \pm 0,34$  в контроле 2 при  $P \leq 0,05$ ) и имеется тенденция к угнетению миелопоэза. У животных VIII группы в дозе 1 мг/кг на 3-й месяц опыта наблюдается тенденция к лейкопении ( $8,65 \pm 0,26$  против  $14,79 \pm 0,10$  в контроле 2) и тромбоцитопении в крови. Показатели красной крови

несколько повышены ( $13,35 \pm 0,26$  против  $7,59 \pm 0,70$  в контроле 2 при  $P \leq 0,05$ ) и наблюдается тенденция к угнетению миелопоэза.

Таким образом, гликозил-НММ-1 в дозе 65 мг/кг приводит тенденцию к лейкопении в периферической крови. Циклофосфамид приводит к более выраженной лейкопении, тромбоцитопении, снижаются содержание лимфоцитов в крови, повышаются показатели красной крови и наблюдается тенденция к угнетению миелопоэза.

#### 4.2.5. Влияние гликозил-НММ-1 на показатели костного мозга животных

Согласно общепринятой методике (Камышникова В. С., 2011) проведено изучение действия гликозил-НММ-1 и циклофосфамида на клеточные элементы костного мозга у подопытных животных (рис. 4.13.-4.16).

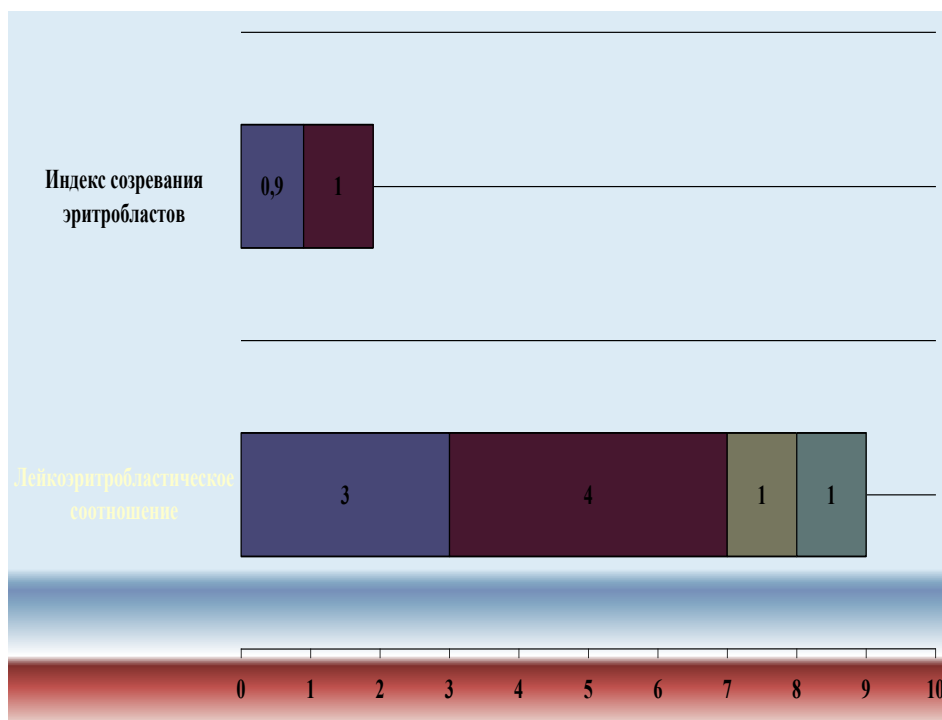


Рис. 4.13. Клеточные элементы костного мозга крыс под влиянием субстанции гликозил-НММ-1 в дозе 65 мг / кг (абс. зн.  $M \pm m$ ).

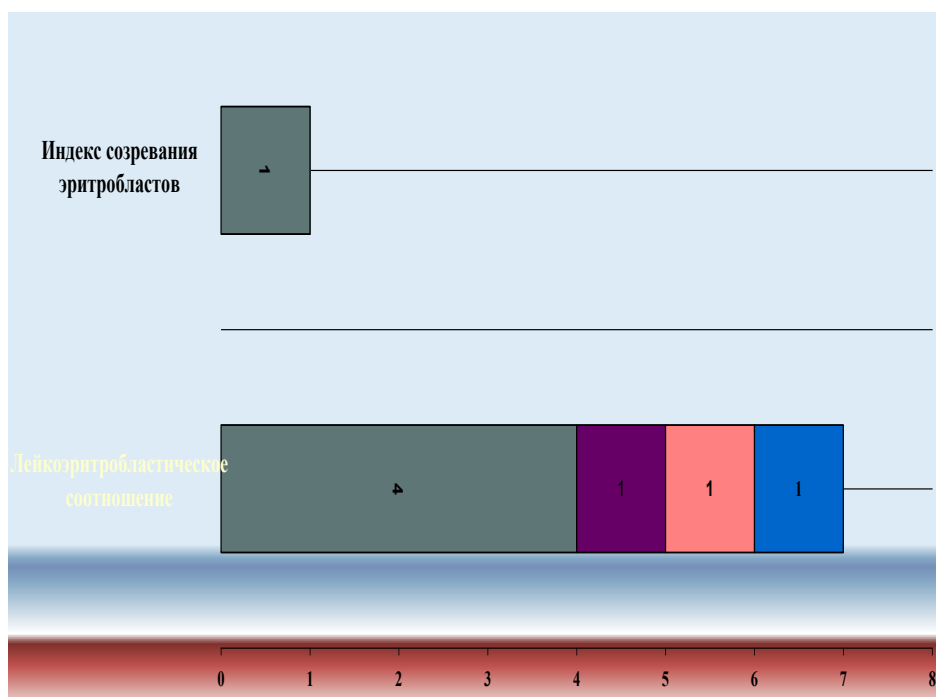


Рис. 4.14. Клеточные элементы костного мозга крыс под действием гликозил-НММ-1 в дозе 33 мг/кг (абс. зн.  $M \pm m$ ).

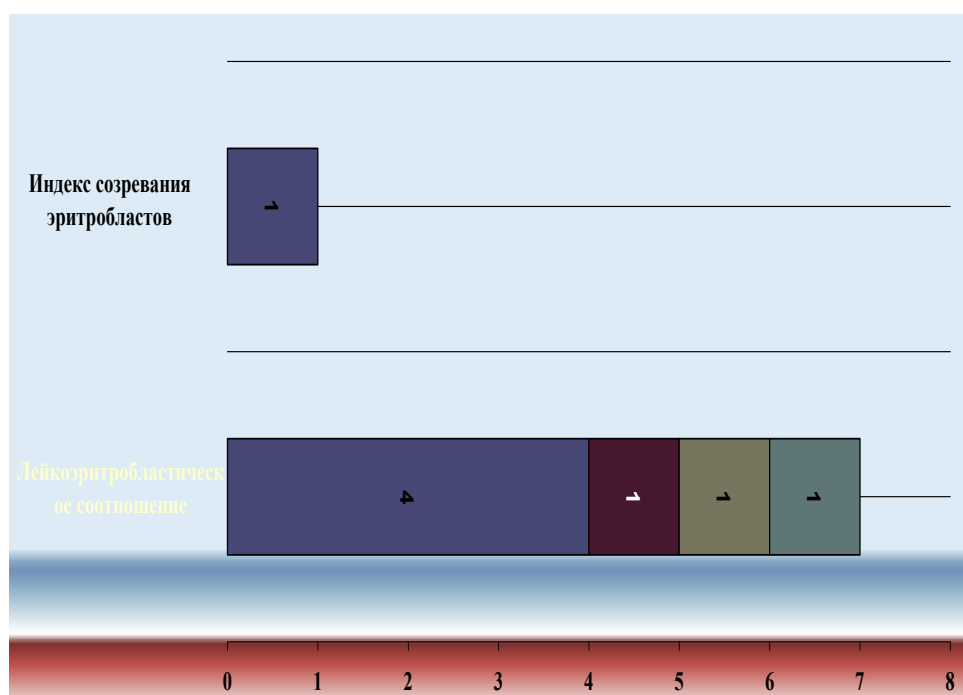


Рис. 4.15. Клеточные элементы костного мозга крыс под действием субстанции гликозил-НММ-1 в дозе 16 мг / кг (абс. зн.  $M \pm m$ ).

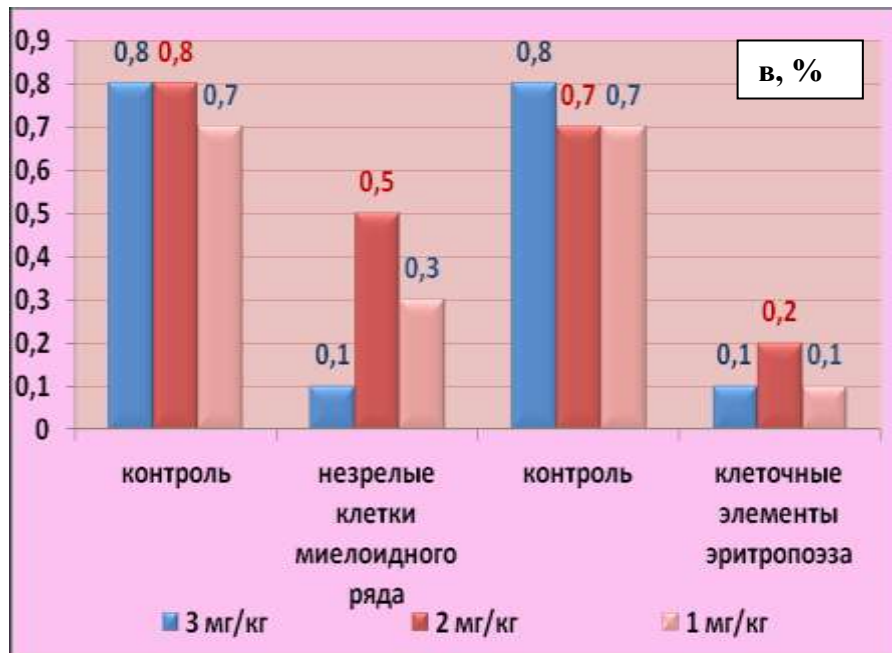


Рис. 4.16. Клеточные элементы костного мозга у крыс под действием циклофосфамида ( $P \leq 0,05$ ).

В опытах изучалось влияние субстанции гликозил-НММ-1 и циклофосфамида на костномозговой индекс нейтрофилов, созревание эритробластов и лейко-эритробластическое соотношение. Биохимические и гематологические исследования у животных контрольной группы проводились до начала введения исследуемых средств. Кровь забиралась после одномоментного гильотинирования, с последующим извлечением костного мозга из бедренной кости для исследования миелограммы.

Из рис. 4.13.-4.16. видно, что у животных III-V групп после введения гликозил-НММ-1 в клеточном элементе мозга снижения количества лимфоцитов ( $14,3 \pm 5,29$ ;  $13 \pm 0,21$  и  $14,3 \pm 0,01$  против  $14,25 \pm 1,87$ ;  $14,25 \pm 0,1$  и  $13,5 \pm 0,2$  в контроле), моноцитов ( $2,7 \pm 0,04$ ,  $2,1 \pm 0,8$ ;  $3 \pm 1,4$  против  $3,25 \pm 0,2$ ;  $2,5 \pm 0,5$  и  $2,75 \pm 0,3$  в контроле 2), плазматических клеток ( $0,1 \pm 0,03$ ;  $0,7 \pm 0,07$ ;  $1,0 \pm 0,08$  против  $0,2 \pm 0,2$ ;  $1,5 \pm 0,5$  и  $0,7 \pm 0,2$  в контроле 2), ретикулоциты ( $0,3 \pm 0,02$ ;  $0,2 \pm 0,1$ ;  $0$  против  $0,2 \pm 0,01$ ;  $0$ ;  $0$ ), мегакариоцитов ( $43,0 \pm 0,7$ ;  $42,5 \pm 0,4$  и  $33,25 \pm 0,25$  против  $33,25 \pm 0,25$ ;  $42,5 \pm 0,5$  и  $42,75 \pm$

0,50 в контроле), повышения числа незрелых клеток миелоидного ряда ( $0,25$ ;  $12,5 \pm 0,5$  и  $12,75 \pm 0,50$ ), снижения количества элементов эритропоэза, угнетения гемопоэза не наблюдалось. Лейко-эритробластическое соотношение ( $1,4$ ;  $1,6$  и  $1,2$  против  $2$  в контроле) в клеточном элементе костного мозга, миелограмма соответствует норме.

Циклофосфамид обладает слабовыраженной лейкотоксичностью. Препарат в дозе  $3$  мг/кг у животных VI опытной группы вызывает изменения в ростках кроветворения у крыс. В крови наблюдается лейкопения и тромбоцитопения. Показатели красной крови несколько повышены, в исследуемых дозах циклофосфамида отмечается снижение количества незрелых клеточных элементов миелопоэза ( $0,1 \pm 0,04$ ;  $0,5 \pm 0,09$ ;  $0,3 \pm 0,01$  против  $0,8 \pm 0,07$ ;  $0,8 \pm 0,1$ ;  $0,7 \pm 0,07$  в контроле  $2$  при  $P \leq 0,05$ ). В костном мозге животных незрелые клетки миелоидного ряда встречаются с повышенной базофилией цитоплазмы и уменьшено количество элементов эритропоэза ( $0,1 \pm 0,07$ ;  $0,2 \pm 0,02$ ;  $0,1 \pm 0,9$  против  $0,8 \pm 0,03$ ;  $0,7 \pm 0,7$ ;  $0,7 \pm 0,01$  в контроле  $2$  при  $P \leq 0,05$ ). Наблюдается нестойкое ( $5$  дней) угнетение гемопоэза, после чего наступает быстрая регенерация.

Таким образом, после введения гликозил-НММ-1 в исследуемых дозах у животных в течение трех месяцев изменений костно-мозгового кроветворения не замечено. Под влиянием циклофосфамида в дозе  $3$  мг/кг наблюдается снижение содержания лимфоцитов, мегакариоцитов и лейко-эритробластического соотношения в клеточном элементе.

#### **4.2.6. Влияние субстанции гликозил-НММ-1 на обмен веществ у животных**

Изучение влияния гликозил-НММ-1 и циклофосфамида на обмен веществ в организме у животных (белковый, углеводный и липидный) проводилось по общеизвестным методам [142, 169].



Определены биохимические показатели сыворотки крови (общий белок, белковые фракции, креатинин, мочевины, остаточный азот, сахар крови, общие липиды,  $\beta$ -липопротеиды и холестерин крови) (рис. 4.17.- 4.20.) [61].

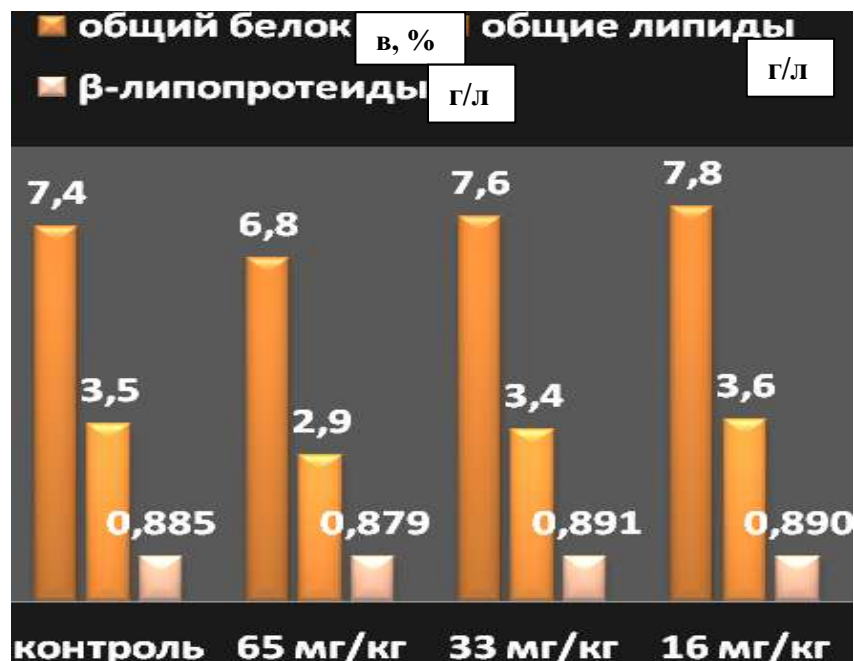


Рис. 4.17. Динамика биохимических показателей сыворотки крови крыс при введении гликозил-НММ-1 в течение 1; 2 и 3 месяцев (абс. зн.  $M \pm m$ ).

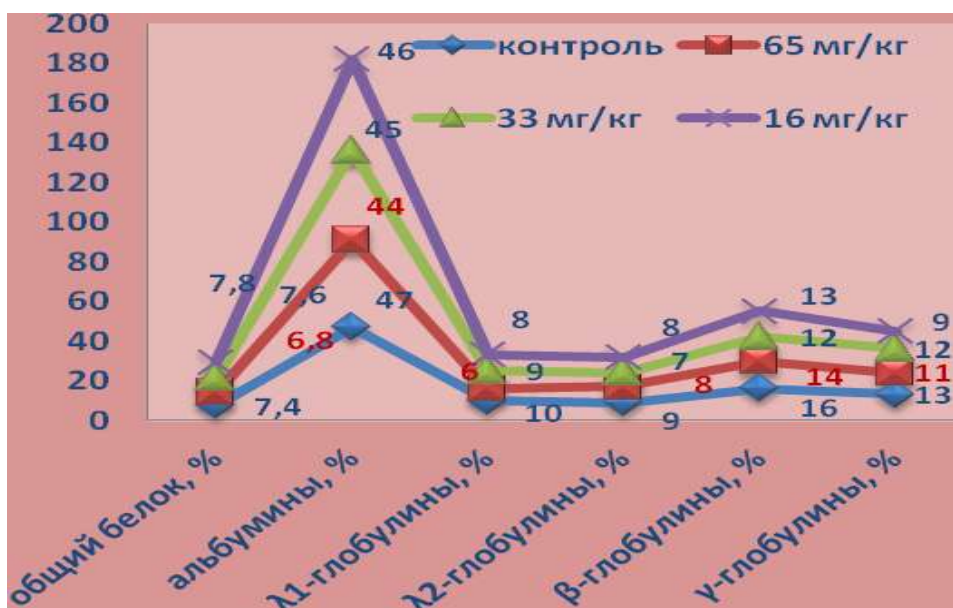


Рис. 4.18. Влияние субстанции гликозил-НММ-1 в дозах: 65; 33 и 16 мг/кг на уровень общего белка и белковых фракций (абс. зн.  $M \pm m$ )



Рис. 4.19. Биохимические показатели сыворотки крови у крыс после введения гликозил-НММ-1 в дозах 65; 33 и 16 мг/кг в течение трех месяцев (абс. зн.  $M \pm m$ ).

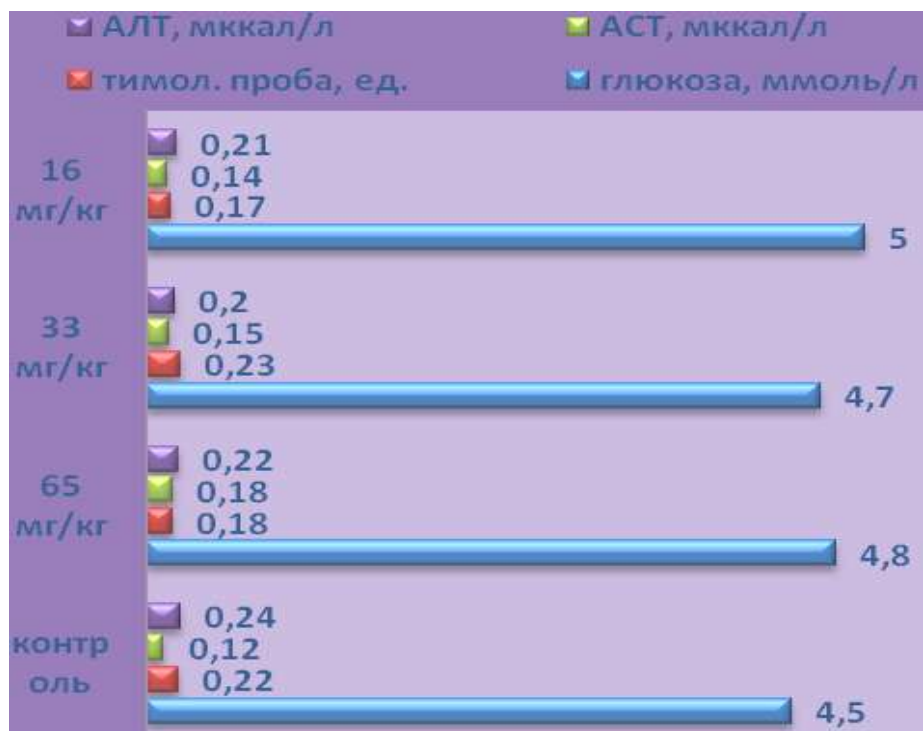


Рис. 4.20. Показатели сыворотки крови крыс после введения гликозил-НММ-1 в дозах 65; 33 и 16 мг/кг в течение трех месяцев (абс. зн.  $M \pm m$ ).

У животных получавших гликозил-НММ-1 в дозе 65 мг/кг снижения количества общего белка ( $6,8 \pm 0,17$  против  $7,4 \pm 0,13$  г %) не наблюдалось. В дозах 33 и 16 мг/кг уменьшения количества общего белка в сыворотке крови ( $7,6 \pm 0,15$  и  $7,8 \pm 0,13$  против  $7,4 \pm 0,13$  г %) также не обнаружено.

Циклофосфамид в дозе 3 мг/кг уменьшает содержание общего белка, уровень общих липидов и  $\beta$ -липопротеидов в сыворотке крови ( $P \leq 0,05$ ). Проведено изучение субстанции гликозил-НММ-1 в исследуемых дозах в течение трех месяцев на содержание креатинина ( $115,8 \pm 5,3$ ;  $119,4 \pm 6,4$  и  $114,6 \pm 7,8$  против  $120,7 \pm 6,2$ ), мочевины ( $8,3 \pm 0,22$ ;  $7,6 \pm 0,41$  и  $8,1 \pm 0,53$  против  $7,5 \pm 0,33$ ), остаточного азота ( $20,6 \pm 3,5$ ;  $20,2 \pm 3,7$  и  $20,1 \pm 2,7$  против  $21 \pm 3,6$ ) и холестерина крови ( $6,6 \pm 0,18$ ;  $6,2 \pm 0,14$  и  $6,1 \pm 0,24$  против  $6,9 \pm 0,19$  в контроле 2), которые находились в пределах нормы (рис. 4.21). Изучение



Рис. 4.21. Биохимические показатели сыворотки крови у крыс после введения циклофосфамида в течение трех месяцев ( $P \leq 0,01$ ).

циклофосфамида в дозе 3 мг/кг в 1-й месяц опыта повышает содержание холестерина ( $13,9 \pm 0,41$  против  $5,1 \pm 0,24$ ), креатинина ( $128,5 \pm 7,5$ ; против

114,6 ± 7,8), мочевины (15,5 ± 0,30 против 8,1 ± 0,53) и остаточного азота (28,6 ± 2,6 против 20,1 ± 2,7 в контроле 2 при  $P \leq 0,01$ ). Циклофосфамид в дозах 2 в 1 мг/кг на 2-3 месяц опыта не повышает содержание холестерина (8,3 ± 0,22 и 6,9 ± 0,18 против 5,1 ± 0,24), креатинина (124,0 ± 6,7 и 120,7 ± 6,9 против 114,6 ± 7,8), мочевины (12,3 ± 0,39 и 10,1 ± 0,09 против 8,1 ± 0,53) и остаточного азота (25,1 ± 4,3 и 19,4 ± 2,6 против 20,1 ± 2,7 в контроле 2).

Влияние гликозил-НММ-1 и циклофосфамида в исследуемых дозах в течение трех месяцев на островковую часть поджелудочной железы определялось по изменению содержания глюкозы в крови на селективном анализаторе фирмы Грайнер. Нами проведено изучение субстанции и препарата на содержание глюкозы (рис. 4.22). В опытах на крысах установлено,

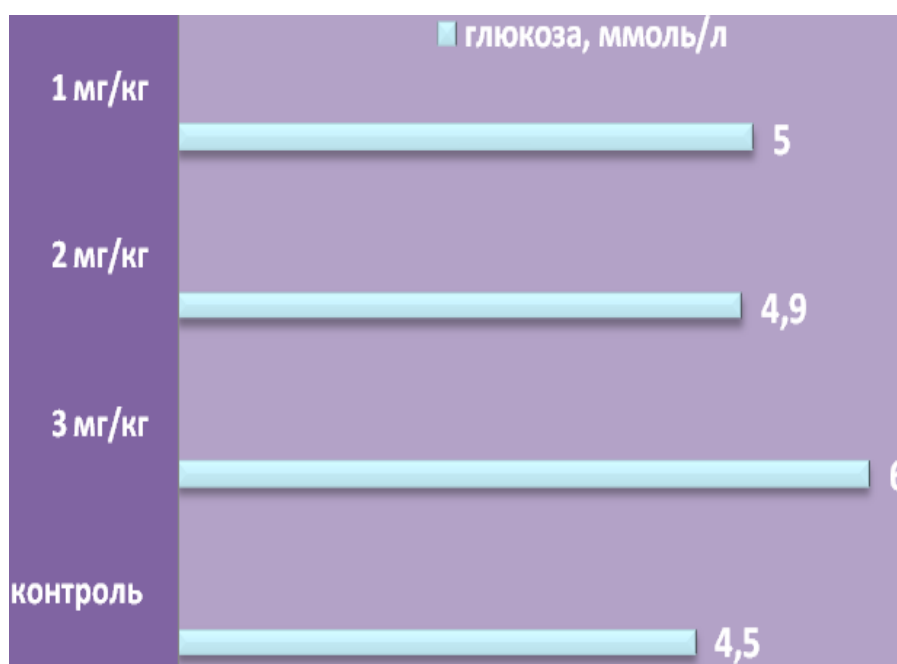


Рис. 4.22. Содержание глюкозы в крови у крыс при введении циклофосфамида в дозах 3; 2 и 1 мг/кг в течение 3-х месяцев (абс. зн.  $M \pm m$ ).

что гликозил-НММ-1 и циклофосфамид в испытуемых дозах не повышают уровень глюкозы в крови (4,8 ± 0,21; 4,7 ± 0,19 и 5,0 ± 0,22) и (6,0 ± 0,20; 4,9

$\pm 0,17$  и  $5,0 \pm 0,23$  против  $4,5 \pm 0,16$  в контроле 2). Отсутствие глюкозурии  $0,17$  и  $5,0 \pm 0,23$  против  $4,5 \pm 0,16$  в контроле 2). Отсутствие глюкозурии показало, что исследуемые средства не влияют на инсулярный аппарат поджелудочной железы, не вызывают глюкозурию и не обладают диабетогенным эффектом.

Известно, что в токсической дозе циклофосфамид вызывает повышение уровня глюкозы в крови у животных с инсуломой. Тропность к поджелудочной железе лежит в основе лечебного действия при инсуломах [44, 117, 182].

Исследования отдельных биохимических тестов показали, что гликозил-НММ-1 в дозе 65 мг/кг не повышает уровень общих липидов и  $\beta$ -липопротеидов в сыворотке крови ( $2,9 \pm 0,35$  г/л против  $3,5 \pm 0,29$  г/л) и ( $0,879 \pm 0,06$  г/л, против  $0,885 \pm 0,7$  г/л). В дозах 33 и 16 мг/кг повышения уровня общих липидов и  $\beta$ -липопротеидов в сыворотке крови ( $3,4 \pm 0,28$  и  $3,6 \pm 0,25$  г/л против  $3,5 \pm 0,29$  г/л) и ( $0,891 \pm 0,07$  и  $0,890 \pm 0,05$  г/л против  $0,885 \pm 0,7$  г/л) не наблюдалось.

Результаты исследований показали, что гликозил-НММ-1 в дозе 65 мг/кг не вызывает тенденцию к снижению количества общего белка, не повышает уровень липидов и  $\beta$ -липопротеидов в сыворотке крови. Циклофосфамид снижает количество общего белка, уровень липидов и  $\beta$ -липопротеидов в крови; в дозах: 3 и 2 мг/кг не уменьшает содержание общего белка, липидов и  $\beta$ -липопротеидов.

Таким образом, влияние гликозил-НММ-1 в исследуемых дозах в течение трех месяцев не вызывает изменений общего количества белка, уровня липидов и  $\beta$ -липопротеидов в сыворотке крови и не обладает диабетогенным эффектом. Циклофосфамид снижает количество общего белка, уровень липидов и  $\beta$ -липопротеидов в крови. В дозе 3 мг/кг повышает биохимические показатели (холестерин, креатинин, мочевины и остаточный азот).

#### 4.2.7. Изучение влияния гликозил-НММ-1 на детоксицирующую функцию печени животных

Влияние гликозил-НММ-1 и циклофосфида на активность неспецифических оксидаз печени оценивалось по продолжительности сна животных после введения гексенала (Plea et al., 1958).

Эксперименты проводились в теплом и тихом помещении. Определялась масса тела животных и в/б вводился раствор гексенала в дозе 90 мг/кг на изотоническом растворе хлорида натрия (0,9 %) (рис. 4.23.).

При введении гликозил-НММ-1 в исследуемых дозах в течение трех месяцев у III-V опытных групп активность неспецифических оксидаз, аланин-, аспаргатаминотрансферазы (АЛТ и АСТ) ( $0,22 \pm 0,01$ ;  $0,20 \pm 0,03$ ;  $0,21 \pm 0,12$  и  $0,18 \pm 0,41$ ;  $0,15 \pm 0,31$ ;  $0,14 \pm 0,12$  против  $0,24 \pm 0,02$  и  $0,12 \pm 0,08$  в контроле 2) печени оценивалась по продолжительности сна. Как показали результаты исследований, полученные данные не отличались от контроля 2.



Рис. 4.23. Влияние субстанции гликозил-НММ-1 на продолжительность гексеналового сна у крыс (абс. зн.  $M \pm m$ ).

Через 2 и 3 месяца опыта у животных продолжительность сна соответствовала в норме. Циклофосфамид в дозе 3 мг/кг оказывает влияние на окислительно-восстановительные процессы: снижается активность альдолазы, пероксидазы крови, повышается активность АСТ ( $1,0 \pm 0,07$  против  $0,12 \pm 0,08$  в контроле 2 при  $P \leq 0,05$ ) (рис. 4.24). В дозах 2 и 1 мг/кг активность АСТ ( $0,90 \pm 0,06$  и  $0,80 \pm 0,027$  против  $0,12 \pm 0,02$  в контроле 2) не изменяется. Активность АЛТ в исследуемых дозах ( $1,05 \pm 0,17$ ;  $0,90 \pm 0,06$  и  $0,80 \pm 0,027$  против  $0,24 \pm 0,02$  в контроле 2) в пределах нормы.

Результатами исследования установлено, что введение гликозил-НММ-1 в испытуемых дозах в течение трех месяцев не влияет на активность неспецифических оксидаз печени, оцениваемую по продолжительности сна. После введения циклофосфамида в дозе 3 мг/кг у животных длительность сна уменьшилась, через 2-3 месяца эксперимента стала непродолжительной.

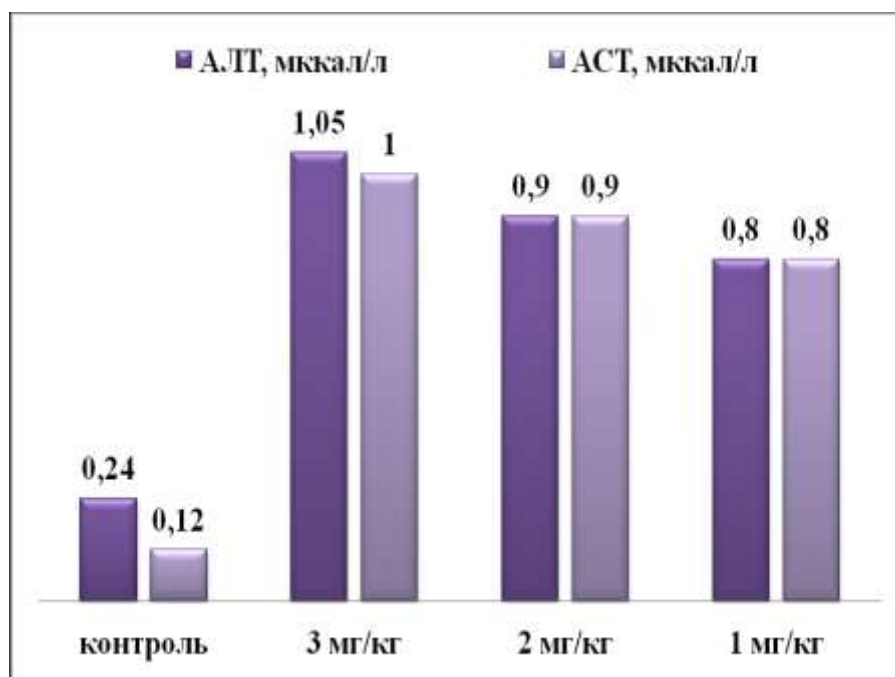


Рис. 4.24. Показатели сыворотки крови крыс после введения циклофосфамида в течение трех месяцев ( $P \leq 0,05$ ).

Т.о., гликозил-НММ-1 в исследуемых дозах не влияет на активность неспецифических оксидаз печени, оцениваемую по продолжительности сна, не оказывает отрицательного действия на детоксицирующую функцию печени, а циклофосфамид в течение месяца снижает данную функцию.

#### 4.2.8. Влияние субстанции гликозил-НММ-1 на функции почек у подопытных животных

Функциональное состояние мочевыводящей системы оценивалось по величине диуреза и анализу мочи (Предтеченский В. Е., 1960). Оценка функциональной активности почек и анализ мочи по секреции фенол-красного проведены до опыта и через 1; 2 и 3 месяца после начала введения субстанции гликозил-НММ-1 и циклофосфамида (рис. 4.25-4.26).



Рис. 4.25. Влияние субстанции гликозил-НММ-1 на выделительную функцию почек у крыс (абс. зн.  $M \pm m$ ).





Рис. 4.26. Влияние циклофосфида на выделительную функцию почек у крыс ( $P \leq 0,01$ ).

Таким образом, гликозил-НММ-1 в течение трех месяцев не изменяет выделительную функцию почек. Циклофосфамид в дозе 3 мг / кг через месяц нарушает функцию почек и снижает суточный диурез.

#### 4.2.9. Изучение влияния субстанции гликозил-НММ-1 на состояние ЦНС у животных

##### 4.2.9.1. Изучение поведенческих реакций у животных под влиянием субстанции гликозил-НММ-1

Для оценки влияния гликозил-НММ-1 на состояние ЦНС животных проведено изучение поведенческих реакций в 1; 2 и 3 месяцы в сравнении с циклофосфамидом. Опыты проведены на 160 белых беспородных мышах массой 22-25 г обоих полов [60, 78].

До начала введения средств изучались исходные данные путем тестирования в «открытом поле». В течение двух минут регистрировалось число перемещений из квадрата в квадрат, вставаний на задние лапки – вертикальные перемещения, заглядываний в отверстия, умываний и количество вегетативного компонента. Полученные данные сравнивались с результатами повторных исследований ориентировочно-исследовательского поведения животных, проводимых один раз в месяц в течение трех месяцев.

Как видно из рис. 4.27-4.28, введение гликозил-НММ-1 и циклофосамида в дозах 40 и 2 мг/кг у мышей III и VI опытной группы не вызывало статистически достоверных изменений уровня горизонтального перемещения и исследовательских реакций. Количество умываний увеличилось статистически незначительно ( $0,6 \pm 0,38$ ;  $6,8 \pm 0,52$ ;  $7,0 \pm 0,44$ ) и ( $0,3 \pm 0,35$ ;  $6,6 \pm 0,50$ ;  $6,9 \pm 0,43$ ) против  $0,1 \pm 0,61$   $1,9 \pm 0,57$ ;  $3,4 \pm 0,62$  при  $P \leq 0,5$ ). При этом несколько снижался вегетативный компонент ( $1,1 \pm 0,21$ ;  $1,0 \pm 0,27$ ; 0 и  $0,8 \pm 0,18$ ;  $0,8 \pm 0,25$ ; 0 против  $6,6 \pm 0,25$ ;  $4,9 \pm 0,33$ ; 0 при  $P \leq 0,5$ ). К концу введения

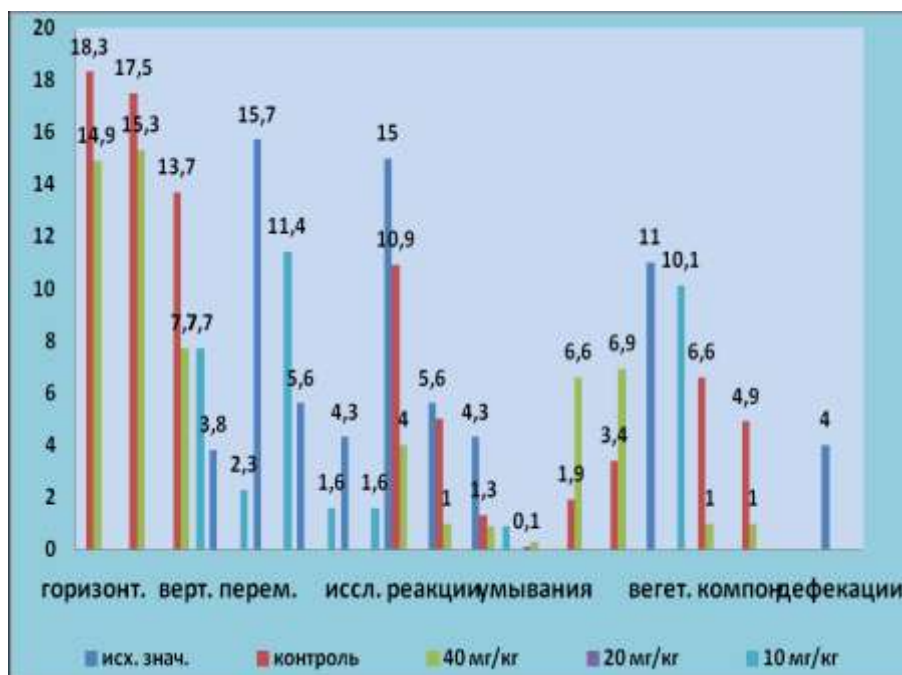


Рис. 4.27. Влияние гликозил-НММ-1 на показатели поведенческих реакций у мышей в тесте «открытого поля» ( $P \leq 0,5$ ).

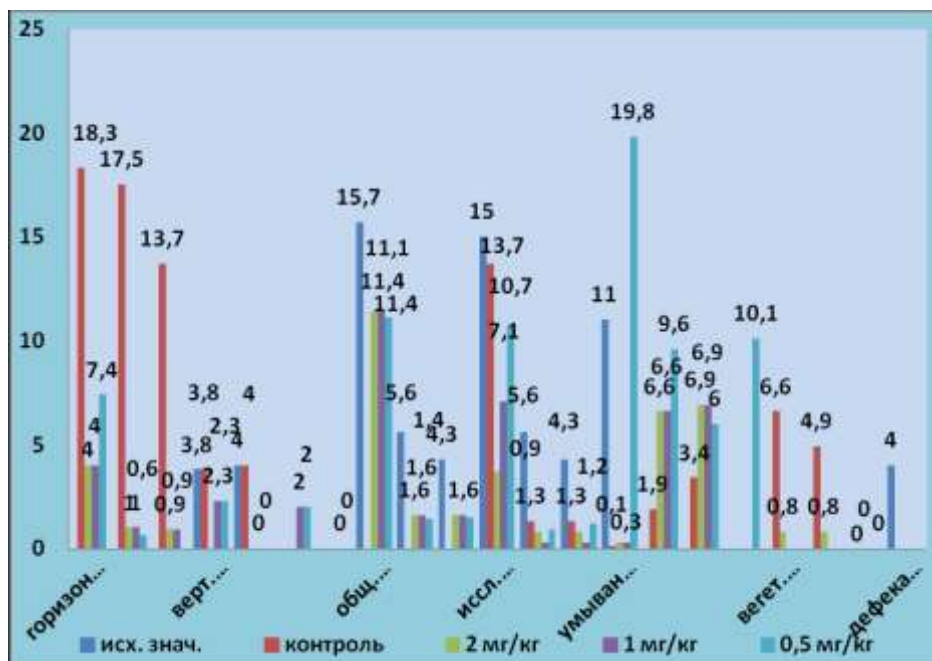


Рис. 4.28. Действие циклофосфида на показатели поведенческих реакций у мышей в тесте «открытого поля» ( $P \leq 0,5$ ).

субстанции и циклофосфида отмечалось снижение уровня горизонтального перемещения и исследовательских реакций в «открытом поле» ( $14,9 \pm 1,77$ ;  $15,3 \pm 0,85$ ;  $7,7 \pm 1,56$ ); ( $4,0 \pm 0,58$ ;  $1,0 \pm 0,61$ ;  $0,9 \pm 0,64$ ) и ( $14,6 \pm 1,74$ ;  $15,1 \pm 0,83$ ;  $7,6 \pm 1,55$ ); ( $3,7 \pm 0,55$ ;  $0,8 \pm 0,59$ ;  $0,8 \pm 0,63$ ) против  $18,3 \pm 1,76$ ;  $17,5 \pm 1,86$ ;  $13,7 \pm 1,72$  и  $10,9 \pm 0,63$ ;  $5,0 \pm 0,36$ ;  $1,3 \pm 0,97$  в контроле 2 при  $P \leq 0,5$ ). Однако, изменений поведения у мышей через 2 месяца не прослеживалось. Через 3 месяца отмечается уменьшение числа горизонтальных перемещений и заглядываний в отверстия ( $7,7 \pm 1,56$ ;  $0,9 \pm 0,64$ ); ( $7,4 \pm 1,53$ ;  $0,6 \pm 0,61$ ) и ( $7,4 \pm 1,52$ ;  $0,6 \pm 0,58$ ); ( $7,1 \pm 1,50$ ;  $0,3 \pm 0,58$ ) против  $13,7 \pm 1,72$  и  $1,3 \pm 0,97$  в контроле 2), что указывает на незначительное снижение уровней общей двигательной и исследовательской активности ( $11,4 \pm 2,18$ ;  $1,6 \pm 0,71$ ;  $1,6 \pm 0,84$ ); ( $11,1 \pm 2,15$ ;  $1,3 \pm 0,68$ ;  $1,3 \pm 0,83$ ) и ( $11,1 \pm 2,15$ ;  $1,4 \pm 0,67$ ;  $1,5 \pm 0,85$ ); ( $10,7 \pm 2,11$ ;  $0,9 \pm 0,65$ ;  $1,2 \pm 0,82$ ) против  $15,4 \pm 5,26$ ;  $5,4 \pm 0,96$ ;  $4,2 \pm 0,69$  в исходных значениях при  $P \leq 0,5$ ). Число вертикальных перемещений и количество дефекаций уменьшилось ( $2,3 \pm 0,8$ ;  $0$ ;  $2,0 \pm 0,5$ ;  $0$ ) и ( $2,0 \pm 0,5$  и  $0$  и

1,9 ± 0,4 и 0) против 3,8 ± 0,66 и 4), но количество эпизодов груминга (10,1 ± 0,6); (9,8 ± 0,5; 8) и (19,8 ± 0,6); (9,6 ± 0,5; 6 против 11,0 ± 0,94) не отличалось по сравнению с исходными данными. Из рис. 4.27-4.28 видно, что показатели поведения не претерпели достоверных изменений.

Результаты тестирования у мышей, получавших гликозил-НММ-1 и циклофосфамид в дозах 40 и 2 мг/кг были аналогичны данным, полученным к концу двухмесячного введения субстанции и циклофосфамида. После введения циклофосфамида в дозе 2 мг/кг отмечается некоторое снижение основных показателей поведенческих реакций у мышей в тесте «открытого поля», которое нормализовалось через месяц эксперимента. При применении препарата сравнения в дозах 1 и 0,5 мг/кг основные показатели поведенческих реакций у животных остаются в пределах нормы.

Таким образом, гликозил-НММ-1 и циклофосфамид в исследуемых дозах не нарушают поведенческие реакции у животных в тесте «открытого поля».

#### **4.2.9.2. Изучение нейродинамической активности субстанции гликозил-НММ-1 на животных**

Влияние исследуемых средств на состояние ориентировочных рефлексов изучалось с использованием теста «залезания на сетку» в сравнении с циклофосфамидом [60, 79]. Регистрировалось количество мышей, поднявшихся в течение 5 минут по проволочной сетке, натянутой под углом 60° в верхний затемненный отсек камеры. В ходе опыта количество мышей, получавших гликозил-НММ-1 и циклофосфамид в дозах 40 и 2 мг/кг, поднявшихся в течение 5 минут по проволочной сетке стало несколько меньше (13,4 ± 0,6; 13,3 ± 0,4; 12,3 ± 0,8; 10 ± 0,7 и 8 ± 0,9) и (13,1 ± 0,3; 13,0 ± 0,1; 12,0 ± 0,5; 7 ± 0,4 и 5 ± 0,6) против 14,6 ± 0,6; 13,2 ± 0,3, 12 ± 0,9, 9,8 ± 0,6; 13,1 ± 0,6 при (P ≤ 0,5), чем до опыта (рис. 4.29-4.30.). Субстанция и препарат сравнения в дозах

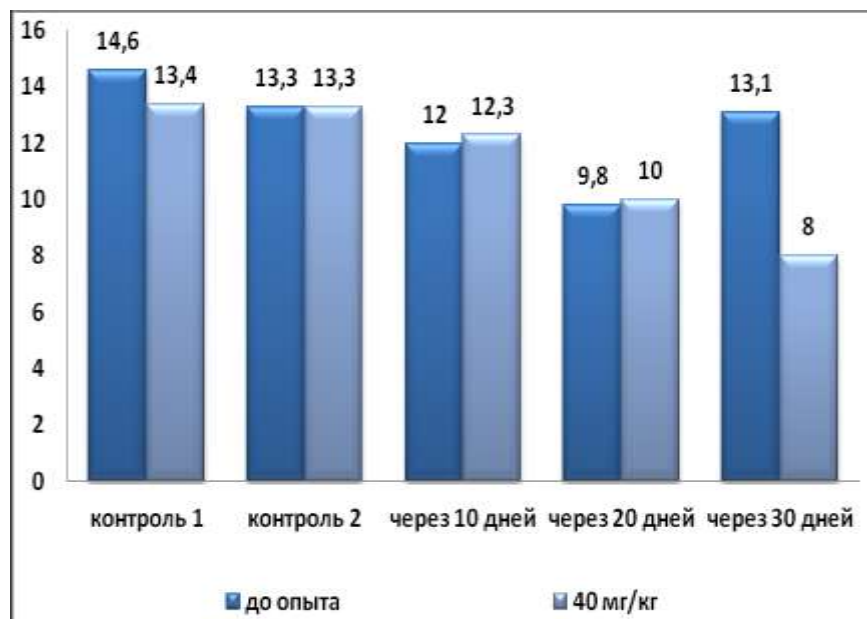


Рис. 4.29. Показатели нейродинамической активности у мышей при введении гликозил-НММ-1 в дозе 40 мг/кг (абс. зн.  $M \pm m$ ).

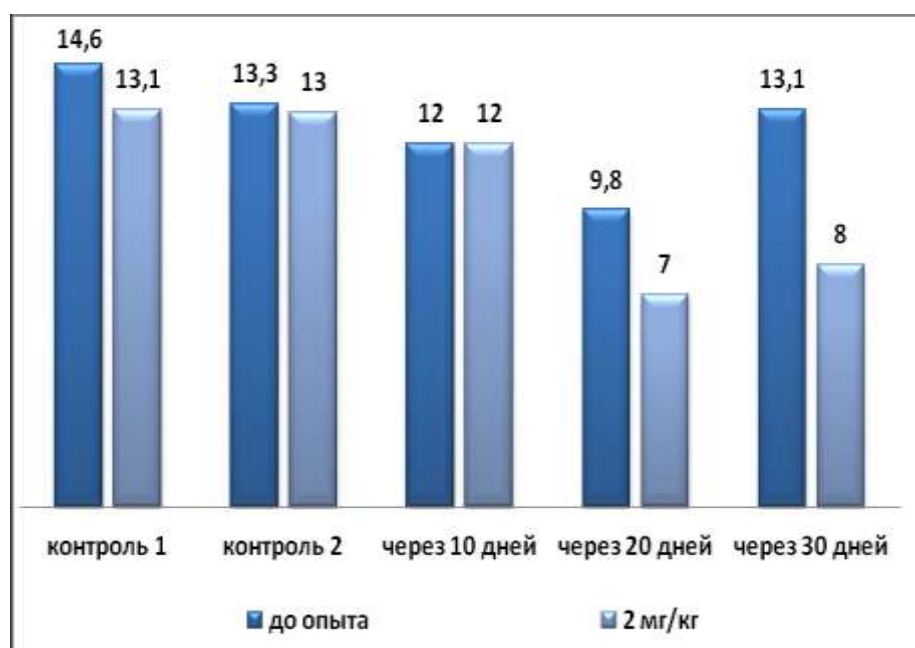


Рис. 4.30. Показатели нейродинамической активности у мышей при введении циклофосфида в дозе 2 мг/кг (абс. зн.  $M \pm m$ ).

Действие гликозил-НММ-1 на рефлекс «подтягивания» задних конечностей у животных изучалось в сравнении с циклофосфамидом.

Проводилась оценка способности нарушать реакцию «подтягивания» задних конечностей при помещении передних конечностей на горизонтально натянутую проволоку. Результаты опыта показали, что у всех опытных групп реакция «подтягивания» задних конечностей не нарушалась.

Обобщая вышеизложенное, можно констатировать о том, что гликозил-НММ-1 и циклофосфамид в течение трех месяцев опыта не было нарушено состояние ориентировочных рефлексов с использованием теста «залезания на сетку», рефлекс «положения», «подтягивания» задних конечностей, который не вызывает миерелаксирующего эффекта.

Таким образом, изучение нейродинамической активности у животных показало, что гликозил-НММ-1 и циклофосфамид в исследуемых дозах не понижают поведенческие реакции; ориентировочные рефлексы и не вызывают миерелаксирующего действия.

#### **4.2.9.3. Изучение действия субстанции гликозил-НММ-1 на координацию движения у животных**

Влияние гликозил-НММ-1 на координацию движения у мышей оценивалось с помощью теста «вращающегося стержня» в сравнении с циклофосфамидом. Изучение влияния субстанции и препарата сравнения на координацию движения у животных проводилось до опыта, в 1, 2 и 3 месяца. После введения средств мыши III-VIII опытных групп помещались на горизонтальный стержень диаметром 2 см, вращающийся со скоростью 5 оборотов в минуту. В течение двух минут все животные удерживали равновесие на стержне. Проведенные опыты показали, что все животные удерживали равновесие на стержне и исследуемые средства не нарушают координацию движения. Результаты изучения нейродинамической активности у животных показали, что гликозил-НММ-1 и циклофосфамид в исследуемых дозах не нарушают координацию движения у животных.

Таким образом, изучение токсичности в условиях хронического опыта при введении субстанции гликозил-НММ-1 показало, что не вызывает потерю в массе тела, повышения ректальной температуры, токсического действия на функции ССС и органов дыхания у экспериментальных животных. Наблюдается тенденция к незначительной лейкопении, не влияет на клеточные элементы костного мозга, не уменьшает количества общего белка, уровня липидов,  $\beta$ -липопротеидов крови, не нарушает детоксицирующую функцию печени, почек, функции ЦНС: ориентировочно-исследовательские реакции, координацию движения, нейродинамическую активность и миерелаксирующий эффект. Препаратом сравнения в дозе 2 мг/кг приводит к выраженной лейкопении, снижению относительного и абсолютного количества лимфоцитов в крови, массы тела, не обладает пирогенным свойством, токсическим действием на функции ССС и органы дыхания; снижает содержание общего белка, незначительно повышает уровень липидов и  $\beta$ -липопротеидов в крови, нарушает функцию печени; почек, суточный диурез; не снижает функции ЦНС, ориентировочные рефлексy; в дозах 1 и 0,5 мг/кг вызывает тромбоцитопению, повышение показателей красной крови, тенденцию к угнетению миелопоэза; снижает лимфоциты, мегакарициты и лейко-эритробластическое соотношение в костном мозге; не уменьшает общий белок, не увеличивает липиды и  $\beta$ -липопротеиды, не обладает диабетогенным эффектом; не понижает функции ЦНС: нейродинамическую активность, тонус мускулатуры у животных.

#### **4.2.10. Морфологическое изучение внутренних органов животных в условиях хронической токсичности**

Микроскопически органы у крыс контрольных групп в норме [66].

После введения гликозил-НММ-1 в дозе 65 мг/кг в течение трех месяцев в области инъекции эпидермис несколько утолщен, отмечаются разрастания в

подлежащую ткань. Соединительная ткань дермы умеренно отечная, определяется слабая фибробластическая реакция. Наблюдаются единичные очаги коллагенообразования, уплотнение и огрубение коллагеновых пучков. В подлежащей мышечной ткани некоторые мышечные волокна истончены, определяется разрастание соединительной ткани. Имеются лимфоциты и гистиоциты. В гиподерме отмечаются тучные клетки. В дозах 33 и 16 мг/кг отличий от контроля не определяется.

Субстанция в дозе 40 мг / кг в белом веществе головного мозга у мышей выявляется эритростаз, увеличение олигодендроглиоцитов. Встречаются варикозно измененные нервные волокна. Гликозил-НММ-1 в дозах 20 и 10 мг/кг не вызывает изменений.

После введения гликозил-НММ-1 в дозе 65 мг/кг крысам в отдельных полях зрения трабекулярная организация гепатоцитов нерегулярная, радиальное расположение местами отсутствует (рис. 4.31). Отмечена дисконфлексация разрыхление стенок сосудов, огрубение волокнистого каркаса. В перипортальных зонах встречаются дистрофически измененные эпителиальные клетки желчевыводящих протоков, узелковые скопления лимфоидных клеток, активизация клеток ретикулоэндотелиальной системы. В дозах 33 и 16 мг/кг признаков патологических изменений не обнаружено.

После введения гликозил-НММ-1 в дозе 65 мг/кг отмечается полнокровие сосудов. Кардиомиоциты окружены рыхлой волокнистой соединительной тканью, в которой обнаруживают полнокровные сосуды. Периваскулярно и в просветах сосудов наблюдаются лимфоциты. Сосуды микроциркуляторного русла расширены, полнокровны. В дозах 33 и 16 мг / кг изменений и отличий от контроля не обнаружено.

После введения гликозил-НММ-1 в дозе 65 мг / кг стенка крупных бронхов легких утолщена. Обширные участки слизистой оболочки заполнены лимфогистиоцитарным инфильтратом, иногда выходящим в просвет крупного бронха. Альвеолярный интерстиций отечный. Слизистые оболочки средних и



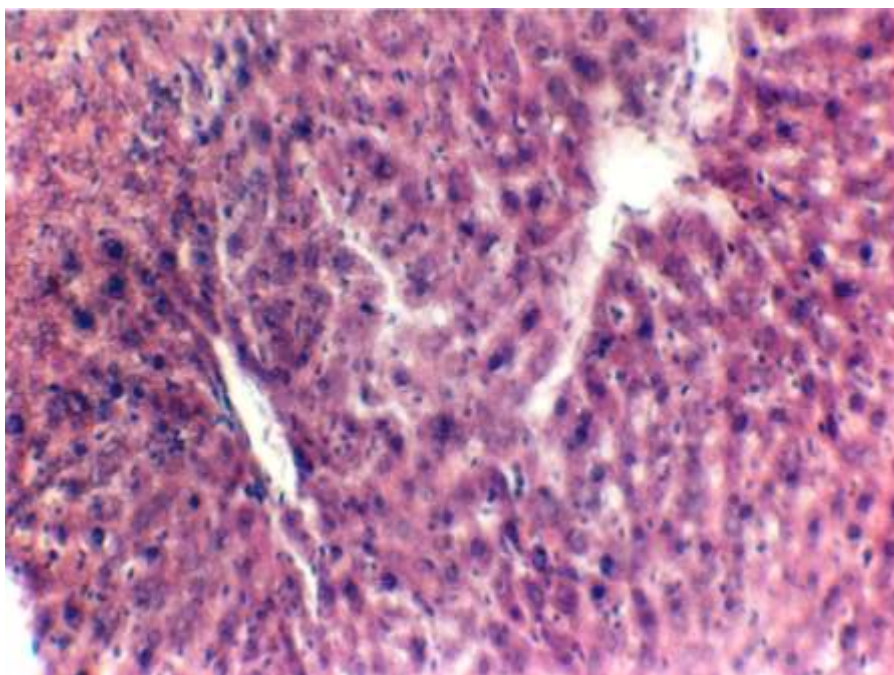


Рис. 4.31. Печень. Гликозил-НММ-1. 65 мг/кг. Трабекулярная организация гепатоцитов местами нерегулярная, расположение нарушено, цитоплазма гепатоцитов содержит зернистость, мелкие ядра и определяется мозаичная окраска гепатоцитов. Окраска гематоксилином и эозином. x200.

мелких бронхов умеренно инфильтрированы лимфоидными клетками, встречаются единичные макрофаги, тучные и плазматические клетки. Отмечается утолщение стенок, отечные проявления, местами в альвеолах - оксифильно окрашивающиеся массы. В дозе 33 мг / кг в перегородках – активированные макрофаги и тучные клетки. В дозе 16 мг / кг изменений не обнаружено.

При введении гликозил-НММ-1 в дозе 65 мг/кг ацинусы экзокринной части поджелудочной железы средних размеров. Островки Лангерганса без изменений. Сосуды полнокровны. Дольки железы дискретны за счет умеренного отека стромы. В соединительной ткани повышенное содержание лимфоидных клеток, выявляются макрофаги, плазмоциты, тучные клетки. В дозе 33 мг/кг ацинусы экзокринной части железы были раздвинуты

разрастаниями межучточной соединительной ткани. Панкреоциты дистрофически и атрофически изменены диффузно, встречаются очаги некроза. Поджелудочные островки атрофичны. Сосуды полнокровны, часто встречаются эритропедезные геморрагии, периваскулярно отмечены очаги лимфоцитарной инфильтрации. В дозе 16 мг/кг микроскопически отличий от контроля не определяется.

После введения гликозил-НММ-1 в дозе 65 мг/кг в желудке скопления эозинофильноокрашенных масс, а в поверхностном эпителии дистрофические изменения клеток и микроэрозии. Собственная пластинка слизистой отечна, гиперемирована, инфильтрирована лимфоцитами и макрофагами. Местами секреторный эпителий желез дистрофически изменен, границы стерты. В области дна желез, в прослойках мышечной пластинки, подслизистой оболочке обильная инфильтрация эозинофильными клетками. Просветы желез расширены (рис. 4.32). В дозе 33 мг/кг в покровном эпителии слизистой наблюдается снижение высоты цилиндрического эпителия вплоть до его уплощения. Экзокриноциты дистрофически изменены, набухшие, четко определяется доминирование слизиобразующих клеток, в большом количестве определяются малодифференцированные клетки. Просветы желез расширены, располагаются поверхностно-ямочные и добавочные клетки. В строме фундальных желез наряду с фибробластами, эозинофилами, макрофагами встречаются малодифференцированные клетки. В подслизистой оболочке наблюдаются отек стромы, полнокровие сосудов, выраженные очаговые скопления нейтрофилов. В дозе 16 мг/кг видимых изменений не обнаружено.

Гликозил-НММ-1 в дозе 65 мг/кг поверхностный эпителий ворсин тонкого кишечника уплощен, некротизирован. Энтероциты ворсинок и крипт дистрофически изменены, лишены щеточной каймы. Резко увеличено бокаловидные клетки. Повышенная лимфоидноклеточная инфильтрация стромы кишечных ворсинок. Сосуды полнокровны, отмечены геморрагии.

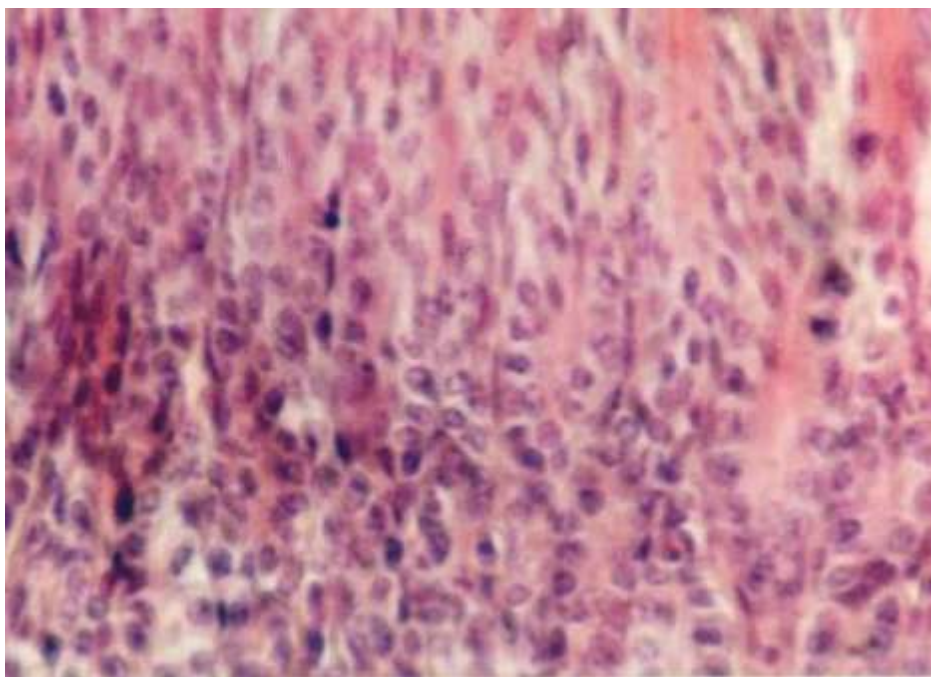


Рис. 4.32. Желудок. Гликозил-НММ-1. 65 мг/кг. Просветы желез, сосуды расширены, в них определяется слизь, межклеточные пространства расширены. В соединительной ткани - значительное содержание лимфоидных клеток, макрофагов. Окраска гематоксилином и эозином х400.

Характерны участки эрозии слизистой оболочки (рис. 4.33.). В дозе 33 мг/кг просветы сосудов расширены, отмечаются эритростазы. Бокаловидные клетки снижены. В подслизистой оболочке отмечаются слабо выраженные отечные проявления, умеренные лимфоцитарно-плазмоцитарные инфильтраты. В дозе 16 мг/кг видимых изменений не обнаружено.

При введении гликозил-НММ-1 в дозе 65 мг/кг покровный эпителий толстого кишечника уплощен, истончен, в отдельных участках слущен, базальная мембрана оголена (рис. 4.34.). Энтероциты в состоянии слизистого перерождения. На всем протяжении крипт бокаловидные клетки увеличены. У основания крипт отмечается ослизнение эпителия. Строма крипт разрыхлена, местами отслоена от покровного эпителия. Клеточные элементы представлены лимфоцитами, фибробластами и макрофагами. Количество лимфоидных

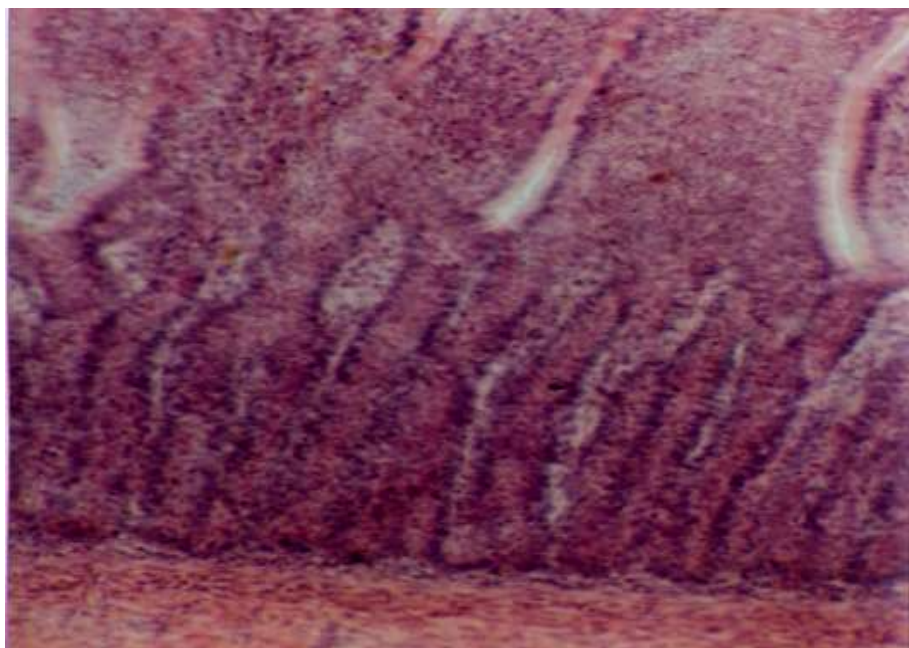


Рис. 4.33. Тонкий кишечник. Гликозил-НММ-1. 65 мг/кг. Поверхностный эпителий ворсин уплощен, имеет нечеткие контуры, во многих участках некротизирован. Энтероциты с признаками выраженных дистрофических изменений. В строме повышенная лимфоидноклеточная инфильтрация. Сосуды и капилляры стромы резко полнокровны. Окраска гематоксилином и эозином. x200.

фолликулов увеличены. Капилляры утолщены и расширены. Отмечается инфильтрация межмышечной соединительной ткани. В дозе 33 мг/кг выявляется эрозивное поражение слизистой оболочки кишки покровного эпителия. В просвете крипт определяются скопления сегментоядерных лейкоцитов. Строма отечна, капилляры расширены, лимфофолликулы укрупнены, отмечаются лейко-лимфоцитарные инфильтраты. В дозе 16 мг/кг патологий не выявлено.

Гликозил-НММ-1 в дозе 65 мг/кг местами наблюдается выпадение гломерул. В корковом веществе почек определяется умеренное полнокровие паренхимы почек и клубочков. Часть клубочков сморщены, с образованием 3-4 почечных гломерул. Нефроциты гипертрофированы, дистрофически изменены,



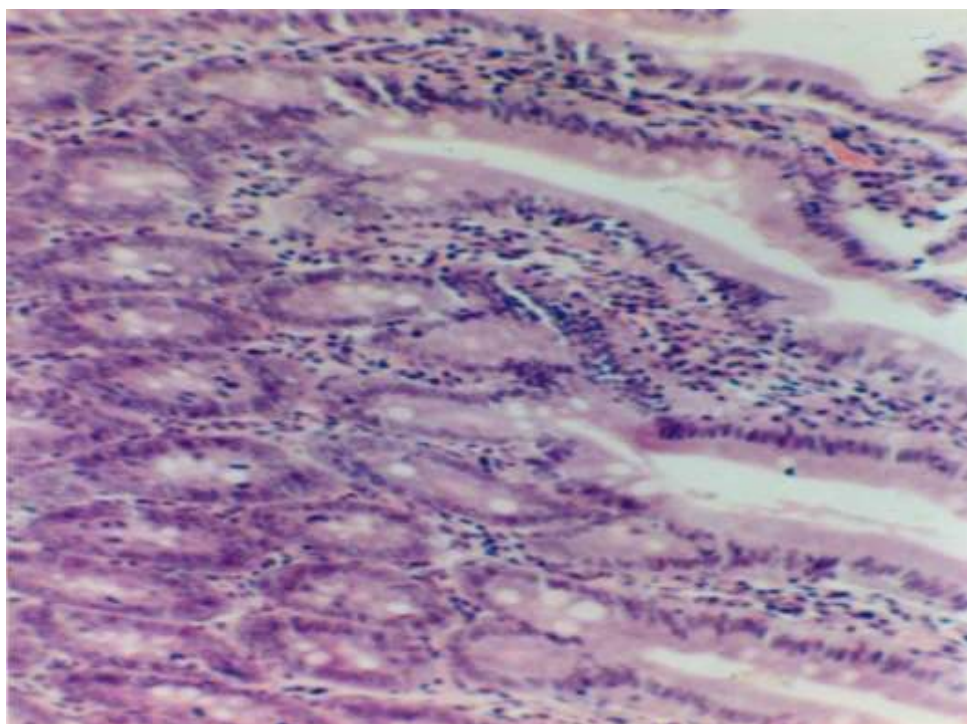


Рис. 4.34. Толстый кишечник. Гликозил-НММ-1. 65 мг/кг. Ворсинки укорочены, в строме - лимфоидная инфильтрация, эритростаз в капиллярах, повышенное количество бокаловидных клеток, в просветах крипт детрит. Окраска гематоксилином и эозином. x200.

определяется атрофия почечных канальцев. В мозговом веществе также выявляется атрофия канальцев, отек стромы, полнокровие сосудов, незначительная диффузная лимфоидная инфильтрация. В дозе 33 мг/кг определяется отечность стромы. В дозе 16 мг/кг изменений не обнаружено.

При введении гликозил-НММ-1 в дозе 65 мг / кг в микроструктуре надпочечника определяются единичные лейкоциты в просветах капилляров коры и периваскулярных пространствах. В дозе 33 мг/кг цитоплазма клеток пучковой зоны вакуолизирована за счет содержания липидов. Сосуды коры и мозгового вещества полнокровные, утолщены. В дозе 16 мг/кг видимых изменений и патологий не выявлено.

После введении субстанции в дозе 65 мг/кг крупные определяются фолликулы с плотным коллоидом. Тиреоциты в состоянии повышенной

функциональной активности, усилена пролиферация парафолликулярного эпителия. В структуре железы отмечается нарушение стратификации. Парафолликулярные пространства содержат межфолликулярный эпителий, отечную строму, расширенные ацинарные кровеносные сосуды. В дозе 33 мг/кг в клетках клубочковой и пучковой зон наблюдается значительное количество вакуолей и опустошенных фолликулов. На 2-й месяц сохраняется повышенная функциональная активность. В дозе 16 мг/кг на 3-й месяц ацидофильные гранулы не определяются.

В дозе 65 мг/кг в мазке красного костного мозга обнаружена гипоплазия эритроидных элементов (рис. 4.35). В дозе 33 мг/кг в мазке определяются круглоядерные клетки, нейтрофильные и эозинофильные миелоциты, полинуклеарные нейтрофилы и эозинофилы, нормобласты и единичные гигантские клетки. В дозе 16 мг/кг - структура и количество клеток мазка близки интактному контролю (рис. 4.36).

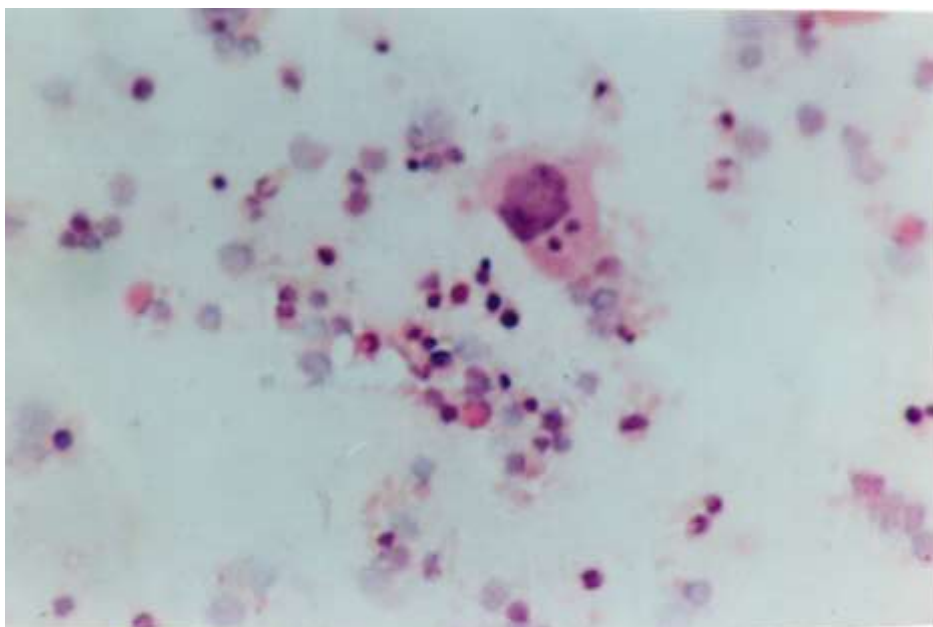


Рис. 4.35. Красный костный мозг. Гликозил-НММ-1. 65 мг/кг. Определяется гипоплазия эритроидных элементов. Зрелые формы лейкоцитов, в основном нейтрофильные гранулоциты, наблюдаются единичные мегалоциты. Окраска гематоксилином и эозином. x200.

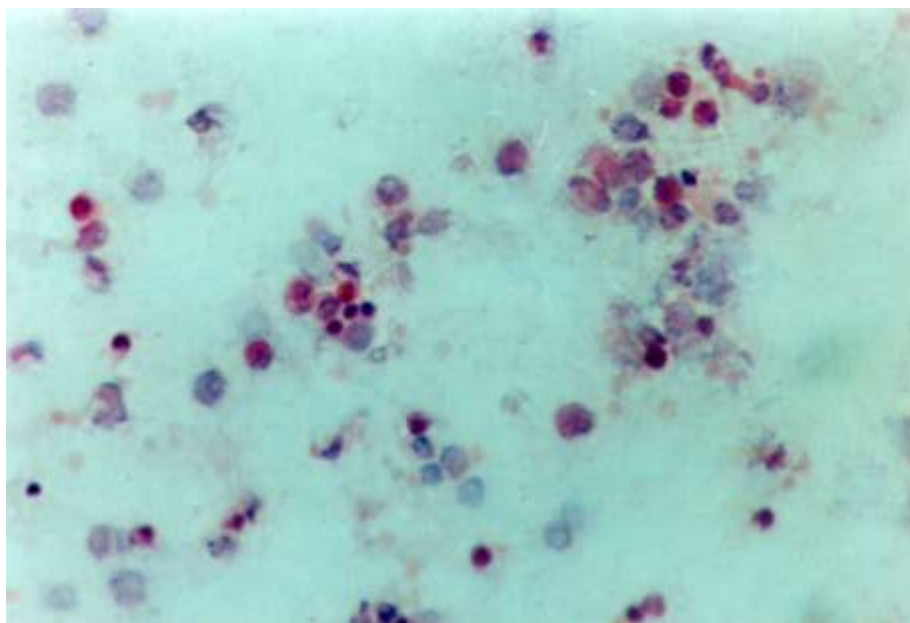


Рис. 4.36. Красный костный мозг. Гликозил-НММ-1. 16 мг/кг. Одноядерные клетки различны по размерам. Полинуклеары представлены нейтрофилами. Мегакариоциты определяются редко. Нормобласты типичного строения. Окраска гематоксилином и эозином. x200.

В дозе 65 мг/кг соединительнотканная капсула и трабекулы селезенки несколько отечны, разрыхлены. Трабекулярные вены и артерии расширены. Периартериальные зоны уплотнены и содержат значительное количество малых лимфоцитов. Наблюдается инфильтрация красной пульпы лимфоцитами. В дозе 33 мг/кг капсула и трабекулы отечны, разрыхлены. Трабекулярные вены и артерии расширены, полнокровны. Периартериальные зоны резко очерчены и представлены значительным числом малых лимфоцитов. В красной пульпе синусы полнокровны, инфильтрированы лимфоцитами, имеются эритроциты, плазматические клетки, бластные формы. Трабекулярные вены и артерии расширены, в просветах отдельных сосудов – форменные элементы крови. Гликозил-НММ-1 в дозе 16 мг/кг - в красной пульпе синусы полнокровны, в большом количестве представлены эритроциты, плазматические клетки, бластные формы. Увеличено содержание малых лимфоцитов, повышено содержание фолликулов с реактивными центрами. Размеры фолликулов со

светлыми центрами значительны. Отмечается увеличение числа лимфоцитов в Т-зависимых зонах белой пульпы. На третий месяц отличия от контроля не наблюдается.

В дозе 65 мг/кг в корковом веществе лимфатического узла увеличено количество лимфоидных фолликулов и их размеры, в большинстве - выявлены реактивные центры. Паракортикальная широкими мозговыми синусами, в просветах - ретикулярные клетки, эритроциты, лимфоциты, единичные лаброциты. Сосуды полнокровны. Строма отечна, с большим содержанием макрофагов и единичных гранулоцитов. Гликозил-НММ-1 в дозе 33 мг/кг - капсула и трабекулы отечны, краевые и мозговые синусы расширены, сосуды полнокровны. В корковом веществе – крупные лимфоидные фолликулы с широкими реактивными центрами. В паракортикальной зоне повышено содержание малых лимфоцитов, и макрофагов. На второй месяц в клеточном составе лимфоузлов увеличено содержание плазматических клеток, выявляется значительное количество макрофагов. Субстанции в дозе 16 мг/кг на третий месяц структура узлов видимых отличий от контроля не имеет (рис. 4.37).

Представлены данные динамики относительной массы внутренних органов животных. Гликозил-НММ-1 в дозе 65 мг/кг не вызывает увеличения относительной массы внутренних органов животных: увеличения относительной массы печени ( $2880 \pm 23,20$  против  $3471 \pm 63,0$ ); надпочечников ( $9,61 \pm 0,63$  против  $6,80 \pm 0,68$ ); селезенки ( $330 \pm 26,0$  против  $330 \pm 24,01$ ); тимуса ( $25,5 \pm 0,21$  и против  $26,6 \pm 5,77$ ) и лимфатических узлов ( $4,29 \pm 0,19$  против  $3,79 \pm 0,11$  в контроле) (рис. 4.38).

Результаты изучения влияния гликозил-НММ-1 показало отсутствие структурных патологических изменений в органах животных. В дозе 65 мг/кг в костном мозге увеличивается число незрелых клеток миелоидного ряда, уменьшилось количество элементов эритропоеза, гемопоэз нестойко угнетен. К концу наблюдения миелограмма полностью нормализовалась.



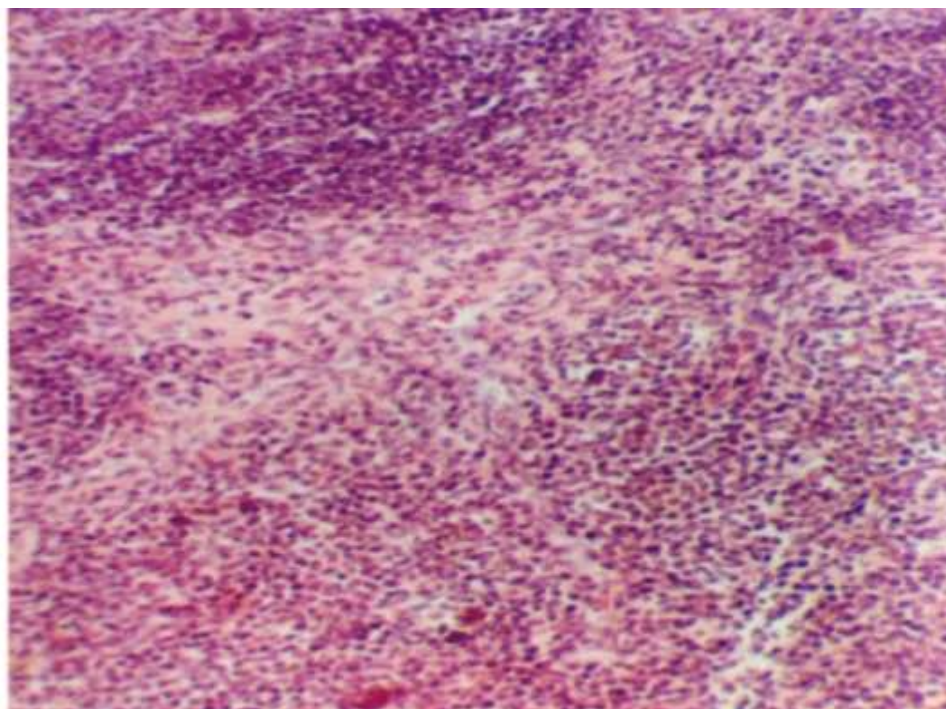


Рис. 4.37. Лимфатический узел. Гликозил-НММ-1. 3-й мес. 16 мг/кг. Структура лимфатического узла в норме. Окраска гематоксилином и эозином. x400.

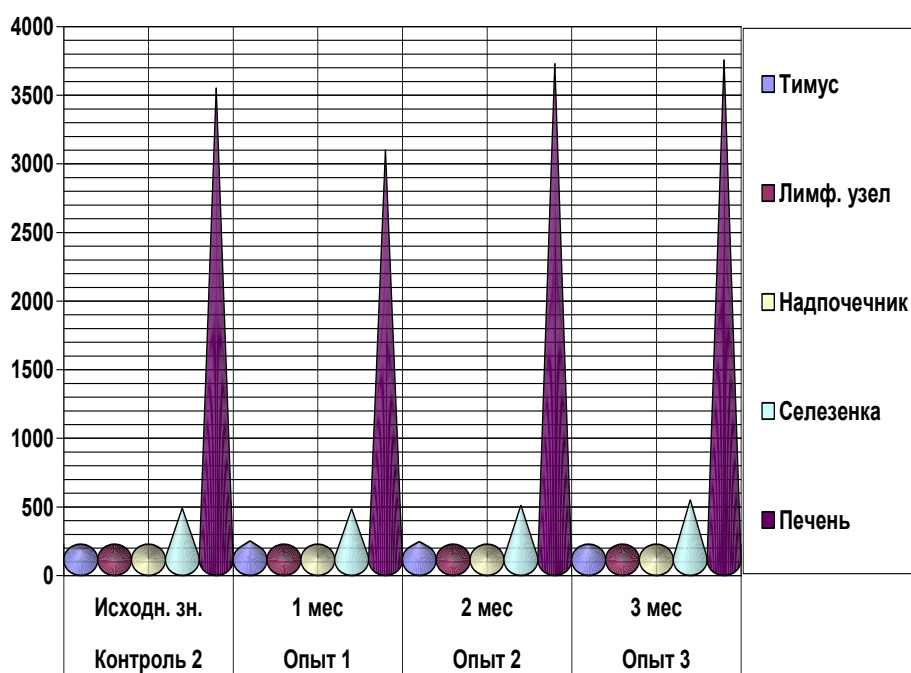


Рис. 4.38. Динамика относительной массы органов при введении гликозил-НММ-1 в течение трех месяцев у животных (абс. зн.  $M \pm m$ ).

Изучение динамики относительной массы внутренних органов животных показало, что у всех животных, как контрольной, так и опытной групп, наблюдалось физиологическое увеличение относительной массы органов. Полученные данные свидетельствуют о нетоксичности субстанции гликозил-НММ-1, отсутствии кумулятивного эффекта и мутагенной активности на половые клетки самцов.

Исследования кожи и подлежащей мышечной ткани животных опытных групп при введении циклофосамида в дозе 3 мг/кг выявило, что в области инъекции эпидермис утолщен, гипертрофирован, образует разрастания в подлежащую ткань. Соединительная ткань дермы отечная, определяется умеренная фибробластическая реакция, имеются единичные очаги коллагенообразования, уплотнение и огрубение коллагеновых пучков. В дозах 2 и 1 мг/кг кожа и подлежащая мышечная ткань соответствуют норме (см. рис. 4.1).

Микроструктура сердца при введении циклофосамида в дозе 3 мг/кг миокард представлен типичными кардиомиоцитами в продольном и поперечном разрезе, анастомозирующими между собой. Просматривается поперечная исчерченность и вставочные диски. Кардиомиоциты окружены рыхлой волокнистой соединительной тканью. Местами периваскулярно и в просветах сосудов определяются единичные лимфоциты. Сосуды микроциркуляторного русла расширены, полнокровны (см. рис. 4.10). В дозах 2 и 1 мг/кг отсутствуют изменения в сердечной мышце.

После введения циклофосамида в дозе 3 мг/кг стенка крупных бронхов утолщена. Обширные участки слизистой оболочки заполнены лимфогистиоцитарным инфильтратом. Альвеолярный интерстиций отечный. Слизистые оболочки средних и мелких бронхов умеренно инфильтрированы лимфоидными клетками, встречаются единичные макрофаги, тучные и плазматические клетки. Артериальные сосуды в состоянии пространства – активированные макрофаги, лимфоциты. Кровеносные капилляры расширены,

заполнены кровью, пристеночно определяются гранулярные лейкоциты. Наблюдается полнокровие капилляров альвеол, утолщение стенок, отечные проявления, местами в альвеолах – оксифильно окрашивающиеся массы (см. рис. 4.19). В дозе 2 мг/кг слизистые оболочки бронхов отечны, с большим количеством лимфоидного инфильтрата, местами определяются плазмоциты, в стенках мелких бронхов – тучные клетки. Альвеолы расширены, стенки их утолщены, в интерстициальных. В дозе 1 мг/кг не выявлено токсического действия на структуру легких. повышенного тонуса, венозные - умеренно расширены, содержат плазму.

При введении циклофосамида в дозе 3 мг/кг в поле зрения попадает нерегулярная трабекулярная организация гепатоцитов, радиальное расположение местами отсутствует. Отмечена дисконфлексация гепатоцитов. Их цитоплазма содержит грубую зернистость, мелкие ядра. Центральные вены и синусоиды расширены, содержат эритроциты (рис. 4.39). Встречаются узелковые лимфоидноклеточные скопления, купферовские клетки. Сосуды стромы полнокровны, с отечны. Наблюдается огрубение волокнистого каркаса триад. Синусоиды расширены. Местами просматривается умеренная лимфоидноклеточная инфильтрация портальных трактов, зоны микронекрозов. Обнаружено укрупнение и увеличение числа купферовских клеток. В дозе 2 мг/кг трабекулярная организация гепатоцитов сохранена. В отдельных полях зрения определяются расширенные просветы желчных капилляров. В прилежащих к ним участках определяются дистрофически измененные гепатоциты. Цитоплазма многих печеночных клеток значительно просветлена, ядра расположены на их периферии, обнаруживаются вакуоли, узелковыелимфоидноклеточные скопления. Местами наблюдаются единичные дистрофически измененные эпителиальные клетки. В дозе 1 мг/кг обнаружены умеренные дегенеративно-дистрофические изменения в печени.

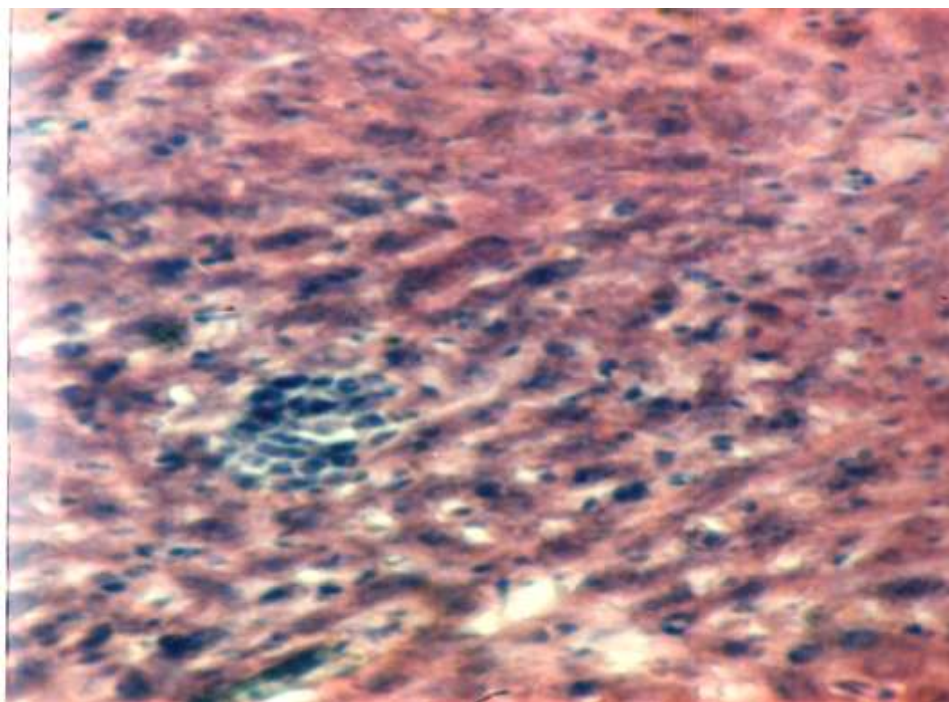


Рис. 4.39. Печень. Циклофосфамид. 3 мг/кг. Местами наблюдаются единичные дистрофически измененные эпителиальные клетки желчевыводящих протоков, умеренная лимфоидноклеточная инфильтрация портальных трактов. Окраска гематоксилином и эозином. x200.

После введения циклофосфамида в дозе 3 мг/кг на слизистой желудка определяется скопление эозинофильноокрашенных масс. В поверхностном эпителии отмечается дистрофическое изменение клеток и микроэрозии. Собственная пластинка слизистой отечна, гиперемирована, инфильтрирована лимфоцитами и макрофагами. Местами секреторный эпителий желез дистрофически изменен. В области дна желез, соединительнотканых прослойках мышечной пластинки, подслизистой оболочке - обильная инфильтрация эозинофильными клетками. Просветы желез кистообразно расширены, местами заполнены слизью. В дозе 2 мг/кг в покровном эпителии слизистой наблюдается снижение высоты цилиндрического эпителия вплоть до его уплощения. Структура желез местами нарушена, экзокриноциты дистрофически изменены, набухшие, четко определяется доминирование

слизиеобразующих клеток, в большом количестве определяются малодифференцированные клетки. Просветы желез расширены, так и добавочные клетки. Глубже в железах встречаются париетальные клетки с крупными вакуолями в цитоплазме. Они чередуются с главными клетками и мукоцитами. В строме фундальных желез наряду с фибробластами, эозинофилами, макрофагами встречаются малодифференцированные клетки. В подслизистой оболочке наблюдаются отек стромы, полнокровие сосудов, выраженные очаговые скопления нейтрофилов. В дозе 1 мг/кг в подслизистой оболочке местами наблюдается лимфо-лейкоцитарная инфильтрация.

Поверхностный эпителий ворсин тонкого кишечника при введении циклофосамида в дозе 3 мг/кг уплощен, контуры нечеткие, на многих участках некротизирован и отслаивается пластами. Энтероциты ворсинок и крипт с признаками дистрофических изменений, лишены щеточной каймы. Количество бокаловидных клеток, часто с пикнотичным ядром, увеличено и усиленно десквамирует. Повышенная лимфоидноклеточная инфильтрация стромы кишечных ворсинок. Сосуды и капилляры стромы полнокровны, отмечены геморрагии. Характерны участки эрозии слизистой оболочки. В дозе 2 мг/кг в редких случаях ядра, различные по величине, расположены ближе к апикальному отделу клеток. Просветы сосудов расширены, отмечаются эритростазы. Количество бокаловидных клеток снижено. Просветы крипт свободны от детрита, глубина их значительно варьирует. В подслизистой оболочке отмечаются слабо выраженные отежные проявления, умеренные периваскулярные лимфоцитарно-плазмоцитарные инфильтраты, отсутствующие в других слоях кишечной стенки. В дозе 1 мг/кг структура тонкого кишечника показала отсутствие изменений и на 3-й месяц отличий структуры слизистой от интактного контроля не определено.

Покровный эпителий толстого кишечника при введении циклофосамида в дозе 3 мг/кг выявляется эрозивное поражение слизистой оболочки толстой кишки в виде очаговой деструкции покровного эпителия по

типу микроэрозий, деструкция крипт с образованием микрокистозных полостей, выстланных уплощенным эпителием, содержащих в просвете слизь. В просвете крипт и межэпителиально определяются скопления сегментоядерных лейкоцитов, обтурирующих просвет крипт. Строма отечна, капилляры расширены, лимфоидные фолликулы увеличены. В дозе 2 мг/кг местами покровный эпителий уплощен, истончен. Некоторые энтероциты в состоянии слизистого перерождения. В крипах увеличено количество бокаловидных клеток. Строма крипт разрыхлена, местами отслоена от покровного эпителия, клеточные элементы представлены лимфоцитами, отдельными фибробластами и макрофагами. В мышечной пластинке отмечается разрастание межмышечной соединительной ткани и лимфоцитарные инфильтраты. В дозе 1 мг/кг на 3 месяц в слизистой оболочке обнаружены обратимые атрофические изменения.

В корковом веществе почек после введения циклофосфида в дозе 3 мг/кг определяется умеренное полнокровие паренхимы и клубочков. Часть клубочков сморщена, сближена с образованием групп из 3-4 гломерул. Нефроциты почечных канальцев гипертрофированы, просветы канальцев не определяются. В некоторых участках замечена атрофия почечных канальцев. В мозговом веществе выявляется атрофия канальцев, отек межуточной стромы, полнокровие сосудов, незначительная диффузная лимфоидная инфильтрация. В дозе 2 мг/кг в корковом слое определяются единичные сморщенные гломерулы. Во всех полях зрения в коре наблюдается расширение подкапсулярных пространств, наличие полостей между капиллярными петлями гломерул. Нефроциты отдельных канальцев дистрофически изменены. Просветы канальцев сужены, заполнены плазмоподобным содержимым. Местами в просвете извитых канальцев, на границе перехода их в прямые, видны белковые скопления. В отдельных случаях перисваскулярно и в межканальцевых пространствах наблюдаются клеточные инфильтраты. В этих участках в дозе 1 мг/кг местами наблюдаются незначительные очаговые

периваскулярные лимфоцитарные инфильтраты и на третий месяц структура тканевых компонентов коркового и мозгового вещества без изменений.

Количество незрелых клеток в костном мозге при введении циклофосфида в дозе 3 мг/кг в мазках (преп. 1) увеличено число незрелых клеток миелоидного ряда с повышенной базофилией цитоплазмы и уменьшено количество элементов эритропоэза. Выявляются палочкоядерные и сегментоядерные нейтрофилы больших размеров с гиперсегментированными и -фрагментированными ядрами, а также многоядерные клетки. В мазке (преп. 2) выявлено большое содержание круглоядерных клеток, нейтрофильных и эозинофильных миелоцитов, полинуклеарных нейтрофилов и эозинофилов, нормобластов и гигантских клеток. Нейтрофильная грануляция нежная и не очень обильная. Эозинофильная грануляция хорошо выражена. Базофилы с круглым ядром, определяются круглоядерные клетки, нормобласты и гигантские клетки с гомогенной плазмой, и редко мелкими центрально лежащими ядрами. Нормобласты имели типичные ядра и протоплазму. В дозе 2 мг/кг в мазке (преп. 1) одноядерные клетки содержат круглые ядра, чаще с мелкими ядрами, расположены центрально или эксцентрично; ядра некоторых клеток заполняют клетку. Полинуклеары представлены нейтрофильными, эозинофильными миелоцитами и переходными формами, перешнуровкой ядра. На второй месяц (преп. 1-2) определяется небольшое количество лейкобластических и эритробластических элементов. Обнаруживаются лимфоидные формы, плазматические клетки и элементы ретикулярной стромы с дегенеративными изменениями в них. Сохраняется гипоплазия миелоидных клеток. Наблюдаются единичные мегалоциты, повышенное содержание дифференцирующихся форм клеток, чаще крупных размеров. В дозе 1 мг/кг в мазках (преп. 1-2) содержание метамиелоцитов и палочкоядерных нейтрофилов повышено. Полинуклеары представлены всеми формами, различающимися по наличию и окраске гранул.



В межуточной ткани семенников при введении циклофосфамида в дозе 3 мг/кг отмечается фибриноидное пропитывание ткани, умеренно выраженный мукоидный отек в периваскулярных зонах крупных и средних кровеносных сосудов, который в отдельных участках распространяется на межканальцевые пространства (рис. 4.40). Сперматогенный эпителий разрыхлен.

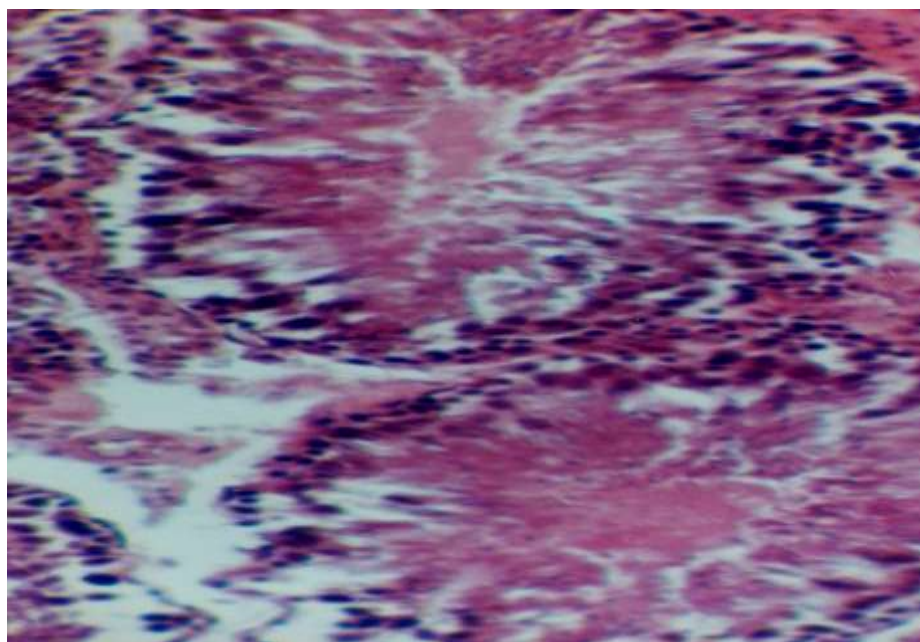


Рис. 4.40. Семенники. Циклофосфамид. 3 мг/кг. Умеренно выраженный мукоидный отек периваскулярных зон и межканальцевых пространств. Сперматогенный эпителий разрыхлен. Значительное количество развивающихся половых клеток в различной стадии дистрофического повреждения. Окраска гематоксилином и эозином. x200.

В корковом веществе тимуса при введении циклофосфамида в дозе 3 мг/кг определяется обеднение ткани лимфоидными элементами, снижение содержания больших лимфоцитов в подкапсулярной зоне, выраженная макрофагальная реакция (рис. 4.41). В мозговом веществе содержание лимфоцитов повышено, наблюдается укрупнение слоистых телец. Сосуды полнокровны, их стенки разрыхлены, отечны, имеются периваскулярные отеки.



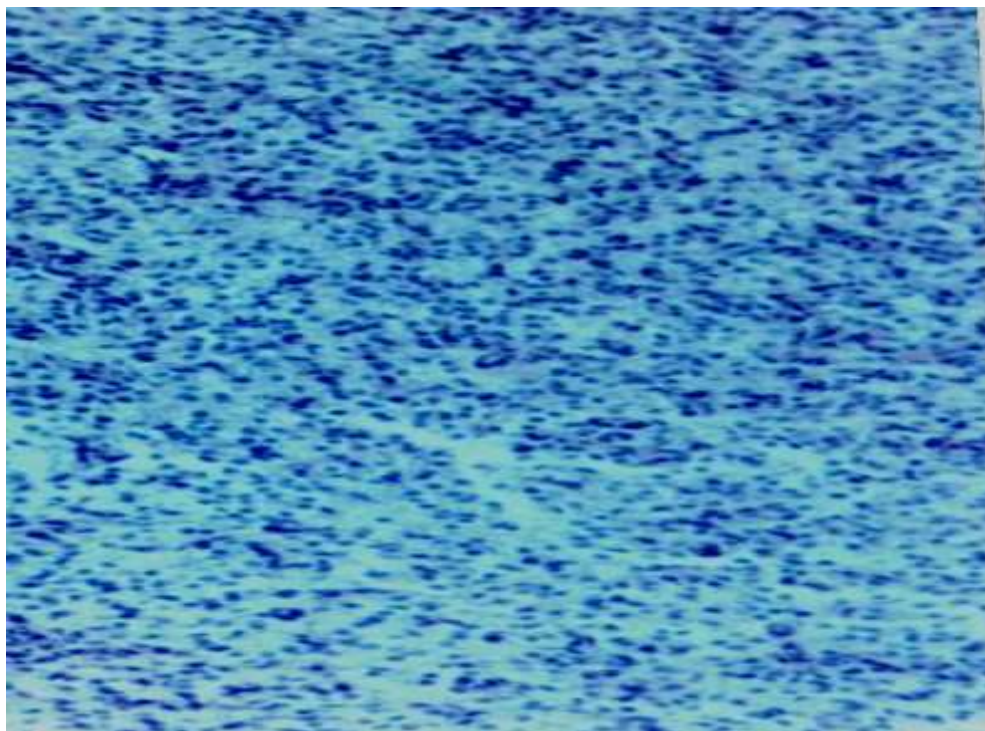


Рис. 4.41. Тимус. Циклофосфамид. 3 мг/кг. В мозговом веществе содержание лимфоцитов повышено, определяется укрупнение слоистых телец. Окраска гематоксилином и эозином. x200.

В дозе 2 мг/кг в мозговом веществе – снижение содержания лимфоцитов, граница между мозговым и корковым веществом слабо выражена, определяются тяжи эпителиальных клеток. В дозе 1 мг/кг на 2-3-й месяц отмечается некоторое снижение содержания малых лимфоцитов в корковом веществе, макрофагальная реакция.

Соединительнотканная капсула и трабекулы селезенки после введения циклофосфамида в дозе 3 мг/кг несколько отечны, разрыхлены (рис. 4.42). Трабекулярные вены и артерии расширены. В просветах отдельных сосудов встречаются форменные элементы крови. Белая пульпа представлена преимущественно мелкими фолликулами, без выраженных светлых центров. Периартериальные зоны уплотнены, содержат значительное количество малых лимфоцитов. Центральные артерии узелков полнокровны, стенки их без изменений. В красной пульпе селезенки синусы полнокровны, между ними в большом количестве представлены эритроциты, плазматические клетки,

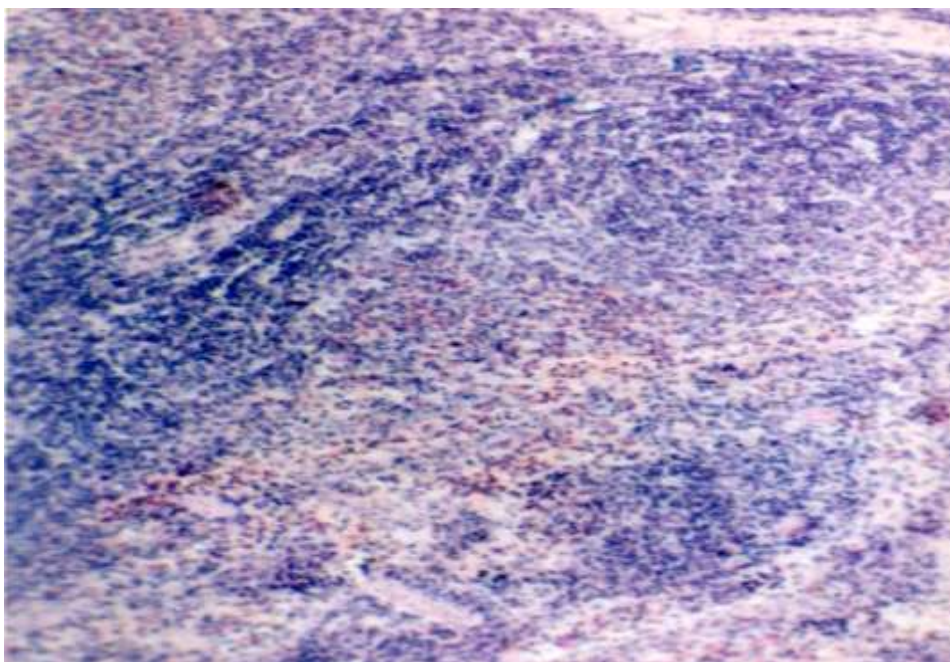


Рис. 4.42. Селезенка. Циклофосфамид. 3 мг/кг. В большом количестве встречаются диффузно рассеянные мелкие лимфоциты, а также плазматические клетки, единичные макрофаги. Окраска гематоксилином и эозином. x200.

бластные формы. В большом количестве встречаются диффузно рассеянные мелкие лимфоциты, а также плазматические клетки, единичные макрофаги. Наблюдается выраженная инфильтрация лимфоцитами красной пульпы в большинстве которых отчетливо выражены светлые центры, состоящие из ретикулоцитов, больших и средних лимфоцитов. В периартериальных (Т-зависимых) зонах фолликулов определяется значительное количество малых лимфоцитов. В красной пульпе селезенки наблюдаются эритроциты, плазматические клетки, бластные формы, единичные лейкоциты. Определяется выраженная инфильтрация лимфоцитами. Соединительнотканная капсула и трабекулы несколько отечны, разрыхлены. В дозе 2 мг/кг сосуды расширены, в просветах – форменные элементы крови (рис. 4.43). На второй месяц капсула и трабекулы отечны, разрыхлены. Трабекулярные вены и артерии расширены, полнокровны. В белой пульпе - преимущественно мелкие фолликулы, со

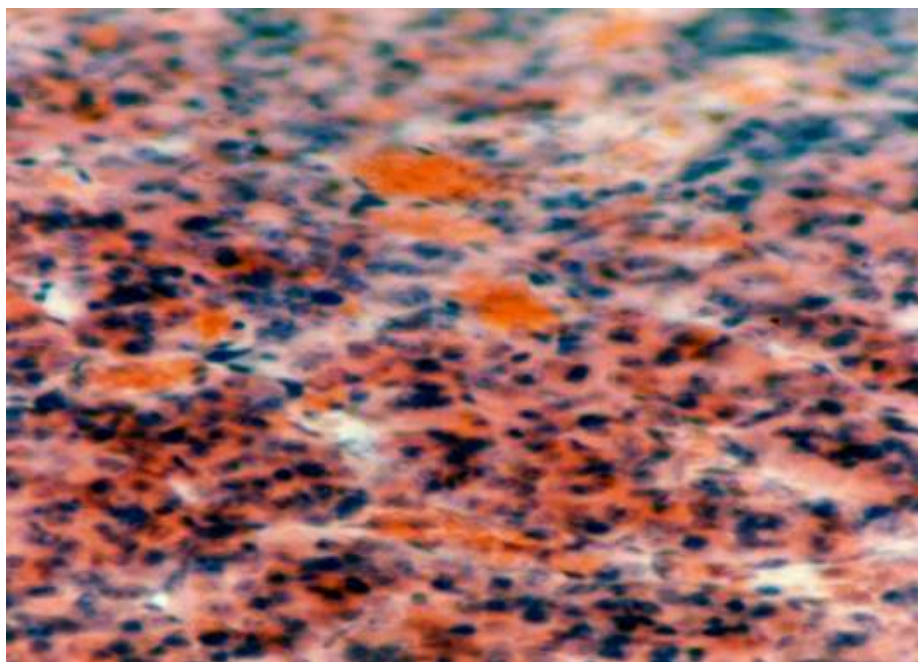


Рис. 4.43. Селезенка. Циклофосфамид. 2 мг/кг. Трабекулярные вены и артерии расширены, в просветах отдельных сосудов – форменные элементы крови. Окраска гематоксилином и эозином. x400.

светлыми центрами, состоящими из ретикулоцитов, больших и средних лимфоцитов. В отдельных участках светлые центры имеют значительные размеры. Маргинальная зона фолликулов практически не выражена. Периартериальные зоны резко очерчены и представлены значительным числом малых лимфоцитов. Центральные артерии узелков полнокровны. В красной пульпе селезенки синусы полнокровны, инфильтрированы лимфоцитами, есть эритроциты, плазматические клетки, бластные формы. В большом количестве встречаются диффузно рассеянные мелкие лимфоциты, а также плазматические клетки, единичные макрофаги. На второй месяц центральные артерии узелков полнокровны. В красной пульпе селезенки наблюдается выраженная инфильтрация лимфоцитами. Белая пульпа представлена мелкими фолликулами, с отчетливо выраженными светлыми центрами. В дозе 1 мг/кг капсула и трабекулы представлены плотной волокнистой соединительной тканью. На 2-3 месяц визуально выраженных отличий от контроля не наблюдается.



При введении циклофосфида в дозе 3 мг/кг в корковом веществе лимфатического узла наблюдалось увеличение количества лимфоидных фолликулов и их размеры, в большей части выявлены реактивные центры. Повышено содержание макрофагов. Мякотные тяжи мозгового вещества короткие и широкие, разделены широкими мозговыми синусами, в просветах - ретикулярные клетки, эритроциты, лимфоциты, единичные лейкоциты. Сосуды стромы расширены, полнокровны. Строма отечна, с большим содержанием макрофагов и единичных гранулоцитов (рис. 4.44). В дозе 2 мг/кг капсула и трабекулы отечны, краевые и мозговые синусы расширены, сосуды полнокровны (рис. 4.45). В корковом веществе – крупные лимфоидные

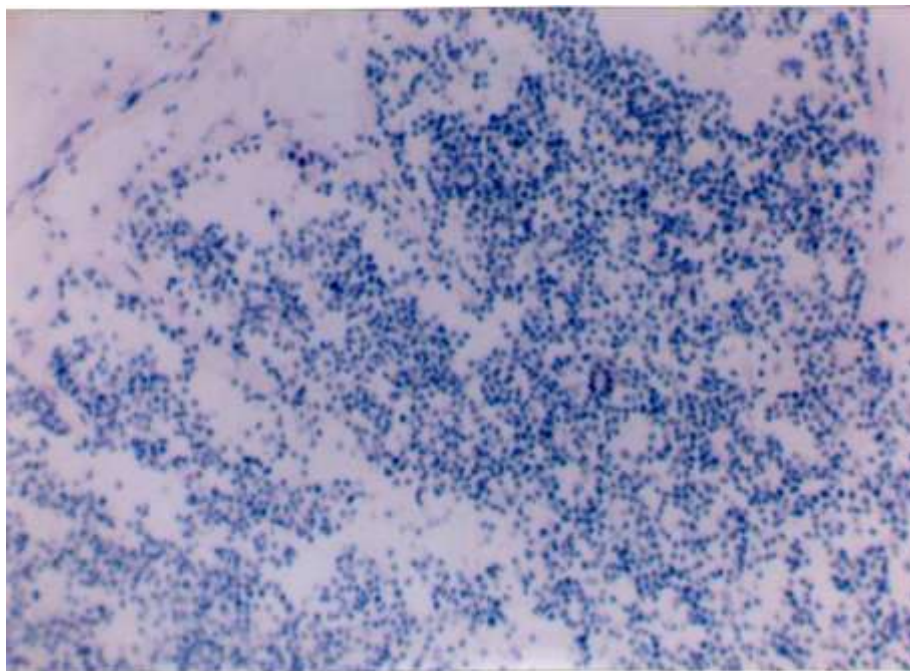


Рис. 4.44. Лимфатический узел. Циклофосфамид. 3 мг/кг. Строма отечна, с большим содержанием макрофагов и единичных гранулоцитов. Окраска гематоксилином и эозином. x200.

фолликулы с широкими реактивными центрами. В паракортикальной зоне повышено содержание малых лимфоцитов и макрофагов. Мякотные тяжи мозгового вещества короткие и широкие, разделены широкими мозговыми

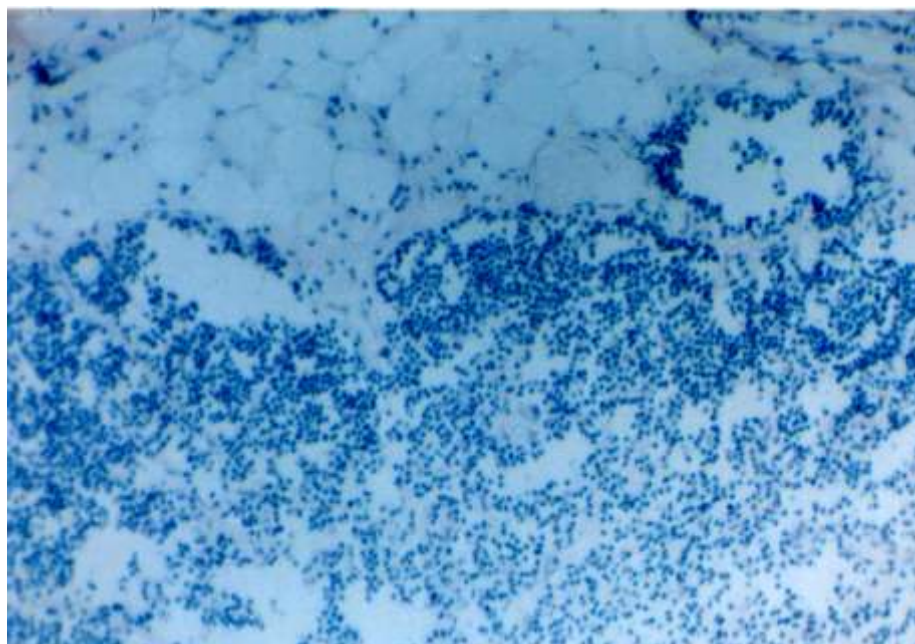


Рис. 4.45. Лимфатический узел. Циклофосфамид. 2 мг/кг. В мягкотных шнурах - большое количество макрофагов, в цитоплазме которых обнаруживаются фагоцитированные частицы. Окраска гематоксилином и эозином. x200.

синусами, в просветах – ретикулярные клетки, эритроциты, лимфоциты, макрофаги и лаброциты. В клеточном составе лимфоузлов увеличено содержание плазматических клеток, выявляется значительное количество плотной волокнистой соединительной ткани. Реактивные центры представлены небольшими просветленными участками во вторичных лимфофолликулах.

Циклофосфамид в дозе 3 мг/кг показал, что в почках наблюдается набухание стенок артериол, дегенерация эпителия канальцев; деструктивные дистрофические изменения в печени, с появлением серозного воспаления и очагов микронекроза; в щитовидной железе уменьшено накопление клеточных элементов в соединительной ткани и число, активность перитонеальных макрофагов; незначительно влияет на желудок и кишечник. В костном мозге наблюдается тенденция к угнетению миелопоэза (5 дней), гемопоэза и

лейкотоксичности, после чего наступает быстрая регенерация. Миелограмма нормализуется через 2 недели. В дозах 2 и 1 мг/кг наблюдаются умеренные дегенеративно-дистрофические изменения в печени, лимфоидных органов и атрофические изменения в желудке и кишечнике.

При функциональном напряжении щитовидной железы после введения циклофосфида в дозе 3 мг/кг крупные фолликулы с плотным коллоидом железы определяются как в периферической, так и центральной зонах. Выявлено увеличение содержания фолликулов мелкого и среднего диаметра, содержащих бледный слабоокрашенный коллоид. Тироциты в состоянии повышенной функциональной активности. Усилена пролиферация парафолликулярного эпителия. Наличие мелких опустошенных фолликулов, появление признаков многорядности и десквамации эпителия. Незначительное скопление ацидофильных гранул в парафолликулярной зоне может свидетельствовать о торможении выведения гормона в кровеносное русло. В дозе 2 мг/кг ткань железы построена по паренхиматозному типу, состоит из большого количества мелких и средних фолликулов не содержащих коллоида или содержащих небольшие включения коллоидных масс. Цитоплазма большинства из них ацидофильна, содержит крупные гранулы. Одновременно, в периферических отделах располагается незначительное количество крупных фолликулов, заполненных плотным слоистым коллоидом, эпителий которых представлен кубическими или призматическими клетками с ярко ацидофильной, гранулированной цитоплазмой. Отмечается повышение содержания волокнистого компонента соединительнотканной стромы. В центральной зоне и подкапсулярных пространствах выявляются капилляры с явлениями эритростаза. В просветах большинства сосудов и парафолликулярных пространствах определяется наличие большого количества ацидофильных гранул. В дозе 1 мг/кг фолликулы железы заполнены небольшим количеством оксифильного, слабо вакуолизированного коллоида, на 3-й месяц структура железы свидетельствует об усилении функциональной активности.

В мягкой мозговой оболочке в дозе 3 мг/кг обнаруживается полнокровие сосудов. Определяется неравномерная извитость сосудистых стенок, наблюдается пролиферация мышечных клеток, адвентициальных элементов. В микроциркуляторном русле коры обнаружены стазы в венозных сосудах и капиллярах. Отдельные нейроны с редукцией хроматофильного вещества цитоплазмы. Определяются скопления нейронов с лизисом хроматина и гиперхроматозом ядер. Отмечается выраженная пролиферация астроглии, сателлитоз. В нейроне имеются микровакуоли. Значительное число олиго- и астроцитов гипертрофированы, с крупными просветленными ядрами. В подлежащем белом веществе - разрежение волокнистых структур, микровакуоли. Глиальные элементы проявляют местами диффузную продуктивную реакцию в виде гиперплазии астроцитарной глии выраженную вблизи сосудов. Выявляется извитость капилляров. При введении циклофосамида в дозе 2 мг/кг в отдельных пирамидных нейронах выявляется редукция хроматофильного вещества цитоплазмы, которая гомогенно окрашивается в розовый цвет эозином. Такие нейроны уменьшены в размерах, с выраженными перичеселлюлярными пространствами. Встречаются крупные пирамидные нейроны с гиперхромной цитоплазмой и пикнотичными ядрами. Наблюдается круговой сателлитоз, выявляются отдельные гипертрофированные олигодендроглиозиты и астроциты с пикнотичными ядрами, увеличенной в объеме цитоплазмой. Большинство набухших астроцитов располагаются вблизи сосудов. В микроциркуляторном русле коры наблюдаются стазы в просветах венозных сосудов, внутрисосудистая агрегация эритроцитов. В некоторых артериолах наблюдается набухание и плазматическое пропитывание стенок. Встречаются расширенные мелкие сосуды, в просветах которых определяется гомогенная белковая масса и небольшое количество эритроцитов. Белковые массы в виде наибольших озер местами скапливаются вокруг сосудов. В подлежащем белом веществе выявляется некоторая извитость капилляров,

гиперплазия олигоглиоцитов. В дозе 1 мг/кг и на 2-3-й месяц видимых отличий от контроля не обнаружены.

Т.о., морфологическое изучение внутренних органов и тканей животных на фоне оценки хронической токсичности гликозил-НММ-1 дозе 65 мг/кг показало, что структура желудка, тонкого и толстого кишечника, почек имела адаптивный характер. В костном мозге увеличиваются незрелые клетки миелоидного ряда и элементы эритропоэза. Гемопоз угнетен нестойко. После введения гликозил-НММ-1 в дозе 33 мг/кг отмечается некоторое снижение клеток эритроидного ростка. Выявлены структурные изменения в почках. Динамика относительной массы органов показало физиологическое увеличение массы органов, которые свидетельствуют о нетоксичности субстанции и отсутствии у субстанции кумулятивного эффекта и мутагенной активности на половые клетки самцов. Циклофосфамид в дозе 3 мг/кг вызывает набухание стенок артериол почек и дегенерацию эпителия канальцев; деструктивные, дистрофические изменения, серозное воспаление, очаги микронекроза в печени; торможение накопления клеточных элементов в щитовидной железе; количества и активности перитонеальных макрофагов в соединительной ткани; незначительно влияет на желудок, кишечник; нестойко угнетает гемопоз, миелограмма нормализуется через 2 недели. В дозах 2 и 1 мг/кг наблюдаются дегенеративно-дистрофические обратимые изменения в печени, желудке, кишечнике и лимфоидных органах.

*Заключение.* В IV главе при изучении острой токсичности субстанции гликозил НММ-1 установлено, что гликозил-НММ-1 на животных при однократном в/б и в/в введениях показали, что ЛД<sub>50</sub> при в/б введении составляет 1950 мг/кг, а при в/в - 717 мг/кг, малотоксична, по степени токсичности относится к IV классу. Гликозил-НММ-1 менее токсичен, чем препарат сравнения - циклофосфамид. ЛД<sub>50</sub> циклофосфамида соответствует 100 мг/кг, а у гликозил-НММ-1 при в/б введении 19-20 раз, а при в/в 7 раз больше, чем у препарата сравнения.



В данной главе описано морфологическое исследование органов животных под влиянием гликозил-НММ-1 при острой токсичности. В подслизистой оболочке желудка выявлены некоторые структурные изменения, но признаков патологических изменений не обнаружены. Наблюдается лимфолейкоцитарная инфильтрация. В слизистой оболочке тонкого кишечника прослеживаются атрофические, дегенеративно-дистрофические изменения, воспалительная инфильтрация стромы и подслизистого слоя. В структуре почек наблюдаются незначительные изменения: набухание стенок и дегенерация эпителия канальцев, которые носят очаговый характер. ЦНС. После введения препарата сравнения - циклофосамида в слизистой оболочке желудка, тонкого и толстого кишечника наблюдаются атрофические, дистрофические изменения, воспалительная инфильтрация стромы и подслизистого слоя; циклофосамид оказывает деструктивно-дистрофические изменения, серозное воспаление, очаги микронекроза, нарушает детоксицирующую функцию, развитие жировой дистрофии печени; набухание стенок артериол, дегенерация эпителия канальцев почек; в селезенке и лимфатических узлах прослеживается уменьшение лимфоидных элементов.

Изучение токсичности в условиях хронического опыта при введении гликозил-НММ-1 показало, что субстанция не вызывает потерю в массе тела, повышения ректальной температуры, токсического действия на функции ССС и органов дыхания у животных. Наблюдалась тенденция к незначительной лейкопении; не влияет на клеточные элементы костного мозга; не уменьшает количества общего белка, уровня липидов,  $\beta$ -липопротеидов крови; не нарушает детоксицирующую функцию печени, почек, функции ЦНС. Препарат сравнения в дозе 3 мг/кг приводит к выраженной лейкопении, снижению относительного и абсолютного количества лимфоцитов в крови, массы тела; снижает содержание общего белка, незначительно повышает уровень липидов и  $\beta$ -липопротеидов в крови, нарушает функцию печени; почек, суточный диурез; в дозах 2 и 1 мг/кг вызывает тромбоцитопению, повышение показателей

красной крови, тенденцию к угнетению миелопоэза; снижает лимфоциты, мегакарициты и лейко-эритробластическое соотношение в костном мозге.

Морфологическое изучение внутренних органов при хронической токсичности гликозил-НММ-1 в дозе 65 мг/кг показало, что структура желудка, тонкого и толстого кишечника, почек имела адаптивный характер. Динамика относительной массы органов свидетельствует о нетоксичности субстанции, отсутствии кумулятивного эффекта и мутагенной активности на половые клетки самцов. Препарат сравнения в дозе 3 мг/кг вызывает набухание стенок артериол почек, дегенерацию эпителия канальцев; деструктивные, дистрофические изменения печени, серозное воспаление, очаги микронекроза; торможение накопления клеточных элементов в щитовидной железе; количества и активности перитонеальных макрофагов в соединительной ткани; в слизистой желудка, кишечника наблюдаются атрофические, дистрофические изменения, воспалительная инфильтрация стромы и подслизистого слоя; нестойко угнетает гемопоэз, миелограмма нормализуется через 2 недели. В дозах 2 и 1 мг/кг наблюдаются дегенеративно-дистрофические обратимые изменения в желудке, кишечника, печени и лимфоидных органах.

## **ГЛАВА 5. ИЗУЧЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ГЛИКОЗИЛ-НММ-1 НА ЖИВОТНЫХ С АСЦИТНОЙ ОПУХОЛЬЮ ЭРЛИХА (ДИПЛОИДНЫЙ ВАРИАНТ)**

Проводилось изучение специфической ПОА субстанции гликозил-НММ-1 на подопытных животных-опухоленосителях, у которых воспроизводились асцитный и подкожные варианты АОЭ, которые позволили оценить ПО действие испытуемой субстанции [220, 302].

### **5.1. Изучение специфической ПОА на гликозил-НММ-1 асцитном варианте АОЭ на животных-опухоленосителях**

Асцитный вариант АОЭ является опухолью высокой степени злокачественности. Возможность точного введения опухолевых клеток и быстрый рост патологического процесса делают данный штамм рака удобным тест-объектом при первичном отборе ПО препаратов. Опыты проводились согласно «Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ», (М., 2005) в сравнении с циклофосфамидом.

Перевивка опухолевых клеток проведена в/б способом 160 линейным мышам массой 20-25 г. Введение опухолевых клеток, содержащихся в 0,5 мл/мышь обеспечило развитие выраженного асцита. Было 8 групп: I-II - контрольные, III-VIII – опытные группы, которые получали в/б гликозил-НММ-1 в дозах: 40; 20 и 10 мг/кг и циклофосфамид: 2; 1 и 0,5 мг/кг по 0,4 мл в течение 10-и дней. Контрольным животным-опухоленосителям вводился изотонический раствор хлорида натрия (0,9 %) в эквивалентном объеме (рис. 5.1- 5.3).



Рис. 5.1. Масса тела у животных-опухоленосителей при асцитном варианте АОЭ при введении гликозил-НММ-1 в дозах 40; 20 и 10 мг/кг на 12-й день опыта ( $P \leq 0,05$ ).

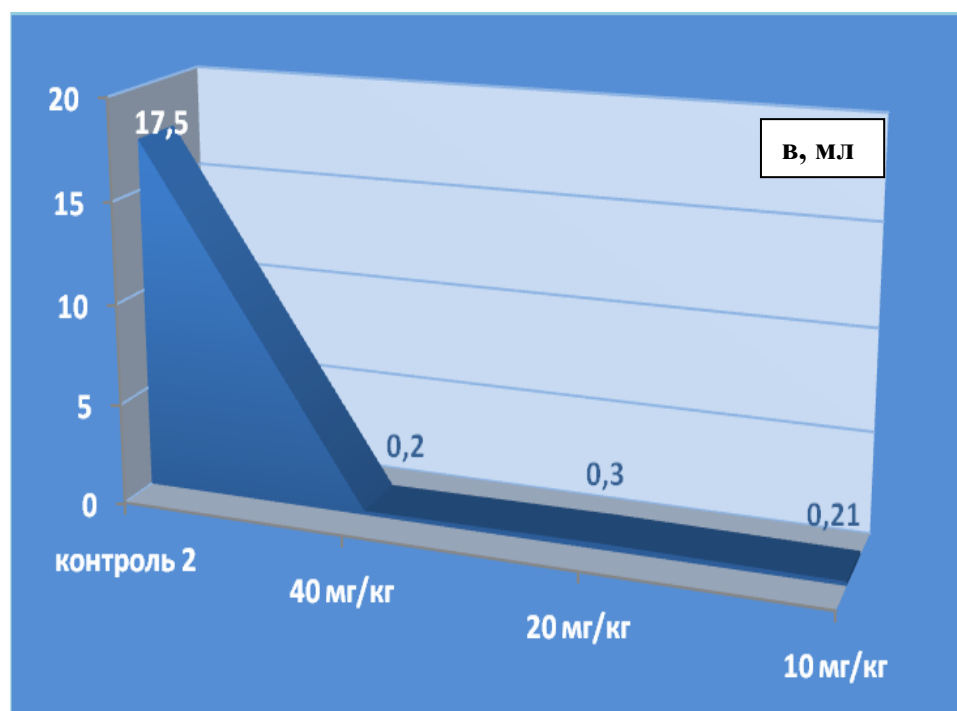


Рис. 5.2. Показатели объема опухоли у животных-опухоленосителей при асцитном варианте АОЭ при введении гликозил-НММ-1 в дозах 40; 20 и 10 мг/кг на 12-й день опыта ( $P \leq 0,05$ ).

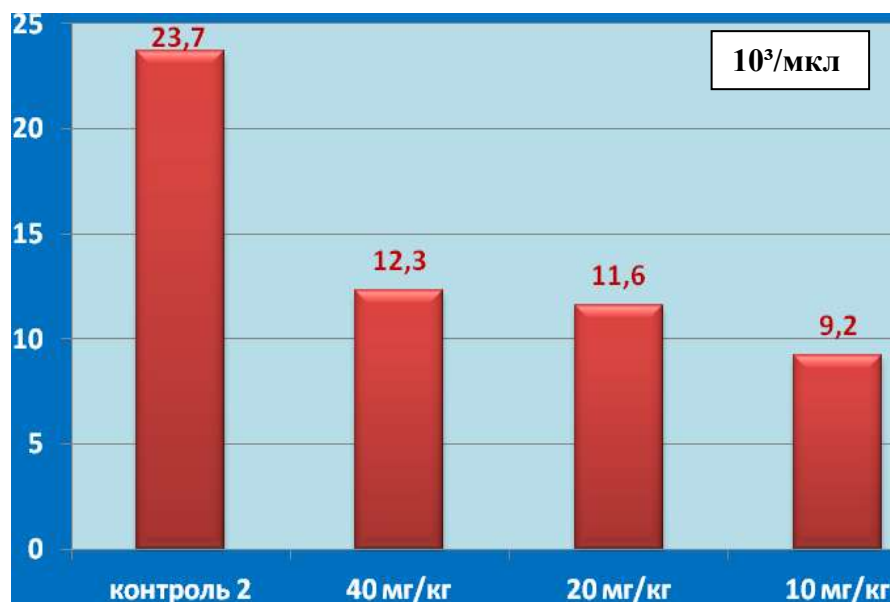


Рис. 5.3. Содержание лейкоцитов в периферической крови при асцитном варианте АОЭ при введении гликозил-НММ-1 животным-опухоленосителям ( $P \leq 0,05$ ).

Первое введение исследуемых средств животным-опухоленосителям проводилось через 24 часа после имплантации опухоли. Измерялась масса тела, анализ периферической крови проводился на 11-й день. Вскрытие животных-опухоленосителей осуществлялось на 12-й день, измерялся объем асцитной опухоли. Гибель нелеченных животных-опухоленосителей наступала на 13-й день.

Параметром ПО эффекта являлась масса тела, объем асцитической опухоли, ТРО и анализ крови по отношению к контрольным животным-опухоленосителям.

После введения гликозил-НММ-1 в исследуемых дозах у животных-опухоленосителей масса тела уменьшилась ( $23,6 \pm 6,25$ ;  $23 \pm 1,67$  и  $21 \pm 0,67$  против  $36,5 \pm 1,3$  у животных-опухоленосителей в контроле 2), объем опухоли уменьшился полностью ( $0,2 \pm 0,23$ ;  $0,3 \pm 0,24$  и  $0,21 \pm 0,35$  против  $17,5 \pm 0,21$  у животных-опухоленосителей в контроле 2 при  $P \leq 0,05$ ), ТРО (93 %, 92 и 93 %) в среднем равняется 93 %.

При исследовании периферической крови после введения субстанции в исследуемых дозах наблюдалось снижение количества лейкоцитов в периферической крови до нормы ( $12,3 \pm 0,16$ ;  $11,6 \pm 1,09$  и  $9,2 \pm 0,73$  против  $23,7 \pm 0,9$  у животных-опухоленосителей в контроле 2 при  $P \leq 0,05$ ). Не отмечается угнетения лейкопоза за счет относительного ( $64,8 \pm 10,9$ ;  $65,3 \pm 8,12$  и  $66 \pm 4,08$  против  $67,7 \pm 3,8$ ) и абсолютного количества лейкоцитов в крови ( $6467,7 \pm 301,2$ ;  $6567,7 \pm 411,2$  и  $6462,5 \pm 455,4$  против  $6568 \pm 320,0$  у животных-опухоленосителей в контроле 2).

При введении препарата сравнения (рис. 5.4) масса тела уменьшалась незначительно ( $30,4 \pm 0,67$ ;  $30,7 \pm 1,77$  и  $31,0 \pm 6,25$  против  $36,5 \pm 1,3$  у



Рис. 5.4. Показатели массы, объема опухоли и ТРО у животных-опухоленосителей при асцитном варианте АОЭ при введении препарата сравнения в дозах 40; 20 и 10 мг/кг на 12-й день опыта ( $P \leq 0,05$ ).

животных-опухоленосителей в контроле 2), объем опухоли уменьшился также незначительно ( $2,2 \pm 0,27$ ;  $2,92 \pm 0,25$ ;  $1,72 \pm 0,34$  против  $3,5 \pm 0,21$  у животных-опухоленосителей в контроле 2 ( $P \leq 0,05$ ). ТРО составляет 47 %, 41 и 47 % в среднем равно 47 %. Циклофосфамид биологическую активность приобретает после попадания в организм животных-опухоленосителей. При инкубации с

асцитными клетками АОЭ ПО эффект отсутствует, что характеризуется низкой избирательностью действия и зависит от иммуногенности опухолевых клеток и увеличения содержания циклических нуклеотидов. Следовательно, гликозил-НММ-1 в 1,5-2 раза больше уменьшает объем опухоли у животных-опухоленосителей.

При введении циклофосфида (рис. 5.5) отмечалось значительное уменьшение количества лейкоцитов ( $3,4 \pm 0,11$ ;  $3,5 \pm 1,0$  и  $3,4 \pm 0,71$  против

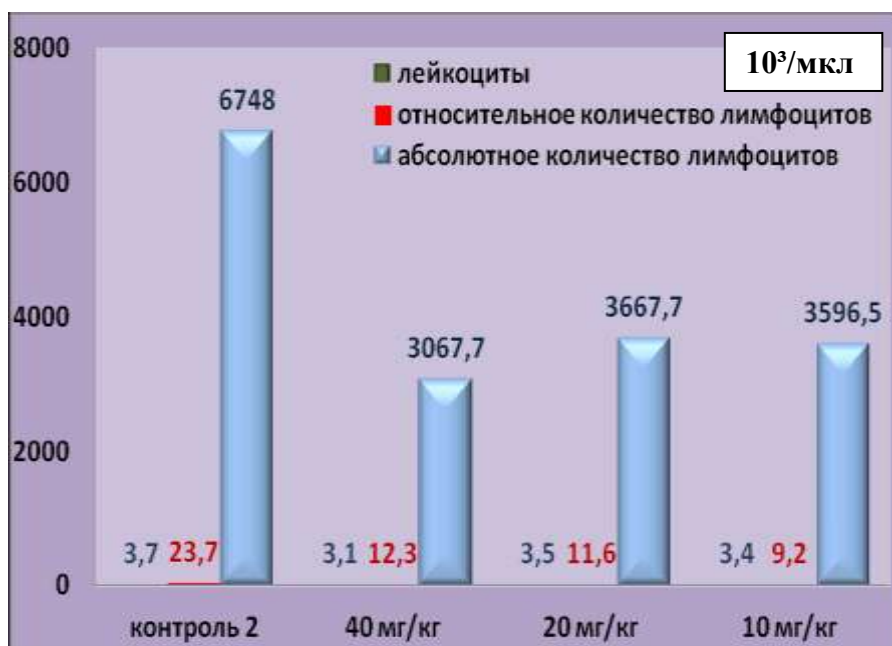


Рис. 5.5. Содержание лейкоцитов, относительного и абсолютного количества лимфоцитов в периферической крови при асцитном варианте АОЭ при введении циклофосфида животным ( $P \leq 0,05$ ).

$23,7 \pm 0,9$  у опухоленосителей в контроле 2) ( $P \leq 0,5$ ), угнетение лейкопоза за счет относительного ( $34,8 \pm 10,9$ ;  $35,3 \pm 8,12$  и  $36 \pm 4,08$  против  $67,7 \pm 3,8$ ) и абсолютного количества лимфоцитов ( $3067,7 \pm 301,2$ ;  $3667,7 \pm 311,2$  и  $3596,5 \pm 455,4$  против  $6748 \pm 320,0$  у опухоленосителей в контроле 2 при  $P \leq 0,05$ ).

Препарат циклофосфамид обладает слабовыраженной лейкотоксичностью. Максимально переносимая доза (МПД) циклофосфида

для крыс при однократном в/б введении равна 80-100 мг/кг, а при многократном ежедневном в/б применении составляет 7 мг/кг (Проценко Л.Д., 1985). МПД для мышей при однократном в/б введении равна 0,9-11 мг/кг, а при многократном ежедневном в/б применении составляет 0,8 мг/кг.

В МПД при ежедневном введении мышам наблюдается нестойкое угнетение гемопоэза, после чего наступает быстрая регенерация, но не происходит полной обратимости токсического действия. Наблюдается усиление гематотоксичности с уменьшением числа лейкоцитов до 64 %, ретикулоцитов и появлением миелоцитов. Угнетение лейкопоэза происходит за счет относительного и абсолютного количества лимфоидных элементов крови. Наиболее чувствителен лимфопоэз. Количество гранулоцитов уменьшается незначительно с последующим относительным их увеличением. Гемопоэз восстанавливается в течение трех недель и завершается через месяц.

Нами проводилось морфологическое исследование ПОА гликозил-НММ-1 и циклофосфида на асцитном варианте АОЭ у опухоленосителей.

Микроскопическое изучение печени у контрольных-опухоленосителей показало, что трабекулярная организация гепатоцитов нерегулярная, радиальное расположение нарушено. Отмечена дисконкомплексация гепатоцитов. Их цитоплазма содержит грубую зернистость, «мелкие» ядра. Определяется мозаичная окраска гепатоцитов. В дольках гепатоциты бледно окрашены. Многие центральные вены расширены, в просветах большинства из них – форменные элементы крови. Прилегающие к венам синусоиды расширены, выявлены эритроциты. Наблюдаются дистрофически измененные гепатоциты с зернами пигмента. Встречаются лимфоидноклеточные скопления, определяется значительное количество укрупненных, активизированных купферовских клеток. Сосуды стромы полнокровны, отмечен периваскулярный отек. После введения гликозил-НММ-1 в дозе 40 мг / кг просветы центральных вен местами расширены. Гепатоциты крупные. Наблюдается дисконкомплексация клеток. Соединительнотканнные прослойки отечны, содержат повышенное количество



клеточных элементов. Обнаружены узелковые лимфоидноклеточные скопления и значительное количество укрупненных, активизированных купферовских клеток, лежащих в просветах синусоид. При введении гликозил-НММ-1 в дозах 20 и 10 мг/кг гепатоциты укрупнены, местами вакуолизированы. Местами просматриваются расширение желчных капилляров. Сосуды портальных трактов расширены, полнокровны. Соединительнотканые прослойки местами содержат повышенное количество клеточных элементов.

На поверхности слизистой желудка обнаружены скопления эозинофильно окрашенных масс. В поверхностном эпителии дистрофические изменения клеток, микроэрозии. Собственная пластинка слизистой отечна, гиперемирована, инфильтрирована лимфоцитами и макрофагами. Местами секреторный эпителий желез дистрофически изменен, границы между клетками стерты. Обильная инфильтрация эозинофильными клетками в области дна желез, соединительнотканых прослойках мышечной пластинки и подслизистой оболочке. Просветы желез кистообразно расширены, местами заполнены слизью. При введении гликозил-НММ-1 в дозе 40 мг/кг толщина слизистой снижена. Эпителиальная выстилка фундальных желез представлена всеми характерными типами клеток с некоторым преобладанием мукоцитов шейки. В главных и в париетальных клетках встречаются крупные вакуоли. Просветы желез расширены. В собственной пластинке слизистой оболочки, наряду с увеличением числа фибробластов и макрофагов, обнаружены малодифференцированные клетки. Сосуды микроциркуляторного русла расширены, в просветах видны лейкоциты, лимфоидные клетки и макрофаги. В поле зрения попадают резко расширенные протоки желез, в просветах которых наблюдаются слущенные экзокриноциты. Наблюдается очаговое повышение количества главных клеток. После введения гликозил-НММ-1 в дозах: 20 и 10 мг/кг в подслизистой оболочке местами выявлена обильная клеточная инфильтрация.

Микроскопически в тонком кишечнике у контрольных-опухоленосителей просматриваются укороченные и «неравномерно обрубленные» ворсинки. Строма ворсинок отёчна, полнокровна, с расширенными тканевыми щелями и просветами сосудов. Значительных размеров достигает инфильтрация лимфоидными и плазматическими элементами, которая распространяется за пределы базальной мембраны, имеющей нечёткие контуры. Отдельные круглоклеточные элементы внедряются в эпителиальный слой ворсинок. В собственном слое слизистой оболочки и под эпителием выявляется выраженный отёк. Эпителий ворсинок имеет выраженную складчатость, дистрофически изменён, клетки его уплощены. У основания ворсинок и в криптах наблюдается увеличение числа усиленно секретирующих бокаловидных клеток. При введении субстанции в дозе 40 мг/кг в строме определяется эритростаз в капиллярах. Просветы сосудов расширены, отмечаются эритростазы. Количество бокаловидных клеток снижено. Просветы крипт свободны от детрита, глубина их значительно варьирует. В подслизистой оболочке отмечаются умеренные периваскулярные лимфоцитарно-плазмоцитарные инфильтраты, отсутствующие в др. слоях кишечной стенки. После введения гликозил-НММ-1 в дозах: 20 и 10 мг / кг наблюдается аналогичная картина.

Микроскопически в корковом веществе почек интактных-опухоленосителей определяется умеренное полнокровие паренхимы и клубочков. Часть клубочков сморщена, сближена, с образованием групп из 3-4 гломерул. Нефроциты почечных канальцев гипертрофированы, дистрофически изменены, просветы канальцев не определяются. В некоторых участках определяется атрофия почечных канальцев. В мозговом веществе выявляется атрофия канальцев, отек межуточной стромы, полнокровие сосудов, незначительная диффузная лимфоидная инфильтрация. При введении гликозил-НММ-1 в дозе 40 мг/кг в корковом веществе почек просветы дистальных отделов канальцев зияют. Определяется отечность соединительнотканной

стромы, плазматическое пропитывание стенок артерий. В мозговом веществе определяются незначительные очаговые периваскулярные лимфоцитарно-гистиоцитарные инфильтраты, пропитывания стенок артерий (рис. 5.6.).

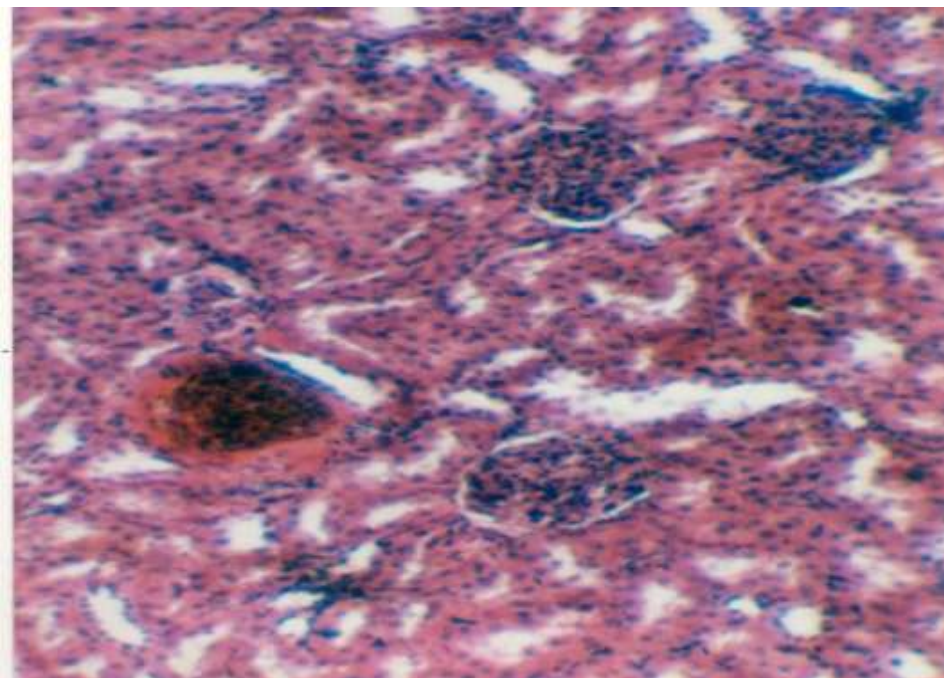


Рис. 5.6. Почки. Асцитный вариант АОЭ. Гликозил-НММ-1. 40 мг/кг. Мономорфные почечные клубочки, капиллярные петли ажурного рисунка. Просветы канальцев обычной ширины. В корковом веществе - мозговые лучи. Окраска гематоксилин-эозином. x400.

Материал для цитологического исследования (рис. 5.7-5.10) получену интактных-опухоленосителей в виде пункционной биопсии брюшной полости на 12-й день и наносился на предметные стекла. При анализе выявлены клетки, лежащие отдельно в различных положениях. На 12-е сутки после трансплантации в препаратах контрольной группы наблюдались признаки апоптоза в виде «протуберанцев» цитоплазмы. Опухолевые клетки окрашивались интенсивно. В дозе 40 мг/кг в III опытной группе на фоне гликозил-НММ-1 клеточный состав количественно уменьшился. Обнаружены единичные мезотелиальные клетки с начальными признаками апоптоза

(цитоплазма в период выпячивания), в состоянии лизиса с образованием клеток - «теней» (см. рис. 5.7). После введения субстанции в дозах 20 и 10 мг/кг

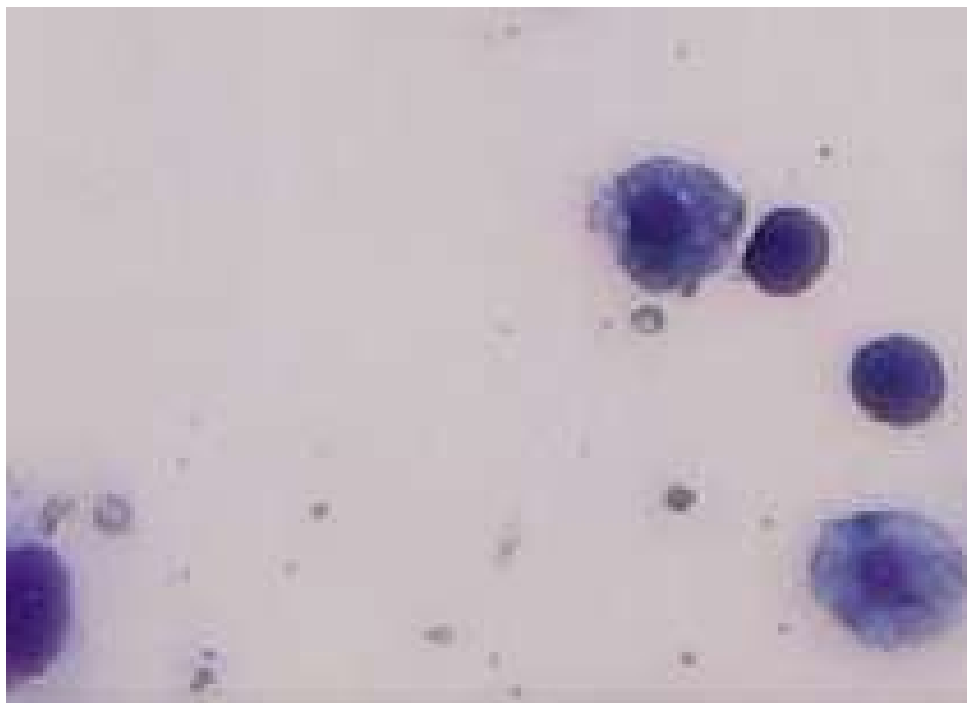


Рис. 5.7. Асцитный вариант АОЭ. Гликозил-НММ-1. Интактный контроль. 12-е сутки после трансплантации. Окраска гематоксилин-эозином. x400.

количественный состав клеток в препаратах уменьшился. Просматривались изредка апоптоза клеток. Цитоплазма клеток находилась в состоянии выпячивания. Опухолевые клетки находились в периоде лизиса с формированием клеток - «теней».

После введения циклофосфида в дозе 2 мг/кг в VI опытной группе клеточный состав в препарате количественно уменьшился. Обнаружены единичные мезотелиальные клетки с начальными признаками апоптоза. Опухолевые клетки находились в состоянии лизиса с образованием клеток-«теней». После введения циклофосфида в дозах 1 и 0,5 мг/кг у VI и VIII



Рис. 5.8. Асцитный вариант АОЭ. Гликозил-НММ-1. 40 мг/кг. 12-е сутки после трансплантации. Окраска гематоксилином и эозином. х400.



Рис. 5.9. Асцитный вариант АОЭ. гликозил-НММ-1. 20 мг/кг. 12-е сутки после трансплантации. Окраска гематоксилином и эозином. х400.

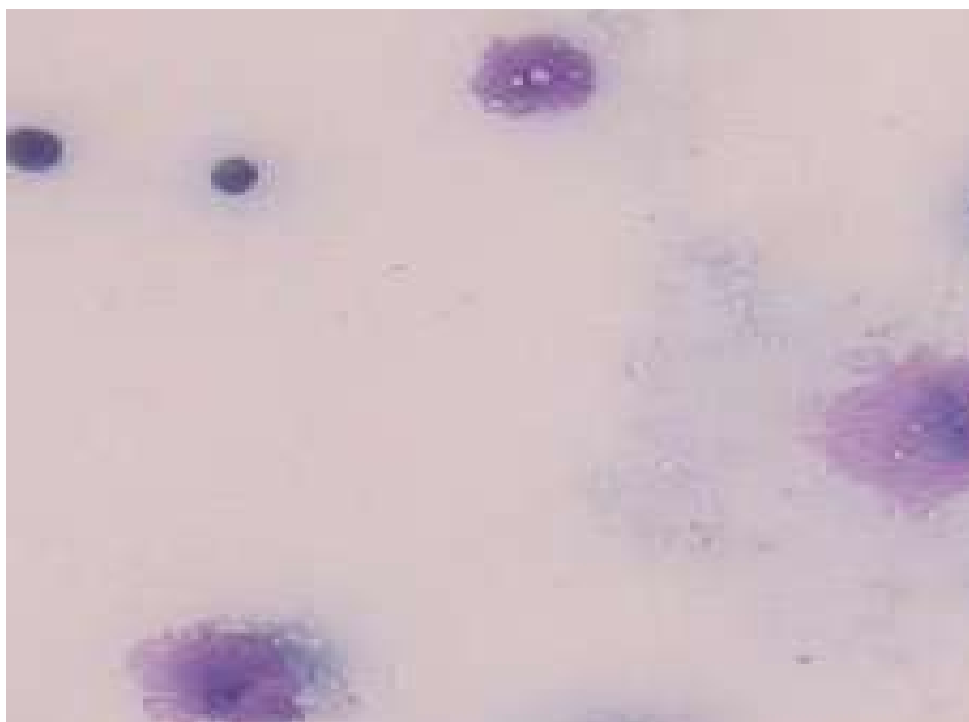


Рис. 5.10. Асцитный вариант АОЭ. гликозил-НММ-1. 10 мг/кг. 12-е сутки после трансплантации. Окраска гематоксилин-эозином. x400.

опытных группах состав клеток в препаратах уменьшился незначительно. Просматривались изредка мезотелиальные клетки.

Таким образом, проведенные исследования специфической ПОА асцитного варианта АОЭ показывают, что гликозил-НММ-1 уменьшает массу тела, объем опухоли, увеличивает ПОА у опухоленосителей. После лечения у опытных групп выявлено снижение лейкоцитов крови до нормы, ПОА составляет 93 %. Циклофосфамид в 2 раза меньше уменьшает массу тела у опухоленосителей, объем опухоли, снижает лейкоциты крови, угнетает лейкопоз, ТРО - 47 %.

Патоморфологическое изучение специфической ПОА гликозил-НММ-1 при асцитном варианте АОЭ выявило следующее: под влиянием субстанции происходит повреждение опухолевой ткани; появляются многоядерные клетки, очаги некроза, выраженные дегенеративно-дистрофические изменения, гибель и лизис клеток, разрастание соединительной ткани; сосуды расширены и

проницаемость повышена. При анализе цитологического исследования асцитической опухоли выявлены отдельно лежащие клетки в различных положениях. После трансплантации в препаратах контрольной группы наблюдались признаки апоптоза в виде «протуберанцев» цитоплазмы. Опухолевые клетки окрашивались интенсивно. В дозе 40 мг/кг на фоне гликозил-НММ-1 клеточный состав количественно уменьшился. Обнаружены единичные мезотелиальные клетки с начальными признаками апоптоза (цитоплазма в период выпячивания). Опухолевые клетки находились в состоянии лизиса с образованием клеток - «теней». После введения субстанции в дозах 20 и 10 мг/кг уменьшился количественный состав клеток в препаратах. Просматривались изредка мезотелиальные клетки с характерными образованиями начальных признаков апоптоза клеток. Цитоплазма клеток находилась в состоянии выпячивания. Клетки находились в периоде лизиса с формированием клеток - «теней».

Циклофосфамид приводит к расширению сосудов печени: появляются очаги гемопоэза в стволовых гемопоэтических клетках и перитонеальные макрофаги в рыхлой соединительной ткани. Происходит набухание стенок артериол в почках, дегенерации эпителия канальцев; атрофические и дистрофические изменения в слизистой желудка, кишечника, воспалительная инфильтрация стромы и подслизистого слоя; угнетает митотическую активность опухолевой ткани. Отмечается дисконфлексация, полиморфизм клеток, появляются гигантские многоядерные клетки, патологические митозы, очаги некроза; дегенеративно-дистрофические изменения в клетках опухоли, приводящие к гибели, лизису; разрастанию соединительной ткани, расширению и уплотнению стенок сосудов. После введения циклофосфамида в дозе 2 мг/кг клеточный состав в препарате количественно уменьшился. Обнаружены единичные мезотелиальные клетки с начальными признаками апоптоза. Опухолевые клетки находились в состоянии лизиса с образованием клеток - «теней». Введение циклофосфамида в дозах 1 и 0,5 мг/кг показало, что состав

клеток в препаратах уменьшился незначительно. Просматривались изредка мезотелиальные клетки.

## **5.2. Специфическая ПОА гликозил-НММ-1 на подкожном варианте АОЭ на животных- опухоленосителях**

Проведено изучение ПОА гликозил-НММ-1 при п/к варианте АОЭ на животных-опухоленосителях согласно «Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ», (М., 2005).

Исследования проводились на 160 линейных мышах массой 20-25 г. Перевивка опухоли производилась п/к в область бедра. Каждая мышь получала по 0,5 мл опухолевой взвеси. Первое введение субстанции и циклофосфамида проводилось на 3-й день после имплантации опухоли.

Животные были разделены на 8 групп: I-II - контрольные, III-VIII – опытные, которые получали в/б гликозил-НММ-1 и циклофосфамид в дозах: (40 и 2 мг/кг), (20 и 1) и (10 и 0,5 мг/кг) в течение 10-и дней. Контрольные животные получали изотонический раствор хлорида натрия (0,9%).

В ходе эксперимента определялась масса и размер опухоли в динамике на 7-й, 14-й и 21-е дни. Исследование периферической крови проводилось на 7-й день, после 10-и дневного введения субстанции и препарата сравнения. Вскрытие животных осуществлялось через 3 месяца. Гибель контрольных животных наступала на 13-й день. Наблюдение проводилось в течение трех месяцев и до полной гибели животных в контроле.

У подопытных мышей, получавших гликозил-НММ-1 в исследуемых дозах 40; 20 и 10 мг/кг размеры опухоли (мм) уменьшились почти полностью, в динамике на 7-й день (3 x 1 x 1; 2 x 2 x 2 и 1 x 1 x 1 против 10 x 12 x 11 в контроле 2 при  $P \leq 0,05$ ), на 14-й день (3 x 3 x 3; 8 x 6 x 7 и 2 x 2 x 2 против 24 x 18 x 24) и на 21-й день (16 x 13 x 13 ; 12 x 9 x 7 и 7 x 5 x 4 против 44 x 40 x 39



у животных-опухоленосителей в контроле 2 при  $P \leq 0,05$ ). Масса опухоли (мг) в исследуемых дозах уменьшилась полностью на 7-й день ( $0,28 \pm 20,86$ ;  $0,57 \pm 18,61$  и  $0,78 \pm 20,67$  против  $68,89 \pm 198,79$  у животных-опухоленосителей в контроле 2 при  $P \leq 0,05$ ), на 14-й день ( $334,6 \pm 97,2$ ;  $197,2 \pm 22,0$  и  $161,2 \pm 44,7$  против  $2204,7 \pm 369,5$ ) и на 21-й день ( $990,7 \pm 187,9$ ;  $540 \pm 161,6$  и  $410,9 \pm 121,7$  против  $2717,5 \pm 470,5$  у животных-опухоленосителей в контроле 2 при  $P \leq 0,05$ ) (рис. 5.11-5.13).

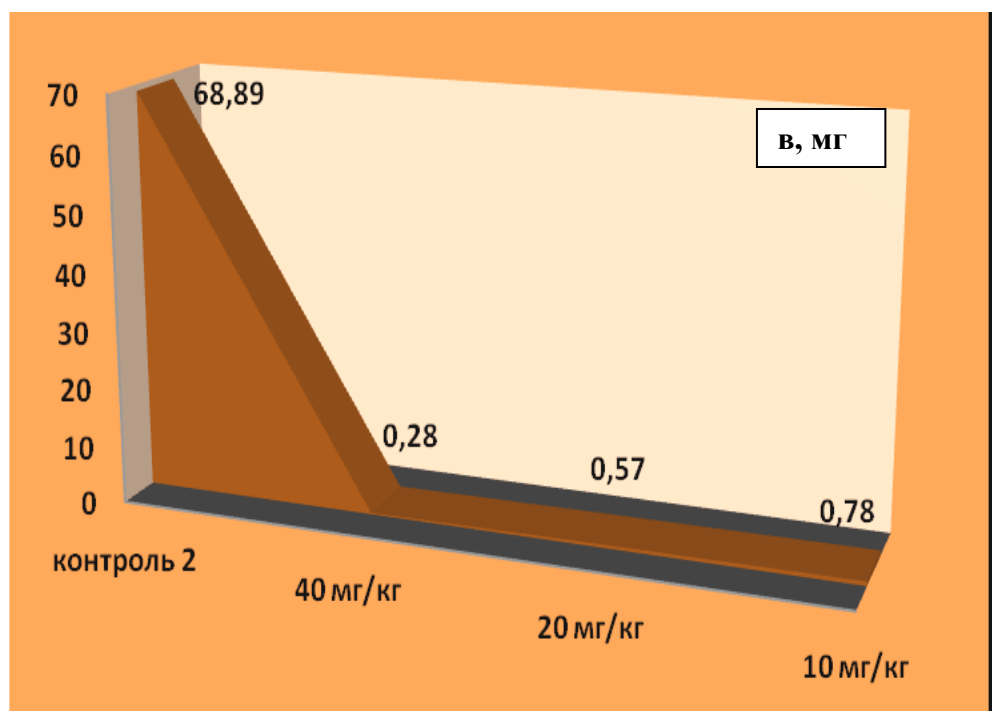


Рис. 5.11. Показатели массы опухоли подкожного варианта АОЭ на 7-й день опыта под влиянием гликозил-НММ-1 ( $P \leq 0,05$ ).

Торможение роста опухоли (ТРО) подкожного варианта АОЭ под влиянием гликозил-НММ-1 в динамике на 7-й день составило ( $97,9 \%$ ;  $97,5$  и  $97 \%$ ); на 14-й день ( $96,9 \%$ ;  $97,1$  и  $96,7 \%$ ) и на 21-й день ( $96,9 \%$ ;  $97,4$  и  $97,3 \%$ ) соответственно, в среднем  $97 \%$ . Средняя продолжительность жизни (СПЖ), в днях, у животных-опухоленосителей составляет ( $82$ ;  $81$  и  $82$  дней против в контроле (2)  $35$  дней при  $P \leq 0,05$ ) и увеличение продолжительности

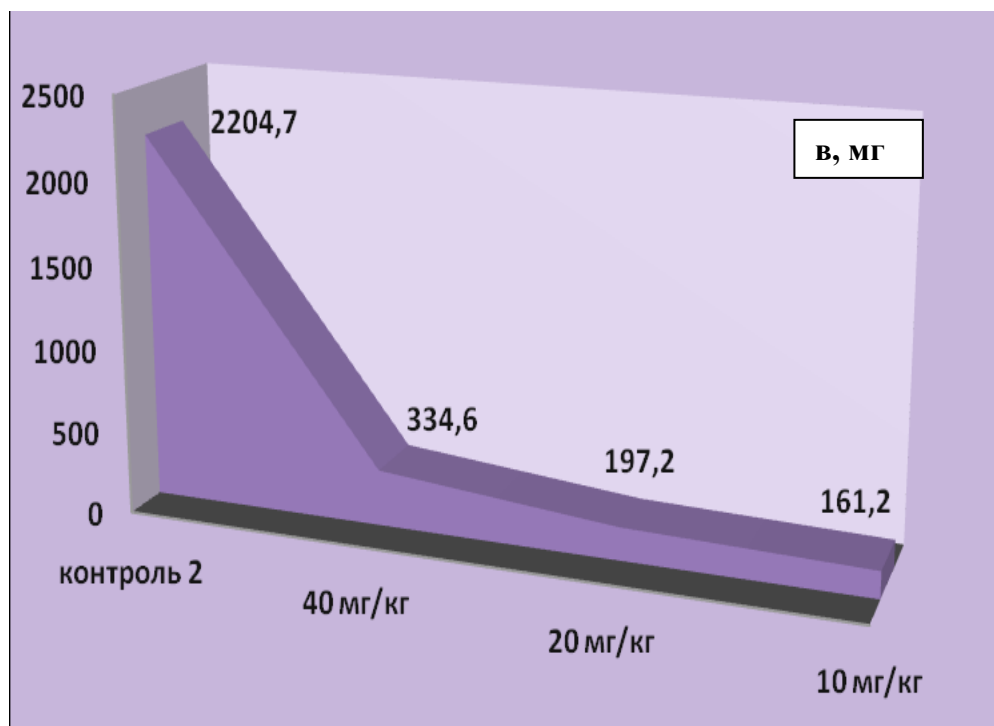


Рис. 5.12. Масса опухоленосителей подкожного варианта АОЭ на 14-й день опыта под влиянием гликозил-НММ-1 ( $P \leq 0,05$ ).

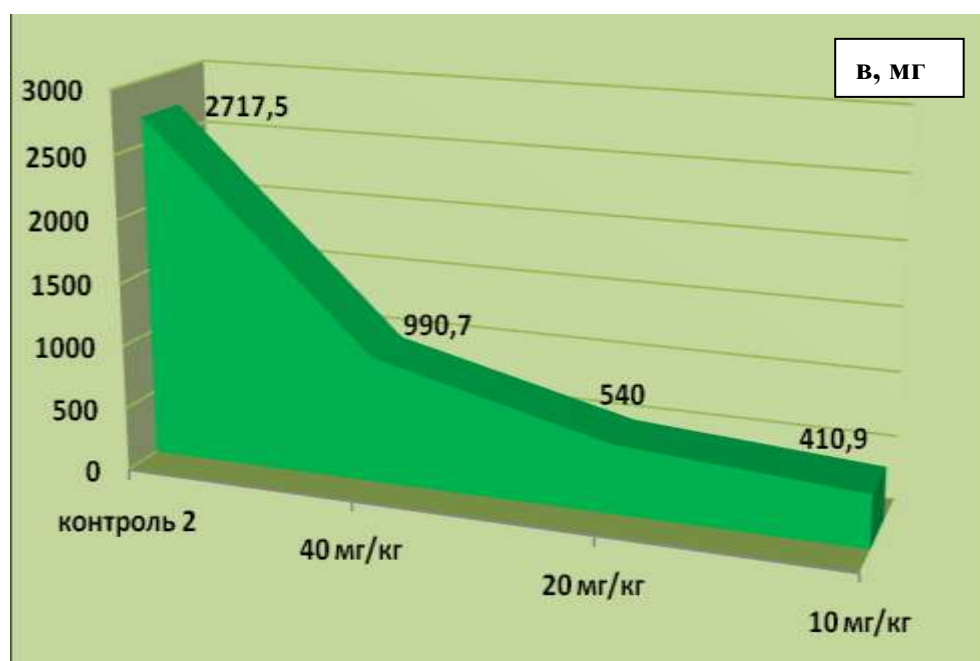


Рис. 5.13. Показатели массы опухоленосителей подкожного варианта АОЭ на 21-й день опыта под влиянием гликозил-НММ-1 ( $P \leq 0,05$ ).

жизни (УПЖ), в днях, равняется (178 дней; 173 и 175 дней при  $P \leq 0,05$ ) (рис. 5.14). ТРО подкожного варианта АОЭ под влиянием гликозил-НММ-1 составило 97%. УПЖ (рис. 5.15) животных под действием субстанции оценивалось по СПЖ опухоленосителей (82 дней; 81 и 82 дней против в контроле (2) 35 дней), УПЖ субстанции составило (178 дней; 173 и 175 дней).

Анализ периферической крови после введения гликозил-НММ-1 в исследуемых дозах показал, что у животных количество лейкоцитов снижалось до нормы ( $9,35 \pm 0,34$ ;  $7,9 \pm 0,84$  и  $8,25 \pm 1,12$  против  $22,2 \pm 2,5$  при  $P \leq 0,05$ ) (рис. 5.16).

У подопытных животных, получавших циклофосфамид в дозах: 2; 1 и 0,5 мг/кг размеры опухоли уменьшились в 1,5-2 раза в динамике на 7-й день (8 x 8 x 5; 9 x 5 x 3 и 7 x 7 x 6 против 18 x 16 x 11 в контроле 2 при  $P \leq 0,05$ ), на 14-й день (13 x 10 x 10; 10 x 8 x 6 и 13 x 9 x 7 против 19 x 15 x 15) и на 21-й день (16 x 13 x 13; 15 x 9 x 8 и 17 x 13 x 11 против 24 x 20 x 13 у животных-опухоленосителей в контроле 2 при  $P \leq 0,05$ ). Масса опухоли (мг) уменьшилась на 7-й день ( $32,37 \pm 20,86$ ;  $39,96 \pm 18,61$  и  $25,51 \pm 20,97$  против  $68,89 \pm 198,79$  у опухоленосителей в контроле 2 при  $P \leq 0,05$ ), на 14-й день ( $1036,21 \pm 97,2$ ;  $1146,44 \pm 22,0$  и  $970,07 \pm 45,8$  против  $2204,7 \pm 369,5$ ) и на 21-й день ( $1277,21 \pm 187,9$ ;  $1467,45 \pm 161,6$  и  $1114,18 \pm 129,8$  против  $2717,5 \pm 470,5$  у животных в контроле 2 при  $P \leq 0,05$ ) (рис. 5.17).

ТРО подкожного варианта АОЭ под влиянием циклофосфамида в динамике на 7-й день составило (47 %; 58 и 37 %), на 14-й день (47 %; 52 и 44 %) и на 21-й день (47; 54 и 41 %), соответственно, в среднем 47 % (рис. 5.18).

СПЖ, в днях, у животных-опухоленосителей составляет (22 дней; 19,2 и 17,1 дней против в контроле (2) 35 дней) и УПЖ, в днях, равняется (47 дней; 58 и 37 дней). ТРО подкожного варианта АОЭ под влиянием циклофосфамида составило 47% соответственно. УПЖ, в днях, оценивалось по СПЖ

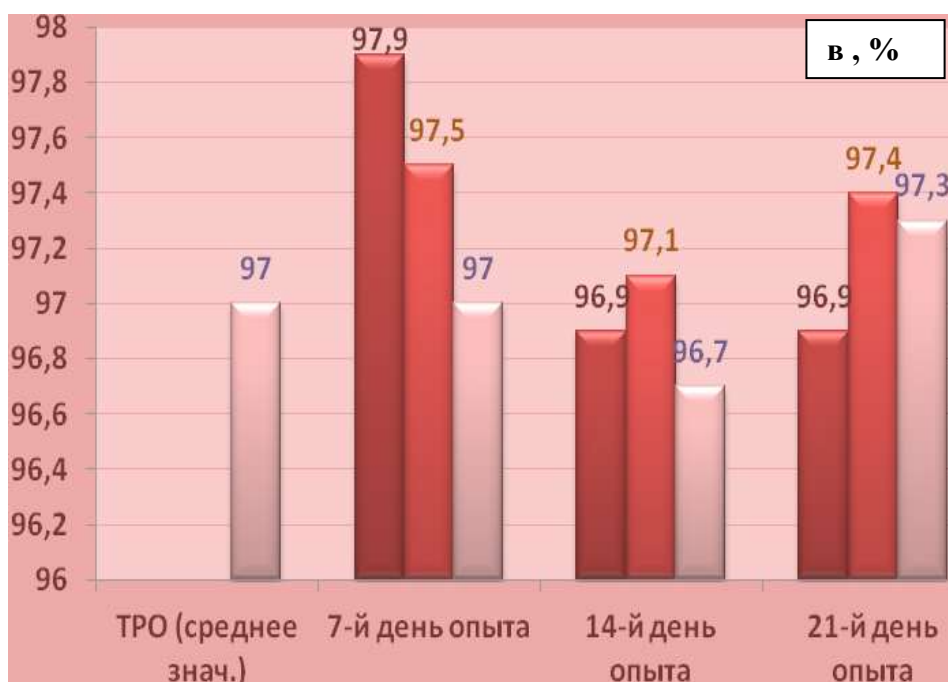


Рис. 5.14. Торможение роста опухоли под влиянием гликозил-НММ-1 у линейных мышей при подкожном варианте АОЭ ( $P \leq 0,05$ ).

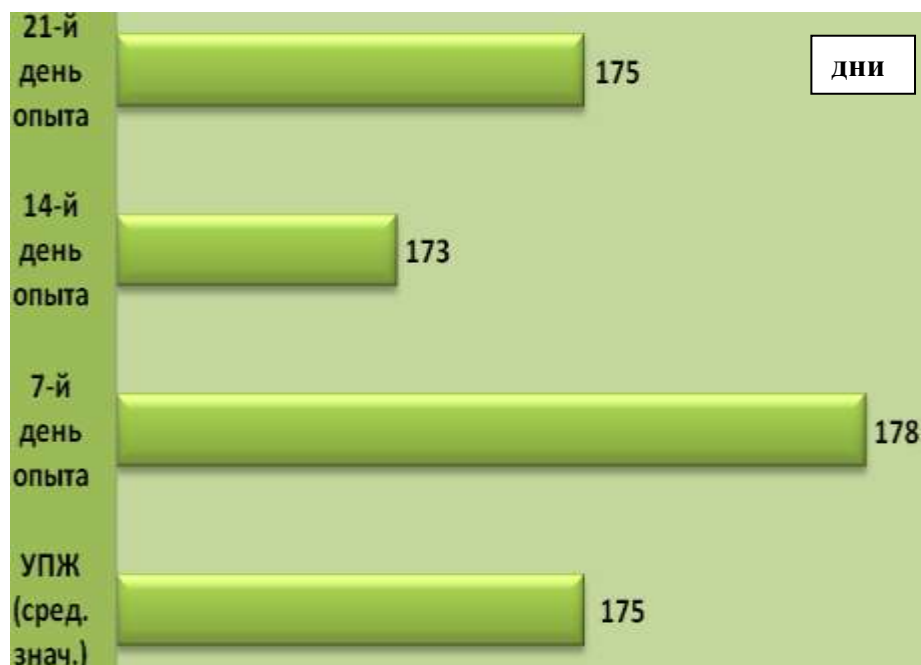


Рис. 5.15. Удлинение продолжительности жизни мышей при подкожном варианте АОЭ под влиянием гликозил-НММ-1 ( $P \leq 0,05$ ).

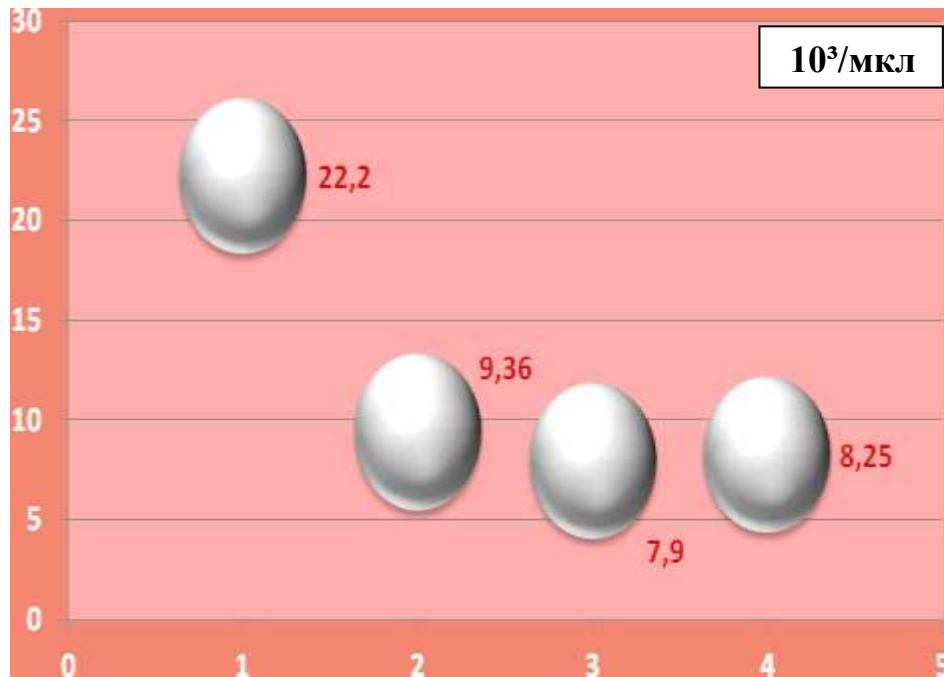


Рис. 5.16. Содержание лейкоцитов в периферической крови при п/к варианте АОЭ после введения гликозил-НММ-1 животным в дозах 40; 20 и 10 мг/кг ( $P \leq 0,05$ ).



Рис. 5.17. Показатели массы опухоли подкожного варианта АОЭ на 7-й, 14-й и 21-й день опыта под влиянием циклофосфамида в дозах 2; 1 и 0,5 мг/кг ( $P \leq 0,05$ ).

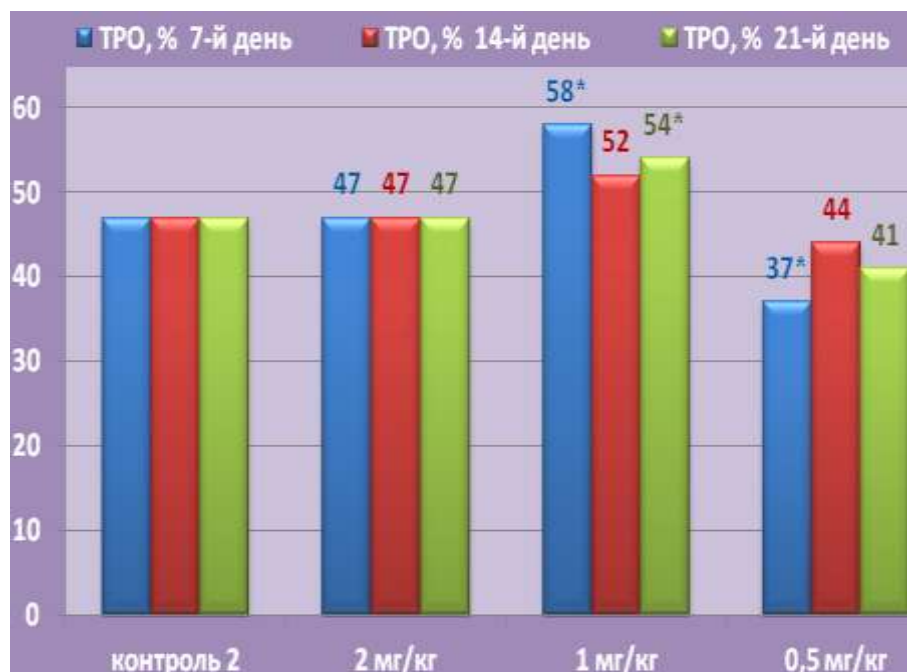


Рис. 5.18. Торможение роста опухоли подкожного варианта АОЭ под влиянием циклофосфамида на 7-й, 14-й и 21-й день ( $P \leq 0,05$ ).

опухоленосителей (22 дней; 19,2 и 17,1 дней, против в контроле (2) 35 дней). УПЖ, в днях, равняется (47 дней; 58 и 37 дней) (рис. 5.19).

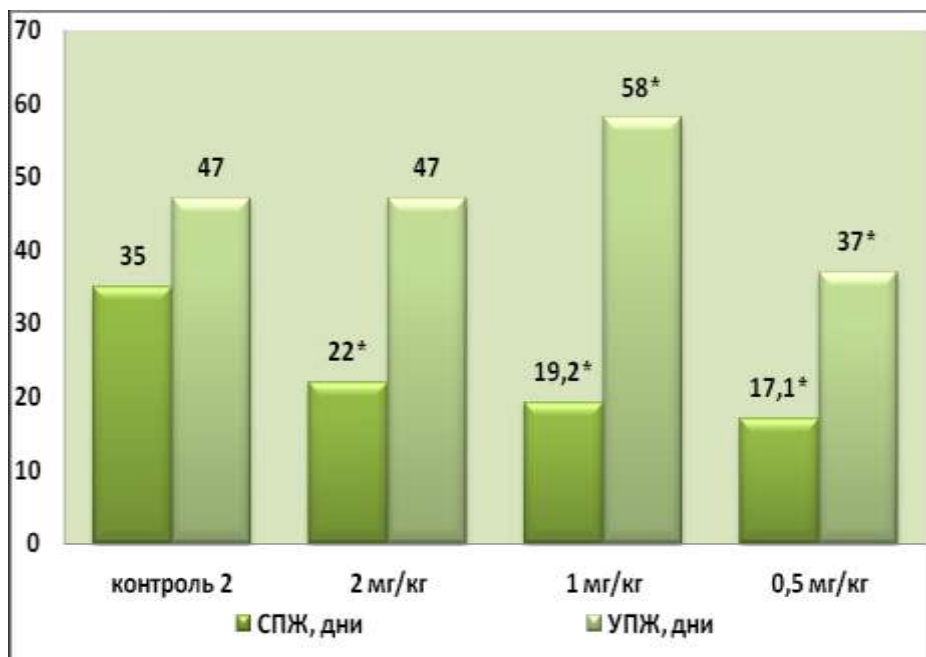


Рис. 5.19. Удлинение продолжительности жизни у мышей при подкожном варианте АОЭ под влиянием циклофосфамида ( $P \leq 0,05$ ).

Циклофосфамид у VI-VIII опытных групп значительно снижает количество лейкоцитов ниже нормы ( $4,35 \pm 0,34$ ;  $3,9 \pm 0,84$ ;  $4,25 \pm 1,12$  против  $22,2 \pm 2,5$ ), наблюдалось угнетение лейкопоза за счет относительного ( $35,2 \pm 2,5$ ;  $33,2 \pm 2,78$  и  $30,4 \pm 1,47$  против  $43,0 \pm 6,5$ ) и абсолютного количества лимфоцитов крови ( $3765 \pm 194,0$ ;  $3635,5 \pm 452,1$  и  $4309,2 \pm 723,0$  против  $6728 \pm 934,6$  в контроле при  $P \leq 0,05$ ) (рис. 5.20).

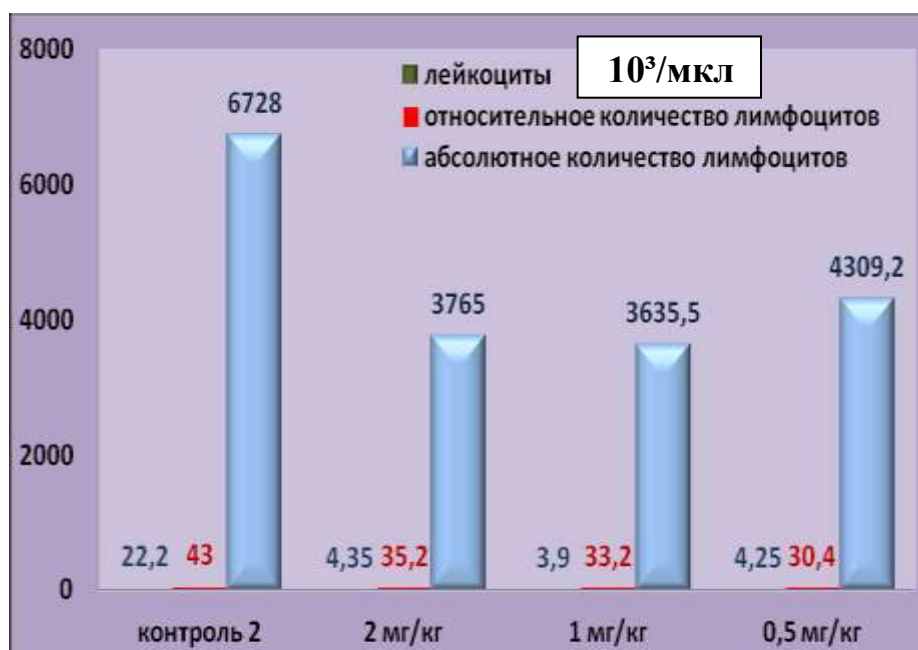


Рис. 5.20. Содержание лейкоцитов, относительного и абсолютного количества лимфоцитов в крови при введении циклофосфамида животным-опухоленосителям на подкожном варианте АОЭ ( $P \leq 0,05$ ).

Наблюдалось нестойкое угнетение гемопоэза в МПД (до 5 дней), после чего наступала быстрая регенерация. Миелограмма нормализовалась через две недели, но к этому сроку не происходило полной обратимости токсического действия 47 %. У животных VI-VIII опытных групп обнаружено снижение количества лейкоцитов в 2 раза больше, по сравнению с гликозил-НММ-1. Происходило угнетение лейкопоза за счет лимфоидных элементов, относительного и абсолютного количества лимфоцитов в крови. ПОА субстанции и аналога, угнетение лейкопоза за счет лимфоидных элементов,

относительного и абсолютного количества лимфоцитов в крови. ПОА гликозил-НММ-1 и аналога, оцениваемая по удлинению продолжительности жизни составляет 175 % и 47 %, по сравнению с животными в контроле.

Нами проводилось морфологическое изучение специфической ПОА гликозил-НММ-1 на подкожном варианте АОЭ у опухоленосителей. Результаты исследования микроструктуры внутренних органов у контрольных-опухоленосителей подкожного варианта АОЭ аналогичны. При введении субстанции в дозе 40 мг/кг наблюдается дисконфлексация гепатоцитов в пределах печеночных балок. В прилегающие к венам в просветах синусоидов имеются эндотелиальные и активизированные купферовские клетки. Гепатоциты укрупнены, местами вакуолизированы. Просветы центральных вен свободны от крови. Сосуды стромы и портальных трактов выражено полнокровны с отечными расширенными стенками, отмечены признаки периваскулярного отека. Наблюдается огрубение волокнистого каркаса триад. Местами определяется расширение желчных капилляров. Соединительнотканые прослойки местами содержат повышенное количество клеточных элементов. в дозе 40 мг / кг изменения в структуре сердца соответствуют. В дозах 20 и 10 мг / кг периваскулярно повышены клеточные элементы.

Структура поверхностного эпителия желудка в дозе 40 мг/кг изменена. Определяются дистрофические и некробиотические изменения, микроэрозии. Толщина слизистой снижена. Просветы желез расширены, в них обнаружена слизь, межклеточные пространства также расширены. Эпителиальная выстилка фундальных желез представлена всеми характерными типами клеток (преобладают мукоциты шейки). Увеличено число фибробластов и макрофагов, определяются малодифференцированные клетки. Сосуды микроциркуляторного русла расширены, в просветах обнаружены лейкоциты. Наличие обильной инфильтрации эозинофилами дна желез. В прослойках соединительной ткани мышечной пластинки наблюдается значительное



содержание лимфоидных клеток, макрофагов. Обнаружены резко расширенные протоки желез, в просветах которых содержатся слущенные экзокриноциты. В шейках и концевых отделах желез выявлены дистрофически измененные клетки. Наблюдается очаговое повышение количества главных клеток. В дозах 20 и 10 мг/кг структура слизистой желудка соответствует норме.

Гликозил-НММ-1 в дозе 40 мг/кг слизистая оболочка тонкого кишечника истончена, отечна. Наблюдается диффузное уплощение ворсин покровного эпителия. Местами ворсины оголены вплоть до базальной мембраны. Собственная пластинка слизистой отечна, отмечается диффузная лимфоплазмоцитарная инфильтрация с примесью эозинофилов.

В дозах 40 и 20 мг/кг слизистая оболочка толстого кишечника истончена, отечна. Наблюдается диффузное уплощение покровного эпителия, местами слизистая оголена вплоть до базальной мембраны. В отдельных участках наблюдается разрушение базальной мембраны. В строме отмечаются лимфоциты, макрофаги. В дозе 10 мг / кг в отдельных местах стромы слизистой и подслизистой оболочек встречается повышенная клеточность, лимфоидные фолликулы со светлыми центрами.

В корковом веществе почки в дозе 40 мг / кг определяются сморщенные гломерулы. Местами в просвете извитых канальцев видны белковые скопления. В отдельных случаях перисваскулярно и в межканальцевых пространствах наблюдаются клеточные инфильтраты. В мозговом слое отмечаются умеренные очаговые инфильтраты. Соединительнотканная строма отечна. Стенки большинства артерий утолщены, отечны, местами обнаружены признаки их плазматического пропитывания. В дозах 20 и 10 мг / кг структура коркового и мозгового вещества без видимых изменений.

Гликозил-НММ-1 в дозе 40 мг / кг цитоплазма клеток пучковой зоны надпочечников вакуолизирована за счет содержания большого количества липидов. Клетки мозгового вещества крупные, овальной формы, объединенные

в гроздь и тяжи. Сосуды коры и мозгового вещества полнокровные. В просветах сосудов и периваскулярных пространствах определяются единичные лимфоциты и гранулярные лейкоциты. В дозах 20 и 10 мг / кг выделяются очаги делипоидизации клубочковой и пучковой зон.

Определяется сужение коркового вещества тимуса субстанция в дозе 40 мг/кг, подкапсулярно – появление большого количества светлых лимфоидных клеток. Капсула и строма разрыхлена. Сосуды полнокровны, периваскулярно отечны. Выражена плазмоцитарная и макрофагальная реакция в мозговом веществе. В дозах 20 и 10 мг / кг заметно некоторое снижение содержания малых лимфоцитов в корковом веществе, полнокровие сосудов, макрофагальная реакция.

В дозе 40 мг / кг размеры фолликулов селезенки со светлыми центрами значительны. Отмечено увеличение содержания малых лимфоцитов, повышенное содержание фолликулов с реактивными центрами. Отмечается увеличение числа лимфоцитов в Т-зависимых зонах белой пульпы. В маргинальной зоне и красной пульпе - активизация макрофагов, увеличение числа зернистых лейкоцитов и тучных клеток. Трабекулярные вены и артерии расширены. В большом количестве встречаются диффузно рассеянные мелкие лимфоциты, а также плазматические клетки. Синусы красной пульпы селезенки полнокровны. В дозах 20 и 10 мг / кг отличий от контроля не наблюдается.

Гликозил-НММ-1 в дозе 40 мг/кг вызывает гиперплазию лимфатических фолликулов, расширение реактивных центров, которые занимают большую часть фолликула. В клеточном составе центров выявляются малодифференцированные клетки лимфоцитарного и плазматического ряда. В перифолликулярных зонах и мозговых тяжях клеточный состав представлен плазматическими клетками и малыми лимфоцитами. В мягкотных шнурах цитоплазмы обнаружены фагоцитированные частицы. В дозах 20 и 10 мг / кг структура узлов в норме.

Т.о., результаты патоморфологического изучения п/к варианта АОЭ специфической ПОА гликозил-НММ-1 показали, что в структуре органов у опухоленосителей ПОА проявилась признаками повреждения опухолевой ткани: полиморфизмом клеток, появлением многоядерных клеток и очагов некроза. Выявились выраженные дегенеративно-дистрофические изменения, гибель и лизис клеток. Вокруг зоны некроза обнаружено разрастание соединительной ткани. Кровеносные сосуды расширены, их проницаемость повышена. Циклофосфамид угнетает митотическую активность опухолевой ткани; отмечается дисконфлексация клеток, полиморфизм; появляются гигантские многоядерные клетки, патологические митозы, очаги некроза. В клетках опухоли происходят дегенеративно-дистрофические изменения, гибель, лизис и разрастание соединительной ткани. Сосуды расширены. Наблюдаются очаги гемопоза в стволовых клетках печени. Набухание стенок артериол в почках, дегенерация эпителия канальцев. Перитонеальные макрофаги в соединительной ткани, атрофические, дистрофические изменения в слизистой желудка, кишечника, инфильтрация стромы и подслизистого слоя.

*Заключение.* В V главе резюмируя вышеизложенные результаты опыта по специфической ПОА асцитного варианта АОЭ можно констатировать о том, что гликозил-НММ-1 у животных-опухоленосителей уменьшает массу тела, объем опухоли, увеличивает ПО эффект. После лечения у опытных групп выявлено снижение количества лейкоцитов в крови до нормы. Субстанции обладает избирательным действием, ПОА составляет 93 %. После введения гликозил-НММ-1 в дозах 40; 20 и 10 мг / кг в динамике, на 7-й, 14-й и 21-е дни опыта при подкожном варианте АОЭ у опухоленосителей, получавших субстанции, наблюдается полное уменьшение объёма и массы опухоли. Уменьшилось количество лейкоцитов в крови до нормы. ПОА по УПЖ составляет 175 дней и ТРО - 97 %.

Циклофосфамид по сравнению с гликозил-НММ-1, в 2 раза меньше уменьшает массу тела опухоленосителей, объем опухоли, значительно снижает

количество лейкоцитов в крови, угнетает лейкопоз за счет относительного, абсолютного количества лимфоцитов. ТРО 47 %, по сравнению с нелечеными животными-опухоленосителями. После введения циклофосфида в дозах 2; 1 и 0,5 мг / кг в динамике, на 7-й, 14-й и 21-е дни опыта при подкожном варианте АОЭ у опухоленосителей снижает массу опухоли в 1,5-2 раза меньше, чем субстанции. В 2 раза уменьшает количество лейкоцитов в крови и угнетает лейкопоз за счет лимфоидных элементов крови. ТРО по УПЖ - 47 %. К препарату сравнения менее чувствительна перевивная АОЭ. Из этого можно заключить, что гликозил-НММ-1 и циклофосфамид соответствуют критериям ПОА в первичном скрининге по отбору ПО средств.

Патоморфологическое изучение специфической ПОА гликозил-НММ-1 при АОЭ выявило следующее: под влиянием субстанции происходит повреждение опухолевой ткани; появляются многоядерные клетки, очаги некроза, выраженные дегенеративно-дистрофические изменения, гибель и лизис клеток. Вокруг зоны некроза наблюдается разрастание соединительной ткани; расширение кровеносных сосудов. При цитологическом анализе из материала асцитической опухоли, полученного у интактных-опухоленосителей выявлены клетки, отдельно лежащие в различных положениях. На 12-е сутки после трансплантации в препаратах контрольной группы наблюдались признаки апоптоза в виде «протуберанцев» цитоплазмы. Опухолевые клетки окрашивались интенсивно. В дозе 40 мг/кг на фоне гликозил-НММ-1 клеточный состав уменьшился. Обнаружены единичные мезотелиальные клетки с начальными признаками апоптоза, в состоянии лизиса с образованием клеток - «теней». После введения гликозил-НММ-1 в дозах 20 и 10 мг/кг состав клеток в препаратах уменьшился. Просматриваются мезотелиальные клетки с начальным признаком апоптоза клеток. Цитоплазма клеток в состоянии выпячивания. Опухолевые клетки находились в периоде лизиса с формированием клеток - «теней». Т.о., в наших исследованиях ПОА изучаемой субстанции превосходит ПОА препарата сравнения.

Циклофосфамид приводит к расширению сосудов печени: появляются очаги гемопоэза в стволовых гемопоэтических клетках и макрофаги. В почках происходит набухание стенок артериол, дегенерация эпителия канальцев почек; в слизистой желудка атрофические и дистрофические изменения; в кишечниках воспалительная инфильтрация стромы и подслизистого слоя; угнетает митотическую активность опухолевой ткани, дисконплексація, полиморфизм клеток, появляются гигантские многоядерные клетки, патологические митозы, очаги некроза; дегенеративно-дистрофические изменения в клетках опухоли, приводящие к гибели и лизису; вокруг зоны некроза разрастание соединительной ткани, расширение и уплотнение стенок сосудов. К циклофосфамиду менее чувствительна перевивная АОЭ. После введения циклофосфамида в дозе 2 мг/кг клеточный состав в препарате асцитической опухоли уменьшился. Обнаружены единичные мезотелиальные клетки с начальными признаками апоптоза. Клетки находились в состоянии лизиса с образованием клеток - «теней». В дозах 1 и 0,5 мг/кг состав клеток в препаратах уменьшился незначительно. Просматривались изредка мезотелиальные клетки.

## **ГЛАВА 6. ИЗУЧЕНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ГЛИКОЗИЛ-НММ-1 В СРАВНЕНИИ С ЦИКЛОФОСФАМИДОМ**

В данной главе приводятся результаты наших исследований по изучению некоторых сторон действия изучаемой субстанции на организм животных, в частности, местно-раздражающие, аллергогенные, кумулятивные свойства, влияние на иммунную систему, возможное канцерогенное, эмбриотоксическое и тератогенное влияние, фармакокинетика гликозил-НММ-1 в сравнении с циклофосфамидом.

### **6.1. Местно-раздражающее действие субстанции**

В двух сериях опытов проводилось изучение местно-раздражающего действия гликозил-НММ-1 согласно «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств», (М., 2012.), «Временные методические рекомендации ДЛО и МТ МЗ КР. Требования к доклиническому изучению общетоксического действия новых фармакологических веществ», ФК ДЛО и МТ МЗ КР (Б., 2000) в сравнении с циклофосфамидом.

Первая серия опыта проводилась на 48 морских свинках массой 300-500 г. Было сформировано 8 групп: I-II – контрольные, III-VIII – опытные, которым вводилось в/б 1/2 часть гликозил-НММ-1 и циклофосфамида в дозах: (по 7 мг/кг), (по 3) и (по 2 мг/кг), по 0,2 мл 2 раза в день в течение 7-и дней. Контрольные группы получали изотонический раствор хлорида натрия (0,9 %) по 0,2 мл.

Реакция кожи оценивалась по шкале оценки кожных проб (рис. 6.1-6.3). Измерялась температура кожи в месте введения гликозил-НММ-1 и препарата сравнения (38,6; 38,4 и 38,1 против 38,5 в контроле) и (39,0; 38,5 и 38,5 против



Рис. 6.1. Показатели местно-раздражающего действия гликозил-НММ-1 на 7-й день опыта на морских свинках (абс. зн.  $M \pm m$ ).



Рис. 6.2. Показатели местно-раздражающего действия циклофосфида на 7-й день опыта на морских свинках (абс. зн.  $M \pm m$ ).

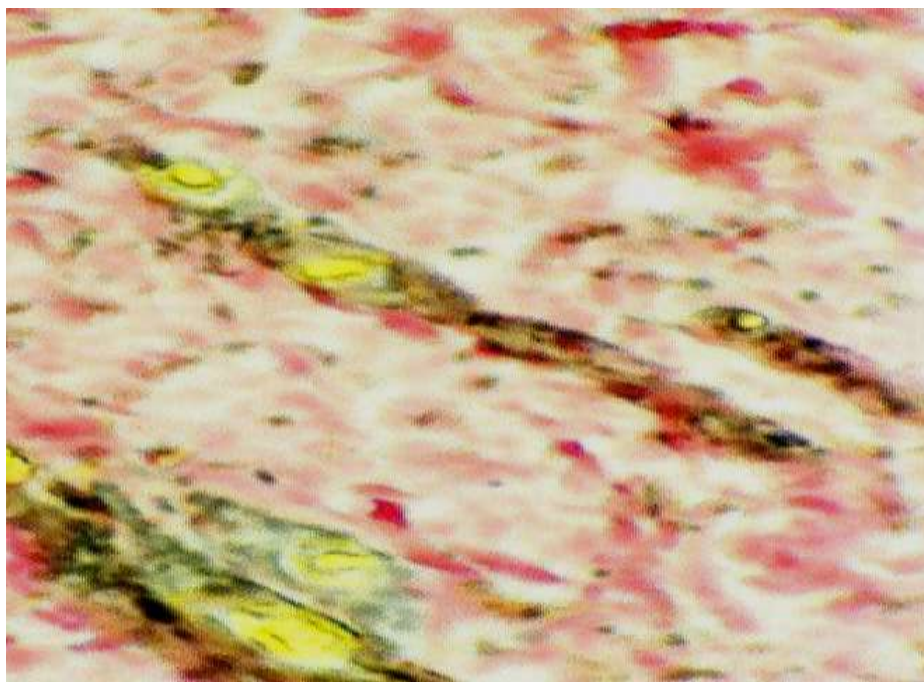


Рис. 6.3. Кожа. Гликозил-НММ-1. 7 мг/кг. Соединительная ткань дермы отечная, определяется умеренная фибробластическая реакция, единичные очаги коллагенообразования, уплотнение и огрубение коллагеновых пучков. Окраска пикрофуксином по ван-Гизон. x200.

38,6 в контроле). Наблюдалось появление гиперемии и общая реакция организма. Процедура введения субстанции и циклофосфида повторялась 2 раза в день.

В III-VIII опытных группах после в/б введения субстанции и циклофосфида на боковой поверхности области живота, на месте инъекции, через 1 минуту возникала умеренная гиперемия без воспалительного отека, оцениваемая (+ +). Двукратное в/б введение исследуемых средств в течение первой сутки вызывало на коже слабую быстро проходящую гиперемию, оцениваемую (+). На вторые сутки и в последующие дни кожной реакции не наблюдалось. На коже морских свинок отсутствовали раздражающие кожные проявления: повышение местной температуры, гиперемия, экссудативные



проявления, шелушение, оцениваемые (+), общая реакция организма, двигательные беспокойства в сравнении с контролем.

Анализ периферической крови показал, что у животных III-V опытных групп, получавших гликозил-НММ-1 в исследуемых дозах, в течение недели отклонения от нормы не наблюдалось. Установлено, что при в/б введении животным исследуемых доз субстанции в течение 7-и дней в периферической крови изменений не вызывает.

У животных после введения циклофосфида отмечается слабовыраженная лейкотоксичность. В первые пять дней общее количество лейкоцитов снижается более чем наполовину. В субтоксических дозах наблюдаются выраженные изменения во всех ростках кроветворения. К препарату более чувствителен лимфопоэз. Гемопоэз восстанавливается через 2-3 недели и завершается в течение месяца. Таким образом, однократное и многократное введение гликозил-НММ-1 и циклофосфида в месте введения, на коже боковой поверхности области живота не вызывало местно-раздражающего действия.

Во II серии опыта проводилось изучение влияния гликозил-НММ-1 и циклофосфида на слизистую глаз 8 кроликов массой 3-3,5 кг обоих полов. Изучаемые вещества по 0,004 %; 0,0004 и 0,0002 % нанесены за нижнее веко глаз кроликов, которые вызвали двигательное беспокойство, дрожь, писк. После инстиллирования дистиллированной водой реакция несколько уменьшилась. Через 2-3 минуты отмечена кровенаполненность сосудов опытного глаза и усиление сосудистого рисунка контрольного глаза. Через 20-30 минут реакция опытного глаза восстановилась симметрично. Через 5-6 минут уменьшилась лакримация. Легкая гиперемия и сосудистый рисунок роговицы опытного глаза держались в течение 1 часа, а со стороны контрольного глаза реакции не наблюдалось. Можно констатировать, что нанесение 1/2 части доз субстанции и циклофосфида за нижнее веко глаз не вызывает у кроликов местно-раздражающего эффекта. Результаты опыта

показали, что в месте нанесения гликозил-НММ-1 и препарата сравнения на коже, подлежащей мышечной ткани и слизистой оболочке у животных не проявлялось местно-раздражающего и кожно-резорбтивного действия.

Проводилось морфологическое изучение местно-раздражающего действия субстанции (см. рис. 6.3). Исследование кожи и подлежащей мышечной клетчатка и мышцы на месте введения не уплотнены. Отека, инфильтрации, изменения цвета мышц не выявлено. Циклофосфамид в МПД и терапевтических дозах не вызывает местно-раздражающего действия.

Таким образом, исследование местно-раздражающего действия при однократном и многократном введениях гликозил-НММ-1 и циклофосфамида, морфологическое изучение кожи, подлежащей мышечной ткани, слизистой оболочки показали, что субстанции и циклофосфамид не вызывают местно-раздражающего и кожно-резорбтивного действия.

## **6.2. Исследование аллергогенных свойств гликозил-НММ-1**

Для исключения возможного аллергогенного действия в двух сериях опытов проведено изучение влияния гликозил-НММ-1 на организм животных согласно «Методическим рекомендациям по оценке аллергогенных свойств фармакологических средств», (М., 2012) в сравнении с циклофосфамидом [80, 100, 299].

I серия опыта проводилась на 48 морских свинках массой 400-500 г обоих полов. Состояние животных было удовлетворительным. Реакция кожи оценивалось по шкале оценки кожных проб. Было сформировано 8 групп: I-II – контрольные, III-VIII – опытные. Опытным группам внутрибрюшинно вводились (½ часть) субстанции и препарата циклофосфамид в дозах по 4; 2 и 1 мг/кг 5 раз в неделю по 0,2 мл в течение двух недель. Контрольная группа получала изотонический раствор хлорида натрия (0,9 %).

В ходе эксперимента на 15-й день введения «разрешающих» доз гликозил-НММ-1 и циклофосфамида у морских свинок III-VI опытных групп в области введения наметилась легкая гиперемия кожи, которая через 1 час исчезла бесследно. Общей реакции организма, изменений со стороны кожи в момент введения изучаемых средств не наблюдалось. Число дыханий 120 в минуту. У животных III-VIII групп кожные покровы макроскопически оценивались как «без эффекта». На 28-й день опыта аллергогенного действия не наблюдалось. В других опытных группах на участке введения не отмечались реакции раздражения, выпадения волос по сравнению с контрольными животными.

Известно, что признаками аллергической реакции со стороны кожи являются утолщение, отек, шелушения, а гистологически аллергическая реакция проявляется в увеличении количества тучных клеток [7].

Таким образом, при длительном 28 дней применения 1/2 части гликозил-НММ-1 и циклофосфамида вышеперечисленных признаков не наблюдалось, что свидетельствует об отсутствии кожно-резорбтивного действия и аллергической реакции.

II серия опытов проводилась на 48 белых беспородных крысах 160-180 г обоих полов. Было сформировано 8 групп: I-II – контрольные, III-VIII – опытные, которым вводилась 1/2 часть дозы гликозил-НММ-1 и циклофосфамида в/б в исследуемых дозах (65; 33 и 16 мг/кг) и (3; 2 и 1 мг/кг) 5 раз в неделю по 0,2 мл в течение двух недель. Контрольная группа получала изотонический раствор хлорида натрия (0,9 %).

В ходе 28-дневного наблюдения у III-VIII опытных групп аллергических проявлений не наблюдалось, что свидетельствовало об отсутствии аллергической реакции при длительном применении 1/2 части субстанции и циклофосфамида.

Из данных, представленных на рис. 6.4. следует, что длительное введение 28 дней 1/2 части гликозил-НММ-1 не приводила к падению общего

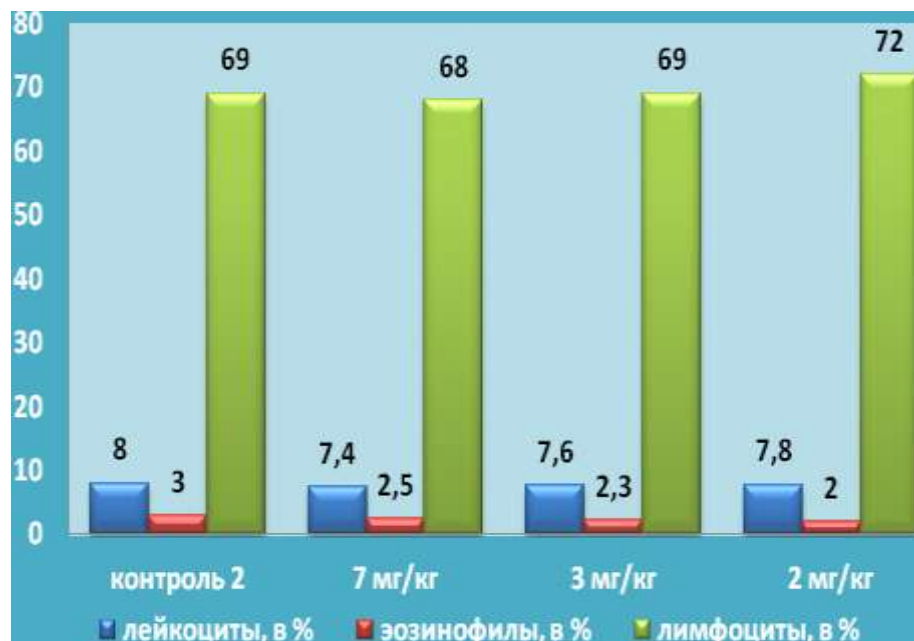


Рис. 6.4. Показатели лейкоцитов, эозинофилов и относительного количества лимфоцитов в периферической крови при введении субстанции гликозил-НММ-1 на 28-й день опыта (абс. зн.  $M \pm m$ ).

числа лейкоцитов в периферической крови ( $7,4 \pm 0,08$ ;  $7,6 \pm 0,16$  и  $7,8 \pm 0,14$  против  $8 \pm 0,26$  в контроле). 1/2 часть циклофосфамида не приводил к снижению ( $5,3 \pm 0,08$ ;  $6,4 \pm 0,16$  и  $6,5 \pm 0,14$  против  $8 \pm 0,26$  в контроле) относительного и абсолютного количества лимфоцитов ( $64,8 \pm 9,9$ ;  $59,9 \pm 3,10$  и  $62,5 \pm 1,46$  против  $64,8 \pm 9,9$  в контроле) и ( $6343 \pm 362,4$ ;  $6667 \pm 301,2$  и  $6421,9 \pm 720$  против  $6668,9 \pm 301,2$  в контроле), (рис. 6.5) отсутствовала тенденция к возрастанию числа эозинофилов и падения абсолютного количества лимфоцитов.

Следовательно, длительное 28-дневное введение крысам 1/2 части субстанции и циклофосфамида в дозах (65; 33 и 16 мг/кг) и (3; 2 и 1 мг/кг) показало отсутствие аллергической реакции и не приводит к падению общего числа лейкоцитов в периферической крови. Однако, в лейкоцитарной формуле отсутствовала тенденция к возрастанию количества эозинофилов и падения относительного и абсолютного числа лимфоцитов.

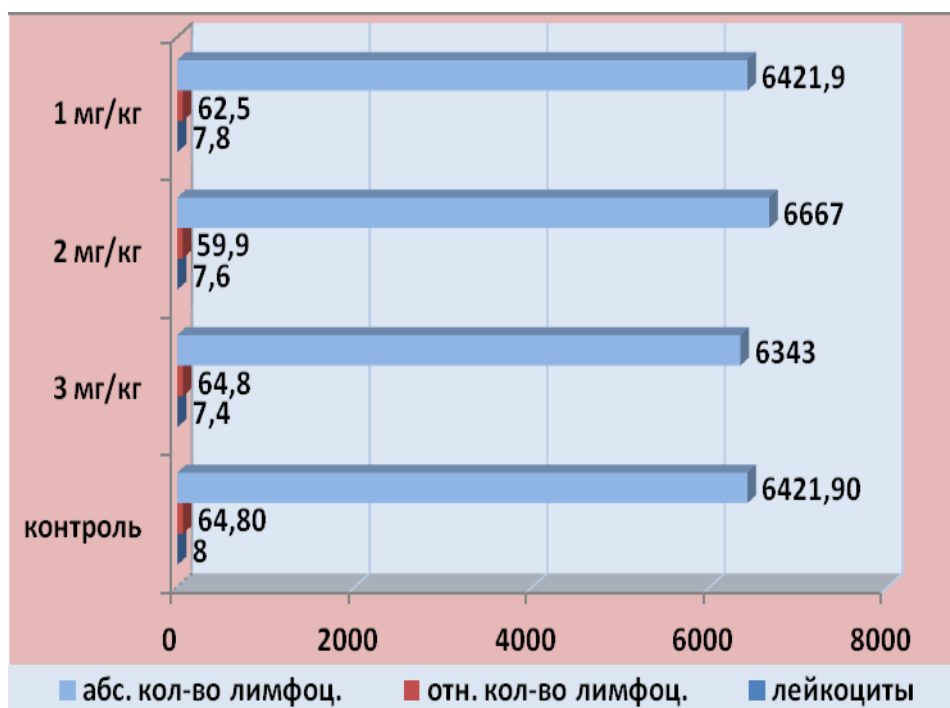


Рис. 6.5. Показатели лейкоцитов, относительного и абсолютного количества лимфоцитов в периферической крови при введении циклофосфида на 28-й день опыта (абс. зн.  $M \pm m$ ).

Также нами проведено морфологическое исследование при изучении возможного аллергического действия  $\frac{1}{2}$  части субстанции в дозах: 65; 33 и 16 мг/кг на внутренние органы животных.

Микроскопическое исследование кожи животных (контроль 1-2) показало, что структура её не изменена. В дозе 65 мг/кг в месте инъекции гликозил-НММ-1 определяется некоторое утолщение эпидермиса, в дерме – наличие мелких очагов молодой грануляционной ткани, инфильтрированной макрофагами, лимфоцитами с примесью лейкоцитов. В дозах 33 и 16 мг/кг в структуре эпидермиса, собственной дермы местами определяется повышенное содержание клеток, лимфоидные и макрофагальные диффузные инфильтраты. Подкожная клетчатка и мышцы на месте введения не уплотнены. Отека, инфильтрации, изменения цвета мышц не выявлено.

Ткань печени у контрольных групп (1-2) имеют нормальную структуру. С введением субстанции в дозе 65 мг/кг наблюдаются деструктивные и

дистрофические изменения в печени с появлением серозного воспаления и очагов микронекроза. В дозах 33 и 16 мг/кг изменений в структуре печени не выявлено.

У животных контрольной группы (1-2) видовых различий в строении тонкой кишки не выявлено. После введения гликозил-НММ-1 в дозе 65 мг/кг у животных в слизистой оболочке кишечника наблюдается укорочение ворсинок, в строме которых определяется умеренная лимфоидная инфильтрация, эритростаз в капиллярах (рис. 6.6). В дозах 33 и 16 мг/кг в строме определяется умеренная лимфоидная инфильтрация, эритростаз в капиллярах.

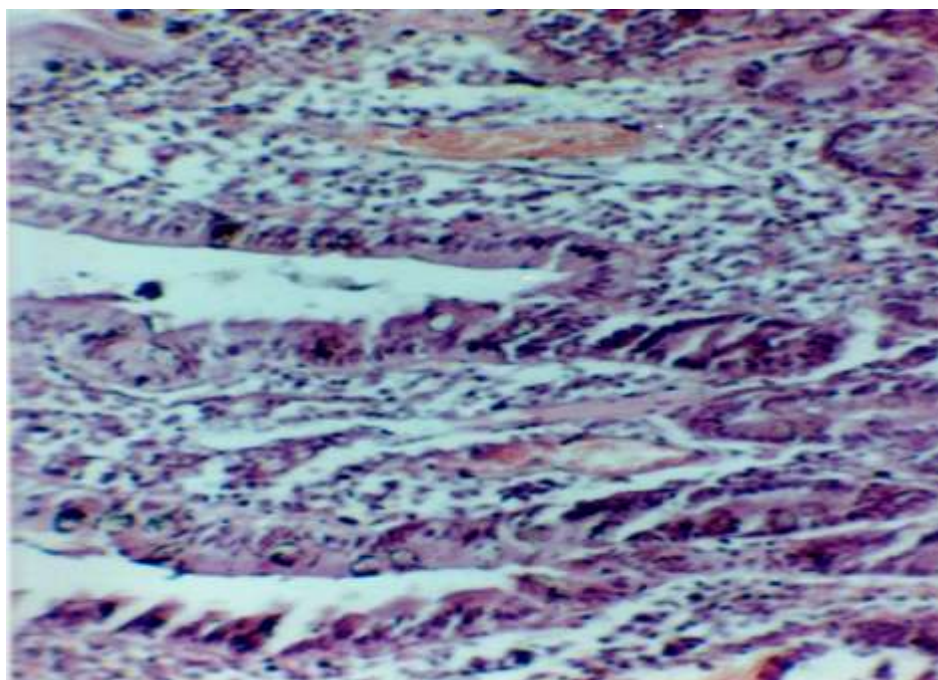


Рис. 6.6. Тонкий кишечник. Гликозил-НММ-1. 65 мг/кг. Поверхностный эпителий ворсин уплощен, контуры нечеткие, местами некротизирован. Энтероциты с признаками выраженных дистрофических изменений. В строме лимфоидно-клеточная инфильтрация. Сосуды полнокровны. Окраска гематоксилином и эозином. x200.

Тимус по структуре нормального строения, структура органа не отличается от контроля. При введении субстанции в дозе 65 мг/кг корковый

слой представлен густо расположенными тимоцитами. Медуллярная часть дольки содержит лимфоциты, ретикулярные клетки, слоистые тельца Гассала. Сосуды умеренно полнокровны. В дозах 33 и 16 мг/кг в клетках лимфоидной ткани, структуре жировой и соединительной тканей изменений не отмечено.

У контрольных животных капсула и трабекулы селезенки представлены плотной волокнистой соединительной тканью. После введения гликозил-НММ-1 в дозе 65 мг/кг отличий от контроля не наблюдается (рис. 6.7). В дозах 33 и 16 мг / кг структура селезенки в пределах нормы.

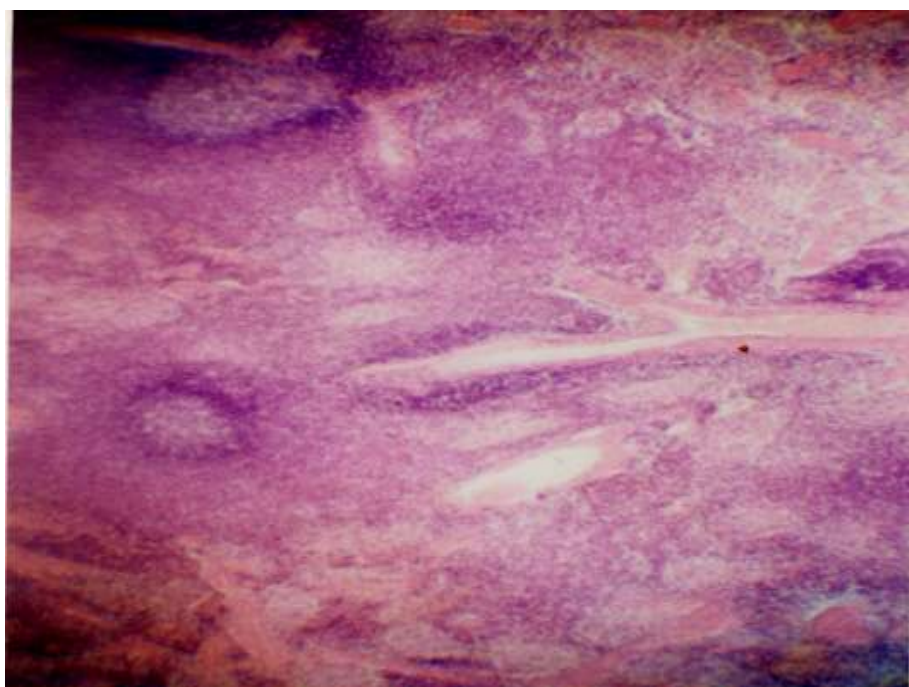


Рис. 6.7. Селезенка. Гликозил-НММ-1. 65 мг/кг. Соединительнотканная капсула и трабекулы отечны, разрыхленны, трабекулярная вена расширена, полнокровна. представлен мелкий фолликул белой пульпы, без выраженных светлых центров. Красная пульпа с выраженной инфильтрацией лимфоцитами. Окраска гематоксилином и эозином. x200.

Результаты морфологического исследования аллергогенного действия 1/2 части гликозил-НММ-1 в дозах: 65; 33 и 16 мг/кг в течение 28-и дней показали,

что у животных, как контрольной, так и опытных групп, признаков патологических изменений в коже, подлежащей мышечной ткани, слизистой оболочки кожно-сенсibiliзирующих проявлений не обнаружено. В структуре легких, тонкого кишечника, селезенки, лимфоидной ткани изменений не выявлено.

1/2 часть циклофосфида патологических изменений в коже, подлежащей мышечной ткани, свидетельствующих о наличии кожно-сенсibiliзирующих свойств не проявляет. При микроскопии не выявлено различий в структуре печени, активизаций клеток Купфера, увеличения количества и макрофагальной реакции, аллергогенного действия на легкие, кишечник, селезенку, лимфатические узлы, тимус и признаков атрофии лимфоидной ткани.

Таким образом, изучение аллергогенного действия гликозил-НММ-1 и циклофосфида в исследуемых дозах, морфологические исследования микроструктуры внутренних органов подопытных животных показали об отсутствии кожно-резорбтивного и аллергогенного действия.

### **6.3. Изучение кумулятивных свойств субстанции**

Изучение возможных кумулятивных свойств гликозил-НММ-1 проводилось по "тесту субхронической токсичности", который основан на возможности оценки адаптации к исследуемой субстанции (Segatore M. et al., 1992). Количественная оценка «кумулятивное™» проведена по методу Lim, предложенной Медведь Л. И. и др. (Kurth M. C. et al., 1990), использовалась схема Lit Ovitz T. L. et al., 1989.

Опыты проведены на 120 белых беспородных крысах массой 160-180 г, которые были распределены на 16 групп: I-II – контрольные, III-XVI – опытные. III–IX группы в первые 4 дня получали в/б гликозил-НММ-1 по 0,1 (1 мг / кг); 5—8-й день — 0,15 (0,7 мг / кг); 9-12-й день - 0,22 (0,45 мг / кг); 13-



16-е дни – 0,34 (0,29 мг / кг); 17-20-й день – 0,5 (0,2 мг / кг); 21-24-й день - 0,75 (0,13 мг / кг); 25-28-е дни – по 1,12 (0,07 мг / кг) (рис. 6.8). X-XVI группы получали циклофосфамид также по 0,1; 5—8-й день — 0,15; 9-12-й день - 0,22; 13-16-й день – 0,34; 17-20-й день – 0,5; 21-24-й день — 0,75; и на 25—28-е дни — по указанной схеме суммарная доза для субстанции составляла 12,8 (1,84 мг/кг), циклофосфамида 12,8 мг/кг за  $24 \pm 4$  дня. Контрольная группа получала в/б изотонический раствор хлорида натрия, в нарастающих дозах через равные промежутки времени в течение  $24 \pm 4$  дней.

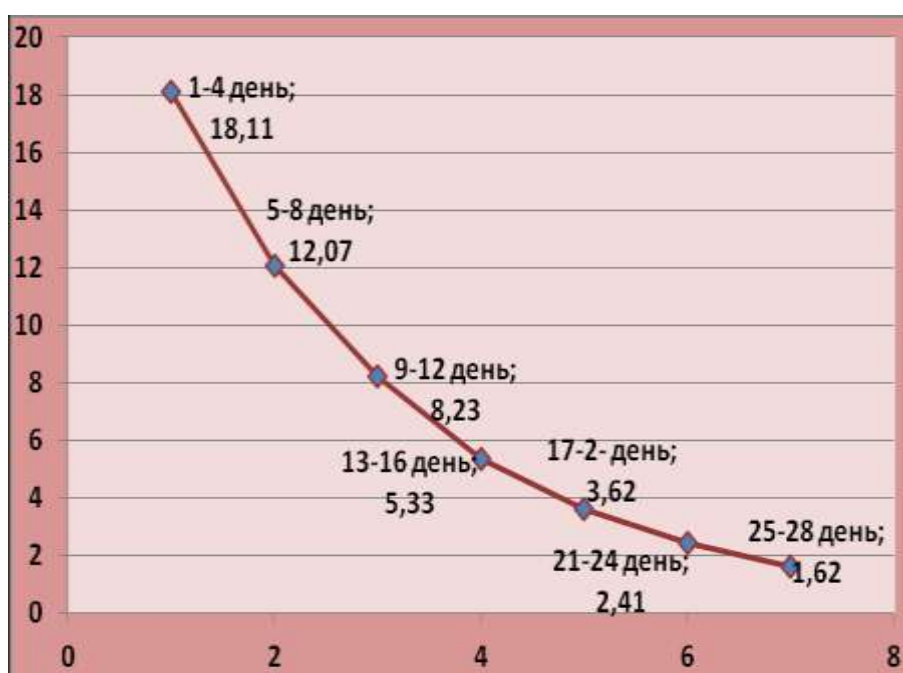


Рис. 6.8. Показатели кумулятивных свойств гликозил-НММ-1 на подопытных животных (абс. зн.  $M \pm m$ ).

Расчет коэффициента кумуляции проводился по формуле:

$$K_{cum} = \frac{S \times LD_{50}}{LD_{50}}$$

где,

$S \times LD_{50}$  - суммарная среднесмертельная доза вещества при многократном введении;

$LD_{50}$ — смертельная доза вещества при однократном введении;

$K_{cum}$  — коэффициент кумуляции.

Коэффициент кумуляции ( $K_{cum}$ ) по методу "теста субхронической токсичности" при в/б введении гликозил-НММ-1 крысам составляла: первые 4 дня – ( $18,11 \pm 0,168$ ); на 5—8-й день — ( $12,07 \pm 0,252$ ); 9-12-й день - ( $8,23 \pm 0,370$ ); 13-16-й дни – ( $5,33 \pm 0,571$ ); 17-20-й день – ( $3,62 \pm 0,840$ ); 21-24-й день – ( $2,41 \pm 1,260$ ); 25—28-й дни — ( $1,62 \pm 1,882$ ) через равные промежутки времени в течение  $24 \pm 4$  дней. Суммарная доза равнялась  $12,8$  ( $1,84$  мг / кг). Из рис. 6.6 видно, что гликозил-НММ-1 при многократном введении не обладает кумулирующей способностью.

Через 24 часа после введения циклофосфамида в МПД токсичность равна нулю, а полное исчезновение проявлений токсичности наблюдается лишь через 26 дней. В течение двух недель возможность введения препарата была больше, чем при однократном введении, что свидетельствует о слабой обратимости токсического действия. Циклофосфамид обладает высокой кумулирующей способностью и низкой обратимостью токсического действия.

Таким образом, гликозил-НММ-1 при многократном введении не обладает кумулирующей способностью. Для НАМ характерно быстрое исчезновение из крови, субстанция близка к другим производным НАМ по продолжительности циркуляции крови в организме. Циклофосфамид обладает высокой кумулирующей способностью и низкой обратимостью токсического действия.

#### **6.4. Влияние гликозил-НММ-1 на иммунную систему животных**

Для оценки состояния иммунной системы (фагоцитарное и клеточное) экспериментальных животных под влиянием гликозил-НММ-1 использовались тесты I-II уровня исследования в микроварианте:

- определение содержания Т-лимфоцитов методом спонтанного

- розеткообразования (Е-РОК) с эритроцитами кролика (Jondal M. et al., 1972);
- содержания В-лимфоцитов с помощью эритроцитов, нагруженных антителами и комплементом (ЕАС-РОК) (Mendes N.F. et al., 1973; Rajewsky K., 1996);
- влияния соединения на гуморальную иммунную систему по методу антителообразующих клеток (АОК) по Каннингему и Jerne (1974);
- определение числа АОК по методу Каннингема и Шенберга (1968);
- первичной иммунной реакции (антитела 19 S или JgM);
- вторичной реакции (антитела 7 S или JgG) (Морозов В. Л. и др., 1989).

Подсчитывалось количество лейкоцитов, состав форменных элементов крови. С помощью реакции розеткообразования определялось абсолютное и относительное содержание Т-лимфоцитов и регуляторных субпопуляций Т-клеток на чувствительность Е-рецепторов к теофиллину (Е<sub>ТФР</sub>-РОК, Е<sub>ТФЧ</sub>-РОК).

Фагоцитарная характеристика нейтрофильных гранулоцитов определялась по отношению к частицам латекса, с подсчетом фагоцитарного показателя (ФП) и фагоцитарного числа (ФЧ). Индекс иммунорегуляции высчитывался как отношение показателей Е<sub>ТФР</sub>-РОК (теофиллинрезистентные розеткообразующие клетки) к Е<sub>ТФЧ</sub>-РОК (теофиллинчувствительные розеткообразующие клетки).

I серия опыта проводилась на 80 белых беспородных мышах и 8 кроликах породы Шиншилла массой 18-20 г и 3,2-3,5 кг, соответственно. Животные были разделены на 8 групп: I-II - контрольные, III-VIII – опытные, которые получали в/б гликозил-НММ-1 и циклофосфамид в дозах: (40 и 2 мг/кг), (20 и 1) и (10 и 0,5 мг/кг) в течение 10 дней. Контрольной группе вводился изотонический раствор хлорида натрия (0,9 %). После 10-и дневного введения субстанции и циклофосфамида все животные умерщвлялись, проводился забор крови и внутренних органов для патоморфологического исследования.

Во II серии опыта проведено изучение влияния гликозил-НММ-1 на гуморальную иммунную систему на 80 мышах и 8 кроликах согласно методу антителообразующих клеток (АОК) по Каннингему. Первичная иммунная реакция (антитела 19S или JgM) определялась через 5 дней после введения 0,2 мл 10 % суспензии бараньих эритроцитов. Вторичная иммунная реакция (антитела 7S или JgG) определялась через 10 дней, после аналогичной иммунизации бараньими эритроцитами на 6-7-е дни. Реактивы для первичной пробы по Каннингему включали: 20 мкл эритроцитов (25 % суспензия в буфере Хенкса с 5 % телячьей сывороткой), 20 мкл комплемента морской свинки, 60 мкл буфера Хенкса с 5 % телячьей сывороткой и 100 мкл суспензии клеток селезенки. Вторая проба по Каннингему включала, соответственно, объемы 20; 90 и 50 мкл вышеуказанных компонентов. Кроме того, в последнем случае требовалось дополнительно 20 мкл сыворотки, разведенной 1:20 в буфере Хенкса с 5 % телячьей сывороткой. Усиливающая сыворотка представляла собой кроличье антитело типа JgG. Образовавшиеся бляшки подсчитывались визуально в люминесцентном свете на темном поле.

Из рис. 6.9. видно, что для всех опытных групп, по сравнению с контрольной группой, характерным является повышенное содержание нейтрофилов ( $35,8 \pm 0,86$ ;  $36,4 \pm 1,36$  и  $35,2 \pm 1,39$  против  $24,3 \pm 1,86$  в контроле). Такая же закономерность отмечалась для относительного количества Т-лимфоцитов ( $63,4 \pm 1,35$ ;  $62,0 \pm 2,56$  и  $72,8 \pm 1,40$  против  $73,7 \pm 1,67$  в контроле). Абсолютным значением для Т-лимфоцитов IV группы являлось достоверное снижение ( $3020,5 \pm 444,46$  против  $5041,2 \pm 479,63$  в контроле при  $P \leq 0,05$ ). Этот показатель у мышей V группы ( $5278,0 \pm 231,6$  против  $5041,2 \pm 479,63$  в контроле) оставался без изменений.

Максимальный эффект на число АОК наблюдался в дозах: 20 и 10 мг/кг ( $532,6 \pm 0,40$  и  $526,37 \pm 20,4$  против  $539,4 \pm 0,44$  в контроле 2 при  $P \leq 0,05^*$ ) (99,92 и 98,8 %), что сравнимо с отмеченным для первичной иммунизации (рис. 6.10).

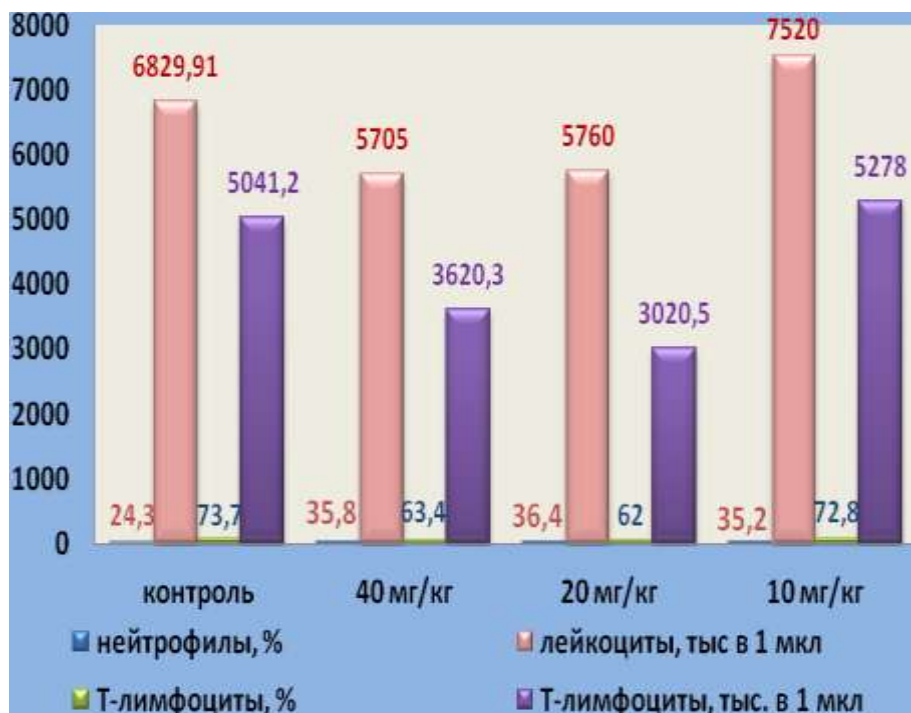


Рис. 6.9. Влияние субстанции гликозил-НММ-1 на клеточное звено иммунитета подопытных животных ( $P \leq 0,01$ ;  $P \leq 0,05$ ).

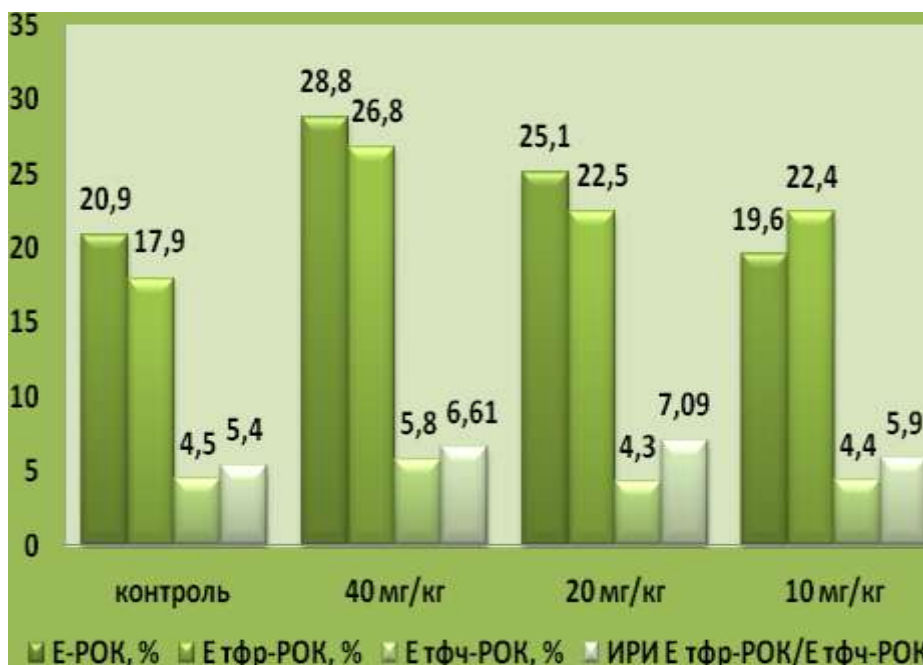


Рис. 6.10. Влияние гликозил-НММ-1 на показатели клеточного звена иммунитета животных ( $P \leq 0,05$ ).

Введение гликозил-НММ-1 в дозе 40 мг/кг ( $526,37 \pm 11,73$  против  $539,4 \pm 0,44$  в контроле при  $P \leq 0,5$ ) отрицательного влияния на число АОК (95,1 % к контролю) не оказывало. Субстанция в дозах 40 и 20 мг/кг содержание лейкоцитов ( $5705,0 \pm 327,17$ ;  $5760,0 \pm 674,64$  против  $6829,91 \pm 660,56$  в контроле) и количество лимфоцитов (относительное и абсолютное) ( $63,4 \pm 1,35$  и  $62,0 \pm 2,56$  против  $73,7 \pm 1,67$  в контроле) и ( $3620,3 \pm 233,38$  и  $3020,5 \pm 444,46$  против  $5041,2 \pm 479,63$  в контроле при  $P \leq 0,5$ ) в сыворотке крови у мышей заметно снижалось. Абсолютные значения лейкоцитов ( $7520,0 \pm 302,95$  против  $6829,91 \pm 660,56$  в контроле) и лимфоцитов (относительное и абсолютное) ( $72,8 \pm 1,40$  против  $73,7 \pm 1,67$  в контроле) и ( $5278,0 \pm 231,6$  против  $5041,2 \pm 479,63$  в контроле) у мышей V группы, получавшие 10 мг/кг гликозил-НММ-1 не отличались от контрольных значений.

У экспериментальных животных наблюдались определенные особенности в субпопуляционном составе Т-клеток (см. рис. 6.11). Через 10 дней после получения субстанции в дозах 40 и 20 мг/кг количество теофиллинрезистентных Т-лимфоцитов в крови у мышей ( $26,8 \pm 1,01$  и  $22,5 \pm 1,03$  против  $17,9 \pm 1,23$  в контроле при ( $P \leq 0,01^*$ ) достоверно повышалось. Только лишь в крови у мышей V группы абсолютные значения ( $22,4 \pm 1,22$  против  $17,9 \pm 1,23$  в контроле) этих клеток не отличались от контроля. Представляют интерес изменения в содержании теофиллинчувствительных Т-лимфоцитов, несущих супрессорный потенциал. В дозах 20 и 10 мг/кг достоверных различий ( $4,3 \pm 0,74$  и  $4,4 \pm 1,01$  против  $4,5 \pm 0,87$  в контроле) на уровне этих клеток не установлено. Однако, в крови у мышей III группы в дозе 40 мг/кг количество ( $5,8 \pm 1,16$  против  $4,5 \pm 0,87$  в контроле при  $P \leq 0,05$ ) теофиллин-чувствительных Т-лимфоцитов было достоверно повышенным.

Следует отметить, что один из индикаторов сбалансированной работы иммунной системы, иммунорегуляторный индекс (ИРИ), отражает соотношение иммунорегуляторных субпопуляций. ИРИ крови в дозе 10 мг/кг у мышей V опытной группы полностью сохранен ( $5,9 \pm 0,83$  против  $5,40 \pm 0,84$  в

контроле), исключения составляет ИРИ в дозах 40 и 20 мг/кг для III-IV опытных групп ( $6,61 \pm 1,44$  и  $7,09 \pm 1,29$  против  $4,5 \pm 0,87$  в контроле при  $P \leq 0,05$ ). Этот показатель для этих групп оставался повышенным. У всех опытных животных наблюдались статистически достоверные увеличения содержания нейтрофилов ( $35,8 \pm 0,86$  и  $36,4 \pm 1,36$  и  $35,2 \pm 1,39$  против  $24,3 \pm 1,86$  в контроле при  $P \leq 0,05$ ), участвующих в фагоцитозе ( $2,74 \pm 0,12$  и  $2,60 \pm 0,14$  и  $3,15 \pm 0,06$  против  $4,07 \pm 0,15$  в контроле при  $P \leq 0,05$ ), что может свидетельствовать о лучших компенсаторных возможностях организма у мышей, т.к. этот процесс сопровождается сохранением фагоцитарной активности у животных, получавших 10 мг/кг гликозил-НММ-1 по сравнению с контролем ( $57,9 \pm 2,96$  против  $58,5 \pm 2,96$  в контроле). Данные изменения можно интерпретировать как сохранение функциональных способностей нейтрофилов компенсаторного характера.

В I серии опыта, при оценке фагоцитарных параметров установлено снижение поглотительной активности нейтрофилов ( $35,8 \pm 0,86$  и  $36,4 \pm 1,36$  против  $24,3 \pm 1,86$  в контроле) или фагоцитарного числа ( $2,74 \pm 0,12$  и  $2,60 \pm 0,14$  против  $4,07 \pm 0,15$  в контроле) в III-IV группах, но эти показатели находились в норме (рис. 6.12).

В этих же группах фагоцитарная активность нейтрофилов ( $38,3 \pm 1,42$  и  $47,2 \pm 2,86$  против  $58,5 \pm 5,83$  в контроле при  $P \leq 0,1$ ) значительно отставала в сравнении с данными контрольной группы. Фагоцитарная активность у животных, получавших 10 мг/кг дозы гликозил-НММ-1 оставалась без изменений ( $57,9 \pm 2,96$  против  $58,5 \pm 5,83$  в контроле). Можно отметить, что количественные и качественные изменения были сходны во всех дозах субстанции. А такое совпадение результатов предполагает, что влияние гликозил-НММ-1 на способность организма к формированию полноценного иммунного ответа не нарушалось.

Установлено, что в III серии опыта при введении субстанции одновременно с введением бараньих эритроцитов количество



Рис. 6.11. Влияние гликозил-НММ-1 в дозах 40; 20 и 10 мг/кг на показатели фагоцитоза у животных ( $P \leq 0,02$ ;  $P \leq 0,001$  и  $P \leq 0,01$ ).

антителообразующих клеток ( $526,37 \pm 11,73$ ;  $532,6 \pm 20,4$  и  $538,97 \pm 0,40$  против  $539,4 \pm 0,44$  в контроле при  $P \leq 0,1$ ) (98; 98,8 и 99,92 % против 100 % в контроле) не отличалось от контрольных значений (рис. 6.12).

Взаимодействие доза-эффект, определенное для гликозил-НММ-1 при использовании реакции Jerne, как правило, давал сходный иммунологический эффект во всех случаях. Подобный эффект был как количественно, так и качественно значим. Максимальный иммунологический эффект (114,8 %) наблюдался при концентрации 10 мг/кг гликозил-НММ-1 ( $1253,2 \pm 122,6$  против  $1091,0 \pm 52,3$  в контроле) (рис. 6.13).

Статистически значимых различий реакций при статистическом сравнении двух других доз (20 и 10 мг/кг) ( $1036 \pm 71,7$  и  $1253,1 \pm 71,7$  против  $1091,0 \pm 52,3$  в контроле) в данном иммунологическом методе не выявлено. Максимальный эффект в основном составлял 95,1-114,8 % от соответствующего контроля.



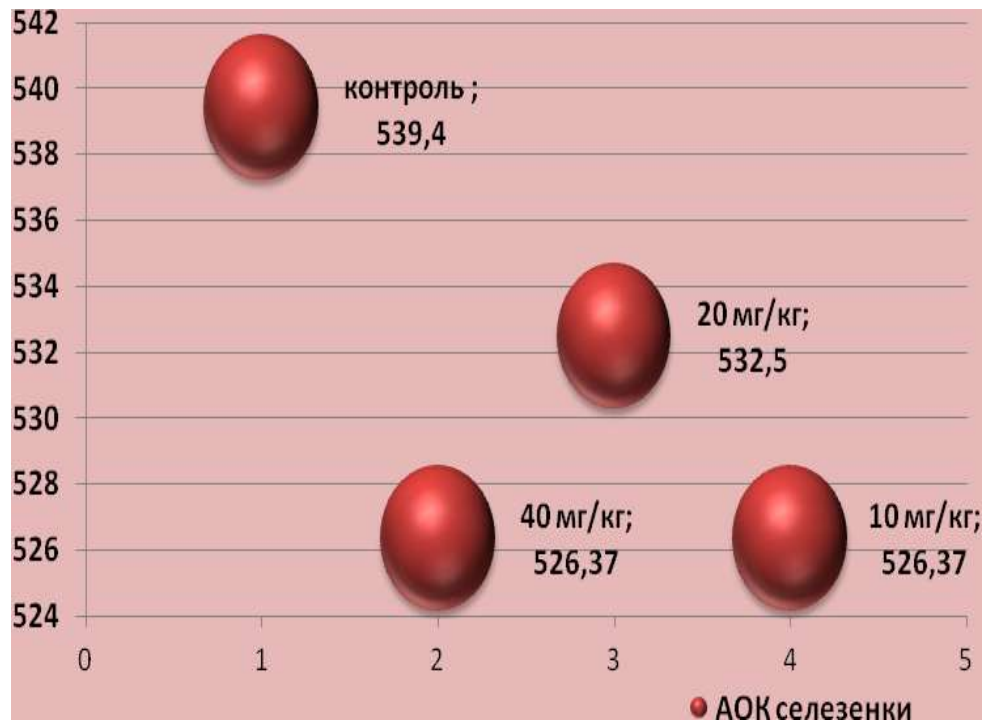


Рис. 6.12. Влияние гликозил-НММ-1 на образование клеток продуцентов антител (первичная иммунная реакция) ( $P \leq 0,5$ ).

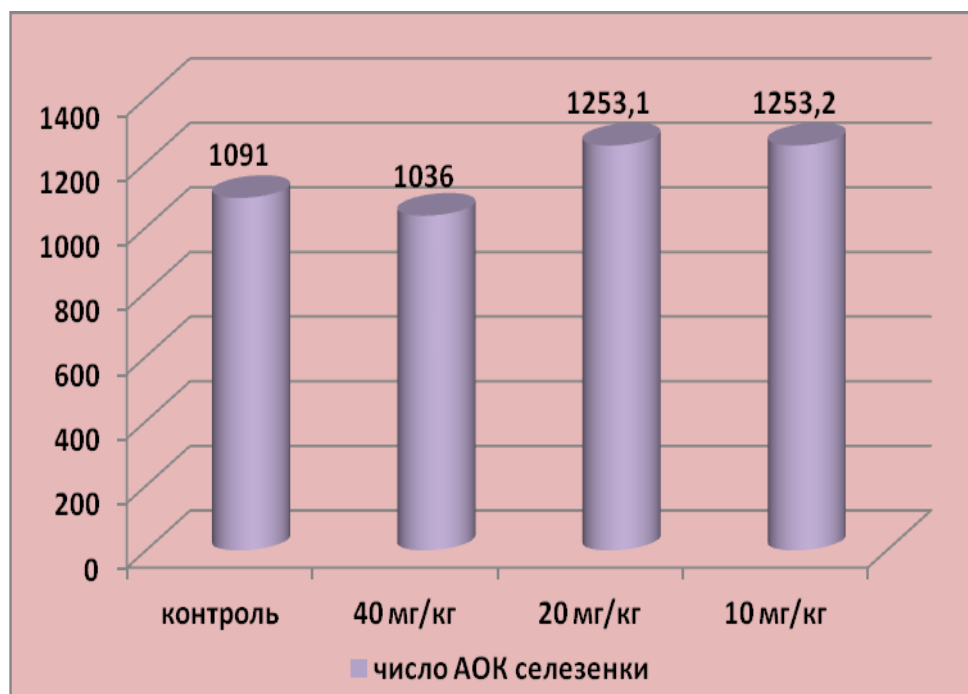


Рис. 6.13. Показатели влияния гликозил-НММ-1 на образование клеток-продуцентов антител (вторичная иммунная реакция) ( $P \leq 0,1$ ;  $P \leq 0,5$ ).

Суммируя вышеизложенное, можно предположить следующее: иммунизируя мышей в различные сроки после воздействия различных доз соединения можно включать синтез белков, особенно  $\gamma$ -глобулинов, здесь могут быть привлечены Т- и В-клетки, поскольку они отчасти определяют реакцию JgG и JgM. Определяется вероятность того, что различные дозы соединения (40; 20 и 10 мг/кг) не могут подавлять определенной части популяции лимфоцитов, состоящих из В- или Т-лимфоцитов, имеющих значение для иммунологических реакций. Циклофосфамид снижает фагоцитарную активность лейкоцитов, уменьшает бактерицидность крови, способность лимфоцитов к бласттрансформации, повреждает различные популяции лимфоцитов, в частности, В-системы и др.

Результаты исследования показали, что гликозил-НММ-1 в изучаемых в дозах не вызывает отрицательных изменений в функционировании звеньев иммунной системы и не оказывает влияния на иммунный статус способность организма к формированию полноценного иммунитета выражалась в фазе выраженных или повышенных иммунологических сдвигов; в крови у мышей в дозе 10 мг/кг показатели иммунной системы оставались без изменений. Циклофосфамид обладает выраженным иммунодепрессивным действием.

Нами проведено морфологическое исследование иммунокомпетентных органов под влиянием субстанции в сравнении с циклофосфамидом.

После введения гликозил-НММ-1 в дозе 40 мг/кг в трехмесячном опыте в отдельных полях зрения трабекулярная организация гепатоцитов нерегулярная, радиальное расположение местами отсутствует (рис. 6.14). Центральные вены расширены, в просветах – форменные элементы крови. Прилегающие к венам синусоиды также расширены, содержат эритроциты, встречаются лимфоидноклеточные скопления купферовских клеток. Сосуды стромы полнокровны, отмечен периваскулярный отек. Наблюдается огрубение волокнистого каркаса триад. Ткань печени в большинстве полей зрения четко разделена на дольки. Клетки полигональной формы, с темноокрашенной

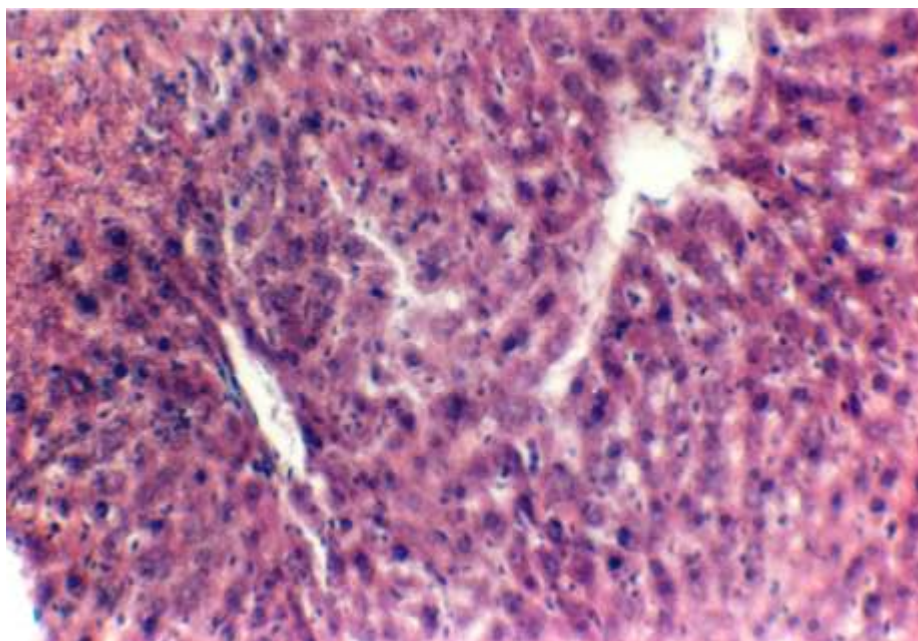


Рис. 6.14. Печень. Гликозил-НММ-1. 40 мг/кг. Трабекулярная организация гепатоцитов местами нерегулярная, расположение нарушено, цитоплазма гепатоцитов содержит зернистость, мелкие ядра и определяется мозаичная окраска гепатоцитов. Окраска гематоксилином и эозином. x200.

оксифильной цитоплазмой, одним, изредка двумя крупными слабобазофильными ядрами. Наряду с этим отмечаются балки, представленные гепатоцитами с бледной вакуолизированной цитоплазмой, укрупненным ядром. Просветы большинства центральных вен расширены и свободны от крови. Синусоиды сужены в перипортальных зонах долек и несколько расширены в перипортальных зонах. В этих участках в отдельных синусоидах определяются эритроциты. Сосуды стромы умеренно полнокровны, наблюдаются периваскулярные отеки, разрыхление стенок сосудов. Наблюдается огрубение волокнистого каркаса. В перипортальных зонах встречаются дистрофически измененные эпителиальные клетки желчевыводящих протоков, узелковые скопления лимфоидных клеток, активизация клеток ретикулоэндотелиальной системы. В дозах 20 и 10 мг/кг признаков патологических изменений не обнаружено.

При введении гликозил-НММ-1 в дозе 40 мг/кг в корковом веществе тимуса визуально определяется обеднение ткани лимфоидными элементами, снижение содержания больших лимфоцитов в подкапсулярной зоне, выраженная макрофагальная реакция. В мозговом веществе содержание лимфоцитов повышено, определяется укрупнение слоистых телец. Сосуды полнокровны, сосудистые стенки разрыхлены, отечны, периваскулярные отеки. При введении субстанции в дозе 20 мг/кг в мозговом и корковом веществе снижено содержание лимфоцитов, граница слабо выражена, определяются тяжкие эпителиальные клетки. При введении гликозил-НММ-1 в дозе 10 мг/кг железа полнокровна, определяется делимфотизация коркового и мозгового вещества за счет уменьшения количества малых и средних лимфоцитов (рис. 6.15).

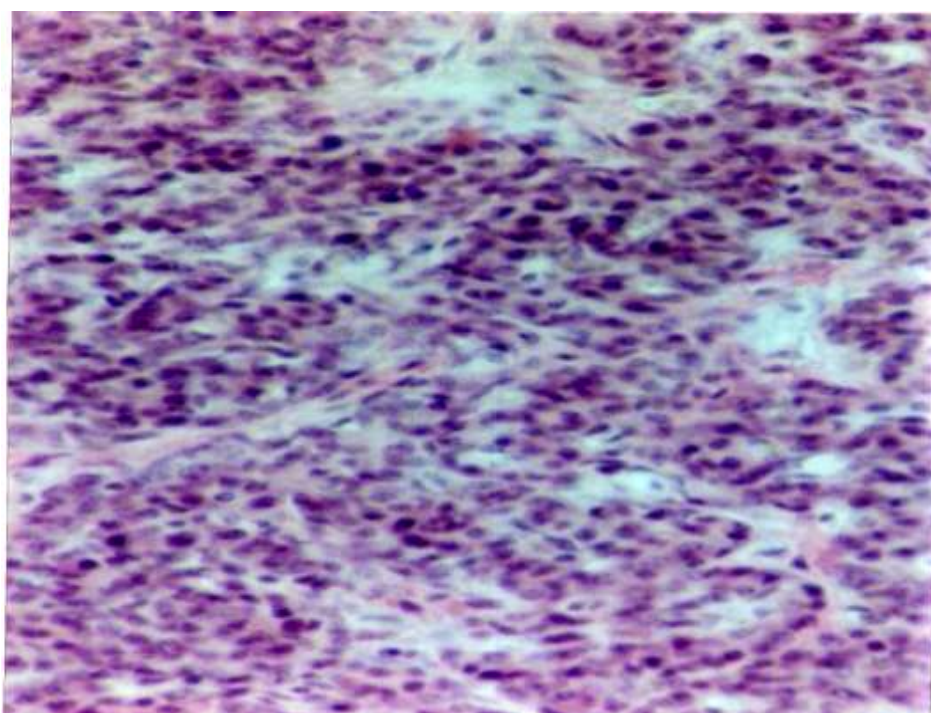


Рис. 6.15. Тимус. Гликозил-НММ-1. 10 мг/кг. Корковый слой представлен густо расположенными тимоцитами. Медуллярная часть дольки содержит лимфоциты, ретикулярные клетки, слоистые тельца Гассала. Сосуды умеренно полнокровны. Окраска гематоксилин-эозином. x200.

Периферическая часть долек железы также полностью лишена лимфоцитов. Выявлена инверсия коркового и мозгового вещества, стирание границы между ними. В мозговом веществе – эпителиальные тяжи, полнокровные сосуды. Капсула и строма разрыхлена. Сосуды полнокровны, периваскулярно отечны. Выражена плазмоцитарная реакция в мозговом веществе.

Под действием гликозил-НММ-1 в дозе 40 мг/кг капсула и трабекулы селезенки несколько разрыхлены, сосуды полнокровны. В белой пульпе – мелкие фолликулы, со светлыми центрами, состоящими из ретикулоцитов, больших и лимфоцитами, есть эритроциты, плазматические клетки, бластные формы. В большом количестве встречаются диффузно рассеянные мелкие лимфоциты, а также плазматические клетки, единичные макрофаги.

В дозах 20 и 10 мг/кг отмечено увеличение размеров и клеточной плотности мозгового вещества короткие и широкие, разделены широкими мозговыми синусами, в просветах – ретикулярные клетки, эритроциты, лимфоциты, единичные лаброциты (рис. 6.16). Сосуды стромы полнокровны, с большим содержанием макрофагов и единичных гранулоцитов.

В дозе 20 и 10 мг/кг в корковом веществе в единичных случаях выявлено повышенное содержание макрофагов и лаброцитов (рис. 6.17).

Морфология щитовидной железы при введении субстанции в дозе 40 мг/кг крупные фолликулы с плотным коллоидом определяются в периферической и центральной зоне железы. Выявлено увеличение фолликулов мелкого и среднего диаметров, содержащих бледный и слабоокрашенный коллоид.

Тиреоциты в состоянии повышенной функциональной активности, усилена пролиферация парафолликулярного эпителия. Наличие значительного количества мелких опустошенных фолликулов, появление признаков многорядности и десквамации эпителия могут служить показателями функционального напряжения железы.



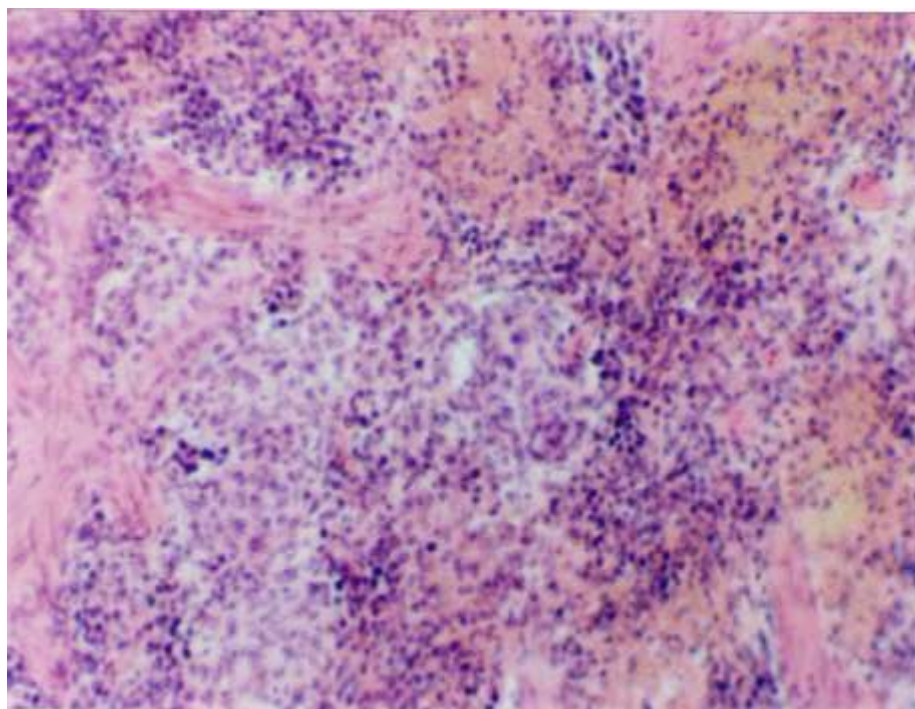


Рис. 6.16. Селезенка. Гликозил-НММ-1. 10 мг/кг. В красной пульпе активизация макрофагов, увеличение числа зернистых лейкоцитов и тучных клеток. Расширенные синусоиды с большим количеством лимфоцитов. Окраска гематоксилином и эозином. х400.

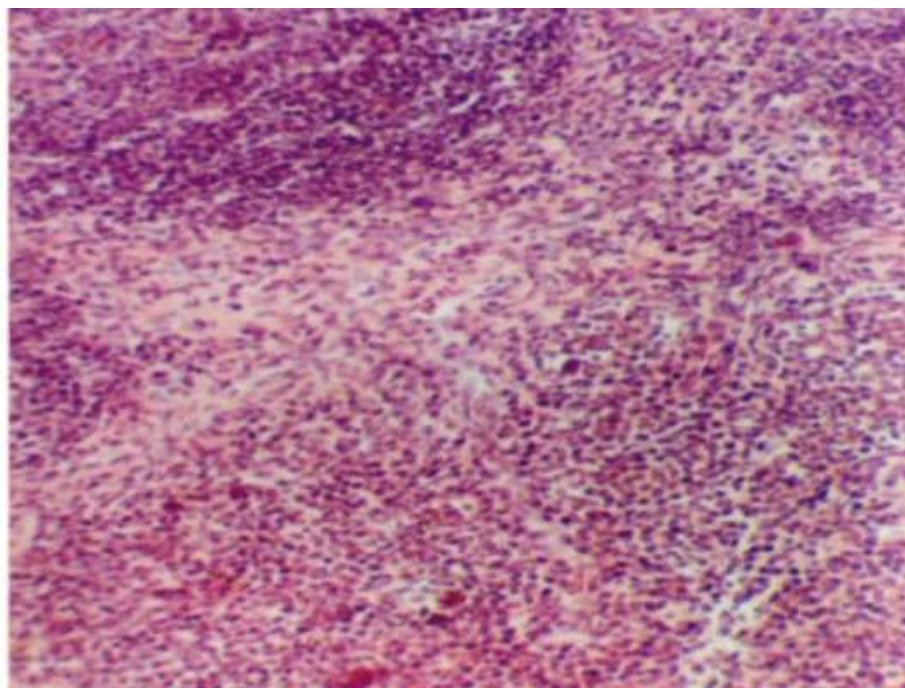


Рис. 6.17. Лимфоузел. Гликозил-НММ-1. 10 мг/кг. Структура лимфоузла в норме. Окраска гематоксилин-эозином. х200.

Незначительное скопление ацидофильных гранул в парафолликулярной зоне может свидетельствовать о торможении выведения гормона в кровеносное русло. В структуре щитовидной железы отмечается нарушение стратификации. Парафолликулярные пространства содержат незначительное количество межфолликулярного эпителия, отечную строму, расширенные ацидарные кровеносные сосуды. В периферических отделах железы отмечается десквамация эпителия фолликулов, признаки фолликулообразования. В дозе 20 мг/кг в клетках клубочковой и наружных отделах пучковой зон наблюдается значительное количество вакуолей, их цитоплазма практически не окрашивается. Во внутренних и средних отделах пучковой зоны, а также сетчатой зоне, вакуоли в клетках практически отсутствуют. Сосуды коры и мозгового вещества полнокровны, в периваскулярных пространствах – единичные лейкоциты и лимфоциты. Структура клеток мозгового вещества состоит из парафолликулярного эпителия. В периферической зоне расположены крупные и средние фолликулы, имеющие полигональную форму. Отмечается наличие фолликулов различного диаметра, заполненные плотным коллоидом, с незначительными вакуолями резорбции в фолликулах мелкого размера. Большинство тиреоцитов имеют уплощенную или кубическую форму, в центральной части железы фолликулы построены из тиреоцитов, сохраняющие состояние повышенной функциональной активности. Отмечается уменьшение паренхиматозного компонента межфолликулярной стромы с незначительным развитием волокнистой соединительной ткани, в которой располагаются расширенные опустошенные кровеносные сосуды. В отдельных участках железы выявляются эпителиоциты с пикнотичными ядрами, нарушенной структурой цитоплазмы. В дозе 10 мг/кг фолликулы заполнены небольшим количеством оксифильного, слабовакуолизированного коллоида (рис. 6.18). Сосуды стромы умеренно полнокровны. Тиреоциты большинства фолликулов в состоянии повышенной функциональной

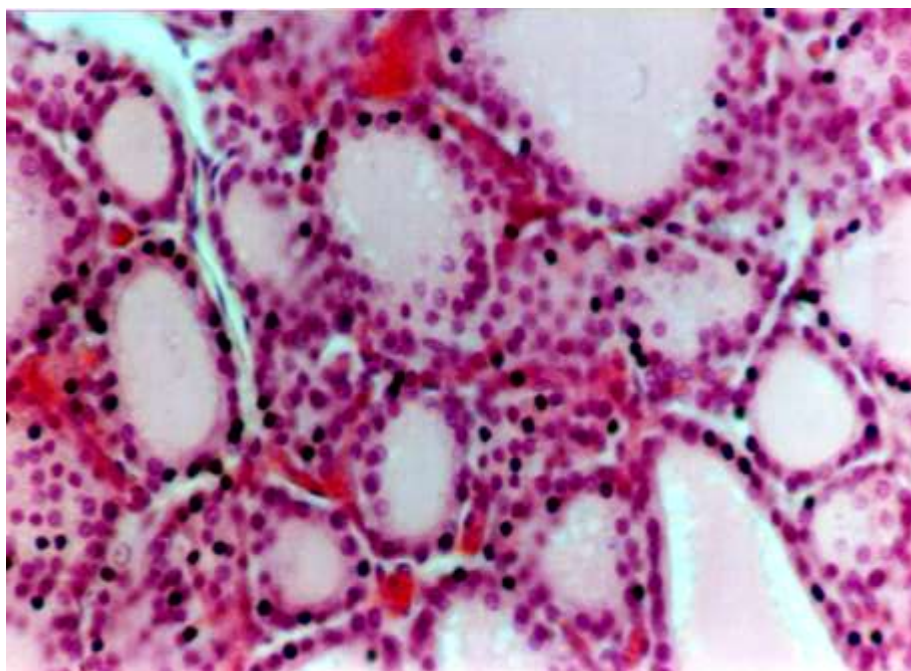


Рис. 6.18. Щитовидная железа. Гликозил-НММ-1. 10 мг/кг. Фолликулы железы заполнены небольшим количеством оксифильного, вакуолизированного коллоида. Сосуды стромы умеренно полнокровные. Окраска гематоксилином и эозином. x400.

активности. В парафолликулярной зоне отмечается снижение плотности фолликулярного эпителия, сужение капилляров, ацидофильные гранулы не определяются.

Результаты морфологического исследования органов под влиянием гликозил-НММ-1 в дозах 40; 20 и 10 мг/кг показали, что выявлены сходные изменения, свидетельствующие о состоянии функционального напряжения органов без повреждения структурных элементов. Циклофосфамид вызывает отклонения от нормы в структуре тимуса. Выявлены обратимые атрофические изменения, которые свидетельствуют о снижении функционального напряжения органов, некоторым повреждением структурных элементов. В структуре селезенки у опытных групп животных выявлено алергизирующее действие препарата. В структуре лимфатических узлов (брыжеечные), в корковом веществе количество, размеры лимфоидных фолликулов уменьшены.



Выявлено торможение накопления клеточных элементов в соединительной ткани, уменьшение числа, размеров и активности перитонеальных макрофагов.

Таким образом, исследования иммунной системы у подопытных животных под влиянием гликозил-НММ-1 при использовании тестов I-II уровней в микроварианте. показали, что способность организма к формированию полноценного иммунитета выражалось в фазе повышенных иммунологических сдвигов: содержание нейтрофилов, относительные значения Т- и В-лимфоцитов, теofilлин резистентных и -чувствительных розеткообразующих клеток. Субстанция в испытуемых дозах не вызывает стимуляцию роста лимфоидно-клеточных элементов иммунокомпетентных органов, не нарушает в функционировании основных звеньев иммунной системы и не влияет на иммунный статус подопытных животных, которые свидетельствуют об отсутствии иммунотоксичности.

Циклофосфамид оказывает иммунодепрессивное действие: снижает фагоцитарную активность лейкоцитов, бактерицидность крови, способность лимфоцитов к бласттрансформации, повреждает различные популяции лимфоцитов, в частности, В-системы и др.; вызывает обратимые атрофические изменения, с некоторым повреждением структурных элементов и снижение функционального напряжения иммунокомпонентных органов; влияет на клеточный иммунитет, оказывает иммунотоксическое действие на микроструктуру тимуса, селезенки, лимфатических узлов (брыжеечные) и их функции.

## **6.5. Исследование возможных канцерогенных свойств субстанции гликозил-НММ-1**

Для исключения возможных канцерогенных свойств гликозил-НММ-1 проведены исследования в соответствии с «Требованиями к доклиническому изучению общетоксического действия новых фармакологических веществ»,

изложенных во Временных методических рекомендациях ДЛО МТ МЗ КР согласно «Методического письма по исследованию бластомогенных (канцерогенных) свойств различных веществ в опытах на животных» [54, 81].

Были изучены возможные канцерогенные свойства субстанции на животных (мыши и крысы) в сравнении с циклофосфамидом. Наблюдение осуществлялось в течение 24-х месяцев после введения изучаемых средств и до естественной гибели опытных животных.

I серия опытов проводилась на 160 белых беспородных мышах массой 18-22 г обоих полов. Было сформировано 8 групп животных: I-II – контрольные, III-VI – опытные, которые получали 1/5 ч. Гликозил-НММ-1 и циклофосфамид в/б в дозах (40 и 2 мг/кг), (20 и 1) и (10 и 0,5 мг/кг) по 0,4 мл в течение 50 дней. Контрольная группа получала изотонический раствор хлорида натрия (0,9 %).

В ходе опыта каждые 2-4 недели определялась масса тела у мышей. Пальпацией определялось наличие возможных опухолевидных образований (рис. 6.19).

После введения исследуемых доз гликозил-НММ-1 у 2-х мышей: из виварийного контроля ( $3,1 \pm 1,1$ ), в дозе 20 мг/кг IV опытной группы ( $2,2 \pm 1,0$  против 0 в контроле 2), у 2-х крыс - из интактного контроля ( $2,7 \pm 0,2$ ) и в дозе 10 мг/кг V опытной группы ( $2,0 \pm 0,8$  против  $2,7 \pm 0,2$  в контроле 2) методом пальпации обнаружены подкожные образования.

При введении циклофосфамида (рис. 6.20) у 2-х мышей – в дозе 2 мг/кг из VI опытной группы ( $3,4 \pm 0,7$  против 0 в контроле 2), у 2-х – в дозах 1 и 0,5 мг/кг из VII-VIII групп ( $3,5 \pm 0,6$  и  $2,4 \pm 0,5$  против 0 в контроле 2), у 2-х крыс в дозах 3 и 2 мг/кг из VI-VII групп ( $2,3 \pm 0,4$  и  $2,5 \pm 1,9$  против  $2,7 \pm 0,2$  в контроле 2) и в дозе 1 мг/кг из VIII группы ( $4,3 \pm 2,1$  против  $2,7 \pm 0,2$  в контроле 2) обнаружены аналогичные подкожные образования. У животных забирались внутренние органы для морфологических исследований.



Рис. 6.19. Показатели канцерогенного действия субстанции гликозил-НММ-1 на крысах и мышах (абс. зн.  $M \pm m$ ).

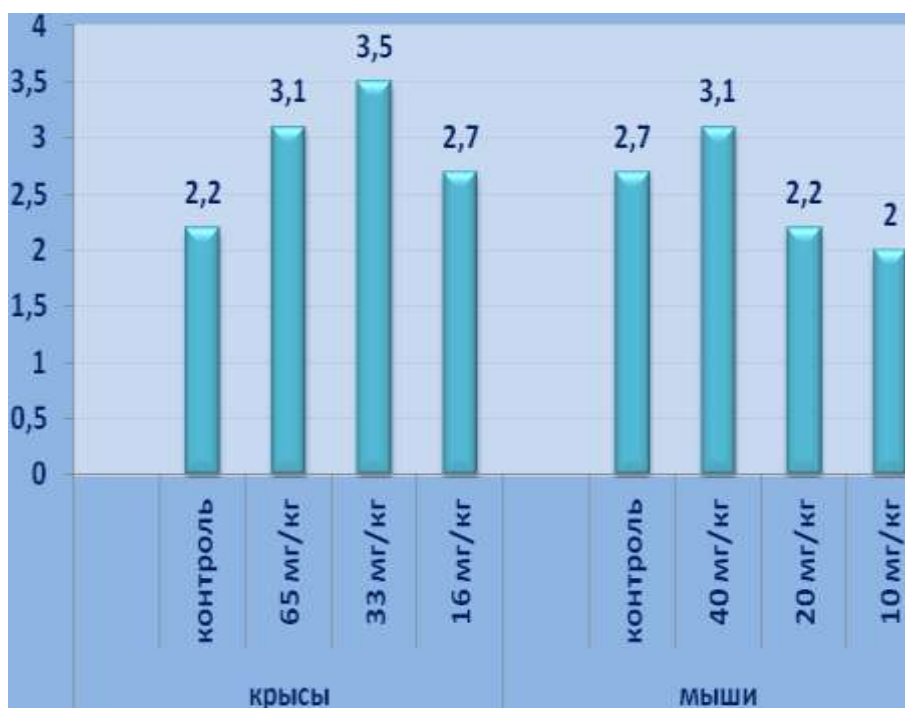


Рис. 6.20. Канцерогенное влияние циклофосфамида на крыс и мышей (абс. зн.  $M \pm m$ ).

Способность исследуемых средств индуцировать опухолевидные образования оценивалось отношением числа животных с образованиями к общему числу их в группе. Процент возникающих опухолей показал об отсутствии канцерогенного эффекта ( $3,4 \pm 0,7$ ;  $3,5 \pm 0,6$ ;  $2,4 \pm 0,5$ ) и ( $2,3 \pm 0,4$ ;  $2,5 \pm 1,9$  и  $4,3 \pm 3,1$ ) против  $2,2 \pm 1,0$  и  $2,0 \pm 0,8$  в контроле).

Результаты наших исследований показали, что после введения гликозил-НММ-1 в исследуемых дозах в течение 24 месяцев наблюдения, у 2-х крыс - из группы интактного контроля и в дозе 20 мг/кг V опытной группы, при введении циклофосфамида у 3-х крыс, по одной, в дозах 3; 2 и 1 мг/кг из VI-VIII групп обнаруживались подкожные образования размером 0,2 x 0,3 x 0,5 (мм). Процент возникающих образований показал отсутствие канцерогенного эффекта ( $2,7 \pm 0,2$  и  $2,0 \pm 0,8$ ) и ( $2,3 \pm 0,4$  и  $2,5 \pm 1,9$ ). У крыс забирались внутренние органы для исследований.

Известно, что в процессе опыта после введения циклофосфамида, опухоли у крыс могут обнаруживаться в интервале с 3-го по 21-е месяцы. У самцов опухоли развивались реже, чем у самок и располагались чаще в области наружного слухового прохода, в разных участках кожи; встречались также отдельные саркомы мягких тканей. У самок преобладают опухоли молочной железы, матки, яичников, предопухолевые изменения в почках и надпочечниках, иногда встречаются опухоли преджелудка и печени [46, 101].

II серия опыта проведена на 160 крысах массой 160-180 г обоих полов. Сформировано 8 групп: I-II - контрольные, III-VIII – опытные, которым вводились в/в 1/5 часть гликозил-НММ-1 и циклофосфамида в дозах (24 и 3 мг/кг), (12 и 2 мг/кг) и (6 и 1 мг/кг) по 1 мл в течение 50 дней. Контрольная группа получала изотонический раствор хлорида натрия (0,9 %).

В ходе опыта ежемесячно определялась масса тела животных. Во все периоды наблюдения, как у подопытных, так и контрольных групп, масса тела

животных находилась в норме. В течение 50 дней опыта масса тела у крыс, получавших гликозил-НММ-1 находилась в пределах физиологической нормы.

При введении 1/5 части циклофосфамида в дозе 3 мг/кг у животных VI опытной группы в течение 50 дней опыта отмечается тенденция к потере в массе тела ( $173 \pm 4,91$  против  $180 \pm 6,66$  в контроле 2), у VII опытной группы в дозе 2 мг/кг не наблюдалась утраты в массе тела ( $175,5 \pm 3,7$  против  $180 \pm 6,66$ ) и у VIII опытной группы в дозе 1 мг/кг не отмечалась потери в массе тела ( $177,3 \pm 9,38$  против  $180 \pm 6,66$  в контроле 2) по сравнению с контролем 2 (рис. 6.21- 6.22).

Изучение периферической крови через 2-4 недели и в динамике у крыс, получавших 1/5 часть гликозил-НММ-1 в/в в исследуемых дозах выявило, что

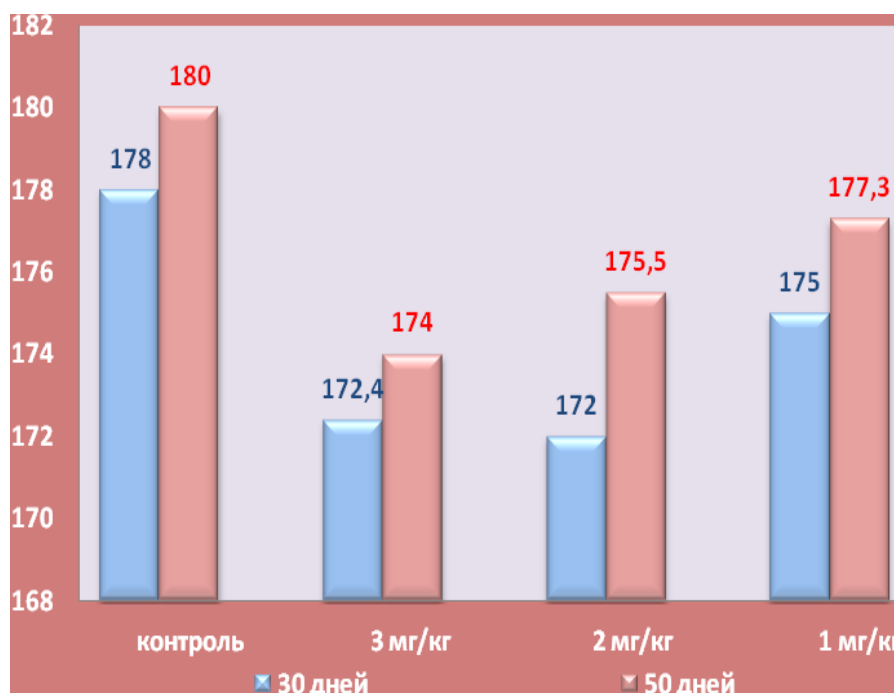


Рис. 6.21. Показатели массы тела у крыс при введении циклофосфамида в течение 50-и дней (абс. зн.  $M \pm m$ ).

показатели крови находились в пределах нормы. У крыс в исследуемых дозах у III-V опытных групп, так и у контрольных, влияния субстанции на эритропоэз,

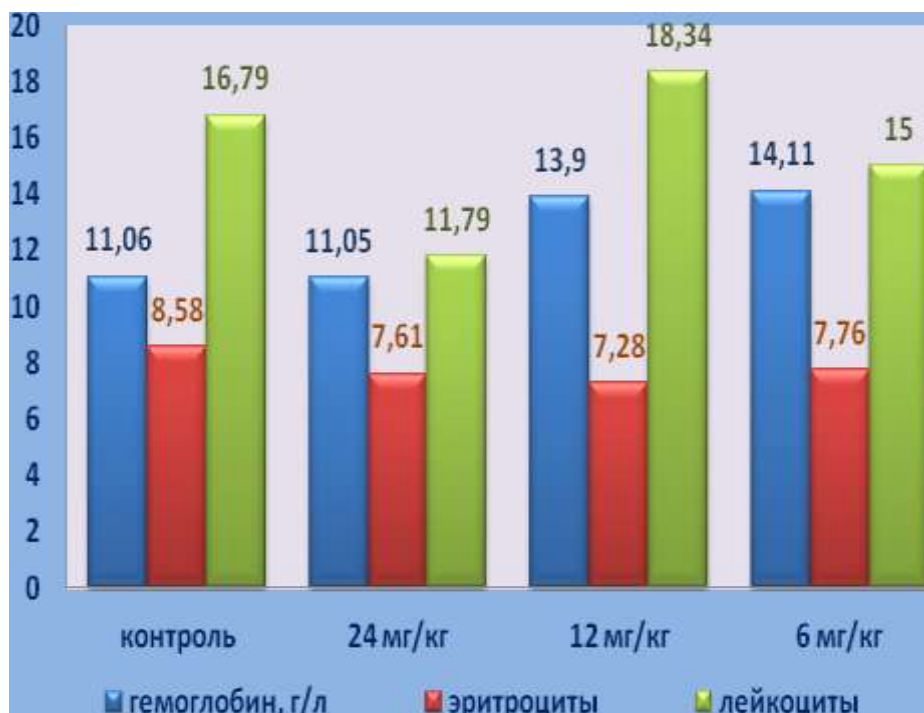


Рис. 6.22. Динамика показателей периферической крови у животных при введении гликозил-НММ-1 течение 50-и дней (абс. зн.  $M \pm m$ ).

изменения количества эритроцитов, гемоглобина и лейкоцитов, лейкоцитарной формулы крови ( $11,29 \pm 0,17$ ;  $11,05 \pm 1,58$  и  $15,36 \pm 2,2$  против  $16,25 \pm 3,2$  в контроле 2) не наблюдалось (рис. 6.23).

После введения 1/5 части циклофосфамида в дозе 3 мг/кг в течение 50 дней наблюдается незначительная тенденция к лейкопении ( $10,29 \pm 0,17$  против  $16,25 \pm 3,2$  в контроле 2). В дозах 2 и 1 мг/кг не вызывает лейкопению и не влияет на лейкопоз ( $10,05 \pm 1,58$  и  $11,36 \pm 2,2$  против  $16,25 \pm 3,2$  в контроле 2). Показатели красной крови в пределах нормы. Введение циклофосфамида в исследуемых дозах в течение 50 дней свидетельствовало об отсутствии токсического действия на организм животных (рис. 6.24).

Результаты исследований показали, что после введения 1/5 части гликозил-НММ-1 и циклофосфамида в исследуемых дозах в течение 50-и дней и 24 месяцев наблюдения, процент возникающих образований показал отсутствие канцерогенного эффекта.

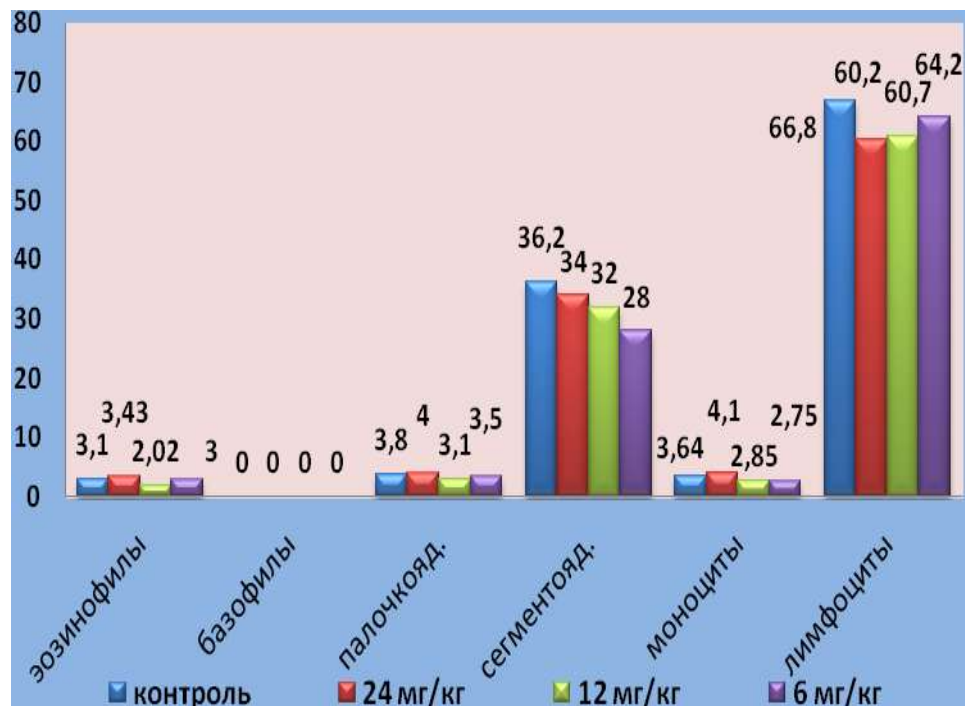


Рис. 6.23. Показатели лейкоцитарной формулы крови животных при введении гликозил-НММ-1 в течение 50-и дней (абс. зн. М ± м).

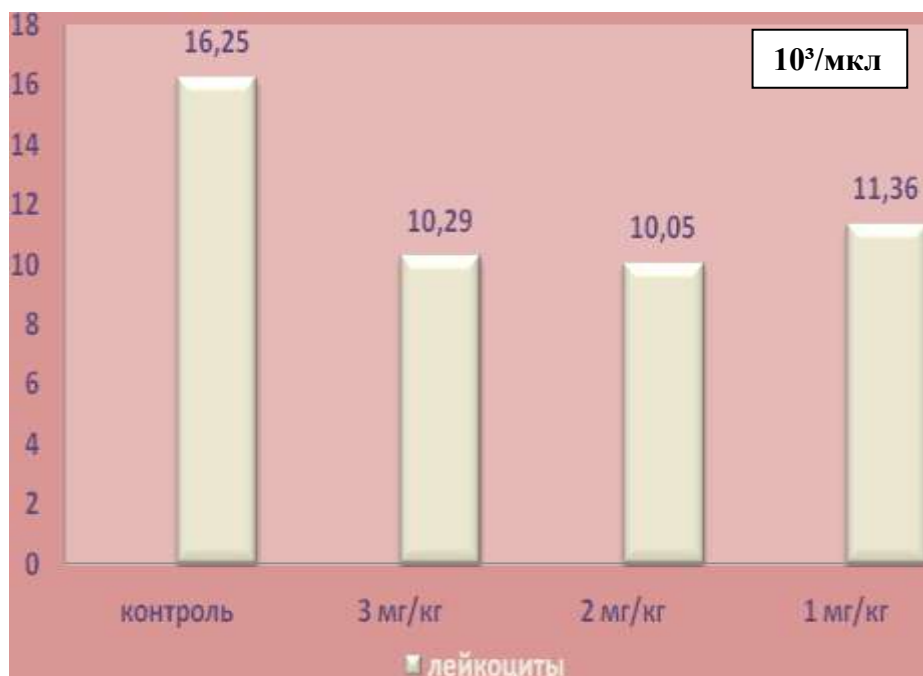


Рис. 6.24. Показатели лейкоцитов в периферической крови у подопытных животных при циклофосфамида в течение 50-и дней (абс. зн. М ± м).

В ходе опыта ежемесячно определялась масса тела животных. Во все периоды наблюдения, как у подопытных, так и контрольных групп, масса тела у животных получавших 1/5 часть гликозил-НММ-1и циклофосфамида в течение 50 дней находилась в пределах физиологической нормы, не отмечалась потери в массе тела по сравнению с контролем.

Изучение периферической крови через 2-4 недели и в динамике у крыс, получавших 1/5 часть субстанции в исследуемых дозах выявило, что показатели крови находились в пределах нормы, отрицательного влияния гликозил-НММ-1 на эритропоз, изменения количества эритроцитов, гемоглобина и лейкоцитов, лейкоцитарной формулы крови не наблюдалось. После введения 1/5 части циклофосфамида в дозе 3 мг/кг наблюдается незначительная тенденция к лейкопении. Показатели красной крови в пределах нормы. Таким образом, введение субстанции и циклофосфамида в исследуемых дозах в течение 50 дней свидетельствовало об отсутствии токсического действия на организм животных.

Проведено морфологическое изучение возможных канцерогенных свойств гликозил-НММ-1. В ходе опыта часть животных забивались методом декапитации и внутренние органы подвергались патологоанатомическому исследованию через каждые 3 месяца. Забой животных осуществлялся по мере выявления подкожных образований.

Данные гистологических исследований внутренних органов контрольных животных аналогичны контрольным группам субстанции. Микроскопическая структура кожи мышей (контроль 1-2) на 3-й месяц опыта показала нормальное строение. После введения субстанции в дозе 40 мг/кг в месте инъекции обнаружено некоторое утолщение эпидермиса. В дерме – мелкие очаги молодой грануляционной ткани, инфильтрированной макрофагами, лимфоцитами с примесью лейкоцитов. В гиподерме отмечают единичные тучные клетки без признаков дегрануляции. В дозах 20 и 10 мг/кг в структуре эпидермиса и собственно дермы местами определяется повышенное содержание клеток,



лимфоидные и макрофагальные диффузные инфильтраты. Подкожная клетчатка и мышцы на месте введения не уплотнены. Отека, инфильтрации, изменения цвета мышц не выявлено. На 6-й месяц опыта структура кожи контрольных животных соответствовала норме. Видовых различий в строении не было. Структура кожи животных контроля 2 не отличалась от контроля 1. С 9-го по 24-е месяцы опыта, после введения исследуемых доз, в микроструктуре кожи и подлежащей мышечной ткани патологических изменений не выявило.

На 3-й месяц опыта микроструктура мягкой (сосудистая) оболочки головного мозга и цитоархитектоника коры у контрольных мышей без изменений. После введения гликозил-НММ-1 в дозе 40 мг/кг сосуды серого вещества имели прямой равномерный ход, их периваскулярные пространства несколько расширены. Нейропиль представлен бледноокрашенной сетью нервных волокон. Нейроны не изменены. Перикапиллярные пространства расширены. Ганглионарные клетки без изменений, прямые аксоны определяются далеко от тела. Глия без особенностей. Подлежащее белое вещество представлено оксифильноокрашенными волокнами. Сосуды - капилляры без изменений, содержат в просветах эритроциты. После применения доз 20 и 10 мг/кг, а также с 6-го по 24-й месяцы опыта после введения испытуемых доз, в микроструктуре головного мозга крыс патологий не обнаружено. Как показано на см. рис. 4.2 после 3-го месяца опытов с введением изучаемого вещества мышам в исследуемых дозах - структура сердца без патологий. С 6-го по 24-й месяцы опытов после введения испытуемых доз макроскопически сердце без очаговых изменений.

Макроскопически печень плотная, местами зернистая. После введения крысам гликозил-НММ-1 в дозе 65 мг/кг некоторые центральные вены опустошены. В отдельных полях зрения определяются расширенные просветы желчных капилляров. Цитоплазма многих печеночных клеток значительно осветлена, ядра в таких клетках расположены на их периферии, в ней обнаруживаются вакуоли. В перипортальных пространствах наблюдается

лимфо-гистоцитарная реакция. Активность ретикулоэндотелиальной системы (РЭС) повышена. В области триад имеется умеренная лимфоидноклеточная инфильтрация. После введения субстанции в дозах 33 и 16 мг/кг, а также с 6-го по 24-й месяцы введения доз видимых отличий от контроля не наблюдается.

В стенке желудка у мышей контрольных групп отмечается слабовыраженная лейкоцитарная инфильтрация. Кровеносные сосуды микроциркуляторного русла расширены. После введения дозы 40 мг/кг на поверхности слизистой определяются скопления эозинофильноокрашенных масс, в эпителии - дистрофические изменения клеток. Собственная пластинка слизистой отечна, гиперемирована, инфильтрирована лимфоцитами и макрофагами. Местами секреторный эпителий желез дистрофически изменен. В соединительнотканых прослойках мышечной пластинки, подслизистой оболочке наблюдается инфильтрация эозинофильными клетками. Просветы желез кистообразно расширены, местами заполнены слизью. При применении в дозах 20 и 10 мг/кг, а также с 6-го по 24-й месяцы наблюдения после введения исследуемых доз отличий структуры желудка от контроля не определяется.

Ацинусы экзокринной части поджелудочной железы у крыс после введения гликозил-НММ-1 в дозе 65 мг/кг средних размеров. Полярность цитоплазмы выражена с признаками базофилии базальных участков цитоплазмы. Сосуды стромы полнокровны. Дольки железы повышено дискретны за счет умеренного отека стромы. В прослойках соединительной ткани повышенное содержание лимфоидных клеток. Выявляются макрофаги, плазмоциты, тучные клетки. В экспериментах субстанция в дозах 33 и 16 мг/кг, а также с 6-го по 24-е месяцы опыта после введения исследуемых доз видимых отличий от интактного контроля не выявлено.

Поверхностный эпителий ворсин как тонкого, так и толстого кишечника на 3-й месяц опыта у крыс после введения гликозил-НММ-1 в дозе 65 мг/кг уплощен, истончен, в отдельных участках слущен, имеет нечеткие контуры. Энтероциты ворсинок и крипт с признаками дистрофических изменений,

лишены щеточной каймы. Увеличено количество бокаловидных клеток, с пикнотичным ядром. У основания крипт отмечается ослизнение эпителия. Лимфоидно-клеточная инфильтрация стромы ворсинок распространяется на собственный слой слизистой. Клеточные элементы представлены лимфоцитами, отдельными фибробластами и макрофагами. Сосуды стромы ворсин полнокровны, расширены. В мышечной пластинке отмечается разрастание соединительной ткани. В дозах 33 и 16 мг/кг, а также с 6-го по 24-й месяцы опыта в исследуемых дозах структура слизистой оболочки тонкого и толстого кишечника не отличается от интактного контроля.

Почки на 3-й месяц опыта у контрольных мышей микроскопически без изменений. В дозах 40 и 20 мг/кг нефроциты отдельных канальцев дистрофически изменены, просветы канальцев выражены, свободны. Определяется отечность соединительнотканной стромы. В мозговом веществе выявлены незначительные очаговые периваскулярные лимфоцитарно-гистиоцитарные инфильтраты. В дозе 10 мг/кг структура тканевых компонентов коркового и мозгового вещества без изменений. У крыс на 6-й месяц после применения исследуемой субстанции в дозах 65 мг/кг нефротелий части канальцев дистрофически изменен. В мозговом веществе почки - лимфоидноклеточная инфильтрация стромы. Сосуды стромы умеренно полнокровны. Обнаружена отечность соединительнотканной стромы. В дозах 33 и 16 мг/кг, с 9-го по 24-й месяцы наблюдения структура тканевых компонентов почек без изменений.

На 3-й месяц после введения гликозил-НММ-1 в дозе 65 мг/кг у крыс было выявлено, что наружная треть зоны надпочечника состоит из клеток с вакуолизированной цитоплазмой, средние и внутренние отделы колонок представлены клетками с оксифильной цитоплазмой и единичными вакуолями. В просветах капилляров коры и периваскулярных пространствах встречаются единичные лейкоциты. В экспериментах с применением исследуемого вещества в дозах: 33 и 16 мг/кг, а также с 6-го по 24-й месяцы

опыта после введения исследуемых доз видимых отличий от интактного контроля не выявлено.

Микроструктура щитовидной железы у контрольных групп крыс на 3-й месяц опыта соответствует норме. После введения субстанции в дозе 65 мг/кг указанная железа характеризуется наличием фолликулов разного диаметра. Крупные фолликулы с плотным коллоидом имеются как в периферической, так и центральной зоне железы. Выявлено увеличение содержания фолликулов, содержащих слабоокрашенный коллоид. Содержание тироцитов в состоянии повышенной функциональной активности, замечено усиление пролиферации парафолликулярного эпителия. Наличие мелких опустошенных фолликулов, появление признаков многорядности и десквамации эпителия являются показателями функционального напряжения железы. Незначительное скопление ацидофильных гранул свидетельствует о торможении выведения гормона в кровеносное русло. В более низких дозах 33 и 16 мг/кг, а также с 6-го по 24-й месяцы после введения гликозил-НММ-1 в исследуемых дозах, видимых отличий от интактного контроля не выявлено.

На 3-й месяц опыта после введения субстанции в дозах 65 и 33 мг/кг у крыс наблюдается выраженный отек стромы семенников. Стенки кровеносных сосудов отечны. Базальные мембраны семенных канальцев утолщены и разрыхлены. В большинстве канальцев отмечается сохранение сперматогенной функции, в некоторых из них - развивающиеся половые клетки в состоянии разной степени повреждения. В дозе 16 мг/кг, а также с 6-го по 24-й месяц после введения гликозил-НММ-1 в исследуемых дозах повышенной чувствительности половых клеток самцов к воздействию субстанции на отдельных стадиях сперматогенеза не отмечено.

Исследование тимуса у крыс на 3-й месяц опыта показало (рис. 6.25), что в субстанции в дозе 65 мг/кг в корковом веществе вызывало обеднение ткани лимфоидными элементами, снижение содержания больших лимфоцитов в подкапсулярной зоне, выраженная макрофагальная реакция (рис. 6.25). В

мозговом веществе содержание лимфоцитов повышено, определяется укрупнение слоистых телец. Сосуды полнокровны, сосудистые стенки разрыхлены, отечны, выявлены периваскулярные отеки. Изучение вещества в дозах 0,3 и 0,2 мг/кг в мозговом и корковом веществе вызывает снижение содержания лимфоцитов, при этом граница между веществами слабо выражена, заметны тяжи эпителиальных клеток. На 6-й месяц наблюдается в группе животных, получавших гликозил-НММ-1 в дозах определяется инверсия коркового и мозгового вещества. В мозговом веществе – эпителиальные тяжи, сосуды полнокровны. С 9-го по 24-е месяцы после введения субстанции, макроскопически структура тимуса не отличается от интактного контроля.

Соединительнотканная капсула и трабекулы селезенки у мышей на 3-й месяц в дозе 65 мг/кг несколько отечны, разрыхлены. Белая пульпа представлена мелкими фолликулами. Периартериальные зоны уплотнены,

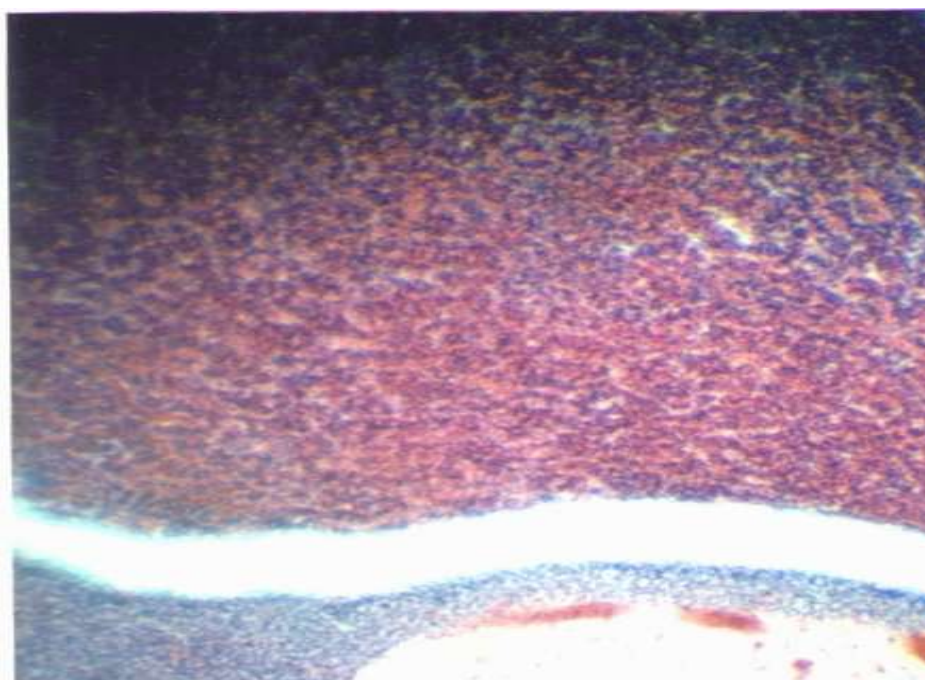


Рис. 6.25. Тимус. Гликозил-НММ-1. 65 мг/кг. Кортикальный слой представлен густо расположенными тимоцитами. Медуллярная часть дольки содержит лимфоциты, ретикулярные клетки, слоистые тельца Гассала. Окраска гематоксилином и эозином. x400.

содержат малые лимфоциты. Центральные артерии полнокровны. гликозил-НММ-1 в дозах 33 и 16 мг/кг, а также с 6-го по 24-й месяцы введения отличий от структуры интактного контроля не наблюдаются. Исследование показало, макрофагов. Сосуды стромы расширены, полнокровны. В строме выявлено большое содержание макрофагов и единичных гранулоцитов. Субстанция в дозах 33 и 16 мг/кг, а также с 6-го по 24-е месяцы после введения исследуемых доз, у всех животных лимфоузлы имели обычное, нормальное анатомическое расположение и микроструктуру.

Морфологическое исследование внутренних органов на фоне действия циклофосамида в дозе 3 мг/кг показало, что вызывает деструктивные и дистрофические изменения в печени, с появлением серозного воспаления и очагов микронекроза, которые сопровождаются обратимым угнетением активности ретикулоэндотелиальных клеток; оказывает токсическое действие на почки, происходит набухание стенок артериол, дегенерация эпителия канальцев, которые приводят к изменениям в эндокринной системе. В рыхлой соединительной ткани происходит торможение накопления клеточных элементов, уменьшаются число и активность макрофагов. Препарат негативно влияет на ЖКТ: появляются атрофические и дистрофические изменения слизистой желудка, тонкого и толстого кишечника, воспалительная инфильтрация стромы и подслизистого слоя. В дозах 2 и 1 мг/кг в микроструктуре печени у животных наблюдаются умеренные дегенеративно-дистрофические обратимые изменения. Не изменяется фагоцитарная активность макрофагов. В лимфоидных органах и ЖКТ обнаруживаются обратимые атрофические изменения.

Таким образом, изучение канцерогенного действия субстанции гликозил-НММ-1 в течение 2-х лет наблюдения показало, что при этом незначительно снижается содержание лейкоцитов в крови. При вскрытии животных процент возникающих подкожных доброкачественных образований свидетельствует о

нетоксичности и отсутствии канцерогенного эффекта. При введении 1/5 части циклофосфамида в дозе 3 мг/кг наблюдалась незначительная тенденция к лейкопении.

Результаты морфологических исследований внутренних органов животных после введения субстанции показали, что макроскопически органы без аномалий. В микроструктуре органов различий между группами животных не было выявлено, что свидетельствует о нетоксичности и отсутствии у гликозил-НММ-1 канцерогенного эффекта. Гибель животных в течение срока наблюдения можно отнести к естественному процессу. При вскрытии животных не обнаружено опухолей в грудной и брюшной полостях, что свидетельствует об отсутствии опухолевого роста.

Циклофосфамид оказывает некоторое повреждающее действие на структуру отдельных внутренних органов. К концу наблюдения в большинстве органах определяются структурные изменения, которые свидетельствуют о токсичности препарата и присутствии у него возможного канцерогенного эффекта.

## **6.6. Изучение мутагенных свойств субстанции гликозил-НММ-1**

Изучение мутагенных свойств проводится с целью определения риска в повреждении ДНК и фиксации этих повреждений в форме генных мутаций.

Исследования генотоксичности веществ проводятся как в условиях *in vitro*, так и *in vivo* с целью выявления компонентов, индуцирующих генетическое повреждение ДНК вследствие различных механизмов. При использовании метода оценки генных мутаций на клетках млекопитающих в условиях *in vitro* наиболее часто используются следующие культуры: мышьяная лимфома L5178Y, клеточные линии CHO, AS52, и V79 китайского хомячка; лимфобластные клетки человека ТК6 [346]. Клетки мышьяной лимфомы L5178Y

используются часто, поскольку, они являются чувствительными индикаторами мутагенной активности широкого спектра соединений в микроядерном тесте и характеризуются высокой стабильностью и низким уровнем спонтанного образования микроядер.

Выбор концентраций субстанции проводился по методике согласно руководству [316]. Диапазон исследуемых концентраций субстанции гликозил-НММ-1 составил от 0,1625 мг/мл до 0,016 мг/мл. Последующие концентрации гликозил-НММ-1 были приготовлены в среде для воздействия путем серийных разведений. Анализ проводился с использованием 4 часовой экспозиции с метаболической активацией и без метаболической активации. Для метаболической активации использовали смесь ферментов из постмитохондриальной фракции гепатоцитов крыс S9, содержащую 54 мг глюкоза-6-фосфата, 0,6 мл стерильной дистиллированной воды, 7,5 мг НАДФ, 0,3 мл 150 мМ раствора KCl и 0,6 мл S9-фракции.

Для того, чтобы определить, может ли гликозил-НММ-1 взаимодействовать с ДНК клеток млекопитающих *in vitro*, и приводить к ее повреждению с последующим появлением микроядер клетки инкубировались с исследуемым веществом 4 ч при 37°C, 5% CO<sub>2</sub>. Положительным контролем при воздействии с метаболической активацией служил циклофосамид в конечной концентрации 10 мкг/мл, при воздействии без метаболической активации – митомицин С в конечной концентрации 0,1 мкг/мл. После окончания периода воздействия клетки отмывали центрифугированием в среде для отмывания при 130g в течение 5 минут, добавляли среду для воздействия и инкубировали 20 ч при 37°C, 5% CO<sub>2</sub>. По окончании восстановительного периода клетки ресуспендировали, из ячеек отбирали по 20 мкл суспензии для подсчета с трипановым синим.

Клетки отмывали центрифугированием, отбирали супернатант, добавляли раствор для гипотонического шока и инкубировали в течение 10 мин при 37°C, 5% CO<sub>2</sub>. После окончания инкубации отбирали супернатант, ресуспендировали клетки и добавляли фиксатор. Фиксировали в течение 10 мин при



комнатной температуре. Наносили 8-10 капель на предметное стекло. После того как предметные стекла с образцами высыхали, предметные стекла с образцами окрашивали 3 % раствором Гимзы, в течение 8 минут. Подсчитывали микроядра в 1000 одноядерных клетках на окрашенном предметном стекле. Изучение мутагенности гликозил-НММ-1 проводили с помощью метода учета образования микроядер. Результаты изучения индукции образования микроядер субстанции представлены в таблицах 6.1 и 6.2.

В качестве позитивного контроля использовали известный мутаген – митомицин С. Частота образования микроядер при этом составляет 7,5 на 1000 проанализированных клеток, а разница статистически достоверна при проверке гипотезы двумя критериями – по Фишеру и Стьюденту.

Из представленных в таблице 6.1 результатов по оценке способности индуцировать образование микроядер следует, что гликозил-НММ-1 в

Таблица 6.1. – Результаты микроядерного анализа субстанции гликозил-НММ-1 в условиях *in vitro* без метаболической активации в культуре клеток L5178Y

Исследуемое вещество	Концентрация	Среднее кол-во микроядер на 1000 клеток	PF	PS
Вода очищенная	0	0	-	-
Митомицин	0,1 мкг/мл	7,5±0,7	0,015*	0,04*
субстанции гликозил-НММ-1	0,00003 мг/мл	0,07±0,05	1	0,5
0,00006 мг/мл	0,01±0	0,01	0,05	
0,00012 мг/мл	0,005±0,06	0,01	0,05	
0,00024 мг/мл	0,005±0,05	0,01	0,01	
0,00048 мг/мл	0,005±0,07	0,01	0,01	
0,00096 мг/мл	0,01±0	0,01	0,05	

Примечание: \*  $p < 0,05$ ; PF – значение  $p$  по Фишеру, Ps –  $p$  по Стьюденту.

Таблица 6.2 – Результаты микроядерного анализа гликозил-НММ-1 в условиях *in vitro* с метаболической активацией фракцией S9 в культуре клеток L5178Y

Исследуемое вещество	Концентрация	Среднее кол-во микроядер на 1000 клеток	PF	PS
Вода очищенная	0	0	-	-
Циклофосфамид	10 мкг/мл	12,0±1,4	0,0004*	0,05**
субстанции гликозил-НММ-1	0,00003 мг/мл	0,03±0,14	0,25	0,02
0,00006 мг/мл	0,3±0	0,025	0,1	
0,00012 мг/мл	0,35±0,07	0,025	0,05	
0,00024 мг/мл	0,15±0,07	0,01	0,01	
0,00048 мг/мл	0,20±0,14	0,05	0,07	
0,00096 мг/мл	0,01±0	0,01	0,05	

Примечание: \*  $p < 0,0001$ ; \*\*  $p \leq 0,05$ ; PF – значение  $p$  по Фишеру, Ps – значение  $p$  по Стьюденту.

микроядерном тесте без метаболической активации генотоксичностью не обладает.

В результате проведения микроядерного анализа гликозил-НММ-1 в условиях *in vitro* с метаболической активацией фракцией S9 в культуре клеток L5178Y установлено, что после метаболической активации субстанции исследование её мутагенного потенциала дало отрицательный результат (см. табл. 6.2).

Как видно из таблицы 6.2, исключение составила минимальная концентрация гликозил-НММ-1 в 0,00003 мг/мл. В результате проверки достоверности полученных результатов критериям Фишера и Стьюдента,

последний показал достоверность с  $p = 0,02$ . Данные проверки результатов критерием Фишера со значением  $p = 0,25$  установлено, что мутагенная активность после метаболической активации субстанции фракцией S9 отсутствует. В позитивном контроле с циклофосфамидом, количество микроядер на 1000 проанализированных клеток составляет 12, что статистически отличается, как от негативного контроля, так и опытных образцов гликозил-НММ-1.

Таким образом, результаты изучения мутагенной активности субстанции гликозил-НММ-1 микроядерным тестом на культуре клеток L5178Y как в условиях метаболической активации цитохромами микросомальной фракции печени крыс, так и без метаболической активации, показывает об отсутствии мутагенной активности субстанции гликозил-НММ-1 вызывать нарушения в хромосомном аппарате клеток.

## **6.7. Изучение эмбриотоксических и тератогенных свойств гликозил-НММ-1**

Нами также проведены исследования эмбриотоксических и тератогенных свойств гликозил-НММ-1 согласно «Методическим указаниям по изучению эмбриотоксического действия фармакологических веществ и их влияния на репродуктивную функцию» [59, 75, 127].

Опыты проведены на крысах, из которых были сформированы группы опытных и беременных контрольных самок. Наступление беременности определяли по влагалищному мазку на следующий день подсадки. Всего было 80 крыс массой 160-180 г. Сформировано 8 групп: I-II – контрольные, III-VIII – опытные, которые получали в/в субстанцию и циклофосфамид в дозах: (24; 12 и 6 мг/кг) и (3; 2 и 1 мг/кг) по 1 мл в период беременности.

Контрольная группа получала изотонический раствор хлорида натрия (0,9 %). Проводилось наблюдение за животными, определялся прирост массы

тела на 1-й, 7-й, 14-й и 20-е дни беременности. Динамика прироста массы беременных крыс представлена.

Из рис. 6.26 видно, что на второй неделе введения гликозил-НММ-1 в дозе 24 мг/кг отмечалось незначительное снижение прироста массы ( $28,2 \pm 0,07$  против  $29,7 \pm 0,06$  в контроле), которое в последующем нивелировалось, к концу беременности прирост массы ( $81,7 \pm 0,06$  против  $80,2 \pm 0,40$  в контроле при  $P \leq 0,5$ ) незначительно превышала контрольное значение (рис. 6.26). В

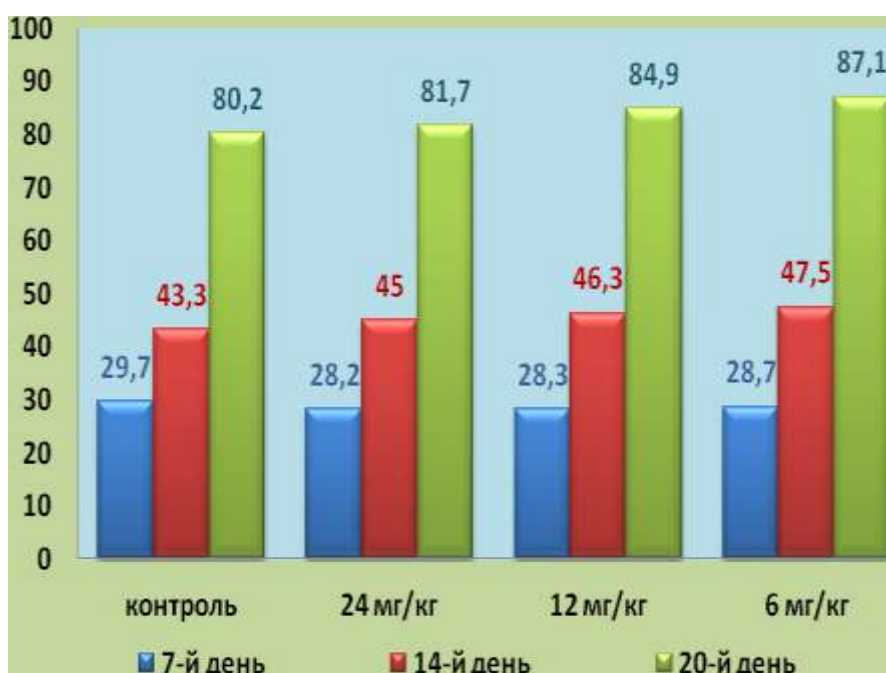


Рис. 6.26. Показатели прироста массы тела крыс в период беременности при введении субстанции гликозил-НММ-1 (абс. зн.  $M \pm m$ ).

дозах 12 и 6 мг/кг в первую ( $46,3 \pm 0,13$  и  $47,5 \pm 0,30$  против  $43,3 \pm 0,12$  в контроле) к концу второй половины беременности ( $84,9 \pm 0,19$  и  $85,1 \pm 0,40$  против  $80,2 \pm 0,23$  в контроле) у животных снижения прироста массы тела крыс в период беременности при введении субстанции не наблюдается.

Циклофосфамид в дозе 3 мг/кг на II-III неделе ( $26,6 \pm 0,07$  и  $25,2 \pm 0,03$  против  $33,5 \pm 0,1$  и  $32,7 \pm 0,01$  в контроле при  $P \leq 0,05$ ) к концу первой ( $40,8 \pm 0,19$  против  $47,5 \pm 0,30$  в контроле при  $P \leq 0,05$ ) и второй половины

беременности ( $74,6 \pm 0,07$  против  $80,2 \pm 0,19$  в контроле при  $P \leq 0,05$ ) у животных приводит к потере прироста в массе тела и может оказать эмбриотоксическое действие. В дозах 2 и 1 мг/кг в первую ( $41,0 \pm 0,11$  и  $43,3 \pm 0,13$  против  $47,5 \pm 0,30$  в контроле) у животных приводит к потере прироста в массе тела и может оказать эмбриотоксическое действие. К концу второй половины беременности ( $74,6 \pm 0,07$  и  $75,8 \pm 0,09$  против  $80,2 \pm 0,19$  в контроле) у животных снижения прироста массы тела крыс в период беременности при введении циклофосфамида не отмечалось (рис. 6.27).

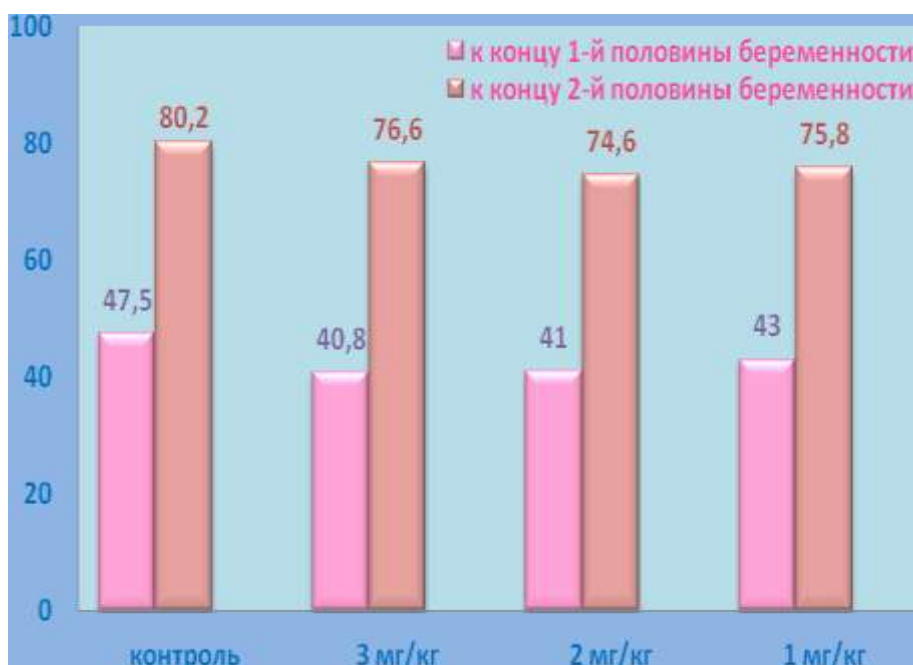


Рис. 6.27. Показатели прироста массы тела крыс в период беременности при введении циклофосфамида ( $P \leq 0,05$ ).

В данной серии экспериментов было проведено морфологическое исследование состояния репродуктивных органов самок под влиянием гликозил-НММ-1 и циклофосфамида в исследуемых дозах. Животные забивались на 20-й день беременности. В яичниках подсчитывалось число желтых тел ( $12,8 \pm 0,9$ ;  $14,7 \pm 0,7$  и  $13,6 \pm 0,6$ ) и ( $14,8 \pm 0,9$ ;  $12,7 \pm 0,7$  и  $13,6 \pm 0,6$ ) против  $13,1 \pm 0,7$  в контроле), число мест имплантаций на 1 самку ( $12,7 \pm 0,9$ ;  $11,2 \pm 0,3$  и  $13,2 \pm$

0,5) и ( $12,7 \pm 0,8$ ;  $12,2 \pm 0,4$  и  $13,2 \pm 0,6$ ) против  $12,9 \pm 0,8$  в контроле) (рис. 6.28-6.31), предимплантационная гибель, в % (4,8; 4,7 и 4,9). Данные изучения

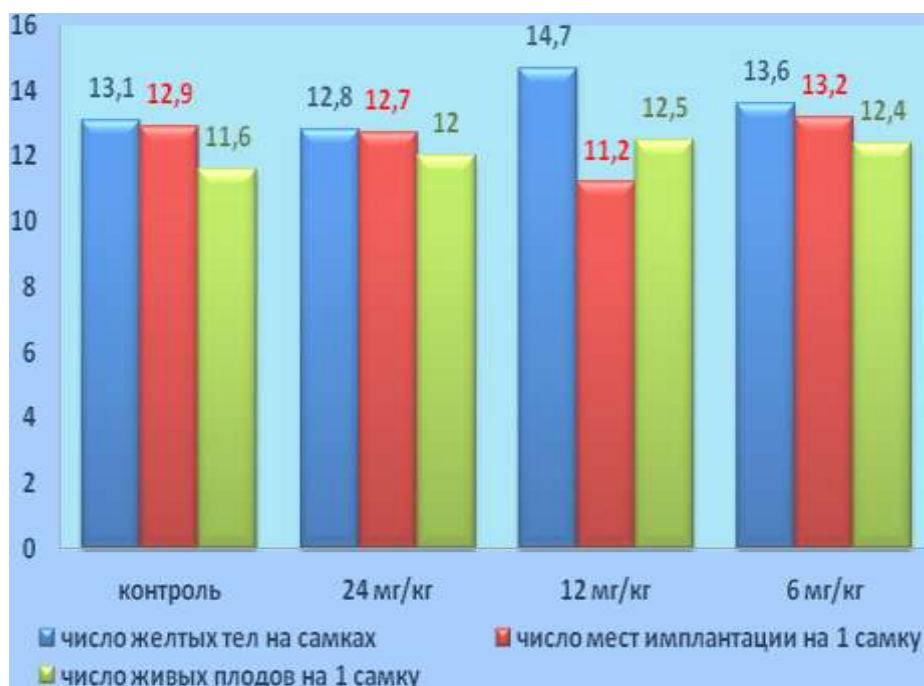


Рис. 6.28. Влияние гликозил-НММ-1 на эмбриональное развитие подопытных животных (абс. зн.  $M \pm m$ ).

эмбрионального материала, репродуктивных органов самок, линейных размеров и массы плодов представлены на рис. 6.32-6.33. Из приведенных данных видно, что гликозил-НММ-1 и циклофосфамид не вызывают повышения спонтанной гибели эмбрионов.

Число желтых тел и мест имплантации живых плодов было одинаковым как у контрольных, так и подопытных животных. Подсчет количества желтых тел, мест имплантации, линейных размеров и массы плодов не выявили достоверных различий в сравниваемых группах. Не отмечено отличий в массе тела и краниокаудальном размере плодов.



Рис. 6.29. Влияние циклофосфида на эмбриональное развитие подопытных животных ( $P \leq 0,05$ ).

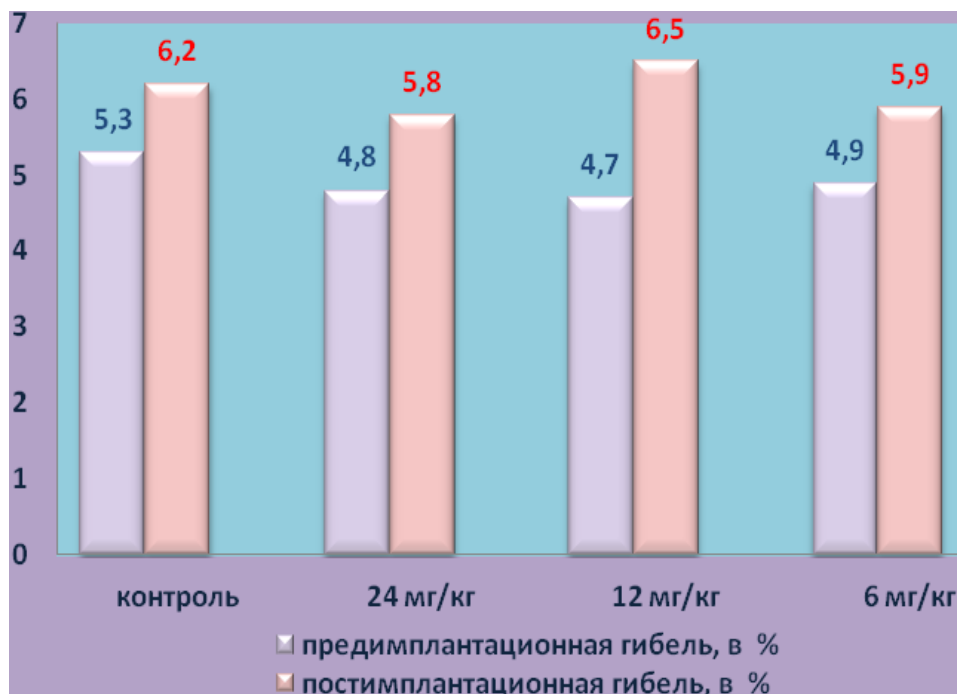


Рис. 6.30. Показатели предимплантационной и постимплантационной гибели плодов при введении гликозил-НММ-1 (абс. зн.  $M \pm m$ ).



Рис. 6.31. Предимплантационная и постимплантационная гибель плодов при введении циклофосфамида ( $P \leq 0,05$ ).

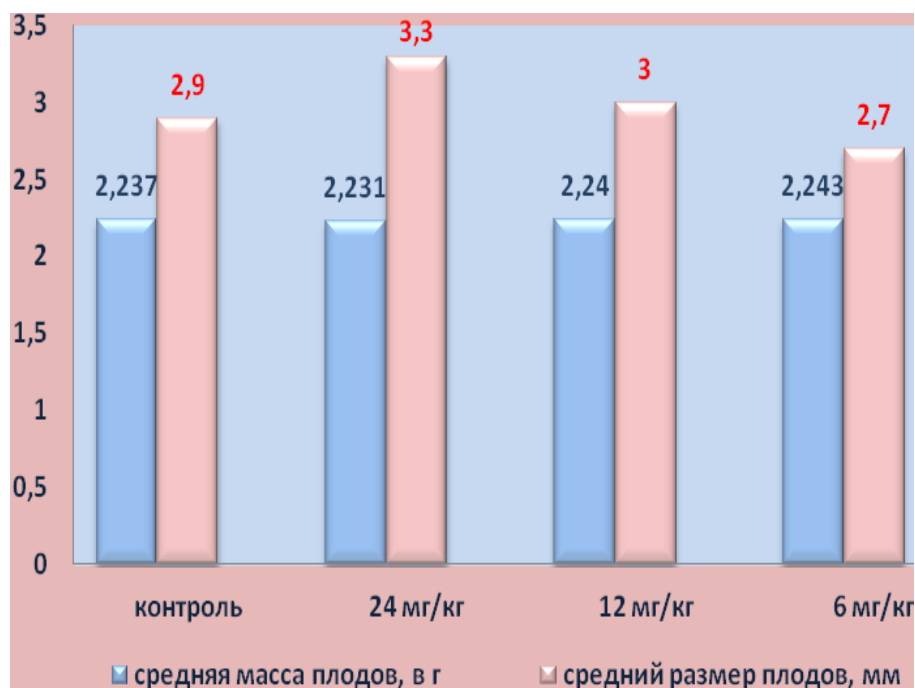


Рис. 6.32. Показатели средней массы плодов и размера плодов при введении гликозил-НММ-1 (абс. зн.  $M \pm m$ ).



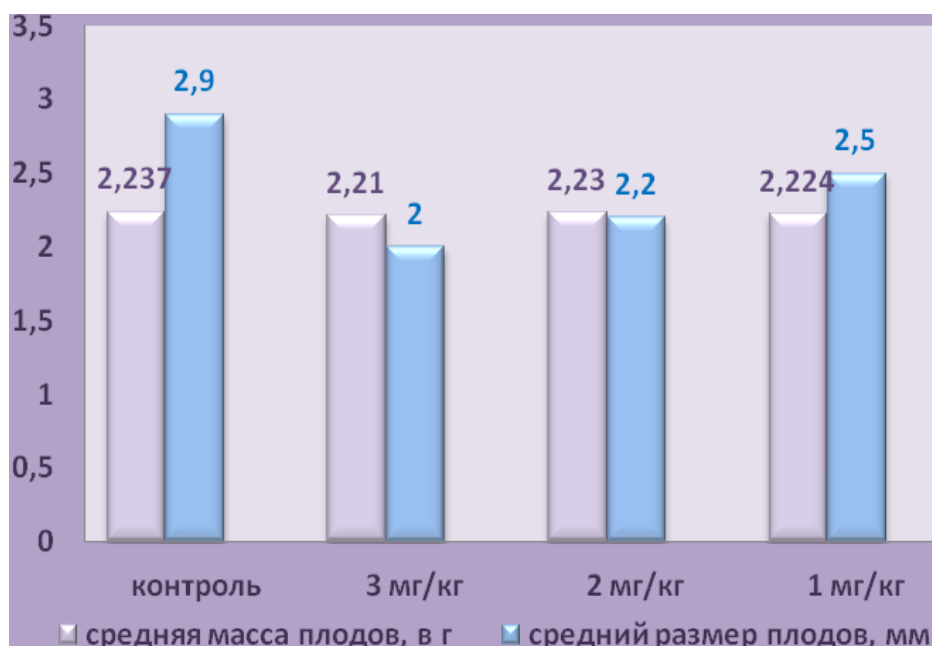


Рис. 6.33. Показатели средней массы плодов и размера плодов при введении циклофосфида ( $P \leq 0,05$ ).

Морфологическое изучение тератогенного и эмбриотоксического действия субстанции, в сравнении с контрольным плодом (самца, длиной тела в 40 мм, шириной в 16 мм) на тотальных срезах серийных препаратов показало, что поперечные разрезы нижней челюсти без изменений. Развитие глаз, структура мозга и его желудочки в норме. Топографическое и макроанатомическое строение органов (половые органы и другие) также соответствуют норме. Строения скелета, расположение костей, ткани костных органов, точки окостенения в норме.

Проводилось сравнение с плодом контроль 2 (самец, длиной тела 41 мм, шириной – 17 мм). Изучение поперечных разрезов плодов показало, что у всех исследованных плодов топографическое расположение, структура внешних и внутренних органов соответствует норме. Изучение костной системы показало, что конечности, костный скелет развиты без аномалий. Количество и расположение точек окостенения соответствует норме.

У плода контроль 3 (самка, длиной в 43 мм, шириной 15 мм) исследование разреза 1 показало, что наружные органы (глаза, уши и др.)

развиты нормально; изучение разреза 2 выявило, что расположение органов (подкорковой структуры, желудочки и др.) без изменений. При исследовании разреза 3 обнаружилось, что верхняя челюсть, обонятельные луковицы зрительного нерва и др. без патологий. Сердце, легкие и другие органы при разрезе 4 в норме. Топографическое расположение внутренних органов и их макроскопическое исследование показало отсутствие аномалий в формировании. Таким образом, все исследованные плоды в группах контроля не имели отклонений в развитии.

Гликозил-НММ-1 в дозах: 24 мг/кг (I серия, опыт 3, длина плода (самки) - 40 мм, ширина - 15 мм); 11 мг/кг (I серия, опыт 4) длина самца - 42 мм, ширина - 13 мм и 6 мг/кг (I серия, опыт 5) длина самки - 42 мм, ширина 18 мм) показало, что топографически и структурно наружные и внутренние органы в пределах нормы. При введении субстанции в дозе 24 мг/кг (I серия, опыт 3) в 2-х случаях обнаружилось уменьшение размеров одной из почек, при сохранении нормального развития контралатерального органа.

Во II серии опыта в гликозил-НММ-1 дозах: 24 мг/кг (I серия, опыт 3, длина самки - 40 мм, ширина - 14 мм); 12 мг/кг (I серия, опыт 4, длина самца - 42 мм, ширина - 13 мм) и 6 мг/кг (I серия, опыт 5, длина самки - 42 мм, ширина 18 мм) показали, что топографически и структурно наружные и внутренние органы развиты нормально. Результаты морфологического исследования плодов аналогичны. Топографически на поперечных срезах наружные и внутренние органы без отклонений от нормы.

Морфологическое исследование наружных и внутренних органов плодов, у животных получавших субстанцию в исследуемых дозах (I-III серии, опыт 3-5) выявило, что при объективном осмотре топографически и структурно отклонений от нормы не выявлено. В дозе 24 мг/кг (I серия, опыт 3) в 2-х случаях определялось уменьшение размеров одной из почек, при сохранении нормального развития контралатерального органа.

Результаты изучения действия гликозил-НММ-1 на половозрелых крысах-самках не выявило достоверных различий, не вызывает тератогенного и эмбриотоксического действия; в дозе 24 мг/кг на второй неделе незначительно снижает массу тела, которая в последующем нивелировалась. К концу беременности прибавка в массе несколько превышала, не снижает прироста массы тела у беременных крыс. Субстанция не вызывает повышения спонтанной гибели эмбрионов - число желтых тел, мест имплантации и живых плодов. Циклофосфамид в дозе 3 мг/кг на II-III неделе, в первую и к концу второй половины беременности у животных приводит к незначительной потере в массе тела и может оказать эмбриотоксическое действие. При морфологическом исследовании наружных и внутренних органов плодов у животных, получавших гликозил-НММ-1, топографически и структурно отклонений от нормы не обнаружено; субстанции и циклофосфамид в испытываемых дозах в период беременности у животных не обладают эмбриотоксическим и тератогенным действием. Т.о. гликозил-НММ-1 в исследуемых дозах не вызывает снижения прироста массы тела у беременных крыс. Циклофосфамид в дозе 3 мг/кг на II-III неделе, в первую и к концу второй половины беременности животных приводит к незначительной потере прироста в массе тела и может оказать эмбриотоксическое действие. Субстанции в течение беременности самок не обладает эмбриотоксическим и тератогенным действием; развитие наружных и внутренних органов соответствуют норме; не вызывает повышения спонтанной гибели эмбрионов - число желтых тел, мест имплантации и живых плодов.

При морфологическом исследовании наружных и внутренних органов плодов у животных, получавших гликозил-НММ-1 топографически и структурно отклонений от нормы не наблюдалось, на половозрелых крысах-самках не выявлено достоверных различий, гликозил-НММ-1 не вызывает тератогенного и эмбриотоксического действия.

## **6.8. Фармакокинетические параметры субстанции гликозил-НММ-1 в сыворотке крови у крыс**

Проводилось изучение фармакокинетики субстанции гликозил-НММ-1 в сравнении со временем циркуляции в кровотоке.

Было сформировано 2 группы животных: I – опытная, II - контрольная. Первой группе животных исследуемая субстанция гликозил-НММ-1 в виде раствора однократно вводилась внутривенно в стерильном физиологическом растворе в дозе 6, 3 и 2 мг/кг в хвостовую вену белым беспородным крысам самцам Wistar с массой тела 180-220 г (n = 18). Второй группе вводился изотонический раствор хлорида натрия (0,9 %) по 1 мл.

Уровень концентрации гликозил-НММ-1 определялся в образцах сыворотке крови, взятых через 3, 5, 10 и 15 минут после введения. Через 3 минуты после введения субстанции в крови у крыс обнаружилось половинное количество вещества. Спустя 5 мин - 3 % от общего количества гликозил-НММ-1. Через 10 минут в плазме крови содержался 1 % от введенной дозы. Через 15 минут в плазме крови у животных имелись следы субстанции. Ниже представлено описание результатов фармакокинетического моделирования в программе Borgia 1.03 для максимальной использованной дозы 6 мг/кг (рис. 6.34).

Как видно, фармакокинетическая кривая, описывающая изменение уровня концентрации гликозил-НММ-1, двухфазна, в течение первых 5 мин идет интенсивное распределение субстанции идет по периферическим тканям, либо метаболизм, интенсивное выведение. Вторая фаза, начиная с 10 мин и до бесконечности обеспечивается восстановлением активной субстанции из периферической камеры модели в центральную камеру модели и последующей элиминацией. Оценить вероятность этих предположений можно при использовании характеристик фармакокинетических параметров (табл. 6.3).

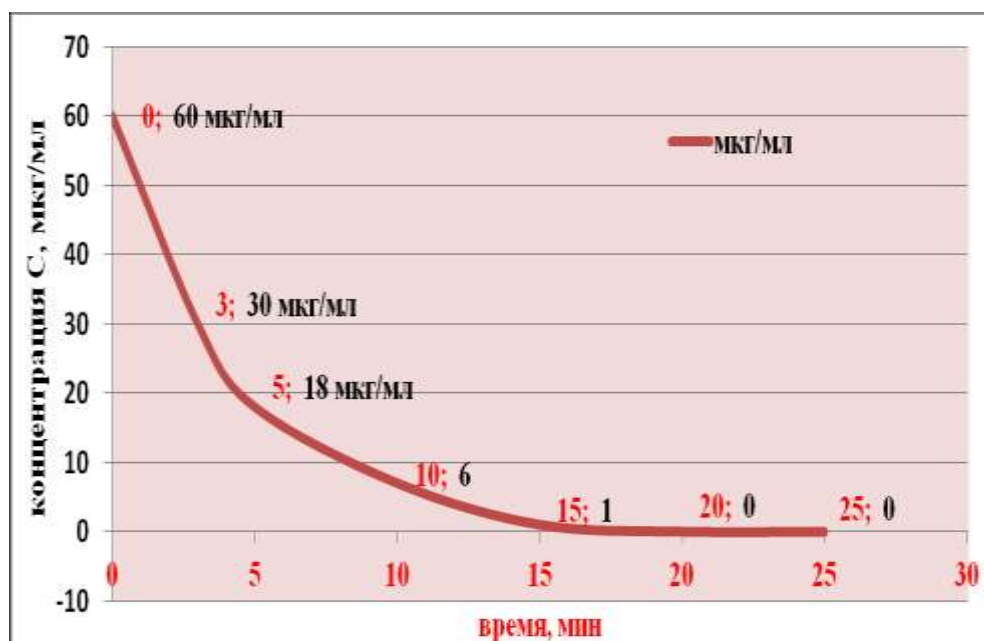


Рис. 6.34. Фармакокинетическая кривая «концентрация – время» препарата гликозил-НММ-1 в сыворотке крови крыс после внутривенного введения дозы 6 мг/кг.

Таблица 6.3. – Фармакокинетические константы субстанции гликозил-НММ-1 при внутривенном введении 6 мг/кг

№№	Фармакокинетический параметр	Значение
1	Период полураспределения, $T_{1/2\alpha}$	2.2 min
2	Период полувыведения, $T_{1/2\beta}$	3.5 min
3	Константа перехода из центральной камеры в периферическую, $K_{12}$	0.22559
4	Константа элиминации, $K_{el}$	0.26764
5	Константа перехода из периферической камеры в центральную, $K_{21}$	0.01280
6	Объем распределения в центральной камере, $V$	20.152 ml
7	Кинетический объем распределения, $V_k$	21.044 ml
8	Стационарный объем распределения, $V_s$	16.011 ml
9	Клиренс, $Cl$	2.055 ml/min
10	Интегральная площадь под фармакокинетической кривой, AUC	246.6

Гликозил-НММ-1 при внутривенном введении из крови, что обозначается в терминах фармакокинетики как центральная камера, довольно быстро переходит в ткани, обозначаемые как периферическая камера. Константа перехода из крови в 20 раз больше, чем скорость обратного перехода, что свидетельствует о депонировании гликозил-НММ-1 в тканях. Кажущийся объём распределения в (объём распределения в центральной камере) более 20 при учете реального объема крови у крысы массой 180-200 г (около 15 мл) однозначно говорит о том, что субстанция распределяется во всей внеклеточной и внутриклеточной жидкости крови, что подтверждает способность субстанции проникать через плазматические мембраны клеток. Высокое значение суммарного объема стационарного распределения и кинетического распределения можно объяснить быстрым и интенсивным метаболизмом и возможностью перехода через биологические мембраны и тканевые барьеры.

Сравнение фармакокинетических параметров, установленных в условиях нашего эксперимента относительно гликозил-НММ-1, с фармакокинетическими характеристиками собственно нитрозомочевины [357] позволяет констатировать однотипность фармакокинетики. Известно, что для производных НАМ (НММ, араноза и др.) характерно быстрое исчезновение из крови (Эммануэль Н.М. и др., 1978) [242]. Т.о., субстанция гликозил-НММ-1, близка к другим НАМ (НММ, араноза и др.) по продолжительности циркуляции в крови.

После введения циклофосфида через 15 минут отмечается максимальная концентрация в крови, поскольку активация препарата в организме происходит быстро. Затем снижается содержание препарата, через 2 часа обнаруживается 50%. Продолжительность циркуляции препарата сравнения в крови равна 6 часам, а через 24 часа не определяется, выводится почками, через 1,5 часа обнаруживается в моче. Препарат выделяется с мочой в течение 6—8 часов, через сутки в моче определяются следы.

Т.о., изучением фармакокинетики гликозил-НММ-1 в кровотоке установлено, что после введения субстанции через 15 минут в плазме крови определяются лишь следы, которые быстро снижаются в крови и выделяются мочой. Гликозил-НММ-1 близок к производным НАМ по продолжительности циркуляции в крови, которая для циклофосфамида равна 6 часам.

*Заключение.* В VI главе обобщены результаты исследования фармако-токсикологических свойств гликозил-НММ-1 в сопоставлении с препаратом сравнения при однократном и многократном введениях. Морфологическое исследование кожи, подлежащей мышечной ткани, слизистой оболочки у животных показало, что субстанция не вызывает местно-раздражающего и кожно-резорбтивного действия. При длительном введении крысам гликозил-НММ-1 и циклофосфамида отсутствовало алергогенное действие, которое не приводило к падению общего числа лейкоцитов в периферической крови, не нарушалась структура внутренних органов животных. Циклофосфамид в исследуемых дозах вызывает выраженную лейкопению, тромбоцитопению и нестойкое угнетение гемопоэза. В лейкоцитарной формуле крови отсутствует тенденция к возрастанию эозинофилов, падения абсолютного числа лимфоцитов.

Субстанция не обладает кумулирующей способностью. Для НАМ характерно быстрое снижение в кровотоке и экскреция через выделительную систему. Гликозил-НММ-1 близок к другим производным НАМ по продолжительности циркуляции в крови в организме. Гликозил-НММ-1 не вызывает отрицательных изменений в функционировании основных звеньев иммунной системы, не оказывает влияния на иммунный статус животных; способность организма к формированию полноценного иммунитета выражается только в фазе выраженных или повышенных иммунологических сдвигов; в крови у мышей в дозе 16 мг/кг показатели иммунной системы оставались без изменений. Гликозил-НММ-1 не влияет на клеточный иммунитет, на функционирование звеньев иммунной системы, не оказывает

влияния на иммунный статус животных и не обладает иммунотоксическими свойствами. Циклофосфамид обладает выраженным иммунодепрессивным действием; вызывает изменения в морфологической структуре лимфоидных органов - торможение роста лимфоидно-клеточных элементов в иммунокомпонентных органах, снижает функциональное напряжение органов, без повреждения структурных элементов, влияет на клеточный иммунитет и обладает иммунотоксичностью.

При исследовании канцерогенного действия гликозил-НММ-1 в дозе 65 мг/кг отмечается тенденция к снижению количества лейкоцитов. Исследования внутренних органов показали, что органы без аномалий, в микроструктуре различий между группами животных не выявлено, что свидетельствует об отсутствии у гликозил-НММ-1 канцерогенного эффекта. Циклофосфамид в МПД вызывает выраженную лейкопению с нарушением лимфопоэза; в терапевтической дозе в лейкоцитарной формуле крови снижается количество палочкоядерных, сегментоядерных нейтрофилов, абсолютное число лимфоцитов; оказывает некоторое повреждающее действие на структуру отдельных органов. В большинстве органов определяются изменения, которые свидетельствуют о токсичности препарата, возможное присутствие канцерогенного эффекта.

Анализ результатов изучения мутагенной активности гликозил-НММ-1 микроядерным тестом на культуре клеток L5178Y как в условиях метаболической активации цитохромами микросомальной фракции печени крыс, так и без метаболической активации, показало об отсутствии способности гликозил-НММ-1 вызывать нарушения в хромосомном аппарате клеток.

Субстанция не вызывает снижения прироста массы тела у беременных крыс. Гликозил-НММ-1 в течение беременности у самок не обладает эмбриотоксическим и тератогенным действием. При исследовании органов плодов, топографически и структурно отклонений от нормы не выявлено; введение субстанции на крысах-самках не выявило достоверных различий и не



вызывает тератогенного и эмбриотоксического действия. Циклофосфамид в дозе 3 мг/кг на II-III неделе, в первую и к концу второй половины беременности приводит к незначительной потере прироста в массе и может оказать токсическое действие. После введения гликозил-НММ-1 в плазме крови через 15 минут определяются лишь следы, которые быстро снижаются в кровотоке. Это свидетельствует о том, что гликозил-НММ-1 близка к другим производным НАМ по продолжительности циркуляции в крови, а препарат сравнения в крови циркулирует длительно в течение 6 часов, чем субстанция гликозил-НММ-1. Следовательно, по изученным показателям фармако-токсикологических свойств субстанция гликозил-НММ-1 по сравнению с циклофосфамидом проявляет себя с лучшей стороны.

## **ГЛАВА 7. СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ АСЦИТНОЙ ОПУХОЛИ ЭРЛИХА (ДИПЛОИДНЫЙ ВАРИАНТ) С ГЛИКОЗИЛ-НММ-1 У ЖИВОТНЫХ-ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЕЙ**

В данной главе приводятся способ лечения АОЭ (диплоидный вариант) с гликозил-НММ-1 и результаты исследований по оценке эффективности лечения опухоленосителей в сравнении с циклофосфамидом [137, 193].

### **7.1. Лечение асцитного варианта АОЭ с применением гликозил-НММ-1 у животных**

Способ лечения асцитного варианта АОЭ гликозил-НММ-1 проводилось на животных-опухоленосителях согласно «Методическим рекомендациям по первичному отбору противоопухолевых препаратов» (М., 1980) в сопоставлении с препаратом сравнения.

Перевивка опухолевых клеток производилась в/б 190 линейным мышам массой 20-22 г. Животные были разделены на 9 групп: I-II – контрольные, III-IX – опытные. III-VI группы получали гликозил-НММ-1 в/б в дозах 100 мг/кг 1 раз, 50 мг/кг 2 раза, 30 мг/кг 3 раза и 9 мг/кг в течение 10 дней, а VII-IX группам вводился циклофосфамид в дозах 20 мг/кг 1 раз; 15 мг/кг 2 раза; 10 мг/кг 3 раза и 5 мг/кг в течение 10 дней. Контрольные животные получали изотонический раствор хлорида натрия в течение 10 дней.

Первое введение субстанции и циклофосфамида проведено через 24 часа после имплантации опухоли. У животных определялась масса тела. Анализ периферической крови произведен на 11-й день после лечения. Вскрытие опухоленосителей осуществлялось на 12-й день, измерялся объем асцитической опухоли. Гибель нелеченных животных наступала на 13-й день.

Параметром лечебного эффекта являлось масса тела, объем опухоли, ТРО, по сравнению с нелечеными животными в контроле. У животных при введении гликозил-НММ-1 в исследуемых дозах масса тела животных-опухоленосителей снижалась ( $22,1 \pm 6,25$ ;  $22,3 \pm 1,28$ ;  $23,4 \pm 0,27$  и  $22,3 \pm 1,63$  и против  $37,5 \pm 1,32$  в контроле при  $P \leq 0,05$ ), соответственно группам, объем опухоли ( $0,91 \pm 0,35$ ;  $0,4 \pm 0,24$ ;  $0,5 \pm 0,23$  и  $0,4 \pm 0,23$  против  $13,77 \pm 0,21$  в контроле при  $P \leq 0,05$ ) и ТРО, в составило (94; 92; 93 и 93%) в среднем 93 % (рис. 7.1-7.3). При анализе периферической крови наблюдалось снижение числа лейкоцитов до нормы ( $10,2 \pm 0,73$ ;  $11,6 \pm 1,09$ ;  $11,3 \pm 0,106$  и  $9,0 \pm 0,74$  против  $23,87 \pm 0,93$  в контроле при  $P \leq 0,05$ ), угнетения лейкопоэза не выявлено (рис. 7.4).

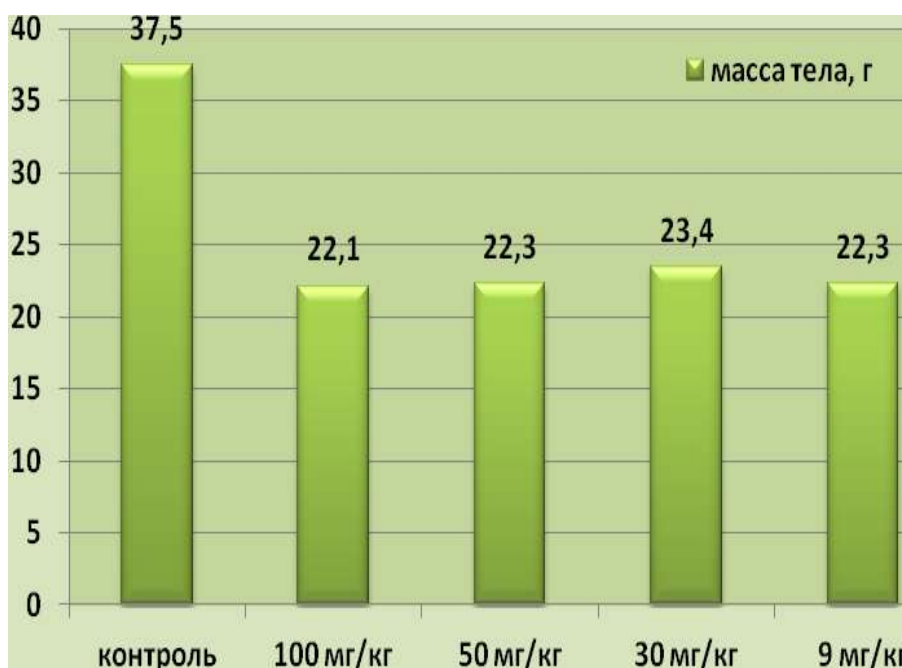


Рис. 7.1. Показатели массы тела у опухоленосителей при асцитном варианте АОЭ при введении гликозил-НММ-1 на 12-й день ( $P \leq 0,05$ ).

После введения циклофосфамида в исследуемых дозах масса тела животных-опухоленосителей уменьшалась ( $24,7 \pm 1,77$ ;  $26,0 \pm 6,25$ ;  $28 \pm 1,71$  и  $30,0 \pm 6,15$  против  $37,5 \pm 1,32$  в контроле при  $P \leq 0,05$ ) (рис. 7.5), (47; 45; 46 и 43%), в среднем равно 47 % (рис. 7.7). Со стороны анализа периферической

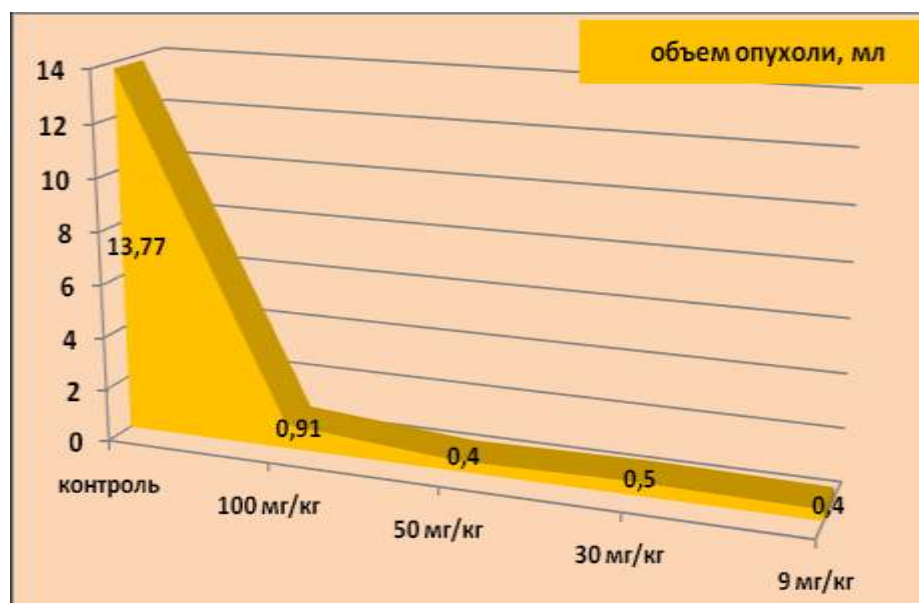
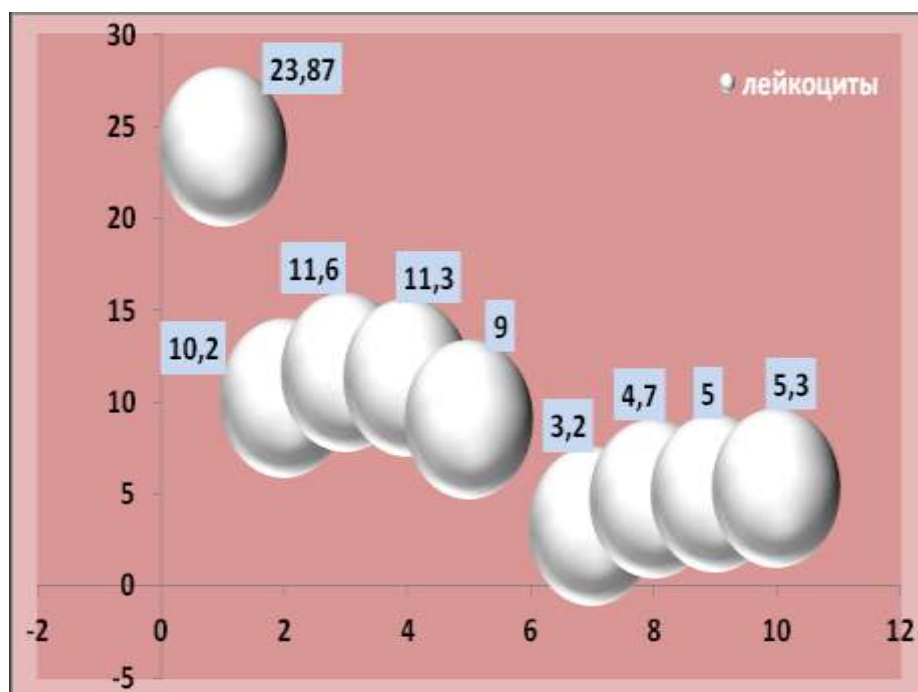


Рис. 7.2. Объем опухоли асцитного варианта АОЭ у животных-опухоленосителей при введении субстанции гликозил-НММ-1 ( $P \leq 0,05$ ).



Рис. 7.3. ТРО асцитного варианта АОЭ у животных-опухоленосителей при введении субстанции гликозил-НММ-1 ( $P \leq 0,05$ ).

крови отмечалось выраженное снижение числа лейкоцитов ( $3,2 \pm 1,00$ ;  $4,7 \pm 0,7$ ;  $5,0 \pm 0,25$  и  $5,3 \pm 0,71$  против  $23,87 \pm 0,93$  в контроле при  $P \leq 0,05$ ) и угнетение



Контроль 100, 50, 30, 9 мг/кг      20, 15, 10, 5 мг/кг  
 гликозил-НММ-1                      циклофосфамид

Рис. 7.4. Содержание лейкоцитов в крови у опухоленосителей при асцитном варианте АОЭ при введении гликозил-НММ-1 и циклофосфамида ( $P \leq 0,05$ ).

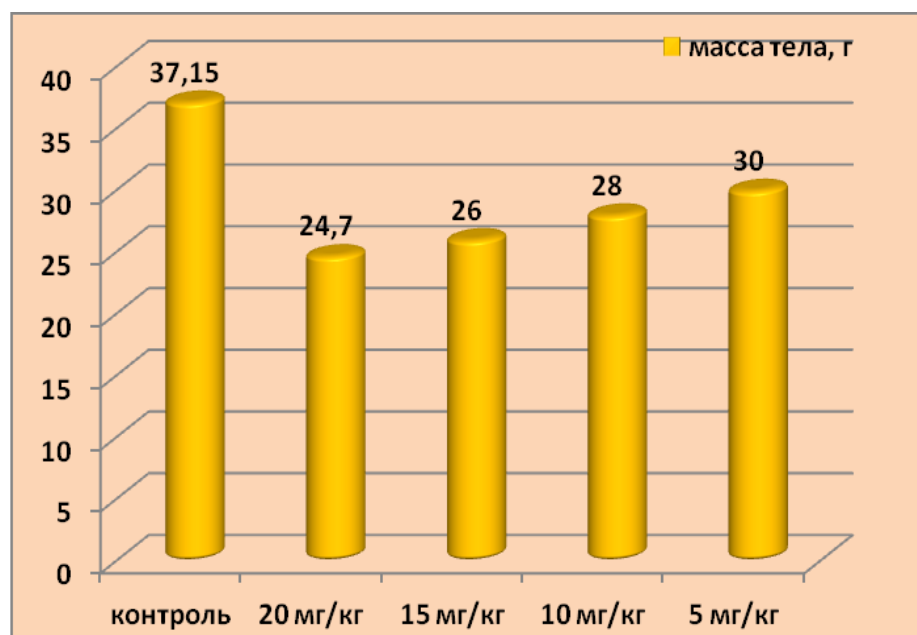


Рис. 7.5. Показатели массы тела животных при асцитном варианте АОЭ при введении циклофосфамида на 12-й день опыта ( $P \leq 0,05$ ).

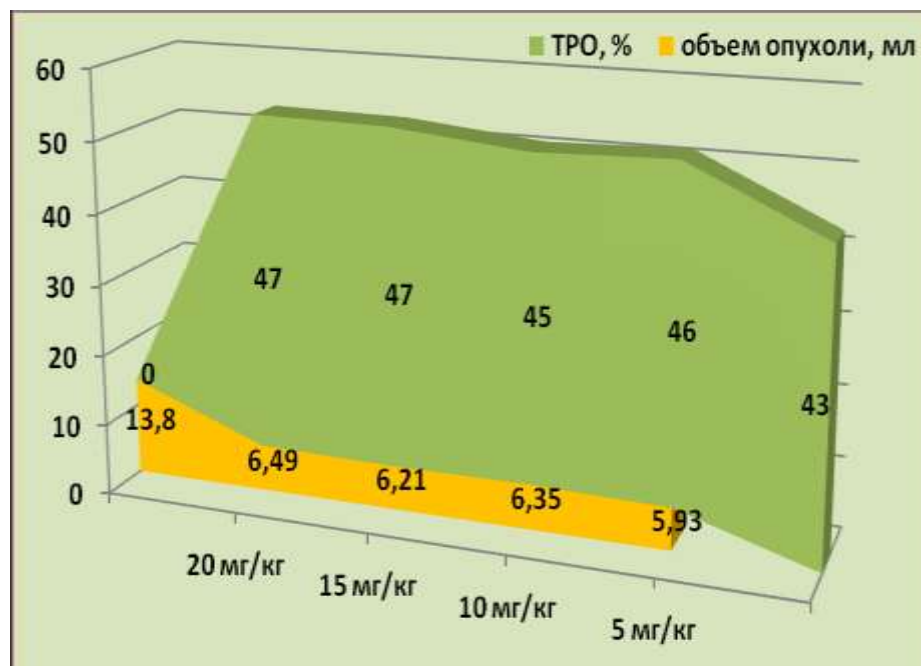


Рис. 7.6. Объем опухоли и ТРО асцитного варианта АОЭ у животных-опухоленосителей при введении циклофосфамида ( $P \leq 0,05$ ).

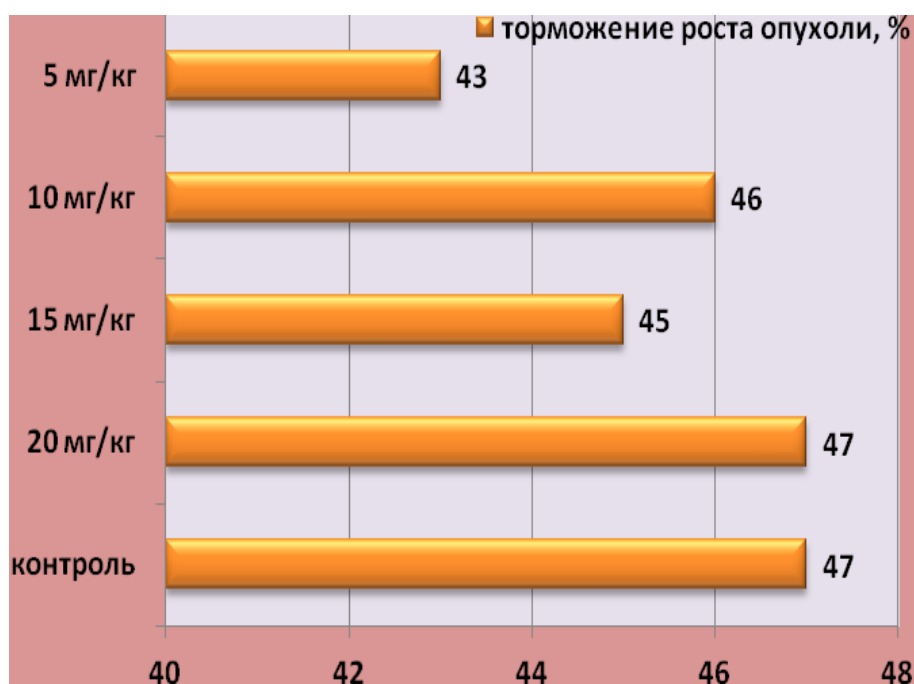


Рис. 7.7. ТРО асцитного варианта АОЭ у животных-опухоленосителей при введении препарата сравнения ( $P \leq 0,05$ ).

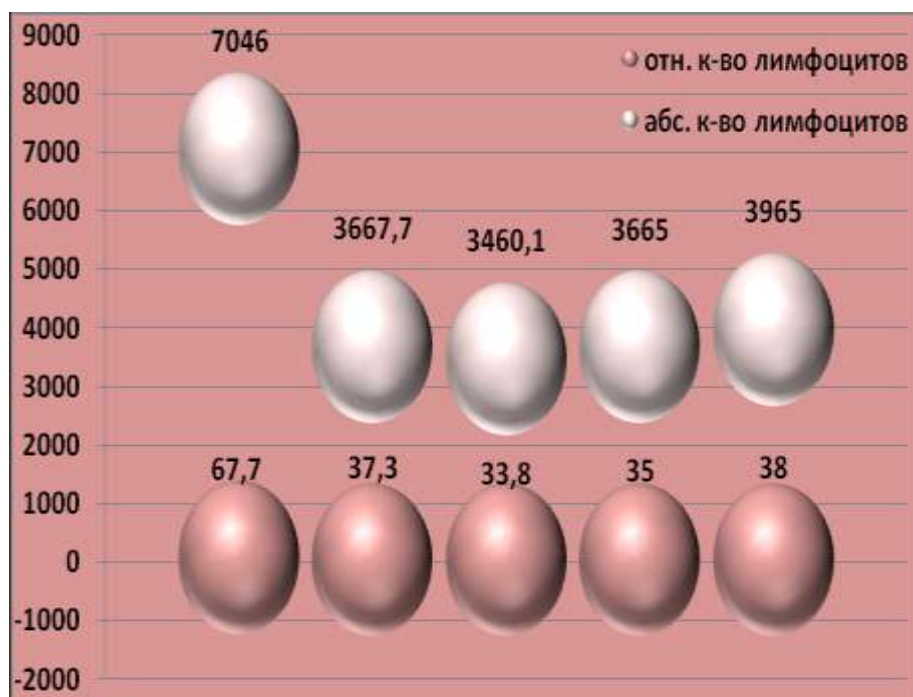


Рис. 7.8. Содержание относительного и абсолютного количества лимфоцитов в крови у опухоленосителей при асцитном варианте АОЭ при введении циклофосфида ( $P \leq 0,05$ ).

( $37,3 \pm 8,12$ ;  $33,8 \pm 4,08$ ;  $35 \pm 0,25$  и  $38,0 \pm 4,05$ ) и ( $3667,7 \pm 411,2$ ;  $3460,1 \pm 310,2$ ;  $3665 \pm 455,4$  и  $3965 \pm 455,4$ ) против  $67,7 \pm 2,07$  и  $7046 \pm 211,8$  в контроле при  $P \leq 0,05$ ) лимфоцитов крови.

Известно, что циклофосфамид имеет высокий ХТ индекс, широту терапевтического действия и слабую избирательность действия. Обладает лейкотоксичностью. В токсических и субтоксических дозах проявляет глубокие и стойкие изменения во всех ростках кроветворения. Количество лейкоцитов в крови снижается в первые 5 дней более чем, наполовину, к 10-му дню составляет 70-80 %. При ежедневном введении препарата в массивных дозах развивается глубокая лейкопения, тромбоцитопения, анемия и аплазия костного мозга. Чувствителен к препарату лимфопоз. Количество гранулоцитов уменьшается, с последующим относительным их увеличением. Выявлены незначительные сдвиги со стороны тромбоцитопоза и эритропоза. Гемопоз

восстанавливается в течение 2-3-х недель и завершается через месяц. В эксперименте и клинике обнаружено снижение свертывающей, и повышение фибринолитической активности крови.

Нами проведено патоморфологическое изучение способа лечения асцитного варианта АОЭ исследуемой субстанцией. Микроструктура органов контрольных-опухоленосителей аналогична описанию гл. 5.1. После введения гликозил-НММ-1 в дозах 100 и 50 мг/кг в микроструктуре печени наблюдается дискомплексация клеток, расширенные синусоиды, желчные капилляры. Соединительнотканые прослойки отечны, содержат повышенное количество клеточных элементов. В дозе 30 мг/кг сосуды полнокровны, в просветах - форменные элементы крови. В дозе 9 мг/кг структура печени в норме.

Кардиомиоциты при введении гликозил-НММ-1 в дозах 100 и 50 мг/кг окружены рыхлой волокнистой соединительной тканью, в которой обнаруживаются полнокровные кровеносных сосудов. Сосуды микроциркуляторного русла расширены, полнокровны.

В дозе 30 мг/кг был выявлен отек межлочечковой соединительной ткани сердца. Просматривались периваскулярные очаговые скопления лимфоидных клеток. Выявлены гранулярные лейкоциты в просветах крупных сосудов и полостях среди эритроцитов. Наблюдается выраженное полнокровие сосудов микроциркуляторного русла и венозного отдела кровеносного русла. Периваскулярно наблюдается активизация фибробластов и появление лимфоцитов (рис. 7.9).

В дозе 9 мг/кг кровеносные сосуды полнокровны, периваскулярно выявляется повышенное содержание клеточных элементов.

На фоне применения субстанции в дозах: 100; 50 и 30 мг/кг просматривается утолщение бронхиальных стенок легких, отечность слизистых оболочек. Местами определяются небольшие скопления лимфоидных клеток. В кровеносных сосудах отечные, утолщенные стенки, местами замечен выход плазмы и эритроцитов в периваскулярные пространства. В некоторых местах



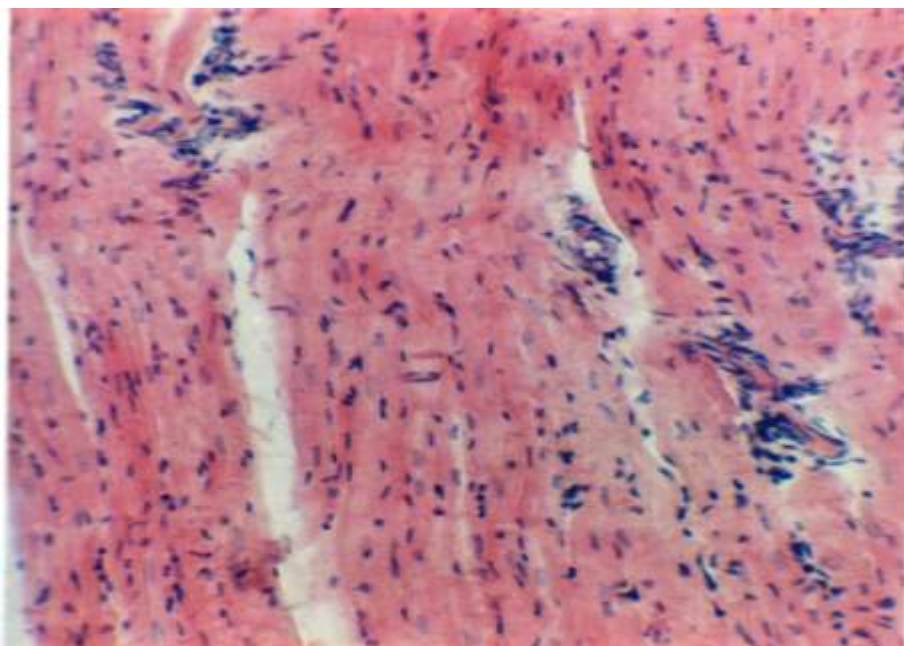


Рис. 7.9. Сердце. Асцитный вариант АОЭ. Гликозил-НММ-1. 30 мг/кг. Сосуды полнокровны, отек межучной соединительной ткани, периваскулярные очаговые скопления лимфоидных клеток, видны группы дистрофически измененных кардиомиоцитов. Окраска гематоксилином и эозином. x400.

альвеолы спавшиеся, стенки их утолщены, отечны, в просветах – оксифильно окрашивающиеся массы. В дозе 9 мг/кг сосуды и капилляры межальвеолярных перегородок умеренно и выраженно полнокровны.

Местами выявлено повышенное содержание слизи в желудке, появление пластов слущенных клеток при применении гликозил-НММ-1 в дозах 100 и 50 мг/кг. В поле зрения попадают отдельные, резко расширенные протоки желез, в просветах которых наблюдаются слущенные экзокриноциты. В шейках и концевых отделах желез просматриваются дистрофически измененные клетки. Наблюдается очаговое повышение количества главных клеток. В дозе 30 мг/кг просветы желез расширены, в них содержится слизь, межклеточные пространства расширены. Эпителиальная выстилка фундальных желез представлена всеми характерными типами клеток с некоторым преобладанием

мукоцитов шейки. В собственной пластинке слизистой оболочки, наряду с увеличением числа фибробластов и макрофагов, имеются малодифференцированные клетки. Сосуды микроциркуляторного русла расширены. После введения в дозе 9 мг/кг в подслизистой оболочке, наблюдаются расширенные кровеносные сосуды.

При введении субстанции в дозах: 100 и 50 мг/кг экзокринная часть поджелудочной железы в апикальной части представлена конусовидными клетками, наблюдается выраженная зернистость. В просвете ацинусов обнаружены мелкие светлые центроацинозные клетки с уплощенными ядрами. В дозе 30 мг/кг ацинусы экзокринной части средних размеров, полярность цитоплазмы с признаками чрезмерной базофилии базальных участков. Сосуды стромы полнокровны. Дольки железы повышено дискретны за счет умеренного отека стромы. В прослойках соединительной ткани повышенное содержание лимфоидных клеток, выявлены макрофаги, плазмоциты, тучные клетки. В дозе 9 мг/кг ацинусы экзокринной части железы средних размеров, отмечена полярность цитоплазмы. Апикальные отделы клеток с выраженной зернистостью, базальные отделы гиперхромны. Сосуды стромы полнокровны, выявлен умеренный отек стромы, очаговые лимфоидные и макрофагальные скопления.

При инъекции гликозил-НММ-1 в дозах 100 и 50 мг/кг сосуды стромы тонкого кишечника полнокровны, содержат форменные элементы крови. В дозе 30 мг/кг в строме тонкого кишечника определяется умеренная лимфоидная инфильтрация, в капиллярах эритростаз. Обнаружено повышенное количество бокаловидных клеток. В дозе 9 мг/кг границы между клетками поверхностного эпителия четкие, ядра, в редких случаях различны по величине, расположены ближе к апикальному отделу клеток. Просветы сосудов расширены, отмечаются эритростазы. Просветы крипт свободны от детрита, глубина их значительно варьирует.

Со стороны толстого кишечника при введении субстанции в дозах 100; 50 и 30 мг/кг местами наблюдается диффузное уплощение покровного эпителия, в строме обнаружены в большом количестве клеточные элементы. Среди них преобладают лимфоциты и макрофаги. Межэпителиально лимфоцитов больше. Имеют место и сегментоядерные лейкоциты. Лимфоплазмоцитарная инфильтрация преобладает в собственной пластинке слизистой. В дозе 9 мг/кг отмечается неравномерность глубины крипт, в их просветах детрит. Местами в строме слизистой и подслизистой оболочек определяется повышенная клеточность, встречаются лимфоидные фолликулы со светлыми центрами.

В корковом веществе почек на фоне применения гликозил-НММ-1 в дозах 100 и 50 мг/кг просматривается полнокровие паренхимы, просветы дистальных отделов канальцев зияют. В дозе 300 мг/кг местами наблюдается выпадение единичных гломерул (рис. 7.10.). Определяется отечность

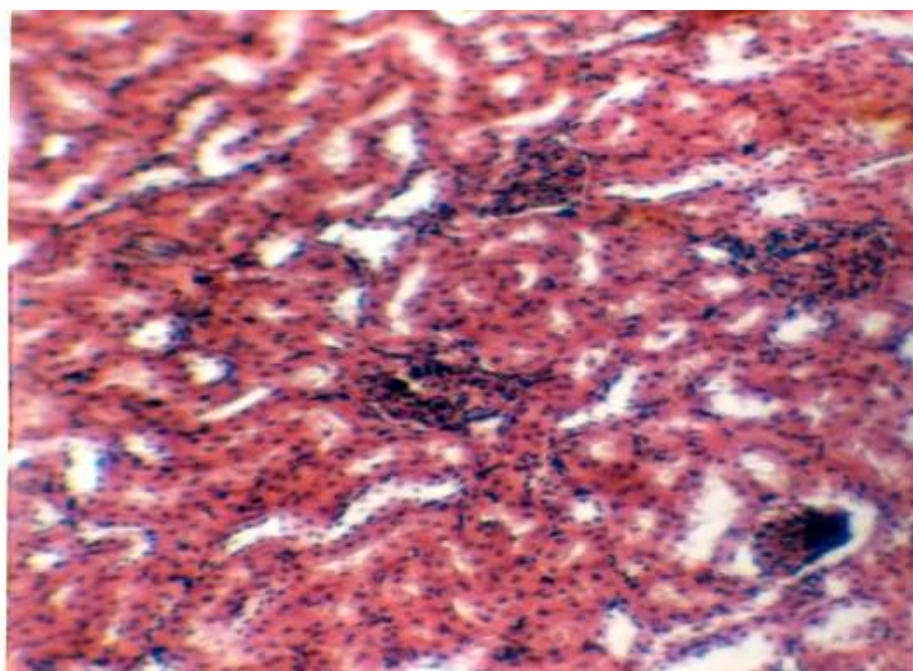


Рис. 7.10. Почки при асцитном варианте АОЭ. гликозил-НММ-1. 30 мг/кг. Мономорфные почечные клубочки, капиллярные петли ажурного рисунка. Просветы канальцев обычной ширины. В корковом веществе - хорошо выраженные мозговые лучи. Окраска гематоксилином и эозином. х 400.

соединительнотканной стромы плазматическое пропитывание стенок артерий. В дозе 9 мг/кг структура коркового и мозгового вещества в норме. В надпочечниках в дозах 100 и 50 мг/кг определяются очаги делипоидизации клубочковой и пучковой зон. Доза 30 мг/кг приводит к появлению вакуолей в клетках клубочковой и наружных отделах пучковой зоны. Клетки внутренних и средних отделов пучковой и сетчатой зоны без вакуолей. Сосуды коры и мозгового вещества полнокровны, в пространствах – единичные лейкоциты. В дозе 9 мг/кг структура органа в норме.

При введении гликозил-НММ-1 в дозе 100 мг/кг выявлены густо расположенные мелкие одноядерные клетки, имеющие резко базофильную окраску, с округлыми ядрами, незначительным количеством цитоплазмы в корковом слое тимуса. В дозе 50 мг/кг наблюдается некоторое сужение коркового вещества, подкапсулярно – появление большого количества светлых лимфоидных клеток. Капсула и строма разрыхлены. Сосуды полнокровны, периваскулярно – плазмоцитарная и макрофагальная реакция в мозговом веществе. В дозе 30 мг/кг отмечается гиперплазия мозгового вещества, увеличение содержания стромальных элементов. Количество малых лимфоцитов снижено, активизированы эпителиальные стромальные элементы, которые сливаются в тяжи. Строма отечна, сосуды полнокровны. В дозе 9 мг/кг железа отличий от нормы не имеет (рис. 7.11).

Выявлена также гиперплазия фолликулов лимфатического узла при введении гликозил-НММ-1 в дозе 100 и 50 мг/кг. Обнаружено расширение в них реактивных центров, которые занимают по площади большую часть фолликула. В клеточном составе реактивных центров замечены малодифференцированные клетки лимфоцитарного и плазматического ряда. В перифолликулярных зонах и в мозговых тяжах клеточный состав представлен плазматическими клетками и малыми лимфоцитами. Краевые и центральные синусы плотно заполнены дифференцированными клетками лимфоидной ткани, в связи с чем их границы выделяются нечетко.

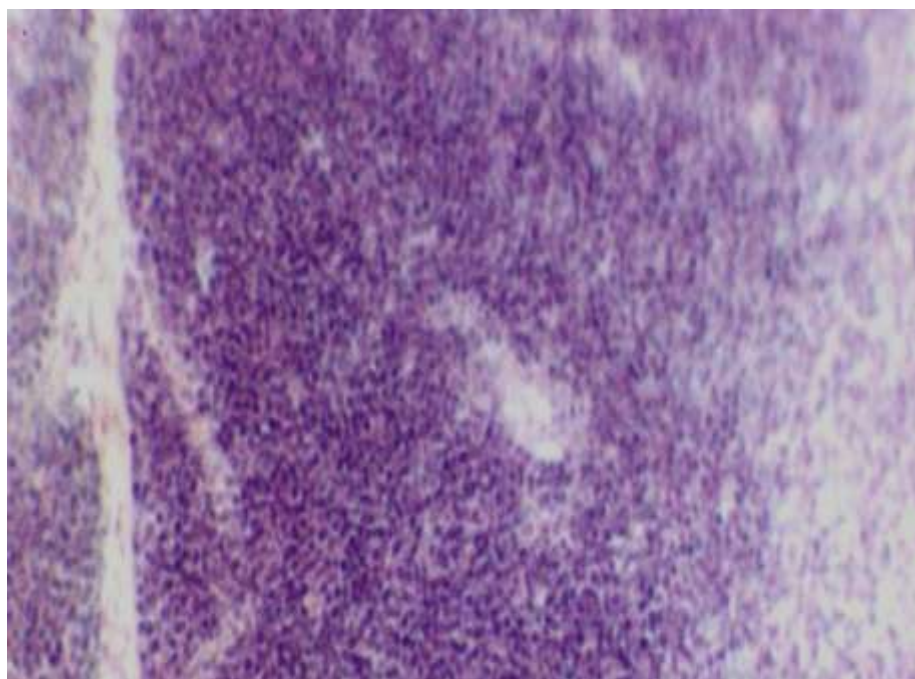


Рис. 7.11. Тимус при асцитном варианте АОЭ. Гликозил-НММ-1. Доза 9 мг/кг. Железа полнокровна, определяется делимфотизация и инверсия коркового и мозгового вещества, стирание границы между ними. Окраска гематоксилин-эозином. x200.

В мякотных шнурах - большое количество макрофагов, в цитоплазме которых обнаруживаются фагоцитированные частицы. В дозе 30 мг/кг, в единичных случаях, выявлены реактивные центры. В дозе 9 мг/кг в клеточном составе лимфоузлов отличий от нормы не отмечено.

В белой пульпе селезенки, при введении гликозил-НММ-1 в дозах 100 и 50 мг/кг обнаруживаются фолликулы разных размеров, в которых изредка наблюдаются светлые центры. В Т-зависимых зонах фолликулов отмечено значительное количество малых лимфоцитов. Центральные артерии узелков полнокровны. В дозе 30 мг/кг отмечено увеличение содержания малых лимфоцитов (рис. 7.12), повышенное содержание фолликулов с реактивными брюшной полости на 12-й день. При микроскопии выявлены клетки, лежащие отдельно в различных положениях. На 12-е сутки после трансплантации в



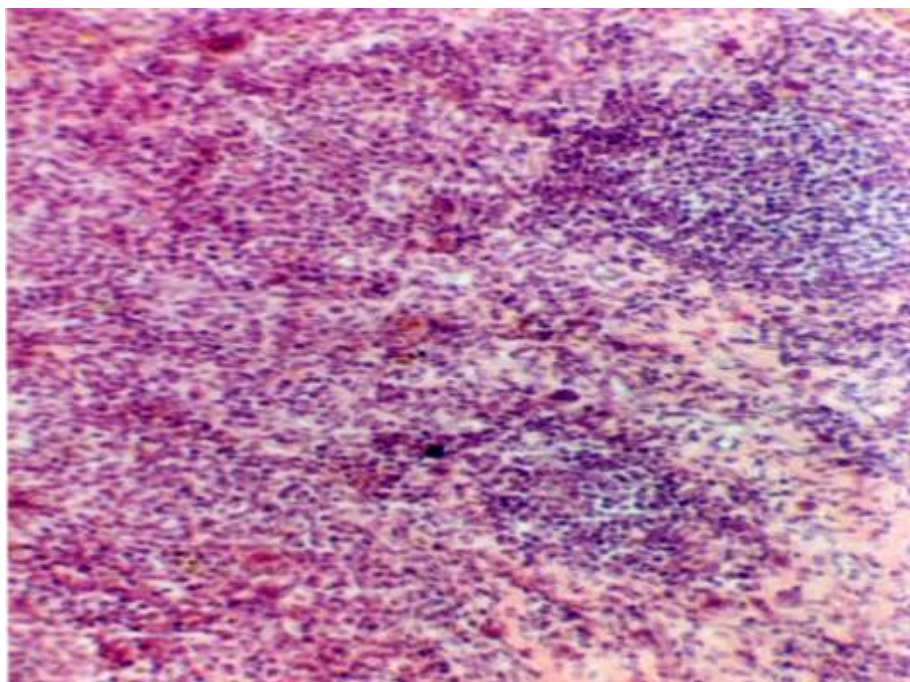


Рис. 7.12. Селезенка при асцитном варианте АОЭ. Гликозил-НММ-1.30 мг/кг. Лимфоидные фолликулы разноразмерны, в узелках определяется Т-зависимая зона. Центральные артерии полнокровны. Окраска гематоксилин-эозином. x200.

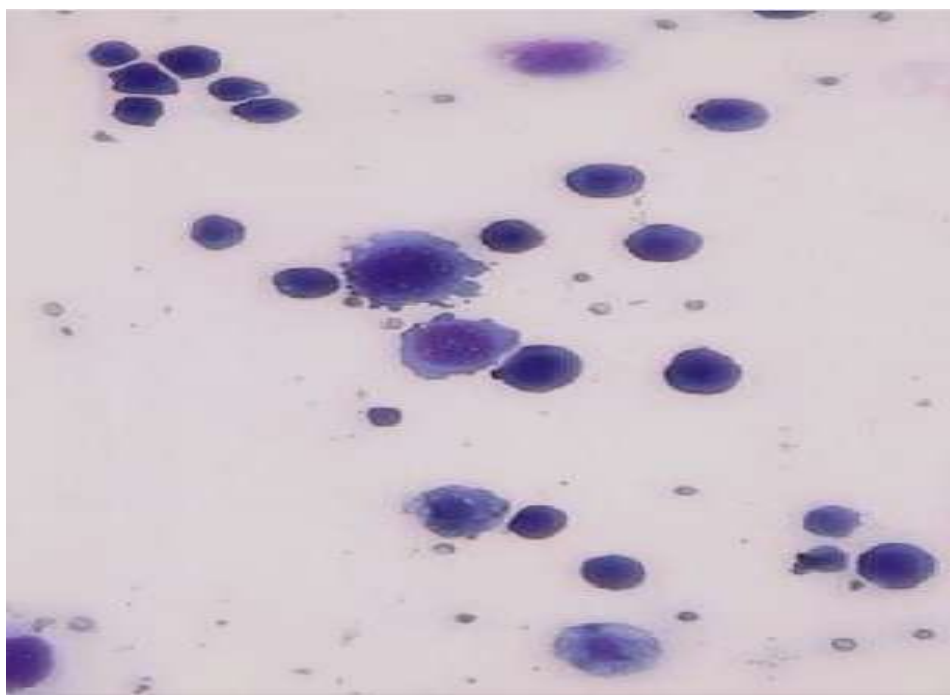


Рис. 7.13. Асцитный вариант АОЭ. Гликозил-НММ-1. Контроль. 12-е сутки после трансплантации. X400.

препаратах контрольной группы наблюдались признаки апоптоза в виде «протуберанцев» цитоплазмы (рис. 7.13). Опухолевые клетки окрашивались интенсивно. В дозах 100 и 50 мг/кг в III и VI опытных группах после введения субстанции количественный состав клеток уменьшился. При микроскопии наблюдаются единичные мезотелиальные клетки с признаками апоптоза. Опухолевые клетки находились в состоянии лизиса с образованием клеток - «теней» (рис. 7.14). После введения гликозил-НММ-1 в дозах 30 и 9 ткани выявляются перитонеальные макрофаги. В слизистой ЖКТ наблюдаются атрофические, дистрофические изменения и воспалительная инфильтрация стромы и подслизистого слоя.

При цитологическом анализе после введения циклофосфамида в дозе 20 мг/кг в VI опытной группе клеточный состав количественно уменьшился в

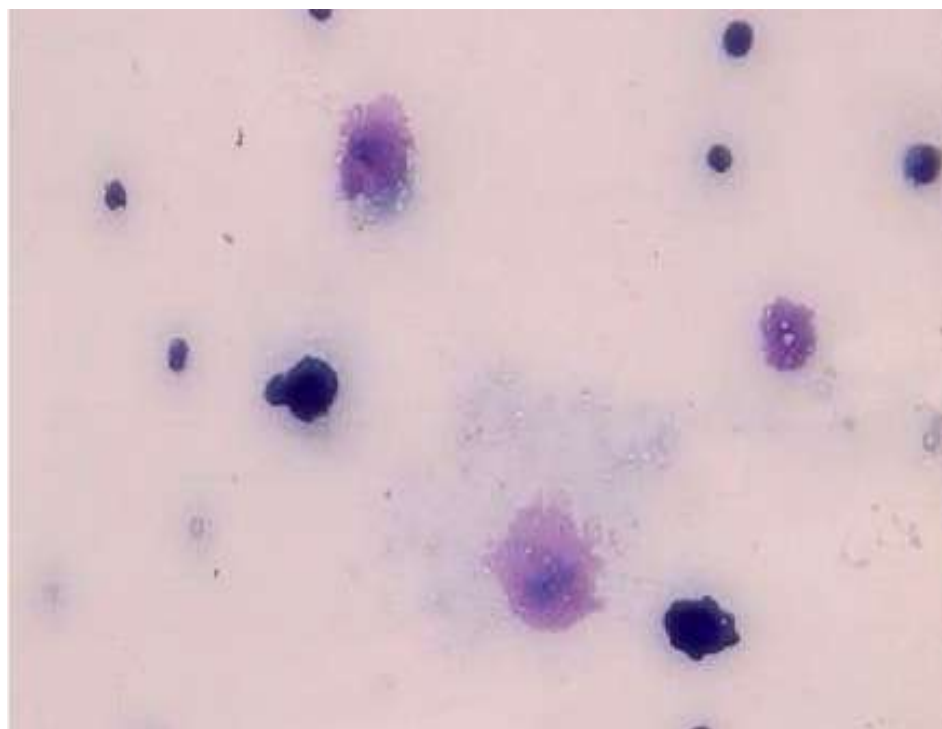


Рис. 7.14. Асцитный вариант АОЭ. Лечение с гликозил-НММ-1. 100 мг/кг. 12-е сутки после трансплантации. X400.

препарате. Обнаружены мезотелиальные клетки с начальными признаками апоптоза. Опухолевые клетки находились в состоянии лизиса с образованием клеток - «теней». После введения циклофосфида в дозах 15; 10 и 5 мг/кг у V-VI опытных группах уменьшился количественный состав клеток в препаратах (рис. 7.15-7.16). Просматриваются изредка мезотелиальные клетки начальными признаками апоптоза и в VIII-IX опытных группах состав клеток в препаратах уменьшился незначительно. Просматриваются мезотелиальные клетки.

Резюмируя вышеизложенное, можно отметить, что: патоморфологическое изучение внутренних органов у опухоленосителей асцитного варианта АОЭ при применении гликозил-НММ-1 в структуре органов отмечается ПО эффект, который проявляется полиморфизмом клеток, наличием многоядерных клеток и очагов некроза. В клетках опухоли происходят выраженные дегенеративно-дистрофические изменения, приводящие к гибели и лизису. На месте гибели

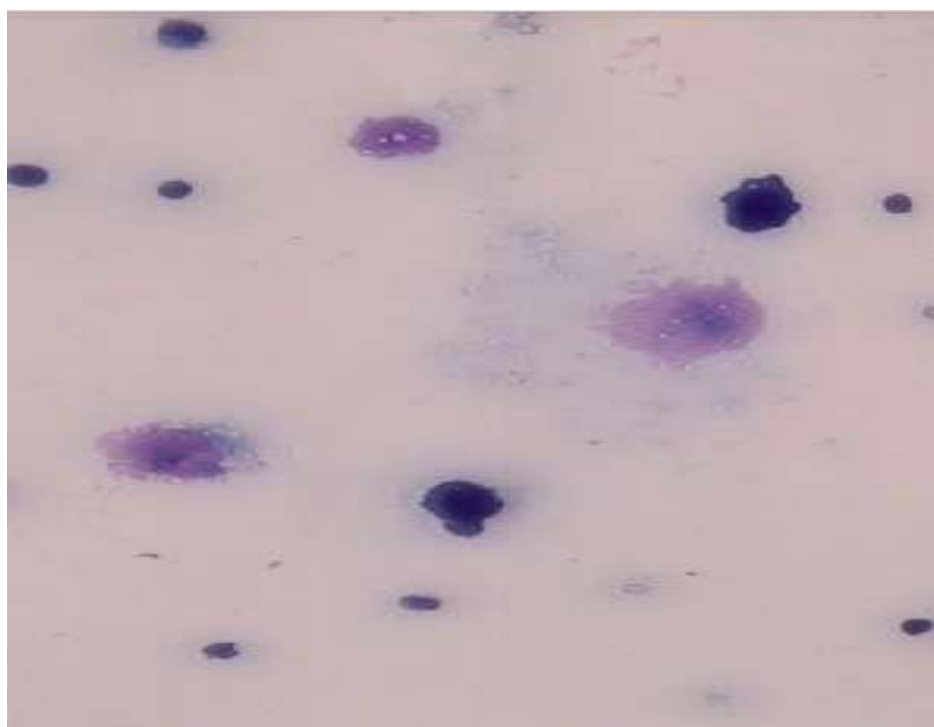


Рис. 7.15. Асцитный вариант АОЭ. Лечение с гликозил-НММ-1. 30 мг/кг. 12-е сутки после трансплантации. Окраска гематоксилин-эозином. x400.



опухолевых клеток, вокруг зоны некроза происходит разрастание соединительной ткани, расширение и повышение проницаемости кровеносных сосудов.

При цитологическом анализе из материала полученного у интактных-опухоленосителей выявлены клетки, лежащие отдельно в различных положениях. На 12-е сутки после трансплантации в препаратах контрольной

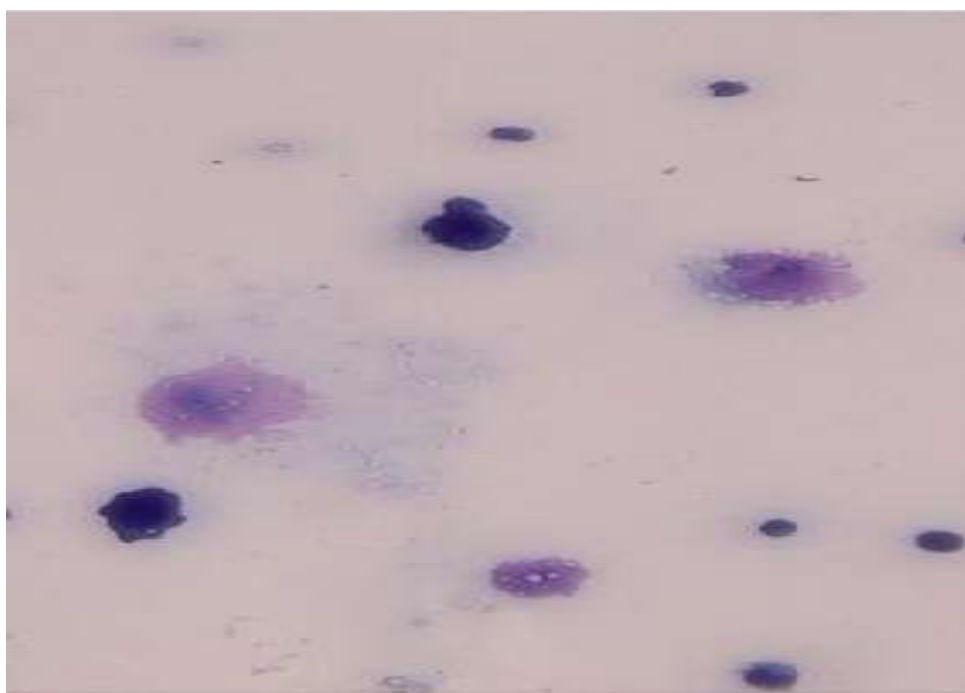


Рис. 7.16. Асцитный вариант АОЭ. Лечение с гликозил-НММ-1. 9 мг/кг. 12-е сутки после трансплантации. Окраска гематоксилин-эозином. X400.

группы наблюдались признаки апоптоза в виде «протуберанцев» цитоплазмы. Опухолевые клетки окрашивались интенсивно.

В дозе 100 и 50 мг/кг на фоне субстанции клеточный состав количественно уменьшился. Обнаружены единичные мезотелиальные клетки с начальными признаками апоптоза (цитоплазма в период выпячивания), в состоянии лизиса с образованием клеток - «теней». После введения гликозил-НММ-1 в дозах 30 и 9 мг/кг количественный состав клеток в препаратах уменьшился. Просматривались изредка мезотелиальные клетки с характерными

образованиями начальных признаков апоптоза клеток. Цитоплазма клеток находилась в состоянии выпячивания. Опухолевые клетки находились в периоде лизиса с формированием клеток - «теней».

Циклофосфамид в дозе 20 мг/кг в микроструктуре печени вызывает расширение сосудов, очаги гемопоэза в стволовых клетках. В терапевтических дозах в почках происходит набухание стенок артериол, дегенерация эпителия канальцев. В рыхлой соединительной ткани выявляются перитонеальные макрофаги. Наблюдаются атрофические, дистрофические изменения в слизистой желудка, тонкого, толстого кишечника, воспалительная инфильтрация стромы и подслизистого слоя, т.е. выявляются некоторые негативные стороны действия циклофосфамида на отдельные органы.

Цитологический анализ показал, что после введения циклофосфамида в дозе 20 мг/кг клеточный состав количественно уменьшился в препарате. Обнаружены мезотелиальные клетки с начальными признаками апоптоза. Опухолевые клетки находились в состоянии лизиса с образованием клеток - «теней». Введение циклофосфамида в дозах 15; 10 и 5 мг/кг показало, что состав клеток в препаратах уменьшился незначительно. Выявляются мезотелиальные клетки.

## **7.2. Способ лечения подкожного варианта АОЭ с субстанцией гликозил-НММ-1 у опухоленосителей**

Способ лечения подкожного варианта АОЭ с применением гликозил-НММ-1 нами проведено согласно «Методическим рекомендациям по первичному отбору противоопухолевых препаратов» (М., 1980) в сравнении с циклофосфамидом.

Опыты проводились на 190 мышах-опухоленосителях массой 20-25 г. Перевивка опухоли производилась в область бедра. Каждая мышь получала по 0,5 мл опухолевой взвеси. Животные были разделены на 9 групп: I-II –

контрольные, а III-IX - опытные. III-V группы получали в/б гликозил-НММ-1 в дозах 100 мг/кг 1 раз, 50 мг/кг 2 раза, 30 мг/кг 3 раза и 9 мг/кг в течение 10 дней.. VII-IX группам вводился циклофосфамид по 20 мг/кг 1 раз, 15 мг/кг 2 раза, 10 мг/кг 3 раза и 5 мг/кг в течение 10 дней. Контрольные мыши получали изотонический раствор хлорида натрия (0,9 %).

В ходе опыта у опухоленосителей определялась масса тела, измерялись масса и размеры опухоли в динамике. Анализ крови проводился на 7-й день после 10-и дневного курса лечения. Гибель нелеченных мышей наступала на 13-й день.

Наблюдалось нестойкое угнетение гемопоэза в МПД (до 5 дней), после чего наступала быстрая регенерация. Миелограмма нормализовалась через две

Вскрытие животных осуществлялось через 3 месяца после лечения. Наблюдение проводилось в течение трех месяцев и до гибели опухоленосителей в контроле.

Критериями эффективности способа лечения являлись: показатели массы опухоленосителей, размер и объем опухоли, УПЖ и изменения анализа крови (рис. 7.17-7.20).

Результативность способа лечения определялась уменьшением массы опухоли в динамике, на 7-й, 14-й и 21-е дни после лечения. У животных при введении субстанции в исследуемых дозах размеры опухоли у животных-опухоленосителей на 7-й день после лечения почти полностью уменьшились на (2 x 1 x 1; 2 x 2 x 2; 1 x 1 x 1 и 1 x 1 x 0,5 против 15 x 15 x 12 в контроле при  $P \leq 0,05$ ), соответственно группам, масса опухоли снизилась полностью ( $34,78 \pm 20,86$ ;  $37,57 \pm 18,61$ ;  $30,78 \pm 20,67$  и  $30,70 \pm 20,60$  против  $68,89 \pm 198,79$  в контроле при  $P \leq 0,05$ ) и ТРО, в % составило (96,88 %; 97,5; 97 и 97 %) и в среднем равняется 97 % (см. рис. 7.17). СПЖ увеличивается (61,39 дней; 80,19; 81,14 и 71,10 дней) против 35 дней в контроле при  $P \leq 0,05$ ), УПЖ составляет (174,29 дней; 176; 177 и 173 дней) и равняется 175 дней (см. рис. 7.18). При введении субстанции в испытуемых дозах размеры опухоли (мм) у

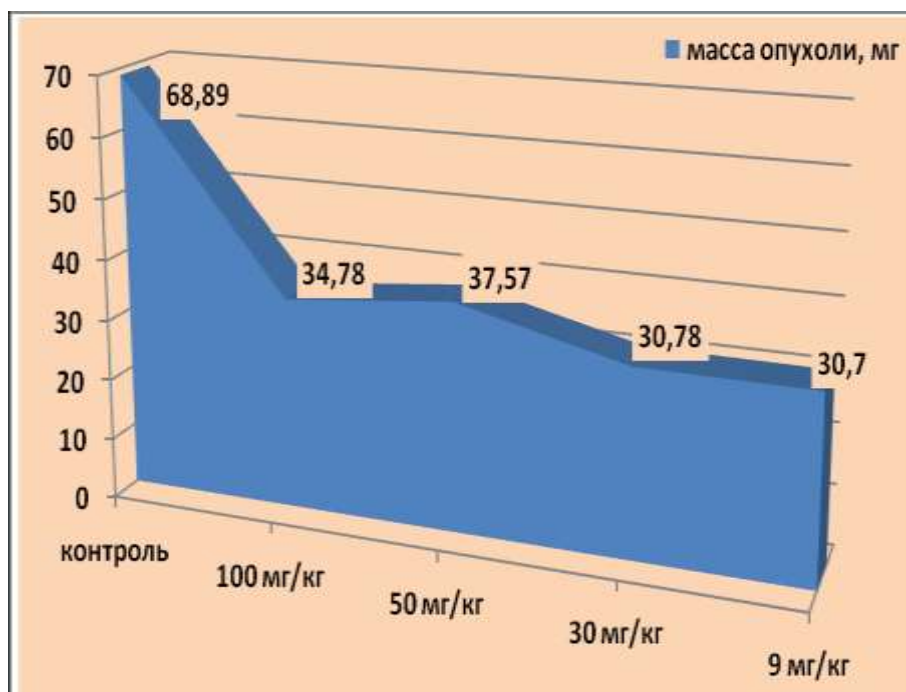


Рис. 7.17. Масса опухоли подкожного варианта АОЭ у линейных мышей на 7-й день опыта при введении субстанции гликозил-НММ-1 ( $P \leq 0,05$ ).

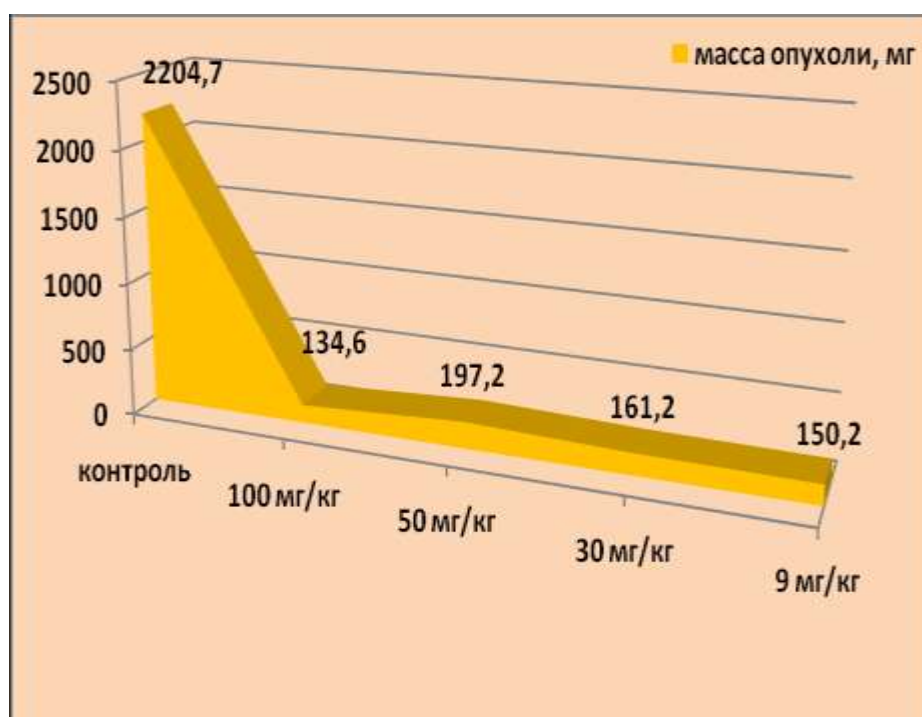


Рис. 7.18. Масса опухоли подкожного варианта АОЭ у линейных мышей на 14-й день опыта при введении субстанции гликозил-НММ-1 ( $P \leq 0,05$ ).

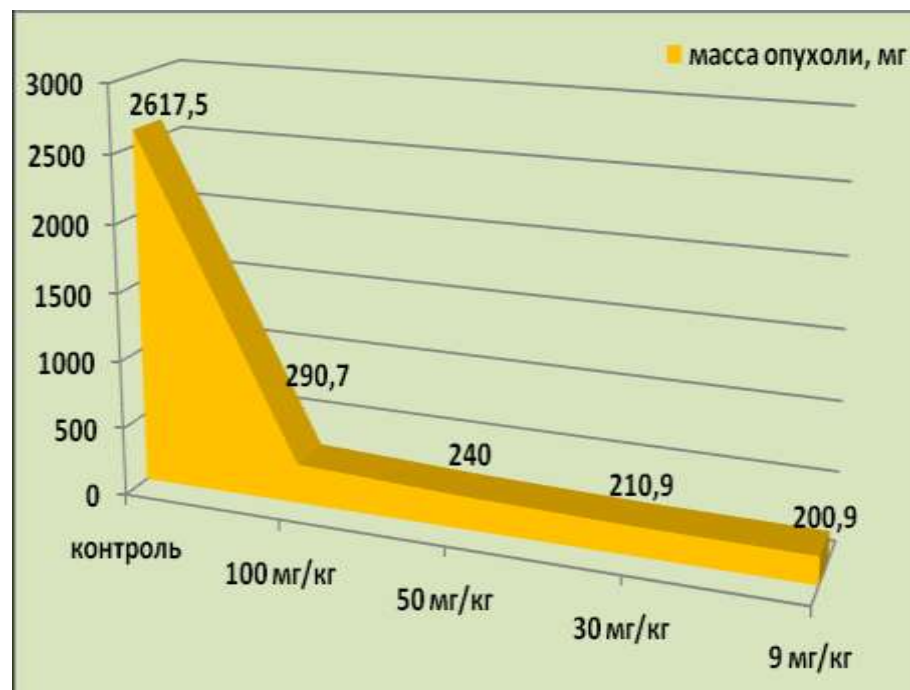


Рис. 7.19. Масса опухоли подкожного варианта АОЭ у линейных мышей на 21-й день опыта при введении субстанции гликозил-НММ-1 ( $P \leq 0,05$ ).



Рис. 7.20. Удлинение продолжительности жизни животных при подкожном варианте АОЭ после введения гликозил-НММ-1 ( $P \leq 0,05$ ).

против  $2204,7 \pm 369,5$  в контроле при  $P \leq 0,05$ ) и ТРО, составило (96,88 %; 97,1; 96,7 и 96,8%) и в среднем равняется 97 %.

Введение гликозил-НММ-1 в исследуемых дозах приводит к тому, что размеры опухоли у животных-опухоленосителей на 21-й день после лечения почти полностью уменьшались на (16 x 13 x 13; 12 x 9 x 7; 7 x 5 x 4 и 7 x 4 x 3 против 24 x 20 x 23 против в контроле при  $P \leq 0,05$ ), соответственно группам, масса опухоли снижалась полностью ( $290,7 \pm 187,9$ ;  $240 \pm 161,6$ ;  $210,9 \pm 121,7$  и  $200,9 \pm 101,6$ ) против  $2617,5 \pm 430,5$  в контроле при  $P \leq 0,05$ ) и ТРО, в % составило (96,87 %; 97,4; 95,3 и 99,3 %) и в среднем равняется 97 %.

При анализе крови наблюдалось снижение числа лейкоцитов почти до нормы ( $8,35 \pm 0,34$ ;  $8,9 \pm 0,84$ ;  $9,25 \pm 1,12$  и  $10,25 \pm 1,12$  против  $22,7 \pm 2,1$  в контроле при  $P \leq 0,05$ ), угнетения лейкопоза не выявлено (рис. 7.20).

После введения субстанции в исследуемых дозах анализ периферической крови показал, что не уменьшается относительное и абсолютное количество лимфоцитов.

После введения циклофосфида в испытуемых дозах размеры опухоли у животных-опухоленосителей в динамике на 7-й день уменьшались на (8 x 8 x 5; 9 x 5 x 3; 8 x 5 x 4 и 7 x 7 x 6 против 15 x 15 x 12 в контроле при  $P \leq 0,05$ ), соответственно группам, масса опухоли ( $37,08 \pm 20,86$ ;  $42,57 \pm 18,6$ ;  $37,19 \pm 21,8$  и  $35,39 \pm 20,97$  против  $80,43 \pm 198,79$  в контроле при  $P \leq 0,05$ ) и ТРО, в % составило (47 %; 50; 47 и 44 %), в среднем равно 47 % (рис. 7.21).

СПЖ составляет (22,39 дней ; 19,19; 19,0 и 7,14 дней против 35 дней в контроле при  $P \leq 0,05$ ), УПЖ равно (47 дней; 40; 40 и 27 дней) (рис. 7.22). После введения циклофосфида в испытуемых дозах размеры опухоли у животных-опухоленосителей в динамике на 21-й день уменьшались на (16 x 13 x 13; 15 x 9 x 8; 14 x 8 x 9 и 17 x 13 x 11 ) против 24 x 20 x 13 в контроле при  $P \leq 0,05$ ), соответственно группам, масса опухоли ( $606,69 \pm 187,9$ ;  $607,1 \pm 161,6$ ;  $608 \pm 121,7$  и  $304,9 \pm 129,8$ ) против  $2247 \pm 369,5$  в контроле при  $P \leq 0,05$ ) и ТРО, в % составило (27 %; 10; 10 и 5 %), в среднем равно 14 % (рис. 7.24).

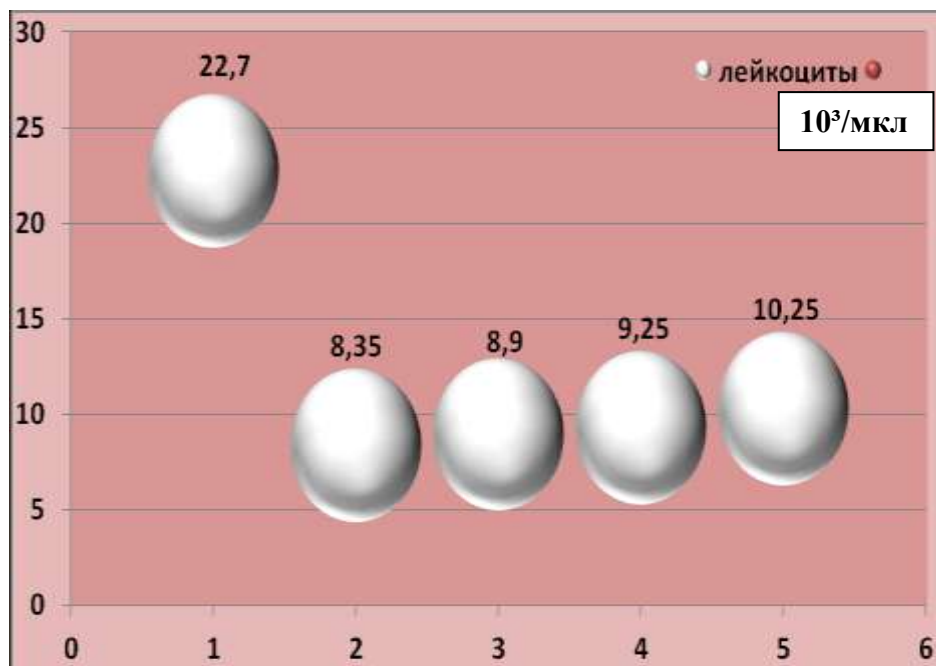


Рис. 7.20. Показатели содержания лейкоцитов в периферической крови у мышей при подкожном варианте АОЭ при введении гликозил-НММ-1 ( $P \leq 0,05$ ).

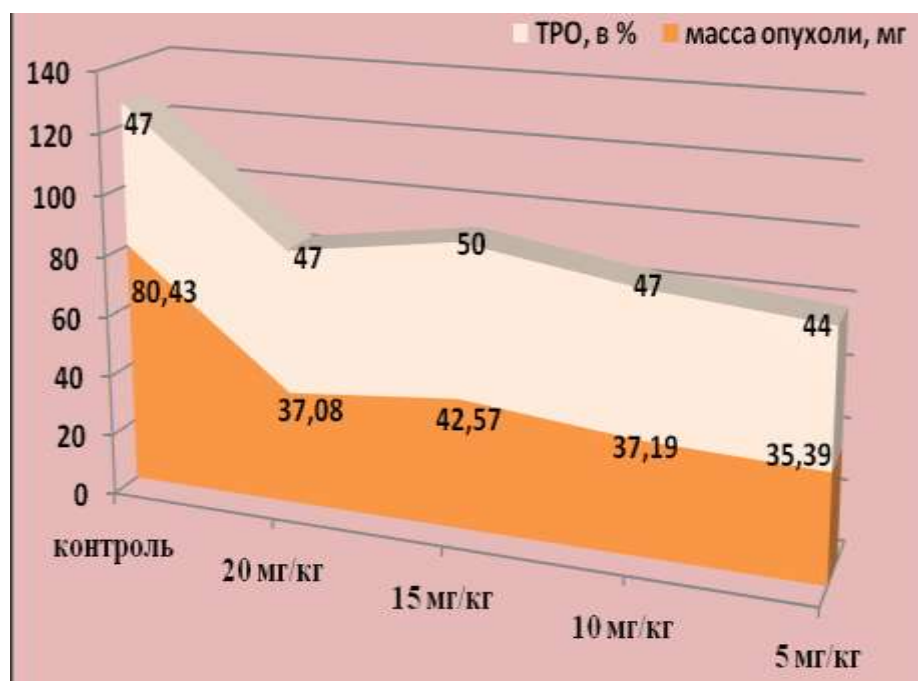


Рис. 7.21. Масса опухоли и ТРО подкожного варианта АОЭ у линейных мышей на 7-й день опыта при введении циклофосамида ( $P \leq 0,05$ ).

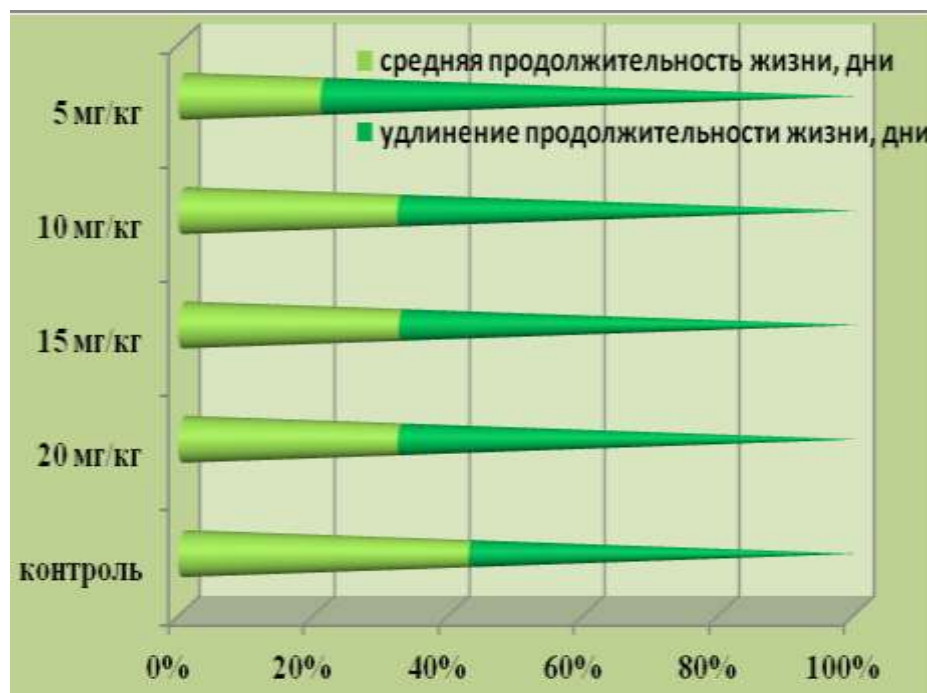


Рис. 7.22. Удлинение продолжительности жизни животных при подкожном варианте АОЭ после введения циклофосфамида ( $P \leq 0,05$ ).

Со стороны анализа крови отмечалось выраженное снижение числа лейкоцитов ( $4,35 \pm 0,34$ ;  $3,9 \pm 0,84$ ;  $3,8 \pm 0,34$  и  $4,25 \pm 1,12$ ) против  $22,7 \pm 2,1$  в контроле при  $P \leq 0,05$ ) и угнетение лейкопоза за счет относительного и абсолютного количества ( $35,2 \pm 2,5$ ;  $33,2 \pm 2,78$ ;  $34,31 \pm 3,2$  и  $30,4 \pm 1,47$ ) и ( $3765,0 \pm 194$ ;  $3635,5 \pm 452,1$ ;  $3528 \pm 238$  и  $3309,2 \pm 72$ ) против  $73,0 \pm 6,2$  и  $7302,0 \pm 934,7$  в контроле при  $P \leq 0,05$ ) лимфоцитов крови. После введения циклофосфамида в исследуемых дозах анализ крови показал, что угнетается лейкопоз, уменьшается относительное и абсолютное количество лимфоцитов (рис. 7.25).

Для патоморфологического изучения способа лечения с гликозил-НММ-1 подкожного варианта АОЭ у животных-опухоленосителей забирались кожа, с подлежащей мышечной тканью, почки, надпочечники, тимус, селезенка, лимфатические узлы, тонкий кишечник, печень, сердце и легкие. Надо отметить, что морфологические структуры внутренних органов контрольных



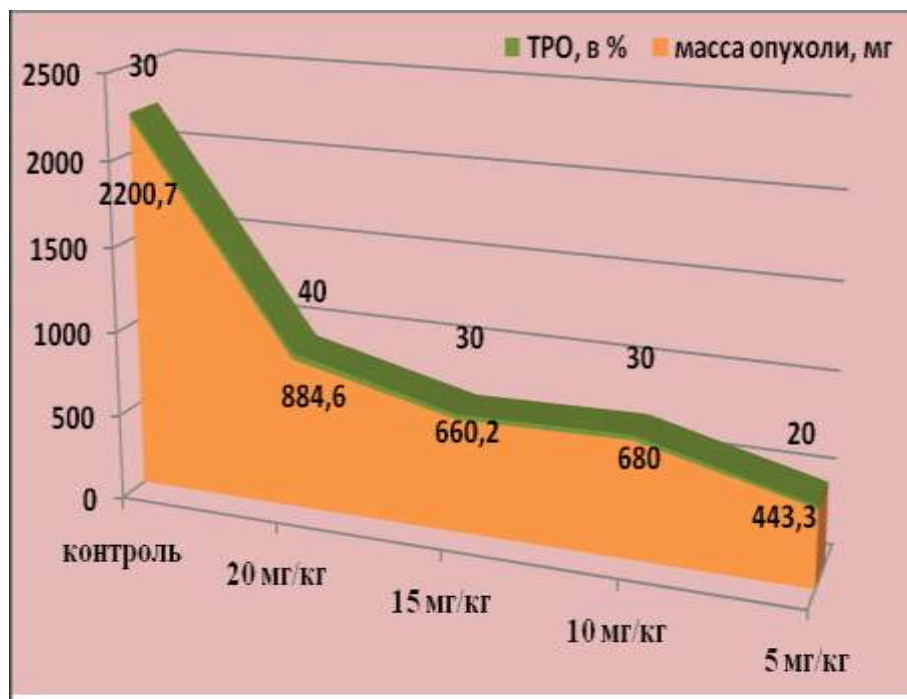


Рис. 7.23. Масса опухоли и ТРО подкожного варианта АОЭ у линейных мышей на 14-й день опыта после введения циклофосфида ( $P \leq 0,05$ ).

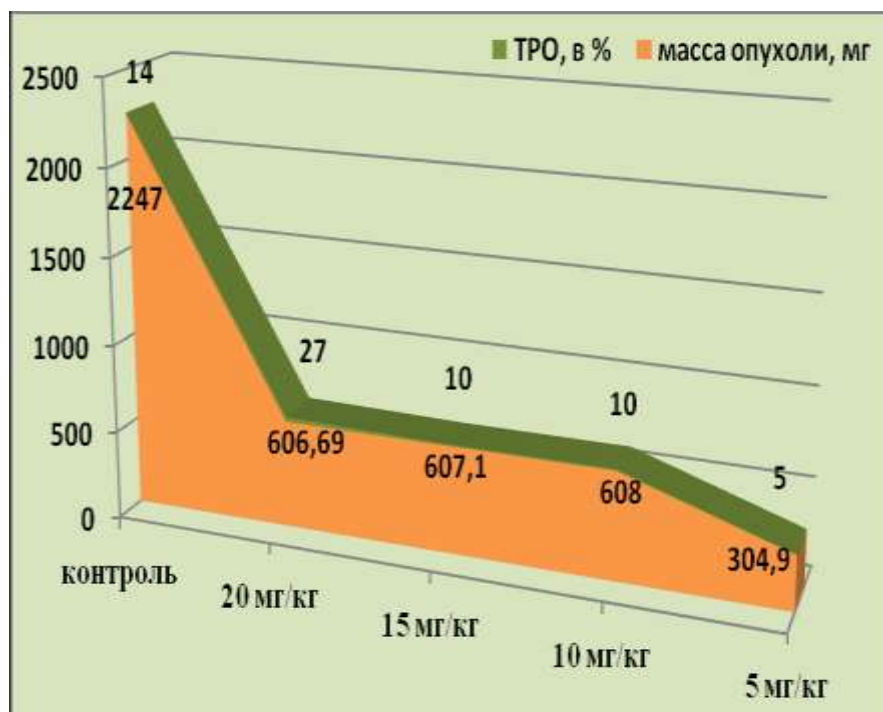


Рис. 7.24. Масса опухоли и ТРО подкожного варианта АОЭ у линейных мышей на 21-й день опыта после введения циклофосфида ( $P \leq 0,05$ ).

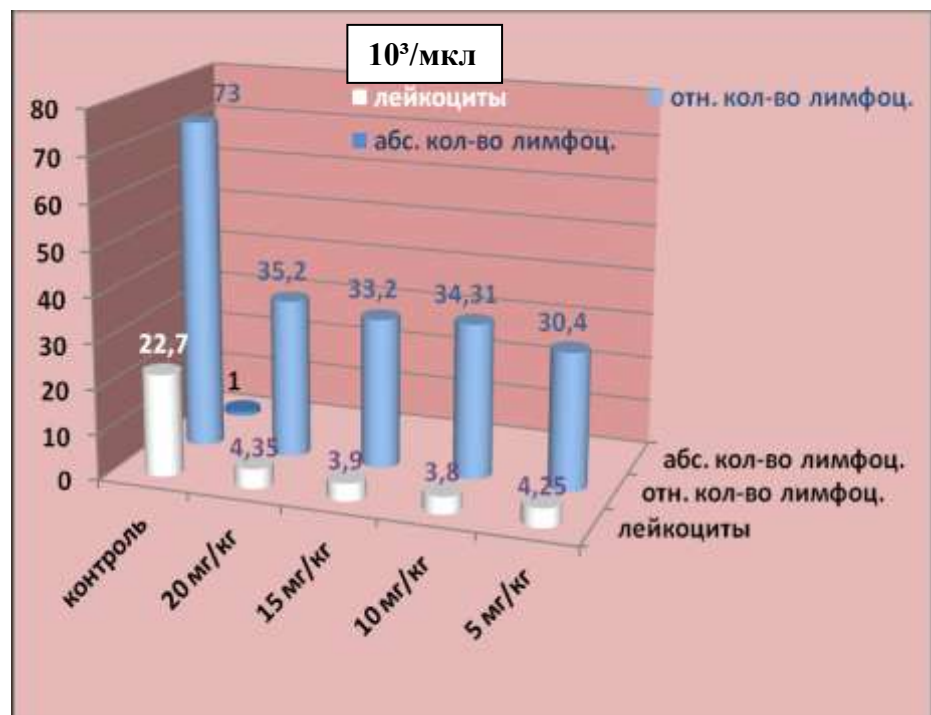


Рис. 7.25. Показатели содержания лейкоцитов, относительного и абсолютного количества лимфоцитов в крови у мышей при подкожном варианте АОЭ при введении циклофосфамида (при  $P \leq 0,05$ ).

животных-опухоленосителей при способе лечения подкожного варианта АОЭ субстанцией аналогичны описанию гл. 5.1.

Центральные вены печени под влиянием субстанции в дозах 100 и 50 мг/кг расширены, просветы их заполнены форменными элементами крови. Прилежащие к ним синусоиды расширены. Соединительнотканнные прослойки в области триад содержат умеренное количество волокон и клеточных элементов. Местами наблюдается укрупнение и увеличение числа купферовских клеток. В дозе 30 мг/кг в отдельных полях зрения печени отмечена дисконкомплексация гепатоцитов в пределах печеночных балок. В этих зонах встречаются единичные лимфоциты, активизированные купферовские клетки, лежащие в просветах синусоид. Центральные вены расширены, в просветах - форменные элементы крови. Синусоиды расширены, содержат

эритроциты. Сосуды стромы полнокровны, отечны, отмечены признаки периваскулярного отека. Наблюдается огрубение волокнистого каркаса триад. В дозе 9 мг/кг паренхима представлена крупными клетками, местами обнаружены двуядерные клетки. Просветы вен расширены, содержат эритроциты. Строма органа инфильтрирована лимфоидными элементами. Наблюдается активизация купферовских клеток.

Экзокринная часть поджелудочной железы после введения гликозил-НММ-1 в дозах 100 и 50 мг/кг представлена ацинусами, из конусовидных клеток. В апикальной части клеток местами определяется зернистость. В просвете ацинусов имеются мелкие centroacinarные клетки. Выявляются протоки железы, в них содержатся вставочные и активированные макрофаги, единичные лимфоидные клетки. В дозе 30 мг/кг ацинусы экзокринной части средних размеров, в клетках выражена полярность цитоплазмы. Апикальные отделы клеток с выраженной зернистостью, базальные отделы гиперхромны. В дозе 9 мг/кг видимых отличий не выявлено.

На фоне лечения с субстанцией в дозах: 100 и 50 мг/кг в подслизистой оболочке желудка местами просматриваются единичные лейкоциты, лимфоидные клетки, макрофаги. В просветах крупных кровеносных сосудов определяются единичные гранулярные лейкоциты.

В дозе 30 мг/кг просветы желез расширены, в них обнаружена слизь. Эпителиальная выстилка фундальных желез представлена всеми характерными типами клеток с некоторым преобладанием мукоцитов. В главных и париетальных клетках встречаются крупные вакуоли. В собственной пластинке слизистой оболочки имеются фибробласты, макрофаги, малодифференцированные клетки. Сосуды микроциркуляторного русла расширены. В прослойках соединительной ткани мышечной пластинки наблюдаются лимфоидные клетки, макрофаги. гликозил-НММ-1 в дозе 9 мг/кг в подслизистой оболочке встречается клеточная инфильтрация, полнокровные сосуды.

Поверхность слизистой оболочки тонкого кишечника при применении субстанции в дозах 100 и 50 мг/кг имеет вид пальцевидных выпячиваний в просвет кишки. Крипты состоят из столбчатых, бокаловидных, эндокринных, малодифференцированных клеток и клеток Панета. Видны лимфоидные фолликулы. В подслизистой оболочке просматриваются расширенные кровеносные капилляры, периваскулярные лимфоциты и плазмоциты. В дозе 30 мг/кг отмечается уплощение ворсин покровного эпителия. Собственная пластинка слизистой отечна. Отмечается диффузная лимфоплазмочитарная инфильтрация. Наблюдается пролиферация гистиоцитов и фибробластов в верхних отделах слизистой. В подслизистой оболочке выявлены расширенные капилляры, периваскулярные лимфоциты и плазмоциты. В дозе 9 мг/кг в строме отмечена лимфоидная инфильтрация, в капиллярах эритростаз.

На фоне применения гликозил-НММ-1 в дозах 100 и 50 мг/кг в подслизистой оболочке толстого кишечника наблюдается умеренная клеточная инфильтрация. В соединительнотканых прослойках мышечной оболочки - сосуды расширены, определяются единичные лейкоциты, периваскулярно - скопления лимфоидных клеток. В дозе 30 мг/кг местами границы между клетками нечеткие, ядра расположены ближе к апикальному отделу клеток. Замечена неравномерность глубины крипт, в их просветах детрит. Выявлено повышенное количество бокаловидных клеток. В строме слизистой и подслизистой оболочки отмечаются единичные скопления лимфоцитов и плазмоцитов, эритростаз в капиллярах. В дозе 9 мг/кг наблюдается повышенное количество бокаловидных клеток. В строме обнаружены расширенные капилляры, периваскулярно в небольшом количестве лимфоциты и макрофаги.

В корковом веществе почек при введении гликозил-НММ-1 в дозах 100 и 50 мг/кг встречаются клубочки с расширенным подкапсулярным пространством. Просветы канальцев сужены, заполнены плазмоподобным содержимым. Местами в просвете извитых канальцев, видны белковые скопления. Перисваскулярно и в межканальцевых пространствах наблюдаются

клеточные инфильтраты. Нефроциты дистрофически изменены. В дозах 30 и 9 мг/кг в отдельных канальцах встречается набухшая цитоплазма эпителиоцитов, просветы канальцев сужены, в них обнаружено пенистое ярко эозинофильное содержимое, просветы других канальцев расширены, имеют нечеткий внутренний контур.

При применении субстанции в дозах 100 и 50 мг/кг единичные клетки клубочковой зоны коры надпочечника, в отдельных случаях, имеют просветленную цитоплазму. Мозговой слой представлен крупными овальными клетками, с бледно-окрашивающейся цитоплазмой и крупным слабо базофильным ядром, содержащим эритроциты и единичные лимфоциты. В дозе 30 мг/кг цитоплазма клеток пучковой зоны вакуолизирована за счет содержания липидов. Клетки мозгового вещества крупные, овальной формы, объединенные в гроздья и тяжи. Сосуды коры и мозгового вещества полнокровны, в периваскулярных пространствах – единичные лейкоциты и лимфоциты. В дозе 9 мг/кг в клетках клубочковой и пучковой зон наблюдается значительное количество вакуолей.

При введении гликозил-НММ-1 в дозах 100 и 50 мг/кг наблюдается сужение коркового вещества вилочковой железы, подкапсулярно – увеличение светлых лимфоидных клеток. Сосуды полнокровны. В мозговом веществе увеличено число плазмоцитов и макрофагов.

В дозе 30 мг/кг происходит снижение малых лимфоцитов в корковом веществе, полнокровие сосудов, макрофагальная реакция (рис. 7.26). В дозе 9 мг/кг структура железы в норме.

При введении гликозил-НММ-1 в дозах 100, 50 и 30 мг/кг в селезенке отмечается повышенное содержание фолликулов с реактивными центрами. В маргинальной зоне и красной пульпе - активизация макрофагов. В большом количестве встречаются диффузно рассеянные мелкие лимфоциты, плазматические клетки. Синусы красной пульпы полнокровны. В дозе 9 мг/кг сосуды расширены, в просветах – форменные элементы крови. Белая пульпа

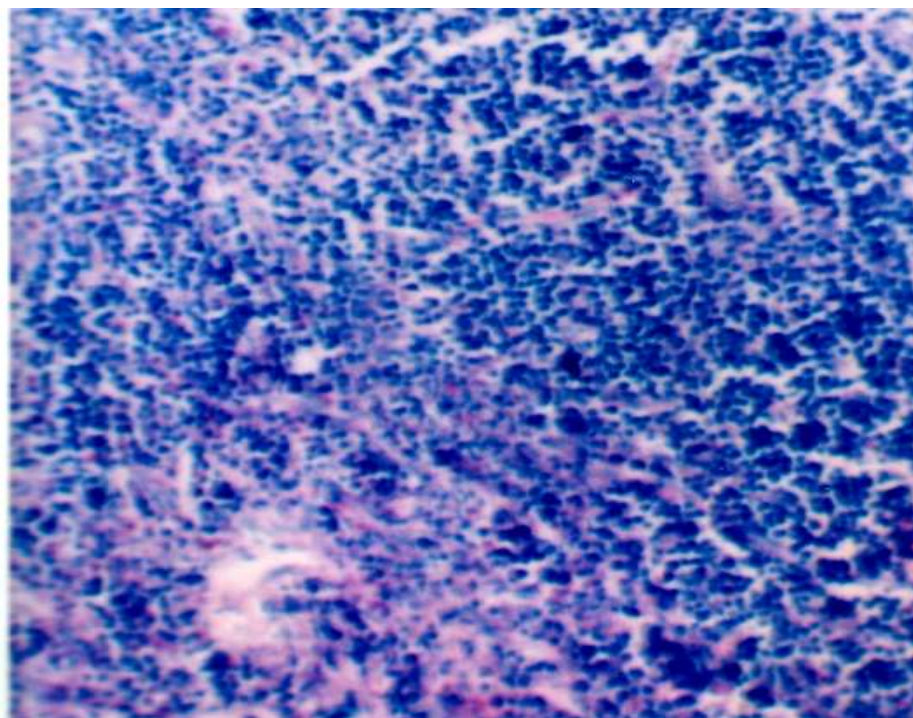


Рис. 7.26. Тимус. Подкожный вариант АОЭ. гликозил-НММ-1. 30 мг/кг. Кортикальный слой представлен густо расположенными тимоцитами. Уменьшение содержания малых лимфоцитов, полнокровные сосуды, макрофагальная реакция. Окраска гематоксилин-эозином. x200.

представлена фолликулами разных размеров. В периартериальных зонах фолликулов обнаружены малые лимфоциты.

В опытах с применением субстанции в дозах 100; 50 и 30 мг/кг сосуды полнокровны, в некоторых лимфатических фолликулах определяются реактивные центры. В клеточном составе реактивных центров выявляются малодифференцированные клетки лимфоцитарного и плазматического ряда. В перифолликулярных зонах и в мозговых тяжах клеточный состав представлен плазматическими клетками и малыми лимфоцитами. Краевые и центральные синусы плотно заполнены дифференцированными клетками лимфоидной ткани. В дозе 9 мг/кг сосуды полнокровны. Краевые и мозговые синусы местами расширены. В корковом веществе часть лимфоидных фолликулов с реактивными центрами. В паракортикальной зоне повышено содержание малых

и средних лимфоцитов, макрофагов. Мякотные тяжи мозгового вещества короткие и широкие, в просветах - ретикулярные клетки, эритроциты, лимфоциты, макрофаги и лаброциты.

Результаты морфологического изучения способа лечения циклофосфамидом в дозах: 20 мг/кг 1 раз; 15 мг/кг 2 раза; 10 мг/кг 3 раза и 5 мг/кг в течение 10 дней при п/к варианте АОЭ на опухоленосителях показали, что циклофосфамид угнетает митотическую активность опухолевой ткани, отмечаются дисконкомплексация клеток, их полиморфизм; возникают гигантские уродливые многоядерные клетки, патологические митозы, множественные очаги некроза. В клетках опухоли происходят дегенеративно-дистрофические изменения, гибель и лизис. На месте гибели клеток происходит разрастание соединительной ткани, проницаемость сосудов повышена. Препарат расширяет сосуды, наблюдаются очаги гемопоэза в стволовых гемопоэтических клетках печени; набухание стенок артериол, дегенерация эпителия канальцев почек. В соединительной ткани наблюдаются перитонеальные макрофаги. Выявлены атрофические, дистрофические изменения в слизистой желудка, тонкого и толстого кишечника, воспалительная инфильтрация стромы и подслизистого слоя.

Т.о., препарат сравнения обладает ПО действием на опухоленосители при п/к варианте АОЭ. Также в наших экспериментах показано, что при этом менее чувствительна к препарату сравнения перевивная АОЭ.

*Заключение.* Суммируя вышеизложенное VII главы можно констатировать, что на фоне способа лечения с применением гликозил-НММ-1 при асцитном варианте АОЭ происходит снижение количества лейкоцитов в крови до нормы, ТРО – 93 %, уменьшается масса тела у опухоленосителей и объем опухоли. Препарат сравнения снижает количество лейкоцитов в крови за счет относительного и абсолютного количества лимфоцитов, ТРО составляет 47 %. Миелограмма нормализуется через 2 недели. При подкожном варианте АОЭ гликозил-НММ-1 не уменьшает количество лейкоцитов в крови ниже

нормы, СПЖ увеличивается в 5 раз, УПЖ в 7 раз и ТРО равняется 97 %. Препарат сравнения вызывает выраженную лейкопению, угнетает лейкопоз, СПЖ и УПЖ в 7 раз меньше, по сравнению с гликозил-НММ-1. При патоморфологическом изучении органов у опухоленосителей на фоне гликозил-НММ-1 при АОЭ (диплоидный вариант) наблюдаются дегенеративно-дистрофические изменения, митозы, очаги некроза, разрастание соединительной ткани, повышение проницаемости сосудов и ПО эффект: полиморфизм клеток, появляются многоядерные клетки, происходит гибель, лизис опухолевых клеток. Препарат сравнения угнетает митотическую активность опухолевой ткани, отмечается дисконфлексация клеток, выявляются очаги гемопоэза в стволовых клетках печени. В почках происходит набухание стенок артериол, дегенерация эпителия канальцев. В соединительной ткани выявляются перитонеальные макрофаги; атрофические, дистрофические изменения в слизистой, инфильтрация стромы, подслизистого слоя ЖКТ, т.е. выявляются некоторые негативные стороны действия препарата сравнения на отдельные органы. Результаты цитологического анализа под действием гликозил-НММ-1 показали, что клеточный состав опухоли количественно уменьшился. Обнаруживаются мезотелиальные клетки с признаками апоптоза, в состоянии лизиса, с образованием клеток-«теней». А препарат сравнения незначительно уменьшает количество опухолевых клеток. Выявляются мезотелиальные клетки без признаков апоптоза. Т.о., на основании результатов исследований можно заключить, что изучаемая субстанция гликозил-НММ-1 по сравнению с циклофосфамидом проявляет высокую ПОА, обладает выраженным ПО действием, превосходящим по активности препарат сравнения.



## ВЫВОДЫ

1. Физико-химические свойства субстанции гликозил-НММ-1 соответствуют требованиям ГФ Х1 изд. для сухих лекарственных веществ. Субстанцию получают простым методом синтеза, хорошо растворима в воде.
2. ЛД<sub>50</sub> гликозил-НММ-1 при однократном в/б и в/в введениях животным соответственно равняется 1950 и 717 мг/кг, т.е. малотоксичен и по степени токсичности относится к IV классу. При морфологическом исследовании патологические изменения не обнаружены. ЛД<sub>50</sub> препарата сравнения - циклофосамида равняется 100 мг/кг;
3. В условиях хронического опыта гликозил-НММ-1 не вызывает потерю массы тела, повышения ректальной температуры, не изменяет функции ССС и органов дыхания. В дозе 65 мг/кг вызывает тенденцию к незначительной лейкопении, не угнетает лейкопоз, не изменяет количества общего белка, уровень липидов, β-липопротеидов сыворотки крови, не влияет на клеточные элементы костного мозга, функцию печени, почек и ЦНС; при микроскопии в желудке наблюдаются дегенеративно-дистрофические изменения; в почках серозное воспаление, дегенерация эпителия канальцев.
4. Специфическая ПОА гликозил-НММ-1 при асцитном варианте АОЭ: уменьшает массу тела у опухоленосителей, массу и объем опухоли, снижает лейкоциты крови до нормы, ПОА - 93 %; ПОА при подкожном варианте АОЭ: полностью уменьшает массу и объем опухоли, лейкоциты крови до нормы, СПЖ увеличивается в 5 раз, УПЖ – 7 раз (175 дней), ТРО составляет 97 %. Т.о., гликозил-НММ-1 соответствует критериям ПО действия в первичном скрининге по отбору ПО средств. Циклофосамид при АОЭ у опухоленосителей выражено снижает лейкоциты, лимфоциты в крови, нестойко угнетает гемопоэз, незначительно уменьшает массу тела, массу и объем опухоли, ТРО составляет 47 %.

5. Гликозил-НММ-1 не обладает местно-раздражающим, кожно-резорбтивным, аллергогенным, иммунодепрессивным, кумулятивным, канцерогенным, мутагенным, эмбриотоксическим и тератогенными действиями. Циклофосфамиду характерна высокая кумулирующая способность и иммунодепрессивное действие.
6. Изучением фармакокинетики гликозил-НММ-1 в кровотоке установлено, что после введения субстанции через 15 минут в плазме крови определяются следы. Гликозил-НММ-1 близок к производным НАМ по продолжительности циркуляции в крови, которая у циклофосфамида равна 6 часам.
7. Способ лечения с гликозил-НММ-1 асцитного и подкожного вариантов АОЭ у животных-опухоленосителей показал, что субстанция обладает выраженным ПО действием, превосходящим по активности препарат сравнения. Преимуществами гликозил-НММ-1 являются высокая ПОА при АОЭ (диплоидный вариант) - 93 и 97 %, УПЖ - 175 дней, не вызывает лейкопению, обладает избирательными свойствами и проникающей способностью через ГЭБ.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Субстанция гликозил-НММ-1 в будущем может оказаться эффективным средством для лечения онкологических заболеваний (лейкозы, лейкемии, АОЭ (диплоидный вариант) и др.). Гликозил-НММ-1 может рекомендоваться после экспертной оценки доклинических данных, к клиническим исследованиям в качестве ПО средства после рассмотрения ДЛО и МТ МЗ КР.
2. С целью лечения АОЭ (диплоидный вариант) гликозил-НММ-1 рекомендуется в дозах: 100 мг/кг 1 раз, 50 мг/кг 2 раза, 30 мг/кг 3 раза и 9 мг/кг ежедневно в течение 10 дней (Патент КР на изобретение № 1129), используется в учебном процессе и экспериментальных исследованиях по разработке ПО лекарственных средств.
3. Субстанция гликозил-НММ-1 может стать перспективным противоопухолевым лекарственным препаратом.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. А.с. № 772101 СССР. Способ получения N-алкил-(N-арил)-N'-( $\beta$ -D-гликозил) мочевины [Текст] / Ж. А. Джаманбаев, В. А. Афанасьев. – М.: Гос. ком. изобретений, 1978.
2. **Абдылдаев, А. А.** Проблемы радиационной медицины Кыргызстана в условиях глобального потепления [Текст]: моногр. / А. А. Абдылдаев. – Бишкек: Учкун, 2009. – 232 с.
3. **Абенова, М. Т.** Цитологическая оценка эффективности лечения опухоли Эрлиха у мышей [Текст] / М. Т. Абенова, А. О. Кабиева, Г. Е. Жусупова // Труды Междунар. науч.-практ. конф. «Унифицированное обеспечение качества и модернизирование клинической лабораторной диагностики». – Алматы, 2008. – С. 5.
4. **Агеенко, А. И.** Новая диагностика рака: теория, диагностика, лечение, реабилитация [Текст]: рук. для врачей / А. И. Агеенко. – М.: Медицина XXI, 2004. – 408с.
5. Адьювантная химиотерапия местно-распространенного рака желудка [Текст] / Ж. А. Арзыкулов, Н. А. Чичуа, Е. Б. Ижанов и др. // Онкология и радиология Казахстана. – 2010. – № 2. – С. 78-81.
6. Аллергология [Текст]: клин. рек. / под ред.: Р. М. Хаитов, Н. И. Ильина. – 2-е изд., испр. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 256 с.
7. Аллергология и иммунология [Текст]: нац. рук. [Текст] / под ред. Р.М. Хаитова, Н.И. Ильиной. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. – 656 с.
8. Анализ корреляции генетических и иммуногистохимических маркеров (гены - регуляторы клеточного цикла RB1, p16 и p53) при спорадическом раке молочной железы [Текст] / М. В. Немцова, В. В. Землякова, Е. В. Кузнецова и др. // Архив патологии. – 2007. – Т. 69, № 2. – С. 3-6.
9. **Ананьева, И. И.** Глиальные опухоли головного мозга: современные аспекты иммунопатогенеза и иммуногенодиагностики [Текст] / И. И.

- Ананьева, М. С. Малкаров, Н. А. Корсакова и др. // Архив патологии. – 2007. – № 2. – С. 53-57.
10. **Арбор, Э.** Монографии ВОЗ о лекарственных растениях, широко используемых в Новых независимых государствах (ННГ) [Текст]: моногр.: пер. с англ. / Э. Арбор. – Франция: ВОЗ, 2010. – 464 с.
  11. Аттестат ПРОСС RU. 0001.2.1–2005. Аттестат Аккредитации Испытательной Лаборатории Федерального Агентства по Техническому Регулированию и Метрологии. ФМ 69-19-05 [Текст]. – М.: М-во здравоохранения РФ, 2005. – 56 с.
  12. **Байков, В. В.** Морфологическая диагностика плазмочитарной миеломы по трепанобиопсиям (гистологические и иммуногистохимические критерии) [Текст] / В. В. Байков // Архив патологии. – 2007. – Т. 69, № 2. – С. 50-52.
  13. **Баймак, Т. Ю.** Повышение апоптоз-индуцирующего действия химиотерапии посредством природных биогенных регуляторов [Текст] / Т. Ю. Баймак // Труды Второй интеграц. конф. молодых ученых СО РАН и высш. шк. (Иркутск, 6-10 окт. 2003 г.). – Иркутск, 2003. – С. 19-26.
  14. **Барчук, А. С.** Актуальные вопросы комбинированного лечения рака легкого [Текст] / А. С. Барчук, Е. В. Левченко, А. И. Арсеньев // Вопр. онкологии. – 2012. – Т. 58, № 2. – С. 253-259.
  15. **Беленький, М. Л.** Элементы количественной оценки фармакологического эффекта [Текст] / М. Л. Беленький. – Л.: Медгиз, 1972. – 151 с.
  16. **Беляев, А. М.** Внутрибрюшная химиотерапия злокачественных опухолей брюшной полости [Текст] / А. М. Беляев, С. Ф. Багненко, Н. В. Рухляда. – СПб.: ЭЛБИ-СПб., 2007. – 254 с.
  17. **Богданов, А. Ю.** Молекулярные механизмы активации естественных супрессорных клеток альфа-фетопротеином [Текст]: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.03 / А. Ю. Богданов. – Алматы, 2005. – 23 с.
  18. **Бочкова, Н. П.** Медицинская генетика [Текст] / Н. П. Бочкова. – М.: Гэотар-Медиа, 2010. – 224 с.

19. Будущие подходы к лечению нейроэндокринных опухолей: консенсусные рекомендации встречи по планированию клинических исследований нейроэндокринных опухолей, проведенной Национальным институтом рака США [Текст] / Matthew H. Kulke, Lillian L. Siu, Joel E. Tepper et al. // J. Clin. Oncol. – 2011. – Vol. 5, № 2. – P. 160-169.
20. **Вадделл, Т.** Мировая статистика здравоохранения: 2010 г [Текст] / Т. Вадделл. – Франция: [б. и.], 2010. – 177 с.
21. **Василевский, М. Г.** Заболеваемость женского населения г. Бишкек злокачественными новообразованиями [Текст] / М. Г. Василевский, Л. Д. Сушанло, Е. В. Белоконева // Материалы IV съезда гигиенистов, эпидемиологов, микробиологов, паразитологов и инфекционистов Кырг. Респ. – Бишкек, 2002. – С. 143-146.
22. **Виноградова, Л. В.** Диагностика и профилактика опухолей влагалища [Текст] / Л. В. Виноградова // Рос. мед. журн. – 2005. – № 1. – С. 23-30.
23. Влияние фенобарбитала на противоопухолевый эффект циклофосфана в зависимости от типа вызываемой им гибели опухолевых клеток [Текст] / В. И. Каледин, В. П. Николин, Т. Ю. Баймак и др. // Бюл. эксперим. биол. медицины. – 2003. – Т. 135, № 3. – С. 334-338.
24. **Гаджиева, С. Ш.** Цитодифференцирующие агенты в онкологии [Текст] / С. Ш. Гаджиева, Е. Р. Полосухина, Т. Г. Николаева // Вопр. онкологии. – 2006. – Т. 52, № 3. – С. 267- 274.
25. **Галстян, А. М.** Роль цитологического исследования в интраоперационной диагностике опухолей молочной железы [Текст] / А. М. Галстян, З. С. Арутюнян // Вестн. хирургии Армении им. Г. С. Тамазяна. – 2010. – № 4. – С. 1-19.
26. Гематология [Текст]: рук. для врачей / под ред. Н. Н. Мамаева, С. И. Рябова. – СПб.: СпецЛит, 2008. – 543 с.
27. Гепатотоксичность химиотерапии колоректального рака: современное состояние проблемы [Текст] / О.Г. Скипенко, Д. Л. Строяковский, Л. Д.

- Козьмин и др. // Росс. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2009. – № 5. – С. 10-19.
28. **Гилязутдинов, И. А.** Опухоли гормонально-зависимых и гормонопродуцирующих органов [Текст] / И. А. Гилязутдинов, Р. Ш. Хасанов. – М.: МЕДпресс-информ., 2004. – 464 с.
29. **Горбунова, В. А.** Нейроэндокринные опухоли: мультидисциплинарный подход к диагностике и лечению [Текст] / В. А. Горбунова, Н. Ф. Орел // Эффектив. фармакотерапия. – 2010. – № 21. – С. 30-33.
30. Государственная фармакопея РФ, 13-ое изд.- Том I-3.- М., 2015.- Формат документа: pdf.- Размер:156 МВ.
31. Государственная Фармакопея СССР [Текст]. – 10-е изд. – М.: Медицина, 1968. – 1079 с.
32. Государственная Фармакопея СССР [Текст]. – 11-е изд. – М.: Медицина, 1987. – Вып. 1. – 333 с.
33. Государственная Фармакопея СССР [Текст]. – 11-е изд. – М.: Медицина, 1989. – Вып. 2. – 397 с.
34. Государственный реестр лекарственных средств и изделий медицинского назначения, разрешенных к применению в Кыргызской Республике [Текст] / гл. ред. М. А. Мамбетов; редкол.: К. С. Чолпонбаев, Д. Д. Джусупова. – Бишкек: Журналист, 2000. – Вып. 2. – 295 с.
35. **Гринстейн, Б.** Наглядная биохимия [Текст]: пер. с англ. / Б. Гринстейн, А. Гринстейн. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2004. – 119 с.
36. **Губин, М. М.** Технология лекарств по GMP: инфузионные растворы [Текст] / М. М. Губин. – Калуга: [б. и.], 2011. – 224 с.
37. **Давыдов, М. И.** Новые подходы в комбинированном лечении рака [Текст] / М. И. Давыдов, В. А. Нормантович. – М.: Медицина, 2003. – 224 с.
38. **Давыдов, М. И.** Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2005 г. [Текст] / М. И. Давыдов, Е. М. Аксель // Вестн. Рос.

- онкол. науч. центра им. Н. Н. Блохина / Рос. акад. мед. наук. – 2007. – Т. 18, № 2. – С. 136-139.
39. **Данилов, Р. К.** Руководство по гистологии: Частная гистология органов и системное руководство [Текст]: в 2-х т. / Р. К. Данилов, В. Л. Быков, И. А. Одинцова. – М.: [б. и.], 2006. – Т. 2. – 735 с.
40. **Данилова, И. А.** Клинико-морфологический и популяционный анализ рака желудка с оценкой критериев выживаемости [Текст]: дис. ... д-ра мед. наук / И.А. Данилова. – СПб., 2011. – 297 с.
41. **Дедов, И. И.** Эндокринология [Текст]: клин. рек. / И. И. Дедов, Г. А. Мельниченко. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 304 с.
42. **Джаманбаев, Ж. А.** Синтез и противоопухолевая активность углеводных производных нитрозомочевины [Текст] / Ж. А. Джаманбаев, Л. А. Островская, В. А. Афанасьев // Химиотерапия опухолей в СССР. – 1988. – Вып. 52. – С. 145-152.
43. **Джаманбаев, Ж. А.** УФ-спектры поглощения гликозил нитрозометилмочевин [Текст] / Ж. А. Джаманбаев, З. А. Джаманбаева, Ч. К. Камчибекова // Органический синтез и выделение органических веществ из природного сырья: Установление строения и оценка реакционной способности получения соединений: сб. науч. тр. – Бишкек, 1998. – С. 24-25.
44. Доказательная медицина [Текст]: ежегод. междунар. справ.: пер. с англ. / под ред. С. Е. Башинского. – М.: Медиа сфера, 2003. – Вып. 2, ч. 5: Онкологические заболевания. – XXX, 1492–1658, 163 с.
45. **Жумабаев, А. Р.** Об оказании специализированной помощи больным с опухолями ЛОР-органов [Текст] / А. Р. Жумабаев, А. А. Шарипов, М. А. Джемуратов // Тезисы докл. науч. конф. молодых ученых и студентов мед. фак. Кырг.-Рос. Славян. ун-та. – Бишкек, 2006. – Вып. 5. – С. 85.
46. **Заридзе, Д. Г.** Канцерогенез [Текст] / Д. Г. Заридзе. – М.: Медицина, 2004. – 576 с.



47. **Зборовский, А. Б.** Неблагоприятные побочные эффекты лекарственных средств [Текст] / А. Б. Зборовский, И. Н. Тюренков, Ю. Б. Белоусов. – М.: Мед. информ. агенство, 2008. – 656 с.
48. **Зубарев, П. Н.** Эндолимфатическая и лимфотропная лекарственная терапия в абдоминальной хирургии [Текст] / П. Н. Зубарев, Г. И. Синенченко, А. А. Курыгин. – СПб.: Фолиант, 2005. – 224 с.
49. **Зурдинов, А. З.** Формуляр основных лекарственных средств Кыргызской Республики [Текст] / А.З.Зурдинов.– 4-е изд.–Бишкек: Салам, 2010 .– 676 с.
50. **Иванова, Г. Г.** Электрокардиография высокого разрешения [Текст] / Г. Г. Иванова, С. В. Грачева, А. Л. Сыркина. – М.: Триада-Х, 2003. – 304 с.
51. **Иванова, Ф. Г.** Изучение эффективности и токсичности стандартной схемы химиотерапии при раке молочной железы [Текст] / Ф. Г. Иванова, Т. Н. Николаева, В. А. Горбунова // Сиб. онкол. журн. – 2009. – 5 (35). – С. 54–57.
52. **Исаков, Ю. Ф.** Детская хирургия [Текст]: нац. рук. / Ю. Ф. Исаков, А. Ф. Дронов. – М.: Медицина, 2009. – 1641 с.
53. Исследование канцерогенных свойств лекарственных веществ [Текст]: информ.-метод. пособие / А. З. Зурдинов, А. К. Чодоева, И. М. Назарбеков и др. – Бишкек: [б. и.], 2001. – 16 с.
54. **Кадагидзе, З. Г.** Диагностика и лечение опухолей [Текст] / З. Г. Кадагидзе // Злокачеств. опухоли. – 2015. – № 1. – С. 24-50.
55. **Кадагидзе, З. Г.** НКТ клетки и противоопухолевый иммунитет [Текст] / З. Г. Кадагидзе, А. И. Черткова, Е. Г. Славина // Рос. биотерапевт. журн. – 2011. – Т. 10, № 3. – С. 9-15.
56. **Кадагидзе, З. Г.** Регуляторные Т-клетки и их роль в противоопухолевом иммунном ответе [Текст] / З. Г. Кадагидзе, А. И. Черткова, Е. Г. Славина // Вопр. онкологии. – 2009. – Т. 55, № 3. – С. 269–277.

57. **Камчибекова Ч.** Изучение физико-химических и аналитических свойств субстанции КДЗ / Ч. Камчибекова // Журн. Universum: медицина и фармакология. - Москва, 2016. - № 4 (26). - 5 с.
58. **Камчибекова Ч.** Создание нового противоопухолевого лекарственного препарата КДЗ / Ч. Камчибекова // Матер. межд. науч. конф. посв. 85-лет. акад. А. А. Алтымышева. ИЦФ НАН КР. Бишкек, Илим, 2015. - с. 69-74.
59. **Камчибекова, Ч.** Анатомо-морфологическое исследование внутренних органов и тканей экспериментальных животных при изучении острой токсичности субстанции КДЗ / Ч. Камчибекова // Журн. Universum: медицина и фармакология. - Москва, 2016. - № 4 (26). - 4 с.
60. **Камчибекова, Ч.** Изучение нейродинамической активности гликозил-НММ-1 на подопытных животных [Текст] / Ч. К. Камчибекова, А. З. Зурдинов // Экология и природные ресурсы Тянь-Шаня: сб. науч. тр. – Ош, 2002. – Ч. 1. – С. 304-307.
61. **Камчибекова, Ч.** Изучение некоторых показателей хронической токсичности субстанции КДЗ [Электронный ресурс] / Ч. Камчибекова // Universum: Медицина и фармакология: электрон. науч. журн. – 2016. – № 7 (29). – С. 5. – Режим доступа: URL: <http://7universum.com/ru/med/archive/item/3368>. – Загл. с экрана.
62. **Камчибекова, Ч.** Изучение острой токсичности субстанции КДЗ в сравнении с циклофосфамидом / Ч. Камчибекова // Журн. Universum: медицина и фармакология. - Москва, 2016. - № 4 (26). - 4 с.
63. **Камчибекова, Ч.** К фармакологии новой противоопухолевой субстанции из производных нитрозоалкилмочевин / Ч. Камчибекова // Моногр. - Бишкек, Maxprint, 2014. – 110 с.
64. **Камчибекова, Ч.** Медико-фармакологические основы разработки и методов синтеза углеводных производных нитрозомочевин [Текст] / Ч. К. Камчибекова // Физиология, морфология и патология человека и

- животных в климато-географических условиях Кыргызстана: сб. науч. тр. – Бишкек, 2004. – Вып. 4. – С. 64-69.
65. **Камчибекова, Ч.** Медико-фармакологические предпосылки разработки противоопухолевой субстанции КДЗ / Ч. Камчибекова, А.З. Зурдинов // Фармация Казахстана. МЗ РК. РГП “НЦЭЛС, ИМН и МТ”. Алматы, 2008. - № 6 (85). - с. 30-32.
66. **Камчибекова, Ч.** Морфологическое исследование внутренних органов и тканей животных под влиянием субстанции КДЗ в условиях хронической токсичности / Ч. Камчибекова // Журн. Universum: медицина и фармакология.- Москва, 2016. - 5(27). - 6 с.
67. **Камчибекова, Ч.** Разработка методов синтеза эффективных противоопухолевых препаратов [Текст] / Ч. К. Камчибекова // Вестн. Оренбург. гос. ун-та. Эксперим. биология и медицина. – 2005. – № 12. – С. 76-80.
68. **Камчибекова, Ч.** Создание лекарственных средств «Карагай» и «КДЗ» из природных и синтетических сырьевых источников / Ч. Камчибекова // Матер. межд. науч.-практ. конф., посв. 80-лет. акад. НАН КР, д.м.н., проф. А. А. Алтымышева. Акт. пробл. сохр. и рац. исп. биол. ресурс. - как осн. разв. фармац. пром. КР. ИЦФ НАН КР. Бишкек, Илим, 2010. - с. 61-64.
69. **Камчибекова, Ч.** Сравнительное изучение острой токсичности гликозил-семикарбазид-нитрофурфуролов [Текст] / Ч. К. Камчибекова, А. З. Зурдинов, Ж. А. Джаманбаев // Проблемы и перспективы развития химии и химической технологии в Кыргызстане: сб. науч. тр. / Ин-т химии и хим. технологии Нац. АН Кырг. Респ. – Бишкек, 2001. – С. 209-211.
70. **Камчибекова, Ч.** Экологическая роль N-гликозидов в разработке противоопухолевых препаратов [Текст] / Ч. К. Камчибекова, З. Б. Бузурманкулова, Л. И. Атарская // Вестн. Кырг. гос. пед. ун-та им. И. Арабаева. Биология. – 2002. – Вып. 2. – С. 199-202.

71. **Камышникова, В. С.** Методы клинических лабораторных исследований [Текст] / В. С. Камышникова. – М.: МЕДпресс-информ., 2011. – 752 с.
72. **Каркищенко, Н. Н.** Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях [Текст] / Н.Н. Каркищенко, С. В. Грачева // М.: Профиль–2С. - 2010. - с. 241.
73. **Кенжалин, Ж. Ш.** Особенности заболеваемости злокачественными новообразованиями кожи, легкого, желудка, молочной железы, шейки матки и гемобластозами жителей г. Усть-Каменогорск, 2004-2008 гг. [Текст] / Ж. Ш. Кенжалин // Наука и здравоохранение семей. – 2009. – № 4. – С. 64-66.
74. **Кишкун, А. А.** Иммунологические и серологические исследования в клинической практике [Текст] / А. А. Кишкун. – М.: Мед. информ. агенство, 2006. – 536 с.
75. **Кожалиева, А. Б.** Загрязнения окружающей среды, их влияние на состояние здоровья человека [Текст] / А. Б. Кожалиева // Материалы IV съезда гигиенистов, эпидемиологов, микробиологов, паразитологов и инфекционистов Кырг. Респ. – Бишкек, 2006. – С. 207-211.
76. **Козловская, Л. В.** Клинические и лабораторные методы исследования [Текст] / Л. В. Козловская, А. Ю. Николаев. – М.: Медицина, 1991. – 112 с.
77. Количественное определение соединения гликозил-НММ-1 [Текст] / Ч. К. Камчибекова, А. З. Зурдинов, Ж. А. Джаманбаев и др. // I съезд фармацевтов Кырг. Респ: сб. науч. тр. – Бишкек, 2003. – С. 159-162.
78. **Колосов, А. Е.** Рак печени и прогноз для больных [Текст] / А. Е. Колосов, В. А. Журавлев. – СПб.; Киров: [б. и.], 2002. – 144 с.
79. **Комаров, И. Г.** Метастазы злокачественных опухолей без выявленного первичного очага [Текст] / И. Г. Комаров, Д. В. Комов. – М.: Триада-Х, 2002. – 136 с.

80. **Комаров, Ф. И.** Биохимические исследования в клинике [Текст] / Ф. И. Комаров, Б. Ф. Коровкин, В. В. Меньшиков. – М.: МЕДпресс-информ, 2001. – 216 с.
81. **Комов, Д. В.** Лекарственное лечение первичного и метастатического рака печени [Текст] / Д. В. Комов, Е. В. Рошин, И. Б. Гуртовая. – М.: Триада-Х, 2002. – 160 с.
82. **Корман, Д. Б.** Основы противоопухолевой химиотерапии [Текст] / Д. Б. Корман. – М.: Практ. медицина, 2006. – 512 с.
83. **Корман, Д. Б.** Эндокринная терапия злокачественных опухолей [Текст]: рук. для врачей / Д. Б. Корман. – М.: Практ. медицина, 2010. – Т. 1. – 400 с.
84. **Кубышкин, В. А.** Рак поджелудочной железы [Текст] / В. А. Кубышкин, В. А. Вишневский. – М.: Мед. практика, 2003. – 386 с.
85. **Кузнецов, С. В.** Новые подходы к лечению хронического миелолейкоза [Текст] / С. В. Кузнецов // Гематология и трансфузиология. – 2007. – Т. 52, № 2. – С. 41-46.
86. **Кукес, В. Г.** Проблемы клинической фармакогенетики на современном этапе [Текст] / В. Г. Кукес, Д. А. Сычев, Н.А. Гасанов // Клин. медицина. – 2007. – Т. 85, № 2. – С. 58-63.
87. **Кукес, В. Г.** Метаболизм лекарственных средств: научные основы персонализированной медицины [Текст]: рук. / В. Г. Кукес. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 304 с.
88. **Лактионов, К. П.** Реконструктивные операции при раке молочной железы [Текст]: рук. для врача / К. П. Лактионов, С. Н. Блохин. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 128 с.
89. **Левит, Г. Л.** N-алкилнитрозокарбамоил производные аминокислот. Синтез, свойства и противоопухолевая активность (обзор) [Текст] / Г. Л. Левит, Л. Б. Радина, В. П. Краснов // Хим.-фармацевт. журн. – 1995. – № 8. – С. 10-19.

90. **Лифшиц, В. М.** Биохимические анализы в клинике [Текст] / В. М. Лифшиц, В. И. Сидельникова. – 5-е изд., перераб. и доп. – М.: Триада, 2002. – 208 с.
91. **Лопатин, П. В.** Создание нового поколения лекарств из группы нитрозомочевин [Текст] / П. В. Лопатин., Т. В. Мкртчян // I Рос. нац. конгр. "Человек и лекарство": тез. докл. – М., 1992. – С. 3-28.
92. **Лорян, И. Ж.** Связывающая способность сывороточного альбумина как возможный регулятор фармакокинетических параметров распределения в условиях гипокинезии [Текст]: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.14: 03.00.04 / И. Ж. Лорян. – Ереван, 2006. – 22 с.
93. **Лощихина, А.** Роль эксперимента в изучении физиологических и патофизиологических процессов [Текст] / А. Лощихина, К. Мазазолин // Тезисы докл. науч. конф. молодых ученых и студентов мед. фак. / Кырг.-Рос. Славян. ун-т. – Бишкек, 2006. – Вып. 5. – С. 3-4.
94. **Лужников, Е. А.** Клиническая токсикология [Текст] / Е. А. Лужников. – 3-е изд. – М.: Медицина, 1999. – 413 с.
95. Лучевая терапия в детской онкологии [Текст]: пер. с англ. / Э. К. Гальперин, Л. С. Констайн, Н.Дж. Тарбел и др. – М.: Медицина, 1999. – 748 с.
96. Лучевая терапия в лечении рака [Текст]: практ. рук. / пер. с англ. О. И. Щербенко. – Лондон; Вайнхайм; Нью-Йорк: ВОЗ, 2000. – 340 с.
97. **Малышев, Н. В.** Предсказательная роль онкомаркеров при химиотерапии рака молочной железы [Текст] / Н. В. Малышев // Медицина и экология. – 2008. – № 4 (49). – С. 26-31.
98. Маммология [Текст] / под ред.: В. Л. Харченко, Н. И. Рожкова; Рос. Ассоц. маммологов; Ассоц. мед. о-в по качеству. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 328 с. – (Нац. проект «Здоровье»).
99. Материалы IV съезда гигиенистов, эпидемиологов, микробиологов и инфекционистов Кыргызской Республики [Текст] / под ред. О. Т.

Касымова; Ассоц. гигиенистов, эпидемиологов, микробиологов, паразитологов и инфекционистов Кырг. Респ.; Департамент гос. санэпиднадзора; Науч.-произв. объедин. «Профиль». – Бишкек: [б. и.], 2006. – 508 с.

100. **Мачак, Г. Н.** Современные возможности лекарственной терапии остеосаркомы РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН [Текст] / Г. Н. Мачак // *Практ. онкология*. – 2010. – Т. 11, № 1. – С. 31-36.
101. **Машковский, М. Д.** Лекарственные средства [Текст]: пособие для врачей / М. Д. Машковский. – 15 изд., перераб., испр. и доп. – М.: Новая волна, 2008. – 1206 с.
102. Медико-фармакологические предпосылки создания новых противоопухолевых препаратов класса НАМ [Текст] / Ж. А. Джаманбаев, А. З. Зурдинов, Ч. К. Камчибекова и др. // *Центр.- Аз. мед. журн.* – 1999. – Т. 5, № 6. – С. 422-424.
103. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология [Текст] / под ред. В. В. Зверева, М. Н. Бойченко. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – Т. 2: Микробиол. диагностика и частная микробиология. – 480 с.
104. Международная Фармакопея. Спецификации для контроля качества фармацевтических препаратов [Текст]. - ВОЗ. - Женева, 1990. - Изд. 3. - Т. 1-3. - 435 с.
105. **Меликсетян, И. Б.** Новые подходы к гистохимическому изучению клеточных структур различных тканей организма в условиях нормы и патологии [Текст]: автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.09 / И. Б. Меликсетян. – Ереван, 2008. – 44 с.
106. **Мельниченко, Г. А.** Наглядная эндокринология [Текст]: пер. с англ. / Г. А. Мельниченко. – 2-е изд. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 120 с.
107. **Меньшикова, В. В.** Клиническая лабораторная аналитика [Текст]: в 5-ти т. / В. В. Меньшикова. – М.: Агат-Мед., 2003. – Т. 4. – 816 с.

108. Метаболизм гидрохлорида диметиламиноарглабина и перспективы персонализированной терапии рака молочной железы. / Сычев Д. М., Жумакаева А. М., Омарова И. М. и др. // Қазақстан Республикасы онкологтары мен радиологтарының VI съезі 27-28 сәуір 2017 ж. - Білім мен технология интеграциясы. - 2017. - 84 б.
109. Методические рекомендации по доклиническому изучению специфической активности фармакологических веществ [Текст]. – М.: МЗ РФ, 2005. – 40 с.
110. Методические рекомендации по организации и проведению межлабораторных сравнительных испытаний [Текст] / И. В. Брагина, Л. А. Ермаченко, С. И. Ерохина и др.//. – М.: Федер. центр госэпиднадзора М-ва здравоохранения РФ, 2001. – 30 с.
111. Методические указания по доклиническому изучению средств, обладающих способностью ингибировать процесс метастазирования и повышать эффективность цитостатической терапии злокачественных опухолей [Текст] / Зуева Е.П., А.М. Козлов, Г.К. Герасимова и др. // – М., 2005. – С. 674-682.
112. Методические указания по составлению проектов фармакопейных статей (ВФС 42, ФС 42 и проектов статей для ГФ XI изд.) и пояснительной записки на синтетические и выделяемые из лекарственного растительного сырья химические соединения [Текст]. – Харьков: ВНИИЛР, 1987. – 18 с.
113. Методы клинических лабораторных исследований [Текст] / под ред. В. С. Камышникова. – М.: МЕДпресс-информ, 2011. – 752 с.
114. Методы статистической обработки медицинских данных: Методические рекомендации для ординаторов и аспирантов медицинских учебных заведений, научных работников [Текст] / А.Г. Кочетов, О.В. Лянг., В.П. Масенко и др. – М.: РКНПК, 2012. – 42 с.
115. Мировая статистика здравоохранения: 2010 г. [Текст] / под ред. Т. Waddell. – Франция: [б. и.], 2010. – 177 с.



116. Миронов, А. Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств [Текст] / Миронов А.Н., Бунятян Н.Д., Васильев А.Н.// - Ч. 1, 2. – М., 2012. - 944 с.
117. Молекулярная диагностика хронического миелолейкоза [Текст] / А. В. Мисюрин, Е. В. Аксенова, А. А. Крутов и др. // Гематология и трансфузиология. – 2007. – Т. 52, № 2. – С. 35-40.
118. **Наврузов, С. Н.** Результаты комплексного скрининга рака шейки матки с использованием молекулярно-биологического метода [Текст] / С. Н. Наврузов, Ю. Т. Таджибаева, С. Р. Абдиганиева // Материалы III съезда онкологов СНГ. – Мн.: Тонпик, 2004. – Ч. 1. – С. 241.
119. Наглядная гематология [Текст]: пер. с англ. / под ред. В. И. Ершова. – 2-е изд. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 116 с.
120. Нанонаука, нанобиология, нанофармация [Текст] / И. С. Чекман, З. Р. Ульберг, В. О. Маланчук и др. – Киев: Полиграф плюс, 2012. – 328 с.
121. Нейроэндокринология [Текст] / [М. Кроненберг Генри, Мелмед Шломо, С. Полонски Кеннет, П. Р. Ларсен; пер. с англ. под ред. И. И. Дедова, Г. А. Мельниченко. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 464 с. – (Эндокринология по Вильямсу).
122. Необходимый минимум данных в заключении морфолога при нейроэндокринных опухолях. Результаты дельфийского голосования [Текст] / S. David, M. D. Klimstra, R. M. Irvin et al. // The American J. of Surgical Patholog. – 2010. – Vol. 34, № 3. – P. 300-311.
123. **Никифоров, Б. М.** Опухоли головного мозга [Текст]: крат. рук. / Б. М. Никифоров, Д. Е. Мацко. – СПб.: Питер, 2003. – 320 с.
124. **Николин, В. П.** Влияние экзогенной ДНК на рост экспериментальных опухолей [Текст] / В. П. Николин, Н. А. Попова, Д. Н. Себелева // Вопр. онкологии. – 2006. – Т. 52, №1. – С. 66-69.
125. **Николин, В. П.** Апоптоз-индуцирующая и противоопухолевая эффективность циклофосфана, платина, и адриамицина при их раздельном

- применении и в комбинации у мышей с лимфосаркомой LS [Текст] / В. П. Николин, В. И. Каледин, Т. Ю. Баймак и др. // Вопр. онкологии. – 2002. – Т. 48, № 2. – С. 211-215.
126. Нитрозоалкилмочевины – новый класс противоопухолевых препаратов [Текст] / [Н. М. Эмануэль, Л. Б. Корман, Л. А. Островская и др.]. – М.: Наука, 1978. – 225 с.
127. Новые возможности регуляции противоопухолевого иммунного ответа [Текст] / З. Г. Кадагидзе, А. И. Черткова, Т. Н. Заботина и др. // Злокачеств. опухоли. – 2015. – № 1. – С. 24-30.
128. **Носов, Д. А.** Механизмы регуляции внутриклеточной передачи сигнала и апоптоза: успехи и неудачи таргетной терапии [Электронный ресурс] / Д. А. Носов // VIII Рос. онкол. конгр. (22-24 нояб. 2004 г.). – М., 2004. – Режим доступа: <http://www.rosoncweb.ru/library/congress/ru/08/18.php>. – Загл. с экрана.
129. **Оганян, М.В.** Справочник врача-натуропата [Текст] / М. В. Оганян – Ростов н / Д: Феникс, 2004. – 320 с.
130. Онкология [Текст]: нац. рук. / гл. ред. В. И. Чиссов, М. И. Давыдов. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 1072 с.
131. Онкология [Текст]: клин. рек. / гл. ред.: В. И. Чиссов, С. Л. Дарьялова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 702 с.
132. Онкология [Текст]: пер. с англ. / ред.: Д. Касчиато, С.В. Кузнецов, В. А. Ананич. – М.: Практика, 2008. – 1040 с.
133. Определение содержания токсичных элементов в пищевых продуктах и продовольственном сырье: Методика автоклавной пробоподготовки [Текст]: метод. указания 4.1.985-0 / [И. В. Брагина, Л. А. Ермаченко, С. И. Ерохина и др.]. – М.: М-во здравоохранения РФ, 2000. – 19 с.
134. **Орел, Н. Ф.** Новые производные нитрозомочевины [Текст] / Н. Ф. Орел // Новые цитостатики в лечении злокачественных опухолей: сб. науч. тр. – М., 1998. – С. 25-40.

135. Особенности рака щитовидной железы в эндемичной зоне [Текст] / Р. Т. Тлогонов, А. Р. Жумабаев, Ч. Д. Рыспекова, и др. // Тезисы докл. науч. конф. молодых ученых и студентов мед. фак. / Кыргыз.-Рос. Славян. ун-т. – 2006. – Вып. 5. – С. 75-76.
136. Патент РК №1349, приор, 27.08.93. 2,4  $\alpha$ , 9 $\beta$  - триокси-6 $\beta$  - ацетокси-1,7 $\alpha$ , 8,10 $\beta$  (Н)-псевдогвай-11 (13)-ЕН8,12- олит (гайгратин), обладающий противоопухолевой активностью /С.М.Адекенов, К.Д. Рахимов, А.Ф. Христенко, ГМ Запольская- Довнар, В.Г. Бондарец, А.Н. Куприянов.
137. Патент РК №2108, приор. 2.12.93.3 -кето-эвдесм -1 (2), 4(5), 11(13) - триен-6, 12-олид, обладающий противоопухолевой активностью/С.М. Адекенов, К.Д. Рахимов, Н.М. Гафуров, ВБ. Веселовский, А.М. Моисеенков, А. Д Кагарлицкий.
138. Патент РК №909, приор. 15.03.97. Гидрохлорид 1,10- эпокси-13-диметиламино-гвай-3(4) - ЕН-6 12 -Олида, обладающий противоопухолевой активностью / С.М. Адекенов, К. Д.Рахимов, К А. Айтуганов.
139. Патент № 1129 Кыргызская Республика. Способ лечения асцитной опухоли Эрлиха [Текст] / Ч. К. Камчибекова, Ж. А. Джаманбаев, А. З. Зурдинов и др. – Бишкек: Кыргызпатент Кырг. Респ., 2008.
140. Патент № 44742. Способ комбинированного лечения рака желудка [Текст] / Е. Б. Ижанов, А. Утельбаева, Ж. Арзыкулов и др. – Астана, 2004.
141. Патент RU 2268070 Россия. Способ профилактики опухолевой болезни в эксперименте [Текст] / Ю. С. Сидоренко, Е. М. Франциянц, С. А. Зинькович и др. – М., 2007.
142. Патоморфологическая характеристика регионарных лимфатических узлов при плоскоклеточном раке шейки матки в условиях эндолимфатического введения цитостатиков [Текст] / Е. В. Бабаянц, Ю. Э. Наров, С. Э. Красильников и др. // Актуальные вопросы экспериментальной и

- клинической онкологии: сб. материалов II регион. конф. молодых ученых им. акад. РАМН Н. В. Васильева. – Томск, 2007. – С. 28-74.
143. **Патютко, Ю. И.** Нейроэндокринные опухоли поджелудочной железы [Текст] / Ю. И. Патютко // Эффект. фармакотер. – 2010. – № 2. – С. 14-18.
144. **Патютко, Ю. И.** Хирургическое лечение злокачественных опухолей печени [Текст] / Ю. И. Патютко. – М.: Практик. медицина, 2005. – 312 с.
145. **Патютко, Ю. И.** Хирургия рака органов билиопанкреатодуоденальной зоны [Текст]: рук. / Ю. И. Патютко, А. Г. Котельников. – М.: Медицина, 2007. – 448 с.
146. **Переводчикова, Н. И.** Изменение возможностей химиотерапии немелкоклеточного рака легкого с введением в практику новых противоопухолевых препаратов – состояние проблемы в 2002 г. [Текст] / Н. И. Переводчикова, А. Ф. Маренич // Практик. онкология. – 2002. – № 4. – С. 282-294.
147. **Переводчикова, Н. И.** Место химиотерапии в системе лечения онкологических больных и выбор терапевтической тактики [Текст] / Н. И. Переводчикова // Современ. онкология. – 2001. – № 2. – С. 66-69.
148. Перспективы использования препарата «Арглабин» в терапии фолликулярных аденом щитовидной железы [Текст] / А. М. Раисова, Е. С. Утеулиев, Ж. С. Бейсеналинова и др. // Рос. биотерапевт. журн. – 2007. – Т. 6, № 1. – С. 49-55.
149. **Петри, А.** Наглядная статистика в медицине [Текст]: пер. с англ. / А. Петри, К. Сэбин. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2003. – 144 с.
150. Подходы к оценке рецепторов врожденного иммунитета [Текст] / М. В. Хорева, Л. В. Ковальчук, В. Л. Варивода и др. // Иммунология. – 2008. – № 4. – С. 223- 227.
151. Показатели онкологической службы Республики Казахстан за 2000 г. [Текст]: стат. матер. – Алматы: Нацстатком Респ. Казахстан, 2001. – 48 с.

152. **Поспелова, Т. И.** Анемия при лимфомах [Текст] / Т. И. Поспелова, А. С. Лямкина. – Новосибирск: Полиграфкомбинат, 2008. – 184 с.
153. **Почтарь, М. Е.** Цитохимическая диагностика в лабораторной гематологии [Текст]: метод. рук. / М. Е. Почтарь, С. А. Луговская, В. Т. Морозова. – СПб.: [б.и.], 2003. – 80 с.
154. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии [Текст] / под ред. Л. С. Страчунского, Ю. Б. Белоусова, С. Н. Козлова. – М.: НИИАХ СГМА, 2007. – 463 с.
155. Предрак и рак женских наружных половых органов [Текст] / А. Г. Солопова, А. Д. Макацария, А. Е. Иванов и др. – М.: Мед. информ. агенство, 2007. – 72 с.
156. Принципы клинической фармакологии [Текст]: моногр. / А. Дж. Аткинсон, Д. Р. Абернети, Ч. И. Дэниэлс и др.; пер. Г.Т. Сухих.– М.: Прак. Медицина, 2013. – 532 с.
157. Проблемы биохимии, радиационной и космической биологии = Problems of biochemistry, radiation and space biology [Текст] / III Междунар. симп. под эгидой ЮНЕСКО, посвящ. 100-летию акад. Н. М. Сисакяна, Москва, Дубна, 24-28 янв. 2007 г.: аннот. докл. – Дубна: ОИЯИ, 2006. – 166 с.
158. Проблемы нормы в токсикологии (современные представления и методические подходы, основные параметры и константы) [Текст] / И. М. Трахтенберг, Р. Е. Сова, В. О. Шефтель и др.; под ред. И. М. Трахтенберга. – М.: Медицина, 1991. – 208 с.
159. Прогнозирование результатов лечения больных колоректальным раком с множественными метастазами в печень [Текст] / Х. Д. Исламов, С. Н. Наврузов, С. Б. Абдужаббаров и др. // Рос. онкол. журн. – 2010. – № 5. – С. 37-39.
160. Противоопухолевая химиотерапия [Текст]: рук. / под ред. Р. Т. Скила; пер. с англ. В. С. Покровского. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 1032 с.

161. **Проценко, Л. Д.** Химия и фармакология синтетических противоопухолевых препаратов [Текст] / Л. Д. Проценко, З. П. Булкина. – Киев: Наук. думка, 1985. – 263 с.
162. Психиатрия: национальное руководство: краткое издание / отв. ред. Ю. А. Александровский; гл. ред. Т. Б. Дмитриева и др. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 622 с.
163. Разработка средств химиопрофилактики рака [Текст] / А.В. Сергеев, М.Я. Шашкина, Т.В. Мкртчян и др. // Рос. биотерапевт. журн. – 2002. – Т. 1, № 2. – С. 126.
164. Рак молочной железы [Текст]: рук. / под ред. У. И. Чен, Э. Уордли. – М.: Рид Элсивер, 2009. – 205 с.
165. Рак шейки матки: факторы риска, клиника, диагностика, лечение и профилактика [Текст]: метод. рек. / [Н.М. Букуев, З.П. Камарли, Э.К. Макимбетов и др.]. – Бишкек: КРСУ, 2010. – 17 с.
166. Рак щитовидной железы: современные подходы к диагностике и лечению [Текст] / П. О. Румянцев, А. А. Ильин, У. В. Румянцева, В. А. Саенко. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 448 с.
167. **Рапопорт, И. А.** Супермутагены [Текст] / И. А. Рапопорт. – М.: Наука, 1966. – 191 с.
168. **Рахимов, К. Д.** Новые природные соединения в химиотерапии лекарственно резистентных опухолей (Экспериментальное исследование): автореферат диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук // Москва 1991г С. 455
169. **Рахимов, К. Д.** Фармакологическое изучение природных соединений Казахстана, 1999, С.270.
170. **Рахимов, Қ. Д.** Фармакология табиғи дәрілер // Алматы, 2014 – 483 с.
171. **Реброва, О. Ю.** Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. – Москва: МедиаСФЕРА, 2006. – 312 с.

172. Регистр лекарственных средств России [Текст]: энцикл. лекарств: ежегод. сб. / разработ. Г. Л. Вышковский; гл. ред. Ю. Ф. Крылов. – М.: РЛС–2004, 2004. – 1503 с.
173. Репродуктивная эндокринология [Текст] / Г. М. Кроненберг, Ш. Мелмед, К. С. Полонски, П. Р. Ларсен; пер. с англ. И. И. Дедова, Г. А. Мельниченко. – М.: Рид Элсивер, 2011. – 416 с. – (Эндокринология по Вильямсу).
174. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний [Текст] / под ред. Н. И. Переводчиковой. – 2-е изд., доп. и перераб. – М.: Практик. медицина, 2005. – 705 с.
175. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ [Текст]. – М.: Ремедиум, 2004. – 398 с.
176. **Русакевич, П. С.** Системный патогенетический подход к диагностике и лечению предраковых заболеваний шейки матки [Текст] / П. С. Русакевич, К. И. Шмак // Материалы III съезда онкологов СНГ. – Мн., 2004. – Ч.1. – С. 215.
177. **Савченко, В. Г.** Лечение острых лейкозов: (Клинические исследования) [Текст] / В. Г. Савченко, Е. Н. Паровичникова. – М.: МЕДпресс-информ, 2004. – 224 с.
178. **Садвакасова, Г. С.** Состояние основных показателей иммунитета при доброкачественных и злокачественных опухолях молочной железы [Текст] / Г. С. Садвакасова // Бюл. Север. гос. мед. ун-та. – 2010. – № 1 (24). – С. 35-36.
179. **Садуова, А. Т.** Иммунофенотипические и генетические особенности рецидивов острого лимфобластного лейкоза у детей на протоколах BFM [Текст]: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.09 / А. Т. Садуова. – Алматы, 2005. – 25 с.
180. **Саймонтон, К.** Психотерапия рака [Текст]: рук.: пер. с англ. / К. Саймонтон, С. Саймонтон. – 3-е изд., испр. – СПб.: Питер, 2001. – 288 с.

181. **Сафонова, Т. С.** Химия алкилирующих препаратов [Текст] / Т. С. Сафонова // Журн. Всесоюз. хим. о-ва им. Д. И. Менделеева. – 1973. – Вып.18, № 6. – С. 657-669.
182. **Семиглазов, В. Ф.** Значение прогностических и предсказывающих факторов при выборе лечения у больных метастатическим раком молочной железы [Текст] / В. Ф. Семиглазов // Практик. онкология. – 2000. – № 2. – С. 26–30.
183. **Семиглазов, В. Ф.** Неадыювантное и адыювантное лечение рака молочной железы [Текст] / В. Ф. Семиглазов. – М.: Мед. информ. аген., 2008.–288 с.
184. **Сергейчик, Н. Л.** Иммуноферментная тест-система для выявления антител к нейроспецифическому белку S100-B-201 и значение их определения при поражениях центральной нервной системы [Текст]: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.46 / Н. Л. Сергейчик. – Мн., 2004. – 20 с.
185. **Сидоренко, Л. Н.** Мастопатия [Текст] / Л. Н. Сидоренко. – 3-е изд., перераб. и доп. – СПб.: Гиппократ, 2007. – 432 с.
186. **Симоненко, В. Б.** Нейроэндокринные опухоли [Текст] / В. Б. Симоненко. – М.: Медицина, 2003. – 216 с.
187. Синтез, физико-химические свойства и противоопухолевая активность углеводных производных нитрозометилмочевины [Текст] / Ч. К. Камчибекова, Ж. А. Джаманбаев и др. // Лекарства и здоровье населения: сб. науч. тр., посвящ. 75-летию заслуж. врачу КыргызССР, заслуж. деятелю науки Кыргыз. Респ., д.м.н., проф. М. Т. Нанаевой. – Бишкек, 2002. – С. 85-88.
188. Система создания противоопухолевых препаратов в СССР и США [Текст] / под ред. Н. Н. Блохина, С. Г. Зуброда. – М.: Медицина, 1977. – 351 с.
189. **Скоропад, В. Ю.** Рациональная тактика лечения местно-распространенного рака желудка: место лучевой терапии [Текст] / В. Ю. Скоропад // Практик. онкология. – 2009. – Т. 10, № 1. – С. 28-35.



190. Современные методы физико-химического анализа [Текст]: информ. метод. пособие / [И. В. Брагина, А. Ю. Глубоков, Л. А. Ермаченко и др.]. – М.: ФЦГСЭН, 2000. – Вып. 1. – 48 с.
191. Содержание растворимой формы молекул НЛA I класса в сыворотке крови больных раком молочной железы и лёгкого [Текст] / А. В. Алясова, Р. Г. Пегов, Е. М. Михайлова и др. // Рос. биотерапевт. журн. – 2008. – Т. 7, № 1. – С. 303.
192. **Софьина, З. П.** Методические рекомендации по первичному отбору противоопухолевых препаратов [Текст] / З. П. Софьина. – М.: [б. и.], 1980. – 58 с.
193. Способ лечения асцитной опухоли Эрлиха [Текст] / Ч. К. Камчибекова, А. З. Зурдинов, Ж. А. Джаманбаев и др. // Журн. интеллект. собственности. – Бишкек, 2009. – № 1. – С. 6-7.
194. Строение и реакционная способность N-гликозидов [Текст] / В. А. Афанасьев, И. Ф. Стрельцова, Н. И. Трушкина и др. – Фрунзе: Илим, 1976. – 221 с.
195. Супермутагены [Текст] / [Н. М. Эммануэль, Е. М. Вермель, С. А. Кругляк и др.]. - М.: Наука, 1966. - 181 с.
196. Тезисы докладов научной конференции молодых ученых и студентов медицинского факультета / Кырг.-Рос. Славян. ун-т. – Бишкек: КРСУ, 2006. – Вып. 5. – 192 с.
197. **Телетаева, Г. М.** Профилактика и лечение желудочно-кишечных осложнений лекарственной терапии (тошнота и рвота, мукозиты, диарея) [Текст] / Г. М. Телетаева // Практ. онкология. – 2009. – Т. 10, №. 3. – С. 162-164.
198. Технология производства и аналитический контроль препарата АДЭКО [Текст] / Ж. А. Джаманбаев, З.А. Джаманбаева, В. А. Афанасьев и др. // Сборник научных трудов / Ин-т химии и хим. технологии Нац. АН Кырг.

- Респ. – Бишкек, 1996. – Ч. 3: Природ. сырье. Физиол. активные соединения. – С. 59-60.
199. **Токтомушев, А. Т.** Местнораспространенный рак мочевого пузыря: (эпидемиология, диагностика, лечение) [Текст] / А. Т. Токтомушев. – Бишкек: Бийиктик, 2007. – 168 с.
200. **Трахтенберг, А.** Нейроэндокринные опухоли легких [Текст] / А. Трахтенберг, Г. Франк, В. Чиссов. – Мн.: Практ. медицина, 2012. – 202 с.
201. **Трякин, А. А.** Лечение местно-распространенного рака желудка: роль химиотерапии [Текст] / А. А. Трякин // Практ. онкология. – 2009. – Т. 10, № 1. – С. 36-40.
202. **Тулбеков, Б. Т.** Иммунологические и иммуногенетические аспекты здоровья детей и подростков Кыргызстана [Текст]: автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.00.09: 14.00.36 / Б. Т. Тулбеков. – Бишкек, 2004. – 40 с.
203. **Уард, Дж.** Наглядная физиология [Текст] / Дж. Уард, Р. Линден, Р. Кларк; пер. с англ. Е. Г. Ионкиной, О. С. Глазачева; под ред. Е. Г. Ионкиной. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 136 с.
204. **Улитин, А. Ю.** Эпидемиология первичных опухолей головного мозга в Санкт-Петербурге [Текст] / А. Ю. Улитин, В. Е. Олюшин, И. В. Поляков // Вопр. нейрохирургии. – 2005. – № 1. – С. 6-12.
205. **Утельбаева, А. Е.** Неадыювантная химиотерапия рака желудка [Текст] / А. Е. Утельбаева // Медицина. – 2010. – № 10. – С. 57-60.
206. УФ-спектры поглощения соединения гликозил-НММ-1 [Текст] / Ч. К. Камчибекова, А. З. Зурдинов, Ж. А. Джаманбаев и др. // I съезд фармацевтов Кыргызской Республики: тез. докл. – Бишкек, 2003. – С. 164-168.
207. **Ушкалова, Е. А.** Менеджмент желудочно-кишечных побочных реакций, индуцированных противоопухолевыми средствами [Текст] / Е. А. Ушкалова // Фарматека. – 2006. – № 12. – С. 57-66.

208. **Фаллер Д. М.** Молекулярная биология клетки [Текст]: рук. для врачей: пер. с англ. / Д. М. Фаллер, Д. Шилдс. – М.: Бином-Пресс, 2008. – 256 с.
209. **Филиппенко, Н. Г.** Клиническая фармакология и фармакотерапия [Текст] / Н. Г. Филиппенко, С. В. Поветкин. – М.: Медицина, 2004. – 116 с.
210. **Хабибуллаев, Ш. З.** Результаты комбинированного лечения местнораспространенного рака гортани [Текст] / Ш. З. Хабибуллаев, С. К. Эгамбердиев // Материалы I Конгр. онкологов Респ. Узбекистан. – Ташкент, 2005. – С. 449.
211. **Хабриев Р. У.** Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ [Текст] / Р.У. Хабриев //..- 2-ое изд. - М.: Медицина, 2005. - 832 с.
212. **Харченко, В. Л.** Маммология [Текст]: нац. проект "Здоровье" / В. Л. Харченко, Н. И. Рожкова; Рос. Ассоц. маммологов, Ассоц. мед. о-в по качеству. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 328 с.
213. **Хасанов А. И.** Антиоксидантная активность и перекисное окисление липидов у больных с местнораспространенными злокачественными опухолями верхней челюсти, полости носа и околоносовых пазух в зависимости от способа введения химиотерапии [Текст] / А. И. Хасанов // Вопр. онкологии. – 2009. – Т. 55, № 1. – С. 42-45.
214. **Хасанов, А. И.** Исследование иммунного статуса в процессе химиотерапии злокачественных опухолей верхней челюсти, полости носа и околоносовых пазух [Текст] / А. И. Хасанов // Рос. онкол. журн. – 2009. – № 5. – С. 36-39.
215. Химиотерапия метастатических нейроэндокринных опухолей аранозой в монорежиме и в комбинации с капецитабином и темозоломидом [Текст] / С. А. Полозкова, Н. Ф. Орел, А. А. Маркович и др. // Злокачеств. опухоли. – 2013. – № 1. – С. 47-55.

216. **Хмелевский, Е. В.** Альтернативные (не цитотоксические) стратегии противоопухолевой терапии [Текст] / Е. В. Хмелевский, В. П. Харченко // Вопр. онкологии. – 2006. – Т. 52, № 2. – С. 215-222.
217. Цитологическая характеристика и разработка нового производного гликозил-НММ [Текст] / Ч. К. Камчибекова, А. З. Зурдинов, Ж. А. Джаманбаев и др.] // Молекулярные механизмы регуляции функции клеток: сб. науч. тр.– Тюмень, 2005. – С. 78-80.
218. **Чарквиани, Л. И.** Об оптимизации комбинированного лечения рака шейки матки на опыте 2000 операций Вертгейма [Текст] / Л. И. Чарквиани., Т. Л. Чарквиани // Материалы III съезда онкологов СНГ. – Мн., 2004. – Ч. 1. – С. 91-94.
219. **Чебышев, Н. В.** Биология [Текст] / Н. В. Чебышев, Г. Г. Гринева. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 416 с.
220. Экспериментальное изучение противоопухолевой активности соединения гликозил-НММ-1 [Текст] / Ч. К. Камчибекова, А. З. Зурдинов, Л. И. Атарская и др. // Актуальные вопросы современной гистопатии, посвящ. 80-летию со дня рождения заслуж. деятеля организации здравоохранения Кырг. Респ. К. М. Акылбекова: сб. науч. тр. – Бишкек, 2003. – С. 29-34.
221. **Эммануэль, Н. М.** Пути синтеза и изыскания противоопухолевых препаратов [Текст] / Н. М. Эммануэль. – М.: Медицина, 1967. – 140 с.
222. Эндокринология [Текст]: нац. рук. / под ред.: И. И. Дедова, Г. А. Мельниченко. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 1072 с.
223. Эндокринология по Вильямсу [Текст] / М. Кроненберг Генри, Мелмед Шломо, С. Полонски Кеннет и др. // Нейроэндокринология. Пер. с англ. ред.: И. И. Дедова, Г. А. Мельниченко. - М.: Гэотар-медиа, 2010. - 64 с.
224. Эпидемиологические особенности лейкозов в Кыргызстане [Текст] / [А. А. Усенова, А. Р. Раимжанов, Э. К. Макимбетов и др.]; КРСУ, Каф. спец. клин. дисциплины № 1. – Бишкек: КРСУ, 2009. – 139 с.

225. **Яковлева, Г. Е.** Ферменты в клинической биохимии [Текст]: пособие для врачей / Г. Е. Яковлева. – Новосибирск: Вектор-Бест, 2005. – 44 с.
226. **Яковлева, И. А.** Особенности развития неопластических процессов шейки матки [Текст] / И. А. Яковлева, А. П. Черный // Материалы III съезда онкологов СНГ. – Мн., 2004. – Ч. 1. – С. 48-50.
227. A phase II study of imatinib mesylate in children with refractory or relapsed solid tumors: A Children's Oncology Group study [Text] / M. Bond, M. L. Bernstein, A. Pappo et al. // *Pediatr. Blood Cancer.* – 2007. – Vol.29, № 1. – P.1-23.
228. A randomized trial of exemestane after two to three years of tamoxifen therapy in postmenopausal women with primary breast cancer [Text] / R. C. Coombes, E. Hall, L. Gibson et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2004. – N 350. – P. 1081-1091.
229. A randomized trial of letrozole in postmenopausal women after five years of tamoxifen therapy for early stage breast cancer [Text] / P. E. Goss, J. N. Ingle, S. Matrinio et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2003. – Vol. 349, N 19. – P. 1793-1802.
230. **Abal, M.** Taxanes: microtubule and central some targets, and cell cycle dependent mechanisms of action [Text] / M. Abal, J. M. Andreu, I. Barasoain // *CURR Cancer Drug Targets.* – 2003. – Vol. 3 – P. 193-203.
231. Activating Fc receptors contribute to the antitumor activities of immunoregulatory receptor-targeting antibodies [Text] / Y. Bulliard, R. Jolicoeur, M. Windman et al. // *J. Exp. Med.* – 2013. – Vol. 210. – P. 1685–1693.
232. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small lung cancer to gefitinib [Text] / T. J. Lynch, D. W. Bell, R. Sordella et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2004. – Vol. 350. – P. 2129-2139.
233. Apoptosis-mediated regression of transplantable LS lymphosarcoma in CBA mice treated with ACVP (adriamycin, cyclophosphamide, vincristine, prednisolone) or cyclophosphamide alone [Text] / V. I. Kaledin, V. P. Nikolin, O. A. Timofeeva et al. // *Experim. Oncol.* – 2002. – Vol. 24. – P. 55-58.

234. Aranoza a new nitrosourea derivative with antitumor action. Phase I-II trials [Text] / N. I. Perevodchikova., V. JI. Gorbunova., N. F. Orel. et al. // Inter. J. Exper. and Clin. Chemotherapie. – 1992. – Vol. 5, N 4. – P. 231-236.
235. **Arnold, C.** Neuroendocrine tumors of the gastrointestinal tract [Text] / C. Arnold // Praxis. – 2007. – Vol. 96, N 1/2. – P. 19-28.
236. **Bainton, D. F.** Sequential degranulation of the 2 types of progenitor cells from blood [Text] / D. F. Bainton // Basic Histology. – USA, 2004. – P. 232-233.
237. **Barbakadze, N.** Specific Properties Of Some Biological Composite Materials [Text] / N. Barbakadze, E. Gorb, S. Gorb // Advanced Biologically Active Polyfunctional Compounds and Composites: Health, Cultural Heritage and Environmental Protection. – New York, 2010. – Ch.17. – P. 243-274.
238. **Barclay, M. L.** Aminoglycoside adaptive resistance: importance for effective dosage regimens [Text] / M. L. Barclay, E. J. Begg // Drug. – 2001. – Vol. 61, N 6. – P. 713-721.
239. **Bergh, J.** Predictive factors and the role of biologic markers. 4th Pan European Cancer Symposium [Text] / J. Bergh // A new era in the management of breast cancer: improved survival with modern treatment modalities. – Cannes, 2000. – P. 29-30.
240. **Berzofsky, J. A.** NKT cells in tumor immunity: opposing subsets define a new immunoregulatory axis [Text] / J. A. Berzofsky, M. Terabe // J. Immunol. – 2008. – Vol. 180, N 6. – P. 3627–3635.
241. **Berzofsky, J. A.** The contrasting roles of NKT cells in tumor immunity [Text] / J. A. Berzofsky, M. Terabe // Curr. Molecul. Medicine. – 2009. – Vol. 9, N 6. – P. 667–672.
242. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer [Text] / H. Hurwitz, L. Fehrenbacher, W. Novotny et al. // N. Engl. J. Med. – 2004. – Vol. 350. – P. 2335-2342.

243. **Blume, K. G.** A review of autologous hematopoietic cell transplantation [Text] / K. G. Blume, E. D. Thomas // Biol. Blood Marrow Transplantation. – 2000. – Vol. 6, N 1. – P.1-12.
244. British Pharmacopoeia [Text]: normat. doc. / The Brit. Pharm. Secr. – London, 2009. – 10952 p.
245. **Bunn, P. A.** Role of adjuvant chemotherapy in stage IA-III A. Non-small cell lung cancer [Text] / P. A. Bunn // Qualified. Education. book / ASCO. – 2004. – P. 488-496.
246. **Burstein, H. J.** Choosing the Best Adjuvant Endocrine Treatment Strategy for Patients with Postmenopausal Breast Cancer: A Decision Analysis [Text] / H. J. Burstein, R. Punghia // American Society of Clinical Oncology Educational Book (ASCO). – Alexandria, 2005. – P. 40-44.
247. **Burstein, H. J.** Choosing the Best Adjuvant Endocrine Treatment Strategy for Patients with Postmenopausal Breast Cancer: A Decision Analysis [Text] / H. J. Burstein, R. Punghia // American Society of Clinical Oncology Educational Book (ASCO). – Alexandria, 2005. – P. 40-44.
248. Cetuximab alone or in combination with irinotecan (CPT-11) in patients with epidermal growth factor receptor (EGFR)-positive, irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer (MCRC) [Text] / D. Cunningham, Y. Humbler, S. Siena et al. // Proc. Am. Soc. Clinical. Oncology. – 2003. – Vol. 22. – P. 252.
249. Cetuximab in combination with irinotecan / 5-fluorouracil (5-FU) / folinic acid (FA) (FOLFIRI) in the first-line treatment of metastatic colorectal cancer [Text] / M. Peeters, J. L. Raoul, J. L. van Laetham et al. // Eur. J. Cancer Suppl. – 2005. – Vol. 3, N 2. – P. 188.
250. Characterization, stabilization and activity of uricase loaded in lipid vesicles [Text] / Q.Y. Tan, N. Wang, H. Yang et al. // Intern. J. of pharmaceut. – 2010. – Vol. 384, N 1/2. – P. 165-172.

251. Chemotherapy associated hepatotoxicity and surgery for colorectal liver metastases [Text] / D. Zorzi, A. Laurent, T. M. Pawlik et al. // Br. J. Surg. – 2007. – Vol. 94, N. 3. – P. 274-286.
252. Chemotherapy for colorectal cancer prior to liver resection for colorectal cancer hepatic metastases does not adversely affect peri-operative outcomes [Text] / A. Sahajpal, C. M. Vollmer, E. Dixon et al. // J. Surg. Oncology. – 2007. – Vol. 95. – P. 22-27.
253. Chemotherapy of breast cancer: are the taxanes going to change natural history of breast cancer [Text] / J. M. Nabholz, K. Tonkin, M. Smylie et al. // Exp. Opin. Pharmacother. – 2000. – Vol. 2. – P. 187-206.
254. Chemotherapy regimen predicts steatohepatitis and an increase in 90-day mortality after surgery for hepatic colorectal metastases [Text] / J. N. Vauthey, T. M. Pawlik, D. Ribero et al. // J. Clinical Oncology. – 2006. – Vol. 24, N 13. – P. 2065-2072.
255. Chemotherapy with bevacizumab does not affect liver regeneration after portal vein embolization in the treatment of colorectal liver metastases [Text] / D. Zorzi, Y. S. Chun, D. C. Madoff et al. // Ann. Surg. Oncology. – 2008. – Vol. 15, N 10. – P. 2765-2772.
256. **Chevalier, T.** For the IALT Investigators Results of the randomized International Adjuvant Lung Cancer Trial (IALT): Cisplatin-based chemotherapy (CT) vs no CT in 1867 patients (pts) with resected non-small cell lung cancer (NSCLC) [Text] / T. Chevalier // The New England journal of Med. – 2004. – Vol. 350. – P. 351-360.
257. **Chon, S. Y.** Chemotherapy-induced alopecia [Text] / S.Y. Chon // J. of the American Academy of Dermatology. – 2012. – T. 67, №. 1. – P. 637-647.
258. Clinical activity and immune modulation in cancer patients treated with CP-870, 893, a novel CD40 agonist monoclonal antibody [Text] / R. H. Vonderheide, K. T. Flaherty, M. Khalil et al. // J. Clinical Oncology. – 2007. – Vol. 25, N 7. – P. 876–883.



259. Committee for proprietary medicinal products. CPMP. Note for guidance on evaluation of anticancer medicinal product in man [Text] / EWP. – 2005. – N 95. – P. 1–15.
260. Control of the immune response by pro-angiogenic factors [Text] / T. Voron, E. Marcheteau, S. Pernot et al. // *Front. oncology*. – 2014. – Vol. 4. – Article 70.
261. **Creczynski-Pasa, T. B.** Lipid membranes in biomimetic systems [Text] / T. B. Creczynski-Pasa, A. A. Pasa // *Bionanotechnology. Global prospects* / ed. by D. E. Reisner. – New York, 2009. – P. 25-33.
262. **Curotto de Lafaille, M. A.** CD4 (t) regulatory T-cells in autoimmunity and allergy [Text] / M. A. Curotto de Lafaille, J. J. Lafaille // *Curr. Opin. Immunology*. – 2002. – N 14. – P. 751-771.
263. *Current Protocols. Basic methods of laboratories* [Text] / ed. S. Gallagher, A. W. Emily. New York: John Wiley & Sons, Inc., 2008. – 737 p.
264. Detailed Review Document on Classification Systems for Reproductive Toxicity in OECD Member Countries [Text]. – Paris: [s. n.], 1999. – 23 p. – (OECD Environmental Health and Safety Publications. Series on Testing and Assessment; N 15).
265. **Diefenbach, A.** Strategies for target cell recognition by natural killer cells [Text] / A. Diefenbach, D. H. Raulcc // *Immunol. Rev.* – 2001. – Vol. 181. – P. 170-181.
266. Does chemotherapy prior to liver resection increase the potential for cure in patients with metastatic colorectal cancer? A report from the European Colorectal Metastases Treatment Group [Text] / B. Nordlinger, E. van Cutsem, P. Rougier et al. // *Eur. J. Cancer*. – 2007. – Vol. 43, N 14. – P. 2037–2045.
267. **Dowsett, M.** Analysis of time to recurrence in the ATAC (arimidex, tamoxifen alone or in combination) trial according to estrogen receptor and progesterone receptor status [Text] / M. Dowsett; ATAC Trialists' Group // *Breast Cancer Res. Treat.* – 2003. – Vol. 82, suppl. 1. – P. 82-87.
268. Doxorubicin and paclitaxel versus fluorouracil, doxorubicin and cyclophosphamide as first line therapy for women with metastatic breast cancer:

- final results of randomized Phase III multicenter trial [Text] / J. Jassem, T. Pienkowski, A. Pluzanska et al. // *J. Clin. Oncol.* – 2001. – Vol. 19. – P. 1707-1715.
269. **Ducreux, M.** Adjuvant chemotherapy of colon cancer. Best Practice [Text] / M. Ducreux, V. Boige // *Res. Clin. Gastroenterol.* – 2002. – Vol. 16, N 2. – P. 283-298.
270. Efficacy of gefitinib, an inhibitor of the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase, in symptomatic patients with non-small cell lung cancer: a randomized trial [Text] / M. G. Kris, R. B. Natale, R. S. Herbst et al. // *J.A.M.A.* – 2003. – Vol. 290, N 16. – P. 2149-2158.
271. EGF receptor gene mutations are common in lung cancer from “never smokers” and are associated with sensitivity of tumore to gefitinib and erlotinib [Text] / W. Pao, V. Miller, M. Zakowski et al. // *PNAS.* – 2004. – Vol. 101, N 36. – P. 13306-13311.
272. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy [Text] / J. C. Paez, P. A. Janne, J. C. Lee et al. // *Science.* – 2004. – Vol. 304. – P. 1497-1500.
273. Erbitinib in previously treated non-small-cell lung cancer [Text] / F. A. Shepherd, R. J. Pereira, T. Ciuleanu et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2005. – Vol. 353, N 2. – P. 123-132.
274. Extended phase I phase trial of capecitabine in combination with a weekly schedules of irinotecan as first line chemotherapy in patients with advanced colorectal cancer) [Text] / N. Schleucher, M. Tewes, W. Achterrath et al. // *Proc. ASCO.* – 2001. – Vol. 20. – P. 561-577.
275. **Facciabene, A.** T-regulatory cells: key players in tumor immune escape and angiogenesis [Text] / A. Facciabene, G. T. Motz, G. Coukos // *Cancer Res.* – 2012. – Vol. 72, N 9. – P. 2162–2171.

276. **Filaci, G.** CD8+CD28 - T regulatory lymphocytes inhibiting T cell proliferative and cytotoxic functions infiltrate human cancers [Text] / G. Filaci, D. Fenoglio, M. Fravega // J. Immunol. – 2007. – Vol. 179, N 7. – P. 4323–4334.
277. **Filaci, G.** Non-antigen-specific CD8+T suppressor lymphocytes in diseases characterized by chronic immune responses and inflammation [Text] / G. Filaci, M. Rizzi, M. Setti et al. // Ann. NY Acad. Sci. – 2005. – Vol. 1050. – P. 115-123.
278. **Finn, O. J.** Immuno-oncology: understanding the function and dysfunction of the immune system in cancer [Text] / O. J. Finn // Ann. Oncol. – 2012. – Vol. 23, suppl. 8. – P. 6–9.
279. **Flechon, A.** Intensive and timely chemotherapy, the key of success in testicular cancer [Text] / A. Flechon, S. Culine, J. P. Droz // Critical Rev. Oncol. Hematol. – 2001. – Vol. 37, N 1. – P. 35-46.
280. FOLFIRI followed by FOLFOX6 or the reverse sequence in advanced colorectal cancer: a randomized GERCOR study [Text] / C. Tournigand, T. Andre, E. Achille et al. // J. Clin. Oncol. – 2004. – Vol. 22, N 2. – P. 229-237.
281. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer [Text] / T. van' L. J. Veer, H. Dae, van de M. J. Vijver et al. // Nature. – 2002. – N 415. – P. 530-536.
282. Genetic variants in the UDP-glucuronosyltransferase 1A1 gene predict the risk of severe neutropenia of irinotecan [Text] / F. Innocenti, S. D. Undevia, L. Iyer et al. // J. Clin. Oncol. – 2004. – Vol. 22, N 8. – P. 1382-1388.
283. Gynecologic cancer incidence in the Kyrgyz republic [Text] / E. Makimbetov, B. Sultangazieva, N. Bukuev R. Rzaev // Annals of Oncology. – 2007. – Vol. 18, suppl. 9.
284. **Heath, G.** An evolution of drug development and clinical pharmacology during the 20th century [Text] / G. Heath, W. A. Colburn // J. Clin. Pharmacol. – 2000. – Vol. 40, N 9. – P. 918-929.

285. **Hochohaus, G.** Evolution of pharmacokinetics and pharmacokinetic/dynamic correlation during the 20th century [Text] / G. Hochohaus, J. S. Barrett, H. Derendorf // *J. Clin. Pharmacol.* – 2000. – Vol. 40, N 9. – P. 908-917.
286. Human papillomavirus typing and DNA ploidy determination of squamous intraepithelial lesions in liquid based cytologic samples [Text] / R. Bollman, G. Mehes, R. Torika et al. // *Cancer Cytopathol.* – 2003. – Vol. 99, N 1. – P. 57- 62.
287. **Huwylar, J.** Tumor targeting using liposomal antineoplastic [Text] / J. Huwylar, J. Drewe, S. Krahenbuhl // *Drugs international J. of nanomedicine.* – 2008. – Vol. 3, № 1. – P. 21-29.
288. Immune monitoring of the circulation and the tumor microenvironment in patients with regionally advanced melanoma receiving neoadjuvant ipilimumab [Text] / A. A. Tarhini, H. Edington, L. H. Butterfield et al. // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9, N 2. – E. 87705.
289. Immunologic and clinical effects of antibody blockade of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 in previously vaccinated cancer patients [Text] / F. S. Hodi, M. Butler, D. A. Oble et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2008. – Vol. 105, N 8. – P. 3005–3010.
290. Impact of CD68 / (CD3+CD20) ratio at the invasive front of primary tumors on distant metastasis development in breast cancer [Text] / N. Eiro, I. Pidal, B. Fernandez-Garcia et al. // *PLoS One.* – 2012. – Vol. 7, N 12. – E. 52796.
291. Improved outcomes from adding sequential Paclitaxel but not from escalating Doxorubicin dose in an adjuvant chemotherapy regimen for patients with node-positive primary breast cancer [Text] / I. C. Henderson, D. A. Berry, G. D. Demetri et al. // *J. Clin. Oncol.* – 2003. – Vol. 21, N 6. – P. 967-983.
292. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma [Text] / F. S. Hodi, S. J. O'Day, D. F. McDermott et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2010. – Vol. 363, N 8. – P. 711–723.
293. Improving the spectrophotometric determination of the alkylating activity of anticancer agents: A new insight into the mechanism of the NBP method [Text]

- / K. M. E. Dierickx, F. Journé, P. Gerbaux et al. // *Talanta*. – 2009. – Vol. 77, № 4. – P. 1370-1375.
294. Initial testing (stage 1) of a monoclonal antibody (SCH 717454) against the IGF 1 receptor by the pediatric preclinical testing program [Text] / E. A. Kolb, R. Gorlick, P. J. Houghton et al. // *Pediatr. Blood. Cancer.*, Jun. – 2008. – Vol. 50, N 6. – P. 1190-1197.
295. **Ju, C.** Mechanism of idiosyncratic drug reactions: reactive metabolite formation, protein binding and the regulation of the immune system [Text] / C. Ju, J. P. Uetrecht // *Curr. Drug Metab.* – 2002. – Vol. 3, N 4. – P. 367-376.
296. **Ju, M.** Therapeutic monoclonal antibodies: trends in development and approval in the US [Text] / M. Ju // *Curr. Opin. Molecular Therapy.* – 2002. – Vol. 4, N 2. – P. 110-118.
297. **Judith A. Herlich.** The Non-GLP Toleration/Dose Range Finding Study: Design and Methodology Used in an Early Toxicology Screening Program, Global Preclinical Toxicology [Text] / A. Judith Herlich, Peter Taggart// Pathology, Johnson & Johnson PR&D, Raritan, NJ, 08869.- 2009.- P. 94-96.
298. **Kamchibekova, Ch.** Creation of medical products of Karagai and KDZ from natural and synthetic raw sources, and their pharmacological properties / Ch. Kamchibekova // *Изв. НАН КР. Бишкек, Илим*, 2012. - № 4. - p. 106-108.
299. **Kamchibekova, Ch.** Development of methods of synthesis and study of antitumor activity of the substance Glycosil-NMM-1 / Ch.Kamchibekova // *Изв. НАН КР. Бишкек, Илим*, 2013. - № 1. - с. 56-60.
300. **Khalil, M. Y.** Targeting epidermal growth factor receptor: novel therapeutics in the management of cancer [Text] / M. Y. Khalil, J. R. Grandis, D. M. Shin // *Rev. Anticancer. Ther.* – 2003. – Vol. 3, N 3. – P. 367-380.
301. **Kuilenberg, A. B.** Pharmacogenetic and clinical aspects of dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency [Text] / A. B. Kuilenberg, R. A. De Abreu, A. H. Gennip // *Ann. Clin. Biochem.* – 2003. – Vol. 40, pt. 1. – P. 41-45.

302. **Kyi, C.** Checkpoint blocking antibodies in cancer immunotherapy [Text] / C. Kyi, M. A. Postow // *FEBS Lett.* – 2014. – Vol. 588, N 2. – P. 368-376.
303. **Le Chevalier, T.** For the IALT Investigators Results of the randomized International Adjuvant Lung Cancer Trial (IALT). Cisplatin-based chemotherapy (CT) vs no CT in 1867 patients (pts) with resected non-small cell lung cancer (NSCLC) [Text] / T. Le Chevalier // *Clin. Oncol.* – 2003. – N 22, (abstr. 6). – P. 26-43.
304. **Leal, J. A.** Stem cell MicroRNAs in senescence and immortalization: novel players in cancer therapy [Text] / J. A. Leal, A. Feliciano, M. E. Leonart // *Medicinal Research Reviews.* – 2013. – Vol. 33, № 1. – P. 112-138.
305. **Li, C.** Subsalicylate mediates improved vinorelbine loading into LUVs and antineoplastic effects [Text] / C. Li // *J. of liposome research.* – 2012. – Vol. 22, № 1. – P. 42-54.
306. **Li, S. Y.** Immunotherapy of melanoma with the immune costimulatory monoclonal antibodies targeting CD137 [Text] / S. Y. Li, Y. Liu // *Clinical Pharmacol: Adv. Appl.* – 2013. – Vol. 5, suppl. 1. – P. 47–53.
307. **Lippitz, B. E.** Cytokine patterns in patients with cancer: a systematic review / B. E. Lippitz // *Lancet Oncol.* — 2013. — Vol. 14. — p. 218-228.
308. **Long, F. H.** Spectroscopic qualitative analysis methods for pharmaceutical development and manufacturing [Text] / F. H. Long, Ph. D. // *American pharmaceutical review.* – 2011. – Vol. 98. – P. 98-105.
309. Long-term survival for patients with non–small-cell lung cancer with intratumoral lymphoid structures [Text] / M. C. Dieu-Nosjean, M. Antoine, C. Danel et al. // *J. Clin. Oncol.* – 2008. – Vol. 26, N 27. – P. 4410–4417.
310. **Makimbetov, E.** Ethnic variability in Breast cancer incidence at the Osh region of Kyrgyzstan [Text] / E. Makimbetov, N. Samieva // 31st Annual San Antonio Breast Cancer Symposium. December 14-18, 2008. – Texas; San-Antonio, 2008.

311. **Makimbetov, E.** Cancer incidence in Kyrgyzstan [Text] / E. Makimbetov // Annual meeting. Abstract book / ASCO. – USA, 2005. – N 9699.
312. **Morahan , G.** Genetics of autoimmune diseases in human and in animal models [Text] / G. Morahan, L. Morel // Curr. Opin. Immun. – 2002. – Vol. 14, N 6. – P. 803-811.
313. **Morgan, I. Z.** Anti-TNF therapy for other inflammatory conditions [Text] / I. Z. Morgan, J. I. GJ, A. Kavanaugh // Clin. Exp. Rheumat. – 2002. – Vol. 20. – P. 146-158.
314. Multi-center Phase III study in first line treatment of advanced metastatic breast cancer. Epirubicin (Paclitaxel vsepirubicin /cyclophosphamide) [Text] / H. J. Luck, C. Thomssen, V. Untch et al. // Proc. ASCO. – 2000. – Vol. 19. – Abstr. 280.
315. Multi-institutional randomized phase II trial of gefitinib for previously treated patients with advanced non-small-cell lung cancer [Text] / M. Fukuoka, S. Yano, G. Giaccone et al. // J. Clin. Oncol. – 2003. – Vol 21, N 12. – P. 2237-2246.
316. Neoadjuvant chemotherapy for metastatic colon cancer: a cautionary note [Text] / A. J. Bilchik, G. Poston, S. A. Curley et al. // J. Clin. Oncol. – 2005. – Vol. 23, N. 36. – P. 9073– 9078.
317. **Nicholas, N. G.** Pharmacokinetics & Pharmacodynamics kinetics: Rational dozing & time course of drug action [Text] / N. G. Nicholas, M. B. Holford // Basic & Clinical Pharmacol. USA. –13<sup>th</sup> ed. – 2004. – Ch. 3. – P. 34-50.
318. **Nishiyama, M.** Recent advances in cancer chemotherapy: current strategies, pharmacokinetics and pharmacogenomics [Text] / M. Nishiyama, II. Eguchi // Advanced drug delivery reviews. – 2009. – Vol. 61, № 5. – P. 367-368.
319. Nitrosoureas lomustine, carmustine, and fotemustine — induced hepatotoxic perturbations in rats: biochemical, morphological and flow cytometry studies [Text] / A. Laquernere, G. Raguenez-Viotte, M. Paraire et al. // Eur. J. Cancer. – 1991. – Vol. 27, N 5. – P. 630-638.

320. **Norton, L.** Adjuvant chemotherapy of primary breast cancer [Text] / L. Norton // 4<sup>th</sup> Pan Europ. Cancer Symp. A new era in the management of breast cancer: improved survival with modern treatment modalities. – Cannes, 2000. – P. 3-11.
321. **Norton, L.** New principles of the cytotoxic systemic therapy of primary breast cancer [Text] / L. Norton // 4<sup>th</sup> Pan European Cancer Symposium. A new era in the management of breast cancer: improved survival with modern treatment modalities. – Cannes, 2000. – P. 7–9.
322. OECD Guideline for the Testing of Chemicals N 487: In Vitro Mammalian Cell Micronucleus Test [Электронный ресурс]. – 2016. – 29 p. – Режим доступа: [http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-487-in-vitro-mammalian-cell-micronucleus-test\\_9789264264861-en](http://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-487-in-vitro-mammalian-cell-micronucleus-test_9789264264861-en). – Загл. с экрана.
323. Oncologie 2000. Empfehlungen zur Therapie. 10 Auflage [Text] / G. P. Breitbach, M. Ciemes, L. Distler et al. // Oncologie. – Munchen [etc.], 2000. – P. 1380-1397.
324. Ongoing phase II trial with two schedules of irinotecan (CPT-11) in combination with capecitabine as first line chemotherapy in patients with colorectal cancer (ACRC) [Text] / A. Cassata, S.C. Stani, M. Alu et al. // Proc. ASCO. – 2001. – Vol. 20. – P. 573-580.
325. **Osborne, C. K.** Endocrine Responsiveness: Understanding How Progesterone Receptor Can be used to Select Endocrine Therapy. The Breast, Primary Therapy of Early [Text] / C. K. Osborne, R. Schiff, G. Arpino et al. // Breast Cancer. – 2005. – Vol. 14, N 6. – P. 458-465.
326. Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment for colon cancer [Text] / T. Andre, C. Boni, L. Mounedji-Boudiaf et al. // N. Engl. J. Med. - 2004. – Vol. 350, N 23. – P. 2343-2351.
327. Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin for patients with unresectable liver-only metastases from colorectal cancer: A North Central Cancer Treatment Group Phase II Study [Text] / S. R. Alberts, W. L. Horvath, W. C. Sternfeld et al. // J. Clin. Oncol. – 2005. – Vol. 23, N 36. – P. 9243-9249.



328. Pharmacological premises of the creation of a new antitumoral preparations of the class of nitrozoalkylurea (article) / [J. A. Djamanbaev, Ch. Kamchibekova, J. A. Abdurashitova et al.] // J. Oxidation Communications. Bulgarian-English Ch.K. Kamchibekova academic Publishing House; 2008. - V. 31. - № 4. - p. 891-894.
329. Pharmacological premises of the creation of new antitumor preparations of the class of nitrosoalkylurea [Text] / J. A. Djamanbaev, Ch. Kamchybekova, J. A. Abdurashitova et al. // Environmental Science, Engineering & Series. Health, Cultural Heritage & Environmental Protection. Advanced Biologically Active Polyfunctional Compounds and Composites. Nova Science Publishers, Inc. USA. – New York, 2010. – Ch. 17. – P. 201-205.
330. Phase 2 trial of two courses of cyclophosphamide and etoposide for relapsed high-risk osteosarcoma patients [Text] / M. Berger, G. Grignani, S. Ferran et al. // Cancer. – 2009. – Vol. 115, N 13. – P. 2980-2987.
331. Phase I study of sorafenib in children with refractory solid tumors: A Children's Oncology Group Phase I Consortium trial. [Text] / B. C. Widemann, E. Fox, P. C. Adamson et al. // J. Clin. Oncol. – 2009. – Vol. 27, № 15. – P. 40-43.
332. Platelet derived growth factor receptor as a prognostic marker and a therapeutic target for imatinib mesylate therapy in osteosarcoma [Text] / T. Kubo, S. Piperdi, J. Rosenblum et al. // Cancer. – 2008. – Vol. 112, № 10. – P. 2119 – 2129.
333. Polymorphism of UDP-glucuronosyltransferase gene and irinotecan toxicity: pharmacogenetic analysis [Text] / Y. Ando, H. Saka, M. Ando et al. // Cancer Res. – 2000. – Vol. 60, N 24. – P. 6921-6926.
334. Positive and negative regulation of cellular immune responses in physiologic conditions and diseases [Text] / S. Vigan., M. Perreau, G. Pantaleo, A. Harari // Clin. Dev. Immunol. – 2012. – Vol. 48. – P. 57-81.

335. **Postow, M. A.** Targeting immune checkpoints: releasing the restraints on antitumor immunity for patients with melanoma [Text] / M. A. Postow, J. Harding, J. D. Wolchok // *Cancer J.* – 2012. – Vol. 18 – P. 153–159.
336. Preliminary results from a phase II study of infusional 5-FU, leucovorin and irinotecan (FOLFIRI) plus bevacizumab as firstline treatment for metastatic colorectal cancer (mCRC) [Text] / S. Kopetz, J. L. Abbruzzese, C. Eng et al. // *J. Clin. Oncol.* – 2006. – Vol. 24, N 18. – Abstr. 3579.
337. Preoperative Assessment of Tumor Location and Station-Specific Lymph Node Status in Patients with Adenocarcinoma of the Gastroesophageal Junction [Text] / B. A. Grotenhuis, B. P. Wijnhoven, J. W. Poley et al. // *World J. Surg.* – 2013. – Vol. 37, № 1. – P. 147–155.
338. Principles of pharmacology: the pathophysiologic basis of drug therapy [Text] / ed. David E. Golan. – Philadelphia [etc.]: Wolters Kluwer Health: Lippincott Williams & Wilkins, 2008. – 875 p.
339. **Pritchard, K.** Adjuvant Hormone Therapy for Postmenopausal Women Efficacy [Text] / K. Pritchard // *Educational Book / ASCO.* – 2005. – N 22. – P. 26-50.
340. Production technology and analytical control of ADEKO preparation [Text] / J. A. Djamanbaev, Z. A. Djamanbaeva, V. A. Afanasiev et al. // Abstract collection of transactions. National Academy of sciences of Kyrgyz Republic Institute of Chemistry and chemical technology. – Bichkek, 1997. – P. 39-40.
341. Prognostic and predictive value of the immune infiltrate in cancer [Text] / L. Senovilla, E. Vacchelli, J. Galon et al. // *Oncology.* – 2012. – Vol. 1, N 8. – P. 1323–1343.
342. Study of the composition and biological activity of the “Alhidin” complex /K. Rakhimov, G. Burasheva, A. Gulyaev // *Казахстан Республикасы.* – 2015. – Vol. 1, N. 1. – 93–100 p.

343. Randomized trial of high-dose chemotherapy and blood cell autografts for high-risk primary breast carcinoma / [G. N. Hortobagyi, A. U. Buzdar, R. L. Theriault et al.] // *J. Natl. Cancer Inst.* – 2000. - # 92. – p. 225-233.
344. Resectability of liver metastases (LM) in patients with advanced colorectal cancer (ACRC) after treatment with the combination of oxaliplatin (OXA), irinotecan (IRI) and 5-FU: Final results of a phase II study [Text] / A. Abad, A. Anton, B. Massuti et al. // *Clinical Oncology.* – 2005. – Vol. 23, N 16. – P. 275. – Abstr. 3618.
345. **Rosenberg, S. A.** Progress in the development of immunotherapy for the treatment of patients with cancer [Text] / S. A. Rosenberg // *J. Intern. Medicine.* – 2001. – Vol. 250, N. 6. – P. 250-462.
346. **Ruan, D. T.** Liver-directed therapies in colorectal cancer [Text] / D. T. Ruan, R. S. Warren // *Semin. Oncol.* – 2005. – Vol. 32, N 1. – P. 85–94.
347. SFTG International collaborative study on the in vitro micronucleus test using L5178Y cells [Text] / J. Oliver, J.-R. Meunier, T. Awogi [et al.] // *Mutation Res.* – 2006. – Vol. 607. – P. 125-152.
348. **Shlomchik, M. J.** From T to B and backactive positive feedback in systemic autoimmune disease [Text] / M. J. Shlomchik, J. E. Craft, M. J. Mamula // *Nat. J. Immunol.* – 2001. – Vol. 1, N 2. – P. 47-144.
349. **Srivastava, Sh.** Pd (II) catalyz in a oxidation D-glycose chloramine-T in an acid equilibrium. Kinetic researches [Text] / Sh. Srivastava, P. Singh // *Oxidation communications. Bulgaria.* – 2008. – Vol. 31, № 4. – P. 853-860.
350. **Stadtmauer, E. A.** Conventional-dose chemotherapy compared with high-dose chemotherapy plus autologous hematopoietic stem-cell transplantation for metastatic breast cancer [Text] / E. A. Stadtmauer, A. O. Neill, L. J. Goldstein et al. // *N. Eng. J. Med.* – 2000. – Vol. 342. – P. 1069-1076.
351. **Strong, A.** Cellular immunotherapy for cancer [Text] / A. Strong // *Br. Med. J.* – 2001. – Vol. 323. – P. 1289-1301.

352. T-cell subpopulations in the development of atopic and contact allergy [Text] / G. Giroiomi, S. Sebastiani, C. Albanesi, A. Cavani // *Curr. Opin. Immunol.* – 2001. – Vol. 13, N 6. – P. 733-737.
353. The central role of FcεRI in allergy [Text] / D. Von Bubnoff, N. Novak, S. Kraft, T. Bieber // *Clin. Exp. Dermatol.* – 2003. – Vol. 28, N 2. – P. 184-187.
354. **Tsujihava, K.** A new class of Nitrosoureas. Synthesis of 33-Disubstituted 1-(2-chloroethyl)-1-nitrosoureas [Text] / K. Tsujihava, M. Ozeki // *J. Med. Chem.* – 1982. – Vol. 25, N. 4. – P. 441-446.
355. Tumor cell expression of programmed cell death-1 ligand 1 is a prognostic factor for malignant melanoma [Text] / R. Hino, K. Kabashima, Y. Kato et al. // *Cancer.* – 2010. – Vol. 116, N 7. – P. 1757–1766.
356. **Ueda, K.** Recent progress in Research [Text] / K. Ueda, A. Yoshida, T. Amachi // *Anticancer Drug Des.* – 1999. – Vol. 14, N 2. – P. 115-127.
357. **Watanabe, N.** Coinhibitory molecules in autoimmune diseases [Text] / N. Watanabe, H. Nakajima // *Clin. Dev. Immun.* – 2012. – Vol. 2012. – P. 269-756.
358. Determination of N-nitrosomethylurea in biological fluids by reaction with 4-nitrothiopheno / Yamamoto M., Ishiwata H., Yamada T. et al. // *J. Pineal Res.* - 1996. - 20. - №7. – P. 21-23.
359. Zoledronic acid inhibits proliferation of human fibrosarcoma cells with induction of apoptosis, and shows combined effects with other anticancer agents [Text] / K. Koto, H. Murata, S. Kimura et al. // *Oncol. Rep.* – 2010. – Vol. 24, № 1. – P. 233–239.



КЫРГЫЗСКАЯ РЕСПУБЛИКА



ГОСУДАРСТВЕННАЯ ПАТЕНТНАЯ СЛУЖБА

# ПАТЕНТ

№ 1129

Название изобретения: *Способ лечения асцитной опухоли Эрлиха*

Патентовладелец, страна: *Институт химии и химической технологии НАН КР (KG)*

Автор (авторы): *Камчибекова Ч., Джаманбаев Ж.А., Зурдинов А.З., Атарская Л.И.,  
Абдылдаев Р.А., Шаимбетов Б.О., Абдылдаев Т.А. (KG)*

Заявка № *20070109.1*

Приоритет изобретения *25 июля 2007 года*

Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Кыргызской Республики  
*31 декабря 2008 года*

ПАТЕНТ ПОД ОТВЕТСТВЕННОСТЬ ЗАЯВИТЕЛЯ (ВЛАДЕЛЬЦА) на данное изобретение удостоверяет исключительное право патентоладельца на владение, использование, а также запрещение использования другими лицами на территории Кыргызской Республики

ЭЛ АРАЛЫК ЖОГОРКУ МЕДИЦИНАЛЫК МЕКТЕБИ

МЕЖДУНАРОДНАЯ ВЫСШАЯ  
ШКОЛА МЕДИЦИНЫ



INTERNATIONAL SCHOOL  
OF MEDICINE

Биз Республикасы, Бишкек ш.  
Интергельпо көч. 1Ф, 720054  
Факс: +996 (312) 64-44-02

Кыргызская Республика, г. Бишкек  
ул. Интергельпо 1Ф, 720054  
e-mail: [ism@ism.edu.kg](mailto:ism@ism.edu.kg)

Kyrgyz Republic, Bishkek  
1F, st. Intergalpo, 720054  
[www.ism.edu.kg](http://www.ism.edu.kg)

01

**«УТВЕРЖДАЮ»**

Ректор МВЦМ УИЦК «МУК»  
д.мат., профессор  
Чолиев Ш.М.



2016 г.

**А К Т**

*о реализации научных результатов, полученных в диссертации  
и.о. доцента, к.м.н. Камчибековой Чолиев на соискание ученой степени  
доктора медицинских наук по специальности 14.03.06 - фармакология,  
клиническая фармакология на тему: «Разработки нового  
противоопухолевого лекарственного препарата гликозил-  
нитрозо метилмочевина-1»*

Комиссия в составе: председатель комиссии, проректор по науке,  
д.м.н., профессор Узатов О.Ж., члены комиссии: зав. кафедрой  
педиатрии, акушерства и гинекологии, д.м.н., профессор Алексей В.П.,  
проректор по УВР, к.м.н., доцент Ахунбаев С.М., декан, к.м.н., доцент  
Усенова А.А., секретарь комиссии Исманова К.Н. свидетельствуют о

**том, что при разработке новой противоопухолевой лекарственной субстанции гликозил-НММ-1 были реализованы следующие научные результаты, полученные в докторской диссертации Камчибековой Ч.:**

- проведен поиск, научное обоснование, изучены физико-химические свойства субстанции гликозил-НММ-1;
- фармако-токсикологическая характеристика субстанции гликозил-НММ-1 (острая и хроническая токсичность) в сравнении с циклофосфамидом;
- анатомо-морфологическое исследование внутренних органов и тканей;
- специфическая противоопухолевая активность (ПОА) гликозил-НММ-1 на Асцитной опухоли Эрлиха (АОЭ) (диплоидный вариант) на животных-опухоленосителях. Установлено, что субстанция обладает ПОА, уменьшает объем опухоли, тормозя её рост и удлиняет продолжительность жизни (УПЖ) у животных-опухоленосителей;
- изучены фармакологические свойства гликозил-НММ-1: местно-раздражающее, алергогенное действие, влияние на иммунную систему и др.;
- способ лечения с гликозил-НММ-1 АОЭ (диплоидный вариант) у животных-опухоленосителей;
- субстанция гликозил-НММ-1 может использоваться в качестве нового ПО средства для парентерального введения для лечения опухолевых заболеваний: АОЭ (диплоидный вариант), лейкозы, лейкемии и др. в онкологической практике;
- на субстанцию гликозил-НММ-1 получен патент КР на изобретение «Способ лечения Асцитной опухоли Эрлиха» № 1129.

**Реализация материалов диссертации Камчибековой Ч. позволила:** внедрить материалы диссертации в учебный процесс 2 курса в МВШМ УНПК МУК при выполнении научно-исследовательской работы (НИР), по фармакологии по темам: противоопухолевые препараты: алкилирующие средства: производные класса нитрозоалкилмочевины; хлорэтиламины; этиленимины; производные метансульфоновой кислоты.



Антиметаболиты. Разные синтетические средства. Антибиотики. Вещества растительного происхождения. Гормоны и их антагонисты. Ферменты. Радиоактивные изотопы и др.;

- проводить научное обоснование, поиск соединения гликозил-НММ-1;
- изучить физико-химические и аналитические свойства субстанции;
- определить острую и хроническую токсичность в опытах на разных животных в сравнении с циклофосфамидом;
- проводить анатомо-морфологическое исследование внутренних органов животных в сравнении с циклофосфамидом;
- изучить специфическую ПОА, ПО действие, УПЖ на АОЭ (диплоидный вариант) у животных-опухоленосителей;
- фармакологические свойства гликозил-НММ-1 (местно-раздражающее, аллергогенное действие, влияние на иммунную систему и др.).
- способ лечения АОЭ (диплоидный вариант) у животных-опухоленосителей с гликозил-НММ-1 путем парентерального введения;
- на гликозил-НММ-1 получен патент КР на изобретение «Способ лечения АОЭ (диплоидный вариант) №1129.
- проводить экспериментальные работы, составить планы практических занятий, лекционных курсов; публикации научных материалов.

Материалы диссертации использованы в следующих документах, материалах и разработках:

- Материалы работы использованы в учебном процессе 2 курса в рабочей программе по фармакологии МВШМ УНПК «МУК» (2004-2016 гг.);
  - в тематических планах лекций и практических занятий;
  - в стендовых материалах, слайдах (таблицы, графики, рисунки и др.);
  - в годовых отчетах (2004-2016 гг.) и научных публикациях 1995-2016 гг.;
- при выполнении НИР, экспериментальных работ, проведении практических занятий и лекционных курсов.

По результатам реализации получен следующий положительный эффект:

- Результаты исследования внедрены в учебный процесс среди студентов 2 курса МВШМ УНИК «МУК» при выполнении НИР, практических занятий и лекционных курсов по фармакологии по разделам: лекарственные средства, противоопухолевые препараты, алкилирующие средства, производные класса нитрозоалкилмочевины, хлорэтиламины, элиенимины, метансульфоновой кислоты и разные синтетические средства, антибиотики.

**ПРЕДСЕДАТЕЛЬ КОМИССИИ**

проректор по НИР, д.м.н., проф.


Узиков О.Ж.


**ЧЛЕНЫ КОМИССИИ:**

зав. каф. педиатрии,  
акушерства и гинекологии,  
д.м.н., проф.




Алексеев В.П.

проректор по УВР, доц., к.м.н.



Ахунбаев С.М.

декан, доц., к.м.н.



Уснова А.А.

**СЕКРЕТАРЬ КОМИССИИ:**



Исмаилова К.А.

Қодқисъ Чокиев  
Ст. инспектор



М.ш. заверено:  
Аллуцаева Б.Ф.