



УТВЕРЖДАЮ



Директор ФГБНУ «НИИ МП»,

д.м.н. Орлов С.В.

03

2020 г.

ОТЧЕТ О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ

по теме:

«Изучение действия цитрата железа Синтезит на физиологические показатели обезьян»

Заказчик: ООО «НИЦ Синтезтех», Россия




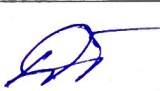
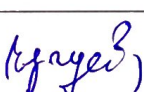
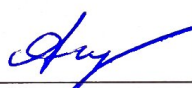
Руководитель
исследования, зав. лаб.
доклинических и
клинических исследований

Карал-оглы Д.Д.

подпись, дата

Сочи, 2020

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

| Ф.И.О. | Ученая степень | Должность | Подпись | Дата |
|--------------------|-----------------------------|-------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| Карал-оглы Д.Д. | кандидат биологических наук | заведующий лабораторией |  | 21.09.2020 |
| Шамсутдинова О.А. | - | научный сотрудник |  | 21.09.2020 |
| Мухаметзянова Е.И. | - | научный сотрудник |  | 21.09.2020 |
| Булгин Д.В. | кандидат медицинских наук | врач-патологоанатом |  | 21.09.2020 |
| Чугуева И.И. | - | ветеринарный врач |  | 21.09.2020 |
| Демерчян А.А. | - | ветеринарный фельдшер |  | 21.09.2020 |

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

| | |
|----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| АлАТ | Аланинаминотрансфераза |
| АсАТ | Аспаргатаминотрансфераза |
| ГОСТ | государственный стандарт |
| ИИН | индивидуальный инвентарный номер |
| ЛДГ | Лактатдегидрогеназа |
| ООО | общество с ограниченной ответственностью |
| СОП | стандартная операционная процедура |
| СОЭ | скорость оседания эритроцитов |
| ФГБНУ «НИИ МП» | Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии» |
| ФЗ | Федеральный закон |
| ЩФ | щелочная фосфатаза |
| ВА | базофилы |
| ЕО | эозинофилы |
| GLP | «Good Laboratory Practice» — «Надлежащая лабораторная практика» |
| Hct | гематокрит |
| Hgb | гемоглобин |
| LY | лимфоциты |
| MCH | Цветовой показатель |
| MCV | средний объем клетки (эритроциты) |
| МО | моноциты |
| NE | нейтрофилы |
| Plt | количество тромбоцитов |
| RBC | Количество эритроцитов |
| WBC | Количество лейкоцитов |

Оглавление

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ | 2 |
| СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ..... | 3 |
| 1. ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ ОБ ИССЛЕДОВАНИИ | 7 |
| 1.1. Название исследования | 7 |
| 1.2. Цель исследования..... | 7 |
| 1.3. Регулирующие стандарты | 7 |
| 1.4. Стандарты, регулирующие обращение с животными..... | 8 |
| 1.5. Заказчик исследования | 8 |
| 1.6. Испытательный центр доклинической части исследования..... | 8 |
| 1.7. Сроки проведения доклинической части исследования | 8 |
| 1.8. Обоснование исследования..... | 9 |
| 1.9. Обоснование выбора экспериментальных животных | 9 |
| 1.10. Обоснование способа введения изучаемого препарата..... | 9 |
| 1.11. Заявление исследователей..... | 9 |
| 1.12. Комиссия по биоэтике | 10 |
| 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ..... | 10 |
| 2.1. Лабораторные приматы | 10 |
| 2.2. Материалы и оборудование | 11 |
| 2.3. Исследуемый препарат и препарат сравнения..... | 12 |
| 3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ПРОЦЕДУРЫ..... | 13 |
| 3.1. Методология процедур..... | 13 |
| 3.2. Приготовление растворов препарата для внутривенного введения и процедура введения..... | 14 |
| 3.3. Архивирование..... | 14 |
| 4. РЕЗУЛЬТАТЫ..... | 15 |
| 4.1. Результаты клинического наблюдения..... | 15 |
| 4.2. Оценка потребления корма | 18 |
| 4.3. Динамика массы тела..... | 18 |
| 4.4. Гематологический анализ..... | 20 |
| 4.5. Биохимический анализ | 25 |
| ЗАКЛЮЧЕНИЕ..... | 31 |
| СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | 33 |
| Приложение 1. Заключение комиссии по биоэтике. | 34 |

Приложение 2. Отчёт по теме: «Влияние длительного приёма витаминно-минерального комплекса на основе цитрата железа на клеточные показатели костного мозга у мышей» ...36

РЕФЕРАТ

Целью настоящего исследования являлось изучение влияния цитрата железа Синтезит на биохимические и гематологические показатели старых обезьян макак резус Адлерского питомника.

В ходе исследования необходимо решить следующие задачи:

- оценить в динамике влияние цитрата железа Синтезит на биохимические показатели старых обезьян макак резус;
- оценить в динамике влияние цитрата железа Синтезит на гематологические показатели старых обезьян макак резус;
- оценить влияние на изменения массы тела экспериментальных животных.

Доклиническая часть исследования проведена с участием 8 (восьми) клинически здоровых обезьян (*Macaca mulatta*), самцов, возрастом 22-25 лет, весом 6,54 – 11,3 кг. Животные, участвующие в эксперименте, не использовались ранее в каких-либо экспериментах и находились в жилых клетках на свободном двигательном режиме.

Длительность периода адаптации составила 14 дней. Контролем в исследовании служили фоновые показатели гематологического и биохимического анализов экспериментальных животных.

Цитрат железа Синтезит вводился перорально, ежедневно, в течение 6 недель.

Длительность эксперимента составила 54 суток. На протяжении всего эксперимента, в заданные временные промежутки проводились: отбор образцов крови для гематологического анализа и подготовка сыворотки для дальнейшего биохимического анализа, клиническое наблюдение с оценкой клинического статуса и симптомов интоксикации, оценка массы тела. На основании данных, полученных в результате проведенного исследования можно заключить, что исследуемый препарат цитрат железа Синтезит при многократном пероральном введении не оказал токсического действия на экспериментальных животных.

В результате исследования установлено, что многократное пероральное введение в дневной дозе 2,4 мг/животное удовлетворительно переносится экспериментальными животными.

За время всего эксперимента летальности в группах не наблюдалось, не было выявлено изменений в клиническом статусе животных, препарат не оказывал, не приводил к значительной потере массы тела экспериментальных животных.

Отчет включает 39 страниц, 10 таблиц, 3 рисунка и 2 приложения.

Ключевые слова: обезьяна, макак резус (*Macaca mulatta*), цитрат железа Синтезит

1. ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ ОБ ИССЛЕДОВАНИИ

1.1. Название исследования

Изучение действия цитрата железа Синтезит на физиологические показатели обезьян

1.2. Цель исследования

Изучение действия цитрата железа Синтезит на физиологические показатели и клинический статус экспериментальных животных.

1.3. Регулирующие стандарты

Основными документами, регламентирующими проведение исследования, являются:

- Федеральный закон от 12.04.2010 № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств»;
- Приказ от 1 апреля 2016 года N 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики»;
- Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 81 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств»;
- Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств (под ред. Миронова А.Н., М., ФГБУ «НЦЭМСП»- 2012 г., в 2-х томах), Москва 2012;
- Руководство по экспертизе лекарственных средств. Том IV. (под ред. Миронова А.Н., М.: ПОЛИГРАФ-ПЛЮС, 2014 – 172 с.);
- ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики»;
- ГОСТ Р 56699-2015 «Лекарственные средства для медицинского применения. Доклинические исследования безопасности биотехнологических лекарственных препаратов. Общие рекомендации»;
- Draft consensus guideline Addendum to ICH S6: Preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals. – 2009;
- Concept paper on the development of a guideline on similar biological products containing monoclonal antibodies – EMEA. – 2009;
- ICH harmonized tripartite guideline Nonclinical evaluation for anticancer pharmaceuticals S 9. – 2009;
- ICH harmonized tripartite guideline Preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals S6. – 1997;
- правила проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза, утвержденные решением Совета Евразийской экономической комиссии от 03 ноября 2016 г. № 85;

Изучение действия цитрата железа Синтезит на физиологические показатели обезьян

- правила проведения исследований биологических лекарственных средств на территории Евразийского экономического союза, утвержденные решением Совета Евразийской экономической комиссии от 03 ноября 2016 г. № 89.

1.4. Стандарты, регулирующие обращение с животными

- ГОСТ Р 55453-2013 «Корма для непродуктивных животных. Общие технические условия»;
- Руководство по содержанию и использованию лабораторных животных «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals», ISBN: 978-0-309-08389-8, 154, pages, 1996;
- Руководство по содержанию и использованию лабораторных животных Phoenix Control Vivarium Sourcebook;
- Санитарные правила СП 2.2.1.3218-14 "Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)" от 29 августа 2014 года N 51.

1.5. Заказчик исследования

Организация: ООО «НИЦ Синтезтех», Россия

Адрес: 354002, Краснодарский край, г.Сочи, Проспект Курортный,
д.73, офис 302А.

1.6. Испытательный центр доклинической части исследования

Организация: ФГБНУ «НИИ МП»

Адрес: 354376, Краснодарский край, г. Сочи, Адлерский район,
с. Весёлое, ул. Мира, д.177

Телефон: +7 (862) 243-24-03

Руководитель Орлов С.В.

e-mail: orlov@primatologia.ru

1.7. Сроки проведения доклинической части исследования

18.07.2019- дата инициации исследования;

23.07.2020 - дата начала эксперимента;

14.09.2020 - дата окончания эксперимента;

24.09.2020- дата окончания доклинической части исследования (составление отчета).;

Изучение действия цитрата железа Синтезит на физиологические показатели обезьян

1.8. Обоснование исследования

Цитрат железа «СИНТЕЗИТ» является биологически активной добавкой. Препарат способствует восстановлению нормального количества здоровых стволовых клеток, восстановлению иммунитета, повышению выносливости, работоспособности, снижению утомляемости, росту и укреплению волос и ногтей, поддержанию уровня гемоглобина, повышению сопротивляемости организма. Цитрат железа Синтезит является дополнительным источником биогенного, биодоступного, легкоусваиваемого железа, который обеспечивает хорошую усвояемость и переносимость без побочных эффектов[5].

1.9. Обоснование выбора экспериментальных животных

Широко известно, что филогенетическое родство представителей отряда приматов делает обезьян релевантной моделью для воспроизведения на них различных патологических состояний человека [1,2,3].

В последнее время возросла потребность в апробации на обезьянах биологических лекарственных препаратов, биологически активных добавок. Доклинические исследования МкАт, в модельных экспериментах на обезьянах является важным этапом перед изучением в клинических исследованиях с участием человека [1,4].

В исследование было включено 8 особей макак резус, самцов, в возрасте 22-25 лет, весом 6,54 – 11,3 кг. Количество животных, используемых в исследовании, является оптимальным с точки зрения этических принципов, при этом достаточным для значимой регистрации изучаемых эффектов. В качестве контроля использовались фоновые значения экспериментальных животных.

Исследование выполнялось по Договору № 4/02-20НТС от 09 июля 2020 г между ФГБНУ «НИИ МП» (Сочи, Россия) и ООО «НИЦ Синтезтех», Россия.

1.10. Обоснование способа введения изучаемого препарата

Способ введения цитрата железа СИНТЕЗИТ – пероральный, подобран с учетом данных инструкции по медицинскому применению препарата [5].

Цитрат железа «СИНТЕЗИТ» вводился сразу после приготовления, однократно, перорально, в первой половине дня.

1.11. Заявление исследователей

Члены исследовательской команды и руководитель доклинического исследования обязуются предоставлять достоверные данные и соблюдать конфиденциальность при проведении доклинического исследования.

1.12. Комиссия по биоэтике

На заседании комиссии по биоэтике, состоявшемся 21.07.2020 года, была подтверждена необходимость проведения исследования «Изучение действия цитрата железа Синтезит на физиологические показатели обезьян» на старых обезьянах *Macaca mulatta*, общее количество животных, участвующих в эксперименте – 8 голов. Гарантировано использование животных в научных целях в соответствии с общепризнанными научными, этическими и юридическими нормами, подтверждена ответственность исследователей, деятельность которых подлежит контролю со стороны комиссии по биоэтике. Будут приняты все меры по минимизации боли и дистресса у животных.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Лабораторные приматы

В исследование было включено 8 старых самцов макак резус возрастом 22-25 лет, весом 6,54 – 11,3 кг. Возрастные животные были выбраны для изучения действия цитрата железа «СИНТЕЗИТ» на их физиологические показатели с возможностью улучшения качества жизни старых особей. Источник получения животных: ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии» (индивидуальные инвентарные номера (ИИН) предварительно были наколоты на внутренней поверхности бедра животных).

В качестве контроля служили фоновые значения физиологических показателей экспериментальных животных.

Животные содержались в индивидуальных клетках, на которых указывались: номер животного, группа, ИИН и доза вводимого препарата. Клетки оборудованы автоматическими поилками. Температура окружающего воздуха 24 ± 2 °C; относительная влажность 65 ± 5 %; естественная продолжительность светового дня.

Ежедневно с утра кормушки очищали от остатков вечернего корма, поддоны тщательно мыли. При загрязнении клетки экскрементами животное извлекали из клетки в переносную клетку, стационарную клетку тщательно мыли, после чего животное помещали обратно.

Пищевой рацион был сбалансирован по белкам, жирам, углеводам. По составу корм содержал пищевые волокна и клетчатку, состоял из: полнорационного комбикорма, фруктов, овощей, брикетированного корма по средним нормативам потребления корма. Кормление животных осуществляли ежедневно, в три этапа: 8 ч – 9 ч гранулированный комбикорм; 11 ч – 12 ч сочные корма (фрукты, овощи); 14.00 ч – 15.00 ч- гранулированный комбикорм. Животные без ограничения получали воду из центрального водопровода.

Изучение действия цитрата железа Синтезит на физиологические показатели обезьян

Приматы проходили обязательный этап адаптации к условиям содержания и персоналу, в течение 14 дней до начала эксперимента. В период адаптации всем животным была проведена туберкулиновая проба и дегельминтизация.

Все манипуляции с животными проводили в строгом соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей от 18 марта 1986 года. (Текст изменен в соответствии с положениями Протокола (ETS № 170), дата его вступления в силу 2 декабря 2005 года) и Guide for the care and use of laboratory animals. National Academy press. –Washington, D.C. 1996.

Ежедневная доза цитрата железа «СИНТЕЗИТ» в настоящем исследовании при пероральном введении составила 2,4 мг/животное.

Идентификационные номера обезьян, даты рождения, масса тела и объемы введения представлены в таблице № 1.

Таблица 1

Распределение обезьян по группам

| №№ обезьяна | Дата рождения | Вес, кг | Объем вводимого препарата, per os (24 мг по цитрату железа на обезьяну) |
|-------------|---------------|---------|-------------------------------------------------------------------------|
| 32985♂ | 11.08.97 | 6,85 | 5 мл |
| 32230♂ | 26.03.96 | 6,54 | 5 мл |
| 32474♂ | 11.07.96 | 10,10 | 5 мл |
| 33260♂ | 22.05.98 | 11,15 | 5 мл |
| 32809♂ | 15.05.97 | 9,50 | 5 мл |
| 31912♂ | 22.06.95 | 11,30 | 5 мл |
| 32379♂ | 30.05.96 | 10,25 | 5 мл |
| 32411♂ | 11.06.96 | 7,05 | 5 мл |

2.2. Материалы и оборудование

Расходные материалы:

1. Шприцы одноразовые стерильные, 5 мл, лот: 190418, срок годности 03.2024, Германия;
2. Пробирки микроцентрифужные типа Eppendorf, 1,5 мл, лот 11005503, срок годности 09.2023, КНР;
3. Пробирки с активатором сгустка гелем, вакуумные, 5 мл, лот: A19033CR, срок годности 09.04.2021, Greiner Bio-One, Австрия;
4. 1. Набор для определения глюкозы в сыворотке «Gluco-DAC.Lq», кат.№ 3044G500, lot 371/500, годен до 10.2020.
5. 2. Набор для определения щелочной фосфатазы в сыворотке «ALP-DAC», кат.№ 2005A100, lot 64/100, годен до 01.2021.

Изучение действия цитрата железа Синтезит на физиологические показатели обезьян

6. 3. Набор для определения аланинаминотрансферазы в сыворотке «ALT-UV-DAC.Lq», кат.№ 2010A150, lot 76/150, годен до 01.2021.
7. 4. Набор для определения аспаратаминотрансферазы в сыворотке «AST-UV-DAC.Lq», кат.№ 2025A150, lot 77/150, годен до 03.2021.
8. 5. Набор для определения общего билирубина в сыворотке «Bili T-DAC.Lq», кат.№ 3006B100, lot 157/100, годен до 02.2021.
9. 6. Набор для определения мочевины в сыворотке «Ure UV-DAC.Lq», кат.№ 3094U500, lot 86/500, годен до 11.2020.
10. 7. Набор для определения креатинина в сыворотке «Crea Kinetic-DAC.Lq», кат.№ 3035C500, lot 118/500, годен до 11.2021.
11. 8. Набор для определения холестерина в сыворотке «Chol-DAC.Lq», кат.№ 3017C200, lot 229/200, годен до 03.2021.
12. 9. Набор для определения триглицеридов в сыворотке «TG-DAC.Lq», кат.№ 3085T250, lot 182/250, годен до 10.2020.
13. 10. Набор для определения общего белка в сыворотке «Prote-DAC.Lq», кат.№ 3070P1000, lot 149/1000, годен до 11.2020.
14. 11. Набор для определения альбумина в сыворотке «Albu-DAC.Lq», кат.№ 3002A250, lot 85/250, годен до 02.2021.
15. 12. Набор для определения натрия в сыворотке «Натрий-Ольвекс», кат.№ 027.011, годен до 11.2020.
16. 13. Набор для определения калия в сыворотке «Potassium-DAC.Lg», кат.№ 3066P250, lot PF05191C/250, годен до 03.2021.
17. 14. Набор для определения железа в сыворотке «Iron Ferr-DAC.Lq», кат.№ 3056I100, lot 96/100, годен до 12.2020.
18. Пробирки для общего анализа крови Microvette с КЗЭДТА, 0,2 мл, лот 9071815, срок годности 03.2021, SARSTEDT AG & Co. KG, Германия;

Оборудование:

1. Весы электронные для взвешивания обезьян ТВ-V-2-A1, С-Петербург, Россия.
2. Центрифуга Eppendorf Centrifuge 5702 R, Германия.
3. Автоматический биохимический анализатор – BioLit – 8020, URIT Medical Electronic CO., LTD, Великобритания;
4. Гематологический анализатор МЕК-7300 К, NIHON KONDEN, Япония

2.3. Исследуемый препарат и препарат сравнения

Исследуемый препарат

Изучение действия цитрата железа Синтезит на физиологические показатели обезьян

Цитрат железа «СИНТЕЗИТ»

Условия хранения: хранить при комнатной температуре в защищенном от света месте.

3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ПРОЦЕДУРЫ

3.1. Методология процедур

На протяжении эксперимента ежедневно проводился осмотр животных с оценкой клинического статуса и симптомов интоксикации.

В динамике оценивали: массу тела, а также потребление корма. Потребление корма оценивали по количеству еды, оставшейся в кормушках после окончания очередного приема пищи животным.

В определенные временные промежутки (таблица 2) проводился отбор крови из паховой вены задних конечностей приматов для дальнейшего изучения гематологических и биохимических параметров.

Кровь отбирали одноразовыми стерильными шприцами в специализированные вакуумные пробирки с активатором сгустка гелем (VACUETTE, 5 мл).

Из крови получали сыворотку путем центрифугирования при 3500 об/мин для дальнейшего изучения биохимических показателей.

График проводимых процедур и манипуляций, частота регистрации показателей в данном исследовании представлены в таблице 2.

Таблица 2

График проводимых процедур и манипуляций, частота регистрации показателей

| Параметры | Группа тестов | Название тестов | Частота регистрации |
|---------------------|-------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Введение препаратов | - | - | Препарат вводят многократно, ежедневно в первой половине дня перорально, ежедневная доза 2,4 мг/животное |
| Исследования крови | Гематологический анализ | гемоглобин количество эритроцитов цветовой показатель количество лейкоцитов лейкоформула (лимфоциты, моноциты, нейтрофилы, эозинофилы, базофилы) | До введения, 15-й день, 29-й день, 43-й день, 50-й день |

| Параметры | Группа тестов | Название тестов | Частота регистрации |
|--------------------|-------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| | Биохимический анализ | Альбумин, глюкоза, мочевины, билирубин, общий, общий холестерин, триглицериды, креатинин, АСАТ, АЛАТ, Fe, щелочная фосфатаза, калий, натрий | До введения, 15-й день, 29-й день, 43-й день, 50-й день |
| Клинический осмотр | Интегральные показатели | Внешний вид, состояние шерстного покрова, состояние глаз, носа/дыхание, характер стула, аппетит, окраска слизистых оболочек. Положение тела животного, поведение и координация движений, особое внимание уделяют поведенческим реакциям животных, как основному показателю, отражающему состояние нервной системы. | ежедневно |
| | | Прирост массы тела от фоновых значений | еженедельно |
| | | Потребление пищи за сутки | ежедневно |

3.2. Приготовление растворов препарата для внутривенного введения и процедура введения

Способ введения исследуемых препаратов – пероральный.

Содержимое пробирки, содержащее дневную дозу для обезьяны-2,4 мг, разводили в 5 мл теплой воды, после чего набирали в шприц для дальнейшего перорального введения животным.

3.3. Архивирование

По окончании исследования и подписания Заказчиком Акта выполненных работ все материалы исследования будут сданы в архив, который находится по адресу: ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии», 354376, Российская Федерация, Краснодарский край, г.Сочи, Адлерский р-н, с. Весёлое, ул. Мира, д.177, а именно:

- данные клинического наблюдения за животными во время исследования;
- данные массы тела;

Изучение действия цитрата железа Синтезит на физиологические показатели обезьян

- первичные данные по гематологическому анализу;
- первичные данные по биохимическому анализу;

Указанные материалы исследования будут храниться в архиве на протяжении не менее 5 лет, после чего возможность утилизации материалов будет согласована с Заказчиком.

4. РЕЗУЛЬТАТЫ

4.1. Результаты клинического наблюдения

При осуществлении клинического наблюдения на протяжении всего эксперимента не отмечалось негативной динамики, с изменениями тяжелой степени, связанной с применением исследуемого препарата цитрата железа «СИНТЕЗИТ». Результаты клинического наблюдения на протяжении всего эксперимента представлены в приложении 3.

Результаты клинического наблюдения представлены в таблицах 3-4.

Таблица 3

Данные клинического осмотра первого месяца эксперимента

| | | | | | | | | | | | |
|-------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| 25.08.20 | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z |
| 24.08.20 | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z |
| 23.08.20 | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z |
| 22.08.20 | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z |
| 21.08.20 | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z |
| 20.08.20 | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z |
| 19.08.20 | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z |
| 18.08.20 | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z |
| 17.08.20 | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z |
| 16.08.20 | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z |
| 15.08.20 | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z |
| 14.08.20 | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z |
| 13.08.20 | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z |
| 12.08.20 | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z |
| 11.08.20 | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z |
| 10.08.20 | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z |
| 09.08.20 | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z |
| 08.08.20 | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z |
| 07.08.20 | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z |
| 06.08.20 | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z |
| 05.08.20 | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z |
| 04.08.20 | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z |
| 03.08.20 | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z |
| 02.08.20 | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z |
| 01.08.20 | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z |
| 31.07.20 | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z |
| 30.07.20 | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z |
| 29.07.20 | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z |
| 28.07.20 | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z |
| 27.07.20 | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z |
| Фон | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z | Z |
| ИИН, пол | 32985♂ | 32230♂ | 32474♂ | 33260♂ | 32809♂ | 31912♂ | 32379♂ | 32411♂ | 32985♂ | 32230♂ | |

Данные клинического осмотра второго месяца эксперимента

| ИИН, пол | Фон | 26.08.20 | 27.08.20 | 28.08.20 | 29.08.20 | 30.08.20 | 31.08.20 | 01.09.20 | 02.09.20 | 03.09.20 | 04.09.20 | 05.09.20 | 06.09.20 | 07.09.20 | 08.09.20 | 09.09.20 | 10.09.20 | 11.09.20 | 12.09.20 | 13.09.20 | 14.09.20 | | | |
|-------------|-----|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|---|---|---|
| 32985♂ | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | | |
| 32230♂ | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | |
| 32474♂ | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | |
| 33260♂ | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N |
| 32809♂ | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N |
| 31912♂ | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N |
| 32379♂ | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N |
| 32411♂ | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N |
| 32985♂ | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N |
| 32230♂ | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N |

Клинические наблюдения не выявили отклонений в ходе эксперимента у животных.

Таким образом, по результатам проведенного исследования можно заключить, что пероральное введение препарата цитрат железа «СИНТЕЗИТ» не вызывало изменений в клиническом статусе животных.

4.2. Оценка потребления корма

Потребление корма оценивали ежедневно у каждого животного. Отклонения в потреблении корма зафиксированы у трех животных, однако эти явления были обратимыми.

19.08.20: № 32474-снижение аппетита, утром не съедены яблоки, вечером-гранулированный корм

№ 33260-не съедены гранулы

20.08.20: № 32474, 33260- не съеден гранулированный корм

21.08.20: № 32474, 33260-аппетит снижен, часть гранул осталась несъеденной

22.08.2020: № 32474, 33260- не съеден гранулированный корм

23.08.20: № 32474, 33260,32411- не съеден гранулированный корм

24.08.20: № 32474, 33260,32411- не съеден гранулированный корм

25.08.20-состояние всех обезьян стабилизировалось, животными съеден весь суточный объем пищи.

4.3. Динамика массы тела

На протяжении всего исследования, еженедельно, проводилась оценка влияния препарата на массу тела экспериментальных животных, с использованием весов электронных для взвешивания обезьян (ТВ-V-2-A1, Санкт-Петербург, Россия). В таблице 5 представлены результаты изменения массы тела обезьян в динамике (индивидуальные значения).

Таблица 5

Масса тела (кг) экспериментальных животных в динамике

| ИН обезьяны | Группа/доза Объем вводимого препарата, per os (24 мг по цитрату железа на обезьяну) | 0 (фон) | Дни | | | | |
|----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|---------|-------------|-------------|-------------|----------|
| | | | 8й день | 15й день | 22й день | 29й день | 37й день |
| 32985♂ | 5 мл/животное | 6,850 | 6,840 | 6,700 | 6,700 | 6,550 | 6,600 |
| 32230♂ | | 6,540 | 6,600 | 6,400 | 6,300 | 6,200 | 6,200 |
| 32474♂ | | 10,100 | 10,120 | 10,100 | 9,950 | 9,800 | 9,650 |
| 33260♂ | | 11,150 | 11,120 | 11,050 | 10,800 | 10,600 | 10,450 |
| 32809♂ | | 9,500 | 9,680 | 9,450 | 9,200 | 9,100 | 9,050 |
| 31912♂ | | 11,300 | 11,340 | 11,200 | 11,300 | 11,350 | 11,400 |
| 32379♂ | | 10,250 | 10,350 | 10,100 | 10,000 | 9,950 | 10,000 |
| 32411♂ | | 7,050 | 7,010 | 6,850 | 6,800 | 6,650 | 6,650 |

В таблице 6 приведен статистический анализ изменения массы тела экспериментальных животных в динамике.

Изучение действия цитрата железа Синтезит на физиологические показатели обезьян

Статистический анализ был выполнен с помощью лицензионной программы СТАТИСТИКА 6.

Поскольку единственным изменяемым параметром было введение обезьянам препарата, нами был использован однофакторный дисперсионный анализ (one-way ANOVA).

В табл.6 показана динамика изменения среднего веса обезьян по группам. Как видно из представленных данных, не было достоверных различий между исходными значениями и данными, полученными в процессе поения обезьян препаратом.

Таблица 6

Динамика изменения среднего веса обезьян по группам ($M \pm m$)

| Параметр | Дни от начала эксперимента | | | | | |
|----------------------|----------------------------|------|------|------|------|------|
| | Фон | 8 | 15 | 22 | 29 | 37 |
| M | 9,09 | 9,44 | 8,98 | 8,88 | 8,78 | 8,75 |
| m | 1,98 | 1,94 | 2,01 | 1,99 | 2,02 | 2,00 |
| Аноva, p Фон/День | | 0,74 | 0,91 | 0,83 | 0,76 | 0,74 |

Изучение действия цитрата железа Синтезит на физиологические показатели обезьян

Снижение массы тела по сравнению с исходными значениями можно объяснить стрессом, испытываемом животными при ежедневных манипуляциях/поении. Также существует вероятность, что употребление цитрата железа "Синтезит" обеспечивает обезьян необходимым объемом микроэлементов железа. Это ведет к снижению потребности в количестве еды, что сказывается на некотором снижении веса. По данным представителей "НИЦ Синтезтех" подобное снижение потребности в еде и снижении веса наблюдается у людей, употребляющих "Синтезит".

4.4. Гематологический анализ

В динамике - до введения, 15-й день, 29-й день, 43-й день, 50-й день-проводили гематологический анализ экспериментальных животных. Полученные данные приведены в таблице 7.

Таблица 7

Гематологический анализ экспериментальных животных

| Обезьяны, пол | Показатели гематологического анализа | | | | | | | | | | | СО ₂ , мм/ч (1-5) | |
|--------------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------|------------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------------------------------|--------------------------------------------|-------------|----------------|---------------|-------------|------------------------------------|-----|
| | Дата взятия крови | Клинический анализ крови | | | | Лейкоцитарная формула, % | | | | | | | |
| RBC, × 10 ¹² /л (5,0-6,2) | | MCV, фл (52-97) | Hgb, г/л (110- 145) | MCH, пг (238- 442) | Hct, % (26,0- 45,0) | Plt, × 10 ⁹ /л (200- 400) | WBC, × 10 ⁹ /л (5,5-13,0) | MO (1-5) | LY, (25-55) | NE (35-65) | EO (1-5) | BA (0-2) | |
| 32985 ♂ | 23.07.2020 | 6,26 | 73,0 | 153 | 24,4 | 45,7 | 275 | 9,4 | 5,4 | 36,7 | 55,2 | 1,8 | 0,9 |
| | 10.08.2020 | 5,69 | 74,0 | 143 | 25,1 | 42,1 | 357 | 7,5 | 3,9 | 40,8 | 52,9 | 1,5 | 0,9 |
| | 24.08.2020 | 6,08 | 73,8 | 150 | 24,7 | 44,9 | 378 | 9,5 | 2,7 | 28,1 | 67,8 | 0,7 | 0,7 |
| | 7.09.2020 | 6,24 | 73,6 | 152 | 24,4 | 45,9 | 321 | 7,7 | 3,1 | 30,7 | 64,2 | 1,2 | 0,8 |
| | 14.09.2020 | 6,07 | 73,8 | 153 | 25,2 | 44,8 | 321 | 8,5 | 2,3 | 33,7 | 62,5 | 0,9 | 0,6 |
| 32230 ♂ | 23.07.2020 | 7,08 | 70,9 | 169 | 23,9 | 50,2 | 343 | 11,0 | 4,7 | 53,5 | 38,0 | 3,2 | 0,6 |
| | 10.08.2020 | 5,86 | 71,3 | 141 | 24,1 | 41,8 | 373 | 9,3 | 4,4 | 57,2 | 32,3 | 5,3 | 0,8 |
| | 24.08.2020 | 5,83 | 71,4 | 140 | 24,0 | 41,6 | 393 | 9,9 | 4,0 | 43,6 | 48,6 | 3,3 | 0,5 |
| | 7.09.2020 | 6,29 | 70,6 | 149 | 23,7 | 44,4 | 414 | 12,6 | 4,1 | 39,1 | 48,6 | 7,3 | 0,9 |
| | 14.09.2020 | 5,92 | 71,6 | 144 | 24,3 | 42,4 | 357 | 13,0 | 3,8 | 41,4 | 49,5 | 4,8 | 0,5 |
| 32474 ♂ | 23.07.2020 | 7,25 | 70,2 | 169 | 23,3 | 50,9 | 329 | 6,4 | 6,7 | 38,9 | 51,6 | 2,0 | 0,8 |
| | 10.08.2020 | 6,24 | 69,9 | 148 | 23,7 | 43,6 | 514 | 7,2 | 5,8 | 34,8 | 57,2 | 0,9 | 1,3 |
| | 24.08.2020 | 6,29 | 69,6 | 147 | 23,4 | 43,8 | 489 | 9,3 | 6,0 | 29,7 | 62,3 | 1,0 | 1,0 |

Изучение действия цитрата железа Синтезит на физиологические показатели обезьян

| | | | | | | | | | | | | | | |
|---------|------------|------|------|-----|------|------|-----|------|-----|------|------|-----|-----|---|
| 33260 ♂ | 7.09.2020 | 7,36 | 69,7 | 169 | 23,0 | 51,3 | 394 | 7,6 | 4,7 | 23,3 | 69,9 | 1,5 | 0,6 | 1 |
| | 14.09.2020 | 7,37 | 69,3 | 173 | 23,5 | 51,1 | 401 | 9,1 | 4,7 | 32,8 | 61,1 | 0,5 | 0,9 | 1 |
| | 23.07.2020 | 6,51 | 69,7 | 152 | 23,3 | 45,4 | 283 | 12,7 | 2,6 | 41,5 | 52,7 | 2,6 | 0,6 | 1 |
| | 10.08.2020 | 6,36 | 70,0 | 149 | 23,4 | 44,5 | 426 | 11,5 | 3,3 | 38,2 | 56,7 | 1,3 | 0,5 | 1 |
| 32809 ♂ | 24.08.2020 | 5,99 | 69,9 | 143 | 23,9 | 41,9 | 367 | 10,5 | 3,5 | 29,3 | 65,8 | 0,7 | 0,7 | 2 |
| | 7.09.2020 | 6,49 | 69,8 | 150 | 23,1 | 45,3 | 415 | 13,0 | 3,9 | 28,5 | 65,8 | 1,0 | 0,8 | 1 |
| | 14.09.2020 | 6,50 | 70,2 | 150 | 23,1 | 45,6 | 322 | 13,6 | 1,8 | 35,7 | 61,3 | 0,7 | 0,5 | 1 |
| | 23.07.2020 | 5,17 | 72,7 | 128 | 24,8 | 37,6 | 242 | 10,3 | 4,0 | 58,3 | 35,5 | 1,1 | 1,1 | 1 |
| 31912 ♂ | 10.08.2020 | 5,28 | 73,3 | 131 | 24,8 | 38,7 | 348 | 9,5 | 5,2 | 49,3 | 42,3 | 0,6 | 2,6 | 1 |
| | 24.08.2020 | 5,15 | 73,0 | 126 | 24,5 | 37,6 | 318 | 10,3 | 5,6 | 40,9 | 51,1 | 0,7 | 1,7 | 1 |
| | 7.09.2020 | 5,51 | 73,3 | 134 | 24,3 | 40,4 | 323 | 15,4 | 4,1 | 40,5 | 53,2 | 0,4 | 1,8 | 1 |
| | 14.09.2020 | 5,57 | 73,1 | 135 | 24,2 | 40,7 | 260 | 11,4 | 4,0 | 52,1 | 41,6 | 0,6 | 1,7 | 1 |
| 32379 ♂ | 23.07.2020 | 6,63 | 74,1 | 165 | 24,9 | 49,1 | 399 | 6,5 | 5,4 | 46,6 | 40,7 | 6,1 | 1,2 | 1 |
| | 10.08.2020 | 6,51 | 73,9 | 163 | 25,0 | 48,1 | 516 | 6,1 | 5,5 | 38,6 | 49,9 | 5,1 | 0,9 | 1 |
| | 24.08.2020 | 6,23 | 74,8 | 156 | 25,0 | 46,6 | 504 | 5,3 | 5,0 | 35,3 | 53,5 | 5,1 | 1,1 | 1 |
| | 7.09.2020 | 6,39 | 74,3 | 161 | 25,2 | 47,5 | 475 | 5,5 | 5,4 | 43,9 | 44,8 | 4,5 | 1,4 | 1 |
| 32411 ♂ | 14.09.2020 | 6,62 | 74,2 | 161 | 24,3 | 49,1 | 434 | 6,3 | 4,9 | 42,4 | 47,9 | 3,8 | 1,0 | 1 |
| | 23.07.2020 | 7,71 | 70,4 | 176 | 22,8 | 54,3 | 231 | 10,7 | 7,1 | 52,1 | 38,8 | 1,0 | 1,0 | 1 |
| | 10.08.2020 | 6,86 | 69,4 | 161 | 23,5 | 47,6 | 322 | 12,1 | 5,3 | 39,4 | 54,2 | 0,7 | 0,4 | 1 |
| | 24.08.2020 | 6,65 | 70,1 | 154 | 23,2 | 46,6 | 302 | 11,9 | 5,3 | 44,6 | 48,1 | 0,8 | 1,2 | 1 |
| 32411 ♂ | 7.09.2020 | 6,92 | 69,1 | 159 | 23,0 | 47,8 | 338 | 11,4 | 6,6 | 41,6 | 49,5 | 1,3 | 1,0 | 2 |
| | 14.09.2020 | 7,62 | 69,6 | 171 | 22,4 | 53,0 | 315 | 14,8 | 4,2 | 41,2 | 53,7 | 0,7 | 0,2 | 1 |
| | 23.07.2020 | 6,13 | 68,2 | 139 | 22,7 | 41,8 | 215 | 9,4 | 6,3 | 39,2 | 51,8 | 1,5 | 1,2 | 1 |
| | 10.08.2020 | 6,02 | 67,9 | 134 | 22,3 | 40,9 | 312 | 8,3 | 4,0 | 34,0 | 58,8 | 2,1 | 1,1 | 1 |
| 32411 ♂ | 24.08.2020 | 5,74 | 68,6 | 133 | 23,2 | 39,4 | 280 | 9,7 | 4,2 | 52,6 | 60,2 | 2,1 | 0,9 | 2 |
| | 7.09.2020 | 5,91 | 68,2 | 135 | 22,8 | 40,3 | 311 | 9,1 | 5,3 | 31,4 | 61,0 | 1,4 | 0,9 | 3 |
| | 14.09.2020 | 6,17 | 68,6 | 139 | 22,5 | 42,3 | 300 | 9,7 | 4,5 | 36,7 | 56,5 | 1,4 | 0,9 | 2 |

В таблице 8 приведены результаты статистического анализа гематологических показателей экспериментальных животных.

Результаты статистической обработки показателей гематологического анализа

| Дата | Параметр | Клинический анализ крови | | | | | | | Лейкоцитарная формула, % | | | | | | СОЭ |
|------------|-------------------------|-------------------------------|------------|-----------|------------|-----------|-----------|-----------|--------------------------|-------|-------|------|------|------|-----|
| | | RBC, × 10 ¹² /л | MCV, фл | Hgb, г | MCH, пг | Hct, % | Plt, г | WBC, г | MO | LY. | NE | EO | BA | | |
| Фон | М | 6,59 | 71,15 | 156,38 | 23,76 | 46,88 | 289,63 | 9,55 | 5,28 | 45,85 | 45,54 | 2,41 | 0,93 | 1,00 | |
| | т | 0,78 | 1,96 | 16,54 | 0,87 | 5,38 | 63,13 | 2,18 | 1,49 | 8,00 | 7,99 | 1,66 | 0,24 | 0,00 | |
| 18 дней | М | 6,10 | 71,21 | 146,25 | 23,99 | 43,41 | 396,00 | 8,94 | 4,68 | 41,54 | 50,54 | 2,19 | 1,06 | 1,00 | |
| | т | 0,50 | 2,29 | 11,52 | 0,96 | 3,24 | 81,16 | 2,09 | 0,90 | 7,86 | 9,03 | 1,92 | 0,69 | 0,00 | |
| 32 дня | Анова Фон/18 дней, р | 0,16 | 0,95 | 0,18 | 0,63 | 0,14 | 0,01 | 0,57 | 0,35 | 0,30 | 0,26 | 0,81 | 0,60 | - | |
| | М | 6,00 | 71,40 | 143,63 | 23,99 | 42,80 | 378,88 | 9,55 | 4,54 | 35,51 | 57,18 | 1,80 | 0,98 | 1,25 | |
| 46 дней | т | 0,44 | 2,23 | 10,35 | 0,70 | 3,28 | 82,39 | 1,90 | 1,13 | 6,69 | 7,83 | 1,63 | 0,37 | 0,46 | |
| | Анова Фон/32 дня, р | 0,08 | 0,82 | 0,09 | 0,58 | 0,09 | 0,03 | 1,00 | 0,28 | 0,01 | 0,01 | 0,47 | 0,76 | 0,15 | |
| 46 дней | Анова 18/32дня, р | 0,66 | 0,87 | 0,64 | 1,00 | 0,71 | 0,68 | 0,55 | 0,79 | 0,12 | 0,14 | 0,67 | 0,76 | 0,15 | |
| | М | 6,39 | 71,08 | 151,13 | 23,69 | 45,36 | 373,88 | 10,29 | 4,65 | 34,88 | 57,13 | 2,33 | 1,03 | 1,38 | |
| 53 дня | т | 0,57 | 2,32 | 12,18 | 0,87 | 3,73 | 59,23 | 3,35 | 1,09 | 7,37 | 9,27 | 2,35 | 0,39 | 0,74 | |
| | Анова Фон/46 дней, р | 0,56 | 0,95 | 0,48 | 0,87 | 0,52 | 0,02 | 0,61 | 0,36 | 0,01 | 0,02 | 0,93 | 0,55 | 0,18 | |
| 53 дня | Анова 18/46 дней, р | 0,30 | 0,91 | 0,42 | 0,52 | 0,28 | 0,54 | 0,35 | 0,96 | 0,10 | 0,17 | 0,90 | 0,89 | 0,18 | |
| | Анова 32/46 дней, р | 0,15 | 0,78 | 0,21 | 0,46 | 0,17 | 0,89 | 0,60 | 0,84 | 0,86 | 0,99 | 0,61 | 0,80 | 0,69 | |
| 53 дня | М | 6,48 | 71,30 | 153,25 | 23,69 | 46,13 | 338,75 | 10,80 | 3,78 | 40,46 | 54,26 | 1,68 | 0,79 | 1,13 | |
| | т | 0,71 | 2,18 | 14,13 | 0,98 | 4,49 | 56,24 | 2,90 | 1,13 | 6,10 | 7,49 | 1,66 | 0,45 | 0,35 | |
| 53 дня | Анова Фон/53 дня, р | 0,77 | 0,89 | 0,69 | 0,87 | 0,77 | 0,12 | 0,35 | 0,04 | 0,17 | 0,04 | 0,39 | 0,46 | 0,33 | |
| | Анова 18/53 дня, р | 0,24 | 0,94 | 0,30 | 0,55 | 0,19 | 0,12 | 0,16 | 0,10 | 0,77 | 0,38 | 0,58 | 0,36 | 0,33 | |
| 53 дня | Анова 32/53 дня, р | 0,12 | 0,93 | 0,14 | 0,49 | 0,11 | 0,27 | 0,32 | 0,20 | 0,16 | 0,46 | 0,88 | 0,38 | 0,55 | |
| | Анова 46/53 дня, р | 0,78 | 0,84 | 0,75 | 1,00 | 0,72 | 0,24 | 0,75 | 0,14 | 0,14 | 0,51 | 0,53 | 0,28 | 0,41 | |

Введение препарата приводило к достоверным изменениям количества тромбоцитов уже на 18-е сутки, а на 32-й день - к достоверным изменениям в показателях лейкоцитарной формулы (% лимфоцитов и нейтрофилов). Даже после прекращения введения препарата, на 46-й день от начала эксперимента, эти показатели достоверно отличались от исходных данных. Но на 53-й день уровень тромбоцитов и % лимфоцитов возвращались к значениям, близким к исходным. При этом не было достоверных отличий между значениями этих параметров, измеренных в динамике (18/32 дня, 18/46 дня, 18/53 дня, 32/46 дней, 32/53 дня и 46/53 дня).

На рис. 1 приведена динамика изменения относительных значений некоторых гематологических параметров, где показано, что к окончанию эксперимента показатели вернулись к исходным значениям.

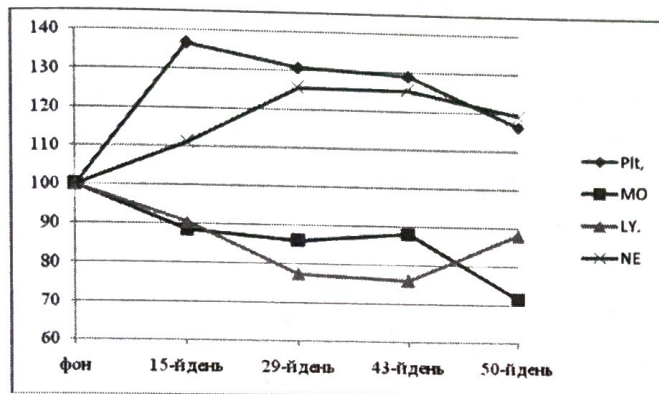


Рис. 1. Динамика относительных величин гематологических показателей

4.5. Биохимический анализ

В динамике - до введения, 15-й день, 29-й день, 43-й день, 50-й день - проводили биохимический анализ сыворотки крови экспериментальных животных. Полученные данные приведены в таблице 9.

Таблица 9

Показатели биохимического анализа экспериментальных животных

| № обезьяны | Срок эксперимента | Глюкоза (3,9-6,1) ммоль/л | ЩФ (98-300) Ед/л | АлАТ (0-40) Ед/л | АсАТ (0-40) Ед/л | АЛАТ/АсАТ (1,0-1,2) | Билирубин общий (2-20) ммоль/л | Мочевина (2,5-7,5) ммоль/л | Креатинин (53-115) ммоль/л | Холестерин (3,6-5,5) ммоль/л | Триглицериды (0,3-1,85) ммоль/л | Общий белок (60-85) г/л | Альбумин (28-54) г/л | Глобулин (0-45) г/л | Альбумин/глобулин (0-10) | К (3,0-6,0) ммоль/л | Na (100-150) ммоль/л | Fe (9,0-31,0) ммоль/л |
|------------|-------------------|---------------------------|------------------|------------------|------------------|---------------------|--------------------------------|----------------------------|----------------------------|------------------------------|---------------------------------|-------------------------|----------------------|---------------------|--------------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|
| 32985 | фон | 4,3 | 214 | 33 | 33 | 1,0 | 10,7 | 7,4 | 148 | 3,64 | 0,7 | 68 | 42 | 26 | 1,62 | 3,1 | 117 | 27,2 |
| | 15-й день | 5,0 | 325 | 30 | 32 | 0,9 | 6,1 | 7,1 | 166 | 3,2 | 0,61 | 68 | 41 | 27 | 1,52 | 3,0 | 110 | 21,3 |
| | 29-й день | 5,3 | 370 | 31 | 27 | 1,1 | 7,8 | 7,3 | 188 | 3,3 | 0,58 | 73 | 42 | 31 | 1,35 | 3,3 | 121 | 25,3 |
| | 43-й день | 4,3 | 380 | 31 | 30 | 1,0 | 5,1 | 7,4 | 166 | 3,83 | 0,48 | 66 | 35 | 31 | 1,13 | 3,4 | 117 | 23,5 |
| | 50-й день | 3,5 | 349 | 39 | 36 | 1,1 | 5,4 | 7,6 | 170 | 3,36 | 0,7 | 73 | 41 | 32 | 1,28 | 2,8 | 116 | 22,8 |
| 32230 | фон | 4,5 | 1806 | 31 | 32 | 1,0 | 7,5 | 6,7 | 164 | 4,52 | 1,39 | 78 | 38 | 40 | 0,95 | 4,2 | 122 | 17,9 |
| | 15-й день | 4,6 | 2315 | 23 | 23 | 1,0 | 8,5 | 6,4 | 156 | 3,95 | 0,69 | 73 | 37 | 36 | 1,03 | 2,9 | 125 | 19,6 |
| | 29-й день | 5,3 | 2332 | 21 | 23 | 0,9 | 9,7 | 6,7 | 170 | 3,88 | 0,56 | 76 | 33 | 43 | 0,77 | 2,6 | 116 | 19,0 |
| | 43-й день | 3,0 | 1814 | 20 | 22 | 0,9 | 6,0 | 7,1 | 156 | 2,73 | 0,91 | 79 | 40 | 39 | 1,03 | 4,4 | 116 | 16,8 |
| | 50-й день | 3,6 | 1969 | 24 | 23 | 1,0 | 7,3 | 6,8 | 151 | 3,2 | 1,56 | 76 | 37 | 39 | 0,95 | 4,0 | 120 | 18,5 |
| 32474 | фон | 4,7 | 439 | 46 | 37 | 1,2 | 6,6 | 7,6 | 209 | 4,14 | 2,52 | 71 | 44 | 27 | 1,63 | 4,2 | 125 | 26,2 |

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------|-----------|-----|------|----|----|-----|-----|-----|-----|------|------|----|----|----|------|-----|-----|------|
| | 15-й день | 5,0 | 1054 | 28 | 27 | 1,0 | 4,8 | 7,3 | 201 | 4,36 | 1,22 | 67 | 40 | 27 | 1,48 | 3,6 | 120 | 20,8 |
| | 29-й день | 5,7 | 1292 | 26 | 23 | 1,1 | 4,4 | 6,9 | 217 | 2,20 | 0,72 | 66 | 40 | 26 | 1,54 | 4,6 | 116 | 20,1 |
| | 43-й день | 4,2 | 1183 | 18 | 16 | 1,1 | 4,9 | 6,8 | 211 | 4,41 | 0,75 | 72 | 42 | 30 | 1,4 | 4,1 | 121 | 20,6 |
| | 50-й день | 4,9 | 1081 | 19 | 18 | 1,1 | 7,3 | 7,0 | 233 | 3,88 | 1,02 | 70 | 44 | 26 | 1,69 | 4,5 | 120 | 23,5 |
| | фон | 3,9 | 529 | 29 | 31 | 0,9 | 4,3 | 7,9 | 276 | 3,91 | 1,4 | 73 | 41 | 32 | 1,28 | 4,3 | 99 | 20,4 |
| | 15-й день | 3,9 | 858 | 32 | 31 | 1,0 | 9,0 | 7,5 | 298 | 4,41 | 1,36 | 76 | 40 | 36 | 1,11 | 3,9 | 114 | 21,7 |
| 33260 | 29-й день | 2,5 | 638 | 21 | 21 | 1,0 | 3,9 | 6,8 | 231 | 2,14 | 0,37 | 56 | 31 | 25 | 1,24 | 2,7 | 119 | 13,1 |
| | 43-й день | 2,4 | 531 | 19 | 21 | 0,9 | 4,0 | 7,7 | 239 | 2,5 | 1,16 | 64 | 35 | 29 | 1,21 | 3,3 | 112 | 15,2 |
| | 50-й день | 2,2 | 382 | 27 | 28 | 1,0 | 5,3 | 9,4 | 265 | 2,83 | 1,16 | 70 | 39 | 31 | 1,26 | 3,8 | 120 | 17,8 |
| | фон | 4,1 | 438 | 26 | 26 | 1,0 | 3,5 | 8,2 | 230 | 4,33 | 0,65 | 67 | 39 | 28 | 1,39 | 4,3 | 123 | 21,0 |
| 32809 | 15-й день | 1,7 | 292 | 15 | 14 | 1,1 | 2,9 | 7,8 | 196 | 1,85 | 0,28 | 50 | 26 | 24 | 1,08 | 2,3 | 117 | 16,0 |
| | 29-й день | 2,2 | 368 | 13 | 11 | 1,2 | 2,9 | 7,5 | 164 | 1,91 | 0,20 | 45 | 28 | 17 | 1,65 | 2,6 | 119 | 13,7 |
| | 43-й день | 1,8 | 360 | 13 | 12 | 1,1 | 3,7 | 7,7 | 177 | 1,86 | 0,27 | 47 | 29 | 18 | 1,61 | 3,2 | 119 | 14,7 |
| | 50-й день | 1,7 | 328 | 14 | 14 | 1,0 | 3,0 | 8,1 | 174 | 1,81 | 0,33 | 46 | 29 | 17 | 1,71 | 2,9 | 119 | 15,2 |
| | фон | 4,2 | 474 | 26 | 25 | 1,0 | 5,3 | 8,5 | 207 | 5,37 | 1,85 | 77 | 44 | 33 | 1,33 | 4,2 | 121 | 25,3 |
| 31912 | 15-й день | 4,6 | 549 | 20 | 19 | 1,1 | 4,7 | 7,9 | 189 | 3,61 | 1,01 | 62 | 37 | 25 | 1,48 | 3,8 | 116 | 18,8 |
| | 29-й день | 3,1 | 463 | 16 | 17 | 0,9 | 2,9 | 7,5 | 150 | 2,51 | 1,17 | 48 | 33 | 15 | 2,2 | 2,8 | 117 | 16,4 |
| | 43-й день | 3,4 | 589 | 19 | 17 | 1,1 | 3,3 | 7,9 | 170 | 3,31 | 1,18 | 58 | 37 | 21 | 1,76 | 4,2 | 117 | 17,7 |
| | 50-й день | 2,8 | 561 | 19 | 20 | 0,9 | 3,6 | 7,5 | 173 | 3,77 | 1,18 | 62 | 39 | 23 | 1,70 | 2,8 | 117 | 16,9 |
| | фон | 4,9 | 421 | 63 | 56 | 1,1 | 7,4 | 8,0 | 172 | 6,08 | 1,46 | 73 | 42 | 31 | 1,35 | 4,0 | 118 | 25,2 |
| 32379 | 15-й день | 5,2 | 602 | 39 | 40 | 1,0 | 8,8 | 7,3 | 231 | 5,27 | 1,41 | 65 | 37 | 28 | 1,32 | 3,7 | 119 | 22,2 |

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------|-----------|-----|-----|----|----|-----|-----|-----|-----|------|------|----|----|----|------|-----|-----|------|
| | 29-й день | 6,9 | 486 | 42 | 43 | 1,0 | 6,0 | 7,4 | 217 | 4,31 | 0,95 | 61 | 38 | 23 | 1,65 | 3,3 | 120 | 18,6 |
| | 43-й день | 4,8 | 418 | 27 | 26 | 1,0 | 5,5 | 7,6 | 217 | 4,55 | 1,28 | 67 | 39 | 28 | 1,39 | 3,2 | 120 | 18,2 |
| | 50-й день | 4,1 | 485 | 36 | 38 | 0,9 | 7,2 | 7,8 | 216 | 5,41 | 1,3 | 77 | 46 | 31 | 1,48 | 3,6 | 102 | 20,9 |
| | фон | 4,3 | 276 | 22 | 21 | 1,0 | 7,0 | 9,3 | 252 | 4,51 | 1,98 | 72 | 39 | 33 | 1,18 | 3,8 | 101 | 18,9 |
| 32411 | 15-й день | 2,7 | 218 | 15 | 14 | 1,1 | 4,8 | 8,5 | 241 | 3,24 | 0,87 | 60 | 33 | 27 | 1,22 | 3,0 | 122 | 15,0 |
| | 29-й день | 2,0 | 205 | 14 | 13 | 1,1 | 4,1 | 8,0 | 207 | 2,52 | 1,06 | 53 | 29 | 24 | 1,21 | 2,8 | 117 | 13,1 |
| | 43-й день | 2,5 | 226 | 13 | 12 | 1,1 | 3,2 | 8,3 | 173 | 2,99 | 0,93 | 53 | 31 | 22 | 1,41 | 2,5 | 122 | 13,6 |
| | 50-й день | 1,8 | 212 | 16 | 16 | 1,0 | 4,1 | 7,5 | 195 | 1,81 | 0,74 | 50 | 30 | 20 | 1,5 | 3,1 | 115 | 13,2 |

В таблице 10 приведены данные статистической обработки результатов биохимического анализа.

Таблица 10

Результаты статистического анализа биохимических показателей обезьян

| Дата | Параметр | Биохимические показатели | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|------|----------|-----------------------------|-------------------------|-----------------------|-----------------------|---------------------------|-------------------------|------------------------------|----------------------------|------------------------------|-----------------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|--|
| | | GLU (3,9-6,1) ммоль/л | ALP (98-300) Ед/л | ALT (0-40) Ед/л | AST (0-40) Ед/л | ALT / AST (1,0-1,2) | TB (2-20) ммоль/л | UREA (2,5-7,5) ммоль/л | CRE (53-115) ммоль/л | CHOL (3,6-5,5) ммоль/л | TG (0,3-1,85) ммоль/л | TP (60-85) г/л | ALB (28-54) г/л | GLB (0-45) г/л | ALB/ GLB (0-10) | K (3,0-6,0) ммоль/л | Na (100-150) ммоль/л | Fe (9,0-31,0) ммоль/л | |
| Фон | М | 4,36 | 574,63 | 34,50 | 32,63 | 1,03 | 6,54 | 7,95 | 207,25 | 4,56 | 1,49 | 72,38 | 41,13 | 31,25 | 1,34 | 4,01 | 115,75 | 22,76 | |
| | м | 0,32 | 508,27 | 13,58 | 10,73 | 0,09 | 2,24 | 0,77 | 44,52 | 0,80 | 0,63 | 3,85 | 2,30 | 4,46 | 0,22 | 0,41 | 10,07 | 3,61 | |
| 15 | М | 4,09 | 776,63 | 25,25 | 25,00 | 1,03 | 6,20 | 7,48 | 209,75 | 3,74 | 0,93 | 65,13 | 36,38 | 28,75 | 1,28 | 3,28 | 117,88 | 19,43 | |
| дней | м | 1,26 | 684,87 | 8,51 | 9,23 | 0,07 | 2,30 | 0,62 | 45,85 | 1,02 | 0,39 | 8,08 | 4,90 | 4,65 | 0,20 | 0,56 | 4,70 | 2,67 | |
| | Анова | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | Фон/15 | 0,56 | 0,51 | 0,12 | 0,15 | 1,00 | 0,77 | 0,20 | 0,91 | 0,09 | 0,05 | 0,04 | 0,03 | 0,29 | 0,57 | 0,01 | 0,60 | 0,05 | |
| 29 | М | 4,13 | 769,25 | 23,00 | 22,25 | 1,04 | 5,21 | 7,26 | 193,00 | 2,85 | 0,70 | 59,75 | 34,25 | 25,50 | 1,45 | 3,09 | 118,13 | 17,41 | |

| дней | п | 1,88 | 711,69 | 9,80 | 9,97 | 0,11 | 2,44 | 0,44 | 29,36 | 0,88 | 0,34 | 11,31 | 5,18 | 8,68 | 0,42 | 0,67 | 1,89 | 4,23 |
|------|----------------------|-------|--------|-------|-------|------|------|------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|
| 43 | Анова Фон/29 дня, р | 0,73 | 0,54 | 0,07 | 0,06 | 0,80 | 0,28 | 0,05 | 0,46 | 0,001 | 0,007 | 0,010 | 0,004 | 0,118 | 0,522 | 0,005 | 0,523 | 0,02 |
| | Анова 15/29 дня, р | 0,96 | 0,98 | 0,63 | 0,58 | 0,79 | 0,42 | 0,44 | 0,40 | 0,08 | 0,23 | 0,29 | 0,41 | 0,37 | 0,31 | 0,55 | 0,89 | 0,27 |
| 43 | М | 3,30 | 687,63 | 20,00 | 19,50 | 1,03 | 4,46 | 7,56 | 188,63 | 3,27 | 0,87 | 63,25 | 36,00 | 27,25 | 1,37 | 3,54 | 118,00 | 17,54 |
| | п | 1,06 | 539,33 | 6,26 | 6,46 | 0,09 | 1,05 | 0,47 | 29,63 | 0,94 | 0,35 | 10,31 | 4,44 | 6,71 | 0,24 | 0,64 | 3,21 | 3,27 |
| 50 | Анова Фон/43 дней, р | 0,02 | 0,67 | 0,02 | 0,01 | 1,00 | 0,03 | 0,24 | 0,34 | 0,01 | 0,03 | 0,03 | 0,01 | 0,18 | 0,82 | 0,10 | 0,56 | 0,01 |
| | Анова 15/43 дней, р | 0,20 | 0,78 | 0,18 | 0,19 | 1,00 | 0,07 | 0,75 | 0,29 | 0,36 | 0,75 | 0,69 | 0,87 | 0,61 | 0,44 | 0,40 | 0,95 | 0,23 |
| 50 | М | 0,30 | 0,80 | 0,48 | 0,52 | 0,80 | 0,44 | 0,21 | 0,77 | 0,37 | 0,35 | 0,53 | 0,48 | 0,66 | 0,63 | 0,19 | 0,93 | 0,95 |
| | п | 3,08 | 670,88 | 24,25 | 24,13 | 1,00 | 5,40 | 7,71 | 197,13 | 3,26 | 1,00 | 65,50 | 38,13 | 27,38 | 1,45 | 3,44 | 116,13 | 18,60 |
| 50 | Анова Фон/50 дня, р | 0,009 | 0,73 | 0,10 | 0,11 | 0,55 | 0,27 | 0,55 | 0,63 | 0,02 | 0,08 | 0,14 | 0,21 | 0,22 | 0,41 | 0,05 | 0,93 | 0,04 |
| | Анова 15/50 дня, р | 0,11 | 0,75 | 0,82 | 0,85 | 0,51 | 0,45 | 0,52 | 0,56 | 0,40 | 0,74 | 0,94 | 0,54 | 0,66 | 0,18 | 0,60 | 0,53 | 0,61 |
| 50 | М | 0,20 | 0,77 | 0,80 | 0,70 | 0,43 | 0,86 | 0,18 | 0,81 | 0,44 | 0,13 | 0,34 | 0,19 | 0,65 | 0,98 | 0,30 | 0,39 | 0,56 |
| | п | 0,69 | 0,95 | 0,30 | 0,26 | 0,55 | 0,21 | 0,65 | 0,63 | 0,98 | 0,50 | 0,69 | 0,44 | 0,97 | 0,55 | 0,76 | 0,45 | 0,55 |

Введение препарата на 15-е сутки достоверно влияло на уровень триглицеридов, общего белка, альбумина и концентрации калия и железа. На 29-е сутки к этим параметрам добавлялось достоверное снижение в уровне холестерина. Еще через 15 дней происходило достоверное снижение в уровне глюкозы и общего билирубина, а также снижение активности печеночных ферментов АлАТ и АсАТ. После прекращения введения препарата через 50-й дней после начала эксперимента некоторые биохимические показатели вернулись к значениям, близким к исходным, однако, другие показатели (значения глюкозы и холестерина и концентрации калия и железа) оставались достоверно отличными от исходных значений. Также не было достоверных отличий между значениями этих параметров, измеренных в динамике (15/29 день, 15/43 день, 15/50 день, 29/43 день, 29/50 день и 43/50 день).

На рис. 2а и 2б показана динамика изменения относительных значений некоторых биохимических параметров, где показано, что к окончанию эксперимента показатели вернулись к исходным значениям.

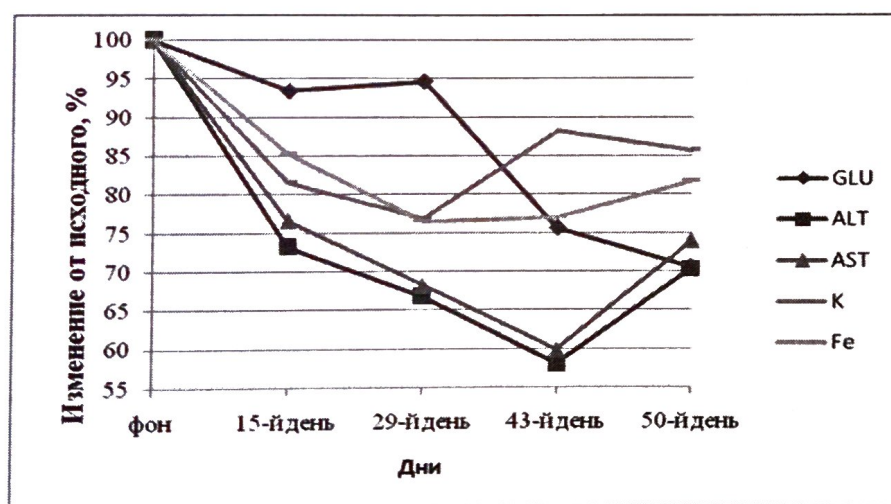


Рис. 2а. Динамика изменения биохимических показателей.

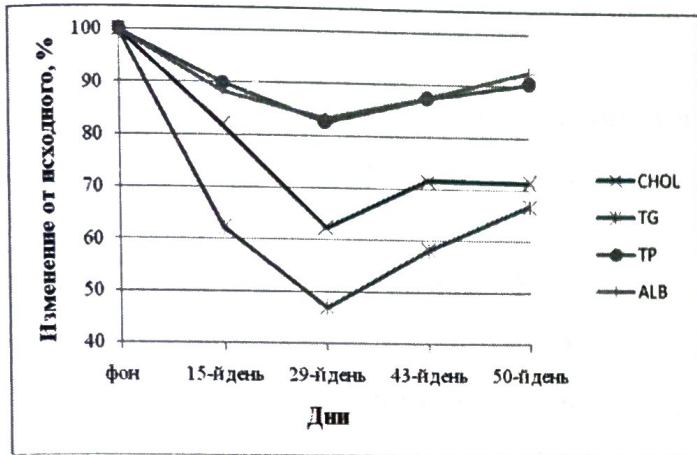


Рис. 26. Динамика изменения биохимических показателей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование влияния препарата цитрата железа «Синтезит» на физиологические показатели старых макаков резус было проведено на 8 макаках резус возрастом 22-25 лет. Препарат вводился ежедневно перорально в течение 6 недель.

Еженедельное взвешивание обезьян показало снижение массы тела по сравнению с исходными значениями, но этот факт можно объяснить стрессом, испытываемым животными при ежедневном введении препарата, статистический анализ не выявил различий между исходными значениями и данными массы тела, полученными в процессе поения обезьян препаратом цитрата железа «Синтезит».

Введение препарата приводило к достоверным изменениям ряда гематологических и биохимических параметров. Известно, что при старении активность важных ферментов, а также уровни глюкозы, холестерина и триглицеридов существенно возрастают. Поэтому, достоверное снижение этих величин у старых особей надо рассматривать как благоприятное воздействие на работу внутренних органов животных. Особый интерес представляет отсутствие какого-либо влияния препарата на кол-во эритроцитов и содержание гемоглобина. В ряде работ было показано, что увеличение концентраций калия и железа с возрастом является неблагоприятным фактором. Поэтому наблюдаемое достоверное снижение концентраций этих ионов при использовании препарата также следует отнести к положительным воздействиям. Снижение концентраций ионов железа после введения препарата (который сам является соединением железа), вероятно, можно объяснить его действием по «принципу обратной связи». Поступление железа в организм через желудок животных могло привести к подавлению его выхода в кровь и депонированию в селезенке и печени. Только 2 гематологических показателя – число тромбоцитов и % нейтрофилов в лейкоцитарной формуле увеличивались после введения препарата, однако следует отметить, что эти величины оставались в пределах физиологической нормы и возвращались к значениям, близким к исходным, после прекращения приема препарата.

Таким образом, препарат **не оказывал негативного** воздействия на организм обезьян, а, напротив, приводил к **положительным изменениям** в работе органов животных.

Проведенное исследование показало, что введение препарата приводило к достоверным изменениям ряда гематологических и биохимических параметров. Известно,

что при старении активность важных ферментов, а также уровни глюкозы, холестерина и триглицеридов существенно возрастают. Поэтому, достоверное снижение этих величин у старых особей надо рассматривать как благоприятное воздействие на работу внутренних органов животных. Особый интерес представляет отсутствие какого-либо влияния препарата на кол-во эритроцитов и содержание гемоглобина. В ряде работ было показано, что увеличение концентраций калия и железа с возрастом является неблагоприятным фактором. Поэтому наблюдаемое достоверное снижение концентраций этих ионов при использовании препарата также следует отнести к положительным воздействиям. Снижение концентраций ионов железа после введения препарата (который сам является соединением железа), вероятно, можно объяснить его действием по «принципу обратной связи». Поступление железа в организм через желудок животных могло привести к подавлению его выхода в кровь и депонированию в селезенке и печени. Только 2 гематологических показателя – число тромбоцитов и % нейтрофилов в лейкоцитарной формуле увеличивались после введения препарата, однако следует отметить, что эти величины оставались в пределах физиологической нормы и возвращались к значениям, близким к исходным, после прекращения приема препарата.

Рекомендовано изучение в динамике кумулятивного эффекта препарата цитрата железа «Синтезит» на физиологические показатели.

Таким образом, препарат не оказывал негативного воздействия на организм обезьян, а, напротив, приводил к положительным изменениям в работе органов животных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Карал-оглы Д.Д. Приматы как востребованная тест-система современной экспериментальной науки (краткое сообщение). Лабораторные животные для научных исследований. 2019; 4. <https://doi.org/10.29296/2618723X-2019-04-10>
2. Лапин Б.А., Джикидзе Э.К., Крылова Р.И. и др. Проблемы инфекционной патологии обезьян.// М. Изд-во РАМН. 2004. 140с.
3. Лапин Б.А., Джикидзе Э.К., Фридман Э.П. Руководство по медицинской приматологии.// М., 1987.
4. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая и вторая. – М.: Гриф и К, 2012.
5. ГОСТ Р 56699-2015 «Лекарственные средства для медицинского применения Доклинические исследования безопасности биотехнологических лекарственных препаратов. Общие рекомендации»

ЗАКЛЮЧЕНИЕ БИОЭТИЧЕСКОЙ КОМИССИИ № 49

Комиссия по биоэтике ФГБНУ «НИИ МП» в составе:

Председатель комиссии:

Титченко О.Н. – главный бухгалтер.

Члены комиссии:

Клоц И.Н. – Заместитель председателя, ВНС лаборатории иммунологии и биологии клетки;

Гвоздик Т. Е. – заведующая клинко-ветеринарным отделением;

Пачулия И.Г. - старший научный сотрудник зоотехнической лаборатории;

Догалов Д.И.- ИС лаборатории инфекционных вирусов;

Чжу О.П.- заведующая отделом аспирантуры;

Оганесян А.К. – руководитель департамента биомедицинских, экологических и ветеринарных направлений Сочинского института (филиала) РУДН.

Кочконян С.Г. – начальник отдела правового, кадрового и документационного обеспечения;

Секретарь: Боталова М.А. – зав.библиотекой.

Рассмотрела ветеринарный протокол № 49 от 20.07.2020 г.

Название доклинического исследования: «Изучение действия цитрата железа «Синтезит» на физиологические показатели обезьян».

Руководитель исследования (ФИО, должность): Карал-оглы Д.Д., зав. лаб. доклинических и клинических исследований лекарственных средств и медицинских изделий, к.б.н.

Выявленные нарушения при содержании и использовании экспериментальных животных: не выявлено

Замечания и рекомендации: отсутствуют

Вывод:

Заседание комиссии по биоэтике, состоявшееся 21.07.2020 г. подтверждает необходимость проведения исследования «Изучение действия цитрата железа «Синтезит» на физиологические показатели обезьян», общее количество животных, участвующих в эксперименте – 10 самцов макак резус (*Macaca mulatta*), возраст 20-25 лет, гарантирует использование животных в научных целях в соответствии с общепризнанными научными, этическими и юридическими нормами и обуславливает ответственность исследователей, деятельность которых подлежит контролю со стороны комиссии по биоэтике.

Подписи членов комиссии:

Председатель комиссии:

Титченко О.Н. – главный бухгалтер.



Члены комиссии:


Клоп И.Н. – Заместитель председателя, ВИС лаборатории иммунологии и биологии клетки; 


Гвоздик Т.Е. – заведующая клинико-ветеринарным отделением; 

Пачулия И.Г. – старший научный сотрудник зоотехнической лаборатории; 

Догодов Д.И. – НС лаборатории инфекционных вирусов; 

Чжу О.П. – заведующая отделом аспирантуры; 

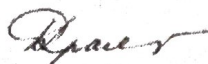
Оганесян А.К. – руководитель департамента биомедицинских, экологических и ветеринарных направлений Сочинского института (филиала) РУДН; 

Кочконян С.Г. – начальник отдела правового, кадрового и документационного обеспечения; 

Секретарь: Боталова М.А. – зав.библиотекой. 

Выписка заключения передана руководителю исследования (ответственному исследователю):

Карал-оглы Д.Д.



21.07.2020 г

Приложение 2. Отчёт по теме: «Влияние длительного приёма витаминно-минерального комплекса на основе цитрата железа на клеточные показатели костного мозга у мышей»

На лабораторных мышах SHK-линии были исследованы безопасность и эффективность длительного перорального приёма препарата **СИНТЕЗИТ Железо[®]** (витаминно-минерального комплекса, разработанного на основе цитрата железа). Доказано, что цитрат железа не оказывает токсического (повреждающего) воздействия на внутренние органы и ткани мышей. Изучены основные клеточные показатели костного мозга. Выявлено влияние цитрата железа на интенсивность и динамику пролиферативной активности клеточных популяций во всех ростках кроветворения костного мозга.

ВВЕДЕНИЕ

Адаптация организма к действию различных экстремальных факторов - это сложный процесс, включающий в себя слаженную работу ключевых систем гомеостаза (нейроэндокринная, иммунная, кроветворная и др.). В зависимости от силы экстремального воздействия или патологического процесса, наблюдается повышение общей устойчивости организма или её снижение. Причём переход от одного состояния к другому может иметь колебательную форму. Особая роль в данном механизме принадлежит мезенхимальным стволовым клеткам (МСК). Именно им также принадлежит важная роль в формировании специфического микроокружения многих органов, включая костный мозг. Они являются основной матричной единицей, так называемых «ниш», которая регулирует процессы пролиферации и дифференцировки, окружающих мезенхимальных элементов, стволовых клеток других гистогенетических линий, в частности, гемопоэтических прекурсоров. В свою очередь, гемопоэтические стволовые клетки дают начало более дифференцированным потомкам миелопоэза, эритропоэза и тромбоцитопоэза, из которых формируются клетки крови. Дисбаланс в работе МСК и гемопоэтических клеток-предшественников под действием неблагоприятных факторов сопровождается уменьшением общего количества миелокариоцитов, в результате чего развиваются лейкопения и (или) анемия и, как следствие, снижение резистентности организма к неблагоприятному воздействию. Железо является необходимым биохимическим элементом в процессах метаболизма и пролиферации клеток костного мозга. Целью проведенного исследования явилось изучение влияния витаминно-минерального комплекса, разработанного на основе цитрата железа на показатели костномозгового кроветворения.

Материалы и методы исследования

Эксперимент проведен на 14 лабораторных мышах (самцах) SHK-линии массой 20–22 г (7 животных – экспериментальная группа I, 7 животных – контрольная группа II). В эксперимент отбирались только здоровые животные, прошедшие двухнедельный карантин в условиях вивария. Все манипуляции с лабораторными животными осуществляли согласно существующей Хельсинской декларации. Животных I и II групп забивали на 30-й день после начала приёма препарата. Подсчёт клеток костного мозга производили стандартными методами. Для обязательного гистологического исследования забиралась ткань следующих органов: сердце, печень, лёгкие, селезёнка, головной мозг, почки, семенники, костный мозг. Параллельно из красного *костного мозга* готовили *мазки-отпечатки*, которые окрашивали по методу Май-Грюнвальд-Гимза для последующего микроскопирования. Материал, взятый для гистологического исследования, фиксировался в 10% нейтральном растворе формалина. Все забранные материалы помещались в специальные промаркированные (с указанием номера животного и даты проведения исследования) пластиковые контейнеры. Далее проводилась стандартная гистологическая обработка материала с последующей заливкой в парафиновую среду “HISTOMIX”(ООО “БиоВитрум”, Санкт-Петербург, Россия). Из полученных парафиновых блоков приготавливали срезы толщиной 5-7 мкм, окрашивали гематоксилином и эозином.

Микроскопия

Морфологический анализ (гистологический и цитологический) проведён на биологическом микроскопе для лабораторных исследований AXIOLAB.A1 (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Германия). Для микрофотографирования использовалась цифровая камера для микроскопов AxioCam 105 color (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Германия).

Статистическая обработка результатов

В качестве характеристик полученных данных использовали среднее и стандартную ошибку среднего. Статистическую достоверность различий между двумя группами данных оценивали с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни (для малых и средних выборок, $n \leq 30$), при выбранном уровне значимости $p=0,05$. Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы «Statistica 7.0» для WinXP и пакета программ «Microsoft Excel 2010».

Результаты исследования

В экспериментальной группе (табл. 1) по сравнению с контрольной наблюдаются изменения показателей миелограммы, свидетельствующие об усилении процессов кроветворения. В частности, увеличение общего количества миелокариоцитов (на бедро) почти на треть (на 32,4%). Количество ретикулярных клеток увеличилось на 13,3%, что свидетельствует о достаточно сильном усилении эритропоэза. Количество лимфоцитов увеличилось на 23,6%, что свидетельствует об активации белого ростка кроветворения. Количество митозов миелоидных клеток увеличилось вдвое, что указывает на повышение пролиферативной активности миелоидного ростка в целом. Также произошло увеличение некоторых показателей, в частности, доли эритробластов в 3,8 раза, мегакариоцитов - в 3,6, миелобластов - в 1,7, а недифференцированных бластов - в 2,5 раз.

Таблица 1

Общие показатели костного мозга у мышей экспериментальной и контрольной групп

| ПОКАЗАТЕЛИ | ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ГРУППА | КОНТРОЛЬНАЯ ГРУППА |
|--------------------------------------------------------|-----------------------------|-----------------------|
| общее количество миелокариоцитов (на бедро), млн | * $22,2 \pm 1,2$ | $15,0 \pm 0,9$ |
| ретикулярные клетки | * $1,5 \pm 0,1$ | $1,3 \pm 0,1$ |
| недифференцированные бласты (моноклеарные клетки) | * $5,4 \pm 0,1$ | $2,2 \pm 0,1$ |
| миелобласты | * $3,5 \pm 0,1$ | $2,1 \pm 0,1$ |
| митозы миелоидных клеток | * $0,2 \pm 0,0$ | $0,1 \pm 0,0$ |
| лимфоциты | * $22,0 \pm 1,1$ | $16,8 \pm 1,8$ |
| мегакариоциты | * $1,1 \pm 0,1$ | $0,3 \pm 0,0$ |
| эритробласты | * $1,9 \pm 0,1$ | $0,5 \pm 0,1$ |

Примечание:

* -статистически достоверная разница в сравнении с показателями контрольной группы.

Выводы

1. Вышеуказанные изменения миелограммы в экспериментальной и контрольной группах свидетельствуют о том, что длительный пероральный приём препарата **СИНТЕЗИТ Железо[®]** не только усиливает гемопоэз, но и ускоряет репаративные процессы в красном костном мозге за счёт увеличения количества мононуклеарных (стволовых) клеток.
2. Цитрат железа, входящий в состав препарата **СИНТЕЗИТ Железо[®]** не оказывает токсического (повреждающего) воздействия на внутренние органы и ткани мышечной при длительном пероральном приёме.

ведущий научный сотрудник,
врач-патологоанатом, к.м.н.



Булгин Д. В.

Всего прошнуровано, пронумеровано и
скреплено печатью 39 листов.

Зав. лаб. доклинических и клинических
исследований лекарственных средств и
медицинских изделий, к.б.н. Карац-Орлы Д.Д.



Handwritten signature in blue ink.