

НЕЙРОТОКСИКО- ЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СОЕДИНЕНИЯ АВ-19 ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ОСЛОЖНЕНИЙ САХАРНОГО ДИАБЕТА

Д.В. Мальцев^{1,2}, А.А. Спасов^{1,2},
В.А. Косолапов¹, К.Т. Султанова^{1,2},
М.В. Мирошников¹, С.К. Котовская³,
И.М. Сапожникова³, В.Л. Русинов³

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 400131, Россия, г. Волгоград, Российская Федерация

²Государственное бюджетное учреждение Волгоградский медицинский научный центр 400131, г. Волгоград, Российская Федерация

³Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина» 620002, г. Екатеринбург, Российская Федерация

В настоящем исследовании представлены результаты изучения нейротоксикологического профиля нового соединения АВ-19, действующего на конечные продукты гликирования коллагена (AGE) и рецепторы к ним (RAGE), для профилактики и лечения осложнений сахарного диабета. Использовалась методика многотестового наблюдения по «S.Irwin». Показатели тестов оценивали в параллельных группах, получавших вещество в дозах, начинающихся со средней эффективной (ЭД₅₀) и с кратным увеличением в 5, 10, 20 и 50 раз. Было установлено, что соединение АВ-19 в дозах 20, 100 и 200 мг/кг не оказывает влияния на функционально-поведенческий статус животных. Однако при увеличении дозировки до 400 мг/кг наблюдались типичные проявления интоксикации: снижение мышечного тонуса, гипотермия, седация, тахипноэ. В результате проведенного изучения выявлено, что для нейротоксикологических свойств соединения АВ-19 характерна дозозависимая активность. Также была обозначена минимальная токсическая доза 400 мг/кг ≤ ТД_{мин} ≤ 1000 мг/кг.

Ключевые слова: АВ-19, сахарный диабет, осложнения сахарного диабета, нейротропная активность, методика многотестового наблюдения по «S.Irwin».

Цит: Д.В. Мальцев, А.А. Спасов, В.А. Косолапов, К.Т. Султанова, М.В. Мирошников, С.К. Котовская, И.М. Сапожникова, В.Л. Русинов. Нейротоксикологические свойства соединения АВ-19 для профилактики и лечения осложнений сахарного диабета. Токсикологический вестник. 2020; 4:39-43

Введение. Терапия сахарного диабета представляется важной задачей, требующей решения [1,2]. Существующие препараты для лечения данного заболевания обладают рядом нежелательных эффектов, таких как головокружение,

головная боль, диспепсические явления, аллергические реакции, анемический синдром (метформин, репаглинид), так же на фоне приема некоторых препаратов может возникнуть прибавка в весе и гипогликемия (глибенкламид, глимепи-

Мальцев Дмитрий Васильевич (Maltsev Dmitriy Vasil'evich), кандидат биологических наук, доцент кафедры фармакологии и биоинформатики ВолгГМУ, maltsevdmitriy@rambler.ru;

Спасов Александр Алексеевич (Spasov Aleksandr Alekseevich), доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии и биоинформатики ВолгГМУ, Академик РАН, Заслуженный деятель науки РФ, aspasov@mail.ru;

Султанова Кира Тимуровна (Sultanova Kira Timurovna), ассистент кафедры фармакологии и биоинформатики ВолгГМУ, sultanova.pharma@gmail.com;

Косолапов Вадим Анатольевич (Kosolapov Vadim Anatol'evich), доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии и биоинформатики ВолгГМУ, vad-ak@mail.ru;

Мирошников Михаил Владимирович (Miroshnikov Mikhail Vladimirovich), ассистент кафедры фармакологии и биоинформатики ВолгГМУ, mihailmiroshnikov@mail.ru;

Котовская Светлана Константиновна (Kotovskaya Svetlana Konstantinovna), кандидат химических наук, УрФУ, s.k.kotovskaya@urfu.ru;

Сапожникова Ирина Михайловна (Sapozhnikova Irina Mikhailovna), младший научный сотрудник УрФУ, i.m.sapozhnikova@urfu.ru.

Русинов Владимир Леонидович (Rusinov Vladimir Leonidovich), доктор химических наук, член-корреспондент РАН, УрФУ, v.l.rusinov@urfu.ru;

рид) [3], так же на фоне применения некоторых препаратов (аминогуанидин) возможно развитие аутоиммунных состояний, появление гриппозоподобного синдрома, волчаночно-подобного синдрома, анемии, васкулитов, ингибирования eNOS [15]. Сахарный диабет характеризуется прогрессирующим течением и развитием ряда острых и поздних осложнений, зачастую приводящих к временной потере трудоспособности, инвалидизации и ранней смерти [4,5]. В связи с этим поиск новых антидиабетических средств остается одним из перспективных направлений современной фармакологии. Поскольку сахарный диабет является хроническим заболеванием, требующим длительного применения сахароснижающих препаратов, лекарственная безопасность является приоритетным направлением при создании новых препаратов [6]. В ходе ранее проведенных исследований, было найдено соединение для лечения отдаленных последствий сахарного диабета под шифром АВ-19. Полученные результаты позволяют судить о достаточно высокой эффективности выявленного соединения и о необходимости дальнейшего углубленного изучения спектра его свойств, а также возможных токсических эффектов [10,11]. В связи с этим особый интерес представляет оценка возможных нейротропных эффектов соединения АВ-19 с использованием многотестового наблюдения по «S.Irwin».

Цель работы - изучить нейротоксикологические свойства соединения АВ-19 при пероральном введении половозрелым мышам-самцам с использованием многотестового наблюдения по «S.Irwin».

Материалы и методы исследования. Субстанция АВ-19 (натриевая соль диэтилового эфира 4-оксо-1,4-дигидропиразоло[5,1-с]-1,2,4-триазин-3,8-дикарбоновой кислоты моногидрат) синтезирована в ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург (патент РФ № 2612300 от 02.11.2015).

Экспериментальная часть исследований проводилась на беспородных белых мышах-самцах массой 18-22 г. Животные содержались в стандартных условиях с 12 часовым режимом освещения при свободном доступе к еде и воде (ГОСТ Р 50258-92), с соблюдением Международных рекомендаций по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях и Национальных стандартов «Принципы надлежащей лабораторной практики» [7,8]. Исследование специфической токсичности регламентировано методическими рекомендациями по проведению доклинических исследований лекарственных средств [9]. Изучение нейротоксикологического профиля нового соединения под лабораторным шифром

АВ-19 проводилось по модифицированной методике S.Irwin [11-14]. В ходе исследования было сформировано 6 экспериментальных групп (n=6) – 1 контрольная и 5 опытных. Исследуемые вещества вводили внутривенно металлическим зондом. Изучение нейротропных свойств субстанции АВ-19 проводилось в нарастающих дозах, начиная со средней эффективной (20 мг/кг) и дозах, превышающих эффективную дозу в 5, 10, 20 и 50 раз. Животные контрольной группы получали дистиллированную воду из расчета 100 мкл на 10 г веса. Для изучения психосоматических реакций проводили оценку следующих параметров: поведенческие реакции (вокализация, настороженность, пассивность, стереотипия, агрессия, беспокойство, груминг, спонтанная двигательная реакция), нервно-мышечные эффекты (реакции на боль, прикосновение, реакция на стук, подергивания, судороги, тремор, тонус конечностей, расстройство походки) и вегетотропные эффекты (птоз/экзофтальм, размеры зрачка, уринация, дефекация, саливация, цвет кожи, частота дыхания и ректальная температура). Для оценки данных параметров использовалась 8-балльная шкала S.Irwin. Показатели состояния животных в норме приравнивались к 4 баллам. Однако для некоторых показателей, отсутствующих у животных (вокализация, стереотипия, беспокойство, агрессия, тремор, подергивание, судороги, расстройство походки и саливация), за норму принималось 0 баллов, а изменения фиксировались в диапазоне от 0 до 4 баллов. Изменение параметра на 25 % приравнивалось к 1 баллу. Возрастание изменений функционально-поведенческого статуса от 4 до 8 баллов указывает на увеличение эффекта, снижение от 4 до 0 баллов характеризуется уменьшением эффекта. Уровень изменений фиксируемых показателей оценивался через 60 и 120 мин после введения веществ. Также прогнозировали доклиническую степень безопасности соединения и определяли минимальную токсическую дозу (ТД_{мин}). Статистическая обработка полученных данных проводилась при помощи программы GraphPad Prism 5.0. с применением теста Краскела-Уоллиса с посттестом Даннетта.

Результаты и обсуждение. У животных, получавших в средней эффективной дозе АВ-19 (20 мг/кг) значимых изменений изучаемых показателей данного многопараметрового тестирования не наблюдалось (рис. 1). При исследовании АВ-19 в дозе, превышающей среднюю эффективную в 5 раз, регистрируемые параметры, характеризующие нервно-мышечную возбудимость и функциональное состояние вегетативной нервной системы, соответствовали установленной для данной тест-системы норме.

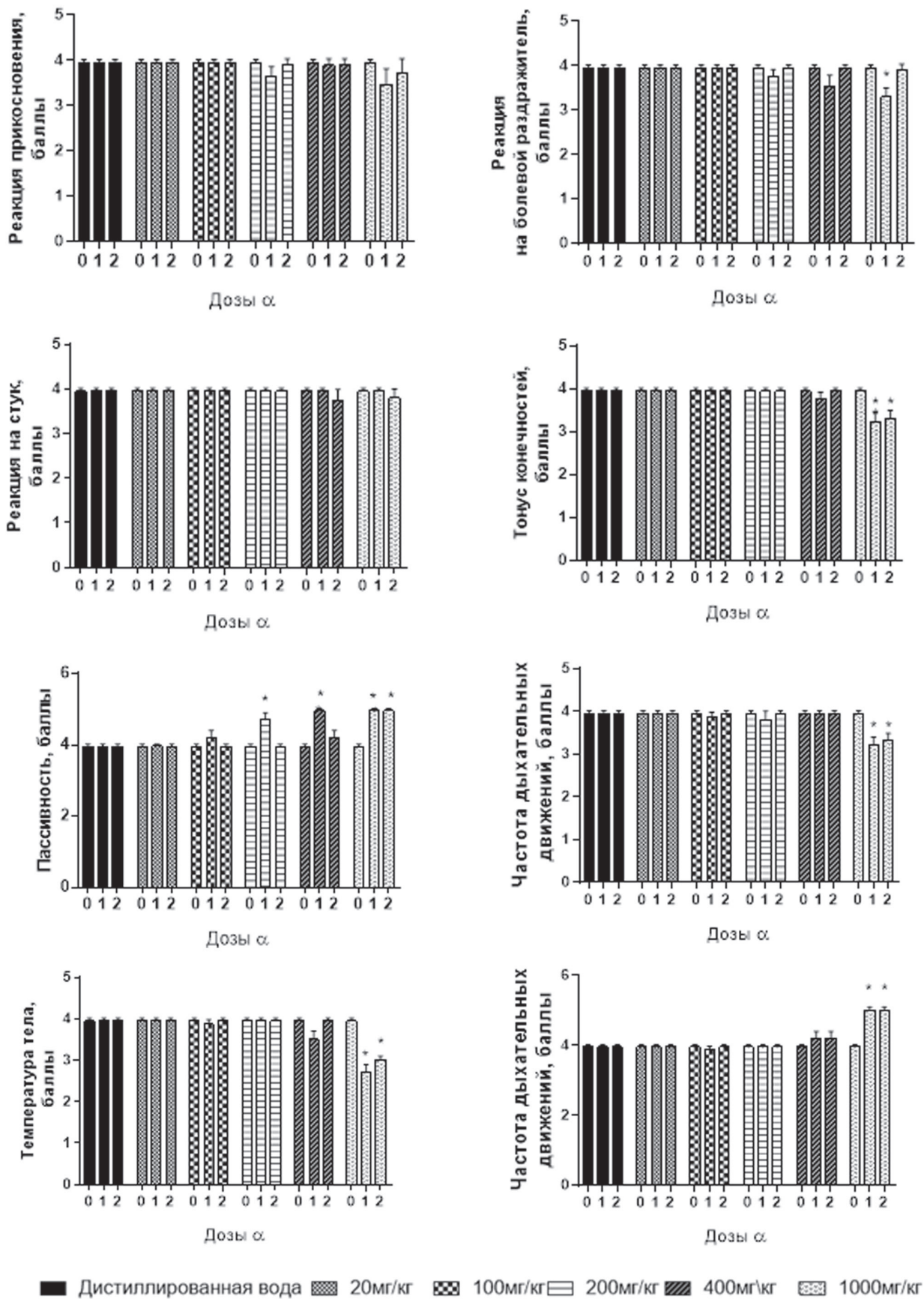


Рис. 1. Влияние соединения АВ-19 в исследуемых дозах на нейротоксические симптомы у мышей (в баллах, M ± m).

Δ - Примечание: 0 - исходные данные, полученные до введения вещества; 1 - значения, полученные через 1 час после введения вещества; 2 - значения, полученные через 2 часа после введения вещества

Из показателей, описывающих поведенческие реакции, через 1 час после введения вещества у животных фиксировалось статистически незначимое снижение груминга и спонтанной двигательной активности, а также пассивность в поведении. Остальные параметры, в сравнении с группой контроля, не изменились. При 10-ти кратном увеличении средней эффективной дозы АВ-19 регистрировались изменения спонтанной двигательной активности и груминга, достоверно увеличивался показатель пассивности. Отмечались случаи снижения рефлекторных реакций на тактильное прикосновение и болевой раздражитель. Со стороны вегетативной нервной системы изменений зафиксировано не было. Для животных на 60 и 120 минутах после введения соединения в дозах 400 и 1000 мг/кг была характерна следующая картина интоксикации: снижался показатель двигательной активности животных (пассивность и спонтанная двигательная активность, в дозе 1000 мг/кг), уряжалась частота актов груминга; по сравнению с исходным значением и показателями контрольной группы угнетались рефлекторные реакции (на звук и на прикосновение в дозе 1000 мг/кг, а на боль в обеих дозах), нарушался тонус конечностей, в особенности задних лап; указанные симптомы дополнялись снижением частоты дыхательных движений и гипотермией. В целом большинство изучаемых эффектов АВ-19 были дозозависимы, в частности значительная часть эффектов в большинстве случаев развивалась к 1 часу наблюдения и в дозе 400 мг/кг статистически была не достоверна, в то время как в дозе превышающей эффективную в 50 раз, интоксикационные изменения статистически усиливались и наблюдались в течение всего периода наблюдения. Описанная картина изменений в настоящем многопараметровом тестировании за счет совокупности указанных признаков может свидетельствовать о развитии седации с выраженной вегетотропной симптоматикой у животных. Проведенное исследование свиде-

тельствует об отсутствии значимого нейротоксического влияния АВ-19 в средней эффективной дозе 20 мг/кг, а также дозе, превышающей эффективную в 5 раз. В основном, при увеличении дозы от 400 мг/кг и выше при введении АВ-19 у животных развивается выраженная седация, тахипноэ и гипотермия, а также отмечается снижение нервно-мышечной передачи.

Заключение. В результате исследования установлено, что для соединения АВ-19 в средней эффективной дозе и дозе, превышающей среднюю эффективную в 5 и 10 раз, не характерно влияние на функциональное состояние вегетативной нервной системы и нервно-мышечного возбуждения, а среди спектра исследуемых поведенческих эффектов отмечается снижение активности мышцей. Зарегистрированные случаи снижения рефлекторных реакций на тактильное прикосновение и болевой раздражитель в дозе 200 мг/кг не имели статистически достоверного различия с группой интактного контроля. Доза 400 мг/кг при внутрижелудочном введении у мышцей-самцов предварительно, условно, может быть обозначена как начальная, вызывающая выраженные токсические реакции, и может быть рекомендована для более детального исследования при изучении хронической токсичности ФС на следующем этапе доклинического исследования. Выявленные изменения нейрофункционального статуса у мышцей позволяют предварительно обозначить минимальную токсическую дозу ($TD_{мин}$) для АВ-19 при внутрижелудочном введении: $400 \text{ мг/кг} < TD_{мин} \leq 1000 \text{ мг/кг}$, а также охарактеризовать клиническую картину возможной передозировки АВ-19. Наиболее значимыми из симптомов являются: седация, снижение тонуса мышцей; со стороны вегетативной нервной системы – тахипноэ и гипотермия. По результату проведенного исследования можно сделать вывод о том, что для соединения АВ-19 характерно низкое токсическое действие в отношении поведения животных при многотестовом наблюдении по «S.Irwin», а также вещество перспективно для углубленного доклинического изучения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ионова Т.И. и др. Качество жизни и проблемы, связанные с гипогликемией, у больных сахарным диабетом 2-го типа на фоне пероральной сахароснижающей терапии // Клиническая медицина. – 2013. – Т. 91. – №. 9.
- Глобальный доклад по диабету [Global report on diabetes]. Женева: Всемирная организация здравоохранения; 2018. Лицензия: CCBY-NC-SA3.0IGO.
- Сергиенко А.В. Клиническая фармакология пероральных сахароснижающих лекарственных средств в обучении студентов фармацевтических вузов/ Сергиенко А.В., Ивашев М.Н., Лысенко Т.А., Арлыт А.В., Зацепина Е.Е. и др. // Международный журнал эксперимен-
- тального образования №10. – 2012. – 17 – 20
- Дедов И. И. и др. Сахарный диабет: диагностика, лечение, профилактика. – 2011.
- Ramasamy R. et al. Advanced glycation end products and RAGE: a common thread in aging, diabetes, neurodegeneration, and inflammation // Glycobiology. – 2005. – Т. 15. – №. 7. – С. 16R-28R.
- Смирнова О.М., Кононенко И.В. Гипогликемическая терапия сахарного диабета 2 типа: проблемы долгосрочной безопасности // Эндокринология. – № 4-5. – 2016. – С. 32-43
- Макарова М.Н. Методические подходы к оценке нейротоксичности веществ/М.Н. Макарова, В.Г. Макаров, Е.В. Шекунова // Вестник НЦЭСМП. – Том 7, № 2. – Апрель-июнь 2017
- European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes // European Treaty Series - No. 123
- Национальный стандарт РФ ГОСТ Р 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики» (Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 20 ноября 2014 г. № 1700-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 33044-2014 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 августа 2015 г. Настоящий стандарт идентичен международному документу OECD Guide 1:1998 OECD Principles of good laboratory practice).
- Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / Под общей редакцией д.м.н. А.Н.Миронова –М: Гриф и К, 2012. – С. 80-93.
- Irwin S. Drug screening and evaluation of new compounds in animals. In: Nodin JH, Siegler PE, eds. Animal and clinical techniques in drug evaluation. Chicago: Year Book Medical Publishers; 1964. P. 36-54.
- Irwin S. Determination of variability in drug response / S. Irwin //

Psychosomatics. – 1964. – Vol.5. – P. 174-179.

13. Irwin, S. Comprehensive observational assessment: Ia. A systematic, quantitative procedure for assessing the behABioral

and physiologic state of the mouse [Text] / S. Irwin // Psychopharmacologia. – 1968. – V. 13. – № 3. – P. 222-257.

14. Ковалев Д. Г., Бугаева Л. И., Озеров А. А. Нейротоксикологический профиль

новых производных аденина, обладающих противовирусной активностью // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2010. – Т. 6. – №. 2.

15. Кузнецова В. А. и др. Метод оценки

антигликирующей активности in vitro новых веществ // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2014. – №. 3 (43).

REFERENCES:

1. Ionova T.I. et al. Quality of life and problems associated with hypoglycemia in patients with type 2 diabetes mellitus on the background of oral hypoglycemic therapy. Clinical medicine. – 2013. – Vol. 91. – Iss. 9 (in Russian).

2. Global report on diabetes. Geneva: World Health Organization; 2018. License: CCBY-NC-SA3. OIGO (in Russian).

3. Sergienko A.V. Clinical pharmacology of oral hypoglycemic drugs in the training of students of pharmaceutical universities / Sergienko A.V., Ivashev M.N., Lysenko T.A., Art A.V., Zatssepina E.E. et al. / International Journal of Experimental Education. – 2012. – Iss. 10. – Pp. 17 – 20 (in Russian).

4. Dedov I.I. et al. Diabetes mellitus: diagnosis, treatment, prevention. – 2011 (in Russian).

5. Ramasamy R. et al. Advanced glycation end products and RAGE: a common thread in aging, diabetes, neurodegeneration, and inflammation. Glycobiology. – 2005. – Vol. 15. – Iss. 7. – Pp. 16R-28R.

6. Smirnova O.M., Kononenko I.V. Hypoglycemic therapy of type 2 diabetes: problems of long-term safety. Endocrinology. – 2016. – Vol. 4-5. – Pp. 32-43 (in Russian).

7. Makarova M.N. Methodological approaches to the assessment of neurotoxicity of substances / Makarova M.N., Makarov V.G., Shekunova E.V. / Journal of the Scientific Center for the Examination of Medical Devices. – 2017. – Vol. 7. – Iss. 2 (in Russian).

8. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used

for Experimental and Other Scientific Purposes // European Treaty Series - No. 123.

9. National standard of the Russian Federation GOST R 33044-2014 "Principles of good laboratory practice" (approved by Order of the Federal Agency for Technical Regulation and Metrology, dated November 20, 2014, in Russian).

10. Guidelines for conducting preclinical research of medicines. Part one / ed. Mironov A.N. -M: Grif and K. – 2012. – Pp. 80-93 (in Russian).

11. Irwin S. Drug screening and evaluation of new compounds in animals. In: Nodin J.H., Siegler P.E., eds. Animal and clinical techniques in drug evaluation. Chicago: Year Book Medical Publishers; 1964. – Pp. 36-54.

12. Irwin S. Determination of variability in drug response / S. Irwin / Psychosomatics. – 1964. – Vol. 5. – Pp. 174-179.

13. Irwin, S. Comprehensive observational assessment: Ia. A systematic, quantitative procedure for assessing the behABioral and physiologic state of the mouse [Text] / S. Irwin / Psychopharmacologia. – 1968. – Vol. 13. – Iss. 3. – Pp. 222-257.

14. Kovalev D.G., Bugaeva L.I., Ozerov A.A. Neurotoxicological profile of new adenine derivatives with antiviral activity. Saratov Scientific Medical Journal. – 2010. – Vol. 6. – Iss. 2 (in Russian).

15. Kuznetsova V.A. et al. Method for in vitro evaluation of the antiglycemic activity of new substances. Volgograd Scientific Medical Journal. – 2014. – Iss. 3 (in Russian).

D.V. Maltsev^{1,2}, A.A. Spasov^{1,2}, V.A. Kosolapov¹, K.T. Sultanova^{1,2}, M.V. Miroshnikov¹, S.K. Kotovskaya³, I.M. Sapozhnikova³, V.L. Rusinov³

NEUROTOXICOLOGICAL PROPERTIES OF THE COMPOUND AV-19 FOR PROPHYLAXIS AND TREATMENT OF COMPLICATIONS OF DIABETES MELLITUS

¹Volgograd State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, 400131, Volgograd, Russian Federation

²Volgograd Medical Scientific Center, 400131, Volgograd, Russian Federation

³Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin, 620002, Yekaterinburg, Russian Federation

The article presents the results of a study of the neurotoxicological profile of the new compound AB-19, acting on collagen glycation end products (AGE) and their receptors (RAGE), for the prevention and treatment of diabetes complications. The multi-test method «S. Irwin» was used. The test results were evaluated in parallel groups receiving the substance in doses starting with the average effective dose (ED₅₀) and with a multiple increase by 5, 10, 20 and 50 times. It was found that the compound AB-19 in doses of 20, 100 and 200 mg / kg does not affect the functional and behavioral status of animals. However, with an increase to 400 mg / kg, typical manifestations of intoxication were observed: a decrease in muscle tone, hypothermia, sedation, tachypnea. As a result of the study, it was revealed that the neurotoxicological properties of the compound AB-19 are characterized by dose-dependent activity. A minimum toxic dose of 400 mg / kg ≤ Td_{min} ≤ 1000 mg / kg was also indicated.

Keywords: AV-19, diabetes mellitus, complications of diabetes mellitus, neuropsychotropic activity, method of multi-test observation «S. Irwin».

Quote: D.V. Maltsev, A.A. Spasov, V.A. Kosolapov, K.T. Sultanova, M.V. Miroshnikov, S.K. Kotovskaya, I.M. Sapozhnikova, V.L. Rusinov. Neurotoxicological properties of the compound AV-19 for prophylaxis and treatment of complications of diabetes mellitus. Toxicological Review. 2020; 4:39-43

Переработанный материал поступил в редакцию 15.01.2020 г.

