

ИММУНОФАРМАКОЛОГИЯ

DOI: 10.30906/0869-2092-2022-85-8-17-20

ВЛИЯНИЕ ТАМЕРОНА НА НЕКОТОРЫЕ ЛАБОРАТОРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ СТАРЫХ ОБЕЗЬЯН

И. Н. Клоц¹, Т. Е. Гвоздик¹, К. В. Ушаков², О. А. Шамсутдинова¹, Е. И. Мухаметзянова¹, В. В. Кебурия¹, И. А. Гварамия¹, А. П. Злобина¹, Д. Д. Карал-оглы¹, С. В. Орлов¹

Изучено влияние иммуномодулирующего и противовоспалительного препарата “Тамерон” на старых обезьян. Показано, что 2-недельное введение тамерона в дозах, в 2,5 раза выше рекомендуемой дозы для человека, не приводит к изменению основных лабораторных показателей крови старых обезьян. Не найдены изменения в большинстве показателей после введения препарата, по сравнению с фоновыми значениями или показателями у обезьян экспериментальной и контрольной групп. В то же время, тамерон изменял число тромбоцитов, показатели гемостаза и уровень тестостерона, смещая их к значениям, характерным для более молодых животных. Изменения в этих параметрах коррелировали с возрастом обезьян. Сделан вывод о том, что тамерон безопасен и оказывал положительное действие на некоторые системы организма обезьян.

Ключевые слова: тамерон; старение; макаки резус; гемостаз, тромбоциты; тестостерон.

ВВЕДЕНИЕ

Препарат “Тамерон” (аминодигидрофталазиндион натрия) был разработан и произведен МОУ “Институт инженерной физики” [2]. Механизм действия тамерона связан с его способностью воздействовать на функционально-метаболическую активность фагоцитарных клеток (моноцитов/макрофагов, нейтрофилов, естественных киллеров). Препарат ингибирует избыточный синтез гиперактивированными макрофагами фактора некроза опухоли- α , интерлейкина-1, интерлейкина-6 и других провоспалительных цитокинов, активных форм кислорода, уровень которых определяет степень воспалительных реакций, их цикличность, а также выраженность интоксикации и уровень окислительного стресса.

В ряде исследований тамерон применяли в качестве иммуномодулятора при хроническом гепатите С [4] и в составе комплексной терапии хронического рецидивирующего цистита у женщин [3]. Тамерон успешно использовали при COVID-19 [1, 5].

Доклинические исследования лекарственных средств (ЛС), как правило, проводят на молодых обезьянах 4–6-летнего возраста. Однако в большинстве случаев ЛС предназначены для людей старшего и преклонного возраста. Их действие может отличаться

от такового на организм молодых людей. Это тем более актуально, поскольку число лиц старшего возраста растет быстрыми темпами.

Целью настоящей работы являлась оценка безопасности применения тамерона на старых обезьянах и изучение изменений их физиологических показателей.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Все работы с обезьянами проводились в соответствии с требованиями Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или иных целей, ETS No. 123 и Директивы No. 2010/63/EU, принятой Европейским Парламентом 22 сентября 2010 г. Разрешение на проведение работ было получено от Комитета по Биоэтике ФГБНУ “НИИ МП”, который создан и работает в соответствии с требованиями законодательства Российской Федерации (Протокол № 58 – 1 от 16.12.2020 г.). В работе были использованы 10 самцов макак резусов (*Macaca mulatta*) в возрасте 23–29 лет. Животных содержали в индивидуальных клетках, оборудованных автоматическими поилками. Условия содержания животных: температура окружающего воздуха 24 ± 2 °С; относительная влажность 65 ± 5 %; естественная продолжительность светового дня. Животные получали брикетированный корм и свежие фрукты и овощи.

Тамерон был предоставлен МОУ “Институт инженерной физики”.

Для изучения влияния тамерона на организм старых обезьян было проведено определение стандартно-

¹ ФГБУ Научно-исследовательский институт медицинской приматологии, Россия, 354376, Сочи — Адлер, с. Веселое, ул. Мира, 177.

² ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова Минздрава России, Россия, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1.

го набора гематологических и биохимических показателей, используемых в клинической практике.

Рекомендуемая для человека доза тамерона составляет 100 мг (при массе тела 70 кг), что соответствует дозе 1,42 мг/кг. Для обезьян эта доза будет соответствовать 5 мг/кг, но нами использовался препарат в более высокой дозе. Схема эксперимента была следующей:

перед началом эксперимента было проведено определение фоновых исходных значений всех изучаемых показателей. В опытной группе (5 обезьян) препарат вводили внутримышечно в дозе 10 мг/кг, что в 2,5 раза выше дозы, в которой тамерон применяют у человека. Животные контрольной группы (5 обезьян) получали физиологический раствор в количестве 2 мл на 10 кг массы тела. Введение препарата проводили ежеднев-

Показатели крови обезьян после введения тамерона в зависимости от возраста животных

Возраст, лет	Показатель	Дни							
		В единицах измерения				Показатель	Δ, %		
		0	7	14	44		7	14	44
23	Тромбоциты, $10^9/л$	280	355	346	252	Тромбоциты	75	66	-28
24		280	315	284	235		35	3	-45
25		309	355	364	315		46	55	6
26		239	244	256	269		5	17	30
29		300	274	325	319		-26	25	19
<i>r</i> , возраст — параметр		0,14	-0,67	-0,12	0,72	<i>r</i> , возраст — Δ день	-0,92	-0,32	0,68
Т-тест, <i>p</i> , фон/день		-	0,31	0,19	0,87				
23	АЧТВ, с	26,2	21,6	21,1	21,6	АЧТВ	-4,6	-5,1	-4,6
24		22,4	20,1	20,1	21,6		-2,3	-2,3	-0,8
25		24,3	22,1	22,2	21,9		-2,2	-2,1	-2,4
26		27,6	22,5	23,4	22,9		-5,1	-4,5	-4,7
29		32,8	22,4	22,8	22,5		-10,4	-10	-10,3
<i>r</i> , возраст — параметр		0,84	0,59	0,69	0,73	<i>r</i> , возраст — Δ день	-0,83	-0,77	-0,81
Т-тест, <i>p</i> , фон/день		-	0,027	0,035	0,034				
23	Фибриноген, г/л	2,46	3,1	3,13	3,57	Фибриноген	0,64	0,67	1,11
24		1,68	2,08	2,07	2,06		0,4	0,39	0,38
25		2,5	3,28	3,31	3,37		0,78	0,81	0,86
26		1,96	3,03	3,1	2,85		1,07	1,14	0,89
29		1,03	2,26	2,74	2,44		1,23	1,61	1,41
<i>r</i> , возраст — параметр		-0,78	-0,34	-0,002	-0,40	<i>r</i> , возраст — Δ день	0,84	0,91	0,61
Т-тест, <i>p</i> , фон/день		-	0,053	0,027	0,044				
23	Протромбиновое время, с	14,1	13,4	13,6	11,6	Протромбиновое время	-0,7	-0,5	-2,5
24		13,3	12	11,2	11,2		-1,3	-2,1	-2,1
25		15,5	15,3	13,6	13,7		-0,2	-1,9	-1,8
26		15,1	12,7	12,5	12		-2,4	-2,6	-3,1
29		14,7	12,7	12,5	10,9		-2,5	-2,3	-3,8
<i>r</i> , возраст — параметр		0,42	-0,15	-0,14	-0,25	<i>r</i> , возраст — Δ день	-0,69	-0,62	-0,77
Т-тест, <i>p</i> , фон/день		-	0,090	0,013	0,003				
23	Тестостерон моль/л	20	36	60	70	Тестостерон	16	40	50
24		17	80	47	60		63	30	43
25		12	10	31	17		-2	19	5
26		21	23	22	43		2	1	22
29		9	45	13	27		36	4	18
<i>r</i> , возраст — параметр		-0,66	-0,11	-0,93	-0,67	<i>r</i> , возраст — Δ день	0,06	-0,80	-0,60
Т-тест, <i>p</i> , фон/день		-	0,09	0,06	0,03				

Примечание: АЧТВ — активированное частичное тромбопластиновое время.

но, 5 раз в неделю, в течение 2 недель (всего 10 введений). После первых 5 введений и после 10 введений все анализы были повторены (день 7 и день 14). Наблюдение за животными было продолжено еще 30 дней, после чего снова были проведены все анализы (день 44). В качестве сравнения были использованы данные, полученные ранее на молодых обезьянах в возрасте 4 – 8 лет.

Анализ гематологических параметров проводили на гематологическом анализаторе МЕК-7300К, Nihon Kohden (Япония), а биохимические — на анализаторе Biolit-8020 (Китай).

Параметры гемостаза определяли на анализаторе “TS4000 plus” с использованием реагентов НПО “РЕНАМ” (Россия).

Уровни тестостерона определяли с помощью набора “Стероид-ИФА-тестостерон” компании “Алкор-Био” (Россия).

Помимо измерения абсолютных значений, вычисляли разницу между исходными значениями и теми, которые имели место после введения препарата:

$$\Delta, \% = (\text{Пф} - \text{Пн}) \cdot 100/\text{Пф},$$

где Пф — значение параметра до введения препарата; Пн — значение параметра после введения препарата (дни 7, 14 и 44).

Статистический анализ выполняли с помощью программы “Статистика 6”. Вычисляли коэффициент корреляции r и критерий Стьюдента, p в Т-тесте (хвосты 2, тип 2). Отличия считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Введение тамерона не приводило к ухудшению самочувствия животных. Не было отмечено изменений в температуре и массе тела обезьян. Животные не теряли аппетита и не было выявлено никаких других возможных побочных эффектов от его применения. В общем анализе крови и большинстве биохимических показателей не выявлены изменения по сравнению с фоновыми значениями. Также не были найдены отличия в большинстве показателей между экспериментальной и контрольной группами.

Вместе с тем, тамерон вызывал увеличение числа тромбоцитов у обезьян экспериментальной группы (таблица).

Увеличение числа тромбоцитов зависело от возраста животных — чем обезьяна старше, тем меньше было увеличение (Δ в 7 день с увеличением возраста от 23 до 29 лет снижалась с +75 до –26 %, в 14 день — с 66 до 25 %). При этом была высокая корреляция между возрастом обезьян и Δ (–0,92, –0,32 и –0,68 на 7, 14 и 44 дни, соответственно).

Через 30 дней после окончания применения тамерона число тромбоцитов снизилось у 4 из 5 обезьян. В группе контрольных животных все показатели в динамике измерений были без изменений.

Тамерон вызывал значительные изменения показателей гемостаза крови обезьян. С возрастом исходные значения активированного частичного тромбопластинного времени (АЧТВ) возрастают (коэффициент корреляции “возраст — АЧТВ” $r = 0,84$). Изменения в АЧТВ с возрастом соответствовали параболической зависимости, причем наибольшее изменение значений АЧТВ происходило в возрасте 26 – 28 лет. Изменения АЧТВ после введения препарата были достоверны на 7, 14 и 44 день, по сравнению с исходными значениями.

Также было показано, что с возрастом исходные значения уровня фибриногена уменьшаются (коэффициент корреляции “возраст — фибриноген” $r = -0,79$). Тамерон вызывал достоверные изменения уровня фибриногена через 14 и 44 дней, по сравнению с исходными значениями этого показателя. Как видно из представленных данных, изменения содержания фибриногена линейно увеличивались с возрастом обезьян.

Изменения в динамике протромбинового времени (ПВ) были достоверны через 14 и 44 дней после введения препарата, по сравнению с исходными значениями ПВ. Изменения ПВ были максимальными через 4 недели после окончания введения препарата (эффект тамерита был длительным).

Представляют особый интерес результаты изменения уровня тестостерона после введения препарата. Хорошо известно, что с возрастом у людей содержание тестостерона в крови снижается. Для старых обезьян была найдена аналогичная зависимость и коэффициент корреляции “возраст — уровень тестостерона” ($r = -0,73$) был достаточно высоким. Введение тамерона приводило к повышению уровня тестостерона, но достоверными были изменения только через 44 дня после начала применения этого препарата ($p = 0,026$).

Изменения в уровнях тестостерона через 14 и 44 дня после введения препарата носили линейный характер, уменьшаясь с возрастом животных, и коэффициенты корреляции r “возраст — Δ уровень тестостерона” были равны –0,8 и –0,6, соответственно.

Применение тамерона было безопасным и не приводило к ухудшению самочувствия животных. Не было найдено изменений в большинстве показателей крови обезьян после введения препарата, по сравнению с фоновыми значениями или показателями крови у обезьян экспериментальной и контрольной групп.

Вместе с тем, тамерон вызывал изменения в количестве тромбоцитов, показателях гемостаза и уровне тестостерона. Следует особо отметить, что эти изменения смещались к значениям более молодых животных, т.е. препарат оказывал положительное действие на некоторые системы организма обезьян. Динамика изменений была различна, т.е. для некоторых показателей она уменьшалась с возрастом животных, тогда как для других она была линейна и не зависела от возраста. В некоторых случаях показатели возвращались к исходным значениям через 30 дней после прекращения

ния применения препарата, тогда как другие изменения сохранялись в течение этого времени.

Все вышеизложенное позволяет сделать вывод о том, что применение тамерона оказывает благоприятное воздействие на организм старых обезьян, и можно рекомендовать продолжить данное исследование с использованием большего числа животных и в течение более продолжительного периода времени с тем, чтобы оценить долгосрочные эффекты действия этого ЛС.

ВЫВОДЫ

1. Двухнедельное введение тамерона старым обезьянам в дозах, в 2,5 раза выше рекомендуемой дозы для человека, было безопасно, не было выявлено никаких побочных эффектов.

2. Не найдены изменения в большинстве показателей крови обезьян после применения препарата по сравнению с фоновыми значениями или показателями крови у обезьян экспериментальной и контрольной групп.

3. Тамерон вызывал изменения в числе тромбоцитов, показателях гемостаза и уровне тестостерона, смещая их к значениям, характерным для более моло-

дых животных. Изменения в этих параметрах коррелировали с возрастом обезьян.

Работа была поддержана проектом Министерства высшего образования и науки Российской Федерации в рамках соглашения № 075-15-2021-1065 от 28 сентября 2021 г. о предоставлении гранта на реализацию отдельных мероприятий Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019 – 2027 годы.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. М. Ермаков, Е. А. Царькова, О. Н. Ермакова и др., *Морская медицина*, **6**(3), 67 – 75 (2020); doi: 10.22328 / 2413-5747-2020-6-3-67-75.
2. А. М. Ермаков, В. С. Вольский, Е. А. Царькова, *Известия Института инженерной физики*, **4**(62), 88 – 92 (2021).
3. А. В. Кузьменко, В. В. Кузьменко, Т. А. Гяргиев, *Урология*, **2**, 9 – 14 (2019); doi: 10.18565 / urology.2019.2.9–14.
4. Б. С. Нагоев, Ж. Б. Понежева, *Клиническая лабораторная диагностика*, **5**, 47 – 49 (2011).
5. A. A. Svistunov, G. K. Makhnach, D. V. Bunina, et al., *Ther. Arch.*, **92**(11), 65 – 70 (2020); doi: 10.26442 / 00403660.2020.11.000820.

Поступила 19.04.22

EFFECT OF TAMERON ON SOME INDIVIDUAL BLOOD PARAMETERS OF OLD MONKEYS

I. N. Klots¹, T. E. Gvozdik¹, K. V. Ushakov², O. A. Shamsutdinova¹, E. I. Mukhametzyanova¹, V. V. Keburiya¹, I. A. Gvaramiya¹, A. P. Zlobina¹, D. D. Karal-ogly¹, and S. V. Orlov¹

¹ Research Institute of Medical Primatology, Ministry of Health of the Russian Federation, ul. Mira 177, selo Veseloye, Sochi–Adler, 354376 Russia

² N. I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, ul. Ostrovityanova 1/9, Moscow, 117997 Russia

Effects of the immunomodulatory and anti-inflammatory drug tameron on the organism of old monkeys were studied. It has been found that a two-week administration of tameron at doses 2.5 times higher than the equivalent recommended dose for humans does not lead to changes in the main hematological and biochemical blood parameters. No changes were found in most of the blood parameters of monkeys after the drug administration as compared to baseline values or blood parameters in the monkeys of the experimental and control groups. At the same time, the administration of tameron led to changes in the platelet number, hemostasis parameters and testosterone level, shifting them to the values characteristic of younger animals. Changes in these parameters correlated with the age of monkeys. It has been concluded that tameron is safe and has a positive influence on some systems of the monkey organism.

Keywords: tameron; aging; rhesus monkey; hemostasis; platelets; testosterone.