

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека  
Федеральное бюджетное учреждение науки  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПРИКЛАДНОЙ МИКРОБИОЛОГИИ И  
БИОТЕХНОЛОГИИ (ФБУН ГНЦ ПМБ)

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФБУН ГНЦ ПМБ  
академик РАН, д. м. н., профессор

И.А. Дятлов



ОТЧЕТ

ОБ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИХ ИСПЫТАНИЯХ

«Исследование подострого токсического действия нового лекарственного  
вещества ОСТЕОМЕД ФОРТЕ in vivo. Часть 1.

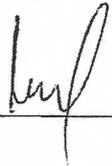
Изучение патоморфологической картины органов и тканей лабораторных  
животных».

(по договору № 709-н/2018 от 12.11. 2018 г.)

Оболенск 2019

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

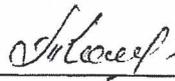
Зам. директора  
доктор биол. наук



---

И.Г. Шемякин

Старший научный  
сотрудник  
канд. биол. наук



---

Т.И. Комбарова

Научный сотрудник



---

Т.И. Рудницкая

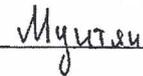
Старший научный  
сотрудник,  
канд. мед. наук



---

О.Ю. Манзенюк

Младший научный  
сотрудник



---

Я.О. Мунтян

## **Реферат**

Отчет: 21 с., 5 табл., 4 рис.

*Ключевые слова:* Мыши беспородные, крысы линейные Вистар (Wistar), подострое токсическое действие, активные компоненты препарата «ОСТЕОМЕД ФОРТЕ»

В отчете представлены результаты исследований, проведенных по договору № 709-н/2018 от 12 ноября 2018 г. между ООО «ПАРАФАРМ» и ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» (ГНЦ ПМБ).

Современные стандарты доклинических токсикологических исследований фармакологического вещества предполагают установление характера и выраженности его повреждающего действия на организм экспериментальных животных и оценку его безопасности. Целью исследования подострой токсичности лекарственного средства является характеристика повреждающего действия препарата при его длительном введении, выявление наиболее чувствительных органов, а также исследование возможности обратимости вызываемых повреждений [1,5].

*Объектом исследования* является: препарат «ОСТЕОМЕД ФОРТЕ» для профилактики и комплексной терапии остеопороза, остеопении и сопутствующих им заболеваний (артрита, артроза, остеохондроза и других патологий опорно-двигательной системы, а также пародонтита); в реабилитационный период при переломах для профилактики остеопороза и других травм костей и суставов.

*Цель исследования:* экспериментальное изучение подострого токсического действия нового препарата ОСТЕОМЕД ФОРТЕ при многократном пероральном введении 2-м видам животных, наблюдение за животными в течение 30 дней.

Область применения – медицина

Реферат

ОБОЗНАЧЕНИЯ, СОКРАЩЕНИЯ.....5

Регулирующие стандарты.....6

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

1. Материалы и методы.....7

2. Программа исследований.....10

3. Результаты исследований.....12

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....19

Список литературы.....21

## ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

per os.....	пероральное (внутрижелудочное) введение
МЕ.....	международные единицы

Все работы проводились в соответствии со следующей нормативно-технической документацией:

1. СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» от 29.08.2014г;
2. Правила лабораторной практики в Российской Федерации (Приказ Министерства Здравоохранения Российской Федерации №267 от19.06.2003);
3. ГОСТ12.1.007-76ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности (с Изменениями№1,2);
4. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Москва, 2005, стр.40-46;
5. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Раздел I. Гриф и К, 2012, стр.13-188.
6. «Методические рекомендации по изучению общетоксического действия лекарственных средств». Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М. Гриф и К, 2012, стр. 13-24;
7. Директива Совета Европы - 2010/63 EU;
8. Коржевский Д.Э., Гиляров А.В. Основы гистологической техники. СПб, СпецЛит, 2010, 95стр.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

## 1. Материалы и методы

### *Реактивы и приборы*

Микроскоп Nikon eclipse, 80i с фотонасадкой (Япония)

Микротом 1130 Biocut, Reichert Jung (Германия)

Шкаф вытяжной Ш2НЖ (Россия);

Ламинарный шкаф «Лабораторные системы» для работы с микроорганизмами 3-4 групп патогенности (Россия);

Пробирки лабораторные полипропиленовые с закручивающимися пробками вместимостью 15 мл и 50 мл, стерильные («Corning Costar», США);

Пробирки микроцентрифужные вместимостью 0,5 мл, 1,5 мл, 2,0 мл («Eppendorf», Германия);

Наконечники для регулируемых автоматических пипеток («Eppendorf» Германия);

Пипетки регулируемые автоматические, вместимостью 0,5-10, 10-100, 100-1000 мкл («Eppendorf», Германия);

Пипетки стерильные пластиковые градуированные вместимостью 0,1-1,0; 2,0 мл («Corning Costar», США);

Пробирки микробиологические стеклянные по ГОСТ 1770-74;

Спирт этиловый ректификованный по ГОСТ Р 51652-2000;

Перекись водорода 30 % по ГОСТ 177-88;

### *Животные*

Вид: крысы линейные Вистар, мыши беспородные

Пол: самцы и самки

Возраст: 8-10 недель

Количество животных: крысы линейные Вистар (Wistar) – 30 голов (15 самцов и 15 самок); мыши беспородные 30 голов (15 самцов и 15 самок).

Масса тела: 175-190г, 20-23г соответственно.

Поставщик: Филиал «Андреевка» ФГБУН НЦБМТ МБА России.

### *Условия содержания и кормления*

Размещение животных и условия содержания соответствуют виду (мыши, крысы) в поликарбонатных микроизоляторах «LabProducts Inc.» (США) и обеспечивают стандартность проведения исследований, согласно [2].

Животных содержали в контролируемых условиях окружающей среды (при температуре от 18 до 26 °С и относительной влажности воздуха от 30 до 70 %). Освещение с чередованием 12 часов света и 12 часов темноты. Воздухообмен в помещениях для содержания животных должен составлять 12-15 об/ч.

В исследовании в качестве стандартного рациона используют гранулированные полнорационные корма ПК-120 для содержания мышей и крыс, изготовленный по ТУ 9296-002-70941247-2005 (ООО «Лабораторкорм»). Корм и воду давали *ad libitum*.

*Обеспечение соблюдения принципов гуманного обращения с подопытными животными*  
Все предполагаемые в данном исследовании манипуляции с животными, а также условия их кормления и содержания одобрены биоэтической комиссией ФБУН ГНЦ ПМБ.

#### *Эвтаназия*

Животные в конце эксперимента эвтаназированы с помощью CO<sub>2</sub> – ингаляции согласно Директиве Совета Европы - 2010/63 EU

#### *Патологическая анатомия и гистология*

Величина массы тела, определенная после ночи голодания перед некропсией, была использована для определения массовых коэффициентов органов (масса органа в граммах в расчете на 1кг массы тела).

Извлеченные при некропсии органы взвешивали таким образом, чтобы избежать их высыхания. Парные органы взвешивали вместе. Для оценки состояния внутренних органов использовали массовый коэффициент (МК) – процентное отношение массы органа к массе тела.

Расчет массовых коэффициентов производили по формуле:

$МК = \frac{\text{Масса органа (г)}}{\text{масса тела}} \times 100\%$ , этот показатель при токсикологических исследованиях дает возможность обнаружения органа - мишени.

В ходе некропсии подопытных животных были отобраны образцы тканей для последующего гистологического анализа нижеследующих органов:

- Легкое
- Печень
- Желудок
- Почка
- Селезенка

Все образцы органов помещали в 10%-ный забуференный раствор формалина.

Фиксированные образцы органов и тканей были обезвожены, пропитаны парафином и заключены в парафиновые блоки. Из парафиновых блоков готовили срезы толщиной 5-6 мкм и окрашивали гематоксилином и эозином. Гистологические препараты исследовали методом световой микроскопии согласно [3]

#### *Предмет исследований*

Предметом исследований является:

«ОСТЕОМЕД ФОРТЕ» - биологически активная пищевая добавка «ОСТЕОМЕД ФОРТЕ» имеет четкий состав действующих веществ. Оказывает многоуровневое действие: способствует регуляции фосфорно-кальциевого обмена, эффективному и безопасному восстановлению и формированию структуры костной ткани; подавляет костную резорбцию и стимулирует остеогенез; увеличивает минеральную плотность костной ткани. Являясь источником природных прогормонов, препарат способствует безопасной нормализации гормонального фона и формированию коллагена.

Исследуемый препарат предназначен для перорального применения взрослым по 2 таблетки массой 500мг 2 раза в день во время еды. Продолжительность приема – 1 месяц. В ходе исследования использовали препарат «ОСТЕОМЕД ФОРТЕ» (таблетка) в дозах 200 мг/кг, 2000 мг/кг, 5000 мг/кг.

Табл. 1. Рецептатура препарата «ОСТЕОМЕД ФОРТЕ» по ТУ 9197-060-41395157-12 с изм. № 1

Наименование ингредиентов	Количество ингредиентов, мг/табл	Количество ингредиентов, %
Цитрат кальция (активный компонент)	250,0	50,0
Лактоза (вспомогательный компонент, наполнитель)	188,0	37,6
Гомогенат трутневый адсорбированный (активный компонент)	50,0	10,0
Кальций стеариновокислый (вспомогательный компонент, скользящее вещество)	10,0	2,0
Витамин D <sub>3</sub> (субстанция с активностью 100000 МЕ/г) (активный компонент)	1,5 (150 МЕ)	0,3
Пиридоксина гидрохлорид (активный компонент)	0,5	0,1
Итого:	500,0	100,0

## 2. Программа исследований

### 1. Ключевые даты исследования

Дата начала исследования: 31.05.2019 г.

Планируемая дата окончания исследования: 30.06.2019 г.

### 2. Ответственные за выполнение этапов исследования:

- Формирование групп животных, введение препарата, клинические наблюдения – Комбарова Т.И., Рудницкая Т.И.
- Патоморфологическое исследование (макрооценка, фото) - Комбарова Т.И., Рудницкая Т.И.
- Гистологические исследования – Ганина Е.А.
- Обеспечение условий содержания и кормления животных, ветеринарный контроль - Комбарова Т.И., Рудницкая Т.И.

### 3. Цель исследования

Цель исследования – экспериментальное изучение подострого токсического действия нового лекарственного вещества ОСТЕОМЕД ФОРТЕ *in vivo*. Характеристика повреждающего действия вещества при его длительном введении, выявление наиболее чувствительных органов и систем организма.

### 4. Обеспечение соблюдения принципов гуманного обращения с подопытными животными

Все предполагаемые в данном исследовании манипуляции с животными, а также условия их кормления и содержания одобрены биоэтической комиссией ФБУН ГНЦ ПМБ.

### 5. Схема эксперимента при определении подострой токсичности, обоснование выбора тест-системы, условий применения и введения тестируемого вещества.

В качестве лабораторных моделей были взяты опытные и контрольные группы животных (крысы линейные Вистар и беспородные мыши), широко используемые в исследованиях безопасности новых лекарственных средств [1,5].

Препарат ОСТЕОМЕД ФОРТЕ является биологически активной добавкой, которую используют для лечения симптомов остеопороза а также в качестве дополнительного источника кальция, витамина В<sub>6</sub>. Препарат является симбиотической композицией, которая способствует укреплению костной ткани.

Исследуемый препарат предназначен для перорального применения взрослым по 2 таблетки массой 500мг 2 раза в день во время еды. Продолжительность приема – 1 месяц. Таким образом, суточная доза препарата для человека составляет 2.0 г или 28.6 мг/кг массы тела. С учетом коэффициента межвидового переноса доз ( $\approx 7$ ) эквитерапевтическая доза, которая будет вводиться внутривентриально крысам, составит 200 мг/кг массы тела. Также в эксперименте оценивалась доза, в десять раз превышающая эквитерапевтическую – 2000 мг/кг.

При оценке подострой токсичности препарат ОСТЕОМЕД ФОРТЕ был исследован на мышах в дозе 5000 мг/кг (доза препарата, которая применялись при оценке острой токсичности), так как введение максимальных доз предполагает выявление возможных токсических эффектов или гибели части животных.

Препарат ОСТЕОМЕД ФОРТЕ вводили опытным животным ежедневно на протяжении 1 месяца, что соответствует предполагаемой длительности его применения в клинике. Препарат ОСТЕОМЕД ФОРТЕ животным вводили один (1) раз в день шприцом с желудочным зондом. Контрольным животным при тех же условиях вводили стерильную воду. Общие условия распределения животных по группам и дозирования препарата ОСТЕОМЕД ФОРТЕ приведены в таблице 2.

Табл. 2 Расчет доз для перорального введения препарата ОСТЕОМЕД ФОРТЕ.

	Доза (мг/кг)	Путь введения	Количество животных (5-самок и 5- самцов)	Кол-во введений	Кол-во веществ а (мг)	Объем дозы (мл/сут)
Мыши	5000	per os	10	1	1100	0.5
	-	-	-	-	-	-
Крысы	2000	per os	10	1	4000	3.0
	200	per os	10	1	400	3.0
per os – перорально						

#### 7. Распределение по группам и идентификация животных

Животные были распределены по группам рандомизированно, с использованием в качестве основного критерия массу тела, так, чтобы различия в массе тела между особями одного пола не превышали 20%.

#### 6. Идентификация животных.

Каждому животному был присвоен индивидуальный номер, нанесенный несмываемым маркером.

#### 7. Прижизненные манипуляции с животными.

Учет гибели и клинический осмотр животных проводился ежедневно в течение всего курса введения исследуемого препарата.

#### 8. Статистический анализ данных

Для всех количественных данных применяли методы описательной статистики: подсчет средних значений и стандартное отклонение, которые представлены в итоговых таблицах. Для определения достоверности межгрупповых различий данные анализировали параметрическими или непараметрическими критериями в зависимости от типа распределения количественных данных. Различия определяли при уровне доверительной вероятности 95%.

### 3. Результаты

#### 3.1 Оценка подострой токсичности лекарственного средства ОСТЕОМЕД ФОРТЕ при внутрижелудочном введении 2-м видам животных в течение 30 дней.

Изучение подострой токсичности лекарственного средства ОСТЕОМЕД ФОРТЕ проводили на крысах Вистар и на белых беспородных мышах (самках и самцах, массой тела 185 – 195 и 21 – 24 грамма соответственно). Исследуемый препарат вводили внутрижелудочно крысам в объеме 3 мл и мышам в объеме 0.5 мл, контрольным животным вводили стерильную воду в том же объёме на протяжении 30 дней один раз в день шприцом с желудочным зондом.

Установлено, что под действием опытного препарата, вводимого крысам и мышам в течение 30 дней в дозах – 2000 и 200 мг/кг; 5000 мг/кг соответственно, общее состояние животных было удовлетворительное и не отличалось от контрольной группы. Шерстный покров был опрятным и блестящим, слизистые оболочки без видимых изменений.

Изменений в поведении животных по сравнению с контрольной группой не отмечено.

Поедаемость корма и воды соответствовали аналогичным величинам контрольной группы.

Учет массы тела животных в период наблюдения проводили один (1) раз в неделю. Данные измерения массы тела суммированы в табл. 3.

Табл. 3. Масса тела крыс и мышей при оценке подострой токсичности препарата ОСТЕОМЕД ФОРТЕ.

#### Вес самок крыс

Доза препарата	Наблюдение (недели)				
	0	1	2	3	4
2000мг/кг в/ж	191,7	189,4	193,1	194,3	197,2
200мг/кг в/ж	191,2	188,4	191,4	195,0	200,0
контроль	186,2	186,3	190,4	194,2	198,5

#### Вес самцов крыс

	0	1	2	3	4
2000мг/кг в/ж	194,5	198,5	196,2	200,6	203,5
200мг/кг в/ж	190,8	194,7	198,1	202	205,6
контроль	189,5	192,9	199,2	201,4	205,9

#### Вес самок мышей

	0	1	2	3	4
5000мг/кг в/ж	21,7	21,6	23,6	24,2	25,0

контроль	21,4	22,9	24,3	25,0	26,1
----------	------	------	------	------	------

Вес самцов мышей

	0	1	2	3	4
5000мг/кг в/ж	23,2	23,7	26,6	28,3	30,2
-	-	-	-	-	-
контроль	23,1	24,8	27,0	28,7	31,5

Прирост массы тела у всех подопытных животных не зависимо от дозы препарата был положительным. Привес самок крыс при введении препарата через 30 дней составил: 2000мг/кг – 5,5 г; 200мг/кг – 8,8 г, после введения стерильной воды (контрольная группа) – 12,3г. Привес крыс самцов в (доза 2000мг/кг) – 9,0г; доза 200мг/кг – 14,6 г, контрольная группа – 16,4г. Вводимый препарат ОСТЕОМЕД ФОРТЕ не оказывал токсического действия на животных на протяжении всего периода наблюдения: зафиксирована прибавка в весе всех подопытных животных.

У мышей, получавших препарат ОСТЕОМЕД ФОРТЕ, также наблюдали положительную динамику привеса массы тела: у самок в дозе 5000мг/кг – 3,3г; после введения стерильной воды – 4.7г. У самцов в дозе 5000мг/кг – 7.0г; после введения стерильной воды – 8,4г. При максимальной дозе введения препарата 5000мг/кг наблюдали увеличение массы тела мышей по сравнению с привесом в контрольной группе.

Через 24 часа после последнего введения препарата ОСТЕОМЕД ФОРТЕ была проведена эвтаназия животных CO<sub>2</sub> – ингаляцией с визуальным макроскопическим исследованием внутренних органов животных, определением относительной массы органов.

При внутрижелудочном введении нового лекарственного вещества ОСТЕОМЕД ФОРТЕ в дозе 2000 мг/кг патологических изменений внутренних органов и тканей подопытных животных не выявлено. Органы расположены в брюшной и грудной полости свободно, признаков воспаления брюшины и кишечника не отмечено. Печень без видимых изменений: плотной консистенции, коричневого цвета, поверхность гладкая и блестящая; кишечник наполнен содержимым, между петлями кишечника имеется прослойка жира.

Состояние органов брюшной и грудной полости в пределах нормы: легкие светло-розовые воздушные, эластичные, висцеральная плевро гладкая и блестящая, печень без видимых изменений: плотной консистенции, коричневого цвета, поверхность гладкая и блестящая; селезенка темно-красного цвета, эластичная, с блестящей прозрачной капсулой; серозная поверхность кишечника гладкая, блестящая, содержимое кишечника в норме, зеленовато-сероватого цвета, между петлями кишечника имеется прослойка жира, почки окружены жировой клетчаткой, цвет темно коричневый, консистенция плотно-эластичная.

При макроскопическом осмотре и визуальной оценке брюшной и грудной полости мыши при внутрижелудочном введении препарата «ОСТЕОМЕД ФОРТЕ» в дозе 5000мг/кг в течение 30 дней четко выявляемых различий между контрольной и экспериментальными группами животных не обнаружено. При патологоанатомическом осмотре, состояние органов брюшной и грудной полостей макроскопических патологических изменений не отмечено: селезенка темно-красного цвета, эластичная, с блестящей прозрачной капсулой; печень красно-коричневого цвета, поверхность блестящая, консистенция плотная; почки темные, красно-коричневого цвета, консистенция плотно-эластичная; легкие светло-розовые, воздушные, эластичные, висцеральная плевро - гладкая и блестящая.

Табл. 4 Вес и относительная масса органов опытных крыс при внутрижелудочном введении лекарственного средства ОСТЕОМЕД ФОРТЕ, в % ( $M \pm m$ ),  $n=5$ .

Вид, пол	показатели	Контроль		Опыт, 2000мг/кг		Опыт, 200мг/кг	
		Масса органов, г	Массовый коэффициент %	Масса органов, г	Массовый коэффициент %	Масса органов, г	Массовый коэффициент %
Крысы самки	Масса тела, г	198,5±4,6		197,2±2,5		200,0±4,7	
	Печень	9,5±0,3	4,8±0,2	9,1±0,4	4,6±0,3	9,7±0,2	4,85±0,18
	Селезенка	0,95±0,02	0,48±0,04	1,01±0,02	0,51±0,04	1,02±0,03	0,51±0,03
	Почки	1,23±0,01	0,62±0,05	1,18±0,18	0,59±0,04	1,25±0,08	0,63±0,06
	Легкие	1,55±0,13	0,78±0,03	1,62±0,14	0,82±0,04	1,58±0,1	0,79±0,05
Крысы самцы	Масса тела, г	205,9±3,3		203,5±7,7		205,6±7,2	
	Печень	10,5±0,4	5,1±0,2	10,7±0,35	5,3±0,2	9,9±0,55	4,8±0,18
	Селезенка	1,12±0,06	0,54±0,07	1,09±0,05	0,54±0,04	1,18±0,08	0,57±0,1
	Почки	1,39±0,09	0,67±0,02	1,35±0,06	0,66±0,03	1,41±0,04	0,69±0,05
	Легкие	1,65±0,2	0,8±0,04	1,60±0,16	0,78±0,03	1,58±0,38	0,77±0,03

Табл. 5 Вес и относительная масса органов опытных мышей при внутрижелудочном введении лекарственного средства ОСТЕОМЕД ФОРТЕ, в % ( $M \pm m$ ),  $n=5$ .

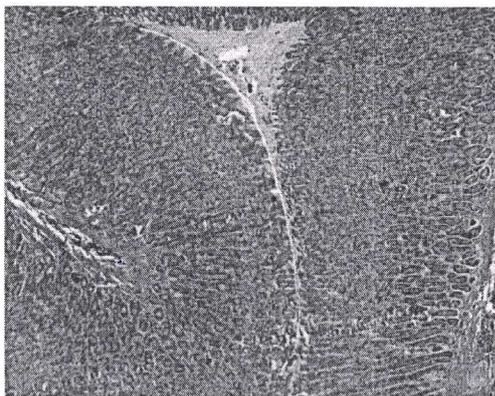
		Контроль		Опыт, 5000мг/кг	
Мыши самки	Масса тела, г	26,1±1,7		25,0±1,3	
	Печень	1,42±0,09	5,4±0,18	1,41±0,055	5,6±0,08
	Селезенка	0,16±0,02	0,61±0,03	0,15±0,03	0,60±0,06
	Почки	0,36±0,02	1,4±0,04	0,32±0,02	1,3±0,04
	Легкие	0,23±0,02	0,88±0,03	0,21±0,02	0,84±0,04
Мыши самцы	Масса тела, г	31,5±1,3		30,2±0,8	
	Печень	1,79±0,11	5,6±0,13	1,69±0,07	5,6±0,11
	Селезенка	0,24±0,02	0,76±0,04	0,21±0,02	0,69±0,04
	Почки	0,48±0,02	1,5±0,06	0,49±0,05	1,6±0,06
	Легкие	0,27±0,01	0,85±0,04	0,25±0,06	0,82±0,02

Приведенные данные свидетельствуют о том, что достоверных отличий величин массы органов опытных и контрольных групп не зафиксировано. В течение 30-дневного периода введения препарата ОСТЕОМЕД ФОРТЕ гибель животных не зарегистрирована. Такие характеристики состояния животных как поведение, поедаемость корма и воды не отличались от контрольной группы. Было зафиксировано наращивание массы тела всех групп животных.

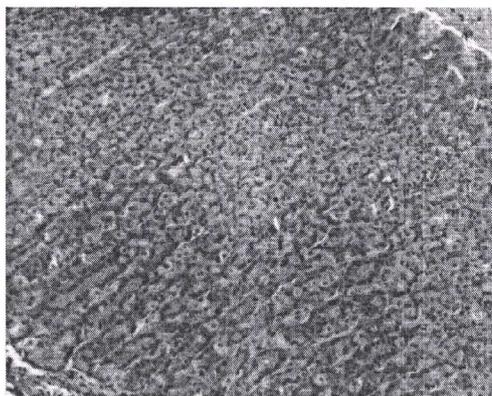
### Гистологическое исследование

Препарат ОСТЕОМЕД ФОРТЕ при внутрижелудочном способе введения первоначально попадает в желудок. При микроскопическом исследовании гистологических препаратов срезов желудка животных (крыс) получавших препарат ОСТЕОМЕД ФОРТЕ и контрольных групп животных (получавших стерильную воду) различий между группами выявлено не было. На Рис.1 видно, что поверхность слизистой оболочки желудка (1) ровная, без видимых повреждений. При 10-кратном увеличении видно, что слой эпителиальных клеток равномерно покрывает поверхность слизистой оболочки желудка (2). В просвете желудка крыс опытной и контрольной групп было отмечено умеренное количество слизи, единичные погибшие клетки. Патологических изменений не выявлено.

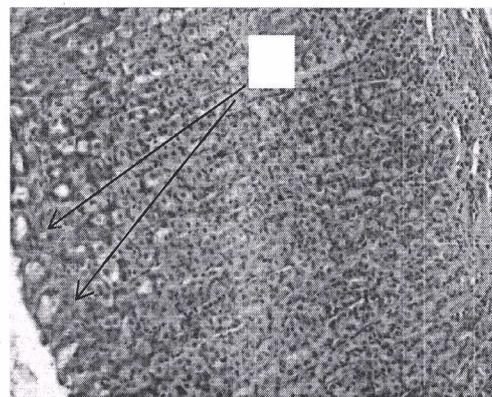
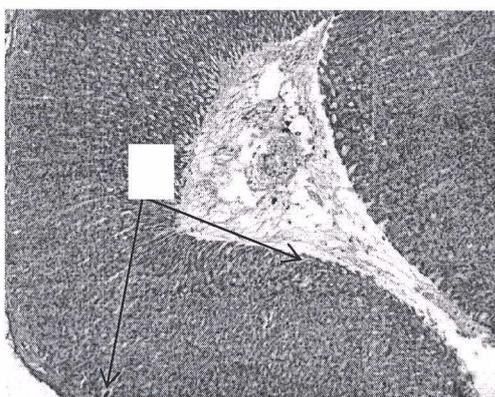
### 1. Желудок



А. Желудок. Контроль. Ув.х4



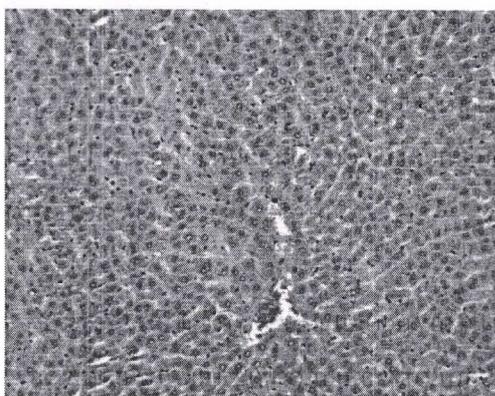
Б. Желудок. Контроль. Ув.х10



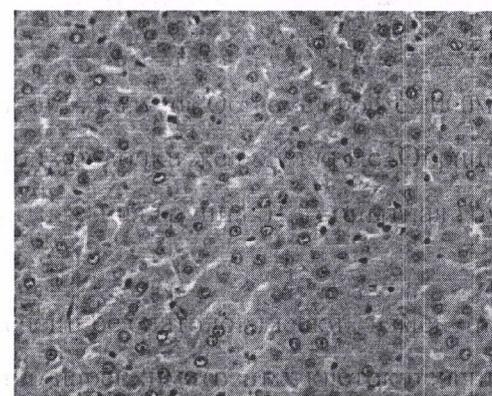
В. Желудок. Остеомед Форте, 2000 мг/кг. Ув.х4 / Г. Желудок. Остеомед Форте, 2000 мг/кг. Ув.х10

Рис.1 Гистологические срезы слизистой оболочки желудка крыс. Окрашивание гематоксилином и эозином. А, Б – контрольная группа; В, Г – опытная группа, получавшая ОСТЕОМЕД Форте.

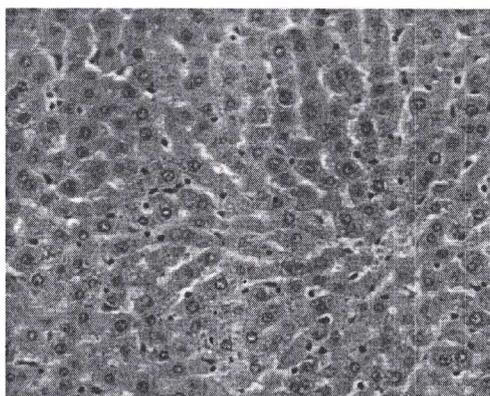
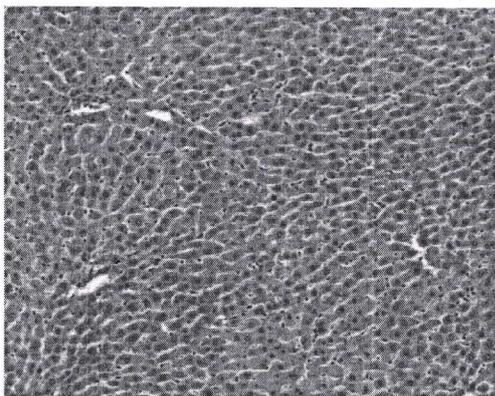
**2. Печень** Структура паренхимы печени без патологических изменений. При малом (10X) увеличении видно большое количество паренхиматозных клеток печени, гепатоцитов, которые формируют плотные тяжи, образуя трабекулы. Размеры гепатоцитов во всех трабекулах идентичны. Цитоплазма и ядра гепатоцитов равномерно окрашены как в опытной, так и контрольной группах животных (Рис.2)



А. Печень. Контроль. Ув.х10



Б. Печень. Контроль. Ув.х20

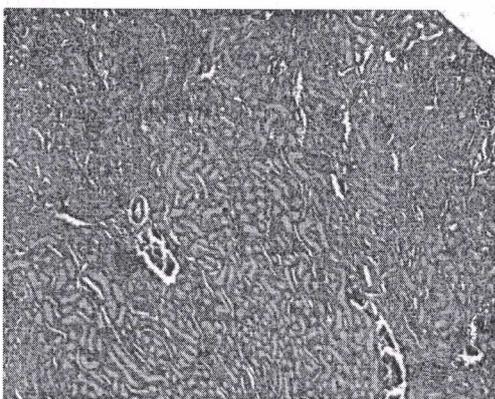


В. Печень. ОстеомедФорте.2000мг/кг.Ув.х10 Г. Печень. ОстеомедФорте.2000мг/кг.Ув.х20

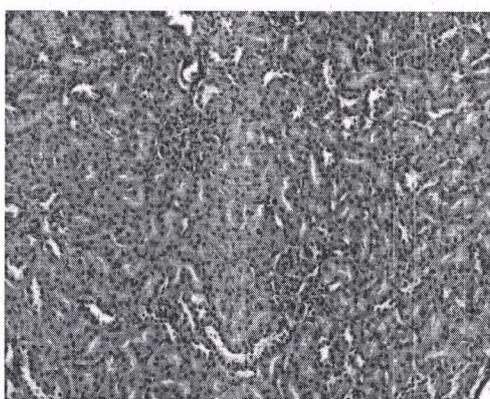
Рис.2 Структура паренхимы печени крыс. Окрашивание гематоксилином и эозином. А, Б – контрольная группа; В, Г-опытная группа, получавшая Остеомед Форте.

### 3. Почки

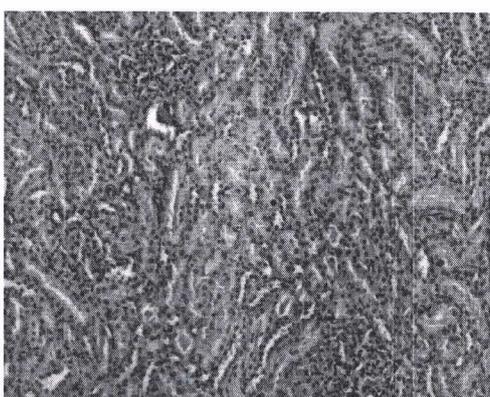
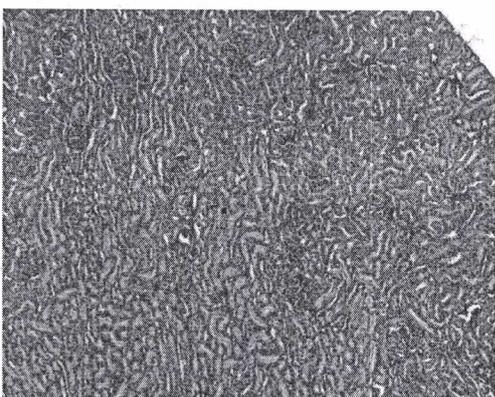
При вскрытии подопытных животных микроскопических изменений в почках отмечено не было. Морфология всех структурных компонентов коркового и мозгового вещества почек крыс, получавших ОСТЕОМЕД ФОРТЕ, находится в пределах нормы. Гистологическая картина состояния клеток эпителия извитых почечных канальцев, их цитоплазма и ядра, эпителий канальцев петли Генле не отличаются от гистологической картины контрольной группы (Рис.3)



А.Почка.Контроль.Ув.х4



Б. Почка.Контроль.Ув.х10

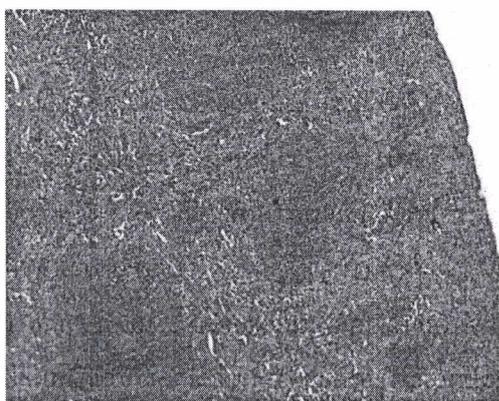


В.Почка.ОстеомедФорте2000мг/кг. Ув.х4 Г. Почка.ОстеомедФорте2000мг/кг.Ув.х10

Рис.3 Микроскопическая структура срезов почек крыс. Окрашивание гематоксилином и эозином. А, Б – контрольная группа; В, Г-опытная группа, получавшая ОСТЕОМЕД Форте.

#### 4. Селезёнка

В паренхиме селезёнок крыс, получавших ОСТЕОМЕД ФОРТЕ, величина площади, занимаемые белой пульпой (скопления лимфатических фолликулов и зоны Т-клеток) и, соответственно, красной пульпой, не отличается от микроскопической картины контрольной группы животных. Некротические, воспалительные изменения клеток белой и красной пульпы отсутствуют (Рис.4).



А. Селезёнка. Контроль. Ув.х4

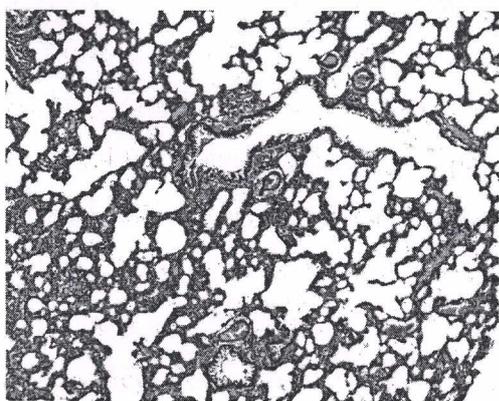


Б. Селезёнка. Остеомед.2000мг/кг. Ув.х4

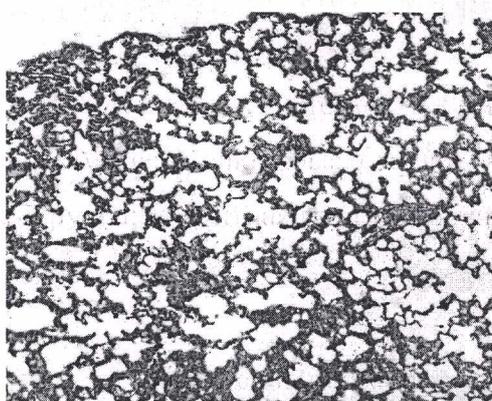
Рис.4 Гистологическая структура паренхимы селезенки крыс. Окрашивание гематоксилином и эозином. А – контрольная группа; Б-опытная группа, получавшая ОСТЕОМЕД Форте.

#### 5. Лёгкие

У всех исследованных групп животных лёгкие имеют сходную морфологию. Просветы бронхов чистые. Альвеолы пустые. Межальвеолярные перегородки преимущественно тонкие. В отдельных участках лёгочной паренхимы отмечается некоторое утолщение межальвеолярных перегородок в результате увеличения количества гистиоцитов.



А. Лёгкое. Контроль. Ув.х4



Б. Лёгкое. ОстеомедФорте2000мг/кг. Ув.х4

Рис.5 Гистологическая структура альвеолярной ткани легких крыс. Окрашивание гематоксилином и эозином. А – контрольная группа; Б-опытная группа, получавшая ОСТЕОМЕД Форте.

При микроскопическом исследовании органов крыс получавших препарат ОСТЕОМЕД ФОРТЕ в дозе 2000мг/кг и 200мг/кг, органов мышей, получавших препарат в дозе 5000мг/кг, патологических изменений в желудке, печени, почках, селезёнке, легких выявлено не было. При сравнительном изучении органов крыс и мышей, получавших препарат ОСТЕОМЕД ФОРТЕ в дозе 200мг/кг, 2000мг/кг и 5000мг/кг, с органами контрольных животных, получавших воду, четких микроскопических отличий в структуре тканей желудка, печени, почек, селезёнки, легких не обнаружено.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании изучения клинического состояния животных и ряда интегральных показателей, включая массу тела, а также на основании изучения патоморфологической картины органов мышей и крыс, получавших препарат ОСТЕОМЕД ФОРТЕ в дозах 5000 мг/кг и 2000 мг/кг соответственно в течение 30 дней, установлено отсутствие повреждения органов и тканей организма подопытных животных. Патологических изменений в желудке и нижележащих отделах пищеварительного тракта не обнаружено, что свидетельствует об отсутствии у исследуемого препарата местного раздражающего действия.

Список литературы:

1.Т.А. Гуськова. Токсикология лекарственных средств. Москва, Изд. Русский врач, 2003, 154 с.

2.СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» от 29.08.2014г.

3.Коржевский Д.Э., Гиляров А.В. Основы гистологической техники. СПб, СпецЛит, 2010, 95с.

4.Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Москва, 2005 с.40-46

5.Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств . Гриф и К, 2012.