

## **ХРОНИЧЕСКАЯ ТОКСИЧНОСТЬ, СПЕЦИФИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ И ВОЗМОЖНЫЕ ПОБОЧНЫЕ ЭФФЕКТЫ СПИРОНОЛАКТОНА**

Вдовина Г.П., Голдобина Г.В., Болотская Н.В.,

Василюк М.В., Бурлуцкая А.А., Данилова В.К.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. академика Е. А. Вагнера» МЗ РФ, ул. Петропавловская, 26, г. Пермь, 614600, Россия  
614070, г. Пермь, ул. Крупской, д. 44, кафедра фармакологии, тел. 8(950) 448 50 62,  
email: goldobina59gmail.com (Голдобина Г. В.)*

**Аннотация. Цель.** Провести сравнительное исследование хронической токсичности, специфической активности и возможных побочных эффектов спиронолактона отечественного производителя и препарата верошпирона.

**Материалы и методы.** Объектом исследования являлся препарат спиронолактон (Россия) в сравнении с эталонным препаратом верошпирон, таблетки 25 мг, производства фирмы «Гедеон Рихтер», Венгрия. Опыты проведены на белых беспородных крысах обоего пола. Животные распределялись по группам с помощью метода рандомизации. Исследования проводились в соответствии с рекомендациями по доклиническому исследованию препаратов. Было изучено специфическое диуретическое действие препаратов, а также их влияние на центральную нервную систему крыс в камере «открытое поле».

**Результаты.** Оба препарата одинаково хорошо переносились животными. По данным патоморфологических исследований у спиронолактона и препарата сравнения отсутствовало раздражающее действие на желудочно-кишечный тракт. Оба препарата эффективно повышали диурез у крыс, но не оказывали выраженного действия на центральную нервную систему.

**Выводы.** Оба препарата обладают одинаковой специфической активностью.

**Ключевые слова.** Спиронолактон, крысы, диурез, специфическая активность, побочные эффекты.

## **CHRONIC TOXICITY, SPECIFIC ACTIVITY AND POSSIBLE SIDE EFFECTS OF SPIRONOLACTONE**

Vdovina G. P., Goldobina G. V., Bolotskaya N. V.,  
Vasilyuk M. V., Burlutskaya A. A., Danilova V.K. <sup>1</sup>

<sup>1</sup> E. A. Wagner Perm State Medical University

**Abstract.** The research purpose was to conduct a comparative study of chronic toxicity, specific activity and possible side effects of Spironolactone of the domestic manufacturer and the drug Verospiron.

**Materials and methods.** The object of the study was the drug Spironolactone (Russia) in comparison with the standard drug Verospiron, tablets 25 mg, manufactured by "Gedeon Richter", Hungary. The investigations were carried out on white nonlinear rats of both sexes. The animals were divided into groups using the randomization method. Studies were conducted in accordance with the recommendations for preclinical study of drugs. The specific diuretic effect of the drugs was investigated. Their effect on the central nervous system of rats in an "open field" chamber was studied.

**Results.** Both drugs were equally well tolerated by animals. According to pathological studies, spironolactone and the reference drug lacked the irritating action of the gastrointestinal tract. Both drugs effectively increased diuresis in rats, but did not have a pronounced effect on the Central nervous system.

**Summary.** Both drugs have the same specific activity.

**Keywords.** Spironolactone, rats, diuresis, specific activity, side effects.

**Цель исследования.** Забота о здоровье населения является важной задачей любого государства. В условиях сложного санкционного режима особенно актуальной становится проблема лекарственной безопасности страны. Зависимость состояния здравоохранения от импорта может привести как к лекарственному дефициту, так и к удорожанию препаратов. Для решения этой проблемы вводится импортозамещение иностранных лекарственных препаратов в госзакупках продукцией локального производства, развиваются механизмы бюджетного субсидирования российских фармацевтических предприятий, усиливается влияние государственных компаний на рынке лекарственных средств [1]. Другим способом решения проблемы

импортозамещения является необходимость создания дженериков. Дженерики должны обладать фармацевтической, биологической и терапевтической эквивалентностью с оригинальными средствами, но они не защищены патентами, а значит должны быть дешевле. Однако состав и особенности производства воспроизведенных препаратов могут значительно отличаться, что может сказаться на их эффективности. Следует заметить, что за последние годы появилась тенденция переключения потребителя на отечественные препараты, что связано, в том числе, и с активной деятельностью российских фармацевтических компаний [2]. Спиронолактон – калийсберегающий диуретик пролонгированного действия. Его применяют для лечения хронической сердечной недостаточности и других состояний, сопровождающихся гиперальдостеронизмом [3,4], в том числе при резистентной артериальной гипертензии как дополнительное средство к трехкомпонентной терапии [5,6,7]. Учитывая коморбидность пациентов, а также длительность проводимой терапии дженерики спиронолактона должны быть не только эффективными, но и безопасными. Целью исследования явилось изучение токсичности, специфической активности и возможного раздражающего действия спиронолактона отечественного производителя в сравнении с зарубежным аналогом верошпироном производства фирмы «Гедеон Рихтер», Венгрия.

#### **Материалы и методы исследования.**

Опыты проводились на нелинейных крысах обоего пола, крысы массой 170-300 граммов были в возрасте 12-16 недель. Животных распределяли по группам методом случайной рандомизации. В качестве критериев приемлемости рандомизации считали отсутствие внешних признаков заболеваний и гомогенность групп по весу тела ( $\pm 10\%$ ). Все исследования выполнялись в соответствии с правилами работы с лабораторными животными в Российской Федерации, а также правилами, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных научных целей [8,9, 10]. Перед взвешиванием и эвтаназией на ночь животных лишали корма. Доступ к воде не ограничивали. Препараты вводили перорально через металлический атравматичный зонд. Таблетки препаратов измельчали в фарфоровой ступке и разводили свежеприготовленной 1% крахмальной слизью до гомогенной взвеси. Для исследования каждой дозы препарата использовались группы по 6 крыс одного пола. Кроме этого, имелись аналогичные по численности группы контрольных животных каждого пола, которым перорально вводили эквивалентные объемы растворителя — крахмальной слизи. При изучении подострой токсичности препараты вводили через рот в течение месяца один раз в день утром в дозах 3 мг/кг,

эквивалентной максимальной терапевтической дозе у человека [11], и 30 мг/кг, превышающей последнюю в 10 раз [12, 13]. Во время исследования животных регулярно взвешивали, определяли прирост массы тела, оценивали общий вид, поведение, исследовательскую и двигательную активность, мышечный тонус, состояние шерстного покрова и слизистых, количество потребляемой воды и пищи, уринацию и дефекацию. Все наблюдения проводили в соответствии с рекомендациями по доклиническому изучению лекарственных препаратов [12]. После окончания введения препаратов животные всех групп были подвержены аутопсии передозировкой этилового эфира, а органы направлены на патоморфологическое исследование. Также в ходе эксперимента определялись весовые коэффициенты внутренних органов.

Спиринолактон, как длительно и медленно действующий препарат, используется для систематического лечения, изучение его специфической активности проводили на крысах после 14-дневного ежесуточного введения препарата в дозах 3 и 30 мг/кг. Через 30 минут после последнего введения каждому животному через рот вводили 5 мл кипяченой воды – водная нагрузка. Далее, крысы высаживались в индивидуальную керамическую «воронку-домик» (специальная воронка для сбора мочи у крыс) на сутки. Доступа к воде в течение суток у животных не было. В ходе исследования определяли объем собранной мочи, а также проводили её общий анализ с микроскопией осадка.

Среди возможных побочных эффектов спинолактона можно отметить раздражающее действие на желудочно-кишечный тракт, которое проявляется диспепсией, болью в животе, и даже может приводить к язвообразованию. Вероятно также развитие осложнений со стороны центральной нервной системы в виде сонливости, атаксии, заторможенности. В ходе нашего исследования мы изучали влияние обоих препаратов на ЦНС, а также их возможное раздражающее действие.

Влияние исследуемых препаратов на центральную нервную систему изучали с помощью методики «открытого поля». Двигательную и исследовательскую активность животных изучали на 20 день применения препаратов. Крысы по одной помещались в регистрационную камеру, где в течение 3-х минут у них регистрировалось количество движений [12, 13].

Обработка данных выполнялась с помощью попарного сравнения средних с использованием t-критерия Стьюдента при нормальном распределении данных, а также

с использованием критерия Уилкоксона-Манна-Уитни при получении данных, распределение которых не отвечает нормальному.

### Результаты и их обсуждение.

При проведении исследования субхронической токсичности животные хорошо переносили введение препаратов. Применение обоих диуретиков не приводило к изменению внешнего вида животных. О хорошей переносимости исследуемых спиронолактона и верошпирона свидетельствует одинаковая динамика прироста массы тела всех крыс, получавших препараты даже в большей дозе (таблица 1).

Таблица 2

Влияние спиронолактона и верошпирона на прирост массы тела белых крыс (г,  $M \pm m$ )

| Сроки<br>исследования<br>(дни) | Экспериментальная группа и пол |        |                        |        |                     |        |
|--------------------------------|--------------------------------|--------|------------------------|--------|---------------------|--------|
|                                | Контроль                       |        | 30 мг/кг спиронолактон |        | 30 мг/кг верошпирон |        |
|                                | самцы                          | самки  | самцы                  | самки  | самцы               | самки  |
| Фон                            | 189±16                         | 201±9  | 201±9                  | 191±19 | 212±16              | 175±16 |
| 7-й день                       | 210±19                         | 211±15 | 211±15                 | 203±21 | 222±18              | 191±15 |
| 14-й день                      | 228±23                         | 227±19 | 227±19                 | 206±17 | 233±18              | 197±14 |
| 21-й день                      | 244±24                         | 233±18 | 233±18                 | 212±17 | 240±20              | 204±16 |
| 30-й день                      | 245±21                         | 238±13 | 238±13                 | 213±14 | 240±17              | 203±17 |

Анализ приведенных в таблице данных показывает, что масса животных равномерно увеличивался на протяжении всего срока исследования как в контрольных, так и во всех опытных группах. Каких-либо различий, связанных с уровнем дозирования или видом применяемого препарата, также не отмечалось.

Животные в ходе эксперимента не отказывались от пищи, что косвенно свидетельствует об отсутствии раздражающего действия как спиронолактона, так и препарата сравнения на желудок. При проведении патоморфологических исследований органов желудочно-кишечного тракта видимых изменений не обнаружено. Слизистая пищеводов блестящая, гладкая, бледного цвета. Желудки обычной величины и формы, частично заполнены пищевым содержимым. Слизистая оболочка желудков и кишечника складчатая, блестящая, розоватого цвета, гиперемии и изъязвлений не отмечалось.

При изучении диуретического действия препаратов не было выявлено их отрицательного влияния на почки. Общий анализ мочи подопытных животных не показал наличия в ней глюкозы, белка, ацетона. При микроскопии осадка наблюдалось

отсутствие эритроцитов, а количество лейкоцитов и эпителиальных клеток не отличалось в опытных и контрольных группах, и было в пределах допустимых значений. Также не было статистически значимого изменения содержания в моче фосфатов и трипельфосфатов у животных, получавших препараты в обеих дозах. Спиронолактон способствует выведению натрия и задерживает калий. При этом он способствует уменьшению кислотности мочи, а наличие фосфатов и трипельфосфатов также свидетельствует о щелочной рН мочи.

В то же время оба препарата значительно увеличивали диурез у подопытных животных. Как видно из таблицы, объем выделенной мочи у крыс, получавших спиронолактон, увеличивался в 1,5 раза по сравнению с контролем (таблица 2). Аналогично проявлялось действие и у препарата сравнения. Стоит заметить, что зависимости объема выделенной мочи от пола животных выявлено не было.

Таблица 2.

Влияние спиронолактона и верошпирона, вводимых в дозах 3 и 30 мг/мл, на диурезкрыс

| Препарат      | Доза     | Пол   | Масса животных | Объем мочи   |
|---------------|----------|-------|----------------|--------------|
| Спиронолактон | 3 мг/кг  | самцы | 244,0 ±18,4    | 8,25±1,89**  |
|               | 3 мг/кг  | самки | 198,4 ±11,8    | 7,5±0,84**** |
|               | 30 мг/кг | самцы | 230,5±19,0     | 8,75±1,54*** |
|               | 30 мг/кг | самки | 191,8±14,9     | 8,5±1,05**** |
| Верошпирон    | 3 мг/кг  | самцы | 227,8±8,7      | 7,75±1,17*** |
|               | 3 мг/кг  | самки | 205,0±15,0     | 7,5±1,05**   |
|               | 30 мг/кг | самцы | 247,8±8,2      | 8,5±1,61**   |
|               | 30 мг/кг | самки | 201,0±8,4      | 8,3±0,98**** |
| Контроль      |          | самцы | 227,8±20,9     | 5,5±0,55     |
|               |          | самки | 201,0±18,0     | 5,3±0,52     |

\* -  $p > 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,05$ ; \*\*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\*\* -  $p < 0,001$  по сравнению с контролем.

Увеличение дозы обоих препаратов в 10 раз не сопровождалось статистически значимым увеличением диуреза. Стоит обратить внимание на то, что использование диуретиков даже в больших дозах не приводило к изменению общего состояния животных, в частности к снижению массы тела.

В ходе изучения подострой токсичности не наблюдалось изменения поведенческих реакций животных, их подвижности, не было снижения мышечного тонуса, изменения реакции на людей и резкий звук. Крысы не боялись человека, были спокойны, не проявляли агрессию. В то же время не было и признаков угнетения ЦНС. При

проведении исследования в камере «открытого поля» оценивались ориентировочно-исследовательские поведенческие реакции по числу пересеченных линий (горизонтальная активность), числу вставаний на задние лапки (вертикальная активность), заглядываний в отверстия. Эмоциональный статус животных оценивался по количеству болюсов, груминга (облизываний). В нашем исследовании мы не выявили выраженного влияния сравниваемых препаратов на центральную нервную систему крыс даже при введении большей дозы 30 мг/кг (таблица 3).

**Таблица 3**

Влияние препаратов Спиронолактон и Верошпирон на поведение белых крыс ( $M \pm m$ ) в камере «открытое поле».

| Показатели                                                    | Экспериментальная группа: препарат, доза, пол |          |                           |          |                        |          |
|---------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|----------|---------------------------|----------|------------------------|----------|
|                                                               | Контроль                                      |          | Спиронолактон<br>30 мг/кг |          | Верошпирон<br>30 мг/кг |          |
|                                                               | Самцы                                         | Самки    | Самцы                     | Самки    | Самцы                  | Самки    |
| Горизонтальная активность (абс.число пересечений линий)       | 15,6±3,9                                      | 16,2±2,7 | 14,7±6,6                  | 16±2,5   | 14±4,7                 | 18,6±4,2 |
| Вертикальная активность (абс.число вставаний на задние лапки) | 11±2,7                                        | 11,2±2,3 | 10,4±3,6                  | 10,5±3,0 | 10,8±,4                | 11,6±3,2 |
| Заглядывания в отверстие (абс.число)                          | 4,3±3                                         | 4,2±2,3  | 1,9±1,0                   | 1,7±1,0  | 1,7±1                  | 3±3      |
| Груминг (абс.число)                                           | 1,8±1,4                                       | 2,5±1,8  | 2,7±2,0                   | 2,7±2,0  | 2±1                    | 1,3±0,8  |
| Болюсы (кол-во актов дефекации)                               | 0,6±0,6                                       | 0,5±0,5  | 1,2±1,1                   | 0,5±0,5  | 0,8±0,8                | 0,6±0,6  |

При введении обоих препаратов не было изменения как ориентировочно-исследовательских поведенческих реакций, так и изменения эмоционального статуса животных. Стоит заметить, также, что отечественный спиронолактон переносился также хорошо, как и препарат сравнения.

### **Выводы.**

При проведении исследования субхронической токсичности наблюдалась одинаково хорошая переносимость обоих диуретиков. Спиронолактон не уступает Верошпирону по специфической активности. Оба препарата не оказывают выраженное влияние на

двигательную и исследовательскую активность крыс в камере «открытое поле». Спиринолактон отечественного производителя, как и препарат сравнения, не обладает раздражающим действием на желудочно-кишечный тракт.

### Литература

1. Балашов А.И. Как добиться лекарственной независимости России? ЭКО. 2016; 2(500): 145-58.
2. Григорьева К. Д. Лекарственное импортозамещение - перспективное направление развития российской экономики. Управленческое консультирование. 2018; 5(113):137-42
3. Подзолков В.И., Драгомирецкая Н.А. Антагонисты альдостерона. Современные представления о механизмах действия и эффектах спинолактона. Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии. 2017; 13(2) :263-269.
4. Чельцов В.В., Мартынов А.И. Эффективность блокаторов минералокортикоидных рецепторов (спинолактон, эплеренон) при хронической сердечной недостаточности. Терапия. 2016; 1(5): 67–74
5. Павлова Т. В. Спиринолактон в терапии резистентной артериальной гипертензии. Кардиология: новости, мнения, обучение. 2018; 6(3):24-30. DOI:10.24411/2309-1908-2018-13001
6. Плисюк А.Г., Орлова Я.А. Практические аспекты применения антагонистов минералокортикоидных рецепторов в лечении артериальной гипертензии. РМЖ. 2017; 25 (25): 1846-49.
7. Щёкотов В.В. Рефрактерная артериальная гипертензия и проблемы терапии. Пермский медицинский журнал. 2016; 33(1) : 116-23.
8. ГОСТ 33044-2014. Межгосударственный стандарт. Принципы надлежащей лабораторной практики (введен в действие Приказом Росстандарта от 20.11.2014 N 1700-ст).
9. Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях: EST № 123 от 18 марта 1986 г., Страсбург;
10. Приказ Минздрава России от 01.04.2016 N 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики» (Зарегистрировано в Минюсте России 15.08.2016 №43232);
11. Машковский М. Д. Лекарственные средства, 16-е изд. М.: Новая волна; 2010.

12. Миронов А.Н. (ред.). Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К; 2012.
13. Хабриев Р. У. (ред.). Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Медицина; 2005.