

## ИЗУЧЕНИЕ МЕСТНОРАЗДРАЖАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ПРИ КУРСОВОМ ПРИМЕНЕНИИ НИМЕСУЛИДА У КРЫС

Терехов А.Ю.<sup>1</sup>, Сергеева Е.О.<sup>1</sup>, Абисалова И.Л.<sup>1</sup>, Приходько М.А.<sup>1</sup>, Павлий Ф.Н.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Пятигорск, e-mail: maklea@yandex.ru;

<sup>2</sup>ООО «ЮжФарм», Краснодарский край, Ивановская, e-mail: pavliy@yuzhpharm.ru

Нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) широко применяются в медицинской практике. Для них характерны быстрота развития эффекта, высокая фармакологическая активность и существенная безопасность воздействия на слизистую желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Однако их применение имеет ряд ограничений даже при кратковременном приеме в небольшой дозе. Среди НПВП выделяют группу «селективных» препаратов, например нимесулид, оказывающих значительно меньшее побочное влияние со стороны желудочно-кишечного тракта. Цель исследования – провести сравнительную оценку местнораздражающего действия нового дженерика «Нимесулид, гранулы для приготовления суспензии для приема внутрь 100 мг» (ООО «ЮжФарм», Россия) и препарата сравнения «Немулекс, гранулы для приготовления суспензии для приема внутрь 100 мг» (К.О. Ромфарм, Румыния), выполняемую в рамках предрегистрационных доклинических исследований новых дженериковых препаратов. Изучение местнораздражающего действия проводили путем гистоморфологической оценки слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки. Результаты гистоморфологического анализа выявили наличие поверхностных эрозивных повреждений слизистой желудка в группах основного исследования при введении исследуемого препарата «Нимесулид» и препарата сравнения «Немулекс» в дозе 45 мг/кг в течение 30 дней. Выявленные изменения носили обратимый характер. Структура слизистой оболочки полностью восстановилась у животных через 14 дней после введения препаратов. Выявленное в наших исследованиях эрозивное повреждение носит системный характер и является типичным побочным эффектом для НПВП, поэтому не может быть прямо трактовано как местнораздражающий эффект.

Ключевые слова: нимесулид, суспензия, нестероидное противовоспалительное средство, местнораздражающее действие, гистологические исследования.

## STUDY OF THE LOCAL ACTION OF THE COURSE ADMINISTRATION OF THE NIMESULIDE IN RATS

Terekhov A.Yu.<sup>1</sup>, Sergeeva E.O.<sup>1</sup>, Abisalova I.L.<sup>1</sup>, Prikhodko M.A.<sup>1</sup>, Pavlii F.N.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Pyatigorsk Medical-Pharmaceutical Institute – a branch of the Federal State Educational Institution of Higher Education «The Volgograd State Medical University of Public Health Ministry of the Russian Federation», Pyatigorsk, e-mail: maklea@yandex.ru;

<sup>2</sup>ООО «Yuzhfarm», Krasnodar region, Ivanovskaya, e-mail: pavliy@yuzhpharm.ru

Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are widely used in medical practice. For them, the rapid development of the effect, high pharmacological activity and significant safety of exposure to the mucous membrane of the gastrointestinal tract (GIT) are noted. At the same time, their use still has a number of limitations, even with short-term use in a small dose. Among NSAIDs, there is a group of «selective» drugs, such as nimesulide, which have significantly less side effects from the gastrointestinal tract. The aim of the study was to conduct a comparative assessment of the local irritant effect of the new generic «Nimesulide, granules for the preparation of suspension for oral administration of 100 mg» (ООО «Yuzhfarm», Russia) and the comparison drug «Nemulex, granules for the preparation of suspension for oral administration of 100 mg» (K.O. Romfarm, Romania), performed as part of pre-registration preclinical studies of new generic drugs. The study of the local irritant effect was carried out by histomorphological evaluation of the gastric and duodenal mucosa. The results of histomorphological analysis revealed the presence of superficial erosive lesions of the gastric mucosa in the main study groups when the study drug «Nimesulide» and the comparison drug «Nemulex» were administered at a dose of 45 mg/kg for 30 days. The identified changes were reversible. The structure of the mucous membrane was completely restored in the animals 14 days after the administration of the drugs. Erosive damage is systemic in nature, and is a typical side effect for NSAIDs, so it can not be directly interpreted as a local irritant effect.

Keywords: nimesulide, suspension, nonsteroidal anti-inflammatory drug, local irritant effect, histological studies.

На сегодняшний день практически каждый врач (терапевт, ревматолог, невролог, хирург, травматолог-ортопед и др.) назначает нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП). НПВП применяются в терапии как хронической, так и острой боли при многих заболеваниях и патологических состояниях. НПВП выпускаются в различных лекарственных формах (капсулы, таблетки, мази). Некоторые из них доступны для большей части населения, так как отпускаются без рецепта врача. Эти лекарственные средства обладают следующими основными свойствами: жаропонижающим, противовоспалительным и болеутоляющим [1]. Для них характерны быстрое развитие фармакологического эффекта и относительно высокая безопасность, что и обуславливает их широкое применение в медицинской практике. Данные средства как оказывают симптоматический болеутоляющий эффект, так и проявляют патогенетическое действие [2]. Выбор НПВП зависит от индивидуальных особенностей пациента. Современная фармакология особое внимание уделяет эффективности и безопасности лекарственных средств, и применение НПВП ассоциируется с эрозивно-язвенными изменениями желудка и двенадцатиперстной кишки, гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью (ГЭРБ) [3]. При применении данной группы препаратов необходимо учитывать возможность развития нежелательных реакций, несмотря на несомненно высокую их клиническую эффективность. Всестороннее изучение НПВП способствует улучшению течения заболевания при такой терапии и повышению качества жизни пациента. Среди НПВП выделяют группу «селективных» препаратов с меньшим количеством побочных эффектов со стороны пищеварительной системы, к ним и относится нимесулид [1, 4]. Неоднократно проведенные исследования безопасности нимесулида подтверждают целесообразность и важность дальнейшего широкого его применения в качестве лекарственного средства, сочетающего высокую эффективность и относительную безопасность в отношении риска развития серьезных осложнений со стороны пищеварительной системы.

Цель исследования: провести сравнительную оценку местнораздражающего действия нового дженерика «Нимесулид, гранулы для приготовления суспензии для приема внутрь 100 мг» (ООО «ЮжФарм», Россия) и препарата сравнения «Немулекс, гранулы для приготовления суспензии для приема внутрь 100 мг» (К.О. Ромфарм, Румыния), выполняемую в рамках предрегистрационных доклинических исследований новых дженериковых препаратов.

#### **Материал и методы исследования**

Исследуемый препарат – «Нимесулид, гранулы для приготовления суспензии для приема внутрь 100 мг», производимый ООО «ЮжФарм», Краснодарский край, Россия, серия 010418. Препарат сравнения – «Немулекс, гранулы для приготовления суспензии для приема

внутри 100 мг». Данный препарат выпускается К.О. Ромфарм, Румыния, серия 1703771. В качестве контрольного вещества при внутрижелудочном введении была использована вода очищенная. Местнораздражающее действие изучалось параллельно с исследованием 30-дневной субхронической токсичности и оценивалось по гистологическому состоянию слизистой оболочки желудка экспериментальных животных. Желудок животных фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине и заливали парафином. После этого были приготовлены срезы, которые окрашивали гематоксилином и эозином и просматривали под микроскопом, делая описание гистологической картины. Срезы органов и тканей изготавливали на санном микротоме. Микрофотографические снимки делали на микроскопе LeicaVision DM 100, который совмещен с цифровой камерой и компьютером. В опытных группах производили подсчет количества животных, имеющих отклонения от нормы (контрольные группы) по гистологическим признакам, данные представлены в таблице 2.

Для проведения исследования были использованы 136 аутбредных крыс Wistar обоего пола (возраст 10–12 недель) в двух дозах – минимальная доза 3 мг/кг ( $ED_{50}$  для данного вида животных) и максимальная – 45 мг/кг (15-кратная доза) [5]. Для проведения эксперимента животные были сгруппированы определенным образом (табл. 1). Распределение животных в группах проводили с использованием формулы, предложенной профессором П.Я. Аранди (1968), учитывая, что число животных в группе должно быть таким, чтобы индивидуальные качества отдельных особей не оказывали определяющего влияния на результаты опыта, а также была возможность вести обработку полученных данных методом вариационной статистики [6].

Таблица 1

Распределение экспериментальных животных по группам

Номер группы п/п	Количество животных		Препарат	Доза активного вещества, мг/кг	Введение препарата	День эвтаназии, забора крови и органов
	Самцы	Самки				
1, 2	10	10	Контроль (вода очищенная)	0	30 дней	31-й день эксперимента
3, 4	10	10	Исследуемый препарат	3		
5, 6	10	10	Исследуемый препарат	45		
7, 8	10	10	Препарат сравнения	3		
9, 10	10	10	Препарат сравнения	45		
11, 12	6	6	Исследуемый препарат	45		
13, 14	6	6	препарат сравнения	45	45-й день эксперимента	
15, 16	6	6	Контроль (вода очищенная)	0		

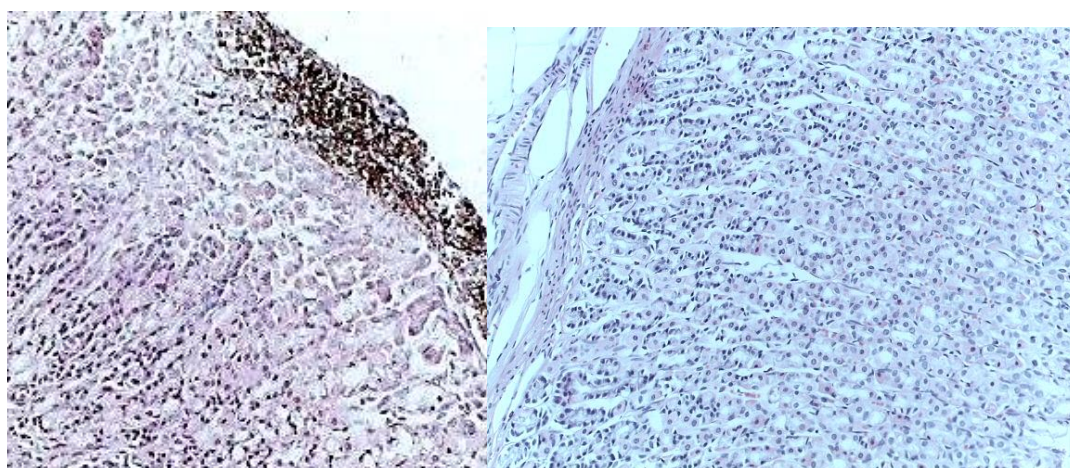
При проведении эксперимента животные содержались в следующих условиях: температура окружающего воздуха составляла  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ , относительная влажность –  $65\pm 5\%$ . Крысы помещались в макролоновые клетки Т-3 со стальными решетчатыми крышками, также в них имелось кормовое углубление. Подстилочным материалом для крыс служили древесные опилки.

Препараты вводились животным ежедневно в течение 30 дней. На 31-й день у крыс групп 1–10 (основной эксперимент) и на 45-й день (через 2 недели после основного эксперимента – отсроченный эксперимент) в группах 7–10 осуществляли эвтаназию путем декапитации и проводили патоморфологические исследования. В качестве ингаляционного наркоза был использован диэтиловый эфир с целью проведения эвтаназии в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите экспериментальных животных 86/609 ЕЕС (решение локального этического комитета о проведении экспериментального исследования, протокол № 6 от 17.03.2021 г).

### **Результаты исследования и их обсуждение**

Изучение местнораздражающего действия проводили путем гистоморфологической оценки состояния слизистой оболочки желудка.

В группах животных, которым вводили исследуемые препараты в минимальной дозе 3 мг/кг, отклонений гистологической картины стенок желудка не выявлено. Гистологическая картина желудка самок, получавших лекарственное средство «Нимесулид» в дозе 45 мг/кг, являющийся исследуемым объектом (основное и отсроченное исследование), представлена на рисунке 1.



*А – основное исследование*

*Б – отсроченное исследование*

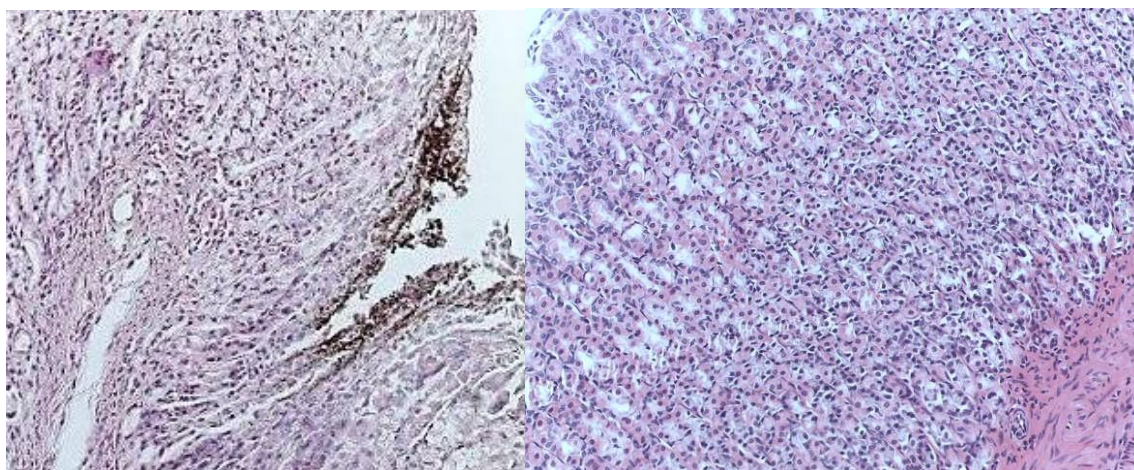
*Рис. 1. Слизистая желудка крыс-самок, получавших «Нимесулид», доза 45 мг/кг*

*Окрашивание гематоксилином и эозином. Ув. x20*

На рисунке 1А отмечается поверхностный дефект слизистой с наличием отложения солянокислого гематина по поверхности (у 70% животных в группе). В подлежащих клеточных слоях отмечаются признаки некроза железистого эпителия с перифокальной лейкоцитарной инфильтрацией (в 70% случаев).

Рисунок 1Б свидетельствует о том, что поверхность слизистой покрыта однослойным призматическим эпителием, включая ямки. Собственная пластинка слизистой представлена трубчатыми железами желудка, между ними отмечены тонкие прослойки соединительной рыхлой волокнистой ткани. Необходимо отметить, что отчетливо просматривались секреторные отделы желез и выводные протоки с узким просветом, свободные от содержимого. Установлено, что клетки тела и дна желез были окрашены базофильно более интенсивно, чем выводные протоки. Клетки желез, размещенные в виде непрерывных прямых тяжей, плотно прилегали друг к другу и имели гранулярную цитоплазму (рис. 1Б). Ядра в клетках имели центральное расположение, округлую форму с гладкой поверхностью [7].

Гистологическая картина желудка самцов, которые получали исследуемый препарат в дозе 45 мг/кг, показала, что на границе складок слизистой желудка отмечаются поверхностные повреждения однослойного цилиндрического эпителия с накоплением гранул солянокислого гематина (90% животных в группе) (рис. 2А).



*А – основное исследование*

*Б – отсроченное исследование*

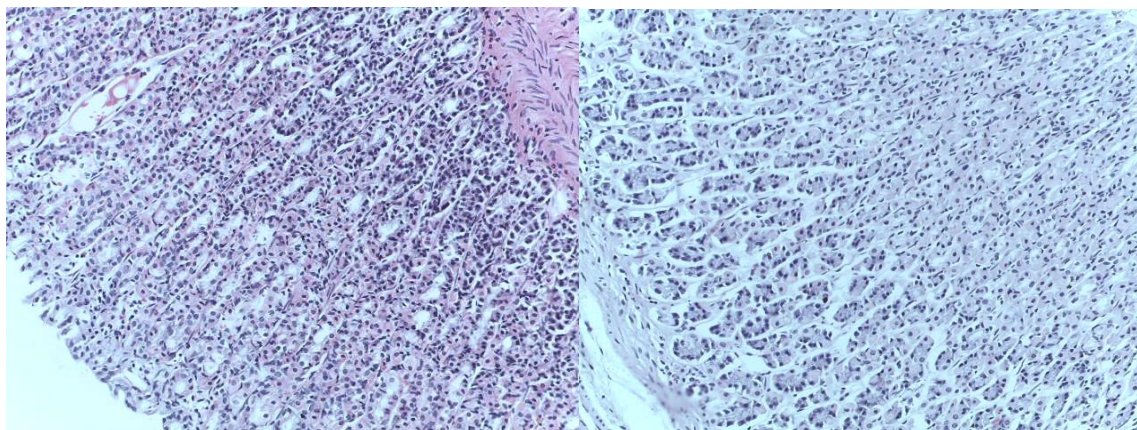
*Рис. 2. Слизистая желудка крыс-самцов, получавших «Нимесулид», доза 45 мг/кг  
Окрашивание гематоксилином и эозином. Ув. x20*

При гистологическом исследовании стенки желудка крыс-самцов в отсроченном эксперименте слизистая была сохранена, равномерно покрыта однослойным призматическим эпителием (рис. 2Б). Железы имели вертикальную ориентацию тяжей эпителиальных



железистых клеток, плотно прилегающих друг к другу. Выводные протоки были свободны от содержимого и открывались в ямки слизистой. Тонкие ретикулиновые волокна и единичные лимфоидные клетки находились между тяжами железистых клеток, образующих железы и выводные протоки.

Исследование слизистой желудка самок, получавших препарат сравнения «Немулекс» в дозе 45 мг/кг (рис. 3), показывает, что на гистологических препаратах фиксировался поверхностный дефект слизистой с деструкцией желез (80% животных), очаговым отложением солянокислого гематина (90% случаев в группе) и гемосидерина (рис. 3А). При отсроченном гистологическом исследовании желудка просматриваются слизистая, подслизистая, мышечный и серозные слои. В слизистой оболочке определяется поверхностно-ямочный и железистый эпителий обычного строения (рис. 3Б). Поверхностно-ямочный эпителий представлен высокими призматическими клетками. Сосуды были умеренного кровенаполнения.



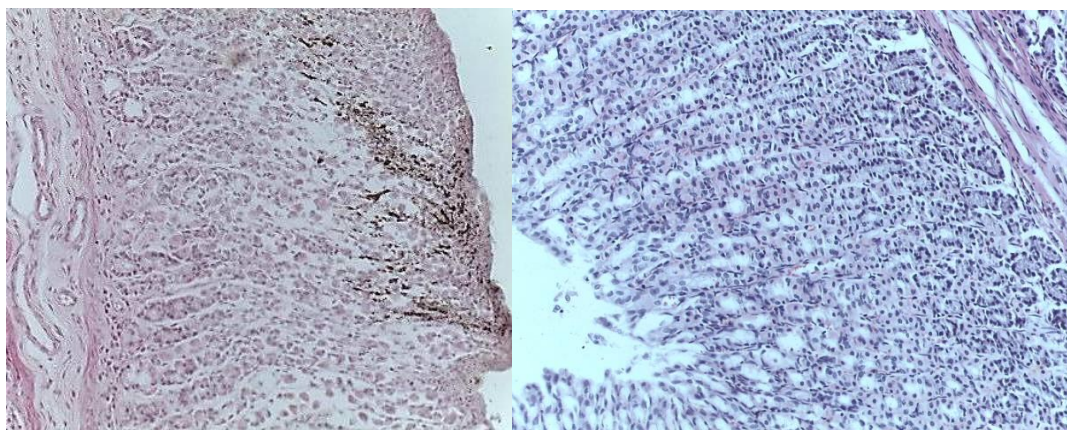
*А – основное исследование*

*Б – отсроченное исследование*

*Рис. 3. Слизистая желудка крыс-самок, получавших «Немулекс», доза 45 мг/кг*

*Окрашивание гематоксилином и эозином. Ув. х20*

Выраженный отек слизистой с диффузным расположением гранул солянокислого гематина в поверхностных слоях (90%) и повреждением железистого эпителия вплоть до некроза (90%) (рис. 4А) отмечен на гистологической картине желудка крыс-самцов, получавших препарат сравнения «Немулекс» в дозе 45 мг/кг.



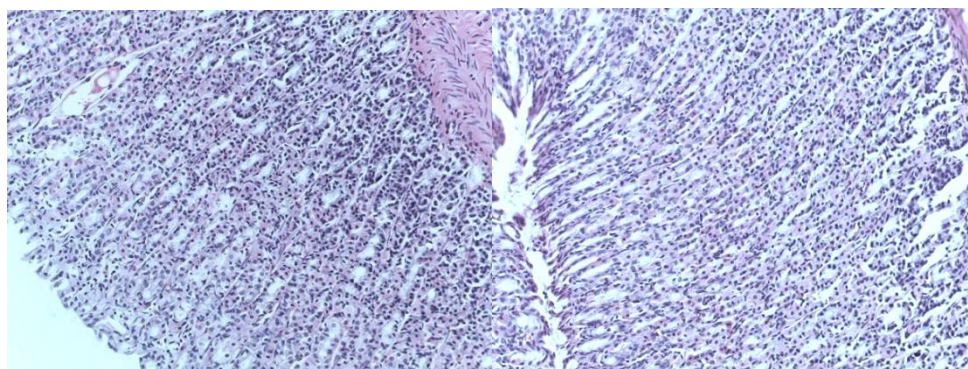
*А – основное исследование*

*Б – отсроченное исследование*

*Рис. 4. Слизистая желудка крыс-самцов, получавших «Немулекс», доза 45 мг/кг  
Окрашивание гематоксилином и эозином. Ув. х20*

При гистологическом исследовании желудка крыс-самцов через 2 недели после прекращения приема препарата хорошо определялись слизистая, подслизистая, мышечная и серозные оболочки, где слизистая была покрыта однослойным призматическим эпителием. Железы в области дна и тела занимали практически всю толщу собственного слоя. Вертикальная ориентация тяжей железистых клеток сохранена (рис. 4Б). Они плотно прилегают друг к другу. Выводные протоки свободны от содержимого, открываются в ямки слизистой. Тонкие волокна соединительной ткани и множество лимфоидных клеток находятся между тяжами железистых клеток, образующих железы и выводные протоки.

Гистологическая картина желудка животных контрольных групп (самок) представлена на рисунке 5А: по всей поверхности слизистой располагался призматический эпителий. Железы имели правильную трубчатую форму. Секреторные клетки желез плотно прилегали друг к другу, в цитоплазме определялась умеренная базофильная грануляция с округлым ядром, расположенным в центре. Гистологическое исследование желудка крыс-самцов контрольной группы выявило наличие сохранного однослойного призматического эпителия по всей поверхности слизистой, включая ямки (рис. 5Б). Собственная пластинка слизистой была представлена трубчатыми железами желудка, между которыми лежали тонкие прослойки соединительной рыхлой волокнистой ткани. Отчетливо просматривались секреторные отделы желез и выводные протоки с узким просветом, свободные от содержимого [8].



А – крысы-самки

Б – крысы-самцы

Рис. 5. Слизистая желудка контрольной группы крыс-самок и крыс-самцов.

Окрашивание гематоксилином и эозином. Ув. x20

В таблице 2 приведены результаты по изучению гистологических признаков повреждения слизистой желудка на фоне применения препаратов «Нимесулид» и «Немулекс» в дозе 45 мг/кг на 31-й день эксперимента и через 14 дней после его отмены.

Таблица 2

Гистологическая картина слизистой оболочки желудка крыс при введении препаратов «Нимесулид» и «Немулекс» в дозе 45 мг/кг

Гистологический признак	«Нимесулид» 31-й день эксперимента		«Немулекс» 31-й день эксперимента		«Нимесулид» 45-й день эксперимента		«Немулекс» 45-й день эксперимента	
	♂n=10	♀n=10	♂n=10	♀n=10	♂n=6	♀n=6	♂n=6	♀n=6
Число особей с поверхностным дефектом однослойного цилиндрического эпителия	0,90□□□□□ □	0,80□□□□□ □	0,90±0,19	0,80□□□□□ □	0,167□□□□□ □□□□□	0	0,333□□□□□ □□	0
Число особей с отложением гранул солянокислого гематина	0,90±0,19	0,70□0,28	0,90±0,19	0,90±0,19	0,167□□□□□ □□□□□	0	0,333□□□□□ □□	0
Число особей с некрозом и десквамацией поверхностно-ямочного эпителия	0,80□□□□□ □	0,80□□□□□ □	0,90±0,19	0,80□□□□□ □	0,167□□□□□ □□□□□	0	0,333□□□□□ □□	0
Число особей с лейкоцитарной инфильтрацией перизерозивной зоны	0,90±0,19	0,70□0,28	0,90±0,19	0,80□□□□□ □	0,167□□□□□ □□□□□	0	0,333□□□□□ □□	0

Примечание: так как число наблюдений невелико (количество наблюдений в группах 10 или 6), то для оценки значимости различий был выбран точный критерий Фишера. Поскольку значение точного критерия Фишера больше критического ( $p > 0,05$ ), то можно сделать вывод об отсутствии статистически значимых различий

Статистическая обработка полученных результатов указывает на отсутствие



статистически значимых различий в исследуемых группах.

### **Заключение**

Результаты гистоморфологического анализа состояния слизистой оболочки желудка выявили наличие поверхностных эрозивных повреждений слизистой желудка в группах основного исследования при введении исследуемого препарата «Нимесулид» и препарата сравнения «Немулекс» в дозе 45 мг/кг на протяжении 30 дней. Многочисленные клинические и доклинические исследования ряда авторов демонстрируют в качестве наиболее часто встречающихся осложнений при приеме НПВП человеком или при экспериментальных исследованиях на животных развитие гастропатий, характеризующихся определенными морфологическими изменениями, регистрирующимися в ходе гастроскопических исследований у человека и морфогистологических исследований желудка лабораторных животных [9, 10]. Выявленные изменения носили обратимый характер. Структура слизистой оболочки полностью восстановилась у животных групп отсроченного исследования. Эрозивное повреждение носит системный характер и является типичным побочным эффектом для НПВП, поэтому не может быть прямо трактовано как местнораздражающий эффект.

### **Список литературы**

1. Машковский М. Д. Лекарственные средства. М.: Новая волна, 2019. 1216 с.
2. Журавлева М.В., Кукес В.Г., Прокофьев А.Б., Сереброва С.Ю., Городецкая Г.И., Бердникова Н.Г. Рациональное применение НПВП – баланс эффективности и безопасности (обзор литературы) // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2016. № 6-4. С. 687-696.
3. Каратеев А.Е., Алексеева Л.И., Филатова Е.Г., Мороз Е.В., Тюрин В.П., Насонов Е.Л. Обезболивающие препараты в терапевтической практике. М.: ООО ИМА-ПРЕСС, 2013. 134 с.
4. Каратеев А.Е. Нимесулид в российской клинической практике: старый друг лучше новых двух // Медицинский совет. 2014. №5. С.82-91.
5. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К, 2012. 944 с.
6. Яковеко А.М., Антоненко Т.И., Селионова М.И. Биометрические методы анализа качественных и количественных признаков в зоотехнии. Ставрополь: Агрус, 2013. 91 с.
7. Карагулов Х.Г. Создание и методология лекарственных и космецевтических средств, содержащих тамбуканские пелоиды, на основе современных ресурсосберегающих

технологий: дис. ... д-ра фармац. наук. Пятигорск, 2016. 320 с.

8. Федотова В.В., Коновалов Д.А., Терехов А.Ю., Огурцов Ю.А., Кобин А.А. Определение «острой» токсичности сухого экстракта золотарника кавказского. Патоморфологические изменения в органах, вызванные введением экстракта золотарника кавказского в дозе 10000 мг/кг // Современные проблемы науки и образования. 2014. №1. [Электронный ресурс]. URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=11846> (дата обращения: 03.06.2021).
9. Каратеев А.Е., Погожева Е.Ю., Филатова Е.С., Амирджанова В.Н. Эндоскопическая картина верхних отделов желудочно-кишечного тракта на фоне приема различных нестероидных противовоспалительных препаратов // Клиническая фармакология и терапия. 2018. Т. 27. №4. С.40-45.
10. Каратеев А.Е. Нимесулид – универсальный анальгетик с хорошей переносимостью // Русский медицинский журнал. 2014. №28. С.20-28.