

ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ СУБХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ АКАДЕЗИНА НА КРЫСАХ

Н.П. Ермакова¹, И.Б. Меркулова¹, О.И. Коняева¹, В.А. Чалей¹, Т.В. Абрамова¹, В.М. Бухман¹,
С.В. Яроцкий², К.В. Лобанов², Н.Ю. Кульбачевская¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России;
Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24;

²ФГБУ «Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов
Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»; Россия, 117545 Москва, 1-й Дорожный проезд, 1

Контакты: Надежда Павловна Ермакова ne518@yandex.ru

Введение. В Национальном медицинском исследовательском центре онкологии им. Н.Н. Блохина проведены доклинические токсикологические исследования лиофилизированной лекарственной формы лекарственного средства на основе акадезина — нового противоопухолевого препарата.

Цель исследования — изучение субхронической токсичности лекарственного средства на основе акадезина на крысах для оценки его токсического действия.

Материалы и методы. Исследование проведено на 40 неинбредных беспородных крысах-самцах. Препарат вводили внутрибрюшинно ежедневно 15-кратно в суммарных дозах 750, 1150 и 2300 мг/кг. В течение всего срока наблюдения (30 сут) проводили клинко-лабораторные исследования. Патоморфологическое исследование проводили на 1-е и 30-е сутки наблюдения.

Результаты. Установлено, что лекарственное средство на основе акадезина при многократном введении крысам во всех исследованных дозах не вызывало изменений показателей периферической крови животных, морфологических изменений во всех изученных органах и тканях животных (кроме почек), функциональных изменений в состоянии печени, сердца, почек и желудочно-кишечного тракта. Однако морфологически выявлены изменения в почках при применении препарата в суммарной дозе 1150 мг/кг на 1-е и на 30-е сутки наблюдения, а в суммарной дозе 2300 мг/кг — только на 30-е сутки наблюдения.

Заключение. Выявленное токсическое действие лекарственного средства на основе акадезина на почки крыс является дозозависимым. При применении препарата в суммарной дозе 750 мг/кг, которая в 60 раз превышает однократную терапевтическую дозу для крыс (12,5 мг/кг), токсические проявления полностью отсутствовали в течение всего срока наблюдения. Это позволило рекомендовать лекарственное средство на основе акадезина для дальнейшего исследования.

Ключевые слова: лекарственное средство на основе акадезина, доклиническое исследование, токсичность, крысы

Для цитирования: Ермакова Н.П., Меркулова И.Б., Коняева О.И. и др. Доклиническое изучение субхронической токсичности лекарственного средства на основе акадезина на крысах. Российский биотерапевтический журнал 2020;19(2):65–73.

DOI: 10.17650/1726-9784-2019-19-2-65-73



PRECLINICAL STUDY OF SUBCHRONIC TOXICITY OF THE DRUG ON THE BASIS OF ACADÉSINE IN RATS

N.P. Ermakova¹, I.B. Merkulova¹, O.I. Konyaeva¹, V.A. Chaley¹, T.V. Abramova¹, V.M. Bukhman¹,
S.V. Yarotsky², K.V. Lobanov², N.Yu. Kulbacherskaya¹

¹N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation;
24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia;

²State Research Institute of Genetics and Selection of Industrial Microorganisms of the National Research Center
“Kurchatov Institute”; 1st Dorozhnyy proezd, Moscow 117545, Russia

Introduction. At the national medical research center of oncology N.N. Blokhin preclinical toxicological studies of a lyophilized dosage form of a drug based on acadésine, a new antitumor drug, were conducted.

The aim of the study to study the subchronic toxicity of the drug on the basis of acadésine in rats to evaluate its toxicity.

Materials and methods. The study was conducted on 40 noninbred male mongrel rats. The drug was administered intraperitoneal daily 15-fold in total doses of 750, 1150 and 2300 mg/kg. Clinical and laboratory tests were performed during the entire observation period (30 days). The pathomorphological study was performed on the 1st and 30th day of observation.

Results. It was found that the drug based on acadésine, when applied repeatedly to rats in all the studied doses, did not cause changes in the indicators of peripheral blood of animals, morphological changes in all the studied organs and tissues of animals (except the kidneys),

functional changes in the state of the liver, heart, kidneys and gastrointestinal tract. However, morphologically revealed changes in the kidneys when using the drug in the total dose of 1150 mg/kg on the 1st and 30th day of observation, and in the total dose of 2300 mg/kg only on the 30th day of observation.

Conclusion. The detected toxic effect of the drug based on acadesine on the kidneys of rats is dose-dependent. When using the drug in the course of the course at a total dose of 750 mg/kg, which is 60 times higher than the single therapeutic dose for rats (12.5 mg/kg), toxic manifestations were completely absent during the entire period of observation. This allowed us to recommend a drug based on acadesine for further research.

Key words: drug based on acadesine, preclinical study, toxicity, rats

For citation: Ermakova N.P., Merkulova I.B., Konyaeva O.I. et al. Preclinical study of subchronic toxicity of the drug on the basis of acadesine in rats. Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy 2020;19(2):65–73. (In Russ.).

Введение

Создание новых противоопухолевых препаратов — одна из самых актуальных проблем в современной онкологии. В последнее время в клинической практике появились таргетные биотерапевтические препараты, направленные на определенные молекулярные мишени — моноклональные антитела, ингибиторы факторов роста, тирозинкиназ, протеинкиназ и других ферментов и белков, большинство которых не убивают злокачественные опухолевые клетки, а замедляют интенсивность их деления или повышают степень их дифференцировки. В результате перехода злокачественного образования в хроническую форму пациент может прожить еще несколько лет без снижения качества жизни.

Акадезин — противоопухолевый препарат, разработанный в Государственном научно-исследовательском институте генетики и селекции промышленных микроорганизмов методом лабораторного получения субстанции на основе рекомбинантного штамма-продуцента — бактерий *Bacillus subtilis* (сенной палочки, обычной почвенной бактерии) [1]. Акадезин (АИКАР, 5-аминоимидазол-4-карбоксамид рибофуранозид) давно известен биохимикам: это один из предшественников аденозина пуриновых нуклеотидов, из которых образуются нуклеиновые кислоты (аденозинтрифосфат и гуанозинтрифосфат) — универсальные энергетические носители в любой клетке организма [2]. В доклинических исследованиях было показано, что применение акадезина индуцирует неапоптотическую гибель опухолевых клеток, в том числе с фенотипом лекарственной устойчивости, обусловленной экспрессией Р-гликопротеина и инактивацией функции белка p53 [3]. Действие акадезина в первую очередь опосредовано селективной активацией 5'АМФ-активируемой протеинкиназы (activated protein kinase), клеточной протеинкиназы, контролирующей энергетический баланс внутри клетки. У акадезина отсутствуют побочные эффекты, поскольку он является естественным метаболитом.

Препарат вызывает большое внимание исследователей, так как он ограничивает пролиферацию опухолевых клеток, оказывает противолейкозное

действие при лечении острых и хронических лейкозов, нормализует обмен липидов и углеводов, кроме того, выявлено такое его свойство, как предупреждение сахарного диабета 2-го типа [4–9]. Все эти качества обусловили огромный интерес к дальнейшему изучению акадезина. Он важен для противоопухолевой терапии благодаря уникальному механизму действия: это соединение вызывает сложную гибель клеток с участием механизма некроза [10]. Лекарственное средство (ЛС) с противоопухолевой активностью на основе акадезина, получаемое путем микробиологического синтеза, — это новый антинеопластический препарат для терапии рефрактерной В-клеточной лейкемии, имеющей мишенью АМФ-зависимую протеинкиназу при минимальной токсичности для других клеток организма [11].

Изучение акадезина было проведено в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина. В лаборатории разработки лекарственных форм создана парентеральная лекарственная форма «Акадезин, лиофилизат для приготовления раствора для инъекций 300 мг» [12, 13]. Противоопухолевая активность ЛС на основе акадезина изучена в лаборатории экспериментальной химиотерапии [14, 15]. В лаборатории фармакологии и токсикологии проведено доклиническое токсикологическое исследование препарата, результаты которого частично представлены в данной статье.

Цель исследования — изучение на крысах субхронической токсичности ЛС на основе акадезина для оценки его токсического действия.

Задачи исследования — характеристика повреждающего действия препарата при его ежедневном в течение 15 дней внутрибрюшинном введении, выявление наиболее чувствительных органов и систем организма, определение уровней токсических доз, исследование обратимости токсического действия.

Материалы и методы

Изучение проводили на крысах в соответствии с российскими и международными требованиями [16, 17].

Для данной работы было использовано 40 здоровых неинбредных беспородных крыс-самцов, полученных из разведения НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина.

Содержались животные в стандартных условиях вивария.

Препарат вводили животным внутрибрюшинно ежедневно в течение 15 дней в суммарных дозах, соответствующих 2 максимально переносимым дозам (2300 мг/кг), 1 максимально переносимой дозе (1150 мг/кг) и 1/2 максимально переносимой дозы (750 мг/кг). Рассчитывали дозы, основываясь на данных, полученных в результате изучения острой токсичности на крысах. Препарат — лиофилизированная форма ЛС на основе акадизина — содержит 300 мг активного вещества во флаконе. Для получения рекомендованной концентрации (37,5 мг/мл) содержимое флакона растворяли в 8,0 мл воды для инъекций. На основании показателя массы тела животного в соответствии с дозой рассчитывали объем вводимого раствора.

Изучали влияние препарата на периферическую кровь, функциональное состояние желудочно-кишечного тракта, печени, почек, сердечно-сосудистой системы.

У крыс определяли уровень эритроцитов, тромбоцитов, гемоглобина, лейкоцитов и лейкоцитарную формулу. Для этого из хвостовой вены самцов брали кровь в объеме 20 мкл в пробирки со специальным разбавителем и анализировали на автоматизированном гематологическом анализаторе МЕК-6450K (Nihon Konden, Япония). Сравнивали полученные результаты с данными контрольных животных и с фоновыми показателями. Исследования проводили на 3-и сутки (фон) и после последнего введения препарата на 3, 7, 14, 21 и 30-е сутки наблюдения. Биологический материал — кровь для биохимического исследования — брали на 1-е и 30-е сутки наблюдения. При биохимическом исследовании сыворотки крови животных определялись следующие показатели: аланинаминотрансфераза, аспартатаминотрансфераза, лактатдегидрогеназа, щелочная фосфатаза, креатинин, мочевины, общий билирубин, глюкоза, общий белок, альбумин. С помощью электрокардиографии оценивали функциональное состояние сердечно-сосудистой системы. Электрокардиограмму у животных регистрировали за 3 дня (фон) до начала введения препарата и на 3, 15 и 30-е сутки после последнего введения. Для работы использовали электрокардиограф SCHILLER Cardiovit AT-1 (SCHILLER, Швейцария) при скорости протяжки ленты 50 мм/с. Анализ электрокардиограмм животных проводили в соответствии с общепринятыми методиками [17]. Животных выводили из эксперимента на 1-е и 30-е сутки наблюдения.

Для гистологического исследования брали участки головного мозга, сердца, легких, щитовидной железы, печени, поджелудочной железы, желудка, селезенки, лимфатических узлов брыжейки, тонкого и толстого кишечника, надпочечников, почек, мочевого пузыря,

тимуса, семенников, костного мозга (из бедренной кости). Материал подвергали общепринятой гистологической обработке [18]. Для работы использовали микроскоп Leica DM1000 (Leica Microsystems GmbH, Германия) с программным обеспечением управления настройками и захвата изображения. Анализировали гистологические препараты и фотографировали при увеличении 100 и 400.

Методы статистической обработки данных. Полученные данные были обработаны статистически с помощью компьютерных программ Microsoft Office Excel и BioStat Professional. Достоверные различия принимали при $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение

По результатам проведенных исследований показано, что после ежедневного в течение 15 дней внутрибрюшинного введения ЛС на основе акадизина во всех изученных дозах не было отмечено изменений поведенческих реакций, внешних проявлений токсичности и гибели животных. У крыс сохранялись аппетит и двигательная активность. Не отмечали снижения массы тела животных при всех вводимых дозах по сравнению с контрольной группой на протяжении всего срока наблюдения (рис. 1).

Установлено, что исследуемый препарат после 15-кратного ежедневного внутрибрюшинного применения не вызывал изменений показателей в периферической крови на всех сроках наблюдения во всех исследованных дозах. Не отмечено изменений и в лейкоцитарной формуле животных по сравнению с данными животных контрольной группы.

Установлено, что ЛС на основе акадизина не оказывало влияния на функции печени на всех сроках наблюдения во всех изученных дозах. Показатели уровней альбумина, общего белка, активности аспартатаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы, щелочной фосфатазы и лактатдегидрогеназы, а также

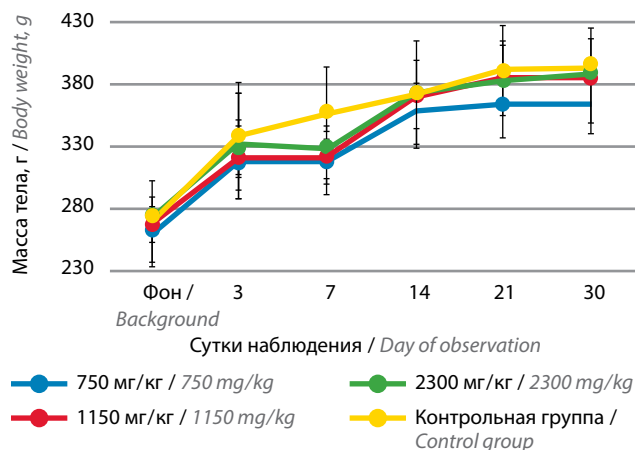


Рис. 1. Динамика массы тела крыс

Fig. 1. Dynamics of rat body weight

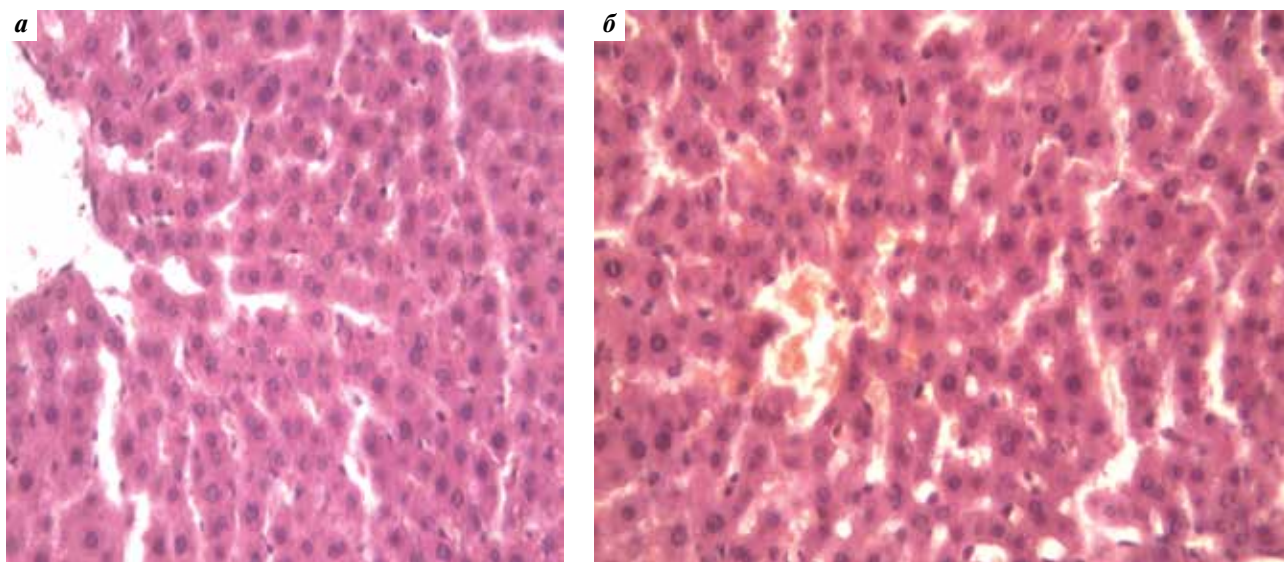


Рис. 2. Печень крыс (окраска гематоксилином и эозином): а — акадесин в суммарной дозе 2300 мг/кг, 1-е сутки наблюдения; морфологическая картина печени не нарушена; б — интактный контроль ($\times 400$)

Fig. 2. The liver of the rat (hematoxylin and eosin coloring): а — acadesin in a total dose of 2300 mg/kg, 1 day of observation; the morphological picture of the liver is not disturbed; б — intact control of ($\times 400$)

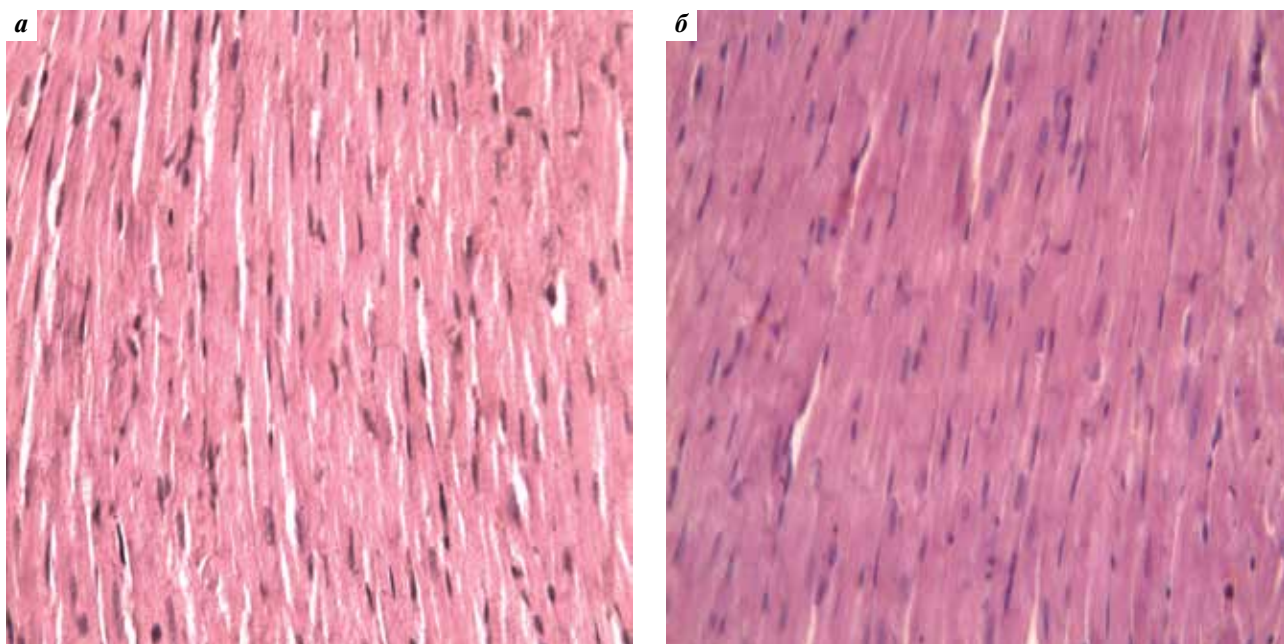


Рис. 3. Сердце (миокард) крысы (окраска гематоксилином и эозином): а — акадесин в суммарной дозе 2300 мг/кг, 1-е сутки наблюдения; структура мышечных волокон не нарушена; б — интактный контроль ($\times 400$)

Fig. 3. Heart (myocardium) of a rat (hematoxylin and eosin coloring): а — acadesin in a total dose of 2300 mg/kg, 1 day of observation; the structure of muscle fibers is not broken; б — intact control ($\times 400$)

уровень билирубина в сыворотке крови животных находились на уровне показателей контрольных животных и в пределах физиологической нормы для крыс.

Не обнаружено макроскопических и гистологических изменений в печени на 1-е и 30-е сутки наблюдения (рис. 2а). После применения препарата во всех изучаемых дозах морфологическая картина

печени крыс не отличалась от морфологической картины печени крыс контрольной группы (рис. 2б).

Исследование функций сердца не выявило количественных и качественных изменений показателей временных интервалов электрокардиограмм животных на всех сроках наблюдения. В сердце крыс не обнаружено патоморфологических изменений на 1-е

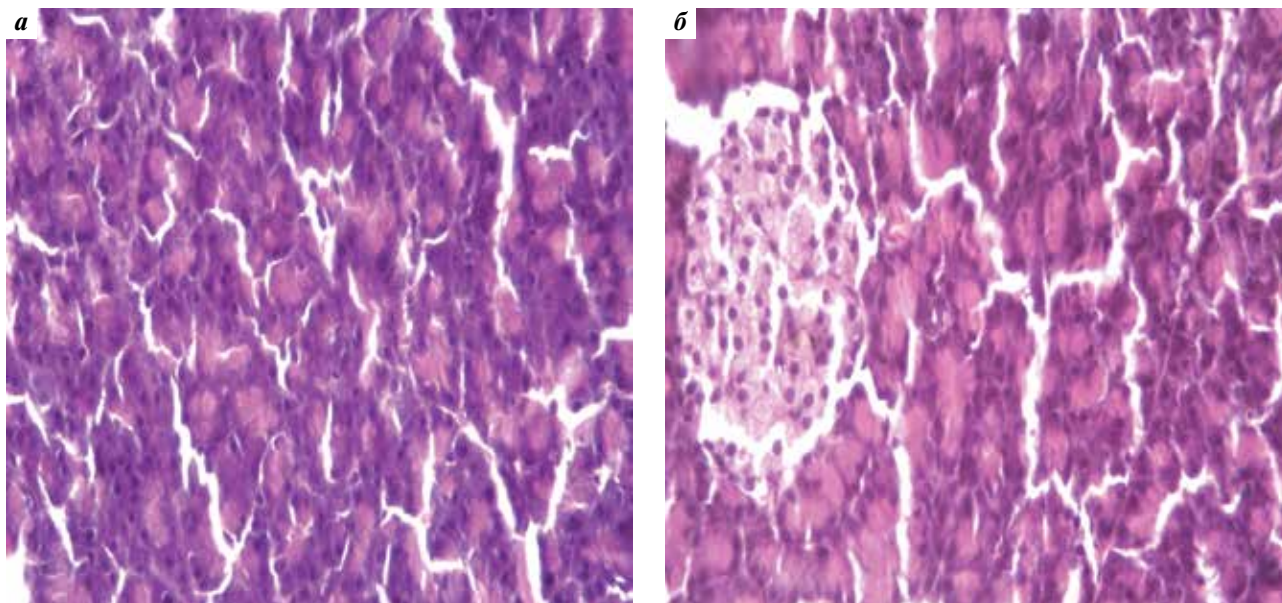


Рис. 4. Поджелудочная железа крысы (окраска гематоксилином и эозином): а — акадезин в суммарной дозе 2300 мг/кг, 1-е сутки наблюдения; морфологическая картина поджелудочной железы не нарушена; б — интактный контроль ($\times 400$)

Fig. 4. Pancreas of the rat (hematoxylin and eosin coloring): а — acadesin in a total dose of 2300 mg/kg, 1 day of observation; the morphological picture of the pancreas is not violated; б — intact control ($\times 400$)

и 30-е сутки наблюдения (рис. 3а). После применения препарата морфологическая картина миокарда крыс не отличалась от морфологической картины миокарда крыс контрольной группы (рис. 3б).

В поджелудочной железе не обнаружено макроскопических и гистологических изменений на 1-е и 30-е сутки наблюдения (рис. 4а). После применения препарата морфологическая картина поджелудочной железы крыс, получавших акадезин во всех изучаемых дозах, не отличалась от морфологической картины поджелудочной железы крыс контрольной группы (рис. 4б). Колебания уровня глюкозы в сыворотке крови находились в пределах физиологической нормы для данного вида животных.

Установлено, что ЛС на основе акадезина во всех изученных дозах не влияло на функциональное состояние почек: показатели уровней креатинина и мочевины в сыворотке крови животных не отличались от биохимических показателей крыс контрольной группы, статистической разницы не выявлено (см. таблицу). Препарат не оказывал влияния на суточный диурез и не вызывал изменений анализов мочи крыс.

Макроскопическое и гистологическое изучение внутренних органов крыс на 1-е и 30-е сутки после окончания 15-кратного ежедневного внутрибрюшинного применения ЛС на основе акадезина показало, что препарат во всех исследованных дозах не оказывает повреждающего действия на внутренние органы животных: головной мозг, сердце, легкие, печень, поджелудочную железу, мочевой пузырь, желудок, тонкий и толстый кишечник, лимфатические

узлы брыжейки, тимус, селезенку, костный мозг, семенники, надпочечники, щитовидную железу. Морфологическая картина в них соответствовала контрольной группе. Исключение составили только почки. На 1-е сутки после окончания применения акадезина в суммарной дозе 1150 мг/кг у некоторых крыс в почках были обнаружены очаги изменений в виде вакуольной дистрофии клеток эпителия отдельных извитых канальцев (рис. 5а) по сравнению с морфологической картиной почек контрольных крыс (рис. 5б).

На 30-е сутки после применения ЛС на основе акадезина в суммарной дозе 1150 мг/кг в почках крыс в единичных случаях сохраняются участки извитых канальцев с признаками вакуольной и зернистой дистрофии (рис. 6а). Кроме того, у некоторых крыс в корковом веществе обнаружены очажки воспалительной мононуклеарной инфильтрации и деструкции прилежащих клеток стенки извитых канальцев (рис. 6б) по сравнению с морфологической картиной почек контрольных крыс (рис. 6в).

Следует отметить, что на 1-е сутки после применения препарата в суммарной дозе 2300 мг/кг морфологические изменения в почках крыс были нечетко выражены. Эта независимость от дозы может быть связана с индивидуальной особенностью чувствительности каждого животного и вариабельностью частоты осложнений, которые могут не развиваться или развиваться в разные сроки после введения препарата. Однако на 30-е сутки после применения акадезина в этой же дозе в почках некоторых крыс были четко выражены морфологические изменения в виде

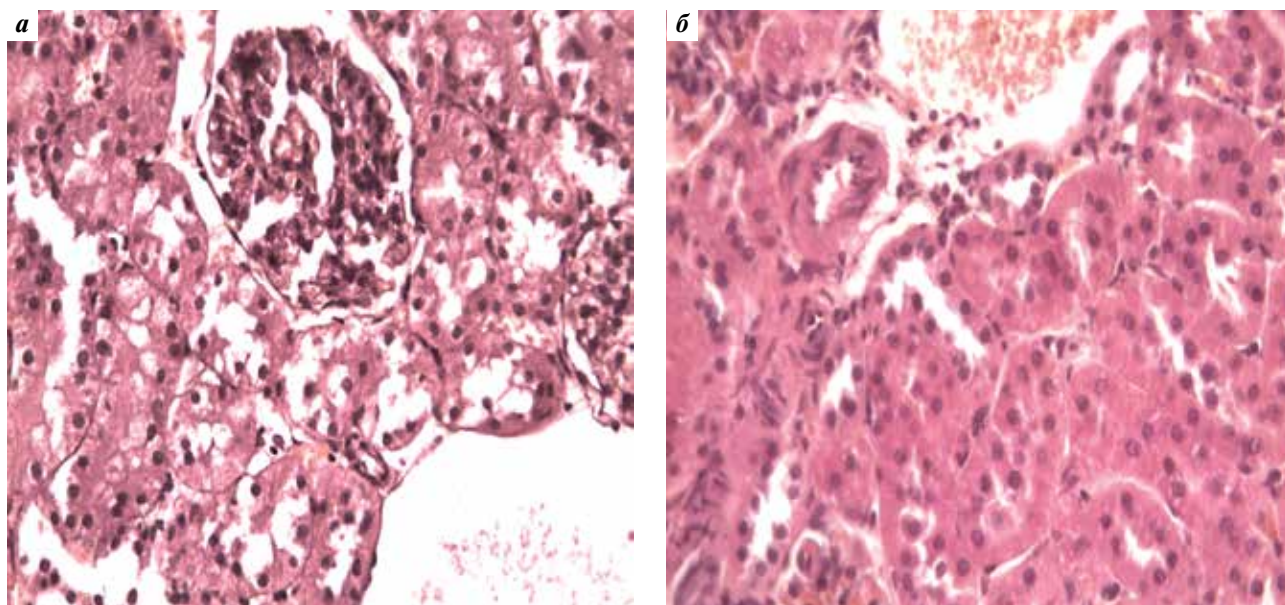


Рис. 5. Почка крысы (корковое вещество) (окраска гематоксилином и эозином): а — 1-е сутки после окончания применения акадесина в суммарной дозе 1150 мг/кг. Участок извитых канальцев с признаками вакуольной и зернистой дистрофии эпителиальных клеток; б — intact-контроль ($\times 400$)

Fig. 5. Rat kidney (cortical substance) (hematoxylin and eosin coloring): а — 1 day after the end of the use of acadesin in a total dose of 1150 mg/kg. Section of convoluted tubules with signs of vacuolar and granular dystrophy of epithelial cells; б — intact control ($\times 400$)

Биохимические показатели крови неинbredных крыс-самцов после 15-кратного внутрибрюшинного ежедневного введения формы лекарственного средства на основе акадесина

Biochemical blood parameters of non-harmless male rats after 15-fold intraperitoneal daily administration of the medicinal form of the drug based on acadesin

Доза разовая/суммарная, мг/кг Dose pink/total, mg/kg	Показатель Indicator	1-е сутки 1 st day	30-е сутки 30 st day
50/750	Мочевина, ммоль/л Urea, mmol/l	$7,9 \pm 1,1$	$8,3 \pm 1,1$
77/1150		$8,4 \pm 0,6$	$6,7 \pm 0,8$
153/2300		$8,7 \pm 0,6$	$5,7 \pm 0,8$
Контрольная группа Control group		$9,6 \pm 1,4$	$6,5 \pm 0,6$
50/750	Креатинин, ммоль/л Creatinine, mmol/l	$36,4 \pm 3,8$	$46,0 \pm 3,4$
77/1150		$37,0 \pm 3,9$	$41,2 \pm 3,0$
153/2300		$42,0 \pm 3,5$	$37,2 \pm 2,2$
Контрольная группа Control group		$37,2 \pm 2,2$	$42,2 \pm 2,9$

вакуольной и зернистой дистрофии некоторых извитых канальцев (рис. 6а).

Закключение

Согласно полученным результатам изменений показателей периферической крови животных, функциональных изменений в работе органов желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой системы,

печени, почек, поджелудочной железы не отмечено. Также не было выявлено морфологических изменений во всех изученных органах и тканях животных, кроме необратимых изменений почек у крыс, получивших высокие дозы препарата. Морфологически нефротоксичность была отмечена только у животных, получавших максимальные суммарные дозы препарата, превышающие 1-кратную терапевтическую дозу

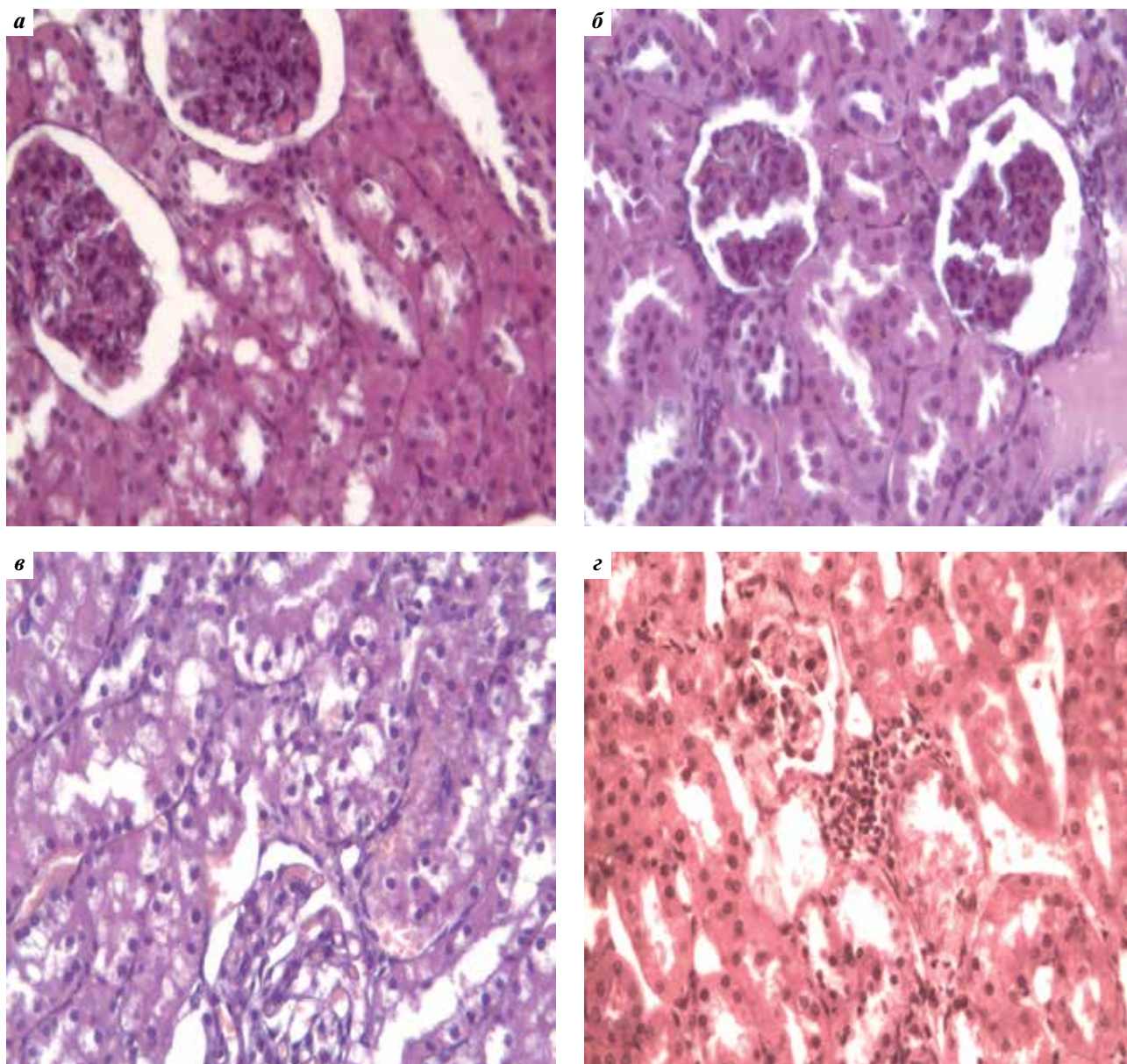


Рис. 6. Почка крысы (корковое вещество), 30-е сутки наблюдения (окраска гематоксилином и эозином): а — акадесин в дозе 1150 мг/кг — эпителиальные клетки извитых канальцев с признаками вакуольной и зернистой дистрофии; б — акадесин в дозе 1150 мг/кг — мононуклеарный инфильтрат рядом с сосудистым клубочком, дистрофические изменения прилежащих эпителиальных клеток извитых канальцев; в — акадесин в дозе 2300 мг/кг — участок извитых канальцев с признаками вакуольной и зернистой дистрофии эпителиальных клеток; г — интактный контроль ($\times 400$)

Fig. 6. Rat kidney (cortical substance) 30 days of observation (hematoxylin and eosin coloring): а — acadesine at a dose of 1150 mg/kg epithelial cells of the convoluted tubules with signs of vacuolar and granular dystrophy; б — acadesine at a dose of 1150 mg/kg — mononuclear infiltration near the vascular glomerulus, degenerative changes in adjacent epithelial cells of the convoluted tubules; в — acadesine at a dose of 2300 mg/kg — plot convoluted tubules with signs of vacuolar and granular dystrophy of epithelial cells; г — intact control ($\times 400$)

для крыс в 120 и 240 раз. Эти дозы были охарактеризованы как высокие токсические дозы, равные 2300 и 1150 мг/кг, вызывающие необратимые морфологические изменения в почках крыс.

Морфологически нефротоксичность не была определена у животных, получавших минимальную ис-

следуемую суммарную дозу препарата, которая была охарактеризована как высокая нетоксическая доза (750 мг/кг), в 60 раз превышающая 1-кратную терапевтическую дозу для крыс (12,5 мг/кг). Это позволило рекомендовать ЛС на основе акадесина для дальнейшего исследования.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

1. Лобанов К.В., Эрраис Лопес Л., Королькова Н.В. и др. Реконструкция пуринового метаболизма у *Bacillus subtilis* с целью получения штамма-продуцента AICAR — нового препарата широкого терапевтического применения. *Acta Naturae* 2011;2(9):83–93. [Lobanov K.V., Arrais Lopez L., Korolkova N.V. et al. Reconstruction of purine metabolism in *Bacillus subtilis* with the aim of obtaining strain-producer of AICAR — a new drug of a wide therapeutic use. *Acta Naturae* 2011;2(9):83–93. (In Russ.)].
2. Северин Е.С., Алейникова Т.Л., Осипов Е.В., Силаева С.А. Биологическая химия. М.: Медицинское информационное агентство, 2008. С. 253–8. [Severin E.S., Aleynikova T.L., Osipov E.V., Silaeva S.A. *Biological Chemistry*. Moscow: Medical News Agency, 2008. Pp. 253–8. (In Russ.)].
3. Глазунова В.А., Лобанов К.В., Шакулов Р.С. и др. Акадесин вызывает неапоптотическую гибель опухолевых клеток. *Acta Naturae* 2013;5(3):78–82. DOI: 10.32607/20758251-2013-5-3-74-78. [Glazunova V.A., Lobanov K.V., Shakulov R.S. et al. Acadesine triggers non-apoptotic death in tumor cells. *Acta Naturae* 2013;5(3):78–82. (In Russ.)].
4. Swinnen J.V., Beckers A., Brusselmans K. et al. Mimicry of a cellular low energy status blocks tumor cell anabolism and suppresses the malignant phenotype. *Cancer Res* 2005;65(6):2441–8. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-3025.
5. Sengupta T.K., Leclerc G.M., Hsieh-Kinzer T.T. Cytotoxic effect of 5-aminoimidazole-4-carboxamide-1- β -D-ribofuranoside (AICAR) on childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL) cells: implication for targeted therapy. *Mol Cancer* 2007;6(46):1–12. DOI: 10.1186/1476-4598-6-46.
6. Campás C.C., Lopez J.M., Santidrián A.F. et al. Acadesine activates AMPK and induces apoptosis in B-cell chronic lymphocytic leukemia cells but not in T-lymphocytes. *Blood* 2003;101:3674–80. DOI: 10.1182/blood-2002-07-2339.
7. Gaidhu M.P., Feduc S., Anthony N.M. et al. Prolonged AICAR-induced AMP-kinase activation promotes energy dissipation in white adipocytes: novel mechanisms integrating HSL and ATGL. *J Lipid Res* 2009;50:704–15. DOI: 10.1194/jlr.M800480-JLR200.
8. Rutter G.A., da Silva Xavier G., Leclerc I. Roles of 5'-AMP-activated protein kinase (AMPK) in mammalian glucose homeostasis. *Biochem J* 2003;375(Pt. 1):1–16. DOI: 10.1042/BJ20030048.
9. Pold R., Jensen L.S., Jessen N. et al. Long-term AICAR administration and exercise prevents diabetes in ZDF rats. *Diabetes* 2005;54(4):928–34. DOI: 10.2337/diabetes.54.4.928.
10. Глазунова В.А., Миронов А.С., Шакулов Р.С. и др. АИКАР — противоопухолевый препарат широкого спектра действия. Тезисы. Онкологический журнал общественного объединения «Белорусское онкологическое общество» 2012;6:16. [Glazunova V.A., Mironov A.S., Shakulov R.S. et al. AICAR — antitumor drug of a wide spectrum of action. Abstracts. *Onkologicheskii zhurnal obshchestvennogo ob'yedineniya "Belorusskoye onkologicheskoye obshchestvo"* 2012;6:16. (In Russ.)].
11. Van Den Neste E., Cazin B., Janssens A. et al. Acadesine for patients with relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia (CLL): a multicenter phase I/II study. *Cancer Chemother Pharmacol* 2013;71(3):581–91. DOI: 10.1007/s00280-012-2033-5.
12. Ланцова А.В., Санарова Е.В., Оборотова Н.А. и др. Разработка технологии получения инъекционной лекарственной формы на основе отечественной субстанции из пуринового нуклеозида АКВ-12. Российский биотерапевтический журнал 2014;13(3):33–9. [Lantsova A.V., Sanarova E.V., Oborotova N.A. et al. Development of technology for injectable dosage form based on the national substance of purine nucleoside AKV-12. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal* = Russian Journal of Biotherapy 2014;13(3):33–9. (In Russ.)].
13. Игнатьева Е.В., Дмитричева Н.А., Ярцева И.В. Количественное определение пуринового нуклеозида АКВ-12 в моделях лекарственной формы. Российский биотерапевтический журнал 2013;12(2):36. [Ignatyeva E.V., Dmitrieva N.A., Yartseva I.V. et al. Quantification of purine nucleoside AKV-12 in models of dosage forms. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal* = Russian Journal of Biotherapy 2013;12(2):36. (In Russ.)].
14. Лобанов К.В., Шакуров Р.С., Глазунова В.А. и др. Биосинтетический акадесин — основа для создания перспективного противоопухолевого препарата. Российский биотерапевтический журнал 2012;11(2):33. [Lobanov K.V., Shakurov R.S., Glazunova V.A. et al. Biosynthetic acadesine the basis for the creation of a promising anticancer drug. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal* = Russian Journal of Biotherapy 2012;11(2):33. (In Russ.)].
15. Лобанов К.В., Шакуров Р.С., Яроцкий С.В. и др. Доклиническое изучение биосинтетического акадесина. Российский биотерапевтический журнал 2013;12(2):54–4. [Lobanov K.V., Shakurov R.S., Yartsky S.V. et al. Pre-clinical study of biosynthetic acadesine. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal* = Russian Journal of Biotherapy 2013;12(2):54–4. (In Russ.)].
16. Гуськова Т.А. Токсикология лекарственных средств. 2-е изд., доп. М.: МВД, 2008. 196 с. [Gus'kova T.A. *Toxicology of medicinal products*. Ed. 2nd, add. M.: MVD, 2008. 196 p. (In Russ.)].
17. Ермакова Н.П., Меркулова И.Б., Коняева О.И. и др. Влияние препарата ЛХС-1208 на сердечно-сосудистую систему. Российский биотерапевтический журнал 2018;17(3):70–80. [Ermakova N.P., Merkulova I.B., Konyayeva O.I. et al. Influence of the drug LHS-1208 on the cardiovascular system. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal* = Russian Journal of Biotherapy 2018;17(3):70–80. (In Russ.)].
18. Волкова О.В., Елецкий Ю.К. Основы гистологии с гистологической техникой. Изд. 2-е, перераб. и доп. М.: Медицина, 1982. [Volkova O.V., Eletsky Yu.K. *Fundamental histology with histological technique*. Ed. 2nd, revision and add. Moscow: Medicine, 1982. (In Russ.)].

Вклад авторов

Н.П. Ермакова: получение данных для анализа, обзор публикаций по теме статьи, написание текста рукописи;

Н.Ю. Кульбачевская, О.И. Коняева: разработка дизайна исследования, анализ полученных данных;

В.А. Чалей, И.Б. Меркулова, Т.В. Абрамова: получение данных для анализа, анализ полученных данных;

В. М. Бухман: анализ полученных данных;

С.В. Яроцкий, К.В. Лобанов: участие в окончательном утверждении версии, которая сдается в печать.

Contribution of authors

N.P. Ermakova: getting data for analysis, reviewing publications on the topic of the article, writing the text of the manuscript;

N.Yu. Kulbachevskaya, O.I. Konyaeva: development of the research design, analysis of the obtained data;

V.A. Chaley, I.B. Merkulova, T.V. Abramova: obtaining data for analysis, analysis of the obtained data;

V.M. Buchman: analysis of the received data;

S.V. Yarotsky, K.V. Lobanov: participated in the final approval of the version to be printed.

ORCID авторов / ORCID of authors

И.Б. Меркулова / I.B. Merkulova: <https://orcid.org/0000-0001-7461-3422>

О.И. Коняева / O.I. Konyaeva: <https://orcid.org/0000-0002-3814-5630>

В.А. Чалей / V.A. Chaley: <https://orcid.org/0000-0001-7867-2868>

В.М. Бухман / V.M. Bukhman: <https://orcid.org/0000-0002-7062-798X>

Н.Ю. Кульбачевская / N.Yu. Kulbachevskaya: <https://orcid.org/0000-0003-4214-3475>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Соблюдение правил биоэтики. Протокол исследования № 10 (11.03.2013 г.) одобрен комитетом по биомедицинской этике Национального медицинского исследовательского центра онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России. Исследование проведено в соответствии с этическими нормами обращения с животными, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных научных целей.

Compliance with the rules of bioethics. The study protocol № 10 (11.03 2013) was approved by the biomedical ethics committee of N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation. The study was performed in accordance with the ethical standards for the treatment of animals adopted by the European Convention for the protection of vertebrates used for research and other scientific purposes.

Статья поступила: 29.01.2020. Принята к публикации: 03.03.2020.

Article submitted: 29.01.2020. Accepted for publication: 03.03.2020.