

## ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ОБЩЕТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПРЕПАРАТОВ СВЕРХМАЛЫХ ДОЗ АНТИТЕЛ К ЭНДОГЕННЫМ РЕГУЛЯТОРАМ

Г.В.Карпова, Т.И.Фомина, Т.В.Ветошкина, Т.Ю.Дубская, О.Л.Воронова, Е.А.Тимина, Е.В.Абрамова, Л.А.Ермолаева, А.В.Перова

*ГУ НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН, Томск*

Проведено доклиническое изучение безопасности 6 препаратов сверхмалых доз антител к эндогенным регуляторам. Показано, что они являются относительно безвредными, хорошо переносятся животными в дозах, более чем в 1000 раз превышающих терапевтическую дозу для человека, и не оказывают общетоксического действия на организм лабораторных животных.

**Ключевые слова:** *сверхмалые дозы антител, острая токсичность, хроническая токсичность, местнораздражающее действие, доклиническое исследование*

В настоящее время к клиническому применению разрешен ряд препаратов, относящихся к новому классу лекарственных средств — сверхмалых доз антител (СМД АТ) [8,9]. Целью настоящего исследования было изучение общетоксического действия (острая, хроническая токсичность и местнораздражающее действие) 6 препаратов СМД АТ.

### МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проведены в соответствии с методическими указаниями по изучению общетоксического действия фармакологических веществ [6].

Испытуемые лекарственные средства: анаферон (СМД АТ к ИФН- $\gamma$  в разведениях С12+С30+С200), артрофоон (СМД АТ к ФНО- $\alpha$  в разведениях С12+С30+С200), афала (СМД АТ к простатоспецифическому антигену в разведениях С12+С30+С200), импаза (СМД АТ к NO-синтазе в разведениях С12+С30+С200), поэтам (СМД АТ к эритропоэтину в разведениях С12+С30+С200) и пропротен-100 (СМД АТ к белку S-100 в разведениях С1000) представляют собой бесцветную жидкость — гомеопатические разведения аффинноочищенных антител к соответствующим эндогенным регуляторам в растворе (эквивалентная концентрация  $10^{-24}$  массовых долей).

Эксперименты поставлены на половозрелых белых нелинейных крысах и мышах разведения лаборатории экспериментального биомоделиро-

вания НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН, а также на кроликах породы шиншилла разведения питомника “Рассвет” (г. Томск). Содержание их осуществлялось в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных (Страсбург, 1986).

Острую токсичность испытуемых препаратов определяли при однократном (артрофоон, пропротен-100) или двукратном через 3 ч (анаферон, афала, импаза, поэтам) введении препаратов в максимально допустимом объеме в зависимости от пути введения [6]: мышам — внутрижелудочно в дозе 25 мл/кг и внутрибрюшинно в дозе 50 мл/кг; крысам — внутрижелудочно в дозе 15 мл/кг и внутрибрюшинно в дозе 25 мл/кг.

При исследовании хронической токсичности препараты СМД АТ вводили крысам в дозах 7.5 и 15.0 мл/кг (первая доза близка к эффективной, вторая — соответствует максимально допустимому объему для внутрижелудочного введения) 7 раз в неделю. В контрольной группе вводили дистиллированную воду в объеме 15 мл/кг. Кролики получали лекарственные препараты в дозе суточной нормы питья — 50 мл/кг ежедневно (воду этим животным не давали) в течение 6 мес. В каждую группу входило 10 животных (5 самцов и 5 самок).

О токсичности испытуемых средств судили по общему состоянию, динамике общей массы, температуре тела, данным исследования показа-

телей периферической крови, костного мозга, функции печени, почек, ЦНС, сердца (ЭКГ), а также по результатам морфологического исследования внутренних органов и их массы (головной мозг, сердце, легкие, печень, тимус, селезенка, почки, желудочно-кишечный тракт, надпочечники, половые железы, поджелудочная и щитовидная железа, гипофиз) [2-5,10]. Исследования крыс проводили через 3 и 6 мес введения препаратов и через 2 нед после их отмены. Крыс забивали путем декапитации под эфирным наркозом. У кроликов через 3 и 6 мес введения забивали кровь из краевой вены уха для определения параметров общего анализа крови и биохимических показателей. Через 6 мес производили эвтаназию кроликов (внутривенное введение насыщенного раствора КСl, 1 мл/кг). После остановки сердца животных вскрывали, производили забор мочи для биохимического исследования и внутренних органов для их макро- и микроскопического изучения.

Полученные при исследовании цифровые данные обрабатывали с применением *t* критерия Стьюдента и критерия Манна—Уитни [1].

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Однократное введение испытуемых средств в максимально возможных доз не вызывало летальности животных, что не позволило установить параметры острой токсичности препаратов. В связи с этим за ЛД<sub>50</sub> можно условно принять величину большую введенных максимально допустимых доз препаратов соответственно пути

введения, что дает основание отнести изученные лекарственные средства согласно ГОСТ 12.1.007-76 к 4-му классу (малоопасные вещества) [7].

При исследовании хронической токсичности выявлено, что введение испытуемых препаратов ежедневно в дозах 7.5 и 15.0 мл/кг внутрижелудочно крысам и при потреблении этих препаратов кроликами в дозе 50 мл/кг в течение 6 мес не вызывало гибели животных; не наблюдалось изменения поведения, аппетита, выделений, состояния слизистых, шерсти, кожи и др. Не выявлено патологических изменений изученных показателей, характеризующих функции основных внутренних органов и систем (температура и масса тела, состояние периферической крови, костного мозга, печени, почек, ЭКГ, ЦНС). Патоморфологическое (макро- и микроскопическое) исследование крыс и кроликов через 6 мес введения препаратов и крыс не менее чем через 2 нед после отмены курса не выявило патологических изменений основных внутренних органов. Гистологическое исследование места введения препаратов показало, что они не обладают местнораздражающим действием на слизистую оболочку желудка.

Вместе с тем следует отметить ряд изменений, вызываемых некоторыми испытуемыми препаратами при длительном введении в большой дозе. Так, через 6 мес введения анаферона у крыс выявлено умеренное обратимое снижение в костном мозге средних величин содержания незрелых и зрелых нейтрофильных гранулоцитов. Выявленный факт не является специфическим токсическим проявлением действия

**Таблица 1.** Масса тела крыс (г, числитель) и прирост массы (% , знаменатель) в течение введения афалы ( $M \pm m$ )

Срок исследования	Контроль		Доза, мл/кг			
			7.5		15.0	
	самцы	самки	самцы	самки	самцы	самки
До введения	281±5	228±6	273±7	227±5	268±6	230±3
3 мес	448±14	359±11	460±12	334±9	454±22	325±5
	61±4	57±5	73±5	48±3	72±6	42±2*
4 мес	482±20	367±14	502±14	354±9	484±19	334±9
	73±6	61±5	89±6	57±3	85±6	46±3**
5 мес	498±18	376±13	519±14	357±10	500±21	345±7
	79±5	65±6	95±7	59±4	91±7	51±2*
6 мес	517±14	386±16	533±14	363±10	508±19	346±7
	83±5	69±6	101±6*	61±3	94±6	52±2**
Через 2 нед после курса	521±20	414±22	533±24	370±16	537±17	338±5
	87±3	86±8	105±10	61±5*	112±7*	53±2*

**Примечание.** Здесь и в табл. 2, 3:  $p < 0.05$  по сравнению с \*контролем, \*\*самками опытных групп.

**Таблица 2.** Масса тела крыс (г, числитель) и прирост массы (% , знаменатель) в течение введения импазы ( $M \pm m$ )

Срок исследования	Контроль		Доза, мл/кг			
			7.5		15.0	
	самцы	самки	самцы	самки	самцы	самки
До введения	190.9±6.1	197.3±9.1	200.0±8.0	202.7±4.9	198.0±6.9	200.7±5.3
3 мес	439.1±11.5	310.9±9.8	444.7±13.1	325.8±5.3	445.0±6.4	322.7±7.8
	131.7±8.1	59.4±5.6	124.7±6.3	61.1±3.5	129.7±8.3	61.1±2.2
4 мес	453.8±8.7	312.5±15.1	475.5±18.6	320.0±5.4	473.3±5.8	348.2±9.3*
	135.4±8.0	55.2±5.4	137.3±7.9	58.4±4.7	154.2±11.4	71.0±3.2*
5 мес	456.3±19.5	326.3±17.0	507.3±18.1	328.8±5.2	498.9±7.9	364.6±11.7
	135.5±8.9	61.6±4.7	153.1±7.5	62.7±4.7	168.2±13.0*	78.9±4.3*
6 мес	506.7±6.7	335.0±20.2	538.0±17.4	347.5±8.5	525.0±9.6	382.0±17.2
	148.6±14.9	77.8±9.4	164.8±15.8	64.1±5.4	192.9±11.1*	92.7±7.6
Через 2 нед после курса	490.0±5.8	335.0±20.2	528.0±13.9	337.5±2.5	517.5±6.3*	374.0±22.1
	140.0±14.6	77.8±9.4	160.2±15.8	59.6±6.1	188.7±10.1*	87.9±5.9

**Таблица 3.** Содержание эозинофилов (г/л) в периферической крови крыс через 6 мес введения поэтама и через 2 нед после его отмены ( $M \pm m$ )

Срок исследования	Контроль		Доза, мл/кг			
			7.5		15.0	
	самцы	самки	самцы	самки	самцы	самки
6 мес	0.87±0.24	0.43±0.09	0.24±0.09*	0.27±0.06	0.36±0.12*	0.18±0.05*
Через 2 нед после курса	0.59±0.14	0.44±0.11	0.24±0.09*	0.19±0.03*	0.39±0.13	0.10±0.09*

препарата, т.к. число лейкоцитов в периферической крови не изменялось.

В течение 6 мес введения афалы у крыс-самок выявлено дозозависимое снижение процента прироста общей массы в конце эксперимента (табл. 1).

Импаза при длительном введении в максимальном допустимом объеме крысам (самцам и самкам) вызывала анаболический эффект (табл. 2).

Следует обратить внимание на снижение числа эозинофилов (табл. 3) у крыс после длительного введения поэтама, не выходящее, однако, за пределы нормы.

Таким образом, доклиническое изучение токсических свойств лекарственных препаратов СМД АТ к эндогенным регуляторам функций показало, что они являются относительно безвредными, хорошо переносятся животными в дозах, значительно (более чем в 1000 раз) превышающих терапевтическую дозу для человека, не оказывают общетоксического действия. Выявленные единичные нарушения после длительного введения некоторых препаратов в МПД не являются противопоказанием к их клиническому применению.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Беленький М.Л.* Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Л., 1963.
2. *Берхин Е.Б., Иванов Ю.И.* Методы экспериментального исследования почек и водно-солевого обмена. Барнаул, 1972.
3. *Гольдберг Д.И., Гольдберг Е.Д., Шубин Н.Г.* Гематология животных. Томск, 1973.
4. *Колб В.Г., Камышиников В.С.* Клиническая биохимия. Минск, 1982.
5. *Показатели нормы у лабораторных животных в токсикологическом эксперименте* / Под ред. И.М.Трахтенберг и др. М., 1978.
6. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ* / Под ред. Р.У.Хабриева. М., 2005.
7. *Уланова И.П., Авилова Г.Г., Тутарикова В.А.* Методы определения токсичности и опасности химических веществ. М., 1970.
8. *Эштейн О.И.* Нейрофизиологические механизмы фармакологических эффектов потенцированных ("гомеопатизированных") антител к мозгоспецифическому белку S-100. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Томск, 1999.
9. *Эштейн О.И., Штарк М.Б., Дыгай А.М. и др.* Фармакология сверхмалых доз антител к эндогенным регуляторам функций. М., 2005.
10. *Brady J.K., Nauta W.J.H.* // J. Comp. Physiol. 1953. Vol. 46, N 3. P. 339-340.

**БЮЛЛЕТЕНЬ  
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ  
БИОЛОГИИ  
И МЕДИЦИНЫ**

**8**

---

**ПРИЛОЖЕНИЕ**

---

**2009**