

Исследование алергизирующих свойств и иммуно-токсичности готовой лекарственной формы дипептидного миметика мозгового нейротрофического фактора ГСБ-106

Коваленко Л. П., Коржова К. В., Журиков Р. В., Никитин С. В., Дурнев А. Д.

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Аннотация. Проведено исследование алергизирующих свойств и иммунотоксического действия готовой лекарственной формы препарата ГСБ-106. Исследование алергизирующих свойств и иммунотоксического действия ГСБ-106 выполнено на самцах морских свинок альбиносов массой 250–300 г и на самцах мышей линий СВА, С57BL/6, гибридах F1 (СВАхС57BL/6). При оценке иммунотоксичности ГСБ-106 вводили мышам перорально 14 дней в дозах 2,2 мг/кг и 22 мг/кг, при изучении алергенности ГСБ-106 морским свинкам альбиносам вводили препарат в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг, согласно стандартным схемам иммунизации. Результаты проведенного исследования иммунотоксичности и алергенности ГСБ-106 позволяют заключить, что введение готовой лекарственной формы препарата ГСБ-106 в диапазоне изученных доз не оказывает иммунотоксического действия и не обладает алергизирующими свойствами.

Ключевые слова: готовая лекарственная форма ГСБ-106; фагоцитоз; хемилюминесценция; гуморальный иммунный ответ; клеточный иммунный ответ; иммунотоксичность; реакция системной анафилаксии; гиперчувствительность замедленного типа; реакция воспаления на Кон А

Для цитирования:

Коваленко Л.П., Коржова К.В., Журиков Р.В., Никитин С.В., Дурнев А.Д. Исследование алергизирующих свойств и иммунотоксичности готовой лекарственной формы дипептидного миметика мозгового нейротрофического фактора ГСБ-106 // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. – 2020. – № 1. – С. 30–33. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-1-30-33

Evaluation of allergenic properties and immunotoxicity of dipeptide mimetic of brain-derived neurotrophic factor GSB-106

Kovalenko LP, Korzhova KV, Zhurikov RV, Nikitin CB, Durnev AD

FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow

Abstract. The study of allergenic properties and immunotoxic effects of the ready-to-use drug form of GSB-106 was carried out. The study of allergenic properties and immunotoxicity of GSB-106 was performed on male albino guinea pigs weighing 250–300 g and on male CBA, C57BL / 6, F1 hybrids (CBAxС57BL / 6) mice. When assessing immunotoxicity, GSB-106 was injected to mice per os for 14 days in doses of 2.2 mg / kg and 22 mg / kg. When studying the allergenicity, GSB-106 was injected to albino guinea pigs in doses of 1 mg / kg and 10 mg / kg according to standard regimens of immunization. The results of the study of the immunotoxicity and allergenicity of GSB-106 allow us to conclude that the injection of the ready-to-use drug form of GSB-106 in the range of studied doses does not have an immunotoxic effect and does not have allergenic properties.

Keywords: dipeptide mimetic of brain-derived neurotrophic factor GSB-106; phagocytosis; chemiluminescence; humoral immune response; cellular immune response; immunotoxicity; systemic anaphylaxis; delayed hypersensitivity; concanavalin A-induced inflammation

For citations:

Kovalenko LP, Korzhova KV, Zhurikov RV, Nikitin CB, Durnev AD. Evaluation of allergenic properties and immunotoxicity of dipeptide mimetic of brain-derived neurotrophic factor GSB-106. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2020;(1):30–33. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-1-30-33

Введение

В ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» синтезирован димерный дипептидный миметик 4-й петли BDNF ГСБ-106 (гексаметилен-диамид бис(моносукцинил-серил-лизина). ГСБ-106 обладает нейротрофической активностью и создан для лечения нейродегенеративных и психических заболеваний, включая депрессию, биполярные расстройства и шизофрению [1].

Целью данной работы являлось изучение алергизирующих свойств и иммунотоксического действия готовой лекарственной формы ГСБ-106.

Материалы и методы

Исследование алергизирующих свойств и иммунотоксического действия готовой лекарственной формы ГСБ-106 выполнено на сертифицированных лабораторных животных, 180 самцах мышей линий СВА, С57BL/6, гибридах F₁(СВАхС57BL/6) массой 18–20 г, 80 самцах морских свинок альбиносов массой 250–300 г, клинически здоровых особях, полученных из питомников «Столбовая» и «Андреевка».

При оценке иммунотоксичности ГСБ-106 мышам опытных групп 14 дней перорально вводили лекарственную форму препарата в дозах 2,2 мг/кг и 22 мг/кг (активного вещества), при изучении алергенности

ГСБ-106 морским свинкам альбиносам вводили препарат в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг, согласно стандартным схемам иммунизации. При изучении иммунотоксичности в качестве контроля мышам контрольных групп вводили дистиллированную воду, при изучении аллергенности – воду для инъекций. Каждая группа включала 10 животных.

При изучении иммунотоксичности ГСБ-106 использовали следующие методы:

- определение массы и клеточности органов иммунной системы мышей-гибридов F_1 (СВАхС57ВL/6);
- оценка фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов мышей-гибридов F_1 (СВАхС57ВL/6);
- оценка активности нейтрофилов в тесте хемилюминесценции на мышах-гибридах F_1 (СВАхС57ВL/6);
- постановка реакции гиперчувствительности замедленного типа на мышах-гибридах F_1 (СВАхС57ВL/6);
- постановка реакции гемагглютинации на мышах линии СВА и линии С57ВL/6 [3, 4].

При оценке аллергенности ГСБ-106 проводили постановку реакции общей системной анафилаксии и активной кожной анафилаксии на морских свинках альбиносах; при изучении реакции гиперчувствительности замедленного типа морских свинок альбиносов иммунизировали ГСБ-106 в смеси с полным адьювантом Фрейнда. Наличие псевдоаллергических реакций на готовую лекарственную форму ГСБ-106 изучали в реакции воспаления на неиммунологический активатор конканавалин А (Кон А) на мышах линии СВА [2]. Для всех показателей иммунотоксикологических исследований с нормальным распределением проводили межгрупповые сравнения по непарному t -критерию Стьюдента. Для множественных сравнений показателей с распределением, отличающимся от нормального, применяли непараметрический критерий Манна–Уитни, различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При оценке иммунотоксичности ГСБ-106 выявлено, что 14-дневное пероральное введение в дозе 2,2 мг/кг мышам-гибридам F_1 (СВАхС57ВL/6) не оказывало значимого влияния на массу тимуса, селезёнки и подколленных лимфатических узлов. Введение ГСБ-106 в дозе 22 мг/кг значимо ($p < 0,05$) увеличивало индекс массы селезёнки в 1,8 раза по сравнению с контрольными особями, получавшими дистиллированную воду, и не влияло на индекс массы тимуса и подколленных лимфатических узлов.

Курсовое введение ГСБ-106 в дозе 2,2 мг/кг значимо ($p < 0,05$) увеличивало фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов в 1,6 раза по сравнению с контрольной группой, получавшей дистиллированную воду (табл. 1). 14-дневное введение ГСБ-106 в дозе 2,2 мг/кг не приводило к значимому изменению по-

Таблица 1

Влияние препарата ГСБ-106 на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов при пероральном введении в течение 14 дней

Группы, $n = 10$	ФИ (усл. ед.)
Контроль	$3,0 \pm 0,3$
ГСБ-106, 2,2 мг/кг	$4,8 \pm 0,3^{**}$
ГСБ-106, 22 мг/кг	$3,8 \pm 0,1$

Примечание: n – число животных; $**$ – $p < 0,01$ – достоверность различий по сравнению с контрольной группой по непарному t -критерию Стьюдента.

казателей хемилюминесцентного ответа нейтрофилов на опсонизированный зимозан. Введение ГСБ-106 в дозе 22 мг/кг значимо ($p < 0,05$) увеличивало уровень активированной зимозаном хемилюминесценции в 8,2 раза и значимо в 6,6 раза ($p < 0,01$) увеличивало интегральный показатель хемилюминесценции S по сравнению с контрольной группой (табл. 2).

Таблица 2

Влияние препарата ГСБ-106 на показатели хемилюминесцентного ответа нейтрофилов на зимозан при пероральном введении в течение 14 дней

Группы, $n = 10$	ΔI , (mv)	S , (ед.) / 10^4	t_{max}
Контроль	20 (12÷35)	2,9 (2,3÷4,6)	$949,1 \pm 96,9$
ГСБ-106, 2,2 мг/кг	56 (24÷72)	3,4 (3,0÷4,2)	$925,5 \pm 102,0$
ГСБ-106, 22 мг/кг	163,5* (48÷320)	19,0** (6,7÷36,8)	$1031,3 \pm 45,2$

Примечание: n – число животных; ΔI – показатель уровня активированной хемилюминесценции; S – интегральный показатель хемилюминесценции; t_{max} – время достижения максимальной интенсивности ХЛ после добавления стимула. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ – достоверность различий по сравнению с контрольной группой.

Введение препарата ГСБ-106 перорально 14 дней в дозе 22 мг/кг мышам линии СВА значимо увеличивало антителообразование по сравнению с данными контрольной группы животных. Двухнедельное пероральное введение ГСБ-106 в дозах 2,2 мг/кг и 22 мг/кг мышам гибридам F_1 (СВАхС57ВL/6) в течение 14 дней не вызывало значимой стимуляции клеточного иммунитета по сравнению с контрольной группой.

Результаты проведённого исследования иммунотоксичности ГСБ-106 позволяют заключить, что введение лекарственной формы препарата ГСБ-106 в диапазоне изученных доз не оказывает иммунотоксического действия.

При оценке аллергенности введение ГСБ-106 по стандартной схеме иммунизации в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг (активного вещества) не вызывало у морских свинок альбиносов системной реакции анафилаксии и реакции активной кожной анафилаксии. После иммунизации морских свинок препаратом ГСБ-106 в

дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг в смеси с полным адъювантом Фрейнда (ПАФ) на 21-й день опыта у всех животных опытных групп при внутрикожном введении разрешающей дозы препарата не выявлено аллергических реакций замедленного типа. Однократное пероральное введение ГСБ-106 в доза 2,2 мг/кг и 22 мг/кг мышам линии СВА не вызывало значимого уменьшения реакции воспаления на Кон А по сравнению с данными контрольной группы.

Заключение

Результаты проведенного комплексного исследования позволяют заключить, что готовая лекарственная

форма дипептидного миметика мозгового нейротрофического фактора ГСБ-106 в диапазоне изученных доз не оказывает иммунотоксического действия, не вызывает системной реакции анафилаксии, активной кожной анафилаксии, гиперчувствительности замедленного типа и псевдоаллергических реакций.

Проведенное исследование не установило данных, препятствующих клиническому испытанию готовой лекарственной формы ГСБ-106.

Исследование выполнено в рамках Федеральной целевой программы "Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу".

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Коваленко Лариса Петровна
Автор, ответственный за переписку
e-mail: kovalenko.larisa@mail.ru
ORCID ID: 0000-0002-2083-0832
SPIN-код: 5185-4250
д. б. н., в. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Kovalenko Larisa
Corresponding author
e-mail: kovalenko.larisa@mail.ru
ORCID ID: 0000-0002-2083-0832
SPIN code: 5185-4250
D. Sci. in Biology, Leading Researcher of drug toxicology department FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Коржова Ксения Витальевна
ORCID ID: 0000-0002-8087-4976
SPIN-код: 3831-3782
м. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Korzhova Ksenia
ORCID ID: 0000-0002-8087-4976
SPIN code: 3831-3782
Junior researcher of laboratory of drug toxicology FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Журиков Руслан Валерьевич
ORCID ID: 0000-0003-1084-690X
SPIN-код: 6648-1794
м. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Zhurikov Ruslan
ORCID ID: 0000-0003-1084-690X
SPIN code: 6648-1794
Junior researcher of laboratory of drug toxicology FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Никитин Сергей Васильевич
ORCID ID: 0000-0001-7630-7816
к. х. н., с. н. с. отдела химии лекарственных средств ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Nikitin Sergei
ORCID ID: 0000-0001-7630-7816
PhD Chemistry, Senior research officer of the medicinal chemistry department FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Дурнев Андрей Дмитриевич
ORCID ID: 0000-0003-0218-8580
SPIN-код: 8426-0380
д. м. н., профессор, член-корр. РАН, зав. отдела лекарственной токсикологии, директор ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Durnev Andrei
ORCID ID: 0000-0003-0218-8580
SPIN code: 8426-0380
D. Sci. in Medicine, professor, corresponding member of the RAS, Head of the department of drug toxicology, Director FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Литература / References

1. Гудашева Т.А., Логвинов И.О., Антипова Т.А., Середенин С.Б. Доклады Академии наук. — 2013. — Т. 451. — № 5. — С. 577–580. [Gudasheva TA, Logvinov IO, Antipova TA, Seredenin SB. *Academy of Science Reports*, 2013;451(5):577–580. (In Russ).]
2. Коваленко Л.П., Федосеева В.Н., Дурнев А.Д. и др. Методические рекомендации по оценке аллергизирующих свойств лекарственных средств. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. — М.: Гриф и К; 2012, 1(2), 51–63. [Kovalenko LP, Fedoseeva VN, Durnev AD, et al. *Metodicheskie rekomendacii po otsenke allergiziruyushchih svoystv lekarstvennykh sredstv. Rukovodstvo po provedeniiu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Ch. I. Moscow: Grif i K; 2012, 1(2), 51–63. (In Russ).]*
3. Хаитов Р.М., Иванова А.С., Коваленко Л.П. и др. Методические рекомендации по оценке иммуотоксического действия фармакологических веществ. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. — М.: Гриф и К; 2012, 1(3), 64–79. (In Russ).]
4. Хаитов Р.М., Гущин И.С., Пинегин Б.В. и др. Методические рекомендации по доклиническому изучению иммуотропной активности фармакологических веществ «Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. — М.: Гриф и К; 2012, 1(38), 626–656. [Haitov RM, Gushchin IS, Pinegin BV, et al. *Metodicheskie rekomendacii po doklinicheskomu izucheniiu immunotropnoi aktivnosti farmakologicheskikh veshchestv. Rukovodstvo po provedeniiu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Ch. I. Moscow: Grif i K; 2012, 1(38), 626–656. (In Russ).]*