

УДК 615.03-615.099

ДОКЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ОБЩЕТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПРЕПАРАТА АДЕЛАКТ™ НА ГРЫЗУНАХ

Р.И. Якубовская¹, А.А. Панкратов¹, Т.Н. Андреева¹,
Ю.Б. Венедиктова¹, О.А. Безбородова¹,
И.Л. Тутыхина², Е.В. Евграфов², Д.Ю. Логунов²,
М.М. Шмаров²

¹ФГБУ «Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А.Герцена» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125284, г. Москва, Российская Федерация

²ФГБУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 123098, г. Москва, Российская Федерация

Препарат АдеЛакт™ представляет собой рекомбинантные псевдоаденовирусные частицы, экспрессирующие ген лактоферрина человека. Проведено изучение «острой» токсичности препарата на мышах и крысах и «субхронической» токсичности – на крысах и кроликах. Препарат АдеЛакт™ по степени опасности «острого» токсического действия классифицирован как «малоопасное лекарственное средство», а по степени опасности «хронического/субхронического» токсического действия – как «умеренно опасное лекарственное средство». Препарат АдеЛакт™ в токсических дозах оказывал умеренное гепато- и нефротропное действие. Возможно развитие воспалительного процесса в легких. Препарат АдеЛакт™ при внутривенном применении обладает слабовыраженным и полностью обратимым местнораздражающим действием.

Ключевые слова: препарат АдеЛакт™, ген лактоферрина человека, лактоферрин человека, аденовирус 5-го серотипа, общетоксические свойства, «острая» токсичность, «субхроническая» токсичность.

Введение. Лактоферрин человека - одноцепочечный металлсвязывающий гликопротеин, относящийся к семейству трансферринов, с молекулярной массой 78±2 kDa. Лактоферрин содержится во всех эпителиальных секретах человека и выполняет в организме защитную функцию. Он обладает антиоксидантными, детоксицирующими и противовоспалительными свойствами, проявляет иммуномодулирующее действие, широкий спектр антибактериальной, антивирусной и фунгицидной активности [1].

На основе природного Лф человека, выделенного из женского молока, разработан и

зарегистрирован препарат «Лапрот» (рег. № ЛС-002374) для лечения токсических состояний, обусловленных различными заболеваниями, в частности, гнойно-воспалительными, септическими и другими [2,3]. Однако при поступлении в кровоток в составе препарата лактоферрин быстро элиминируется из организма, и для поддержания терапевтически эффективной концентрации требуется его систематическое введение пациентам. Поэтому актуальной является разработка лекарственных средств на основе лактоферрина человека с пролонгированным терапевтическим действием.

Якубовская Раиса Ивановна (Yakubovskaya Raisa Ivanovna), доктор биологических наук, профессор, руководитель отделения модификаторов и протекторов ФГБУ «МНИОИ им. П.А.Герцена» Минздрава России, 125284, г. Москва, raisayakub@yandex.ru
Панкратов Андрей Александрович (Pankratov Andrey Alexandrovich), кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отделения модификаторов и протекторов ФГБУ «МНИОИ им. П.А.Герцена» Минздрава России, 125284, г. Москва, andreimnioi@yandex.ru
Андреева Татьяна Николаевна (Andreeva Tatyana Nikolaevna), младший научный сотрудник отделения модификаторов и протекторов ФГБУ «МНИОИ им. П.А.Герцена» Минздрава России, 125284, г. Москва, 7102929@mail.ru
Венедиктова Юлия Борисовна (Venediktova Julia Borisovna), младший научный сотрудник отделения модификаторов и протекторов ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздрава России, 125284, г. Москва, uluaz@yandex.ru
Безбородова Ольга Алексеевна (Bezborodova Olga Alexeevna), кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отделения модификаторов и протекторов ФГБУ «МНИОИ им. П.А.Герцена» Минздрава России, 125284, г. Москва, olgabezborodova@yandex.ru
Тутыхина Ирина Леонидовна (Tutykhina Irina Leonidovna), кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной биотехнологии ФГБУ «НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва, their@yandex.ru
Евграфов Евгений Валерьевич (Evgrafov Evgeniy Valer'evich), младший научный сотрудник лаборатории молекулярной биотехнологии ФГБУ «НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва, evgeniyevgrafov@yandex.ru
Логунов Денис Юрьевич (Logunov Denis Yur'evich), доктор биологических наук, заведующий лабораторией клеточной микробиологии ФГБУ «НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва, ldenisy@yahoo.com
Шмаров Максим Михайлович (Shmarov Maxim Mihailovich), доктор биологических наук, заведующий лабораторией молекулярной биотехнологии ФГБУ «НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва, mmshmarov@gmail.com

Пролонгация терапевтического действия лактоферрина может быть достигнута путем введения в организм не непосредственно белка, а вирусного вектора на основе аденовируса человека 5-го серотипа, в состав генома которого включен ген лактоферрина человека. Рекомбинантные псевдоаденовирусные частицы, экспрессирующие ген лактоферрина человека, были сконструированы в ФГБУ «НИИЭМ им. Н.Ф.Гамалеи» Минздрава РФ, на основе этой конструкции ООО «НТФарма» совместно с ФГБУ «МНИОИ им. П.А.Герцена» был разработан и изучен в доклинических исследованиях препарат АдеЛакт™ (раствор для внутривенного введения, представляет собой слегка опалесцирующую жидкость, содержащую рекомбинантные псевдоаденовирусные частицы размером 70-80 нм, в концентрации $2,3 \times 10^{11}$ в 1 мл, экспрессирующие ген лактоферрина человека). Препарат АдеЛакт™ для оценки общетоксических свойств был произведен ООО «ИММАФАРМА» [4-7].

У человека предполагаемый курс лечения будет состоять из однократного введения препарата в дозе, равной $4,3 \times 10^{11}$ частиц/м² (или $7,00 \times 10^{11}$ частиц на человека). Повторные курсы будут проводиться по показаниям не ранее чем через 4 недели.

Целью настоящего исследования являлось изучение общетоксических свойств препарата АдеЛакт™ для его последующего внедрения в клиническую практику.

Материалы и методы исследования. Исследования проведены на мышах-гибридах F1 (СВАхС57В1/6), самцах и самках, массой 18 - 21 г (n=72), неинбредных белых крысах самцах и самках, массой 208 - 220 г (n=117) и кроликах породы «Советская шиншилла» самцах, массой 2,4 - 2,6 кг (n=47). Мыши и крысы были получены из Научного центра биомедицинских технологий ФМБА России (филиал «Андреевка»), а кролики – из ООО «Кролинфо». Мыши, крысы и кролики содержались в отдельных комнатах клиники экспериментальных животных ФГБУ «МНИОИ им. П.А.Герцена» Минздрава России. Условия содержания и обращение с используемыми в эксперименте животными соответствовало Приказу МЗ РФ № 708н от 23 августа 2010г. «Об утверждении Правил лабораторной практики» и Директиве Совета ЕС от 24 ноября 1986 «О сближении законов, постановлений и административных положений государств ЕС по вопросам защиты животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (86/609/ЕЕС)».

При выборе доз препарата для токсикологических исследований исходили из доз препарата АдеЛакт™, которые были отобраны при изучении его фармакологических свойств на животных с тяжелой экзогенной интоксикацией, вызванной

введением токсических и смертельных доз высокотоксичных противоопухолевых препаратов. Установлено, что однократное внутривенное введение препарата АдеЛакт™ мышам и крысам в терапевтической дозе, равной $4,3 \times 10^{11}$ частиц/м², индуцировало у животных выработку целевого белка – лактоферрина человека, обладающего мощным детоксицирующим потенциалом: у животных наблюдали снижение смертности от летальных доз цитостатиков, а также уменьшение степени выраженности и длительности сохранения специфических симптомов интоксикации.

При изучении «острой» токсичности препарата АдеЛакт™ на грызунах (мышам и крысам; опытные и контрольные группы состояли из 6 животных) его терапевтическая доза (ТД), выраженная в количестве псевдоаденовирусных частиц на м² поверхности тела животного (дозы лекарственных средств, рассчитанные на площадь поверхности тела для различных видов животных и человека, являются эквивалентными по токсичности), равная $4,3 \times 10^{11}$ частиц/м², была увеличена в 10, 50, 100 и 200 раз. Превышение ТД в 10 - 200 раз достаточно для получения достоверной информации о токсикологической безопасности исследуемого лекарственного средства. Наблюдение за животными проводили в течение 30 суток. У животных регистрировали клинические признаки возможной интоксикации, гибель от токсичности, сроки гибели, изменение массы тела. Для оценки повреждающего действия препарата на внутренние органы и ткани каждое животное было подвергнуто аутопсии. При аутопсии детально исследовали внешнее состояние тела, полость черепа, грудную и брюшную полости с органами и тканями, шею с органами и тканями и скелетно-мышечную систему.

«Субхроническую» токсичность препарата изучали на крысах (опытные и контрольные группы состояли из 15 животных) и кроликах (опытные и контрольные группы состояли из 9 животных) при ежедневном в течение 5-и дней введении препарата АдеЛакт™ крысам в суммарных дозах, равных $43,0 \times 10^{11}$ и $430,0 \times 10^{11}$ частиц/м² (соответствующих 1/5МПД и 2МПД при однократном применении препарата; исследованные дозы превышали расчетную эквитерапевтическую дозу для человека в 10 и 100 раз), а кроликам - в суммарных дозах, равных $43,0 \times 10^{11}$ и $215,0 \times 10^{11}$ частиц/м² (превышали расчетную эквитерапевтическую дозу для человека в 10 и 50 раз).

Программа экспериментов включала интегральные, гематологические, биохимические, физиологические и патолого-анатомические исследования в соответствии с методическими рекомендациями по изучению общетоксического действия лекарственных средств [8].

Токсическое действие препарата на сердце

оценивали с использованием макро- и микроскопических (гистологических) методов исследования в сроки проведения плановой аутопсии животных.

Влияние на ЦНС оценивали по поведенческим реакциям животных. Оценивали рефлексы «позы», «походки», атаксию, реакции на тактильные, болевые, звуковые и световые раздражители. Состояние вегетативных эффектов оценивали по величине зрачка (миоз, мидриаз), наличию или отсутствию экзофтальма. Фиксировали все патологические изменения в поведении и клиническом состоянии животных.

Эвтаназию мышей и крыс проводили путем передозировки эфира для наркоза, а кроликов – путем внутривенного введения тиопентала натрия в количестве 200 мг на животное.

Статистический анализ проводили с использованием программы Statistica ver. 7.0. Для всех количественных данных вычисляли групповое среднее арифметическое (M) и стандартную ошибку среднего (m). Достоверность отличий между группами данных оценивали с применением t-критерия Стьюдента и U-критерия Манна Уитни, в зависимости от числа наблюдений и характера распределения величин параметров в группе. Различия считали достоверными при $P < 0.05$.

Результаты и обсуждение.

«Острая» токсичность препарата АдеЛакт[™]

Препарат АдеЛакт[™] при однократном внутривенном введении мышам (самцам и самкам) в дозах от $4,3 \times 10^{11}$ частиц/м² до 430×10^{11} частиц/м² был удовлетворительно перенесен животными. Гибель мышей от токсичности отсутствовала. При использовании препарата в дозе, равной 860×10^{11} частиц/м², была зафиксирована гибель мышей от токсического действия препарата, которая составила в группе мышей-самцов 33%, а в группе мышей-самок – 17% (табл.1).

При аутопсии макроскопические изменения во внутренних органах и тканях были выявлены только у погибших животных, которые получили препарат в максимальной дозе, равной 860×10^{11} частиц/м². У этих мышей наблюдали полнокровие печени и селезенки.

Крысы оказались более чувствительным видом животных к токсическому действию препарата АдеЛакт[™] чем мыши (табл. 1 и 2). Так, при однократном внутривенном введении препарата АдеЛакт[™] крысам (самцам и самкам) в дозах от $4,3 \times 10^{11}$ частиц/м² до $215,0 \times 10^{11}$ частиц/м² гибель животных от токсичности отсутствовала. У этих животных наблюдали внешние проявления интоксикации в виде адинамии или гиподинамии. В

Таблица 1

Гибель мышей от токсичности после однократного внутривенного введения препарата АдеЛакт[™] мышам («острая» токсичность)

Исследуемый препарат или контрольное вещество	Доза препарата частиц/м ²	Общее количество животных	Гибель животных от токсичности		
			всего погибло	%	сроки гибели, сутки
Самцы					
АдеЛакт [™]	$4,3 \times 10^{11}$	6	0	0	-
АдеЛакт [™]	$43,0 \times 10^{11}$	6	0	0	-
АдеЛакт [™]	$215,0 \times 10^{11}$	6	0	0	-
АдеЛакт [™]	$430,0 \times 10^{11}$	6	0	0	-
АдеЛакт [™]	$860,0 \times 10^{11}$	6	2	33	2 и 9
0,9% раствор NaCl	25 мл/кг	6	0	0	-
Самки					
АдеЛакт [™]	$4,3 \times 10^{11}$	6	0	0	-
АдеЛакт [™]	$43,0 \times 10^{11}$	6	0	0	-
АдеЛакт [™]	$215,0 \times 10^{11}$	6	0	0	-
АдеЛакт [™]	$430,0 \times 10^{11}$	6	0	0	-
АдеЛакт [™]	$860,0 \times 10^{11}$	6	1	17	13
0,9% раствор NaCl	25 мл/кг	6	0	0	-

течение 48 часов после введения препарата крысы были вялыми и слабо реагировали на внешние раздражители (звуковые, тактильные, болевые). При использовании препарата в дозах, равных $430,0 \times 10^{11}$ частиц/м² и $860,0 \times 10^{11}$ частиц/м², наблюдали гибель крыс от токсического действия препарата, которая колебалась (в зависимости от дозы и пола животных) от 17% до 50% (табл.2).

При вскрытии крыс, погибших в первые сутки после введения препарата АдеЛакт™ в летальных дозах, отмечали увеличенные в размере и плотные легкие (отечные) с точечными кровоизлияниями, увеличенную полнокровную селезенку, точечные кровоизлияния в почки и диффузное кровотечение в толстом отделе кишечника.

«Субхроническая» токсичность препарата АдеЛакт™

Многократное (ежедневно в течение 5-и дней) внутривенное введение препарата АдеЛакт™ крысам в суммарных дозах, равных $43,0 \times 10^{11}$ частиц/м² и $430,0 \times 10^{11}$ частиц/м² и кроликам – в суммарных дозах, равных $43,0 \times 10^{11}$ частиц/м² и $215,0 \times 10^{11}$ частиц/м², было удовлетворительно перенесено животными: гибель от токсичности отсутствовала.

Препарат АдеЛакт™ в исследованных дозах не вызывал изменений интегральных показате-

телей у крыс и кроликов (потребление пищи, воды, поведенческие реакции). При использовании препарата АдеЛакт™ у крыс в суммарной дозе $430,0 \times 10^{11}$ частиц/м² было зафиксировано два пика снижения массы тела – на 3 и 14 сутки после последнего введения препарата. У кроликов, при использовании препарата в суммарной дозе $430,0 \times 10^{11}$ частиц/м², достоверное снижение массы тела было отмечено в течение 10 суток после последнего введения препарата (табл. 3).

После многократного внутривенного применения препарата АдеЛакт™ крысам в суммарных дозах $43,0 \times 10^{11}$ частиц/м² и $430,0 \times 10^{11}$ частиц/м² и кроликам в суммарных дозах $43,0 \times 10^{11}$ частиц/м² и $215,0 \times 10^{11}$ частиц/м², по данным клинико-лабораторных и патологоанатомических (аутопсия с макроскопической оценкой состояния внутренних органов и тканей) исследований, у животных не выявлено существенных изменений, которые свидетельствовали бы о токсическом действии препарата на кровь, сердце, почки, органы ЖКТ и ЦНС. Препарат не оказывал негативного влияния на углеводный и липидный обмен у животных. При использовании препарата в максимально исследованной дозе у крыс отмечали транзиторное, умеренное нарушение барьерной функции печени, сопровождающееся увеличением уровня АЛТ в сыворотке крови

Таблица 2

Гибель крыс от токсичности после однократного внутривенного введения препарата АдеЛакт™ крысам («острая» токсичность)

Исследуемое ЛС или контрольное вещество	Доза препарата частиц/м ²	Общее количество животных	Гибель животных от токсичности		
			всего погибло	%	сроки гибели, сутки
Самцы					
АдеЛакт™	$4,3 \times 10^{11}$	6	0	0	-
АдеЛакт™	$43,0 \times 10^{11}$	6	0	0	-
АдеЛакт™	$215,0 \times 10^{11}$	6	0	0	-
АдеЛакт™	$430,0 \times 10^{11}$	6	2	33	1, 20
АдеЛакт™	$860,0 \times 10^{11}$	6	2	33	1
0,9% раствор NaCl	10 мл/кг	6	0	0	-
Самки					
АдеЛакт™	$4,3 \times 10^{11}$	6	0	0	-
АдеЛакт™	$43,0 \times 10^{11}$	6	0	0	-
АдеЛакт™	$215,0 \times 10^{11}$	6	0	0	-
АдеЛакт™	$430,0 \times 10^{11}$	6	1	17	1
АдеЛакт™	$860,0 \times 10^{11}$	6	3	50	1
0,9% раствор NaCl	10 мл/кг	6	0	0	-

в 2 раза, а у кроликов – транзиторное, умеренное нарушение белоксинтезирующей функции печени, сопровождающееся статистически достоверным снижением количества альбумина в сыворотке крови в 1,4 раза (табл. 4 и 5).

При гистологическом исследовании внутренних органов и тканей крыс после многократного применения препарата АдеЛакт™ в суммарной дозе, равной $43,0 \times 10^{11}$ частиц/м², у отдельных крыс отмечали неглубокие очаговые и полностью обратимые дистрофические изменения в печени, деструктивно-воспалительные изменения в почках и воспалительные изменения в легких. При увеличении суммарной дозы препарата до $430,0 \times 10^{11}$ частиц/м², у животных наблюдали неглубокие и очаговые дистрофические изменения в печени и деструктивные и/или воспалительные изменения в почках и сердце (миокарде) отдельных крыс. При использовании этой дозы препарата отмечено повышенное содержание в синусоидах печени лимфоцитов и клеток РЭС (клетки Купфера и эндотелиоциты). Выявленные морфологические изменения в сердце крыс были полностью обратимы, а в печени и почках – частично обратимы.

При гистологическом исследовании внутренних органов и тканей кроликов после многократного применения препарата АдеЛакт™ в суммарной дозе, равной $43,0 \times 10^{11}$ частиц/м², у отдельных кроликов наблюдали изменения в тимусе (высокое содержание лимфоцитов), селезенке (слияние крупных лимфатических фолликулов, что, по-видимому, связано с повышенной пролиферацией лимфоцитов), щитовидной железе (по-

вышенное содержание интрафолликулярной ткани), печени (умеренные дистрофические изменения гепатоцитов), сердце и почках (умеренные воспалительные или дистрофические изменения). Выявленные патологические изменения в щитовидной железе, тимусе, сердце и почках кроликов были полностью обратимы (срок обратимости – 30 суток). Морфологические изменения в ткани печени и селезенке были не полностью обратимы: к 30 суткам наблюдения они имели тенденцию к обратимости и носили умеренно выраженный характер. При использовании препарата в суммарной дозе, равной $215,0 \times 10^{11}$ частиц/м², у отдельных животных наблюдали морфологические особенности или изменения в легких (следы бронхоолита), печени (дистрофические изменения некоторых гепатоцитов, повышенное содержание лейкоцитов в синусоидах), тимусе (повышенное содержание лимфоцитов), селезенке (слияние крупных лимфатических фолликулов), щитовидной железе (повышенное содержание интрафолликулярной ткани), сердце и почках (воспалительные или дистрофические изменения). Выявленные изменения в щитовидной железе, сердце и легких были полностью обратимы (период обратимости – 30 суток), а в тимусе, печени, селезенке и почках – сохранялись.

На крысах суммарная доза препарата АдеЛакт™ при его многократном внутривенном применении, равная $43,0 \times 10^{11}$ частиц/м², превышающая расчетную эквитерапевтическую дозу для человека в 10 раз, охарактеризована как низкая токсическая доза (НТД), а доза препарата, равная

Таблица 3

Гибель от токсичности и изменение массы крыс и кроликов после 5-кратного внутривенного введения препарата АдеЛакт™ («субхроническая» токсичность)

Доза препарата АдеЛакт™, частиц/м ²		Гибель от токсичности, %	Масса тела животных, сутки после последнего введения препарата						
разовая	суммарная		фон	3	7	10	14	21	30
КРЫСЫ									
$8,6 \times 10^{11}$	$43,0 \times 10^{11}$	0	214±2	246±6	226±15	265±10	264±12	274±19	260±31
$86,0 \times 10^{11}$	$430,0 \times 10^{11}$	0	215±2	219±12*	251±5	252±18	226±23*	271±26	265,4±34
Контроль; изотонический (0,9%) раствор хлористого натрия									
5 мл/кг	25 мл/кг	0	213±2	234±8	243±7	266±9	273±11	299±15	311±17
КРОЛИКИ									
$8,6 \times 10^{11}$	$43,0 \times 10^{11}$	0	2553±34	2595±37	2638±31	2715±9	2770±62	2807±49	2932±68
$43,0 \times 10^{11}$	$215,0 \times 10^{11}$	0	2473±37	2318±45*	2323±79*	2467±92*	2540±11	2703±50	2960±45
Контроль; изотонический (0,9%) раствор хлористого натрия									
5 мл/кг	25 мл/кг	0	2600±115	2640±106	2697±91	2733±69	2770±70	2837±59	3013±109

* - отличия между опытной и контрольной группой статистически достоверны при $p < 0.05$.

430,0x10¹¹ частиц/м², превышающая расчетную эквитерапевтическую дозу для человека в 100 раз – как высокая токсическая доза (ВТД, соответствует МПД:). На кроликах суммарная доза препарата АдеЛакт™ при его многократном внутривенном введении, равная 43,0x10¹¹ частиц/м², превышающая расчетную эквитерапевтическую дозу для человека в 10 раз, охарактеризована как умеренно токсическая доза (УТД), а доза препарата, равная 215,0x10¹¹ частиц/м², пре-

вышающая расчетную эквитерапевтическую дозу для человека в 50 раз – как ВТД.

При сопоставлении данных, полученных при изучении «субхронической» и «острой» токсичности на крысах, рассчитан индекс кумуляции препарата АдеЛакт™ (Ik, [9]) при его внутривенном введении, который составил величину, равную -12,5%, что свидетельствует об отсутствии кумулятивных свойств у препарата и обратимости его токсических эффектов.

Таблица 4

Биохимические показатели сыворотки крови крыс после 5-кратного внутривенного введения препарата АдеЛакт™

Доза разовая/суммарная, частиц/м ²	Орган	Сутки после введения препарата		
		3	14	30
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	АЛТ (Е/л)	68,0±9,8	46,4±6,4	88,8±10,5
86,0x10 ¹¹ /430,0x10 ¹¹		108,6±13,1*	46,6±5,7	75,6±19,0
0,9% раствор NaCl		51,4±9,0	33,0±5,9	67,4±5,8
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	АСТ (Е/л)	188,0±21,3	143,0±8,0	165,4±11,9
86,0x10 ¹¹ /430,0x10 ¹¹		161,6±16,8	135,2±9,9	184,0±21,1
0,9% раствор NaCl		159,2±21,1	143,6±7,3	155,4±13,0
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	ЩФ (Е/л)	304,8±29,4	363,2±33,6	259,4±42,1
86,0x10 ¹¹ /430,0x10 ¹¹		361,4±27,0	300,8±27,7	226,2±82,7
0,9% раствор NaCl		311,0±9,4	316,0±11,6	287,0±18,9
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	Билирубин Общий (мкмоль/л)	5,3±1,2	4,0±0,9	2,9±0,4
86,0x10 ¹¹ /430,0x10 ¹¹		4,3±1,0	3,4±0,4	3,2±0,6
0,9% раствор NaCl		5,3±0,9	3,2±0,3	4,3±0,8
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	Мочевина (ммоль/л)	7,7±0,3	7,6±0,8	8,1±0,5
86,0x10 ¹¹ /430,0x10 ¹¹		8,3±0,5	7,7±0,6	8,1±0,5
0,9% раствор NaCl		7,4±0,3	7,0±0,9	7,7±0,5
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	Креатинин (мкмоль/л)	73,2±6,8	55,0±3,5	75,8±9,2
86,0x10 ¹¹ /430,0x10 ¹¹		86,6±17,6	71,4±6,4	68,0±7,6
0,9% раствор NaCl		69,4±7,4	62,8±3,3	89,8±8,1
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	Общий белок (г/л)	81,8±12,7	63,6±3,1	82,2±8,7
86,0x10 ¹¹ /430,0x10 ¹¹		77,8±6,7	62,8±6,8	84,8±6,4
0,9% раствор NaCl		77,6±6,3	78,6±9,8	76,4±8,6
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	Альбумин (г/л)	48,0±2,9	32,0±2,6	38,8±6,2
86,0x10 ¹¹ /430,0x10 ¹¹		42,0±3,7	31,4±3,2	36,2±2,4
0,9% раствор NaCl		44,4±5,8	41,0±3,8	38,6±2,7
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	Глюкоза (ммоль/л)	8,0±0,4	3,9±0,3	5,5±0,8
86,0x10 ¹¹ /430,0x10 ¹¹		7,5±0,5	4,9±0,7	5,7±0,2
0,9% раствор NaCl		6,9±0,2	5,8±0,6	6,1±0,7
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	Холестерин (ммоль/л)	2,5±0,4	1,6±0,2	1,8±0,4
86,0x10 ¹¹ /430,0x10 ¹¹		2,6±0,2	1,6±0,2	1,6±0,2
0,9% раствор NaCl		1,8±0,1	1,5±0,2	1,7±0,3

* - отличия между опытной и контрольной группой статистически достоверны при p<0.05.

Биохимические показатели сыворотки крови кроликов после 5-кратного внутривенного введения препарата АдеЛакт™

Доза разовая/суммарная, частиц/мл	Орган	Сутки после введения препарата			
		фон	3	14	30
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	АЛТ (Е/л)	53,3±6,2	42,3±7,5	52,3±4,3	52,3±8,0
43,0x10 ¹¹ /215,0x10 ¹¹		51,7±12,2	72,0±20,0	44,7±5,8	48,7±6,6
0,9% раствор NaCl		61,7±15,4	55,0±16,4	68,7±9,0	51,0±7,1
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	АСТ (Е/л)	35,0±4,6	32,3±6,8	68,3±7,5	42,3±1,3
43,0x10 ¹¹ /215,0x10 ¹¹		37,0±9,3	60,0±12,3	68,3±13,8	36,0±5,5
0,9% раствор NaCl		48,6±4,5	48,7±9,7	63,7±15,3	42,7±4,5
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	ЩФ (Е/л)	165,3±20,5	224,0±30,6	137,7±33,8	205,7±52,3
43,0x10 ¹¹ /215,0x10 ¹¹		175,0±10,4	153,3±52,0	154,3±39,3	158,3±26,0
0,9% раствор NaCl		141,7±20,5	151,0±17,5	139,3±10,3	161,7±34,8
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	Билирубин Общий (мкмоль/л)	3,5±0,5	3,8±0,6	3,3±0,3	3,6±0,8
43,0x10 ¹¹ /215,0x10 ¹¹		4,3±0,7	4,6±0,9	3,6±0,3	3,6±0,3
0,9% раствор NaCl		4,0±0,7	3,7±0,6	4,4±0,3	4,3±0,6
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	Мочевина (ммоль/л)	4,8±0,3	5,5±1,1	6,9±1,3	6,2±0,8
43,0x10 ¹¹ /215,0x10 ¹¹		5,0±0,6	3,9±0,4	6,1±0,6	5,4±0,2
0,9% раствор NaCl		5,9±0,7	4,7±0,1	6,1±1,2	7,3±1,0
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	Креатинин (мкмоль/л)	150,0±8,5	147,7±14,7	177,0±16,0	177,3±14,7
43,0x10 ¹¹ /215,0x10 ¹¹		137,3±3,8	137,7±15,4	177,0±24,4	186,7±17,7
0,9% раствор NaCl		137,3±10,7	130,7±16,7	145,0±9,2	148,7±7,5
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	Общий белок (г/л)	74,7±5,9	82,7±4,6	66,7±4,7	60,0±1,2
43,0x10 ¹¹ /215,0x10 ¹¹		60,7±3,3	43,7±3,8	63,7±2,7	93,7±11,3
0,9% раствор NaCl		65,3±11,9	72,7±22,2	65,3±4,4	92,7±4,7
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	Альбумин (г/л)	49,7±4,1	45,7±2,4	44,7±2,7	35,3±2,3
43,0x10 ¹¹ /215,0x10 ¹¹		35,7±2,7	24,3±4,8*	51,0±5,1	51,0±4,4
0,9% раствор NaCl		42,3±10,3	35,0±1,7	45,0±3,6	47,3±2,0
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	Глюкоза (ммоль/л)	4,9±0,2	6,7±0,5	7,7±0,3*	3,4±0,1
43,0x10 ¹¹ /215,0x10 ¹¹		4,6±0,8	5,0±0,7	7,5±0,4*	4,5±0,6
0,9% раствор NaCl		4,1±0,6	4,5±0,5	4,7±0,3	4,2±0,2
8,6x10 ¹¹ /43,0x10 ¹¹	Холестерин (ммоль/л)	2,0±0,3	2,5±0,6	1,6±0,3	2,1±0,4
43,0x10 ¹¹ /215,0x10 ¹¹		1,8±0,3	2,0±0,8	2,0±0,2	2,0±0,3
0,9% раствор NaCl		2,0±0,2	2,1±0,2	1,8±0,3	1,5±0,2

* - отличия между опытной и контрольной группой статистически достоверны при p<0.05.

При изучении местнораздражающего действия препарата АдеЛакт™, на 3 сутки после его однократного внутривенного введения в концентрации 2,3x10¹¹ частиц в мл вены у всех кроликов (n = 5) были расширены с небольшим содержанием крови. У всех животных отмечено некоторое выбухание кожи над сосудом. При гистологическом исследовании у 4-х кроликов патологических изменений стенки вены и окружающих тка-

ней не обнаружено. У одного кролика отмечен небольшой отек - выход плазмы в стенку вены и окружающую подкожную ткань.

На 14 сутки после внутривенного введения препарата АдеЛакт™ у всех кроликов (n=5) просвет вены был не расширен и содержал небольшое количество крови. Признаков отека или иных патологических изменений в стенке вены и окружающих тканей не выявлено.

Заключение. Препарат АдеЛакт™ по степени опасности «острого» токсического действия может быть классифицирован как «малоопасное лекарственное средство», а по степени опасности «хронического/субхронического» токсического действия – как «умеренно опасное лекарственное средство». Препарат в дозах, превышающих расчетную эквитерапевтическую дозу для человека в 10 раз, не оказывал существенного влияния на

функцию и структуру органов и тканей лабораторных животных. В больших дозах, превышающих расчетную эквитерапевтическую дозу для человека в 50 – 100 раз, возможно умеренное гепато- и нефротропное действие. Возможно развитие воспалительного процесса в легких. Внутреннее введение препарата АдеЛакт™ оказывало слабо выраженное и полностью обратимое местнораздражающее действие.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Gonzalez-Chavez SA, Arevalo-Gallegos S, Rascón-Cruz Q. *Int J Antimicrob Agents*. 2009. V. 33. N4. P. 301e1-8.
- Немцова Е.Р., Эделева Н.В., Осипова Н.А., Якубовская Р.И., Бойко А.В., Демидова Л.В., Чиссов В.И. Российский онкологический журнал. 2006. № 4. С. 29-33.
- Чиссов В.И., Якубовская Р.И., Немцова Е.Р., Осипова Н.А., Эделева Н.В., Уткин М.М., Звягин А.А. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2008. № 11. С. 14-19.
- Народицкий Б.С., Шмаров М.М., Логунов Д.Ю., Тутькина И.Л., Токарская Е.А., Чиссов В.И., Якубовская Р.И., Немцова Е.Р., Безбородова О.А. Способ получения рекомбинантного лактоферрина человека. Российский патент № 2340676, 2008.
- Tutykhina I., Bezborodova O., Shmarov M., Logunov D., Nemtsova E., Yakubovskaya R., Naroditskiy V., Gintsburg A. Protein expression purification. 2009. V. 65. N1. P. 100-107.
- Тутькина И.Л., Безбородова О.А., Верховская Л.В., Шмаров М.М., Логунов Д.Ю., Немцова Е.Р., Народицкий Б.С., Якубовская Р.И., Гинцбург А.Л. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2009. Т.1. С. 27-31.
- Якубовская Р.И., Безбородова О.А., Немцова Е.Р., Тутькина И.Л., Шмаров М.М., Логунов Д.Ю., Народицкий Б.С., Чиссов В.И., Гинцбург А.Л. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2010. Т. 2. С. 28-33.
- Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ, под редакцией Р.У.Хабриева, М. «Медицина», 2005, 832с.
- Методы экспериментальной химиотерапии, практическое руководство, под редакцией Г.Н.Першина, М. «Медицина», 1971, 541 с.

REFERENCES:

- Gonzalez-Chavez SA, Arevalo-Gallegos S, Rascón-Cruz Q. *Int J Antimicrob Agents*. 2009. V. 33. N4. P. 301e1-8.
- Nemtsova E.R., Edeleva N.V., Osipova N.A., Yakubovskaya R.I., Boiko A.V., Demidova L.V., Chissov V.I. *Russian Journal of Oncology*. 2006. # 4. P. 29-33 (in Russian).
- Chissov V.I., Yakubovskaya R.I., Nemtsova E.R., Osipova N.A., Edeleva N.V., Utkin M.M., Zvyagin A.A. *Khirurgiya. Zhurnal imeni N.I. Pirogova (Surgery)*. 2008. #11. P. 14-19 (in Russian).
- Naroditskiy B.S., Shmarov M.M., Logunov D.Yu., Tutykhina I.L., Tokarskaya E.A., Chissov V.I., Yakubovskaya R.I., Nemtsova E.R., Bezborodova O.A. Method for Production of Recombinant Human Lactoferrin. Russian Patent # 2340676, 2008 (in Russian).
- Tutykhina I., Bezborodova O., Shmarov M., Logunov D., Nemtsova E., Yakubovskaya R., Naroditskiy V., Gintsburg A. Protein expression purification. 2009. V. 65. N1. P. 100-107.
- Tutykhina I.L., Bezborodova O.A., Verkhovskaya L.V., Shmarov M.M., Logunov D.Yu., Nemtsova E.R., Naroditskiy B.S., Yakubovskaya R.I., Ginzburg A.L. *Molecular Genetics, Microbiology & Virology*. 2009. V. 1. P. 27-31 (in Russian).
- Yakubovskaya R.I., Bezborodova O.A., Nemtsova E.R., Tutykhina I.L., Shmarov M.M., Logunov D.Yu., Naroditskiy B.S., Chissov V.I., Ginzburg A.L. *Molecular Genetics, Microbiology & Virology*. 2010. V. 2. P. 28-33 (in Russian).
- Guidelines for Experimental (Preclinical) Study of Novel Pharmacological Substances. Edit. RU Khabriev, M. «Medicine», 2005, 832 p (in Russian).
- Methods of Experimental Chemotherapy, Practical Guidelines. Edit. GN Pershin, M. «Medicine», 1971, 541 p (in Russian).

R.I. Yakubovskaya¹, A.A. Pankratov¹, T.N. Andreeva¹, J.B. Venediktova¹, O.A. Bezborodova¹, I.L. Tutykhina², E.V. Evgrafov², D.Yu. Logunov², M.M. Shmarov²

PRECLINICAL STUDY OF GENERAL TOXICITY OF ADELACT™ IN RODENT MODELS

¹Federal State Budgetary Institution «P.A.Gerzen Moscow Research Institute of Oncology», RF Ministry of Health, 125284, Moscow, Russian Federation

²Federal State Budgetary Institution «N.F. Gamaleya Research Institute of Epidemiology and Microbiology», RF Ministry of Health, 123098, Moscow, Russian Federation.

Toxicity of AdeLact™, a novel medicinal product on the basis of recombinant pseudo-adenoviral particles expressing human lactoferrin gene, was studied. Acute toxicity was evaluated in mice and rats, and sub-chronic toxicity was evaluated in rats and rabbits. According to its acute toxicity, AdeLact™ was classified as a low hazardous preparation and according to its sub-chronic toxicity, as a moderate hazardous preparation. In toxic doses, AdeLact™ demonstrated moderate hepatic and renotropic toxicity. Inflammatory processes might develop in lungs after administration of AdeLact™. Intravenous infusion of AdeLact™ produces a mild and fully recoverable local effect.

Keywords: AdeLact™, human lactoferrin gene, human lactoferrin, adenovirus of serotype 5, general toxicity, acute toxicity, sub-chronic toxicity.

Переработанный материал поступил в редакцию 10.03.2015 г.