

Исследование иммунотоксичности пролонгированной формы препарата Афобазол

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

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

Аннотация. Проведено исследование иммунотоксичности пролонгированной формы препарата Афобазол на самцах мышей линий CBA, C57BL/6, гибридах F1 (CBA×C57BL/6). При оценке иммунотоксического действия Афобазол вводили мышам опытных групп перорально 14 дней в дозах 12 мг/кг и 120 мг/кг. Животным контрольных групп вводили плацебо таблетированной формы препарата. При оценке иммунотоксичности пролонгированной формы препарата Афобазол было выявлено, что 14-дневное пероральное введение Афобазола в дозах 12 мг/кг и 120 мг/кг мышам-гибридам F1 (CBA×C57BL/6) не вызвало значимого влияния на массу тимуса, селезенки и подколечных лимфатических узлов по сравнению с контрольными особями, но значимо ($p < 0,01$) увеличивало клеточность тимуса при введении препарата в дозе 12 мг/кг. Введение пролонгированной формы препарата Афобазол в дозах 12 и 120 мг/кг значимо снижало уровни спонтанной хемилюминесценции в 2,0 и 2,2 раза, а в дозе 120 мг/кг значимо ($p < 0,05$) снижало интегральный показатель хемилюминесценции S в 2,4 раза по сравнению с контрольной группой, получавшей плацебо. Курсовое введение пролонгированной лекарственной формы препарата Афобазол в дозах 12 мг/кг и 120 мг/кг не влияло на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов у мышей-гибридов F1 (CBA×C57BL/6), не вызвало значимых изменений реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) по сравнению с контрольной группой. Введение пролонгированной формы препарата Афобазол перорально 14 дней в дозах 12 мг/кг и 120 мг/кг мышам линий CBA и C57BL/6 не вызвало значимого влияния на антителообразование по сравнению с данными контрольных групп. Результаты проведенного исследования иммунотоксичности пролонгированной формы препарата Афобазол позволяют заключить, что введение Афобазола в диапазоне изученных доз не оказывает иммунотоксического действия.

Ключевые слова: пролонгированная форма; Афобазол; фагоцитоз; хемилюминесценция; гуморальный иммунный ответ; клеточный иммунный ответ; иммунотоксичность

Для цитирования:

Коваленко Л.П., Журиков Р.В., Коржова К.В., Дурнев А.Д. Исследование иммунотоксичности пролонгированной формы препарата Афобазол // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. – 2020. – № 3. – С. 48–51. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-3-48-51

Evaluation of immunotoxicity of the extended-release form of Afobazol

Kovalenko LP, Zhurikov RV, Korzhova KV, Durnev AD

FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow, Russia

Abstract. The research of immunotoxicity of extended-release form of Afobazol was conducted on male CBA, C57BL/6 and F1 hybrids (CBA×C57BL/6) mice. Afobazol was administered per os for 14 days in doses of 12 mg/kg and 120 mg/kg. Control group received a placebo. Weight of thymus, spleen and popliteal lymph nodes was not affected by the extended-release form of Afobazol in doses of 12 mg/kg and 120 mg/kg in F1 hybrids (CBA×C57BL/6) mice compared to the control group ($p > 0.05$). Cellularity of thymus was significantly increased by the extended-release form of Afobazol in dose of 12 mg/kg ($p < 0.01$ vs control group). Administration of the extended-release form of Afobazol in doses of 12 mg/kg and 120 mg/kg decreased spontaneous chemiluminescence activity of peripheral blood lymphocytes in 2.0 and 2.2 times, in dose of 120 mg/kg level integral chemiluminescence response S was decreased in 2.4 times ($p < 0.05$ vs control group). Phagocytic activity of peritoneal macrophages and antibody production in F1 hybrids (CBA×C57BL/6) mice were not affected by administration of the extended-release form of Afobazol in doses of 12 mg/kg and 120 mg/kg ($p > 0.05$ vs control group). 14 days of the extended-release form of Afobazol in doses of 12 mg/kg and 120 mg/kg did not cause any significant change to intensity of delayed-type hypersensitivity reactions ($p > 0.05$ vs control group). The results of the study allow us to conclude that administration of the extended-release form Afobazol in the range of studied doses does not induce immunotoxicity.

Keywords: extended-release form; Afobazol; phagocytosis; chemiluminescence; humoral immune response; cellular immune response; immunotoxicity

For citations:

Kovalenko LP, Zhurikov RV, Korzhova KV, Durnev AD. Evaluation of immunotoxicity of the extended-release form of Afobazol. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2020;(3):48–51. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-3-48-51

Введение

В ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» разработана пролонгированная форма препарата Афобазол, селективного небензодиазепинового анксиолитика. Препарат обладает анксиолитическим действием с активирующим компонентом, не сопровождающимся гипноседативными эффектами (седативное действие выявляется в дозах, в 40–50 раз превышающих ED₅₀ для анксиолитического действия). Действуя на сигма-1-рецепторы в нервных клетках головного мозга,

Афобазол стабилизирует ГАМК/бензодиазепиновые рецепторы и восстанавливает их чувствительность к эндогенным медиаторам торможения. Афобазол также повышает биоэнергетический потенциал нейронов и оказывает нейропротекторное действие на нервные клетки. У препарата отсутствуют миорелаксантные свойства, негативное влияние на память и внимание. При применении препарата не формируется лекарственная зависимость и не развивается синдром отмены. Действие препарата реализуется преимущественно в виде сочетания анксиолитического (противотревожного) и

лёгкого стимулирующего (активирующего) эффектов. Уменьшение или устранение тревоги (озабоченность, плохие предчувствия, опасения, раздражительность), напряжённости (пугливость, плаксивость, чувство беспокойства, неспособность расслабиться, бессонница, страх), а, следовательно, соматических (мышечные, сенсорные, сердечно-сосудистые, дыхательные, желудочно-кишечные симптомы), вегетативных (сухость во рту, потливость, головокружение), когнитивных (трудности при концентрации внимания, ослабленная память) нарушений наблюдаются на 5–7 дни лечения Афобазолом. Пролонгированная форма Афобазола позволит усилить его анксиолитические свойства и терапевтическую активность. Пролонгированная форма препарата расширяет спектр использования селективного анксиолитика Афобазола, оценка иммунотоксичности является необходимым этапом доклинического исследования его безопасности [1, 2].

Целью данной работы являлось изучение иммунотоксического действия пролонгированной формы препарата Афобазол.

Материалы и методы

Исследование иммунотоксического действия пролонгированной формы препарата Афобазол выполнено на сертифицированных лабораторных животных, 150 самцах мышей линий СВА, С57BL/6, гибридах F_1 (СВА×С57BL/6) массой 18–20 г, клинически здоровых особях, полученных из питомников «Столовая» и «Андреевка».

При оценке иммунотоксичности Афобазола мышам опытных групп 14 дней перорально вводили пролонгированную форму препарата в дозах 12 мг/кг и 120 мг/кг. Животным контрольных групп вводили плацебо таблетированной формы препарата. Каждая группа включала 10 животных.

При изучении иммунотоксичности пролонгированной формы Афобазола использовали следующие методы:

- определение массы и клеточности органов иммунной системы мышам-гибридов F_1 (СВА×С57BL/6);
- оценка фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов мышам-гибридов F_1 (СВА×С57BL/6);
- оценка активности нейтрофилов в тесте хемилюминесценции на мышам-гибридах F_1 (СВА×С57BL/6);
- постановка реакции гиперчувствительности замедленного типа на мышам-гибридах F_1 (СВА×С57BL/6);
- постановка реакции гемагглютинации на мышам линии СВА и линии С57BL/6 [3, 4].

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 непарметрический критерий Манна-Уитни, различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При оценке иммунотоксичности пролонгированной формы препарата Афобазол было выявлено, что 14-дневное пероральное введение препарата в дозах 12 мг/кг и 120 мг/кг мышам-гибридам F_1 (СВА×С57BL/6) не вызывало значимого влияния на массу тимуса, селезёнки и подколенных лимфатических узлов по сравнению с контрольными особями.

Двухнедельное пероральное введение пролонгированной формы препарата Афобазол в дозе 12 мг/кг значимо ($p < 0,01$) увеличивало клеточность тимуса в 1,2 раза по сравнению с контрольной группой, и не влияло на клеточность селезёнки и подколенных лимфатических узлов. Двухнедельное пероральное введение препарата в дозе 120 мг/кг не вызывало значимого изменения клеточности тимуса, селезёнки и подколенных лимфатических узлов.

Курсовое введение пролонгированной лекарственной формы препарата Афобазол в дозах 12 мг/кг и 120 мг/кг не влияло на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов у мышам-гибридов F_1 (СВА×С57BL/6).

Параметры хемилюминесценции нейтрофилов исследовались после 14-дневного перорального введения плацебо и исследуемого препарата в дозах 12 мг/кг и 120 мг/кг. У группы контрольных мышам, получавших плацебо, уровень спонтанной хемилюминесценции составил $67,8 \pm 11,5$ mV. Введение препарата Афобазол в дозах 12 мг/кг и 120 мг/кг вызывало значимое ($p < 0,05$) снижение уровня спонтанной хемилюминесценции, указанные показатели составили $33,4 \pm 7,6$ mV и $30,7 \pm 5,5$ mV, соответственно. После добавления к суспензии нейтрофилов зимозана уровень стимулированной хемилюминесценции — ΔI у контрольных животных, получавших плацебо, составил $159,5 \pm 48,1$ mV. Интегральный показатель хемилюминесценции у контрольной группы, получавшей плацебо, показатель *S* составил $16,3 \pm 3,6$ ед.×10⁴. При изучении кинетики хемилюминесцентного ответа нейтрофилов на зимозан в контрольной и опытных группах животных выявлено, что 14-дневное введение препарата Афобазол в дозе 12 мг/кг не приводило к значимому изменению показателей в тесте, а в дозе 120 мг/кг значимо ($p < 0,05$) снижало интегральный показатель хемилюминесценции *S* в 2,4 раза (табл. 1). Полученные данные свидетельствуют о наличии антирадикальной активности у пролонгированной формы Афобазола. Таким образом, двухнедельное пероральное введение пролонгированной лекарственной формы препарата Афобазол в дозах 12 и 120 мг/кг значимо снижало уровни спонтанной хемилюминесценции в 2,0 и 2,2 раза по сравнению с контрольной группой, получав-

Таблица 1

Влияние пролонгированной лекарственной формы препарата Афобазол на показатели хемилюминесцентного ответа нейтрофилов на зимозан при пероральном введении в течение 14 дней

Table 1

Effect of the prolonged dosage form of the drug Afobazol on the parameters of the chemiluminescent response of neutrophils to zymosan when administered orally for 14 days

Группы, n = 10	ΔI , (mv)	Уровень значимости	S, (ед.) / 10^4	Уровень значимости
Плацебо (перорально)	159,5±48,1	—	16,3±3,6	—
Афобазол, 12 мг/кг (перорально)	113,8±25,5	$p > 0,05$	15,7±5,5	$p > 0,05$
Афобазол, 120 мг/кг (перорально)	66,9±14,6	$p > 0,05$	6,7±1,2	$p < 0,05$

Примечания: n – число животных; ΔI – показатель уровня активированной хемилюминесценции; S – интегральный показатель хемилюминесценции; p – статистическая значимость различий по сравнению с контрольной группой по непарному t-критерию Стьюдента.
Notes: n – number of animals; ΔI – indicator of the level of activated chemiluminescence; S – integral indicator of chemiluminescence; p – statistical significance of differences in comparison with the control group according to the unpaired Student's t-test.

шей плацебо. Введение пролонгированной формы Афобазола в дозе 12 мг/кг не оказывало достоверного влияния на параметры хемилюминесценции полиморфноядерных гранулоцитов, активированных опсонизированным зимозаном, а в дозе 120 мг/кг значимо ($p < 0,05$) снижало интегральный показатель хемилюминесценции S в 2,4 раза.

Введение пролонгированной формы препарата Афобазол перорально 14 дней в дозах 12 мг/кг и 120 мг/кг мышам линий СВА и С57BL/6 не вызывало значимого влияния на антителообразование по сравнению с данными контрольных групп.

Двухнедельное введение пролонгированной формы препарата Афобазол перорально в дозах 12 мг/кг и 120 мг/кг мышам гибридам F_1 (СВА×С57BL/6) в течение 14 дней не вызывало значимых изменений реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, результаты проведенного исследования иммунотоксичности пролонгированной формы

препарата Афобазол позволяют заключить, что введение пролонгированной формы препарата Афобазол в диапазоне изученных доз не оказывает иммунотоксического действия.

Заключение

Результаты проведенного комплексного исследования позволяют заключить, что пролонгированная форма препарата Афобазол в диапазоне изученных доз не оказывает иммунотоксического действия. Проведенное исследование не установило данных, препятствующих клиническому испытанию готовой пролонгированной формы препарата Афобазол.

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, Россия

Kovalenko Larisa P.
 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, Russia

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, Россия

Zhurikov Ruslan V.
 ORCID ID: 0000-0003-1084-690X
 SPIN code: 6648-1794

Junior researcher of laboratory of drug toxicology FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow, Russia

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, Россия

Korzhova Ksenia V.
ORCID ID: 0000-0002-8087-4976
SPIN code: 3831-3782

Junior researcher of laboratory of drug toxicology FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow, Russia

Дурнев Андрей Дмитриевич
ORCID ID: 0000-0003-0218-8580
SPIN-код: 8426-0380

д. м. н., профессор, член-корр. РАН, заведующий отделом лекарственной токсикологии, директор ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия

Durnev Andrei D.
ORCID ID: 0000-0003-0218-8580
SPIN code: 8426-0380

D. Sci. in Medicine, professor, RAS corresponding member of the RAS, Head of the department of drug toxicology, Director FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow, Russia

Литература / References

1. Середенин С.Б., Воронин М.В. Нейрорецепторные механизмы действия афобазола // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. – 2009. – Т. 72. – № 1. – С. 3–11. [Seredenin SB, Voronin MV. Neuroreceptor mechanisms involved in the action of afobazole. *Ekspierimental'naiia i klinicheskaia farmakologiia*. 2009;72(1):3–11. (In Russ).]. DOI: 10.30906/0869-2092-2009-72-1-3-11.

2. Кадников И.А., Воронин М.В., Середенин С.Б. Влияние афобазола на активность хинонредуктазы 2 // *Химико-фармацевтический журнал*. – 2013. – Т. 47. – №10. – С. 9–11. [Kadnikov IA, Voronin MV, Seredenin SB. Effect of afobazole on the activity of quinone reductase 2. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal*. 2013;47(10):9–11. (In Russ).]. DOI: 10.30906/0023-1134-2013-47-10-9-11.

3. Хаитов Р.М., Иванова А.С., Коваленко Л.П., и др. Методические рекомендации по оценке иммунотоксического действия фармакологических веществ. Руководство по проведению доклинических ис-

следований лекарственных средств. Часть первая. / под ред. А.Н. Миронова. – М.: Гриф и К; 2012. – С. 64–79. [Haitov RM, Ivanova AS, Kovalenko LP, et al. Metodicheskie rekomendacii po ocenke immunotoksicheskogo dejstviya farmakologicheskikh veshchestv. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovanij lekarstvennykh sredstv. Part one. / Ed by AN Mironova. Moscow: Grif i K; 2012. p. 64–79. (In Russ).].

4. Хаитов Р.М., Гушин 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. / под ред. А.Н. Миронова. – М.: Гриф и К; 2012. – С. 626–656. [Haitov RM, Gushchin IS, Pinegin BV, et al. Metodicheskie rekomendacii po doklinicheskomu izucheniyu immunotropnoj aktivnosti farmakologicheskikh veshchestv. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovanij lekarstvennykh sredstv. Part one. / Ed by AN Mironova. Moscow: Grif i K; 2012. p. 626–656. (In Russ).].