

Criteria for preclinical assessment of the efficiency and safety of pharmaceutical vegetable substances

E.E. Lesiovskaya, T.N. Savateeva-Lyubimova

New methodological approaches for the assessment of efficiency and safety of vegetable substances and probiotics in preclinical studies have been developed. Basic differences between vegetable substances containing poisonous and strong active agents and the ones without these agents have been revealed. An alternative way of the classification of substances of natural origin based of their acute toxicity was proposed. The major obstacles for the wide use of vegetable medical products were determined.

Key words: pharmaceutical vegetable substances, probiotics, efficiency, safety, acute toxicity, medical and protective effects.

Принципы оценки иммунологической безопасности фармацевтических продуктов

А.С. Иванова, Т.Б. Мастернак, Е.Ю. Малкина, А.И. Мартынов

ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, Москва

Контактная информация: Терёшкина Ольга Ивановна oiter@rambler.ru

В лекарственной токсикологии под иммунотоксическим действием понимают модифицирующее влияние фармакологических средств на иммуногенез, включая иммуносупрессию и гиперстимуляцию иммунитета, способное привести к снижению резистентности организма к инфекции, повышению риска онкологических заболеваний, развитию аутоиммунной патологии и аллергизации организма.

Известно, что иммунная система способна к быстрому реагированию на изменение гомеостаза и обладает значительными резервами к самовосстановлению. Интерпретация результатов, экстраполяция полученных экспериментальных данных на человека, оценка возможного риска при применении нового фармакологического средства, адекватная клиническим ситуациям, представляет наибольшую сложность в иммунологии, следовательно, и в рассматриваемой проблеме.

Целью настоящего сообщения является обсуждение сложившихся в настоящее время подходов к экспериментальному изучению потенциального риска для иммунной системы человека применения новых лекарственных средств.

Ключевые слова: аллергизация, антителообразующие клетки, иммунотоксичность, поликлональная активность.

Данное сообщение имеет своей целью обсудить сложившиеся в настоящее время подходы к экспериментальному изучению потенциального риска для иммунной системы человека применения новых лекарственных средств.

В лекарственной токсикологии под иммунотоксическим действием понимают модифицирующее влияние фармакологических средств на иммуногенез (иммуно-

супрессию и гиперстимуляцию иммунитета), способное привести к снижению резистентности организма к инфекции, повышению риска онкологических заболеваний, развитию аутоиммунной патологии и аллергизации организма [1].

В отличие от установленных протоколов доклинического изучения общетоксического действия, методологические и методические вопросы исследования

иммунотоксического действия до настоящего времени остаются предметом поиска и дискуссий во всем мире [2, 3].

Из-за сложности организации иммунной системы, значительных различий в иммунном ответе животных и человека на многие лекарственные препараты, на сегодняшний день не существует единого подхода, позволяющего адекватно оценить возможную иммунную дисфункцию, вызванную введением фармакологических препаратов. Требуется структурный подход, адаптированный к свойствам препарата и отдельным клиническим ситуациям. Методы тестирования разных аспектов иммунологической реактивности организма животных должны систематически анализироваться, пересматриваться для оценки их адекватности, воспроизводимости, надежности и обоснованности [4].

Широко используемый в настоящее время в лекарственной токсикологии подход к иммунотоксическим исследованиям предусматривает несколько этапов [5, 6, 7]. На первом этапе проводится анализ данных литературы о влиянии на иммунную систему аналогов или близких по действию или химической структуре препаратов, результатов исследований периферической крови, костного мозга, оценки фагоцитарной и бактерицидной активности фагоцитов различной локализации (периферической крови, перитонеального экссудата, купферовских клеток), гистологии иммунокомпетентных органов, полученных при изучении подострой токсичности тестируемого препарата. При этом окраска органов иммуногенеза азуром 2 и эозином вместо гематоксилина, традиционно используемого в токсикологии, позволяет оценить зональную принадлежность и степень дифференцировки иммунокомпетентных клеток [6].

Учитывая высокий компенсаторный потенциал иммунной системы и быстрый многофакторный характер ее реагирования, свидетельством значимых поломок иммунитета может быть нарушение интегральных эффекторных реакций [9]. С этой точки зрения, на первом этапе наибольшего внимания заслуживает оценка способности иммунной системы к выработке антител в ответ на инфекционные и неинфекционные корпускулярные антигены, так как в гуморальном иммунном ответе участвуют все основные клетки иммунной системы [6]. Этот процесс включает главные этапы иммунного реагирования: фагоцитоз, презентацию антигена, распознавание, активацию, пролиферацию, созревание, синтез специфических антител и др., а также сопровождается каскадом цитокиновых реакций. Оценка гуморального иммунного ответа на однократное введение тестируемого препарата в широком диапазоне доз позволяет выявить активную дозу и характер влияния на иммунную систему (активация или супрессия).

Оценку клеточного иммунитета традиционно проводят с использованием реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ), при введении определенных антигенов (эритроциты барана, туберкулин, овоальбумин, тринитробензолсульфоновая кислота (ТНБС) и др.). Эти исследования дают возможность изучать влияние на продукцию сенсибилизированными лимфоцитами медиаторов, вовлекающих клетки мононуклеарных фагоцитов в иммунный ответ, и оценивать влияние на функциональную активность Т-системы иммунитета. При использовании в реакции гиперчувствительности замедленного типа ТНБС, образующего комплексы с белками организма, удастся модели-

ровать ситуацию, подобную развитию контактной аллергии ко многим химическим и лекарственным веществам. Усиление данной реакции под влиянием тестируемого препарата позволяет с большой степенью вероятности прогнозировать два аспекта опасности при применении потенциального лекарственного средства: риск изменения аллергостатуса или повышения чувствительности организма к традиционным аллергенам, а также возможность развития аутоиммунной патологии [10, 11, 12]. Требования к оценке алергизирующих свойств фармакологических препаратов изложены в специальных методических указаниях, анализ их не является задачей настоящего обсуждения [13].

Оценка возможной аутоенсибилизации представляется более сложной задачей ввиду отсутствия доступных экспериментальных моделей, адекватных клиническим ситуациям, и вследствие разнообразия и специфичности структур организма, которые могут явиться мишенью конкретной аутоагрессии. В рамках изучения иммунотоксичности, для получения первичной информации о возможности срыва толерантности, часто используется оценка прямого митогенного действия в культуре *in vitro*, выявление иммунных комплексов, определение поликлональной активации В-клеток (осуществляемое одновременно с оценкой антителообразующих клеток) [14].

В последние годы широко распространена методика определения массы и клеточности подколенного лимфоузла (так называемый «popliteal lymph node assay», PLNA). Данный тест рекомендуется для прогноза лекарственной аллергии и аутоиммунитета: тестирование 130 соединений с помощью PLNA показало положительную корреляцию с документированным аутоиммунным и ал-

лергическим потенциалом и отсутствие ложноотрицательных результатов [8].

Указанные исследования в сочетании с анализом гистологических исследований потенциальных органов – мишеней аутоагрессии (почки, щитовидная железа, миокард и др.) дают важную дополнительную информацию о возможности индукции аутоиммунных осложнений.

В случае выявления подавления активности иммунной системы (как гуморального, так и клеточного иммунитета), для уточнения последствий указанного эффекта проводится заражение животных патогенными вирусами и бактериями. Сравнительная с контрольными животными оценка выживаемости и продолжительности жизни дает прямой ответ на вопрос, приводит ли вызванное фармакологическим средством снижение гуморального или клеточного ответа, или функции фагоцитов к развитию вторичного иммунодефицитного состояния и срыву антиинфекционного иммунитета.

Проводимые экспериментальные исследования фармакологических средств на иммунотоксичность могут помочь установить противопоказания и ограничения при применении тестируемого лекарственного средства с учетом показаний к применению.

Список литературы

1. **Stanworth D. R.** Current concepts in hypersensitivity – In: Immunotoxicology and Immunopharmacology /Eds. Dean J. H. et al. New York: Raven Press. 1985. P. 91-99.
2. **Dietert R. R., Golemboski K. A.** Immunotoxicological mechanisms – In: Encyclopedia of Molecular Biology and Molecular Medicine. 1996. Vol. 3. P. 295-302.
3. **Luster M.I., Dean J.H., Germolec D.R.** «Consensus workshop on methods to evaluate developmental immunotoxicity».

Environ Health Perspect. 2003. Apr. 111(4): 579-83.

4. **Neuman D. A.** Immunotoxicity testing and risk assessment: Summary of 1994 Workshop Immunotoxicology Technical Committee // *Fd. Chem. Toxic.* 1995. Vol. 33. N. 10. P. 887-894.

5. **Кудрина Г.П., Буров Ю.В., Алтынбаева Р.Д. и др.** Методические рекомендации по оценке иммунотоксических свойств фармакологических средств. М. 1991.

6. **Хаитов Р.М., Иванова А.С., Мастернак Т.Б. и др.** Методические указания по оценке иммунотоксического действия фармакологических веществ // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М. 2005. С. 70-86.

7. **Weaver J.L., Chapdelain J.M., Descotes J.** Evaluation of a lymph node proliferation assay for its ability to detect pharmaceuticals with potential to cadrug reactions // *J. Immunotoxicol.* 2005. Jan. 1;2(1):11-20.

8. **Pieters R.** The popliteal lymph node assay: a tool for predicting drug allergy // *Toxicology.* 2001. Vol. 158. N. 1-2. P. 65-69.

9. **Хаитов Р.М.** Физиология иммунной системы. М. 2001. 233 с.

10. **Luster M. I., Portier C., Pait D. G., Rosenthal G. J., Germolec D. R.** Immunotoxicology and risk assessment – In: *Methods in Immunotoxicology*, Volume 1, New York et al.: Wiley-Liss. Inc. 1995. P. 51-68.

11. European Commission (1994) Risk Assessment of Existing Substances. Technical Guidance Document XI/91/1994-EN, Chapter 7. European Communities, Luxembourg.

12. **Descotes J., Verdier F.** Popliteal lymph node assay – In: *Methods in Immunotoxicology*, Volume 1 /Eds. Burleson J. R., Dean J. H., Munson A. E.), Wiley-Liss, Inc. 1995. P. 189-196.

13. **Любимов Б.И., Коваленко Л.П., Федосеева В.Н. и др.** Методические указания по оценке алергизирующих свойств фармакологических веществ // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М. 2005. С. 54-69.

14. **Мастернак Т.Б., Чижевская М.А., Иванова А.С., Манько В.М.** Влияние иммуномодулирующих препаратов на индуцированную ФГА пролиферацию спленоцитов мышей // *Иммунология.* 1997. № 4. С. 27-31.

The principles for the evaluation of pharmacologic products immune safety

A.S. Ivanova, T.B. Masternak, E.Yu. Malkina, A.I. Martynov

In drug toxicology the term “immune toxic action” means possible pharmacologic products’ effects on the immunogenesis, including immune suppression and immune hyper-stimulation that can result in anti-infection organism resistance decrease and in the elevation of risk for auto-immune pathology development and organism allergisation.

Study results interpretation, the extrapolation of data obtained in animals for humans, new drug product potential risk analysis that will give the adequate picture for clinical practice presents the complex problem in the immunology.

The scope of this article is to discuss modern approaches for new drug products potential immunologic risk experimental evaluation.

Key words: allergization, antibody-produced cells, immunotoxicity, polyclonal activity.