

УДК 616-006-085.277.3:612.119:615.015.38

В. Л. КАРБОВСЬКИЙ¹, канд. біол. наук, І. А. ШЕВЧУК¹, канд. біол. наук,
О. В. КУРКІНА¹, канд. біол. наук, Т. Є. МАКОВСЬКА²

¹ ТОВ «Фармацевтичний завод “Біофарма”», м. Біла церква, Київська обл.

² Головний військовий медичний госпіталь, м. Київ

ДОСЛІДЖЕННЯ ПІДГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ПРЕПАРАТУ ПЕГ-ФІЛСТИМ

Ключові слова: філграстим, пегфілграстим, нейтропенія, підгостра токсичність,
ПЕГ-Філстим

V. L. KARBOVSKYI¹, I. A. SHEVCHUK¹, O. V. KURKINA¹, T. Ye. MAKOVSKA²

¹ LLC Pharmaceutical plant «Biopharma», Bila Tserkva, Kyiv region

² Main Military Clinical Hospital, Kyiv

STUDY OF PEG-FILSTIM SUB-ACUTE TOXICITY

Key words: filgrastim, pegfilgrastim, neutropenia, sub-acute toxicity, PEG-Filstim

Відомо, що фебрильна нейтропенія, яка виникає внаслідок застосування цитостатиків під час лікування онкологічних захворювань, – найчастіше ускладнення, яке призводить до вимушеного зменшення доз хіміопрепаратів та зниження ефективності терапії [1]. Ступінь і тривалість нейтропенії, що розвивається після хіміотерапії, значною мірою визначає ризик виникнення життєво небезпечних інфекційних ускладнень. Впровадження у клінічну практику рекомбінантних форм природного білка гранулоцитарного колонієстимулювального фактора (Г-КСФ) дало змогу скоротити тривалість нейтропенії та мінімізувати негативні наслідки мієлосупресивної терапії. На сьогодні багатьма дослідженнями доведено ефективність застосування Г-КСФ у разі лікування онкологічних хворих [2].

Одним із першим препаратів Г-КСФ, застосованим у клініці, став філграстим, отриманий у культурах *Escherichia coli* з використанням рекомбінантної технології. Проте короткий період напіввиведення потребував його щоденного введення та неодноразового моніторингу ефективності. Саме тому створення препарату Г-КСФ із продовженим періодом лікувальної дії в результаті приєднання до філграстиму молекули поліетиленгліколю (ПЕГ), який різко уповільнює кліренс препарату та не змінює при цьому його активних терапевтичних властивостей, вирішувало проблему повторних ін'єкцій [3, 4]. Пегілювання молекули філграстиму (приєднання до N-кінцевої групи метіоніну молекули ПЕГ із молекулярною масою 20 kD) збільшило її розмір, що унеможливило клубочкову фільтрацію в нирках, яка домінує за нейтропенії. Натомість кліренс пегфілграстиму нейтрофілами, які з високою щільністю експресують рецептор до Г-КСФ, не порушується. Препарат-рецепторний комплекс інтерналізується та деградує всередині нейтрофілів, що і забезпечує циркуляцію в крові препарату до моменту утворення необхідної кількості нових клітин [5]. Порівняльне дослідження ефектів пегфілграстиму і філграстиму на здорових волонтерах показало, що рівень нейтрофілів за одноразового введення пегфілграстиму в дозі 60–100 мкг/кг маси тіла в 6–8 разів вищий, ніж за щоденного введення філграстиму в дозі 5–10 мкг/кг. При цьому продукція нейтрофілів після однократної ін'єкції пегфілграстиму дорівнює продукції гранулоцитів упродовж 10–11-денної терапії філграстимом [6].

Таким чином, розроблення і впровадження в клінічну практику пегфілгратиму є важливим кроком у вирішенні проблеми профілактики нейтропенії і її ускладнень у пацієнтів, які страждають на онкологічні захворювання. Головними перевагами препарату є зручність його застосування як для пацієнта, так і для лікаря, а також передбачувано висока ефективність.

Метою дослідження токсикологічних характеристик лікарських препаратів за повторних введень є визначення ступеня шкідливої дії фармакологічної речовини у разі її тривалого введення, виявлення найбільш чутливих органів і систем організму, а також дослідження ступеня оборотності спричинених ним пошкоджень. Тому **метою** нашої роботи було дослідити підгостру токсичність препарату ПЕГ-Філстим.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження токсикологічних характеристик препарату ПЕГ-Філстим (ТОВ «Фармацевтичний завод «Біофарма»», Україна, м. Біла Церква, розчин для ін'єкцій, який містить пегфілгратим у дозі 10 мг/мл) виконано згідно з Наказом МОЗ України № 944 від 14. 12. 2009 р. «Про погодження матеріалів Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів» [7]. Дослідних тварин утримували у віварії згідно зі стандартними санітарними нормами, на необхідному харчовому раціоні [8]. Усі дослідження виконано згідно з правилами «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних й інших наукових цілях» [9].

Вивчення підгострої токсичності препарату ПЕГ-Філстим здійснено на 50 білих нелінійних щурах обох статей масою 170–230 г за умов щоденного підшкірного введення впродовж 28 діб [10]. Тварин було розподілено на 4 групи: I група – інтактний контроль (тварини, яким підшкірно вводили 0,9%-й розчин NaCl в об'ємі, який дорівнює об'єму введеного в максимальній дозі ПЕГ-Філстиму; $n = 20$); II група – тварини, яким підшкірно вводили препарат ПЕГ-Філстим у дозі 0,5 мг/кг (умовно терапевтична, яка не спричинює будь-яких ознак токсичної дії, $n = 10$); III група – тварини, яким підшкірно вводили препарат ПЕГ-Філстим у дозі 1 мг/кг (доза, яка вдвічі перевищує умовно терапевтичну, $n = 10$); IV група – тварини, яким підшкірно вводили препарат ПЕГ-Філстим у дозі 2 мг/кг (доза, яка в чотири рази перевищує умовно терапевтичну, $n = 10$). Ці дози відповідають максимальним, які використовували для підшкірного введення щурам в дослідженні підгострої токсичності оригінального препарату пегфілгратиму – Неуластиму (Ф.Хоффман-Ля Рош Лтд., Швейцарія) [11].

Упродовж усього періоду спостереження реєстрували виживання, споживання води і їжі, масу тіла (перед введенням препарату, на 7-му, 14-ту, 21-шу, 29-ту добу) та вияви інтоксикації (у разі їх виникнення) за загальним фізичним станом тварин: зміни положення тіла, активності, поведінки, стану шкірних покривів і слизових оболонок, температури та маси тіла, частоти дихання, а також за окремими симптомами (діарея, сльозоточивість, виділення з носа, тремор, зміна кольору сечі й фекалій та ін.). У всіх групах тварин після закінчення експерименту (29-та доба) визначали спонтанний добовий діурез, робили загальноклінічне дослідження крові та сечі [12, 13], після чого тварин наркотизували діетиловим ефіром та виводили з досліду шляхом цервікальної дислокації шийних хребців. Для визначення вихідного рівня функціонального стану тварин використовували 10 щурів групи інтактного контролю.

Кількість еритроцитів, лейкоцитів і тромбоцитів крові підраховували в камері Горяєва. Виготовлення і забарвлення мазків, а також визначення формули крові виконували відповідно до загальноприйнятих методичних вказівок [13]. Визначення гемоглобіну крові робили геміхромним методом за допомогою біохімічного аналізатора НТІ BioChem SA (Chemistry Analyzer), виробництва High Technology Inc. (США) і стандартного тест-набору виробництва НВП «Філісіт-Діагностика» (Україна). Активність аланінамінотрансферази (АлАТ), аспартатамінотрансферази (АсАТ), лужної фосфатази (ЛФ), а також вміст загального білка, альбумінів, глобулінів, креатиніну, сечовини, глюкози, загального холестерину, тригліцеридів у сироватці крові визначали за допомогою вищезазначеного біохімічного аналізатора та наборів реагентів для клінічної біохімії виробництва High Technology Inc. (США).

Дослідження загальних властивостей сечі (колір, прозорість, рН, щільність) виконували на 29-ту добу експерименту з використанням стандартних діагностичних тест-смужок DeкарНАN Leuco, виробництва «PLIVA-Lachema Diagnostika» (Чехія). Біохімічний аналіз сечі на вміст загального білка, креатиніну і глюкози робили на біохімічному аналізаторі НТІ BioChem SA (Chemistry Analyzer), виробництва High Technology Inc. (США) з використанням стандартних наборів реагентів для клінічної біохімії виробництва High Technology Inc. (США). Мікроскопію осаду здійснювали за допомогою світлової мікроскопії.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою пакета прикладних програм STATISTICA 6.0 (StatSoft, USA), використовуючи t-критерій Стьюдента та U-критерій Манна-Уїтні [14]. Значущими вважали відмінності між контролем і дослідом при $p < 0,05$.

Дослідження було виконано на базі кафедри фармакології, клінічної фармакології та фармакоекономіки ДЗ «Дніпропетровська медична академія» (база доклінічних досліджень Державного експертного центру МОЗ України, посвідчення № 22 від 30. 04. 2009 р.) в рамках розробки ТОВ «Фармацевтичний завод «Біофарма»» лікарського засобу ПЕГ-Філістим.

Результати дослідження та обговорення

Результати дослідження свідчать, що в умовах повторних введень препарату ПЕГ-Філістим загинували тварин у жодній із груп не реєстрували. Стан шкірних покривів, слизових оболонок, споживання води та їжі, температура тіла, активність і положення тіла в усіх дослідних групах не відрізнялись від таких у контрольних шурів. Динаміка маси тіла експериментальних тварин впродовж дослідження залишалася в межах фізіологічної норми і статистично не відрізнялася від показників групи контролю. Таким чином, повторні підшкірні введення препарату ПЕГ-Філістим протягом 28 днів не мають негативного впливу на загальний стан, динаміку маси тіла, зовнішній вигляд та поведінку шурів.

Встановлено, що курсове (протягом 28 днів) підшкірне введення препарату ПЕГ-Філістим у дозах 0,5, 1,0 та 2,0 мг/кг призводить до дозозалежного збільшення кількості лейкоцитів у периферичній крові дослідних тварин відповідно на 39,5%, 79,9% і 176,3% ($p < 0,05$) (табл. 1).

Деякі показники периферичної крові щурів після 28-денного застосування препарату ПЕГ-Філстим ($M \pm m$)

Групи тварин	Показники			
	еритроцити, $\times 10^{12}/л$	гемоглобін, г/л	лейкоцити, $\times 10^9/л$	тромбоцити, $\times 10^9/л$
<i>Вихідні дані</i>				
Інтактний контроль	4,38 \pm 0,09	137,8 \pm 2,49	8,08 \pm 0,54	232,1 \pm 8,95
<i>29-та доба</i>				
Інтактний контроль	4,44 \pm 0,13	139,1 \pm 2,86	8,16 \pm 0,60	230,0 \pm 9,07
ПЕГ-Філстим, 0,5 мг/кг	4,62 \pm 0,06	142,9 \pm 1,72	11,38 \pm 1,27*	250,5 \pm 10,53
ПЕГ-Філстим, 1 мг/кг	4,69 \pm 0,05	144,2 \pm 1,47	14,68 \pm 1,37*	240,0 \pm 9,72
ПЕГ-Філстим, 2 мг/кг	3,68 \pm 0,15*	124,7 \pm 2,77*	22,55 \pm 2,22*	250,5 \pm 10,61

П р и м і т к а: * – $p < 0,05$ щодо контролю.

При цьому вміст еритроцитів (17,1%, $p < 0,05$) і концентрація гемоглобіну (10,4%, $p < 0,05$) у крові статистично значущо зменшилися тільки у разі застосування досліджуваного засобу в максимальній дозі 2,0 мг/кг. Вміст тромбоцитів під впливом ПЕГ-Філстиму коливався в межах фізіологічної норми (табл. 1).

Під час детального розгляду морфологічного складу лейкоцитів периферичної крові було виявлено, що у щурів, яким упродовж 28 днів вводили досліджуваний препарат, розвивається лейкоцитоз переважно нейтрофільного характеру (табл. 2).

Абсолютний вміст різних форм лейкоцитів ($10^9/л$) у периферичній крові щурів після 28-денного застосування препарату ПЕГ-Філстим ($M \pm m$)

Групи тварин	Лімфоцити	Моноцити	Еозинофіли	Нейтрофіли	
				паличко- ядерні	сегменто- ядерні
<i>Вихідні дані</i>					
Інтактний контроль	5,22 \pm 0,29	0,201 \pm 0,028	0,284 \pm 0,036	0,090 \pm 0,018	2,36 \pm 0,21
<i>29-та доба</i>					
Інтактний контроль	5,18 \pm 0,33	0,206 \pm 0,037	0,288 \pm 0,040	0,083 \pm 0,014	2,40 \pm 0,24
ПЕГ-Філстим, 0,5 мг/кг	6,11 \pm 0,46	0,343 \pm 0,042*	0,319 \pm 0,048	0,160 \pm 0,034*	4,45 \pm 0,83*
ПЕГ-Філстим, 1 мг/кг	7,70 \pm 0,50*	0,492 \pm 0,083*	0,432 \pm 0,063	0,267 \pm 0,059*	5,79 \pm 0,86*
ПЕГ-Філстим, 2 мг/кг	8,38 \pm 0,50*	0,858 \pm 0,158*	0,628 \pm 0,129*	0,571 \pm 0,122*	12,11 \pm 1,59*

П р и м і т к а: * – $p < 0,05$ щодо контролю.

Так, абсолютний вміст паличкоядерних та сегментоядерних нейтрофілів за дії ПЕГ-Філстиму в дозах 0,5, 1,0 та 2,0 мг/кг статистично вірогідно зростав зі збільшенням дози препарату – відповідно на 92,8, 221,7, 588,0% ($p < 0,05$) для незрілих та на 85,4, 141,3, 404,6% ($p < 0,05$) для зрілих форм щодо інтактного контролю. Таку саму динаміку змін спостерігали і для моноцитів. Приріст вмісту останніх становив 66,5, 138,8 та 316,5% ($p < 0,05$) щодо контрольних значень. При цьому вміст лімфоцитів під впливом досліджуваного препарату також перевищував показники контролю, але значущим таке збільшення було у разі застосування доз 1,0 (на 48,6%, $p < 0,05$) та 2,0 мг/кг (на 61,8%, $p < 0,05$). Статистично вірогідне збільшення абсолютного вмісту еозинофілів спостерігали тільки за дії ПЕГ-Філстиму в дозі 2,0 мг/кг – на 118,0% ($p < 0,05$) (табл. 2).

Слід зазначити, що такі зміни абсолютного вмісту різних форм лейкоцитів призводили до зменшення відносного вмісту лімфоцитів і еозинофілів в крові (табл. 3).

Т а б л и ц я 3

Морфологічний склад лейкоцитів (%) у периферичній крові щурів після 28-денного застосування препарату ПЕГ-Філстим ($M \pm m$)

Групи тварин	Лімфоцити	Моноцити	Еозинофіли	Нейтрофіли	
				паличко-ядерні	сегментоядерні
<i>Вихідні дані</i>					
Інтактний контроль	63,0 ± 1,32	2,3 ± 0,31	3,2 ± 0,33	1,2 ± 0,17	30,3 ± 1,25
<i>29-та доба</i>					
Інтактний контроль	64,0 ± 1,57	2,4 ± 0,27	3,5 ± 0,31	1,0 ± 0,15	29,1 ± 1,41
ПЕГ-Філстим, 0,5 мг/кг	56,5 ± 3,53	3,1 ± 0,31	2,9 ± 0,41	1,3 ± 0,15	36,2 ± 3,47
ПЕГ-Філстим, 1 мг/кг	54,6 ± 3,14*	3,3 ± 0,37	3,0 ± 0,39	1,7 ± 0,26*	37,4 ± 2,98*
ПЕГ-Філстим, 2 мг/кг	39,1 ± 2,92*	3,6 ± 0,37*	2,6 ± 0,27*	2,4 ± 0,40*	52,3 ± 2,30*

П р и м і т к а: * – $p < 0,05$ щодо контролю.

Таким чином, препарат ПЕГ-Філстим в дозах 0,5 1,0 і 2,0 мг/кг за повторних підшкірних введень протягом 28 діб призводить до розвитку нейтрофільного лейкоцитозу та збільшення вмісту моноцитів, лімфоцитів і еозинофілів. У максимальній дозі 2,0 мг/кг досліджуваний препарат зменшує вміст еритроцитів і рівень гемоглобіну в крові.

Дані досліджень біохімічних показників сироватки крові щурів, які характеризують білковий, вуглеводний та ліпідний обміни, після 28-ми діб застосування препарату не виявили значних зрушень (табл. 4).

Окремі показники біохімічного аналізу крові щурів після 28-денного застосування препарату ПЕГ-Філстим ($M \pm m$)

Показник	Групи тварин			
	інтактний контроль	ПЕГ-Філстим		
		0,5 мг/кг	1 мг/кг	2 мг/кг
<i>Вихідні дані</i>				
АлАТ, Од/л	47,1 ± 2,03	–	–	–
АсАТ, Од/л	138,6 ± 5,92	–	–	–
ЛФ, Од/л	180,3 ± 15,6	–	–	–
Креатинін, мг/л	5,88 ± 0,22	–	–	–
Сечовина, ммоль/л	13,56 ± 0,55	–	–	–
Загальний білок, г/л	62,4 ± 1,21	–	–	–
Альбуміни, г/л	38,7 ± 0,49	–	–	–
Глобуліни, г/л	24,6 ± 1,22	–	–	–
Глюкоза, ммоль/л	7,65 ± 0,23	–	–	–
Холестерин, ммоль/л	1,23 ± 0,10	–	–	–
Тригліцериди, ммоль/л	0,596 ± 0,061	–	–	–
<i>29-та доба</i>				
АлАТ, Од/л	44,7 ± 1,35	45,5 ± 5,54	33,2 ± 2,69*	28,8 ± 3,38*
АсАТ, Од/л	140,8 ± 6,74	136,5 ± 6,18	129,7 ± 7,55	126,2 ± 8,99
ЛФ, Од/л	177,8 ± 14,9	277,5 ± 44,0	420,4 ± 68,5*	434,6 ± 63,9*
Креатинін, мг/л	5,97 ± 0,20	6,95 ± 0,34*	6,05 ± 0,29	4,66 ± 0,33*
Сечовина, ммоль/л	13,44 ± 0,52	14,74 ± 0,82	15,53 ± 1,48	11,99 ± 0,83
Загальний білок, г/л	63,3 ± 1,15	59,5 ± 1,47	64,5 ± 1,82	58,2 ± 1,26*
Альбуміни, г/л	38,2 ± 0,57	35,8 ± 0,80*	39,3 ± 0,41	36,5 ± 1,12
Глобуліни, г/л	25,0 ± 1,27	23,7 ± 1,63	25,2 ± 1,52	21,6 ± 0,54*
Глюкоза, ммоль/л	7,72 ± 0,17	8,28 ± 0,17*	7,84 ± 0,37	7,74 ± 0,56
Холестерин, ммоль/л	1,23 ± 0,10	1,35 ± 0,10	1,32 ± 0,06	1,12 ± 0,05
Тригліцериди, ммоль/л	0,601 ± 0,065	0,567 ± 0,062	0,432 ± 0,049	0,438 ± 0,046

Примітка: * – $p < 0,05$ щодо інтактного контролю.

Концентрація глюкози, загального холестерину, тригліцеридів, вміст загального білка, альбумінів і глобулінів у сироватці крові тварин хоча і характеризувалися деякими коливаннями показників між експериментальними групами (табл. 4), проте не виходили за межі фізіологічних норм для цього виду тварин [15].

Серед біохімічних методів, які застосовують під час вивчення нешкідливості хімічних речовин, велике значення приділяють визначенню активності ферментів-маркерів гепатоцитолізу – АлАТ і АсАТ. Результати наших досліджень свідчать, що повторне підшкірне введення щурам препарату ПЕГ-Філстим не впливало на активність АсАТ. При цьому показники активності АлАТ були значущо меншими щодо контрольних значень у разі застосування ПЕГ-Філстиму в дозах 1,0 та 2,0 мг/кг відповідно на 25,7% ($p < 0,05$) та 35,6% ($p < 0,05$). Однак такі зміни не мають істотного клінічного значення. Натомість активність лужної фосфатази в сироватці

крові щурів після 28-денного введення досліджуваного препарату в дозах 0,5, 1,0 та 2,0 мг/кг зросла на 56,1% ($p = 0,055$), 136,5% ($p < 0,05$) і 144,5% ($p < 0,05$) відповідно (табл. 4).

Рівень креатиніну характеризувався незначними коливаннями. Зокрема, в групі тварин, які отримували препарат ПЕГ-Філстим в дозі 0,5 мг/кг, концентрація креатиніну перевищувала показник контролю на 16,6% ($p < 0,05$). У тварин, яким вводили більш високі дози препарату, таких змін виявлено не було. Однак слід зазначити, що в усіх трьох досліджуваних групах вміст цього метаболіту в сироватці крові не виходив за межі фізіологічних величин. Рівень сечовини в сироватці крові дослідних груп тварин після тривалого введення досліджуваного препарату залишався на рівні контролю (табл. 4).

Встановлено, що у тварин, яким протягом 28 днів підшкірно вводили досліджуваний препарат в зазначених дозах, істотних змін показників сечі, які могли б свідчити про незворотні порушення функції нирок, не спостерігали (табл. 5).

Т а б л и ц я 5

Показники клінічного аналізу сечі щурів після 28-денного застосування препарату ПЕГ-Філстим ($M \pm m$)

Показник	Групи тварин			
	інтактний контроль	ПЕГ-Філстим		
		0,5 мг/кг	1 мг/кг	2 мг/кг
<i>Вихідні дані</i>				
Діурез, мл/добу	4,21 ± 0,16	–	–	–
Питома щільність	1,019 ± 0,002	–	–	–
pH	6,43 ± 0,13	–	–	–
Лейкоцити	0–1	–	–	–
Білок, г/л	4,35 ± 0,48	–	–	–
Глюкоза, ммоль/л	0,41 ± 0,08	–	–	–
Креатинін, мг/л	278,4 ± 37,6	–	–	–
<i>29-та доба</i>				
Діурез, мл/добу	4,46 ± 0,15	4,56 ± 0,19	4,13 ± 0,22	4,36 ± 0,20
Питома щільність	1,020 ± 0,002	1,019 ± 0,002	1,018 ± 0,002	1,021 ± 0,002
pH	6,35 ± 0,15	6,45 ± 0,12	6,50 ± 0,13	6,40 ± 0,12
Лейкоцити	0–1	0–1	0–1	0–1
Білок, г/л	4,39 ± 0,50	3,04 ± 0,66	3,71 ± 0,77	4,98 ± 0,84
Глюкоза, ммоль/л	0,44 ± 0,09	0,39 ± 0,09	0,41 ± 0,11	0,39 ± 0,08
Креатинін, мг/л	288,3 ± 40,5	256,5 ± 22,5	395,9 ± 54,2	279,2 ± 33,6

Кількість лейкоцитів у всіх групах була 0–1 у полі зору. Еритроцитів не виявлено. Показники вмісту білка, креатиніну і глюкози в групах щурів, яким вводили досліджуваний препарат, статистично вірогідно не відрізнялися від таких групи контролю. Таким чином, повторне підшкірне введення препарату ПЕГ-Філстим у дозах 0,5, 1,0 і 2,0 мг/кг впродовж 28 днів не призводить до порушення функціонального стану нирок дослідних тварин.

Висновки

1. Препарат ПЕГ-Філстим за умов щоденного підшкірного застосування в дозах 0,5 1,0 і 2,0 мг/кг протягом 28 діб не спричинює загибелі тварин, не здійснює токсичного впливу на загальний стан, поведінку, споживання їжі та води, приріст маси тіла лабораторних шурів.

2. За повторних введень у досліджуваних дозах препарат ПЕГ-Філстим не впливає на білковий, ліпідний, вуглеводний обмін та не порушує роботу сечовидільної і гепатобіліарної систем. Повторні введення ПЕГ-Філстиму призводять до підвищення активності лужної фосфатази в сироватці крові.

3. Препарат ПЕГ-Філстим у дозах 0,5 1,0 і 2,0 мг/кг за повторних підшкірних введень упродовж 28 діб призводить до розвитку вираженого нейтрофільного лейкоцитозу та збільшення вмісту моноцитів, лімфоцитів і еозинофілів. У максимальній дозі 2,0 мг/кг досліджуваний препарат зменшує вміст еритроцитів і рівень гемоглобіну в крові.

Список використаної літератури

1. Bretzel R. L. Jr., Cameron R., Gustas M. et al. Dose intensity in early-stage breast cancer: a community practice experience // J. Oncol. Pract. – 2009. – V. 5, N 6. – P. 287–290.

2. Kuderer N., Dale D., Crawford J., Lyman G. Impact of primary prophylaxis with granulocyte colony-stimulating factor on febrile neutropenia and mortality in adult cancer patients receiving chemotherapy: a systematic review // J. Clin. Oncol. – 2007. – V. 25. – P. 3158–6731.

3. Kubo K., Miyazaki Y., Murayama T. et al. A randomized, double-blind trial of pegfilgrastim versus filgrastim for the management of neutropenia during CHASE(R) chemotherapy for malignant lymphoma // Br. J. Haematol. – 2016. – V. 174 (4). – P. 563–570.

4. Zhou C., Huang Y., Wang D et al. A randomized multicenter phase III study of single administration of mecapefilgrastim (HHPG-19K), a pegfilgrastim biosimilar, for prophylaxis of chemotherapy-induced neutropenia in patients with advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC) // Clin. Lung. Cancer. – 2016. – V. 17 (2). – P. 119–127.

5. Yang B. B., Kido A. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of pegfilgrastim. // Clin. Pharmacokinet. – 2011. – V. 50 (5). – P. 295–306.

6. Holmes F. A., Jones S. E., O'Shaughnessy J. et al. Comparable efficacy and safety profiles of once-per-cycle pegfilgrastim and daily injection filgrastim in chemotherapy-induced neutropenia: a multicenter dose-finding study in women with breast cancer // Ann. Oncol. – 2002. – V. 13 (6). – P. 903–909.

7. Наказ МОЗ України № 944 від 14. 12. 2009 р. «Порядок проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів».

8. Стефанов О., Бухтіарова Т., Коваленко В. та ін. Настанова СТ-НМОЗУ 42-6.0:2008. Лікарські засоби. Належна лабораторна практика (видання офіційне). – К.: Моріон, 2009. – С. 37–68.

9. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18. 03. 1986. – Strasbourg, 1986. – 52 p.

10. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Метод. рекомендації / За ред. О. В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – 528 с.

11. Product Monograph. Neulasta® (pegfilgrastim). Sterile Solution for Injection (Subcutaneous Use Only) 6 mg (10 mg/mL). – Amgen Canada Inc., Date of Authorization: 21. 06. 2012. – 26 p.

12. *Баринов Э. Ф., Кот А. Г., Якубенко Е. Д., Буряк Л. А.* Оптимизация условий исследования функций почек в хроническом эксперименте // Физиол. журн. – 1987. – Т. 33, № 6. – С. 80–82.

13. Лабораторные исследования в клинике / Под ред. *В. В. Меньшикова* – М.: Медицина, 1987. – 365 с.

14. *Реброва О. Ю.* Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. 3-е изд. – М.: МедиаСфера, 2006. – 312 с.

15. Проблема нормы в токсикологии. (Современные представления и методические подходы, основные параметры и константы) / Под ред. проф. *И. М. Трахтенберга*. – М.: Медицина, 1991. – 204 с.

Надійшла до редакції 10 лютого 2017 року.

В. Л. Карбовский¹, И. А. Шевчук¹, О. В. Куркина¹, Т. Е. Маковская²

¹ООО «Фармацевтический завод "Биофарма"», Белая Церковь, Киевская обл.

²Главный военный медицинский госпиталь, г. Киев

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОДОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ПРЕПАРАТА ПЭГ-ФИЛСТИМ

Ключевые слова: филграстим, пэгфилсграстим, нейтропения, подострая токсичность, ПЭГ-Филстим

А Н Н О Т А Ц И Я

Фебрильная нейтропения, которая возникает в результате применения цитостатиков при лечении онкологических заболеваний, – частое осложнение, которое приводит к вынужденному уменьшению доз химиопрепаратов и снижению эффективности терапии. Внедрение в клиническую практику рекомбинантных форм естественного белка гранулоцитарного колониестимулирующего фактора позволило минимизировать негативные последствия миелосупрессивной терапии. Основной задачей исследования токсикологических характеристик лекарственных препаратов при повторных введениях является определение степени вредного воздействия фармакологического вещества, выявление наиболее чувствительных органов и систем организма.

Поэтому целью нашей работы было исследование подострой токсичности препарата ПЭГ-Филстим.

Изучение токсичности препарата ПЭГ-Филстим проведены на 50 белых нелинейных крысах обоего пола массой 170–230 г в условиях ежедневного (28 суток) подкожного введения в дозах 0,5, 1,0 и 2,0 мг/кг. В течение всего периода наблюдения регистрировали выживание, потребление воды и пищи, массу тела и проявления интоксикации. Во всех группах животных по окончании эксперимента определяли спонтанный суточный диурез, проводили общеклиническое исследование крови и мочи.

Результаты показали, что препарат ПЭГ-Филстим в условиях ежедневного подкожного применения в дозах 0,5, 1,0 и 2,0 мг/кг в течение 28 суток не приводит к гибели животных, не оказывает токсического воздействия на общее состояние, поведение, потребление пищи и воды, прирост массы тела лабораторных крыс. При

повторных введениях в исследуемых дозах ПЭГ-Филстим не влияет на белковый, липидный, углеводный обмен, не нарушает работу мочевыделительной и гепатобилиарной систем, однако увеличивает активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови. Препарат ПЭГ-Филстим приводит к развитию выраженного нейтрофильного лейкоцитоза и увеличению содержания моноцитов, лимфоцитов и эозинофилов. В максимальной дозе 2,0 мг/кг исследуемый препарат уменьшает содержание эритроцитов и уровень гемоглобина в крови.

V. L. Karbovskiy¹, I. A. Shevchuk¹, O. V. Kurkina¹, T. Ye. Makovska²

¹ LLC Pharmaceutical plant «Biopharma», Bila Tserkva, Kyiv region

² Main Military Clinical Hospital, Kyiv

STUDY OF PEG-FILSTIM SUB-ACUTE TOXICITY

Key words: filgrastim, pegfilgrastim, neutropenia, sub-acute toxicity, PEG-Filstim

A B S T R A C T

Febrile neutropenia caused by cytostatic therapy in the treatment of oncological diseases is a frequent complication, which results in enforced reduction in chemotherapy doses and lower effectiveness of the treatment. Introduction of the recombinant forms of the natural protein granulocyte colony-stimulating factor into clinical practice has allowed to minimize the negative consequences of myelosuppressive therapies. The main task of repeated dose toxicity studies of drugs is evaluation of damaging effects of the pharmacological substance, revealing the most sensitive organs and systems in the body.

Therefore, our work was aimed at studying sub-acute toxicity of PEG-Filstim.

Toxicity study of PEG-Filstim was performed in 50 white wild-type rats of both sexes with body weight 170 to 230 g on daily (28 days) subcutaneous administration in the doses of 0.5, 1.0 and 2.0 mg/kg. During the whole observational period, survival, water and food consumption, body weight and symptoms of intoxication were registered. After completion of the experiment, spontaneous diurnal diuresis was evaluated and clinical blood and urine examination performed in all groups of animals.

The results have shown that PEG-Filstim on daily subcutaneous administration in the doses of 0.5, 1.0 and 2.0 mg/kg during 28 days does not cause death in the animals, nor general toxic effects on health, behaviour, food and water consumption, body weight growth in laboratory rats. Upon repeated administration in the studied doses, PEG-Filstim does not affect protein, lipid, carbohydrate metabolism, does not impair functions of urinary and hepatobiliary systems, but increases blood serum alkaline phosphatase activity. PEG-Filstim causes development of pronounced neutrophil leucocytosis and increase in monocyte, lymphocyte and eosinophil count. In the maximum dose of 2.0 mg/kg the studied drug decreases blood red cell count and haemoglobin level.

Електронна адреса для листування з авторами: publication@biofarma.ua