

Регуляторные и методические аспекты изучения аллергизирующих свойств новых лекарственных средств на этапе доклинических исследований

* К. Л. Крышень, А. Е. Кательникова, А. А. Мужикян, М. Н. Макарова, В. Г. Макаров

Акционерное общество «Научно-производственное объединение «ДОМ ФАРМАЦИИ»,
Российская Федерация, 188663, Ленинградская обл.,
Всеволожский район, г.п. Кузьмолловский, ул. Заводская, д. 3, к. 245

Резюме. В связи с текущим переходом национальных требований к регистрации лекарственных средств на требования Евразийского экономического союза (ЕАЭС) вопрос оценки аллергизирующих свойств в рамках доклинических исследований носит дискуссионный характер. В работе рассмотрены механизмы и факторы, влияющие на развитие лекарственной гиперчувствительности, основные требования отечественных и зарубежных нормативных документов. Представлены результаты собственных исследований аллергизирующих свойств ряда препаратов с молекулярной массой действующего вещества более 1000 Да, и менее 1000 Да в стандартных тестах на морских свинках, таких как реакция системной анафилаксии и активной кожной анафилаксии. Анализ полученных данных подтверждает, что количество зарегистрированных случаев положительных реакций для высокомолекулярных соединений (>1000 Да) статистически значимо выше частоты случаев положительных реакций для низкомолекулярных соединений (<1000 Да). В ряде случаев были выявлены ложноположительные результаты. Результаты зарубежных исследований подтверждают отсутствие корреляции экспериментальных данных, полученных в аналогичных тестах на морских свинках, и клинических данных. Таким образом, использование стандартных тестов на морских свинках не дает возможности сделать адекватный прогноз развития аллергических реакций. Отрицательные и положительные результаты теста не следует расценивать как подтверждение потенциального отсутствия или наличия анафилактических реакций в клинической практике.

Ключевые слова: побочные реакции; аллергия; аллергизирующие свойства; лекарственные средства; доклинические исследования

Для цитирования: Крышень КЛ, Кательникова АЕ, Мужикян АА, Макарова МН, Макаров ВГ. Регуляторные и методические аспекты изучения аллергизирующих свойств новых лекарственных средств на этапе доклинических исследований. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2018; 8(1): 44–55. DOI: 10.30895/1991-2919-2018-8-1-44-55

* **Контактное лицо:** Крышень Кирилл Леонидович; kryshen.kl@doclinika.ru

Regulatory and Methodological Aspects of Studying Allergenic Properties of New Medicines at the Preclinical Stage

* K. L. Kryshen, A. E. Katelnikova, A. A. Muzhikyan, M. N. Makarova, V. G. Makarov

JSC Scientific-Production Association «HOME OF PHARMACY»,
3/245 Zavodskaya street, Kuzmolovsky settlement, Vsevolozhsky district,
Leningrad region 188663, Russian Federation

Abstract. The assessment of allergic risk at the preclinical stage of drug development has been a debatable issue due to the integration of national requirements for medicines authorisation with those of the Eurasian Economic Union (EAEU). The article summarises mechanisms and factors involved in the development of drug hypersensitivity, as well as the main national and foreign regulatory requirements. It also cites the results of allergic risk assessment studies involving standard guinea pig tests, such as systemic anaphylactic reactions and active cutaneous anaphylaxis, for a number of medicines with the molecular weight of the active substance of more than 1000 Da and less than 1000 Da. Data analysis confirms that the number of positive reactions for high molecular weight compounds (>1000 Da) is significantly higher than the number of positive reactions for low molecular weight compounds (<1000 Da). There were some false-positive results detected. The results of foreign studies confirm the lack of correlation between the experimental data obtained in similar tests in guinea pigs and the clinical data. Thus, standard tests in guinea pigs cannot adequately predict the risk of immediate hypersensitivity reactions to new medicines in clinical practice. Negative or positive results should not be regarded as confirmation of potential absence or presence of anaphylactic reactions in clinical practice.

Key words: adverse reactions; allergy; allergenic properties; medicines; preclinical trials

For citation: Kryshen KL, Katelnikova AE, Muzhikyan AA, Makarova MN, Makarov VG. Regulatory and Methodological Aspects of Studying Allergenic Properties of New Medicines at the Preclinical Stage. The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2018; 8(1): 44–55. DOI: 10.30895/1991-2919-2018-8-1-44-55

* **Contact person:** Kryshen Kirill Leonidovich; kryshen.kl@doclinika.ru

Развитие фармацевтического рынка является одним из основных отраслевых приоритетов государственной политики последних лет. С появлением большого количества новых лекарственных средств (ЛС), воспроизведенных ЛС и биоаналогов, комбинированных и гибридных ЛС возрастает потребность в проведении доклинических и клинических исследований.

Для успешной регистрации ЛС ключевым этапом является разработка программы исследований, которая должна включать в себя хорошо продуманное поэтапное описание всех планируемых видов доклинических и клинических исследований на основании регламентирующих документов и спецификации отдельно взятого лекарственного средства.

На сегодняшний день в обязательную программу доклинических исследований входит оценка алергизирующих свойств новых ЛС на лабораторных животных [1]. Однако в связи с текущим переходом национальных требований к регистрации лекарственных средств на требования Евразийского экономического союза (ЕАЭС) вопрос оценки алергизирующих свойств в рамках доклинических исследований носит дискуссионный характер. Так, в главе 1 тома 1 «Руководства по экспертизе лекарственных средств», подготовленной на основании ИСН МЗ(Р2), не содержится упоминания о необходимости изучения алергизирующих свойств [2, 3]. Аналогично вопрос изучения алергизирующих свойств не затрагивается в ГОСТ 56701–2015 по планированию доклинических исследований безопасности с целью последующего проведения клинических исследований и регистрации лекарственных средств [4].

Лекарственная аллергия или гиперчувствительность является важной социально значимой проблемой. По данным Всемирной организации по аллергии (WAO), побочные реакции на лекарства возникают примерно у 10 % жителей планеты, у 20 % пациентов, находящихся на стационарном лечении, и из них 10 % побочных реакций представляют собой непрогнозируемые реакции лекарственной гиперчувствительности [5].

Проблема гиперчувствительности состоит еще и в том, что невозможно точно спрогнозировать алергические реакции исходя из структуры, молекулярной массы и механизмов действия лекарственной субстанции. Лекарственная аллергия может развиваться на любой лекарственный препарат. Чаще всего алергенами являются антибиотики, витамины, нестероидные противовоспалительные средства, местные анестетики, рентгеноконтрастные вещества, плазмозаменители, гормоны, вакцины и сыворотки, а также вспомогательные средства, используемые в приготовлении лекарственных препаратов [5–7]. По данным ГНЦ «Институт иммунологии ФМБА России», в структуре всех амбулаторно выявленных алергических реакций в России 43 % реакций приходится на местные анестетики, 19 % на антибиотики, НПВС — 10 %, другие ЛС — 28 % [8].

Цель работы — описание механизмов и факторов, влияющих на развитие лекарственной гипер-

чувствительности, рассмотрение основных регуляторных аспектов для доклинических исследований, оценка существующих экспериментальных подходов по изучению реакций немедленного типа к лекарственным препаратам с учетом собственного и зарубежного опыта.

КЛАССИФИКАЦИЯ РЕАКЦИЙ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

Реакциями гиперчувствительности называют специфические нежелательные иммунитет-ассоциированные алергические реакции, которые приводят к повреждению тканей. Некоторые авторы используют термин «гиперчувствительность», подразумевая возникновение любой неблагоприятной реакции, независимо от того, имеет ли она иммунную этиологию или нет, что не совсем корректно [9].

Общепринятой и широко применяемой классификацией реакций гиперчувствительности является классификация по Gell и Coombs [10]:

- реакции немедленного типа (I тип, IgE-опосредованные);
- цитотоксические реакции (II тип, IgG- или IgM-опосредованные);
- иммунореакционные реакции (III тип, IgG-опосредованные);
- реакции замедленного типа (IV тип, опосредованные Т-лимфоцитами).

Указанные типы реакций гиперчувствительности не являются взаимоисключающими. Например, по клиническим данным и лабораторным исследованиям известные реакции к пенициллину можно отнести ко всем четырем категориям [9].

Некоторые исследователи и врачи предпочитают использовать другую классификацию, которая основывается на клинических проявлениях гиперчувствительности. Выделяют системные (анафилаксия, лекарственная лихорадка, сыпчатая болезнь) и органоспецифические варианты лекарственных алергических реакций. Основным органом-мишенью при лекарственной гиперчувствительности является кожа. В патологический процесс могут быть вовлечены и другие системы: система кроветворения (эозинофилия, цитопения, гемолитическая анемия), респираторная система (ринит, бронхоспазм, отек гортани, эозинофильный легочный инфильтрат), мочевыделительная система (гломерулонефрит, нефротический синдром, интерстициальный нефрит), гепатобилиарная система (гепатоцеллюлярные поражения, холестаза) [6].

По этой причине можно классифицировать реакции гиперчувствительности с точки зрения их клинического проявления, а затем рассматривать роль специфических антител (IgE, IgG или IgM) или цитотоксических Т-клеток, и/или воспалительных клеток в патогенезе побочной реакции.

МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

Глубокое понимание механизма развития гиперчувствительности к лекарственным средствам может помочь найти новые подходы в прогнозировании

вании алергизирующих свойств новых лекарственных средств еще на этапе доклинических исследований. Подробно механизмы развития лекарственной гиперчувствительности рассматриваются в обзорах D.J. Naisbitt и др. и B. Schnyder [9, 11]. По современным представлениям, развитие гиперчувствительности включает в себя метаболизм лекарственного средства, ковалентное связывание с белками, процессинг антигена и пролиферацию Т-клеток.

Основной гипотезой, описывающей механизм развития гиперчувствительности к химическим веществам, является гаптенная гипотеза, впервые предложенная еще К. Landsteine и J. Jacobs в 1935 году [12]. Для того чтобы вещество или его производное было иммуногеном, оно должно быть признано иммунной системой как чужеродное. В случае если иммунная система распознает вещество в исходном виде, то вещество называют прямым иммуногеном. К таким веществам относится, например, стрептокиназа [13]. Иммунная система способна распознать соединения с молекулярной массой свыше 1000 Да [14], и поэтому большинство малых молекул ксенобиотиков не являются прямыми иммуногенами и распознаются иммунной системой в виде гаптена — конъюгата химического соединения с высокомолекулярным белком-носителем. Минимальная сила связывания, необходимая для образования иммуногенного белкового конъюгата, неизвестна. Связи могут быть ковалентными или нековалентными. Например, множественные координационные связи с аминокислотами достаточны для иммунного ответа на металлы. Сульфаметоксазол может быть представлен Т-клеткам в нековалентной связи с главным комплексом гистосовместимости. Чем выше плотность гаптена, то есть количество молекул химического соединения, связанных с высокомолекулярным белком-носителем, тем больше антител распознают лекарственное средство [15].

Известно, что только небольшая часть химических веществ напрямую реагирует с белками клеток или плазмы, проявляя как фармакологическую эффективность, так и токсическое воздействие на организм. Большинство химических веществ подвергаются метаболизму, при котором образуются

активные соединения. Химические вещества или их метаболиты способны взаимодействовать как со свободными, циркулирующими в крови молекулами, так и с клеточными мембранными белками и липополисахаридами [16].

Следующим этапом в развитии иммунного ответа является процессинг гаптена в антиген-презентирующих клетках (АПК). Процессинг представляет собой механизм, посредством которого антиген-презентирующие клетки (дендритные клетки, макрофаги, В-лимфоциты) гидролизует белки на простые пептиды перед представлением Т-лимфоцитам. Белки главного комплекса гистосовместимости (МНС или HLA), экспрессируемые на всех антиген-презентирующих клетках, ответственны за представление антигенов лимфоцитам.

Высокомолекулярные белковые соединения (вакцины, моноклональные антитела и др.) в основном распознаются фолликулярными В-лимфоцитами лимфоузлов. В-лимфоциты способны специфически связывать, усваивать и обрабатывать белок с последующим представлением в виде пептида на своих молекулах МНС класса II Т-хелперам через Т-клеточный рецептор. Т-хелперы, в свою очередь, вырабатывают определенный пул цитокинов, и запускается клонообразование и созревание В-лимфоцитов до плазматических клеток. В зависимости от поляризации Т-хелперов (или соотношения Тх1/Тх2) плазматические клетки вырабатывают IgG или IgE, что, в свою очередь, определяет основные эффекторные механизмы развития гиперчувствительности (табл. 1).

Аллергические реакции на белковые препараты в основном опосредуются антителами. Связывание двух или более клеточных поверхностно-связанных IgE молекул с лекарством гаптенем приводит к активации тучных клеток и высвобождению медиаторов, таких как гистамин, лейкотриены, простагландины и цитокины. Это вызывает вазодилатацию, повышение проницаемости сосудов, усиление выработки слизи, бронхостеноз, приводящий к клиническим проявлениям крапивницы, или анафилаксии (тип I реакций). Образование иммунных комплексов между лекарственными средствами и специфическими антителами к лекарственному

Таблица 1

ОСНОВНЫЕ ЭФФЕКТОРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕАКЦИЙ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МАССЫ ДЕЙСТВУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ [11]

ЛС	Механизм	Субмеханизм
Высокомолекулярные	Тип I IgE-опосредованный	Дегрануляция тучных клеток/базофилов
	Тип III иммуннокомплексный IgG-опосредованный	Активация комплемента
Низкомолекулярные	Тип I IgE-опосредованный	Дегрануляция тучных клеток/базофилов
	Тип II IgG-опосредованная цитотоксичность	Лизис клеток
	Тип III иммуннокомплексный IgG-опосредованный	Активация комплемента
	Тип IV, опосредованный Т-клетками	Гаптен-опосредованное или прямое фармакологическое взаимодействие препарата с рецепторами иммунной системы

средству является частым. Клинические симптомы реакции типа III включают сывороточную болезнь, системную красную волчанку, геморрагический васкулит и др.

В случае низкомолекулярных соединений АПК представляет антиген в виде гаптена в региональных лимфоузлах как правило незрелым или наивным Т-лимфоцитам через взаимодействие МНС рецептора и Т-клеточного рецептора (TCR) с последующим запуском клонообразования и дифференцировки Т-хелперов (Тх, CD4⁺) или цитотоксических Т-лимфоцитов (Т-киллеры, CD8⁺). При этом возможно развитие всех типов аллергических реакций в зависимости от типа сенсibilизации, поляризации Т-хелперов, микроокружения цитокинов, генетических факторов и др. Подробнее об эффекторных механизмах реакций гиперчувствительности к низкомолекулярным лекарственным средствам и клинических симптомах сказано в обзорной публикации В. Schnyder и др. (рис. 1) [11].

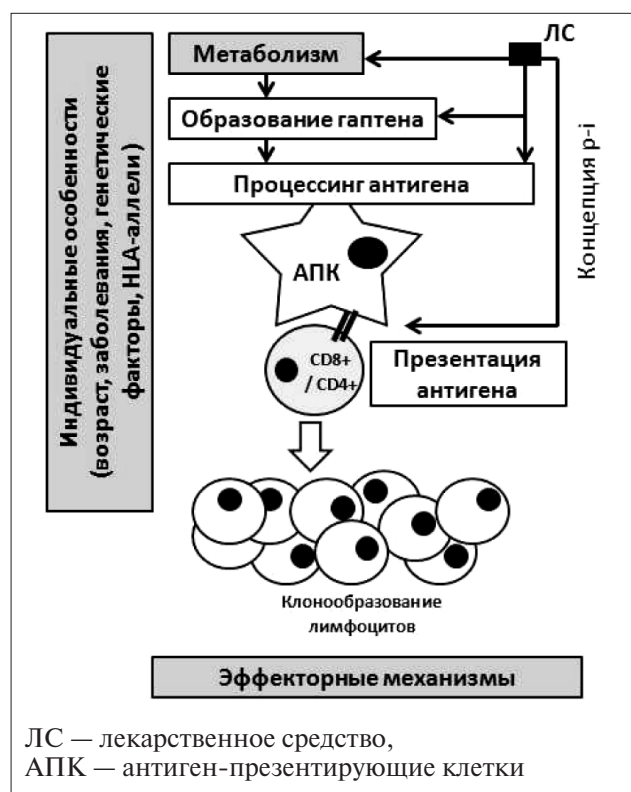


Рис. 1. Схематическое описание механизма развития аллергических реакций на лекарственные средства

Не так давно был описан дополнительный эффекторный механизм развития лекарственной аллергии к низкомолекулярным лекарственным средствам, а именно непосредственное нековалентное взаимодействие нативных низкомолекулярных ЛС с рецепторами иммунной системы (*p-i* концепт, концепция *p-i*) [17]. Эти нековалентные взаимодействия могут модифицировать средство между главным комплексом гистосовместимости (МНС), презентируемыми пептидами и рецепторами Т-клеток (TCR), и тем самым стимулировать

Т-клетки. Эта концепция объясняет иммунный ответ на инертное вещество, проявление аллергий на препараты в органах без их метаболизма, селективную стимуляцию Т-клеток (рис. 1). Модель *p-i* описана для сульфаметоксазола, лидокаина, мепивакаина, целекоксиба, карбамазепина и ответственна за развитие эритемы, контактного дерматита, острого экзантематозного пустулеза и токсического эпидермального некролиза [15].

Таким образом, препараты с небольшим молекулярным весом могут стать алергенными, если они ковалентно связываются с белками в качестве исходного химического вещества или его метаболитов. Иммуногенные лекарственно-белковые конъюгаты могут быть или не быть алергенными. Стимуляция реакции гиперчувствительности лекарственно-белковым конъюгатом зависит от многих факторов, таких как степень иммуногенности конъюгата (например, плотность гаптена), способ введения (пероральный, внутримышечный, внутривенный, местный), фармакокинетика и метаболизм лекарственного средства, генетические факторы хозяина и тип Т-клеток и/или тип вырабатываемых антител [15].

ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА РАЗВИТИЕ ЛЕКАРСТВЕННОЙ АЛЕРГИИ

Как было описано выше, молекулярная масса химического вещества является одним из основных факторов сенсibilизации. В целом чем выше молекулярная масса, тем мощнее иммунный ответ.

Баланс между метаболической активацией (образование реактивных форм) и детоксикацией (образование стабильных метаболитов) является одним из важных компонентов индивидуальной восприимчивости [9], который зависит от многих факторов, включая генетические особенности отдельного организма, окружающую среду, питание, прием других лекарственных средств, сопутствующие заболевания [16].

Существенным в развитии сенсibilизации является путь введения лекарственного средства. Например, местное применение пенициллина ассоциировано с высоким риском развития аллергических реакций. Поэтому пенициллин не используется при подкожном пути введения. Инъекции пенициллина в качестве депо также характеризуются высокой частотой сенсibilизации. А наименьшая частота аллергических реакций на пенициллин наблюдается после пероральной терапии.

Пол и возраст — факторы, которые также влияют на развитие аллергических реакций. Больше мужчин, чем женщин, как правило, страдают от аллергии. Например, у детей и пожилых людей аллергические реакции встречаются значительно реже, чем у молодых людей [15].

Здоровье и клиническая история пациента могут влиять на развитие реакций гиперчувствительности к лекарственным средствам. Например, вирусные и аутоиммунные заболевания могут быть причиной высокой чувствительности. Существует так называемая гипотеза опасности, используемая

для объяснения механизма развития толерантности или, наоборот, выраженного иммунного ответа [9].

РЕГУЛЯТОРНЫЕ АСПЕКТЫ ОЦЕНКИ АЛЛЕРГИЗИРУЮЩИХ СВОЙСТВ В ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

На текущий момент при формировании программы доклинических исследований производители лекарственных средств и исследовательские центры опираются главным образом на «Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств», согласно которому изучению алергизирующих свойств подлежат субстанции и все лекарственные формы вновь разрабатываемых ЛС. Там же описаны тесты по оценке анафилактической активности, ряд кожных тестов, тесты по оценке реакций гиперчувствительности замедленного типа и псевдоаллергических реакций [1].

С 6 мая 2017 г. национальные рынки обращения лекарственных средств пяти государств — членов ЕАЭС (Российская Федерация, Республика Беларусь, Кыргызская Республика, Республика Армения, Республика Казахстан) объединились и начали работу в формате единого пространства. В настоящее время Евразийской экономической комиссией по вопросам обеспечения качества ЛС разрабатывается множество регуляторных документов, включая фармакопею, гармонизированных с международными требованиями (документы ВОЗ, FDA, ЕМА и др.). До 31 декабря 2020 г. регистрация лекарственного препарата может осуществляться по национальной процедуре или процедуре ЕАЭС, а после 31 декабря 2020 г. только по процедуре ЕАЭС.

Среди международных рекомендаций относительно оценки алергизирующих свойств (реакций гиперчувствительности) новых лекарственных средств можно выделить два документа [18, 19]. Реакции гиперчувствительности рассматриваются этими руководствами только в контексте проявления иммунотоксичности — иммуносупрессии (угнетения иммунного ответа) или иммуностимуляции (усиления иммунного ответа). Усиление иммунного ответа может приводить к увеличению риска развития аутоиммунных заболеваний и/или проявления гиперчувствительности (аллергических реакций).

В руководстве ICH S8 [18] описана основная программа и схема изучения иммунотоксических свойств новых ЛС. Подчеркивается, что стандартных подходов к оценке риска проявления системных аллергических реакций (кроме реакций кожной сенсибилизации) или риска развития аутоиммунных патологий не существует. Отдельно оценка аллергических реакций не рассматривается. При этом оценку влияния ЛС на иммунный ответ предлагается проводить в рамках изучения хронической токсичности по изменению гематологических показателей крови, иммунокомпетентных органов, уровню глобулинов крови, увеличению случаев инфекционных заболеваний животных или частоты встречаемости опухолей. И только в случае наличия существенных изменений рекомендуется проводить дополнительные, детальные исследования иммунитета, что, безусловно, верно с точки зрения этиче-

ских принципов и сокращения количества животных в эксперименте.

В документе [19] достаточно подробно обобщена информация по существующим методам изучения иммунотоксических свойств, в том числе по оценке аллергических реакций всех четырех типов, а также псевдоаллергических реакций. Описанные в этом руководстве методы могут дать полезную информацию при планировании доклинических исследований. В частности, ряд методов рекомендуется для оценки риска развития реакций I типа для ингаляционных лекарственных средств.

Особое внимание уделено методологическим подходам по оценке реакций замедленного типа (IV тип реакций), рекомендованных для оценки сенсибилизирующего потенциала химических веществ и накожных лекарственных средств на предмет риска развития контактного дерматита (контактной сенсибилизации). Причем для некоторых из них существуют руководства OECD (Organization for Economic Cooperation and Development) Guidelines for testing of chemicals:

- 1) Test № 406: Skin Sensitisation;
- 2) Test № 429: Skin Sensitisation Local Lymph Node Assay;
- 3) Test № 442A: Skin Sensitization Local Lymph Node Assay: DA;
- 4) Test № 442B: Skin Sensitization Local Lymph Node Assay: BrdU-ELISA.

Руководству OECD № 406 соответствует межгосударственный стандарт [20], где описаны два широко используемых теста — максимизационный тест на морских свинках Магнуссона и Клигмана, который является адьювантным, и неадьювантный тест Бюхлера.

Экспериментальные животные подвергаются воздействию исследуемого вещества путем подкожной инъекции и/или накожного нанесения (индукционная экспозиция). Животные обрабатываются провокационной дозой в течение 10–14 сут (индукционный период), когда может развиваться иммунная реакция. Кожная реакция на провокационную дозу у подопытного животного сравнивается с реакцией у животных, которые подвергались фиктивному воздействию в индукционный период и получили провокационную дозу вещества.

При определенных обстоятельствах для получения необходимой информации о сенсибилизации использование других методов также является возможным. Иммунная система мыши исследована более подробно, чем иммунная система морской свинки. Были разработаны модели для оценки сенсибилизационного потенциала на мышах, обладающие рядом преимуществ, в частности, возможностью объективной оценки конечного результата испытания, короткой продолжительностью и минимальным курсом введения тестируемых объектов. Тест измерения отека уха мыши (mouse ear swelling test, MEST) и метод локальных лимфатических узлов (LLNA) считаются перспективными [20]. Оба метода прошли проверку в разных лабораториях, в результате было доказано, что с их помощью могут

выявляться умеренные и сильные сенсибилизаторы. Методы LLNA или MEST могут использоваться в качестве первого этапа оценки сенсибилизационного потенциала. Если в обоих испытаниях получен положительный результат, исследуемое вещество может быть признано потенциальным сенсибилизатором, и для него не потребуется проведение дальнейшего испытания на морских свинках. Однако, если в LLNA или MEST получают отрицательный результат, испытания на морских свинках (максимизационный тест или тест Бюхлера) должны проводиться с использованием процедуры, приведенной в OECD № 406 [20].

Стоит отметить, что широко применяемые в Российской Федерации методы по оценке аллергических реакций немедленного типа (тип I), такие как пассивная кожная анафилаксия (ПКА), активная кожная анафилаксия (АКА) и системная анафилаксия (СА) не являются стандартными и не рекомендуются документом [19] для рутинной оценки безопасности ЛС. На основании этих методов представлены результаты собственных исследований, проводимых в ходе рутинной практики испытательного центра.

СУЩЕСТВУЮЩИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ПОДХОДЫ ПО ИЗУЧЕНИЮ РЕАКЦИЙ НЕМЕДЛЕННОГО ТИПА

Системная анафилаксия

Системная анафилаксия развивается в течение нескольких минут после повторного введения антигена. Она может быть индуцирована почти у всех видов лабораторных животных, например крыс, мышей и морских свинок [15].

Морская свинка, как правило, является предпочтительным видом, так как легкие этого вида являются чрезвычайно чувствительным органом-мишенью. Так же как у человека, у морских свинок активация гистаминовых H1-рецепторов вызывает спазм гладких мышц трахеи и бронхов, увеличивает сосудистую проницаемость. Алергическое воспа-

ление легких у морских свинок соответствует астматическому состоянию у человека [21].

Чтобы вызвать системную анафилактическую реакцию, морских свинок сенсибилизируют посредством однократного или курсового введения испытуемого вещества.

Сенсибилизированные животные подвергаются испытанию после периода покоя разной продолжительности путем внутривенного или внутрисердечного введения химического вещества.

В руководстве [1] описана следующая методология проведения реакции системной анафилаксии: морским свинкам вводят исследуемый препарат в эффективной терапевтической дозе (1-я группа) и в дозе, в 10 раз ее превышающей (2-я группа); первая инъекция подкожно, две последующие внутримышечно через день в область бедра. Разрешающая инъекция — внутрисердечно или внутривенно на 14–21-е сут после сенсибилизирующей инъекции. Разрешающая доза должна быть равна суммарной сенсибилизирующей дозе. Разрешающая инъекция на 14–21-е сут вводится и контрольной группе животных, которым вводили только растворитель. Учет интенсивности анафилактического шока — в индексах по Weigle [22].

Активная кожная анафилаксия

Механизм развития активной кожной анафилаксии практически полностью соответствует механизму реакции общей анафилаксии: при сенсибилизации организма аллергеном происходит выработка антител, которые при повторном попадании аллергена в организм образуют комплекс «аллерген — антитело», провоцирующий активацию тучных клеток и выброс ими биологически активных веществ, медиаторов аллергии. Разница в указанных тестах заключается в том, что повторное введение препарата производится не системно (внутрисердечно), а локально (внутрикожно). В результате алергическая реакция охватывает не весь организм, а проявляется местно в виде увеличения проницаемости сосудов в области повторного введения препарата (рис. 2).

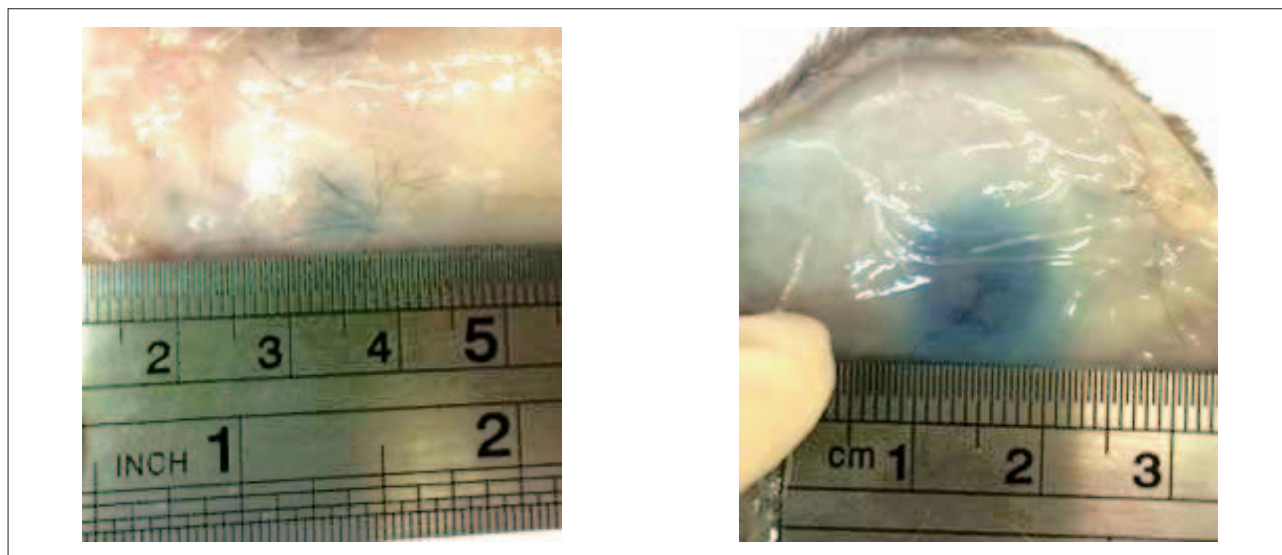


Рис. 2. Пример отрицательной (слева) с диаметром пятна <6 мм и положительной реакции с диаметром пятна 10 мм (справа)

Таблица 2

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ РЕАКЦИЙ НЕМЕДЛЕННОГО ТИПА В РЕАКЦИЯХ СИСТЕМНОЙ (СА) И АКТИВНОЙ КОЖНОЙ АНАФИЛАКСИИ (АКА) НА МОРСКИХ СВИНКАХ

Тестируемый объект (МНН)	Лекарственная форма	Молекулярная масса	Способ сенсibilизации (трехкратно, один раз в сут)	СА*	АКА*
Действующее вещество >1000 Да					
Вакцина для профилактики кори и паротита	Лиофилизат для приготовления раствора для п/к введения	>1000 Да	п/к, в/м, в/м	0/24	2/24
Вакцина полиомиелитная инактивированная	Суспензия для внутримышечного и подкожного введения	>1000 Да	п/к, в/м, в/м	0/24	0/24
Вакцина гриппозная инактивированная расщепленная	Раствор для внутримышечного введения	>1000 Да	п/к, в/м, в/м	8/24	8/24
Лизаты бактерий	Таблетки	>1000 Да	в/ж, в/ж, в/ж	—	33/40
Урофоллитропин	Лиофилизат для приготовления раствора для внутримышечного и подкожного введения	≈23 000 Да	п/к, в/м, в/м	—	6/40
Гонадотропин хорионический	Лиофилизат для приготовления раствора для внутримышечного и подкожного введения	≈36 000 Да	в/м, в/м, в/м	15/40	13/40
Фоллитропин	Лиофилизат для приготовления раствора для п/к введения	≈22 700 Да	п/к, п/к, п/к	6/24	19/24
Инсулин аспарт	Раствор для п/к и в/в введения	≈5831 Да	п/к, п/к, п/к	3/24	2/24
Инсулин гларгин	Раствор для п/к введения	≈6062 Да	п/к, п/к, п/к	2/24	0/24
Альфа-1-кислый гликопротеин	Раствор для инфузий	≈41 000—43 000 Да	в/б, в/б, в/б	6/12	24/24
Пэгинтерферон альфа-2а	Раствор для п/к введения	≈40 000 Да	п/к, п/к, п/к	6/24	3/24
Простаты экстракт сухой	Суппозитории	>1000 Да	Ректально, ректально, ректально	0/12	0/12
Эноксапарин натрия	Раствор для инъекций	≈4500 Да	п/к, п/к, п/к	—	0/40
Ванкомицин гидрохлорид	Капсулы	≈1450 Да	в/ж, в/ж, в/ж	19/24#	—
В сумме				65/256	110/364
Действующее вещество <1000 Да					
Убидекаренон	Таблетки	≈863 Да	в/ж, в/ж, в/ж	0/12	0/12
Бицикломол	Таблетки	≈390 Да	в/ж, в/ж, в/ж	0/12	0/12
Рифабутин	Порошок для ингаляций	≈847 Да	Эндоотрахеально	8/24	20/24
Терифлуномид	Субстанция	≈270 Да	в/ж, в/ж, в/ж	—	2/20
Спарфлоксацин	Таблетки	≈392 Да	в/ж, в/ж, в/ж	0/24	0/24
Бетагистин	Таблетки для рассасывания	≈136 Да	в/ж, в/ж, в/ж	—	2/24
Мебеверин	Суспензия для приема внутрь	≈429 Да	в/ж, в/ж, в/ж	0/40	0/40
Урсодезоксихолевая кислота в комбинации с глицирризиновой кислотой	Капсулы	≈392 Да + 823 Да	в/ж, в/ж, в/ж	6/24	3/24
Рифампицин + изониазид	Таблетки	≈822 Да + 137 Да	в/ж, в/ж, в/ж	0/24	0/24
Аторвастатин	Таблетки	≈558 Да	в/ж, в/ж, в/ж	0/20	0/20
Ацетилсалициловая кислота	Таблетки	≈180 Да	в/ж, в/ж, в/ж	5/40	19/40
Валсартан	Таблетки	≈435 Да	в/ж, в/ж, в/ж	—	7/40
Аторвастатин + валсартан	Таблетки	≈558 Да + 435 Да	в/ж, в/ж, в/ж	—	6/40

Продолжение таблицы 2

Тестируемый объект (МНН)	Лекарственная форма	Молекулярная масса	Способ сенсibilизации (трехкратно, один раз в сут)	СА*	АКА*
Действующее вещество <1000 Да					
Нифедипин в комбинации	Мазь для ректального применения	≈346 Да	Ректально, ректально, ректально	0/12#	—
Ибупрофен	Таблетки	≈206 Да	в/ж, в/ж, в/ж	9/40	—
Хлорзоксазон	Субстанция	≈170 Да	в/ж, в/ж, в/ж	—	9/40
Левосетиризин + монтелукаст	Таблетки	≈389 Да + 586 Да	в/ж, в/ж, в/ж	4/20	—
Ибупрофен + кофеин	Таблетки	≈206 Да + 194 Да	в/ж, в/ж, в/ж	—	0/20
Гадопентетовая кислота	Раствор для в/в введения	≈938 Да	в/в, в/в, в/в	0/20	—
В сумме				32/312	68/404

Примечания. * — количество животных с положительной реакцией к общему количеству животных (самцы и самки), использованных для проведения реакции; # — были зарегистрированы ложноположительные результаты; п/к — подкожно, в/м — внутримышечно, в/б — внутрибрюшинно, в/ж — внутривенно.

Пассивная кожная анафилаксия

Объединенные сыворотки сенсibilизированных животных инъецируют интрадермально интактным животным, а испытуемое вещество, смешанное с красителем (обычно синим Эвансом), вводят внутривенно или внутрисердечно (обычно через 12–18 ч).

Результат взаимодействия антигена с антителом приводит к резкому локальному увеличению проницаемости сосудов. Поскольку тестируемое вещество смешивается с красителем, местная кожная реакция проявляется окрашенным синим пятном на коже морской свинки. Пассивная кожная анафилаксия может быть проведена как у морских свинок, так и у грызунов.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

За последние несколько лет на базе НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» было проведено более 120 экспериментальных работ по оценке алергизирующих свойств новых лекарственных средств в рамках подготовки досье для их регистрации на территории Российской Федерации. Исследования проводили в соответствии с рекомендациями [1].

В таблице 2 приведены результаты исследований алергизирующих свойств препаратов (включая комбинированные ЛС), различных по молекулярной массе, фармакологической группе и лекарственной форме, в тестах АКА и СА на морских свинках. Всего в таблице представлены результаты 33 экспериментальных работ, из них 18 исследований препаратов с молекулярной массой действующего вещества более 1000 Да и 15 — с молекулярной массой менее 1000 Да. Все исследования были одобрены для проведения биоэтической комиссией НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ».

Способ сенсibilизации выбирали на основании предполагаемого клинического пути приме-

нения с учетом готовой лекарственной формы и рекомендаций [1].

Для жидких лекарственных форм и лиофилизатов стадию разрешения (через 18–21 сут после сенсibilизации) проводили внутрисердечным (реакция СА) и внутрикожным (реакция АКА) введением готового раствора. В случае твердых и мягких лекарственных форм использовали раствор субстанции или комбинацию субстанций. Растворитель субстанций для внутрисердечного или внутрикожного введения, а также концентрацию подбирали отдельно.

Для проведения ретроспективного анализа полученных данных провели сравнение частоты положительных результатов по сумме для высокомолекулярных соединений и низкомолекулярных с помощью частотного критерия χ^2 , рассчитанного при помощи программного обеспечения Statistica 10.0. Можно уверенно заключить, что количество зарегистрированных случаев положительных реакций, как в тесте СА, так и в тесте АКА для высокомолекулярных соединений, статистически значимо ($p < 0,05$) выше частоты случаев положительных реакций для низкомолекулярных соединений.

Наиболее чувствительным способом сенсibilизации с точки зрения проявления реакции анафилаксии являлись парентеральные пути введения — подкожный, внутримышечный, внутрибрюшинный.

В некоторых случаях, например для лизата бактерий (фармакологическая группа иммуностимуляторов) при внутрижелудочном пути введения (аналог клинического пути перорального), регистрировали высокий процент положительных реакций в тесте АКА, связанный, прежде всего, с их прямым фармакологическим действием, что свидетельствует об антигенных свойствах бактериального лизата.

Высокую частоту проявления положительных реакций наблюдали для биотехнологических про-

дуктов, таких как фоллитропин и урофоллитропин, гонадотропин хорионический. Полученные результаты имеют низкое прогностическое значение, поскольку эти препараты как белки человека естественно являются антигенами для иммунной системы морской свинки.

Сенсибилизация морских свинок ванкомицином (трициклический антибиотик группы гликопептидов) характеризовалась высокой частотой развития реакции анафилактического шока у морских свинок. Однако развитие реакции, сопровождающейся признаками анафилактического шока, наблюдалось также и у несенсибилизированных животных после внутрисердечного введения раствора субстанции ванкомицина (контрольная группа). Обнаруженные эффекты, видимо, были связаны с развитием псевдоаллергической реакции.

Псевдоаллергические реакции имеют схожие клинические проявления, но их развитие связано с прямым или опосредованным высвобождением гистамина из тучных клеток и базофилов, происходящим под влиянием введенного лекарственного средства без вовлечения специфических иммунных механизмов. Известно, что ванкомицин способен вызывать дегрануляцию тучных клеток и базофилов с развитием симптомокомплекса, напоминающего клинические проявления классических аллергических реакций [23].

Среди низкомолекулярных соединений высокую частоту положительных реакций наблюдали после сенсибилизации животных ацетилсалициловой кислотой. Известно, что ацетилсалициловая кислота сдвигает метаболизм арахидоновой кислоты в сторону 5-липоксигеназного пути с последующим синтезом лейкотриеновых сульфидопептидов (LTC₄, LTD₄, LTE₄), которые, как известно, обладают сильным бронхосуживающим эффектом. Кроме

того, после приема аспирина увеличивается уровень простагландинов D₂ (PGD₂), который отражает активацию тучных клеток, повышение уровня гистамина и триптаза, играющих ключевую роль в развитии аллергических реакций немедленного типа [24].

Отдельно хотелось бы выделить исследование аллергизирующих свойств мази для ректального применения, содержащей в своем составе блокатор кальциевых каналов нифедипин. На этапе разрешения после внутрисердечного введения раствора субстанции нифедипин в экспериментальных группах у ряда животных отмечали беспокойство, судороги, атаксию с заваливанием на бок и затруднение дыхания. Был зарегистрирован один случай летального исхода.

Для исключения ложноположительных реакций у морских свинок с выявленными реакциями было изучено гистологическое строение легких, поскольку легкие являются главным органом-мишенью при развитии системной анафилаксии [21].

При анализе гистологических срезов у животных позитивного контроля (овальбумин) были обнаружены изменения, характерные для анафилактического шока: дисциркуляторные изменения в сосудах легких, формирование гиалиновых тромбов, развитие периваскулярного и диффузного отека легких, умеренная гистиоплазмочитарная и лимфоплазмочитарная инфильтрация периваскулярных пространств и обтурация просвета мелких и средних бронхов (рис. 3–5). В большинстве случаев отмечали спастические явления в сосудах легких. У животных с признаками анафилаксии после внутрисердечной инъекции нифедипина подобные изменения отсутствовали (рис. 6).

По результатам гистологического исследования выявленные реакции не были охарактеризованы как анафилактические и предположительно связаны с гипотензивным шоком при внутрисердечном

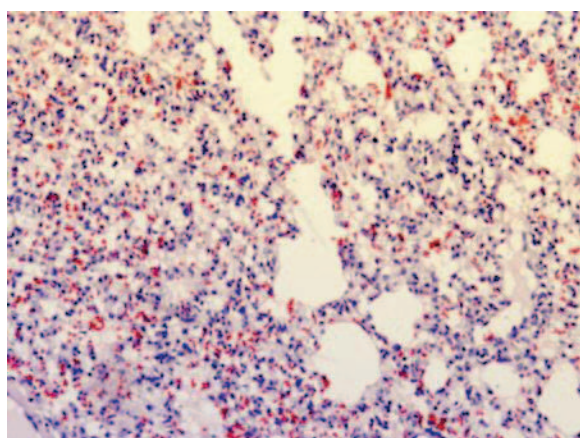


Рис. 3. Срез легкого. Положительный контроль — сенсибилизация и разрешение овальбумином. Отек и диффузная лимфоплазмочитарная инфильтрация. Окраска: гематоксиллин-эозин. Увеличение 100

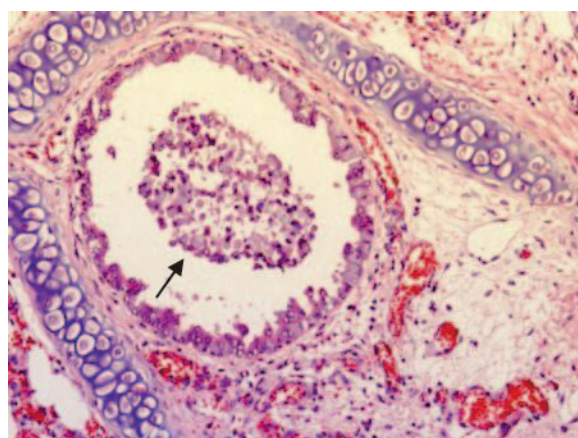


Рис. 4. Срез легкого. Положительный контроль — сенсибилизация и разрешение овальбумином. Обтурация просвета бронха серозно-слизистыми массами с небольшим количеством плазмочитов (стрелка). Окраска: гематоксиллин-эозин. Увеличение 100

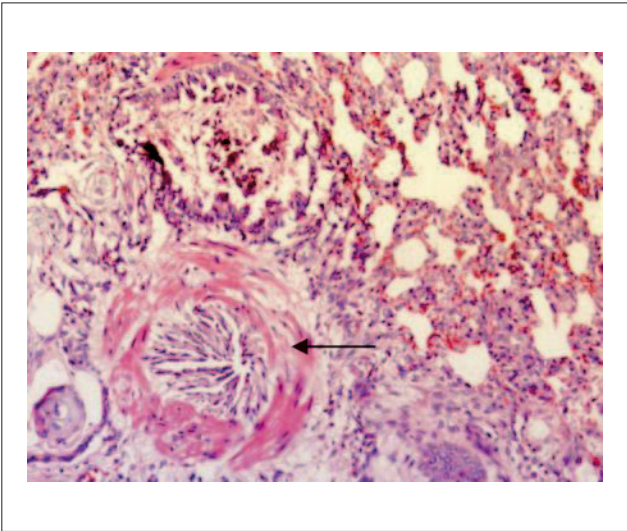


Рис. 5. Срез легкого. Положительный контроль — сенсibilизация и разрешение овальбумином. Спазмированная артерия (стрелка). Окраска: гематоксин-эозин. Увеличение 100

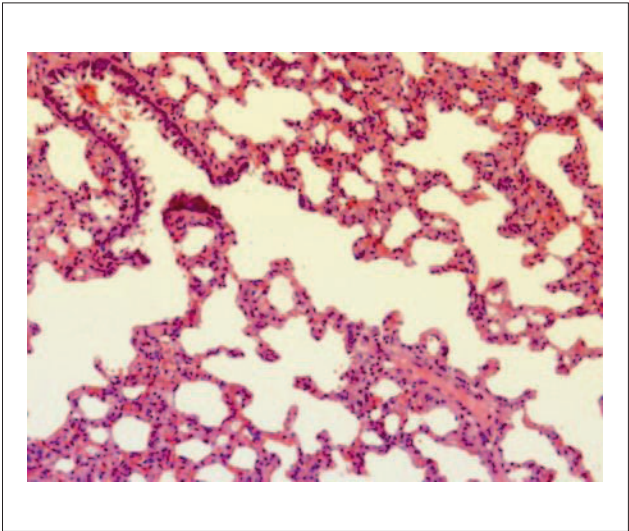


Рис. 6. Срез легкого. Сенсibilизация — мазь, содержащая в составе нифедипин. Разрешение — внутрисердечное введение нифедипина. Отсутствие изменений, характерных для анафилактического шока. Окраска: гематоксин-эозин. Увеличение 100

Таблица 3

**СРАВНЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ТЕСТОВ НА МОРСКИХ СВИНКАХ И КЛИНИЧЕСКИХ ДАННЫХ
ДЛЯ РАЗЛИЧНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ/СУБСТАНЦИЙ / ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ [26]**

Лекарственное средство/субстанция / вспомогательные вещества	Чувствительность в тестах на морских свинках	Клинические данные
Альтезин	+	++
Клоксациллин	+++	+
Пенициллин G	+++	+++
Хинин	+++	++
Хлорамин Т	+++	+++
Диизоцианат	+++	+++
Тримеллитик ангидрид	++	++
Салициловая кислота	0	0
Миконазол	0	0
Нафтидрофурил	0	0
Ацетон	0	0
Акролеин	0	0
Гентамицин	0	+
Канамицин	0	+
Феназон	0	+
Фенобарбитал	0	+
Пропиленгликоль	0	+
Соли меди	0	+
Клиохинол	+	0
Пропилгаллат	+++	0
Акрилонитрил	+++	0
Амилацетат	+	0
Анилин	+++	0

введении нифедипина, механизмом действия которого является блокада кальциевых каналов гладкой мускулатуры и кардиомиоцитов.

Таким образом, результаты собственных исследований демонстрируют ограниченность использования стандартных тестов, таких как АКА и СА, для оценки сенсибилизирующего потенциала как высокомолекулярных, так и низкомолекулярных соединений (за исключением высокореактивных веществ), высокую вероятность ложноположительных результатов. Стандартные тесты оказываются наиболее эффективными при изучении сенсибилизирующих (антигенных) свойств белковых препаратов с молекулярной массой активного компонента более 1000 Да. К подобному выводу приходят и зарубежные исследователи [25–27].

Авторами J.L. Weaver и др. [27] убедительно показано отсутствие корреляции экспериментальных и клинических данных. В работе авторов G. Choquet-Kastylevsky и J. Descotes [26] приведен сравнительный анализ экспериментальных и клинических данных некоторых лекарственных средств, субстанций и вспомогательных компонентов (табл. 3).

На текущий момент обязательной является оценка алергизирующих свойств готовых лекарственных средств в виде таблеток, капсул, растворов для инъекций, мазей и др. Но остается много методических вопросов к оценке системных аллергических реакций (реакций анафилаксии) в тестах на морских свинках. В частности, способ сенсибилизации (путь введения, курс), используемые дозы и концентрации при сенсибилизации и разрешении реакций, соответственно.

Очевидно, что использование стандартных тестов на морских свинках не дает возможности сделать адекватный прогноз развития аллергических реакций. Отрицательные и положительные результаты не следует расценивать как подтверждение потенциального отсутствия или наличия анафилактических реакций в клинической практике.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, можно заключить, что на сегодняшний день не существует адекватных моделей на животных, позволяющих корректно оценить риск развития реакций немедленного типа в клинической практике. Стандартные тесты на морских свинках, такие как реакция системной анафилаксии (анафилактический шок), активная и пассивная кожная анафилаксия, могут быть полезными, например, для сравнительного изучения антигенных свойств высокомолекулярных соединений, главным образом белковых молекул. Можно сделать вывод об ограниченности использования этих тестов для оценки безопасности новых лекарственных средств на этапе доклинических исследований. Представляется важным пересмотр методических стандартов к изучению алергизирующих свойств с учетом международных рекомендаций и этических принципов.

Авторы не заявили о конфликте интересов
The authors did not declare a conflict of interest

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М: Гриф и К; 2012. [Guidance on preclinical evaluation of medicines. Part 1. Moscow: Grif i K; 2012 (In Russ.)]
2. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. 1. М: Гриф и К; 2013. [Guidance on evaluation of medicines. V. I. Moscow: Grif i K; 2013 (In Russ.)]
3. ICH M3(R2) Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals M3(R2); 2009.
4. ГОСТ Р 56701-2015. Лекарственные средства для медицинского применения. Руководство по планированию доклинических исследований безопасности с целью последующего проведения клинических исследований и регистрации лекарственных средств. М.: Стандартинформ; 2016. [State Standard R 56701-2015. Medicinal products for medical use. Guidelines for the planning of preclinical safety studies for the purpose of subsequent clinical trials and registration of drugs. Moscow: Standartinform; 2016 (In Russ.)]
5. Сепиашвили РИ, Славянская ТА. Белая книга WAO по аллергии 2011–2012: резюме. М.: Медицина-Здоровье; 2011. [Sepiashvili RI, Slavyanskaya TA. WAO White book of Allergy 2011–2012: Resume. Moscow: Meditsina-Zdorovie; 2011 (In Russ.)]
6. Елисеева ТИ, Балаболкин ИИ. Аллергические реакции на лекарственные средства: современные представления (обзор). Современные технологии в медицине 2016; 8(1): 159–72. [Eliseeva TI, Balabolkin II. Allergic reactions to medicines: modern views (review). Modern Technologies in Medicine 2016; 8(1): 159–72 (In Russ.)]
7. Колодийчук ЕВ, Грудина ЕВ, Малашенкова ТЕ. Лекарственная аллергия. Медицинский вестник Северного Кавказа 2007; (2): 70–5. [Kolodijchuk EV, Grudina EV, Malashenkova TE. Drug Allergy. The Medical Bulletin of the North Caucasus 2007; (2): 70–5 (In Russ.)]
8. Хаитов РМ, Ильина НИ. Аллергология и иммунология: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2009. [Haitov RM, Ilyina NI. Allergology and Immunology: National Guideline. Moscow: GEOTAR-Media; 2009 (In Russ.)]
9. Naisbitt DJ, Gordon SF, Pirmohamed M, Park BK. Immunological Principles of Adverse Drug Reactions: the Initiation and Propagation of Immune Responses Elicited by Drug Treatment. Drug Saf 2000; 23(6): 483–507.
10. Gell PGH, Coombs RRA. Clinical Aspects of Immunology. Oxford-Edinburg; 1975.
11. Schnyder B, Brockow K. Pathogenesis of Drug Allergy — Current Concepts and Recent Insights. Clin Exp Allergy 2015; 45(9): 1376–83.
12. Landsteiner K, Jacobs J. Studies on the Sensitization of Animals with Simple Chemical Compounds. J Exp Med 1935; 61(5): 643–56.
13. Bugelski PJ. Genetic Aspects of Immune-Mediated Adverse Drug Effects. Nature 2005; (4): 59–69.
14. Park BK, Coleman JW, Kitteringham NR. Drug Disposition and Drug Hypersensitivity. Biochem Pharmacol. 1987; 36(5): 581–90.
15. Ratajczak HV. Drug-Induced Hypersensitivity. Toxicol Rev. 2004; 23(4): 265–80.
16. Новиков ПД, Новиков ДК. Механизмы аллергии на лекарства-гптены. Иммунопатология, аллергология, инфектология 2000; (4): 48–64. [Novikov PD, Novikov DK. Mechanisms of allergy to drugs-haptens. Immunopathology, Allergology, Infectology 2000; (4): 48–64 (In Russ.)]
17. Pichler WJ. Delayed Drug Hypersensitivity Reactions. Ann Intern Med. 2003; 139(8): 683–93.
18. ICH S8 Immunotoxicity Studies for Human Pharmaceuticals. U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Center for Biologics Evaluation and Research (CBER); 2006.
19. Immunotoxicology Evaluation of Investigational New Drugs. U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER); 2002.
20. Межгосударственный стандарт ГОСТ 32375-2013. Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Испытания по оценке кожной сенсибилизации. М.: Стандартинформ; 2014. [Interstate Standard GOST 32375-2013.

- Test methods for the effects of chemical products on the human body. Tests for the evaluation of skin sensitization. Moscow: Standartinform; 2014 (In Russ.)]
21. Ацапкина АА, Крышень КЛ, Касторнова АЕ, Макарова МН, Макаров ВГ. Иммунологический статус лабораторных животных при моделировании состояний гиперчувствительности немедленного типа. Международный вестник ветеринарии 2014; (1): 91–9. [Atsapkina AA, Kryshen KL, Kastornova AE, Makarova MN, Makarov VG. Immunological status of laboratory animals in the modeling of immediate-type hypersensitivity. International Veterinary Journal 2014; (1): 91–9 (In Russ.)]
22. Weigl WO, Cochrane CG, Dixon FJ. Anaphylactogenic Properties of Soluble Antigen-Antibody Complexes in the Guinea Pig and Rabbit. J Immunol. 1960; 85: 469–77.
23. Овчинникова ЕА, Овчинникова ЛК. Спектр безопасности ванкомицина. Качественная клиническая практика 2004; (2): 36–48. [Ovchinnikova EA, Ovchinnikova LK. Safety profile of vancomycin. Qualitative Clinical Practice 2004; (2): 36–48 (In Russ.)]
24. Jenneck C, Juergens U, Buecheler M, Novak N. Pathogenesis, Diagnosis, and Treatment of Aspirin Intolerance. Ann Allergy Asthma Immunol. 2007; 99(1): 13–21.
25. Chazal I, Verdier F, Virat M, Descotes J. Prediction of Drug-Induced Immediate Hypersensitivity in Guinea Pigs. Toxicol In Vitro 1994; 8(5): 1045–7.
26. Choquet-Kastylevsky G, Descotes J. Value of Animal Models for Predicting Hypersensitivity Reactions to Medicinal Products. Toxicology 1998; 129(1): 27–35.
27. Weaver JL, Staten D, Swann J, Armstrong G, Bates M, Hastings KL. Detection of Systemic Hypersensitivity to Drugs Using Standard Guinea Pig Assays. Toxicology 2003; 193(3): 203–17.

ОБ АВТОРАХ

Акционерное общество «Научно-производственное объединение «ДОМ ФАРМАЦИИ». Российская Федерация, 188663, Ленинградская обл., Всеволожский район, г.п. Кузьмолловский, ул. Заводская, д. 3, к. 245
Крышень Кирилл Леонидович. Руководитель отдела токсикологии и микробиологии, канд. биол. наук
Кательникова Анастасия Евгеньевна. Руководитель группы иммунобиологических лекарственных препаратов
Музыкян Арман Артушович. Руководитель лаборатории гистологии и патоморфологии, канд. вет. наук
Макарова Марина Николаевна. Директор, д-р мед. наук
Макаров Валерий Геннадьевич. Заместитель директора по науке, д-р мед. наук, проф.

Статья поступила 17.11.2017
Article was received 17 November 2017

AUTHORS

Joint Stock Company Scientific-Production Association «HOME OF PHARMACY», 3/245 Zavodskaya street, Kuzmolovsky settlement, Vsevolozhsky district, Leningrad region 188663, Russian Federation
Kirill L. Kryshen. Head of the Toxicology and Microbiology Department. Candidate of Biological Sciences
Anastasia E. Katelnikova. Head of the Immunobiological Medicines Group
Arman A. Muzhikyan. Head of the Histology and Pathomorphology Laboratory. Candidate of Veterinary Sciences
Marina N. Makarova. Director. Doctor of Medical Sciences
Valery G. Makarov. Deputy Director for Science. Doctor of Medical Sciences, Professor

Принята к печати 14.02.2018
Accepted for publication 14 February 2018