

А. Д. Дурнев, Л. П. Коваленко, Е. В. Шипаева, А. А. Спасов*, М. П. Самохина*, А. Е. Буланов**
НИИ фармакологии им. В. В. Закусова РАМН, ВолГМУ*, Российский НИИ здоровья**.

ОЦЕНКА АЛЛЕРГИЗИРУЮЩИХ СВОЙСТВ ПРЕПАРАТА «ДИАБЕТА»

УДК 615.252.349:615.065

В рамках проведения доклинического изучения аллергенности препарата «Диабета» выявлено, что после его введения не отмечено: увеличения интенсивности системной реакции анафилаксии; аллергических реакций замедленного типа; значимого изменения реакции воспаления на Кон А. Таким образом, результаты проведенного комплексного исследования позволяют заключить, что препарат «Диабета» не обладает аллергизирующими свойствами.

Ключевые слова: гимнема лесная, безопасность, сахарный диабет.

A. D. Durnev, L. P. Kovalenko, E. V. Shipaeva, A. A. Spasov, M. P. Samokhina, A. E. Bulanov

EVALUATION OF THE ALLERGIZING PROPERTIES OF THE DIABETA DRUG

A preclinical study of allergenicity of the diabeta drug revealed that its administration doesn't result in an intensified systemic anaphylactic reaction, inhibited allergic reactions, a significant change in an inflammatory reaction. The results of the comprehensive study proved that the diabeta drug has no allergizing effects.

Key words: gymnema silvestre, safety, diabetes mellitus.

Потенциальный антидиабетический препарат «Диабета» является оригинальным многокомпонентным препаратом природного происхождения на основе экстракта гимнемы лесной с добавлением экстрактов девясила и гребней винограда [патент РФ № 2289419 от 20.12.2004]. В ходе доклинического изучения препарата было выявлено, что он обладает гипогликемической активностью и может применяться в качестве средства при латентных формах диабета (преддиабет), в комплексном лечении инсулиннезависимого сахарного диабета, для пролонгации действия гипогликемических препаратов и регенерации в-клеток при сахарном диабете 1-го и 2-го типов, в качестве антиоксидантного и гемобиологического средства для профилактики развития макро- и микроангиопатий [3, 4].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценка аллергизирующих свойств препарата «Диабета». Задача исследования: доклиническое изучение его безопасности при сенсибилизации организма, реакции анафилаксии и гиперчувствительности замедленного типа, а также на конканавалин А — индуцированную реакцию воспаления.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на морских свинках альбиносах массой 250—300 г и на мышам-самцах линии СВА массой 18—20 г в соответствии с правилами лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 351000.3-96 и 51000.4-96). Состав препарата (на 1 г субстанции): сухой экстракт гимнемы лесной — 0,572 г, сухой экстракт девясила — 0,3 г, сухой экстракт гребней винограда — 0,128 г.

Изучение аллергизирующих свойств препарата «Диабета» проводили согласно «Методическим указаниям по оценке аллергизирующих свойств фармакологических веществ» [2]. Учитывая экспериментальное доказательство аллергенных свойств овальбумина, была выбрана модель сенсибилизации интактных морских свинок 0,6%-м раствором белка куриного яйца (БКЯ, основным аллергеном которого является овальбумин) [6].

В предварительной серии экспериментов изучали кожнораздражающее действие от внутрикожного (в/к) введения раствора препарата в концентрациях 0,1 мг/мл, 1 мг/кг, 10 мг/мл. В качестве разрешающей дозы было выбрано в/к введение «Диабета» (1 мг/мл).

Реакцию анафилаксии моделировали иммунизацией животных контрольной и опытных групп пероральным введением 0,6%-го раствора БКЯ в дозе 1 мл на 250 г массы тела в течение трех дней [2]. Через 12 дней после начала иммунизации БКЯ изучаемый препарат вводили внутривентриально в дозах 280 и 1400 мг/кг один раз в сутки на протяжении 3 дней. На следующие сутки животным опытных групп перорально вводили «Диабета» в тех же дозах, контрольным животным — дистиллированную воду. Через 1 час животным всех групп внутрисердечно вводили БКЯ в дозе 1 мг на 300 г массы тела, после чего регистрировали развитие анафилактической реакции. Вычисление анафилактического индекса по Weigle проводили по формуле:

$$\frac{(N \times 4) + (N_1 \times 3) + (N_2 \times 2) + (N_3 \times 1) + (N_4 \times 0)}{N + N_1 + N_2 + N_3 + N_4}$$

где N — число морских свинок, у которых наступила смерть; N₁ — число морских свинок, у которых развился тяжелый шок; N₂ — число морских свинок,

нок, у которых развился умеренный шок; N₃ — число морских свинок, у которых развился слабый шок; N₄ — морские свинки, у которых не наступило шока.

При гибели всех животных в группе индекс Weigle составлял 4(++++). При тяжелом шоке — 3(+++), при умеренном шоке — 2(++), при слабом шоке — 1(+), при отсутствии анафилактоидных реакций у морских свинок — индекс был равен 0 (2).

Влияние «Диабета» на конканавалин А (Кон А) — индуцированную реакцию воспаления. Опыты были проведены на мышах самцах линии СВА массой 20 г. Препарат «Диабета» вводили перорально в двух дозах: 280 мг/кг и 2800 мг/кг. Животным контрольной группы аналогичным способом вводили соответствующий объем растворителя. Через 1 час мышам подопытных и контрольной групп субплантарно вводили Кон А (20 мкл раствора в концентрации 5 мг/мл), в контрлатеральную конечность — тот же объем физиологического раствора. Индекс реакции воспаления (I_p) подсчитывали через 1 час по формуле:

$$I_p = (P_{оп} - P_k) / P_k \times 100 \%,$$

где P_{оп} — масса стопы, в подушечку которой вводили Кон А; P_к — масса стопы, в подушечку которой вводили физиологический раствор.

Реакция гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) моделировалась у 16 морских свинок альбиносов иммунизацией (однократно в подушечки задних конечностей) препаратом «Диабета» в дозах 280 и 1400 мг/кг в смеси с полным адьювантом Фрейнда (ПАФ). На 21-й день животным в/к вводили разрезающую дозу препарата (0,05 мл в концентрации 1 мг/мл на выстриженные участки спины).

Подготовка к работе первичных данных и расчеты проводились в среде пакета статистических программ (PSP) STATISTICA (версия 6.0) для WINDOWS. Статистический анализ данных проводился с помощью парного t-критерия Стьюдента, с поправкой Бонферони.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка анафилактогенной активности. В первой серии экспериментов препарат вводили двум опытным группам морских свинок в дозах 280 и 1400 мг/кг. При иммунизации животных контрольной и опытных групп у всех животных развивалась реакция анафилаксии различной степени тяжести. В результате проведенных экспериментов было показано, что после применения «Диабета» в дозах 280 и 1400 мг/кг не было отмечено усиления интенсивности системной реакции анафилаксии у животных опытных групп по сравнению с контролем (табл.). Индекс реакции у контрольной группы животных составил 2,2 (погибло 2 свинки из 10, у 2 животных определили тяжелый анафилактический шок, у 2 — умеренный шок, у 4 — слабый шок). В экспериментальной группе животных, получав-

ших изучаемый препарат в дозе 280 мг/кг, выявлены следующие результаты: гибель 3 свинок из 10, у 2 животных определялся умеренный анафилактический шок, у 5 свинок развился слабый шок (индекс реакции по Weigle составил 2,1). А в дозе 1400 мг/кг — гибель 2 свинок из 10, у 2 животных развился тяжелый анафилактический шок, у 6 свинок — слабый шок (индекс по Weigle — 2,0).

Влияние препарата «Диабета» на реакцию воспаления на Кон А

Группа	Число животных в группе	Индекс реакции
Контроль	10	23,7 ± 2,7
«Диабета» 280 мг/кг	10	22,7 ± 2,5
«Диабета» 1400 мг/кг	9	19,4 ± 2,6

После введения «Диабета» животным экспериментальных групп в изучаемых дозах не зафиксировано статистически значимого уменьшения интенсивности реакции воспаления на Кон А по сравнению с контролем (табл.). Кроме того, у всех животных контрольной и опытных групп, иммунизированных препаратом в дозах 280 и 1400 мг/кг, через 24 и 48 часов положительных реакций в месте в/к введения препарата не выявлено.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

После введения препарата «Диабета» в дозах 280 и 1400 мг/кг не отмечено увеличение интенсивности системной реакции анафилаксии, не установлено аллергических реакций замедленного типа при иммунизации препаратом в изучаемых дозах в смеси с ПАФ у животных опытных групп по сравнению с контрольными. После однократного введения препарата *per os* в дозах 280 и 2800 мг/кг мышам линии СВА не выявлено значимого изменения реакции воспаления на Кон А у животных опытных групп по сравнению с контрольными. Таким образом, результаты проведенного комплексного исследования позволяют заключить, что препарат «Диабета» не обладает аллергизирующими свойствами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Адо В. А., Горячкина Л. А. Подавление аллергических реакций низкомолекулярными соединениями. — Минск, 1971. — 40 с.
2. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. — М.: Медицина, 2000. — С. 25—32.
3. Спасов А. А., Самохина М. П., Буланов А. Е., и др. // Материалы XIV Национального конгресса «Человек и лекарство». — 2007. — С. 863.
4. Спасов А. А., Самохина М. П., Снугур Г. Л. и др. // Материалы III съезда фармакологов России — Фармакология практическому здравоохранению СПб. — 2007. — Т. 7 (2). — С. 1964.
5. Хлопушина Т. Г., Кринская А. В., Коваленко Л. П. // Бюлл. exper. биологии и медицины. — 1991. — № 7. — С. 67—69.
6. Kimber I., Kerkvliet N. I., Taylor S. L. // Toxicol. Sci. — 1999. — Vol. 48. — P. 1.