

**Петросян М.А., Толибова Г.Х., Полянских Л.С., Балашова Н.Н.,**

**Гончарук Д.А.\*, Шульга А.А.\*, Зейналов О.А.\***

**ОЦЕНКА ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ НОВОГО  
АНАЛОГА ГОРМОНА РОСТА НА МОДЕЛИ**

**ГИПОФИЗЭКТОМИРОВАННЫХ ЖИВОТНЫХ В TIBIA-ТЕСТЕ**

НИИ Акушерства и Гинекологии имени Д.О.Отта СЗО РАМН, Санкт-Петербург, \* ООО «ФармГен Технологии» Москва, Россия

**Petrosyan M.A., Tolibova G.H., Polyanski L.S., Balashova N.N.,**

**Goncharuk D.A.\*, Schulga A.A.\*, Zeinalov O.A.\***

**PHARMACOLOGICAL ACTIVITY EVALUTION OF A NEW  
RECOMBINANT GROWTH HORMONE ANALOGUE IN TIBIA-TEST**

D.O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Russian Academy of Medical Sciences, Saint-Petersburg, \* Limited Liability Company "PharmGene Technology", Moscow, Russia

Проблема недостаточности соматотропной функции гипофиза в настоящее время является очень актуальной как у взрослых, так и детей. По статистике, один из 15 тысяч жителей нашей планеты страдает болезнью "маленького роста". Только в России около 10 тыс. детей нуждаются в соматотропной заместительной терапии. Причин дефицита гормона роста (ГР) может быть множество, и все они так или иначе приводят к снижению уровня и продолжительности жизни.

Исследования последних лет свидетельствуют о значительной гетерогенности клинической картины этого состояния в зависимости от этиологии и типа дефицита ГР. Одной из причин могут быть оперативные вмешательства по поводу аденом гипофиза. Большую группу больных составляют пациенты с различными видами патологий центральной нервной системы, возникшими внутриутробно или в раннем детском возрасте. В основе

таких патологий лежит недоразвитие, киста, атрофия или отсутствие гипофиза. Важную роль в развитии заболевания играют инфекционные и токсические повреждения как гипофиза, так и гипоталамуса (внутриутробные вирусные инфекции, заболевания в раннем возрасте, туберкулез, малярия, менингоэнцефалит, сепсис). Кроме того, низкорослость может быть проявлением хромосомных аномалий (синдром Шерешевского-Тернера, синдром Нунан, Сильвера-Рассела и др.), внутриутробной задержки роста, хронических соматических заболеваниях (хроническая почечная недостаточность, ревматические болезни и др.). Помимо низкорослости, недостаточность ГР сопровождается целым рядом метаболических нарушений: гиперхолестеринемией, снижением мышечной массы и толерантности к физическим нагрузкам, остеопенией, нарушением углеводного обмена, изменением иммунного статуса. Эти нарушения ведут к повышению заболеваемости, ранней инвалидизации и смертности взрослых пациентов с соматотропной недостаточностью. Однако, изменения в обменных процессах вследствие дефицита ГР часто начинают формироваться уже в детском возрасте и целесообразность проведения своевременной заместительной соматотропной терапии не вызывает сомнений. Таким образом, изучение ГР и биологических процессов, в которых он участвует, крайне важно, а увеличение потребности в ГР диктует необходимость создания новых высокоэффективных технологий производства для разработки новейших биомедицинских препаратов.

Соматотропный гормон (СТГ) имеет видовую специфичность. Ни один из СТГ животного происхождения не проявляет своей активности в организме человека. В свою очередь СТГ человека не активен в организме парнокопытных, однако стимулирует рост рыб, мышей, крыс и приматов. Крыса восприимчива к СТГ, выделенному из любого источника. На этом основан классический метод определения рост-стимулирующей активности СТГ – the tibia test.

Используемый в настоящей работе препарат ГР был получен на основе технологии, разработанной в ООО «ФармГен Технологии». Особенностью технологического процесса является глубинное культивирование рекомбинантного штамма *E. coli* с высоким объемным выходом целевого продукта (более 10 г/л), а также простой, экономичный, воспроизводимый и легко масштабируемый процесс выделения и очистки белка, гарантирующий получение гормона роста человека, лишённого N-концевого метионина и полностью идентичного по первичной структуре природному прототипу.

В наших исследованиях фармакологическая активность нового аналога СТГ изучалась в *tibia test* в сравнении с препаратом гормона роста компании «Ново Нордиск А/С» (Дания).

Самки крыс породы Вистар были гипофизэктомированы в возрасте 26-28 дней. В этот период масса тела животных составляла 40-60 г. Операция по удалению гипофиза проводилась под легким ингаляционным наркозом трансаурикулярным путем на специальном усовершенствованном стереотаксическом приборе. Конструкция и настройка прибора позволяла проведение высокоточных оперативных вмешательств у животных в позднем постнатальном периоде развития. Из самок успешно прошедших двухнедельный постоперационный период были сформированы три группы, одна из которых контрольная и две – подопытные. Самкам подопытных групп были проведены четырехдневные инъекции синтетического (рекомбинантного) СТГ, полученного в ООО «ФармГен Технологии» и препарата-сравнения компании «Ново Нордиск А/С» (Дания). Суммарная доза белкового гормона составила 120 мкг на животное. Препараты вводили ежедневно внутривентриально в водном забуференном растворе в объеме 200 мкл. Инъекции гормона роста были начаты после постоперационного периода, который составил 12-14 дней. Животные контрольной группы получали инъекции растворителя в аналогичном объеме, режиме и способе введения. Спустя 24 часа после последней инъекции животные были умерщвлены. Обе

большие берцовые кости, освобожденные от мягких тканей, заморожены на криостате и разрезаны в средне-сагиттальной плоскости. В течение 24-48 часов кости были зафиксированы в 10% нейтральном формалине, а затем окрашены нитратом серебра. Линейные измерения толщины эпифизарного хряща большой берцовой кости проводили на фотоматериале с использованием системы компьютерного анализа Видео-тест «Морфология» 5,0. С каждой пластины хряща выполнялось не менее 6-8 замеров. Полученные результаты сопоставлялись по группам и сравнивались с результатами, полученными от животных с не удаленным гипофизом аналогичной возрастной группы.

Взятие материала в каждой группе проводилось только после осмотра области турецкого седла и подтвержденного отсутствия гипофиза. Кроме того, при вскрытии животных были извлечены и взвешены органы мишени для гипофизарных гормонов – яичники и надпочечники, масса ( $M \pm SD$ , мг) которых у гипофизэктомированных животных во всех группах составила  $12,7 \pm 0,8$  и  $10,0 \pm 0,7$ , соответственно. При этом у крыс с не удаленным гипофизом –  $54,9 \pm 3,1$  и  $33,5 \pm 1,8$ , соответственно. Эти данные явились дополнительным подтверждением отсутствия стимулирующего влияния гипофиза на гормонзависимые органы. В течение всего эксперимента у всех прооперированных животных проводилась оценка динамики массы тела и длины хвоста в постоперационный период. Эти параметры учитывались при отборе кандидатур животных на введение препаратов, т.к. позволяли косвенно судить о влиянии гипофизарных гормонов.

При измерении толщины эпифизарного хряща правой и левой большой берцовой кости были получены следующие результаты. У животных получавших новый рекомбинантный гормон роста и препарат СТГ компании «Ново Нордиск А/С» (Дания) толщина эпифизарного хряща ( $M \pm SD$ , мкм) имела близкие значения и составляла: правая кость –  $295,9 \pm 16,8$  и  $307,1 \pm 28,4$ , соответственно; левая кость –  $320,6 \pm 21,9$  и  $282,3 \pm 24,5$ , соответственно. При этом у контрольных гипофизэктомированных животных, не леченных

гормоном роста, аналогичные показатели были на 100мкм ниже и составляли –  $198,3 \pm 14,0$  и  $180,7 \pm 11,9$ .

Таким образом, на основании проведенного экспериментального исследования на модели гипофизэктомированных животных в tibia test можно заключить, что новый отечественный рекомбинантный аналог гормона роста обладает выраженной соматотропной активностью, не уступающей зарубежному аналогу. Выбранная модель для оценки эффективности гормона роста является оптимальной моделью для изучения фармакологической активности новых синтетических и рекомбинантных аналогов гормонов гипофиза.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (Государственный контракт №8337р/13240 от 31.08.2010).