












## Специфическая активность и токсичность лиофилизированного препарата рекомбинантного гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора человека (*E. coli* BL21/pET-GST-6His-GM): исследования *in vitro* и *in vivo*

С.Г. Гамалей<sup>✉</sup> , Г.Г. Шими́на , Е.А. Вязовая , О.В. Симакова , Т.Г. Ядренкина , О.С. Таранов , В.В. Омигов , К.Ф. Емцова , Т.И. Есина , Е.А. Волосникова , Е.Д. Даниленко 

Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, р.п. Кольцово, Новосибирская область, 630559, Российская Федерация

✉ Гамалей Светлана Георгиевна; [gamaley\\_sg@vector.nsc.ru](mailto:gamaley_sg@vector.nsc.ru)

### РЕЗЮМЕ

**ВВЕДЕНИЕ.** Создание новых эффективных препаратов на основе гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) остается актуальной задачей, поскольку изучение биологических эффектов препарата открывает новые перспективы его клинического применения для лечения множества заболеваний — от онкологических и гематологических до нейродегенеративных. В связи с разработкой нового лиофилизированного препарата рекомбинантного человеческого ГМ-КСФ (рчГМ-КСФ) на основе штамма-продуцента *Escherichia coli* BL21/pET-GST-6His-GM необходима оценка его специфической активности и токсичности.

**ЦЕЛЬ.** Изучение специфической пролиферативной (*in vitro*) и гемопозэстимулирующей (*in vivo*) активности, а также острой и субхронической токсичности нового лиофилизированного препарата рчГМ-КСФ для подкожного введения.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.** Использовали лиофилизированный рчГМ-КСФ (штамм *E. coli* BL21/pET-GST-6His-GM) производства ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (Россия). Пролиферативную активность определяли на культуре клеток эритролейкемии человека TF-1 в ХТТ-тесте. Гемопозэстимулирующую активность оценивали на мышах линии СВА/Calac (самцы, возраст 2,0–2,5 мес.) с моделью миелосупрессии, индуцированной циклофосфамидом (200 мг/кг, внутривенно). Препарат рчГМ-КСФ вводили животным подкожно в дозе 90 мкг/кг в течение 4 сут. На 5 сут анализировали лейкограмму. Острую токсичность препарата оценивали при однократном подкожном введении самцам и самкам мышей линии ICR (500 и 1000 мкг/кг), субхроническую — при четырехкратном введении (90 мкг/кг). Через 1 и 7 сут оценивали массу и температуру тела, общий и биохимический анализы крови, проводили макро- и микроскопические исследования внутренних органов, включая сердце, легкое, печень, почки и др.

**РЕЗУЛЬТАТЫ.** Препарат рчГМ-КСФ проявлял выраженную пролиферативную активность на клетках TF-1 ( $ED_{50} = 0,48$  нг/мл). На мышах с миелосупрессией препарат приводил к увеличению числа сегментоядерных нейтрофилов в 2,1 раза относительно контроля. Однократное и многократное введение препарата рчГМ-КСФ не вызывало гибель животных, не влияло на массу и температуру тела, а также не приводило к значимым изменениям гематологических, биохимических показателей, макро- и микроскопической структуры органов.

**ВЫВОДЫ.** Новый лиофилизированный препарат рчГМ-КСФ продемонстрировал высокую пролиферативную и гемопозэстимулирующую активность, а также отсутствие выраженной острой и субхронической токсичности. Полученные результаты обосновывают перспективность дальнейшей фармацевтической разработки данного препарата в качестве эффективного и безопасного гемопозэстимулирующего средства.










**Ключевые слова:** гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор; рекомбинантные белки; рчГМ-КСФ; лиофилизированный препарат; пролиферативная активность; гемопозэ; острая токсичность; субхроническая токсичность; миелосупрессия; *in vitro*; *in vivo*

**Для цитирования:** Гамалей С.Г., Шими́на Г.Г., Вязовая Е.А., Симакова О.В., Ядренкина Т.Г., Таранов О.С., Омигов В.В., Емцова К.Ф., Есина Т.И., Волосникова Е.А., Даниленко Е.Д. Специфическая активность и токсичность лиофилизированного препарата рекомбинантного гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора человека (*E. coli* BL21/pET-GST-6His-GM): исследования *in vitro* и *in vivo*. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2026;26(1):108–118. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2026-26-1-108-118>

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках государственного задания ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121040200101-8).

**Потенциальный конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Specific activity and toxicity of lyophilized recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (*E. coli* BL21/pET-GST-6His-GM): *in vitro* and *in vivo* study

Svetlana G. Gamaley , Galina G. Shimina , Elena A. Vyazovaya ,  
Olga V. Simakova , Tatyana G. Yadrenkina , Oleg S. Taranov ,  
Vladimir V. Omigov , Ksenia F. Emtsova , Tatyana I. Esina ,  
Ekaterina A. Volosnikova , Elena D. Danilenko 

State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Koltsovo, Novosibirsk Region 630559, Russian Federation

✉ Svetlana G. Gamaley; [gamaley\\_sg@vector.nsc.ru](mailto:gamaley_sg@vector.nsc.ru)

### ABSTRACT

**INTRODUCTION.** The development of new effective drugs based on granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) remains a relevant objective: the study of the drug's biological effects opens new prospects for its clinical use in the treatment of a wide range of diseases – from oncological and hematological disorders to neurodegenerative conditions. Developing a new lyophilized recombinant human GM-CSF (rhGM-CSF) based on *Escherichia coli* BL21/pET-GST-6His-GM producer strain warrants an assessment of its specific activity and toxicity.

**AIM.** This study aimed to examine the specific proliferative activity (*in vitro*) and hematopoietic stimulatory effect (*in vivo*), as well as acute and subchronic toxicity of a new lyophilized rhGM-CSF preparation for subcutaneous administration.

**MATERIALS AND METHODS.** Lyophilized rhGM-CSF (strain *E. coli* BL21/pET-GST-6His-GM) produced by State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector” (Russia) was used in the study. The proliferative activity was assessed in the human erythroleukemia TF-1 cell culture by XTT assay. Hematopoietic stimulatory activity was assessed in male CBA/Calac mice subjected to cyclophosphamide-induced myelosuppression (200 mg/kg, intraperitoneally). The rhGM-CSF preparation was administered at a dose of 90 µg/kg subcutaneously daily for 4 days. A leukogram was calculated on Day 5. The acute toxicity of the preparation was assessed by a single subcutaneous administration to male and female ICR mice at 500 and 1,000 µg/kg, subchronic toxicity – by four subcutaneous administrations at 90 µg/kg. On Days 1 and 7, body weight, temperature, complete blood count, biochemical markers and internal organ histology (heart, lungs, liver, kidneys, etc.) were evaluated.

**RESULTS.** The rhGM-CSF preparation demonstrated pronounced proliferative activity on TF-1 cells ( $ED_{50}=0.48$  ng/mL). In mice with myelosuppression, the preparation resulted in a 2.1-fold increase in the number of segmented neutrophils compared to the control group. Single and repeated administration did not cause death of animals, did not affect body weight or temperature, nor did it result in significant changes of hematological or biochemical parameters or macro- and microscopic anatomy of organs.

**CONCLUSIONS.** The new lyophilized rhGM-CSF preparation has demonstrated high proliferative and hematopoietic stimulatory activity, as well as insignificant acute and subchronic toxicity. The obtained results substantiate further pharmaceutical development of the preparation as an effective and safe hematopoietic stimulatory agent.

**Keywords:** granulocyte-macrophage colony-stimulating factor; recombinant proteins; rhGM-CSF; lyophilized preparation; cell proliferation; hematopoiesis; acute toxicity; subchronic toxicity; myelosuppression; *in vitro*; *in vivo*

**For citation:** Gamaley S.G., Shimina G.G., Vyazovaya E.A., Simakova O.V., Yadrenkina T.G., Taranov O.S., Omigov V.V., Emtsova K.F., Esina T.I., Volosnikova E.A., Danilenko E.D. Specific activity and toxicity of lyophilized recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (*E. coli* BL21/pET-GST-6His-GM): *in vitro* and *in vivo* study. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2026;26(1):108–118. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2026-26-1-108-118>

**Funding.** The study was funded under State Assignment of the State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector” of Rosпотребнадзор for applied scientific research (R&D Registry No. 121040200101-8).

**Disclosure.** The authors declare no conflict of interest.

## ВВЕДЕНИЕ

Гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ) – гемопоэтический фактор роста, стимулирующий пролиферацию и активность гранулоцитов и макрофагов [1–4]. Это обусловило клиническое использование рекомбинантных аналогов ГМ-КСФ человека (рчГМ-КСФ) при заболеваниях, сопровождающихся миелосупрессией: при последствиях химио- и радиотерапии онкологических заболеваний, тяжелой хронической нейтропении, а также для мобилизации клеток периферической крови при трансплантации костного мозга [5–10]. Расширение знаний о биологических эффектах ГМ-КСФ открывает новые перспективы для его широкого клинического применения [2, 11].

Использование препаратов ГМ-КСФ сдерживается их высокой стоимостью и недостаточным присутствием на рынке, что обусловлено низкой продуктивностью штаммов-продуцентов. Ранее созданный в ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора рекомбинантный штамм *Escherichia coli* SG20050/p280\_2GM, содержащий тандем генов ГМ-КСФ [12], и разработанная технология очистки позволили получить рекомбинантный белок с высокой чистотой и пролиферативной активностью [13]. Однако это не привело к полному решению проблемы продуктивности из-за нестабильности плазмиды. С использованием нового подхода, основанного на технологии слитых белков [14], была сконструирована плазида, обеспечивающая синтез белка,

который содержал, помимо последовательности ГМ-КСФ человека, белок глутатион-S-трансферазу (GST). Продуктом нового штамма *E. coli* BL21/pET-GST-6His-GM являлся рекомбинантный белок, содержащий на N-конце остаток глицина, обладающий гемопоэзстимулирующей и пролиферативной активностью, сравнимой с эталонным препаратом (международный стандартный образец ГМ-КСФ ВОЗ) [15]. Выход белка достигал 8 мг из 1 г биомассы [15]. На основе этого белка была получена лекарственная форма – лиофилизат для подкожного введения. Однако для последующего применения препарата требуется его доклиническая оценка.

Цель работы – изучение специфической пролиферативной (*in vitro*) и гемопоэзстимулирующей (*in vivo*) активности, а также острой и субхронической токсичности нового лиофилизированного препарата рчГМ-КСФ для подкожного введения.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Материалы

**Исследуемый препарат.** Использовали препарат рчГМ-КСФ в форме лиофилизата для подкожного введения на основе субстанции, полученной из штамма *E. coli* BL21/pET-GST-6His-GM [15]. Состав лекарственной формы (на 1 мл раствора): 150 мкг рчГМ-КСФ (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора); 50 мг маннитола 5% (CAS № 69-65-8, ЕС № 200-711-8); 2,42 мг

трис(гидроксиметил)аминометан (CAS № 77-86-1, ЕС № 201-064-4); вода для инъекций («Гротекс», Россия, ЛП-002529) – до 1 мл.

**Культура клеток.** Для оценки специфической активности рчГМ-КСФ *in vitro* использовали клеточную линию TF-1 эритролейкемии костного мозга человека (Cell lines service GmbH, Германия)<sup>1</sup>. Клетки культивировали в полной среде RPMI-1640 с глутамином (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, Россия), содержащей 1% пенициллин-стрептомицин (Servicbio, Китай), 10% эмбриональную телячью сыворотку (ООО НПП «ПанЭко», Россия), а также 3 нг/мл интерлейкина 3 (ИЛ-3) или 5 нг/мл рчГМ-КСФ. Условия культивирования: температура 37 °С, 5% CO<sub>2</sub>, влажность 85%. Для экспериментов использовали клетки 3–4 пассажа после разморозки из криохранилища при температуре жидкого азота.

**Экспериментальные животные.** Изучение гемопозэстимулирующей активности проводили на самцах мышей линии CBA/Calac (2,0–2,5 мес.) массой 19–24 г в соответствии с нормативными требованиями<sup>2</sup>. Для исследования токсичности использовали самцов самок аутбредных мышей линии ICR (возраст 2,0–2,5 мес., масса 18–21 г). Мыши были получены из питомника ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (р.п. Кольцово, Новосибирская область). Животные прошли адаптационный карантин и содержались в стандартных условиях вивария со свободным доступом к пище и воде. Содержание и манипуляции с животными проводили в соответствии с требованиями Международной конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей<sup>3</sup>, а также Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях<sup>4</sup>. Протокол исследования был утвержден Биоэтической комиссией ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (протокол № 2 от 14.02.2024).

## Методы

**Определение активности лиофилизированного препарата рчГМ-КСФ *in vitro*.** Пролиферативную активность рчГМ-КСФ определяли на клетках TF-1 микрометодом в 96-луночных планшетах (Biologix, Китай) с использованием 2,3-бис-(2-метокси-4-нитро-5-сульфофенил)-2Н-тетраз-

олий-5-карбоксамидида (ХТТ, CDH, Индия) и феназин-метасульфата (PMS, CDH, Индия) [16, 17] с модификацией. В качестве эталонного препарата использовали международный стандартный образец ГМ-КСФ ВОЗ – 1st standard for granulocyte macrophage colony stimulating factor (NIBSC code: 88/646)<sup>5</sup>. Суспензию клеток TF-1 в полной среде RPMI (50 мкл, 10<sup>4</sup> клеток/лунку) инкубировали с препаратами рчГМ-КСФ (диапазон концентраций 8–0,125 нг/мл, 50 мкл/лунку) в течение 72 ч при температуре 37 °С, 5% CO<sub>2</sub> и влажности 85%. По окончании инкубации в каждую лунку вносили 50 мкл реагента ХТТ/PMS и через 3 ч измеряли оптическую плотность на планшетном спектрофотометре Varioskan LUX (Thermo Scientific, Сингапур) при длинах волн 490/620 нм. Каждое разведение препарата рчГМ-КСФ (исследуемого и стандартного) анализировали в пяти повторях. Рассчитывали среднее значение оптической плотности и определяли уровень пролиферативной активности (индекс пролиферации) в процентах относительно контроля (без добавления ГМ-КСФ). На основании графика зависимости индекса пролиферации от концентрации рчГМ-КСФ определяли величину ED<sub>50</sub> – концентрацию препарата, обеспечивающую двукратное увеличение пролиферативного ответа. Расчеты выполняли с использованием Microsoft Excel.

**Определение гемопозэстимулирующей активности лиофилизированного препарата рчГМ-КСФ *in vivo*.** Исследование проводили на 18 мышах линии CBA/Calac с цитостатической миелосупрессией, которую моделировали однократным внутрибрюшинным введением циклофосфида (Sigma-Aldrich, США) в дозе 200 мг/кг по ранее описанному методу [18] с модификацией. Мышей рандомизировали с учетом массы тела на три группы. Через 24 ч после введения циклофосфида животным опытной группы подкожно в течение 4 сут вводили рчГМ-КСФ в дозе 90 мкг/кг (0,2 мл), которая ранее была определена как эффективная [18]; животным контрольной группы – физиологический раствор. Третья группа (интактный контроль) не получала препаратов. На 5 сут у всех животных отбирали кровь из хвостовой вены. В образцах определяли общее количество лейкоцитов, лейкограмму [19] и абсолютное количество сегментоядерных

<sup>1</sup> [https://sputnik-group.com/catalog/section\\_1398684/](https://sputnik-group.com/catalog/section_1398684/)

<sup>2</sup> Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1. М.: Гриф и К; 2012.

<sup>3</sup> European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg; 1986. <https://norecopa.no/media/2iydns5h/ets-123-original.pdf>

<sup>4</sup> [https://ruslasa.ru/wp-content/uploads/2017/06/Directive\\_201063\\_rus.pdf](https://ruslasa.ru/wp-content/uploads/2017/06/Directive_201063_rus.pdf)

<sup>5</sup> WHO International Standard. 1st standard for granulocyte macrophage colony stimulating factor (human, rDNA derived). NIBSC code: 88/646. <https://nibsc.org/documents/ifu/88-646.pdf>

нейтрофилов. Уровень гемопозэстимулирующей активности рассчитывали как процентное отношение числа нейтрофилов крови опытных животных к контролю.

**Изучение токсичности лиофилизированного препарата рчГМ-КСФ при однократном и многократном введении.** Изучение токсичности препарата проводили в соответствии с общепринятыми подходами<sup>6</sup>. Для оценки острой токсичности мышей ICR рандомизировали по массе тела на три группы ( $n=20$ , 10 самцов и 10 самок). Мышам опытных групп 1 и 2 однократно подкожно вводили препарат рчГМ-КСФ в дозах 0,5 и 1 мг/кг, что превышало эффективную дозу в 5 и 11 раз соответственно. Животные контрольной группы получали эквивалентный объем физиологического раствора.

Для изучения субхронической токсичности мыши были разделены на 2 группы по 10 самцов и 10 самок в каждой. Животным опытной группы ежедневно в течение 4 сут подкожно вводили рчГМ-КСФ в эффективной дозе 90 мкг/кг (0,2 мл). Животные контрольной группы получали эквивалентный объем физиологического раствора по аналогичной схеме.

Через 1 сут после однократного или многократного введения проводили клиническое обследование животных (внешний вид, подвижность, поведенческие характеристики), а также физиологическое, гематологическое и биохимическое исследования. При физиологическом исследовании определяли температуру (термометр ТПЭМ-1, Россия) и массу тела (электронные весы SCOUT II SC 4010, OHAUS, США). Для гематологического и биохимического анализа у животных отбирали кровь из ретроорбитального синуса. В образцах крови с помощью автоматического гематологического анализатора MicroCC-20 Plus VET (США) определяли количество лейкоцитов, эритроцитов и тромбоцитов, содержание гемоглобина, показатели гематокрита и тромбокрита, а также проводили расчет лейкограммы [19]. Биохимические показатели определяли с помощью автоматического анализатора Miura 200 (I.S.E. S.r.l., Италия) с использованием коммерческих наборов (АО «Вектор-Бест», Россия).

Для патоморфологического исследования мышей выводили из эксперимента на 1 и 7 сут после однократного и окончания многократного введения препаратов методом дислокации шейных позвонков. Извлеченные внутренние

органы (сердце, легкое, печень, почки, надпочечники, селезенка, тимус, головной мозг, спинной мозг, регионарные лимфоузлы, желудок, тонкий и толстый кишечник, ткани из места введения, семенники/яичники) взвешивали на электронных весах GX-200 (AND, Япония) для расчета весовых индексов, фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина («БиоВитрум», Россия) в течение 48 ч и подвергали стандартной гистологической обработке с заливкой в парафин<sup>7</sup>. Парафиновые срезы толщиной 4–5 мкм готовили с помощью автоматического ротационного микротомы HM-360 (Германия), окрашивали гематоксилином и эозином, проводили микроскопию и микрофотосъемку (Axio Imager Z1, Zeiss, Германия) с использованием программы Axio Vision 4.8.2 (Zeiss, Германия).

**Статистическую обработку данных** проводили с использованием пакета программ Statgraphics, Vers 5.0 (Statistical Graphic Corp., США). Рассчитывали среднее арифметическое и ошибку среднего ( $M \pm m$ ). Для оценки межгрупповых различий применяли непараметрический  $H$ -критерий Краскела – Уоллиса; для попарных сравнений использовали  $U$ -критерий Манна – Уитни. Критический уровень значимости ( $p$ ) составлял 0,017 для трех попарных сравнений и 0,05 для двух [20].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### **Пролиферативная активность препарата рчГМ-КСФ в культуре клеток TF-1**

Специфическую активность препарата *in vitro* оценивали стандартным методом по его способности стимулировать пролиферацию клеточной линии TF-1, чувствительной к ГМ-КСФ<sup>8</sup> [21]. Графики «доза – эффект» для лиофилизированного препарата рчГМ-КСФ и стандартного образца ГМ-КСФ оказались практически идентичными (рис. 1). Значения  $ED_{50}$  для рчГМ-КСФ и стандартного образца составили 0,48 и 0,61 нг/мл соответственно, что свидетельствует об их эквивалентной активности. Полученные данные согласуются с нашими предыдущими результатами ( $ED_{50}$  0,3–0,4 нг/мл) [13] и литературными данными (0,01–0,6 нг/мл) [22].

### **Гемопозэстимулирующая активность препарата рчГМ-КСФ**

На модели цитостатической миелосупрессии, индуцированной циклофосфамидом (200 мг/кг), было показано выраженное угнетение

<sup>6</sup> Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств: (иммунобиологические лекарственные препараты). М.: Гриф и К; 2012.

<sup>7</sup> Там же.

<sup>8</sup> 01/2008:1641 Molgramostim concentrated solution. European Pharmacopoeia. 11th ed.; 2023.

кровотворения: снижение уровня лейкоцитов и сегментоядерных нейтрофилов в 8 и 40,7 раза соответственно к 5 сут (данные не приведены). Четырехкратное применение рчГМ-КСФ у мышей в дозе 90 мкг/кг вызывало на 5 сут после введения циклофосфида статистически значимое повышение абсолютного количества сегментоядерных нейтрофилов в 2,1 раза по сравнению с контролем (рис. 2А). Общее число лейкоцитов также имело выраженную тенденцию к увеличению под влиянием рчГМ-КСФ (рис. 2В).

### Острая токсичность препарата рчГМ-КСФ

Однократное подкожное введение рчГМ-КСФ мышам линии ICR в дозах 0,5 и 1 мг/кг (в 5 и 11 раз выше эффективной) не вызывало гибели животных, изменений в их поведении, массе и температуре тела, а также не влияло на гематологические показатели по сравнению с контролем (табл. S1, S2, опубликованы на сайте журнала в Приложении 1<sup>9</sup>).

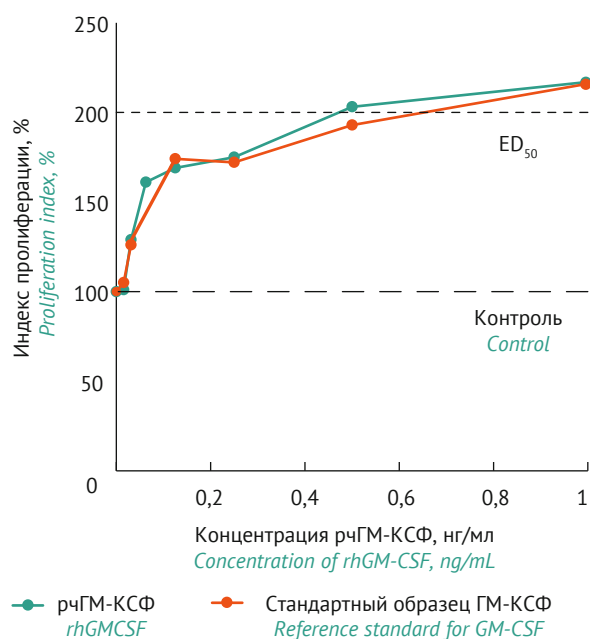


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure was prepared by the authors using their own data

**Рис. 1.** График зависимости пролиферативной активности лиофилизированного препарата рчГМ-КСФ и стандартного образца ГМ-КСФ в культуре клеток TF-1 от концентрации препарата. ED<sub>50</sub> — концентрация препарата рчГМ-КСФ, обеспечивающая двукратное увеличение пролиферативного ответа. Контроль — физиологический раствор.

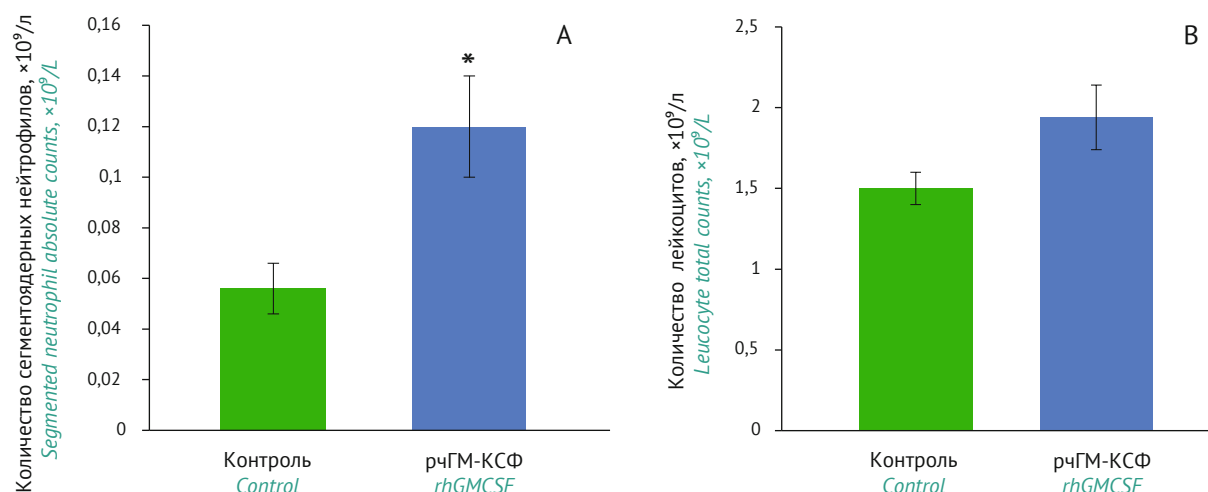
**Fig. 1.** Concentration-dependent proliferative activity of rhGM-CSF lyophilizate and reference standard for GM-CSF in TF-1 cell culture. ED<sub>50</sub>, drug concentration that provides a two-fold increase in the proliferative response. Control, saline.

Биохимический анализ крови мышей (табл. 1) не выявил существенного влияния рчГМ-КСФ на белковый (по уровню общего белка, альбумина, мочевины, активности аланинаминотрансферазы) и липидный обмен (по уровню холестерина и триглицеридов). Оценка углеводного обмена по содержанию глюкозы в крови показала, что в группе самок, получавших препарат в дозе 1 мг/кг, отмечалось умеренное повышение уровня глюкозы — на 27,8% через 1 сут после введения препарата, который нормализовался к 7 сут (табл. 1). Препарат не вызывал изменения активности амилазы крови самок и, следовательно, не оказывал токсического эффекта на структуру и функцию поджелудочной железы. У самцов существенных изменений этих показателей не выявлено. Полученные данные указывают на отсутствие токсического действия препарата на углеводный обмен.

Биохимические маркеры функции сердца (аспартатаминотрансфераза, креатинкиназа), печени (аланинаминотрансфераза, аспартатаминотрансфераза, щелочная фосфатаза) и поджелудочной железы (амилаза) оставались в норме, что указывает на отсутствие токсического воздействия препарата на сердечно-сосудистую и пищеварительную системы (табл. 1). Единственным статистически значимым изменением было незначительное и преходящее повышение активности щелочной фосфатазы (примерно на 10%) через 1 сут после введения дозы 1 мг/кг, отмеченное у самцов и самок. Умеренное транзиторное повышение активности фермента не сопровождалось гистологическими нарушениями структуры печени и желчевыводящих путей у мышей опытной группы (табл. 1), характерными для лекарственного токсического повреждения гепатоцитов (печеночно-клеточный механизм) или нарушения оттока желчи (холестатический механизм) [23]. Согласно данным М.Г. Ипатовой с соавт. [23], повышение активности щелочной фосфатазы при холестазах коррелирует с ростом уровня холестерина и триглицеридов, чего в нашем исследовании не наблюдалось. Учитывая незначительную величину изменений, можно заключить, что они не связаны с токсическим воздействием препарата на печень.

Препарат рчГМ-КСФ не вызывал изменений уровня мочевины и электролитов (калий, кальций, хлориды) в крови животных (табл. 1), а также гистологической картины почек (рис. S1), что свидетельствует об отсутствии влияния на выделительную систему.

<sup>9</sup> <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2026-26-1-108-118-annex1>



Рисунки подготовлены авторами по собственным данным / The figures were prepared by the authors using their own data

**Рис. 2.** Влияние лиофилизированного препарата рГМ-КСФ на гематологические показатели крови мышей линии CBA/Calac с цитостатической миелосупрессией (5 сут после введения циклофосамида): А – абсолютное количество сегментоядерных нейтрофилов; В – общее количество лейкоцитов крови. \* – статистически значимое отличие по сравнению с группой контроля (физиологический раствор),  $p \leq 0,05$ .

**Fig. 2.** Effect of rhGM-CSF lyophilizate on hematological blood parameters in CBA/Calac mice with cytostatic myelosuppression (5 days following cyclophosphamide administration): A, absolute number of segmented neutrophils in peripheral blood; B, total number of blood leukocytes. \*, statistically significant difference compared to the control group (saline),  $p \leq 0.05$ .

Весовые индексы внутренних органов самок мышей опытных групп не отличались от контрольных значений (табл. S3, Приложение 1). У самцов через 1 сут после введения препарата наблюдалось снижение весового индекса тимуса на 16,9% ( $59,5 \pm 1,9$  против  $71,6 \pm 3,4$  мг/г) с сохранением этой тенденции к 7 сут. Для селезенки также выявлено снижение весового индекса через 7 сут – на 27% относительно контроля (табл. S3). Учитывая иммуномодулирующие свойства рГМ-КСФ, можно предположить, что эти изменения могут отражать перераспределение клеток в организме, связанное с миграцией клеток из органов иммунной системы. Однако гистологических признаков токсического воздействия рГМ-КСФ на органы и ткани, в том числе на органы иммунной системы, обнаружено не было (рис. S1).

#### Субхроническая токсичность препарата рГМ-КСФ

Четырехкратное подкожное введение рГМ-КСФ мышам линии ICR в эффективной дозе (90 мкг/кг) не приводило к гибели животных и появлению клинических признаков токсической реакции. Значимых изменений гематологических и биохимических показателей не выявлено, что свидетельствует об отсутствии токсического воздействия на систему крови, основные физиологические системы (сердечно-сосудистая, пищеварительная и выделительная) и обменные

процессы (табл. S4, S5, опубликованы на сайте журнала в Приложении 2<sup>10</sup>). Обнаруженное незначительное снижение уровня калия у самцов на 7 сут (на 12,4%) не позволяет говорить о нарушениях электролитного обмена (табл. S5). Макроскопическое и гистологическое исследование органов подтвердили отсутствие патологических изменений (рис. S2, Приложение 2).

Весовые индексы органов самцов мышей через 1 сут после окончания введения препарата рГМ-КСФ не отличались от контрольных показателей. У самок выявлено умеренное статистически значимое снижение весового индекса левой почки на 7 сут (на 13,3%), что, вероятно, связано с изменением тонуса сосудов органа. В этот же период в группе самок отмечена тенденция к незначительному (на 9–11%) снижению весовых индексов тимуса и селезенки (табл. 2).

Таким образом, лиофилизированный препарат рГМ-КСФ не проявлял токсического действия как при многократном введении мышам в эффективной дозе, так и при однократном введении в дозах, в 5–11 раз превышающих эффективную, что подтверждено отсутствием изменений в клиническом состоянии, поведении, физиологических функциях, обменных процессах, макро- и микроструктуре органов.

В настоящем исследовании продемонстрирована высокая специфическая активность препарата рГМ-КСФ в культуре клеток и на мышах,

<sup>10</sup> <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2026-26-1-108-118-annex2>

**Таблица 1.** Биохимические показатели крови самцов и самок мышей линии ICR после однократного подкожного введения лиофилизированного препарата рЧГМ-КСФ  
**Table 1.** Biochemical blood parameters in male and female ICR mice following a single subcutaneous administration of rhGM-CSF lyophilizate

Наименование показателя <i>Parameter</i>	Пол животных <i>Sex</i>	Группа животных <i>Group of animals</i>					
		Контроль <i>Control</i>	рЧГМ-КСФ, 0,5 мг/кг <i>rhGM-CSF, 0.5 mg/kg</i>	рЧГМ-КСФ, 1 мг/кг <i>rhGM-CSF, 1 mg/kg</i>	Контроль <i>Control</i>	рЧГМ-КСФ, 0,5 мг/кг <i>rhGM-CSF, 0.5 mg/kg</i>	рЧГМ-КСФ, 1 мг/кг <i>rhGM-CSF, 1 mg/kg</i>
		Через 1 сут после введения <i>1 day following administration</i>			Через 7 сут после введения <i>7 days following administration</i>		
Общий белок, г/л <i>Total protein, g/L</i>	♂	52,3±0,7	50,0±0,8	54,0±0,6	56,3±1,1	56,7±1,9	54,5±1,1
	♀	52,9±0,8	50,9±1,6	55,8±0,9	59,9±1,9	56,9±1,8	59,7±0,7
Альбумин, г/л <i>Albumin, g/L</i>	♂	27,8±0,4	26,9±0,5	28,8±0,5	27,5±0,3	27,9±0,8	28,4±1,0
	♀	29,3±0,6	28,8±1,4	31,0±0,4	30,6±1,1	29,9±0,9	30,0±0,6
Мочевина, ммоль/л <i>Urea, mmol/L</i>	♂	3,3±0,3	3,5±0,4	2,8±0,4	3,6±0,3	3,9±0,2	3,3±0,3
	♀	2,5±0,3	1,8±0,3	2,8±0,3	3,7±0,3	3,0±0,1	3,6±0,3
Глюкоза, ммоль/л <i>Glucose, mmol/L</i>	♂	10,4±0,5	9,7±0,5	10,9±0,4	9,9±0,3	10,5±0,4	9,8±0,6
	♀	9,0±0,2	9,7±1,5	11,5±0,1*	8,6±0,3	9,2±0,4	9,6±0,3
Общий холестерин, ммоль/л <i>Total cholesterol, mmol/L</i>	♂	3,2±0,1	2,9±0,1	3,5±0,1	4,3±0,1	4,4±0,1	4,1±0,1
	♀	2,9±0,2	3,1±0,3	3,8±0,2	3,7±0,3	3,0±0,2	3,6±0,3
Триглицериды, ммоль/л <i>Triglycerides, mmol/L</i>	♂	2,3±0,1	1,8±0,3	1,8±0,1	2,4±0,2	2,6±0,3	2,4±0,2
	♀	2,1±0,1	1,8±0,1	2,1±0,2	2,8±0,2	2,8±0,4	3,8±0,4
Аланинминотрансфераза, Е/л <i>Alanine aminotransferase, U/L</i>	♂	35,8±3,4	33,6±6,1	35,1±2,4	35,6±2,0	45,5±1,7	39,3±2,3
	♀	26,9±1,5	31,9±2,7	31,4±1,3	40,2±3,0	37,7±2,3	39,2±0,9
Аспаратаминотрансфераза, Е/л <i>Aspartate aminotransferase, U/L</i>	♂	118,2±11,2	108,9±8,4	117,9±4,2	142,2±7,5	157,9±12,2	140,6±15,4
	♀	105,0±9,0	112,0±7,6	122,1±7,0	182,3±19,8	156,7±16,5	175,6±4,9
Щелочная фосфатаза, Е/л <i>Alkaline phosphatase, U/L</i>	♂	317,8±20,2	331,2±18,0	349,6±14,0*	338,6±23,2	328,0±26,2	336,0±21,3
	♀	316,0±16,1	330,8±22,4	347,8±14,2	346,6±32,4	334,2±25,6	334,2±8,5
Амилаза, Е/л <i>Amylase, U/L</i>	♂	696,7±17,9	713,1±50,3	802,1±29,8	1065,9±50,6	997,0±49,0	1012,0±70,2
	♀	830,5±62,5	731,2±51,1	818,8±37,3	1081,4±99,7	1156,4±89,4	1025,2±50,4
Креатинкиназа, Е/л <i>Creatine kinase, U/L</i>	♂	217,7±32,7	331,5±29,0	237,6±10,1	208,1±20,0	264,8±11,7	209,0±16,5
	♀	176,8±15,3	201,0±18,6	172,4±20,7	284,1±17,5	229,4±17,4	254,4±9,2
Калий, ммоль/л <i>Potassium, mmol/L</i>	♂	13,1±0,9	17,1±1,4	14,0±0,2	11,5±1,1	13,8±0,9	12,1±0,6
	♀	14,5±0,5	13,9±0,7	16,2±0,6	14,5±0,4	12,4±0,9	15,1±0,7
Кальций, ммоль/л <i>Calcium, mmol/L</i>	♂	2,5±0,2	2,7±0,3	2,2±0,0	2,7±0,1	2,4±0,2	2,3±0,1
	♀	2,4±0,2	2,0±0,0	2,5±0,3	2,5±0,1	2,4±0,1	2,5±0,1
Хлориды, ммоль/л <i>Chloride, mmol/L</i>	♂	112,0±0,7	111,1±1,1	113,9±0,8	107,2±1,3	105,4±1,4	108,8±1,2
	♀	115,6±1,2	116,4±1,8	117,7±0,6	112,3±0,4	110,6±1,5	115,0±1,0

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table was prepared by the authors using their own data

Примечание. \* – статистически значимое отличие от группы контроля (физиологический раствор),  $p \leq 0,017$ . Количество животных в группе:  $n=10$ .

Note. \*, statistically significant difference compared to the control group (saline),  $p \leq 0,017$ . The number of animals in each group was  $n=10$ .

**Таблица 2.** Относительная масса внутренних органов самок мышей линии ICR после четырехкратного подкожного введения лиофилизированного препарата рчГМ-КСФ

**Table 2.** Relative organ weights in female ICR mice following four subcutaneous administrations of rhGM-CSF lyophilizate

Группа животных <i>Group of animals</i>	Масса животного, г <i>Body weight, g</i>	Весовые индексы органов, ×10 мг/г / <i>Organ weight indices, ×10 mg/g</i>						
		Сердце <i>Heart</i>	Легкое <i>Lung</i>	Печень <i>Liver</i>	Почка / <i>Kidney</i>		Селезенка <i>Spleen</i>	Тимус <i>Thymus</i>
					левая <i>left</i>	правая <i>right</i>		
<b>Через 1 сут после окончания введения / 1 day following administration</b>								
Контроль / <i>Control</i>	22,4±0,4	52,0±1,4	82,0±2,5	555,8±29,7	59,9±2,6	65,3±3,2	65,0±5,5	59,0±4,0
рчГМ-КСФ, 90 мкг/кг <i>rhGM-CSF, 90 µg/kg</i>	22,2±0,2	52,2±1,2	74,5±2,6	544,3±23,9	60,9±1,9	66,3±3,2	54,2±3,5	70,8±3,9
<b>Через 7 сут после окончания введения / 7 days following administration</b>								
Контроль / <i>Control</i>	26,7±0,6	48,4±2,4	72,1±3,5	563,6±18,8	65,3±1,1	65,9±1,9	71,0±6,2	60,5±3,1
рчГМ-КСФ, 90 мкг/кг <i>rhGM-CSF, 90 µg/kg</i>	26,8±0,6	48,6±3,6	74,7±1,8	558,8±20,2	56,6±2,2*	57,9±2,8	64,5±5,4	54,1±1,9

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table was prepared by the authors using their own data

*Примечание.* \* – статистически значимое отличие по отношению к группе контроля (физиологический раствор),  $p < 0,05$ . Количество животных в группе:  $n=5$ .

*Note.* \*, statistically significant difference compared to the control group (saline),  $p < 0.05$ . The number of animals in each group was  $n=5$ .

а также показано отсутствие токсических свойств при однократном и многократном введении мышам. Полученные данные позволяют рекомендовать препарат рчГМ-КСФ для дальнейших доклинических исследований, включающих изучение общей токсичности на кроликах, иммунологической токсичности, алергизирующего действия и репродуктивной токсичности.

## ВЫВОДЫ

1. Препарат рчГМ-КСФ в форме лиофилизата для подкожного введения, полученный из штамма-продуцента *E. coli* BL21/pET-GST-6His-GM, продемонстрировал высокую специфическую активность: пролиферативную активность *in vitro* на клетках TF-1 и гемопоэстимулирующую активность *in vivo* на мышах с цитостатической миелосупрессией.
2. Препарат не обладал выраженной острой и субхронической токсичностью на мышах (самцах и самках) при подкожном введении: однократное введение в дозах, в 5–11 раз превышающих эффективную, и многократное введение в эффективной дозе не вызывали гибели животных, клинических признаков интоксикации, снижения массы и температуры тела, а также значимых и стойких изменений гематологических, биохимических показателей, макро- и микроскопической структуры органов.
3. Высокая специфическая активность и благоприятный профиль безопасности обосновывают перспективность дальнейшей фармацевтической разработки лиофилизированного препарата рчГМ-КСФ в качестве гемостимулирующего средства.

## Литература/References

1. Зурочка АВ, Гриценко ВА, Зурочка ВА и др. Гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ) и его синтетические аналоги: иммунобиологические эффекты и клиническое применение. Екатеринбург: УрО РАН; 2021. Zurochka AV, Gritsenko VA, Zurochka VA, et al. *Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) and its synthetic analogues: immunobiological effects and clinical application*. Ekaterinburg: UrO RAN; 2021 (In Russ.). EDN: LXCUQE
2. McCarthy J, Boyle N, McCarthy C. Recombinant GM-CSF drug evaluation review. *Immunotherapy*. 2025;17(14):983–93. <https://doi.org/10.1080/1750743X.2025.2571020>
3. Petrina M, Martin J, Basta S. Granulocyte macrophage colony-stimulating factor has come of age: From a vaccine adjuvant to antiviral immunotherapy. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2021;59:101–10. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2021.01.001>
4. Lazarus HM, Pitts K, Wang T, et al. Recombinant GM-CSF for diseases of GM-CSF insufficiency: Correcting dysfunctional mononuclear phagocyte disorders. *Front Immunol*. 2023;13:1069444. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1069444>
5. Dale DC, Crawford J, Klippel Z, et al. A systematic literature review of the efficacy, effectiveness, and safety of filgrastim. *Support Care Cancer*. 2018;26(1):7–20. <https://doi.org/10.1007/s00520-017-3854-x>
6. Rizzo A. Use of granulocyte colony-stimulating factor for adult cancer patients: current issues and future directions. *Future Oncol*. 2021;17(26):3411–5. <https://doi.org/10.2217/fon-2021-0678>
7. Mora J, Modak S, Kinsey J, et al. GM-CSF, G-CSF or no cytokine therapy with anti-GD2 immunotherapy for high-risk neuroblastoma. *Int J Cancer*. 2024;154(8):1340–64. <https://doi.org/10.1002/ijc.34815>

8. Obrador E, Salvador R, Villaescusa JI, et al. Radioprotection and radiomitigation: From the bench to clinical practice. *Biomedicines*. 2020;8(11):461. <https://doi.org/10.3390/biomedicines8110461>
9. Lazarus HM, Ragsdale CE, Gale RP, Lyman GH. Sargramostim (rhu GM-CSF) as cancer therapy (systematic review) and an immunomodulator. A drug before its time? *Front Immunol*. 2021;12:706186. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.706186>
10. Ma M, Yao L, Li M, et al. Granulopoiesis-stimulating factors to prevent adverse effects in the treatment of solid tumors. *Cochrane Database Syst Rev*. 2024(1):CD015656. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD015656>
11. Зурочка АВ, Зурочка ВА, Добрынина МА, Гриценко ВА. Иммунобиологические свойства гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора и синтетических пептидов его активного центра. *Медицинская иммунология*. 2021;23(5):1031–54. Zurochka AV, Zurochka VA, Dobrynina MA, Gritsenko VA. Immunobiological properties of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and synthetic peptides of his active center. *Medical Immunology (Russia)*. 2021;23(5):1031–54 (In Russ.). <https://doi.org/10.15789/1563-0625-IPO-2216>
12. Гилева ИП, Есина ТИ, Волосникова ЕА и др. Рекомбинантная плазмидная ДНК p280\_2GM, кодирующая полипептид со свойствами гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора человека, штамм *E.coli* SG 20050/p280\_2GM – продуцент полипептида со свойствами гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора человека и способ получения указанного полипептида. Патент Российской Федерации № 2708556; 2019. Gileva IP, Esina TI, Volosnikova EA, et al. Recombinant plasmid DNA p280\_2GM coding polypeptide with properties of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor of human, strain *Escherichia coli* SG 20050/p280\_2GM – producer of polypeptide with properties of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor of human and method of obtaining of said polypeptide. Patent of the Russian Federation No. 2708556; 2019 (In Russ.). EDN: [GEBQSI](https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.1c00757)
13. Esina TI, Lebedev LR, Volosnikova EA, et al. Method for obtaining recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Biotechnology in Russia*. 2019;3(3):68–73. EDN: [EBPUDB](https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.1c00757)
14. Qing R, Hao S, Smorodina E, et al. Protein design: From the aspect of water solubility and stability. *Chem Rev*. 2022;122(18):14085–179. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.1c00757>
15. Волосникова ЕА, Волкова НВ, Гогина ЯС и др. Остаток глицина на N-конце рекомбинантного GM-CSF не снижает его гранулоцитопозстимулирующую активность. *Биотехнология*. 2025;41(1):69–77. Volosnikova EA, Volkova NV, Gogina YS, et al. Glycine Residue at the N-terminus of recombinant GM-CSF does not decrease granulocyteopoiesis stimulating activity. *Biotechnology in Russia*. 2025;41(1):69–77 (In Russ.). <https://doi.org/10.56304/S0234275825010120>
16. Kitamura T, Tange T, Terasawa T, et al. Establishment and characterization of a unique human cell line that proliferates dependently on GM-CSF, IL-3, or erythropoietin. *J Cell Physiol*. 1989;140(2):323–34. <https://doi.org/10.1002/jcp.1041400219>
17. Гражданцева АА, Сиволюбова ГФ, Ткачева АВ и др. Высокоэффективная продукция биологически активного секретируемого гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора человека рекомбинантным вирусом оспавакцины. *Биотехнология*. 2015;31(5):13–21. EDN: VLDZWR Grazhdantseva AA, Sivolobova GF, Tkacheva AV, et al. Highly effective production of biologically active, secreted, human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor by recombinant vaccinia virus. *Appl Biochem Microbiol*. 2016;52(7):685–91. <https://doi.org/10.1134/S0003683816070036>
18. Шими́на ГГ, Батенева АВ, Гамалей СГ и др. Исследование гемостимулирующих свойств рекомбинантного гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора человека. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2020;20(4):268–76. Shimina GG, Bateneva AV, Gamaley SG, et al. Study on hemostimulating properties of granulocyte-macrophage colony stimulating factor. *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2020;20(4):268–76 (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2020-20-4-268-276>
19. Новицкий ВВ, Евтушенко ОМ. *Руководство к практическим занятиям по гематологии*. Томск: Сибирский медицинский университет; 1999. Novitskiy VV, Evtushenko OM. *A guide to practical studies on hematology*. Tomsk: Siberian Medical University; 1999 (In Russ.). EDN: [SIFWVP](https://doi.org/10.30895/2221-996X-2020-20-4-268-276)
20. Гржибовский АМ, Иванов СВ, Горбатова МА. Сравнение количественных данных трех и более независимых выборок с использованием программного обеспечения STATISTICA и SPSS: параметрические и непараметрические критерии. *Наука и здравоохранение*. 2016;(4):5–37. Grjibovski AM, Ivanov SV, Gorbatova MA. Analysis of quantitative data in three or more independent groups using STATISTICA and SPSS software: parametric and non-parametric tests. *Science & Healthcare*. 2016;(4):5–37 (In Russ.). EDN: [WKPWYL](https://doi.org/10.30895/2221-996X-2020-20-4-268-276)
21. Алпатова НА, Гайдерова ЛА, Яковлев АК и др. Особенности определения специфической активности биотехнологических лекарственных средств. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2017;17(1):13–26. Alpatova NA, Gayderova LA, Yakovlev AK, et al. Assessment of biotechnological products specific activity. *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2017;17(1):13–26 (In Russ.). EDN: [YHSSGL](https://doi.org/10.30895/2221-996X-2020-20-4-268-276)
22. Hercus TR, Bagley CJ, Cambareri B, et al. Specific human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor antagonists. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994;91(13):5838–42. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.13.5838>
23. Ипатов МГ, Мухина ЮГ, Шумилов ПВ. Интерпретация биохимического анализа крови при патологии печени. Синдром холестаза. Часть 2. *Практика педиатра*. 2017;(4):18–28. Ipatova MG, Mukhina YuG, Shumilov PV. Interpretation of biochemical blood test in liver pathology. Cholestasis syndrome. Part 2. *Pediatrician's Practice*. 2017;(4):18–28 (In Russ.). EDN: [ZMQPTH](https://doi.org/10.30895/2221-996X-2020-20-4-268-276)

**Дополнительная информация.** На сайте журнала «БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение» размещены *Приложения 1 и 2*.

<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2026-26-1-108-118-annex1>  
<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2026-26-1-108-118-annex2>

**Вклад авторов.** Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: **С.Г. Гамалей** – анализ и систематизация данных научной литературы,

**Additional information.** *Supplements 1 and 2* are published on the website of *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*.

<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2026-26-1-108-118-annex1>  
<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2026-26-1-108-118-annex2>

**Authors' contributions.** All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. **S.G. Gamaley** analyzed and systematized literature data, interpreted the

анализ и интерпретация результатов исследования, формулировка выводов, написание и редактирование текста рукописи; **Г.Г. Шими́на** – проведение исследований специфической активности *in vivo*, определение гематологических показателей при изучении острой и субхронической токсичности, статистическая обработка данных, оформление графического материала, написание текста рукописи; **Е.А. Вязова́я** – проведение экспериментальных исследований *in vitro*, сбор и анализ данных научной литературы; **Т.И. Есина, Е.А. Волосникова** – получение и анализ препаратов для исследования; **О.В. Симакова, Т.Г. Ядренкина, О.С. Таранов, В.В. Омигов, К.Ф. Емцова** – проведение экспериментальных исследований острой и субхронической токсичности, статистическая обработка данных, подготовка и оформление таблиц; **Е.Д. Даниленко** – формирование цели и задач исследования; редактирование текста рукописи; утверждение окончательной версии статьи для публикации.

**Соответствие принципам этики.** Исследование проводилось в соответствии с национальными и международными руководствами по гуманному содержанию и использованию животных в научных исследованиях. Протокол-заявка утвержден Биоэтической комиссией ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (Протокол №2 от 14.02.2024).

research results, formulated the conclusions, drafted and edited the manuscript. **G.G. Shimina** conducted *in vivo* experimental studies of specific activity, detected hematological parameters in the study of acute and subchronic toxicity, processed statistical data, designed the graphs and participated in drafting the manuscript. **E.A. Vyazovaya** conducted *in vitro* experiments, collected and analyzed literature data. **T.I. Esina**, and **E.A. Volosnikova** obtained and tested drug dosage forms for the research. **O.V. Simakova, T.G. Yadrenkina, O.S. Taranov, V.V. Omigov**, and **K.F. Emtsova** conducted experimental studies of acute and subchronic toxicity, processed statistical data, prepared and designed the tables. **E.D. Danilenko** conceptualized the study, edited and approved the final version of the manuscript for publication.

**Ethics approval.** The study was conducted in full compliance with national and international guidelines for the humane care and use of animals in scientific research. The study protocol was approved by the Bioethics Committee of State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector” of Rospotrebnadzor (Meetings No.2 dated 02/14/2024).

## Об авторах / Authors

Гамалей Светлана Георгиевна / **Svetlana G. Gamaley**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7441-333X>

Шими́на Галина Григорьевна / **Galina G. Shimina**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1078-7033>

Вязова́я Елена Алексеевна, канд. биол. наук / **Elena A. Vyazovaya**, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0394-9698>

Симакова Ольга Владимировна / **Olga V. Simakova**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1222-7574>

Ядренкина Татьяна Геннадьевна, канд. ветер. наук / **Tatyana G. Yadrenkina**, Cand. Sci. (Vet.)

ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-0644-9295>

Таранов Олег Святославович / **Oleg S. Taranov**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6746-8092>

Омигов Владимир Вилорьевич, канд. мед. наук / **Vladimir V. Omigov**, Cand. Sci. (Med.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2028-6099>

Емцова Ксения Федоровна / **Ksenia F. Emtsova**

ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-5165-5357>

Есина Татьяна Игоревна / **Tatyana I. Esina**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9006-8313>

Волосникова Екатерина Александровна, канд. биол. наук / **Ekaterina A. Volosnikova**, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5028-5647>

Даниленко Елена Дмитриевна, канд. биол. наук / **Elena D. Danilenko**, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5026-1602>

Поступила 28.08.2025

После доработки 05.02.2026

Принята к публикации 13.03.2026

Received August 28, 2025

Revised February 5, 2026

Accepted March 13, 2026