



МАТЕРИАЛЫ

**VI МЕЖДУНАРОДНОГО СЪЕЗДА
ВЕТЕРИНАРНЫХ ФАРМАКОЛОГОВ И ТОКСИКОЛОГОВ ЕАЭС,
посвященного 90-летию со дня рождения
профессора В.Д. Соколова**

**АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ И ИННОВАЦИИ
В СОВРЕМЕННОЙ ВЕТЕРИНАРНОЙ
ФАРМАКОЛОГИИ И ТОКСИКОЛОГИИ**

г. Витебск, 9–11 июня 2022 г.

**Текстовое электронное издание
сетевого распространения**

ISBN 978-985-591-151-8

**© УО «Витебская ордена «Знак Почета»
государственная академия ветеринарной
медицины», 2022**

УДК 612.414.017.1.019.08

ВОЗМОЖНОСТИ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ РЕКОМБИНАНТНЫМ ИНТЕРЛЕЙКИНОМ-2 В ВЕТЕРИНАРНОЙ ТРАВМАТОЛОГИИ

***Гизингер О.А., **Егорова В.Н.**

*Российский Университет Дружбы Народов, Медицинский институт,
г. Москва, Российская Федерация

**ООО «НПК «БИОТЕХ», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Введение. Травматизм животных – наиболее распространённая группа заболеваний из всех незаразных болезней животных, возникающих от погрешностей содержания, кормления, эксплуатации и транспортировки животных. На долю травматизма, который причиняет большой урон животноводству, приходится до 50 % общей заболеваемости незаразными болезнями. Как правило, травматизм объединяет совокупность сходных травм у определённого вида животных, объединённых общими условиями содержания, кормления и

эксплуатации. В современной ветеринарной травматологии проблема лечения травм и ранений, в том числе и раневых дефектов при оперативных вмешательствах, восстановления поврежденных структур и профилактики гнойно-воспалительных осложнений сохраняет неугасающий интерес и актуальность.

Изменение активности функций иммунной системы наблюдаются уже в первые минуты после травмы, а выраженность этих изменений и их продолжительность непосредственно зависит от силы и длительности воздействия повреждающего фактора, а также от степени повреждения тканей [5, 9]. В ответ на повреждающее вмешательство запускается процесс адаптации организма с целью оптимизации систем жизнеобеспечения и ликвидации последствий повреждения. Нарушения в системе местного иммунитета приводят к срыву защитных механизмов с повышением риска возникновения и прогрессирования локальных и системных осложнений, что в итоге будет проявляться различными симптомами травматической болезни [10-12].

Анализ представлений и алгоритмов воздействия на иммунную систему, которые направлены на устранение дефицита дисбаланса цитокинов, восстановление количества и метаболического статуса клеток-продуцентов цитокинов, нормализацию гомеостатического регулирования при лечении травм, репарацию костной ткани, устранение нарушений субпопуляционного состава иммунокомпетентных клеток, является целью данного обзора.

Материалы и методы исследований. Количество публикаций об использовании препаратов, нормализующих иммунный ответ при различных патологических состояниях у животных ограничен несколькими десятками статей с 2017 по 2022 год в научных базах PubMed, MedLine, BIOSIS, CANCERLIT, CINAHL, CISCOR, EMBASE, International Pharmaceutical Abstracts, NAPRALERT. Поиск проводился по 10 ключевым словам и сочетаниям: дефицит интерлейкина-2 у животных, ветеринария, животные, цитокины, интерлейкин-2, рекомбинантный интерлейкин-2, травматическая болезнь. Для сложного запроса в системе PubMed вводили параметры трех операторов (AND, OR, NOT). Для уточнения и увеличения количества информации были подробно проанализированы типы публикаций, индексируемых в системе MEDLINE: Bibliography (Библиография), Classical Article (Классическая работа), Clinical Trial (Клинические испытания — включает все типы и фазы клинических испытаний), Controlled Clinical Trial (Контролируемые клинические испытания), Guideline (Руководство), Practice Guideline (Клинические руководство), Review (Обзор), Review of Reported Cases (Описание случаев заболеваний), Review Literature (Обзор литературы), Multicenter Study (Многоцентровое исследование), Meta Analysis (Метаанализ), Letter (Письма), Comment (Комментарии).

Результаты исследований. Вторичная иммунная недостаточность при травматической патологии характеризуется высокой скоростью развития, что сопряжено с несостоятельностью основных систем жизнеобеспечения и интегративных регуляторных систем, со значительными потерями компонентов иммунореактивности и дефицитом пластического и энергетического материалов. Как следствие наблюдается формирование посттравматического вторичного иммунодефицита, который проявляется снижением количества и функциональной активности Т- и В-лимфоцитов, падением уровня иммуноглобулинов в крови, дисфункцией моноцитарных и гранулоцитарных фагоцитов, недостаточностью гуморальных и клеточных компонентов естественной резистентности, в том числе нарушением синтеза эйкозаноидов, альфа и бета дефензинов нейтрофильными гранулоцитами, дисбалансом системы Th1/Th2 цитокинов [5]. Низкий уровень регуляции систем иммунореактивности проявляется, как правило, недостаточностью уровня интерлейкина-2. Опасность развития генерализованной

инфекции и необходимость предотвращения инфекционных осложнений диктуют необходимость применения рекомбинантного интерлейкина-2 при ранениях и травмах животных.

Интерлейкин-2 (ИЛ-2) является одним из ключевых цитокинов иммунной системы человека, который отвечает за развитие иммунного ответа в организме на различных этапах его формирования. ИЛ-2 принимает участие в активации и пролиферации иммунокомпетентных клеток: Т- и В-лимфоцитов, цитотоксических Т-лимфоцитов, Т-регуляторных клеток, НК-клеток, моноцитов, дендритных клеток I типа. От его присутствия зависит уровень апоптоза иммунокомпетентных клеток. ИЛ-2 повышает поглотительную функцию и переваривание нейтрофильных гранулоцитов, а также участвует в процессах преодоления оксидативного стресса, продемонстрирована способность ИЛ-2 влиять на процессы репарации тканей.

Рекомбинантный интерлейкин-2 (рИЛ-2) – активный компонент препарата Ронколейкин® – является полным структурным и функциональным аналогом эндогенного интерлейкина-2. Получен методами генной инженерии, производство препарата осуществляется в соответствии со стандартами GMP. Лицензия на производство лекарственных средств для ветеринарного применения № 00-20-1-004137 от 16 июля 2020 года, выдана Федеральной службой по ветеринарному и фитосанитарному надзору России. Ронколейкин® применяют в комплексной терапии сельскохозяйственных, домашних, диких и экзотических животных.

Результаты экспериментальных и клинических исследований.

Обосновано применение рИЛ-2 для активации компонентов противомикробного врождённого иммунитета. В исследованиях *in vitro* показано стимулирующее влияние рИЛ-2 на продукцию дефензина-α1 лейкоцитами, продукция которого достоверно возрастала в 3-7 раз после инкубации с рИЛ-2 [8].

Новые возможности борьбы с инфекционной флорой при травматической патологии связывают с поиском и разработкой естественных бактериолитических факторов, что особенно актуально в условиях возрастания частоты антибиотикорезистентных штаммов бактерий. В исследовании Д.А. Матолыгиной продемонстрировано наличие бактериолитической активности у молекулы рекомбинантного интерлейкина-2 (препарат Ронколейкин®), которая была подобна действию лизоцима. рИЛ-2 эффективно разрушал бактерии семейств энтеробактерий, бацилл и лактобацилл, имеющих в составе полимера клеточной стенки диаминопимелиновую кислоту [7]. При этом под влиянием ряда низкомолекулярных веществ – глутамата, аргинина и милдроната – бактериолитическая активность интерлейкина-2 возрастала в реальных физиологических условиях в два-три раза (рис. 1).

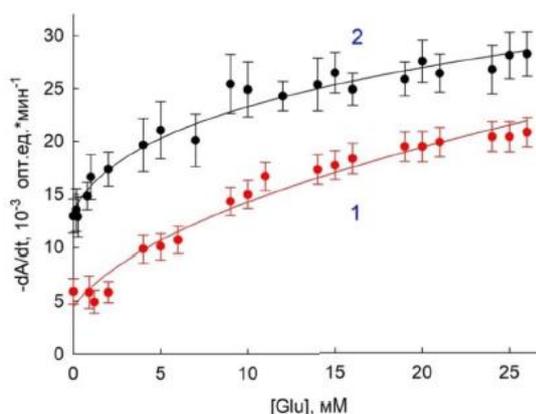


Рисунок 1 - Зависимость начальной скорости лизиса ИЛ-2 и лизоцимом от концентрации глутамата.

1 – ИЛ-2, 15 мкг/мл, рН = 8,8; 2 – лизоцим, 0,1 мкг/мл, рН = 8,5 [7]

Опыты, проведённые М.А. Куцоля на модели заживления полнослойного дефекта кожи у крыс показали, что рИЛ-2 влияет на онтогенез фибробластов: увеличивается скорость их дифференцировки, в результате чего в грануляционной ткани преобладают их зрелые формы, активно синтезирующие коллаген [6]. В результате проведённого исследования показано, что патогенетическая терапия с применением рИЛ-2 характеризуется противовоспалительным и противоотёчным эффектом, стимулирует пролиферацию клеток и способствует коллагенообразованию. В итоге это приводит к активации репаративных процессов и сокращению сроков заживления раны, в среднем, на 3–4 сут. (таблица 1).

Таблица 1 - Влияние рекомбинантного интерлейкина-2 на заживление раны [6]

№	Способ местного лечения заживающей раны через 10 дней после операции	Величина структур заживающей раны в мкм (M±m)			
		Струп	Лейкоцитарный вал	Грануляционная ткань	Протяжённость эпителия
1	0,9% раствора NaCl: аппликации 1 мл на рану + 1 мл п/к; n=10 крыс (контроль)	213,5 ± 15,9	82,2 ± 6,2	750,6 ± 27,2	768,3 ± 53,1
2	рекомбинантный ИЛ-2: аппликации 1 мл (50000 МЕ) на рану + 0,5 мл (20000 МЕ/кг) п/к; n=12 крыс	190,0 ± 16,2	53,1 ± 6,2 *	1077,1 ± 34,6 *	994,2 ± 43,1 *
3	рекомбинантный рИЛ-2: аппликации 1 мл (25000 МЕ) на рану + 0,5 мл (20000 МЕ/кг) п/к; n=12 крыс	173,7 ± 14,9 *	49,2 ± 5,2 *	1118,7 ± 39,7 *	972,1 ± 49,2 *

* Различия по отношению к данным серии №1 достоверны при $p \leq 0,001$ (по критерию Стьюдента)

Рекомбинантный интерлейкин-2 активировал процессы репарации и регенерации тканей [2]. Выявление возможностей данного препарата является особенно важным при тяжёлой патологии костной ткани, когда применение традиционных иммуномодуляторов, например, препаратов, индуцирующих фагоцитарные реакции, активаторов функционально-метаболического статуса фагоцитов или индукторов эндогенного синтеза цитокинов становится невозможным из-за истощения компенсаторных возможностей иммунной системы и снижения адаптационного потенциала иммунных клеток.

Иммунорфологические аспекты оптимизации репаративного остеогенеза в условиях применения цитокинотерапии рекомбинантным интерлейкином-2 исследованы И.Ю. Гессе и В.В. Анниковым [1, 3] при экспериментальных травмах конечностей (кролики) и спонтанно травмированных собак с переломами [3]. Показана высокая клиническая эффективность рИЛ-2, подтверждённая динамикой лабораторных показателей (таблица 2). Включение ронколейкина в схему постоперационного лечения травматологически больных животных способствовала купированию иммунного дисбаланса, сопутствующего переломам, и стимуляции репаративного остеогенеза.

Таблица 2 - Влияния рекомбинантного интерлейкина-2 на репаративный остеогенез [3]

№	Клинические показатели	Лабораторные показатели
1.	Снижение уровня эндотоксикоза	Уменьшение значений СОЭ
2.	Эритропоэтическая активность рИЛ-2	Увеличение числа эритроцитов в сравнении с ранним послеоперационным периодом
3.	Противовоспалительная активность рИЛ-2	Нормализация соотношения различных форм нейтрофилов
4.	Иммуномодулирующее влияние рИЛ-2	Снижение содержания ИЛ-4 в более ранние сроки Нормализация уровня ФНО-α Поддержание уровня ИФН-γ
5.	Остеоиндуцирующая способность рИЛ-2	Активация остеобластов, минерализация костного матрикса. Нормализация содержания ионизированного и общего кальция и неорганического фосфора
6.	Восстановление функциональных свойств конечностей	Сокращение длительности консолидации отломков в 1,4 раза
Схема терапии рИЛ-2: подкожно в дозе 20000 МЕ/кг живой массы в 1-, 3-, 5- и 7-е сутки.		

Заключение. Анализ литературных данных подтверждает необходимость оценки состояния клеточного и гуморального иммунитета травматологически больных животных. Применение рекомбинантного интерлейкина-2 способствует уменьшению выраженности воспалительной реакции, ускорению очищения ран, их грануляции и эпителизации. Одновременно происходит уменьшение отека и купирование сосудистых нарушений [6]. За счёт активации цитокиновой регуляции, девиации направления иммунных реакций, активации TLR на поверхности иммунных клеток реализуется пролиферативный и регенерирующий эффекты рекомбинантного интерлейкина-2, что делает его препаратом выбора в комплексной терапии травматической болезни и профилактики бактериальных осложнений у животных.

Литература. 1. Анников, В. В. Оценка состояния клеточного и гуморального иммунитета травматологически больных животных при имплантации стержневых остеофиксаторов, обогащенных лантаном методом термоокислирования / В. В. Анников // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2012. – Т. 2. – № 4. – С. 94. 2. Байрамкулов, Э. Д. Оптимизация диагностики, комплексного лечения и реабилитации больных с синдромом диабетической стопы : автореф. дисс. ... канд. мед. наук / Э. Д. Байрамкулов. – Пермь, 2019. – 24 с. 3. Гессе, И. Ю. Иммуноморфологические аспекты цитокиновой оптимизации репаративного остеогенеза у собак в условиях внешней стержневой фиксации : авторефер. дисс. канд. вет. наук / И. Ю. Гессе. – Саратов, 2008. – 22 с. 4. Лимфопения как показание к применению рекомбинантного интерлейкина-2 / В. Н. Егорова, И. В. Бабаченко, О. А. Гизингер, К. С. Титов // Терапевт. – 2020. – № 8. – С. 32-54. 5. Жмайлик, Р. Р. Иммунологические аспекты раневого процесса / Р. Р. Жмайлик, В. Г. Богдан // Военная медицина. – 2016. – № 3 (40). – С.123. 6. Куцоля, М. А. Характеристика клеточного состава грануляционной ткани при применении иммунокорректора «Ронколейкин» / М. А. Куцоля // Морфология. – 2008. – Том 133, № 2. – С. 75. 7. Матолыгина, Д. А. Бактериолитические свойства интерлейкина-2 человека : автореф. дисс. ... канд. хим. наук / Д. А. Матолыгина. – Москва, 2019. – 29 с. 8. Влияние интерлейкина-2 на продукцию дефензима-α лейкоцитами in vitro. / Р. А. Можейко [и др.] // Мед. вестник Северного Кавказа. – 2020. – Том 15, № 3. – С. 352. 9. Billiar, T. R. Time for trauma immunology / T. R. Billiar, Y. Vodovotz // PLoS Med. – 2017. - № 14 (7). - e1002342. 10. Bortolotti, P. Inflammasomes in Tissue Damages and Immune Disorders After Trauma / P. Bortolotti, E. Faure,

E. Kipnis // *Front. Immunol.* – 2018. - № 9. – P. 1900. 11. *The systemic immune response to trauma: an overview of pathophysiology and treatment* / J. M. Lord [et al.] // *Lancet.* – 2014. – Oct. 18. – P. 384. 12. *Dynamics of changes in the immunological status induced burndically diseases* / A. A. Radjapov // *European science review.* – 2018. – № 9-10 (2). – P. 139.