

ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ПРЕДПОСЫЛКИ К ПРИМЕНЕНИЮ РОНКОЛЕЙКИНА В ВЕТЕРИНАРИИ

Анников В.В., Гессе И.Ю.

Саратовский государственный аграрный университет

Иммунология возникла вследствие борьбы человека с заразными болезнями, и многие годы ассоциировалась с созданием вакцин и изучением устойчивости к инфекциям людей и животных. Однако знаменитый хирург, лауреат Нобелевской премии Алексис Каррель, долгое время работавший над проблемой трансплантации различных органов, в начале 20-го века признал, что хирургия не всесильна и существуют малоизученные и неизвестные механизмы организма, позволяющие как контролировать и стимулировать процесс выздоровления, так и подавлять сопротивление организма всему чужеродному. Сегодня в значительной степени понятны механизмы повышенной реактивности и толерантности; многое известно о процессах распознавания антигена; выявлены молекулярные участники межклеточных отношений - цитокины. Они представляют собой семейство пептидов, к которым относятся интерлейкины, интерфероны, колониингибирующие факторы роста, факторы некроза опухолей и ростовые факторы.

Использование рекомбинантных цитокинов, обеспечивающих адекватную целенаправленную медикаментозную коррекцию иммунных дисфункций, повышает эффективность иммунной терапии и лечения в целом. Вводимые в организм цитокины восполняют дефицит эндогенных регуляторных молекул и полностью воспроизводят их эффекты. Это особенно важно в условиях тяжелой или хронической патологии, когда применение традиционных иммуномодуляторов или индукторов синтеза цитокинов становится несостоятельным из-за истощения компенсаторных возможностей иммунной системы.

Цитокиновая стимуляция рекомбинантным интерлейкином-2 человека в травматологии до сегодняшнего дня не применялась, но является интересной в связи с положительными результатами лечения пациентов с различными видами патологий, как в медицине (серозные менингиты, панкреатиты, бруцеллез, онкологические заболевания молочных желез, наружный генитальный эндометрит, хирургические инфекции, ВИЧ-инфекции и др.), так и в ветеринарии (атопические дерматиты, хронические обструктивные заболевания легких лошадей, онкологические заболевания собак).

Исходя из вышесказанного, мы поставили перед собой цель оптимизировать репаративный остеогенез, воздействуя не локально на зону перелома, а активизируя клеточные и гуморальные звенья иммунитета.

В наши задачи входили анализ эффективности оптимизации репаративного остеогенеза с помощью различных иммуномодуляторов; изучение динамики иммунологических показателей при лечении животных с переломами трубчатых костей, а также обоснование экономической эффективности применения Ронколейкина® с целью индукции остеогенеза.

В опыте проводилось сравнение терапевтической возможности использования ронколейкина при оптимизации репаративного остеогенеза с полиоксидонием, который имеет прямые показания к применению для активации регенераторных процессов (переломы, ожоги).

Исследования иммунной реакции организма и гематологических показателей крови проводились у экспериментальных животных с переломами трубчатых костей в связи с необходимостью системного научно-обоснованного подхода к вопросам эффективной организации репаративного остеогенеза на основе анализа структуры и функциональных механизмов иммуноморфологической обеспеченности репаративного процесса, а также решения вопросов регулирования и контроля процессов репарации.

У экспериментальных животных моделировали перелом голени, после чего устанавливали аппарат внешней фиксации стержневого типа. У всех групп проводили постоперационную превентивную терапию. Кроликам первой группы вводили Ронколейкин® подкожно в дозе 20 000 МЕ/кг на 1; 2; 4 сутки терапии. Кроликам второй группы – Полиоксидоний внутримышечно в дозе 0,1 мг/кг на 3; 4; 5; 9; 10; 11 сутки терапии. Для сравнительной статистики третья группа была контрольной. Забор крови производили из ушной вены до установки аппарата внешней фиксации и на 1; 10; 20; 30 сутки лечения.

В течение всего курса терапии проводили исследования наиболее информативных иммунологических показателей: интерлейкина-4 (ИЛ-4), интерферона-гамма (ИНФ-γ), фактора некроза опухоли-альфа (ФНО-α).

Полный клинический анализ крови был проведен в двух основных направлениях. Физический анализ позволил определить скорость оседания эритроцитов, а наиболее необходимый информативный морфологический анализ включал в себя определение содержания гемоглобина, количества эритроцитов, лейкоцитов в 1 мкл крови, лейкоцитарную формулу. Также проводилась дифференциация клеточных элементов. Все гематологические показатели исследовались общепринятыми в ветеринарии методами.

Данные были математически обработаны в программе Statistica 6.

ИЛ-4 относится к цитокинам первого класса, представляет собой гликопротеин с молекулярной массой 18 - 20 кД. Он усиливает эозинофилию, опосредованный Th-2-клетками гуморальный ответ; включает синтез IqE активированными В-лимфоцитами; стимулирует популяцию цитотоксических Т-лимфоцитов; подавляет освобождение цитокинов воспаления (ФНО-α, ИЛ-1, ИЛ-8). В первой группе (Ронколейкин®) его количество достоверно повышалось в течение первых 10 суток после операции (в первые сутки с 14,82 пг/мл до 34,67 (p=0,0228) и в последующие 9 дней до 55,38 пг/мл (p=0,0053), на 20 сутки опыта его концентрация в крови снизилась до 44,22 пг/мл. В течение следующих 10 суток снижение продолжалось и достигло 27,34 пг/мл. Во второй группе (Полиоксидоний) имелась похожая тенденция роста, но показатель продолжает достоверно повышаться до 20-х суток (с 17,5 пг/мл до 40,14 пг/мл (p=0,0095) в первые сутки операции, затем до 61,96 пг/мл (p=0,0346) к 10 суткам и достигает 80,90 пг/мл (p=0,0028) на 20 сутки опыта). Снижение до 61,12 пг/мл (p=0,0183) наблюдается к 30-м послеоперационным суткам. В контрольной группе концентрация ИЛ-4 в крови достоверно повышалась в первые сутки на 15,4 пг/мл и достигла 34,62 пг/мл (p=0,0125), рост показателя продолжался в течении следующих 10 суток до 39,02 пг/мл (p=0,0333). К 20 суткам наблюдалось незначительное снижение до 34,16 пг/мл (p=0,0005). Однако в последние дни опыта этот показатель снова повысился на 2,9 пг/мл.

ИНФ-γ также является цитокином первого класса и гликопротеином с молекулярной массой 20 - 25 кД. Он активирует моноциты и макрофаги, НК-клетки (цитотоксичность), пролиферацию и дифференцировку Т-сут-лимфоцитов; стимулирует созревание костномозговых клеток – предшественников моноцитов; пролиферацию В-лимфоцитов и соматических клеток, продукцию и секрецию цитокинов Т-2-лимфоцитами, эффект ИЛ-3, ИЛ-4, ФНО-α в отношении костномозговых клеток; усиливает презентацию антигена моноцитами. В первой группе (Ронколейкин®), с начала опыта и до 20 суток после операции, наблюдается стабильный достоверный подъем показателя с 22,24 пг/мл на 50,38 пг/мл: в первые сутки после операции до 25,54 пг/мл (p = 0,0441) в последующие 10 суток до 66,46 пг/мл (p=0,0409) и далее до 74,62 пг/мл. В последние 10 суток опыта достоверно происходило резкое снижение до 47,38 пг/мл (p = 0,0118). Во второй группе так же наблюдалась динамика увеличения уровня ИНФ-γ в крови в те же сроки, но с более низкими показаниями: в первые сутки с 22,14 пг/мл до 30,26 пг/мл (p = 0,0063), с 1 по 10 сутки после операции до 35,08 пг/мл, с 10 по 20 сутки до 46,84 пг/мл (p = 0,0421), а далее снижение в течение 10 суток на 14,54 пг/мл (до 32,3 пг/мл с достоверностью p = 0,0169). В третьей группе динамика показателя в течение первых 10 суток недостоверна, однако с 10 по 20 сутки зарегистрировано

достоверное значительное повышение с 49,13 до 79,86 пг/мл ($p = 0,0059$) и затем так же достоверное снижение к 30 суткам до 55,78 пг/мл ($p = 0,0184$).

ФНО- α относится к цитокинам второго класса и имеет молекулярную массу 17 кД. Он проявляет избирательную цитотоксичность в отношении некоторых опухолевых клеток; активизирует гранулоциты, макрофаги, остеокласты и хондроциты (резорбция костной и хрящевой ткани), транскрипцию других провоспалительных цитокинов; стимулирует пролиферацию и дифференцировку нейтрофилов, фибробластов, эндотелиальных клеток, гемопоэтических клеток, Т- и В-лимфоцитов. В первой группе мы отмечали достоверную динамику только в первые сутки опыта с 12,9 пг/мл до 30,67 пг/мл ($p=0,02$). Далее происходило плавное снижение на протяжении всего опыта, достигая к 30-м суткам 24,18 пг/мл. Во второй группе (Полиоксидоний) ФНО- α имел достоверную динамику на протяжении всего опыта: в первые сутки после операции показатель повышался на 8,94 пг/мл до 25,6 пг/мл ($p=0,0061$) и продолжал расти до 20-х суток - 35,78 пг/мл ($p=0,0091$). Последние 10 суток показатель снижался до 23,84 пг/мл ($p=0,0043$). В третьей группе (контроль) при втором заборе крови наблюдался резкий скачок с 16,24 до 35,7 пг/мл ($p=0,0252$). В дальнейшем, достоверных изменений в динамике ФНО- α на протяжении последующих 30 суток не наблюдали и к завершению опыта показатель составлял 35,24 пг/мл.

Проведенный эксперимент позволяет наблюдать изменения в нейтрофильной группе (сдвиг влево), что свидетельствует о тяжести травматической болезни, а эозинофилия (3,18 %) и лимфоцитоз (2,9 %), развившиеся в опытных группах к 20-ти суточному сроку наблюдения ($p \leq 0,05$), свидетельствуют об иммуномодулирующем влиянии Ронколейкина[®].

Нормализация уровня провоспалительного цитокина (ИЛ-4) к 20-м суткам эксперимента в опытной группе (с использованием Ронколейкина[®]) и повышение в ней качества маркеров клеточного иммунитета (ИНФ- γ , ФНО- α) к окончанию периода наблюдения может свидетельствовать о противовоспалительном влиянии цитокинового иммуномодулятора и активизации им В-клеточного звена иммунитета.

Предложенный способ контроля цитокинового статуса репаративного остеогенеза отражает принципиально новый лечебно-диагностический подход, позволяющий строго дозировать, избирательно и направленно воздействовать на клетки, вовлеченные в патологический процесс, с целью коррекции нарушения их функциональной активности.