

# Клиническая эффективность иммунотерапии и вторичный иммунодефицит у собак при онкологических заболеваниях.

BY VETERINĀRĀRSTS ON 12.02.2014 IN PUBLIKĀCIJAS

**Евгения Быкова, Нина Васильевна Мухина, Адрия Кейша, Людмила Иванова, Дагмара Спруджа, Лилия Обушева, Сергей Семенов (ООО „КАВЕТ”, ООО Рижский Центр Репродукции, ЛМА/РУС – Рига, СПГАВМ).**

**Клиническая эффективность иммунотерапии и вторичный иммунодефицит у собак при онкологических заболеваниях.**

**Актуальность**

Результатами научно-практических исследований последних лет в области ветеринарии доказано, что в настоящее время у домашних животных наблюдается рост патологии, обусловленной наличием и прогрессивным развитием вторичного иммунодефицита (ИДС). В первую очередь это касается бактериально-вирусной инфекции, онкопатологии, проблем репродукции.

Так, известно, что в практике ветврача в настоящее время инфекционные заболевания и другая патология, ассоциированная с инфекцией различной локализации, составляет более 80%. Известно также, что наиболее частой причиной развития доброкачественных и злокачественных опухолей у собак являются вирусы (лейкемии Т-лимфоцитов клеточного иммунитета людей и животных являются примерами рака, связанного с вирусными инфекциями). Тот же класс вирусов связан с развитием вторичного иммунодефицита и аутоиммунных заболеваний у животных. В настоящее время наблюдается учащение лейкемии и лимфом у собак.. Наиболее часто они встречаются у собак средних и больших пород среднего и пожилого возраста. Немецкая овчарка — порода с максимальным риском опухолевых заболеваний, но другие распространенные во многих странах породы, такие как голден ретривер, бобтейл, ирландский сеттер отличаются значительно большей частотой заболеваний, чем остальные. Это подтверждает важную роль генетического фактора и влияния окружающей среды и наводит на размышления, что отрицательные факторы внешней среды не только способствуют подавлению иммунной системы, но и вносят свой вклад в сбой контролирующих механизмов, защищающих организм от инфекций, и стимулируют онкогенез и перерождение доброкачественных опухолей в раковые.

В связи с низким болевым порогом у животных их владельцы не замечают начало заболевания и в ветеринарную же клинику обращаются они уже с очень запущенными процессами злокачественных новообразований. Практически у половины из этого числа собак и кошек с наличием ИДС, обусловленным наличие онкопатологии, присоединяется бактериально-вирусная инфекция и животное быстро погибает или его приходится усыплять.

В связи с этим актуальна проблема разработки препаратов, обладающих иммуномодулирующим действием при перечисленной выше патологии. Большой интерес вызывают препараты, получаемые из тканей человека и животных, клетки которых продуцируют разнообразные белки, обладающие иммунорегуляторным действием. Особый интерес представляют препараты, содержащие цитокины – низкомолекулярные белковые вещества, осуществляющие регуляцию межклеточных взаимодействий.

Прежде всего это касается трофобластических клеток плаценты, которые продуцируют большой спектр иммунорегуляторных молекул (гормоны, обладающие иммуносупрессорным действием, АФП, тумор-некротический фактор, цитокины с разнонаправленным действием и др. факторы). Идея использования исходного сырья при онкопатологии принадлежит известному Российскому иммунологу проф. В. И. Говалло. Результаты своих исследований и клинических наблюдений В. И. Говалло опубликовал в монографии “Immunology of Pregnancy and Cancer”(Nova Science Publishers, Ins.USA, 1993, 310р.р). Нами была продолжена эта работа совместно с кафедрами фармакологии Медицинской Академии им. П. Страдыня и получена фармацевтическая форма лиофилизированного плацентарного экстракта (торговая марка Римолан). Оригинальная технология позволяет полностью сохранить все биологически активные вещества такие как – гормоны, цитокины, интерфероны, фактор некроза опухоли и другие.

Экспериментальные доклинические исследования препарата проведены в Институте онкологии им П. А. Герцена ( г. Москва), Институте Иммунологии РФ (г. Москва), Украинском Научном Гигиеническом Центре МЗ Украины (г.Киев), Латвийской Медицинской Академии им. П. Страдыня (г. Рига). Сохранение перечисленных биологически активных веществ позволило поэтому получить заметное улучшение количественных и функциональных показателей иммунитета не только в эксперименте, но и у 37-ми практически здоровых волонтеров.

Препарат зарегистрирован и разрешен к применению в ветеринарной практике.

#### **Цель работы.**

Изучить безвредность препарата Римолан; исследовать показатели неспецифической резистентности у здоровых и больных собак до и после применения Римолана.

#### **Материал и методы исследования.**

##### **В исследованиях участвовало**

Предварительно всех животных разделили на 2 группы.

Первую группу составили здоровые животные, среди которых изучалась безвредность препарата. Она состояла из 5 беспородных собак (2 самца и 3 самки), массой 10-40 кг Римолан вводили в этой группе животных ежедневно однократно подкожно в области загривка в дозе 5 мг/кг/день в 2 мл 5% раствора глюкозы. Продолжительность введения 10

дней. После прекращения введения препарата наблюдение за собаками продолжали 30 дней.

Вторую группу животных, среди которых изучены показатели неспецифической резистентности до и после применения Римолана, составили 20 собак различных пород, массой 10-40 кг. в возрасте от 2 до 7 лет, сгруппировав их в 2 подгруппы (А и В). В подгруппу А вошли 10 собак с диагнозом — Аденокарцинома молочной железы (подтверждено гистологически). В подгруппу В вошли 10 собак с диагнозом — Остеосаркома (подтверждено гистологически). Римодан вводили подкожно в области загривка в дозе 5 мг/кг в 2 мл 5% раствора глюкозы один раз в неделю. Продолжительность введения 7 недель. После прекращения введения препарата наблюдение за собаками продолжали 30 дней.

При определении состояния иммунодефицита учитывались показатели Ig, Fag, NST, СІК, лейкоцитарный индекс интоксикации. Ведется работа по определению Т и В лимфоцитов.

Гематологические и биохимические исследования проводили до начала эксперимента (фон), и в конце эксперимента в обеих группах. Влияние препарата на организм оценивали по изменению общего состояния, массы тела функциональному состоянию печени и поджелудочной железы, периферической крови.

## Результаты исследований и их обсуждение.

### Общее состояние собак.

На протяжении всех дней введения препарата никаких изменений у собак обеих групп не обнаружено. Негативные реакции как местного, так и общего характера – не наблюдались. Животные на протяжении всего периода наблюдения были активны, живо реагировали на внешние раздражители, полностью поедали корм. Из естественных отверстий организма — патологических выделений не наблюдалось.

### Изменение массы тела в динамике.

В табл. 1 представлены данные о влиянии препарата на изменение массы тела животных.

Табл. 1

### **Динамика массы собак при повторном введении Римолана**

Номер животного №1	Пол М	Препарат Римолан	Масса тела перед и после введения Римолана		Масса тела в восстановительном периоде	
			Исходная 9,6	через 10 дней 9,6	через 7 дней 9,4	через дней 9,7

№2	Ж	Римолан	13,0	12,5	12,7	13,2
№3	Ж	Римолан	16,9	16,7	16,8	16,7
№4	Ж	Римолан	12,5	12,3	12,3	12,8
№5	М	Римолан	9,8	10,1	10,2	10,3

Как видно из таблицы 1, масса тела животных на протяжении всего периода введения препарата и в течение восстановительного периода существенно не различалась.

Результаты гематологических исследований представлены в табл. 2 и 3.

Проведенные клинические анализы крови показали, что введение Римолана в дозе 5 мг/кг у собаки № 3 после 10-ой инъекции вызывало некоторое увеличение содержания гемоглобина и лейкоцитов. Эти данные могут свидетельствовать о том, что препарат стимулирует кроветворение и повышает неспецифическую защиту организма.

При исследовании состава периферической крови было обнаружено увеличение количества нейтрофилов и моноцитов под влиянием Римолана у собаки № 2 в конце эксперимента.

Других изменений со стороны показателей клинической картины крови не было отмечено.

После восстановительного периода (30 дней) гематологические показатели в пределах физиологической нормы для собак

Табл.2. Гематологические показатели крови до и после введения Римолана

Время наблюдения	№№	Пол	Препарат	Гематологические показатели				
				НЬ, г%	Эрит. млн/мкл	Лейкоц., тыс/мкл	СОЭ	Гемато-крит
до опыта				12,8	6,9	8,9	1	38,6
<b>конец опыта</b>				14,6	8,4	6,8	1	30,4
восстанов. период 30 дней	11	ММ	Римолан	13,1	6,2	8,6	2	32,0
до опыта				12,0	8,4	6,3	2	33,6
<b>конец опыта</b>				<b>12,4</b>	<b>7,0</b>	<b>6,5</b>	<b>2</b>	<b>32,4</b>
восстанов. период-30 дней	2	Ж	Римолан	12,8	8,8	10,6	5	29,6
до опыта				10,1	8,0	6,5	2	40,6
<b>конец опыта</b>				<b>13,0</b>	<b>10,2</b>	<b>12,5</b>	<b>2</b>	<b>36,4</b>
восстанов. период-30 дней	3	Ж	Римолан	11,1	6,4	10,7	2	32,8
до опыта	4	М	5% глюкоза	13,2	8,0	10,9	1	36,4

<b>конец опыта</b>				<b>14,3</b>	<b>6,6</b>	<b>8,4</b>	<b>0</b>	<b>34,3</b>
восстанов,								
период-30								
дней				13,1	7,8	9,3	1	39,0
до опыта				14,6	6,8	8,4	3	35,2
<b>конец опыта</b>				<b>14,9</b>	<b>8,7</b>	<b>6,6</b>	<b>4</b>	<b>38,6</b>
восстанов.								
период-30	5	Ж	5% глюкоза					
дней				12,6	6,5	6,8	4	33,2

Табл.3.

Лейкоцитарная формула крови до и после введения Римолана

				Лейкоцитарная формула, %				
Время	№	Пол	Препарат	Лимф	Нейтр.	Мо	Ба	Эо
наблюдения				24	68	4	2	2
до опыта								
<b>конец опыта</b>				<b>23</b>	<b>76</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
Восстанов.								
период-30дней	1	М	Римолан	23	75	0	1	1
до опыта				26	68	3	2	1
<b>конец опыта</b>				<b>18</b>	<b>72</b>	<b>6</b>	<b>2</b>	<b>2</b>
Восстанов.								
период-30 дней	2	Ж	Римолан	23	69	4	3	1
до опыта				22	76	2	0	0
<b>конец опыта</b>				<b>21</b>	<b>77</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>1</b>
Восстанов.								
период-30дней	3	Ж	Римолан	33	60	3	2	2
до опыта				20	76	0	2	2
<b>конец опыта</b>				<b>28</b>	<b>69</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>
восстанов.								
период-30дней	4	М	Римолан	38	62	0	1	1
до опыта				20	76	0	2	2
<b>конец опыта</b>				<b>26</b>	<b>72</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>1</b>
Восстанов.								
период-30 дней	5	Ж	Римолан	21	76	2	0	1

#### Биохимические исследования

Результаты представлены в таблице 4

Функциональное состояние печени оценивали по активности АсАТ и АлАТ в сыворотке крови. Как следует из данных, приведенных в табл 5 в ходе эксперимента не было обнаружено различий в активности ферментов между опытными и контрольными животными. Колебания ферментов не выходили за пределы физиологических норм (1,2,3).

На протяжении всего срока наблюдения содержание сахара в крови не превышало пределов физиологических норм как у опытных, так и у контрольных собак. Таким образом, многократное введение Римолана не оказывало существенного влияния на функцию поджелудочной железы.

Количество остаточного азота и общего белка в течение эксперимента существенно не менялось.

Табл. 4

Влияние введения Римолана на биохимические показатели в сыворотке крови у собак.

				Показатели					Оста точный азот мг%
Время наблюдения	№	Пол	Препарат	АлАТ μmol/h/ ml	АсАТ μmol/h/ ml	Общий белок, г%	ЩФ ед	Глюкоза, мг%	
до опыта				0,7	0,6	5,0	2,1	98,9	300
<b>конец опыта</b>				<b>1,1</b>	<b>0,9</b>	<b>4,8</b>	<b>2,1</b>	<b>94,8</b>	<b>44,6</b>
Восстанов период-30 дней	1	М	Римолан	1,2	0,8	4,8	1,9	94,6	34,9
до опыта				1,8	0,9	6,2	2,0	94,6	38,0
<b>конец опыта</b>				<b>1,3</b>	<b>0,6</b>	<b>5,9</b>	<b>1,4</b>	<b>98,3</b>	<b>34,6</b>
Восстанов период-30 дней	2	Ж	Римолан	1,3	0,6	5,2	1,4	98,0	32
до опыта				1,6	0,9	6,4	1,7	98,0	29,6
<b>конец опыта</b>				<b>1,1</b>	<b>0,4</b>	<b>6,7</b>	<b>2,3</b>	<b>89,6</b>	<b>32,0</b>
Восстанов период-30 дней	3	Ж	Римолан	1,6	1,1	6,0	2,0	100,0	30,2
до опыта				1,3	0,9	6,1	2,4	105,0	340
<b>конец опыта</b>				<b>1,0</b>	<b>0,6</b>	<b>5,8</b>	<b>2,1</b>	<b>100,8</b>	<b>29,6</b>
Восстанов период-30 дней	4	М	Римолан	1,0	1,0	5,8	1,9	99,5	29,4
до опыта				1,2	0,8	4,8	1,3	89,0	28,0
<b>конец опыта</b>				<b>1,2</b>	<b>1,1</b>	<b>5,2</b>	<b>1,9</b>	<b>86,3</b>	<b>21,0</b>
Восстанов период-30 дней	5	ж	Римолан	1,0	0,8	4,5	1,7	90,0	28,2

Для оценки влияния Римолана на функциональное состояние почек использовали следующие тесты, суточное количество мочи, цвет мочи, рН, содержание уробилина, количественное содержание белка. Результаты представлены в табл. 5.

Табл. 5

Влияние введения Римолана на функциональное состояние почек

## Показатели мочи

Время наблюдения	№	Пол	Препарат	к-во мочи, мл	уробилин	рН	Белок, г %
до опыта				212,5	негат	6,5	4,55
<b>конец опыта</b>				<b>185,2</b>	<b>негат.</b>	<b>6,0</b>	<b>3,90</b>
Восстанов период-30 дней	1	М	Римолан	159,9	Негат	6,9	3,75
до опыта				202,4	негат	5,9	4,10
<b>конец опыта</b>				<b>176,3</b>	<b>негат.</b>	<b>6,2</b>	<b>3,92</b>
Восстанов период-30 дней	2	Ж	Римолан	202,0	негат	6,0	4,56
до опыта				195,0	негат	6,1	3,92
<b>конец опыта</b>				<b>179,8</b>	<b>негат.</b>	<b>6,4</b>	<b>3,55</b>
Восстанов период-30 дней	3	Ж	Римолан	200,0	негат	6,1	4,56
до опыта				1799	негат	6,2	3,99
<b>конец опыта</b>				<b>199,7</b>	<b>негат.</b>	<b>6,0</b>	<b>4,51</b>
Восстанов период-30 дней	4	М	Римолан	185,6	негат	6,1	3,98
до опыта				169,9	негат	6,4	3,95
<b>конец опыта</b>				<b>176,5</b>	<b>негат.</b>	<b>6,2</b>	<b>4,11</b>
Восстанов период-30 дней	5	ж	Римолан	170,2	негат	6,3	4,12

Во все сроки наблюдения моча была светло-желтого цвета, слабо

мутная. В результате проведенных исследований показано, что длительное введение Римолана — 10 дней, не вызывало у животных существенных изменений состава мочи. Однако, у одной собаки (№ 4) наблюдалась тенденция к увеличению количественного содержания белка в моче.

Как следует из приведенных данных в табл. 6, отмечено некоторое увеличение уровня  $\gamma$ -глобулинов крови у собаки № 2 и № 3. Однако, после восстановительного периода никаких статистически достоверных изменений в уровне  $\gamma$  — глобулинов крови между опытными и контрольными собаками не наблюдали.

Со стороны других показателей белкового обмена не было отмечено существенных сдвигов, указывающих на отрицательное действие Римолана.

Табл 6

Влияние введения Римолана на белковый обмен

## Показатели в конце эксперимента

№ жив	Пол	Препарат	Общий белок,	Альбумины, %	$\alpha$ 1-глоб %	$\alpha$ 2 глоб %	$\beta$ -глоб% $\gamma$ -глоб.%
-------	-----	----------	--------------	--------------	-------------------	-------------------	---------------------------------

			г%						
№1	М	Римолан	4,8	47,4	11,4	10,5	14,7	154	
№2	Ж	Римолан	5,9	51,4	10,4	11,4	13,5	21,4	
№3	Ж	Римолан	6,7	47,9	9,9	11,9	13,0	19,9	
		5%							
№4	М	глюкоза	5,8	46,9	11,9	9,9	15,9	16,9	
		5%							
№5	Ж	глюкоза	5,2	50,9	10,9	10,7	13,9	17,0	

#### Показатели после восстановительного периода

№ жив	Пол	Препарат	Общий белок ,					
			г%	Альбумины, %	α 1-глоб %	α 2 глоб %	β- глоб%	Υ- глоб.%
№1	М	Римолан	4,8	41,4	10,4	11,5	13,8	14,7
№2	Ж	Римолан	5,2	50,1	11,4	10,4	13,4	18,1
№3	Ж	Римолан	6,0	46,9	10,1	120	13,8	14,3
№4	М	5% глюкоза	5,8	46,9	10,9	10,8	14,2	16,9
№5	Ж	5% глюкоза	4,5	49,6	11,9	10,9	12,4	16,7

#### ВЫВОДЫ.

1 Препарат Римолан может быть классифицирован как практически нетоксичный препарат для собак.

2 Суммарная доза Римолана, которую получили собаки в течение 10 дней, в 6-7 раз превышает предлагаемую терапевтическую дозу для человека.

Литература.

1. Хромов БМ, Короткевич Н С , Павлова А Ф , Пояркова М С ,Шейко В З. Анатомия собаки, Л , «Наука», 1972, 231 с
2. Fox J.G. et al, Laboratory animals medicine, New-York, Acad.Press, 1984, 750 p
3. Лабораторные животные, 1992, № 2, с 55

#### **SUMMARY**

Доказано, что в настоящее время у домашних животных наблюдается рост патологии, обусловленной наличием и прогрессивным развитием вторичного иммунодефицита, особенно это относится к онкопатологии.

В связи с этим актуальна проблема изучения иммунологического гомеостаза животных и разработки препаратов, обладающих иммуномодулирующим действием. Большой интерес вызывают препараты, получаемые из тканей человека и животных, клетки которых продуцируют разнообразные белки, обладающие иммунорегуляторным действием.

Изучены показатели неспецифических факторов иммунной защиты у 5 здоровых собак и у 10 собак при онкопатологии. Доказана клиническая эффективность иммунотерапии и разработана схема ее применения при данной патологии.

### *SUMMARY*

It has been proved that nowadays there is a rise in pet morbidity related to presence and progress of secondary immunodeficiency, particularly with regard to oncological diseases.

That is why the problem of studying immunology status of pets and developing immunomodulating drugs becomes relevant. Some of the drugs are of great interest, especially those derived from human and animal tissues, which cells are capable of producing different immunoregulating peptides.

Non-specific immunoprotective factors has been studied in 5 healthy dogs and in 10 dogs with oncological diseases. Clinical efficacy of immunotherapy has been proved and appropriate treatment regimen proposed for the given condition.