



**ДОСТИЖЕНИЯ
ВЕТЕРИНАРНОЙ НАУКИ
И ПРАКТИКИ**
**PROGRESS VETERINARY SCIENCE
AND PRACTICES**

УДК 619: 615.281 (349.6; 574)

DOI:10-31677/2311-0651-2019-26-4-69-80

**БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ ДЛЯ МЕДИЦИНЫ
И ВЕТЕРИНАРИИ В ПРОГРАММАХ
ПОЛУЧЕНИЯ ЭКОЛОГИЧЕСКИ ЧИСТЫХ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ**

¹Ю.С. Аликин, доктор биологических наук, профессор, старший научный сотрудник

¹М.В. Алексеева, младший научный сотрудник

¹В.В. Ермолаев, младший научный сотрудник

¹В.П. Клименко, научный сотрудник

¹Л.Р. Лебедев, доктор медицинских наук, заведующий лабораторией

¹Ю.В. Телегина, младший научный сотрудник

¹Т.Г. Терещенко, младший научный сотрудник

²А.Я. Столбов, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

¹И.С. Щелкунов, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

¹Институт медицинской биотехнологии ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»

²Институт природно-технических систем

E-mail: alikiny@mail.ru

Ключевые слова: биологически активные вещества, индукторы интерферона, биотехнология, неспецифическая резистентность, иммуномодуляторы.

Реферат. Рассматривается предложение об использовании разработанных в Институте медицинской биотехнологии ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» препаратов БАВ в программах обеспечения безопасности страны в области медицины, ветеринарии и получения экологически чистых продуктов питания. На основе биотехнологических методов создана технология получения комплекса биологически активных препаратов двуспиральных и однонитевых РНК из дрожжей и фагов, способных обеспечить решение перечисленных выше проблем. «Идеология» разработки состояла в глубоком исследовании эндогенной индукции интерферонов самим организмом с использованием эволюционно сформированных механизмов. За основу были взяты интерферониндуцирующие механизмы действия вирусов. Такие препараты при введении в организм человека и животных способны выступать в роли вирусов, индуцируя в организме синтез интерферонов и других белков-цитокинов, но в отличие от вирусов они не производят разрушительных эффектов. Активация эндогенной цитокиновой сети в этом случае на системном уровне может формировать состояние неспецифической резистентности против вирусов, бактерий и их токсинов. Были разработаны инъекционные и мазевые формы этих препаратов на основе РНК, испытаны и утверждены МЗ РФ и Департаментом ветеринарии РФ. Внедрение эффективных способов применения разработанных препаратов позволяет использовать их в качестве этиотропных средств экстренной профилактики и лечения вирусных заболеваний человека, телят, поросят, плотоядных, птиц и рыб, коррекции иммунодефицитов, усиления протективных свойств вакцин.

BIOTECHNOLOGICAL PREPARATIONS FOR MEDICINE AND VETERINARY MEDICINE IN PROGRAMS PRODUCTION OF ENVIRONMENTALLY FRIENDLY FOOD

¹**Yu.S. Alikin**, Doctor of Biological Sciences, Professor, Senior Research Fellow

¹**M.V. Alekseeva**, Junior Researcher Fellow

¹**V.V. Ermolaev**, Junior Researcher Fellow

¹**V.P. Klimenko**, Researcher Fellow

¹**L.R. Lebedev**, Doctor of Medicine, The Head of Laboratory

¹**Yu.V. Telegina**, Junior Researcher Fellow

¹**T.G. Tereshchenko**, Junior Researcher Fellow

²**A.Ya. Stolbov**, Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher Fellow

¹**I.S. Shchelkunov**, Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher Fellow

¹*Institute of Medical Biotechnology, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector»*

²*Institute of Natural and Technical Systems*

Key words: biologically active substances, interferon inducers, biotechnology, non-specific resistance, immunomodulators.

Abstract. *A proposal is being considered for the use of BAS preparations developed in the Institute of medical biotechnology OF the FBU SSC VB «Vector» in the programs of ensuring the country's security in the field of medicine, veterinary medicine and obtaining environmentally friendly food products. On the basis of biotechnological methods, a technology for obtaining a complex of biologically active preparations of double-stranded and single-stranded RNA from yeast and phages that can provide a solution to the above problems has been created. The» ideology «of the development consisted in a deep study of the EN-Dogen induction of interferons by the organism itself using evolutionarily formed mechanisms. The basis was taken of inter-venicaceae mechanisms of action of viruses. Such drugs when injected into the human body and animals can act as viruses, inducing the synthesis of interferons and other proteins-cytokines in the body, but unlike viruses, they do not produce destructive effects. Activation of the endogenous cytokine network in this case at the systemic level can form a state of non-specific resistance against viruses, bacteria and their toxins. Injectable and ointment forms of these drugs based on RNA were developed, tested and approved by the Ministry of health of the Russian Federation and the Department of veterinary medicine of the Russian Federation. Introduction of effective methods of application of the developed preparations allows to use them as etiotropic means of emergency prevention and treatment of viral diseases of the person, calves, pigs, carnivores, birds and fishes, correction of immunodeficiency, strengthening of protective properties of vaccines.*

Обеспечение безопасности страны в области медицины. Медицинские препараты (БАВ) Ридостин, Ридостин-мазь, Профезим, Профезим-мазь, Нейтростим, Альнорин применяются как противоинфекционные для профилактики и лечения, иммуноадьюванты (для усиления действия вакцин), противоопухолевые, а также для коррекции иммунодефицитов.

Исходно в СССР эти препараты создавались в рамках государственных программ защиты человека от бактериального оружия. Если страны Запада (в первую очередь США) в этом плане пошли по пути получения цитокинов (интерферонов) генно-инженерными методами, то наш подход состоял в глубоком исследовании эндогенной индукции интерферонов самим организмом с использованием эволюционно сформированных механизмов. За основу были взяты интерферониндуцирующие механизмы действия вирусов. Были разработаны технологии получения препаратов двуспиральных и одностранных РНК из дрожжей и фагов. Такие препараты при введении в организм человека и животных способны выступать в роли вирусов, индуцируя в организме образование (синтез) интерферонов и других белков-цитокинов, но, в отличие от вирусов, они не производят разрушительных эффектов. Активация эндогенной цитокиновой сети в этом случае на системном уровне может формировать состояние неспецифической резистентности против вирусов, бактерий и их токсинов. Были разработаны инъек-

ционные и мазевые формы этих препаратов на основе РНК, испытаны и утверждены МЗ РФ и Департаментом ветеринарии РФ.

Область применения препаратов на основе РНК (табл. 1) – во-первых, военная и гражданская эпидемиология, защита от очаговых вирусных инфекций, использование их в качестве иммуномодуляторов для повышения иммуногенности вакцин; во-вторых, коррекции иммунодефицитных состояний у раненых, больных и пораженных при оксигенотерапии, разработанной в Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова (Санкт-Петербург). Необходимость и возможность использования этих препаратов докладывалась нами на конференциях, проводившихся в ВМА им. С.М. Кирова, а также МЧС, с 2003 по 2018 г. [1–4].

Таблица 1

Применение препаратов на основе двуспиральных РНК в области медицины

| Вид патологии | Способ применения |
|---|------------------------|
| <i>Вирусная инфекционная</i> | |
| Грипп и ОРВИ | Профилактика и лечение |
| Герпес (простой, генитальный, опоясывающий лишай) | Лечение |
| Цитомегаловирусная инфекция | Лечение |
| Клещевой энцефалит | Профилактика и лечение |
| <i>Бактериальная инфекционная</i> | |
| Хламидиоз (урогенитальный, офтальмохламидиоз) | Лечение |
| <i>Неинфекционная</i> | |
| Сахарный диабет | Иммуномодуляция |
| Рассеянный склероз | Иммуномодуляция |

Препараты Профезим и Профезим-мазь, созданные на основе иммобилизованных протеолитических ферментов, предназначены для военно-полевой и гражданской терапии и хирургии в качестве средства лечения гнойно-некротических раневых инфекций. При испытании во время гражданской войны в Югославии препараты были признаны самыми перспективными для полевой терапии и хирургии.

Препараты Реаферон, Альнорин и Нейтростим – генно-модифицированные препараты на основе цитокинов, соответственно альфа-2-рек интерферона, фактора некроза опухолей альфа (альфа-ФНО) и гранулоцит-колониестимулирующего фактора (ГКСФ) – противовирусные и противоопухолевые средства нового поколения.

Опыт применения Ридостина для профилактики и лечения ОРВИ. Острые респираторные вирусные заболевания человека (в том числе грипп) имеют широкое распространение в мире. Как правило, под определение грипп подходят заболевания, вызываемые почти 200 видами вирусов, со схожими клиническими симптомами. Это является причиной низкой эффективности вакцинации против гриппа, поскольку практически невозможно сделать вакцину для всех этих вирусов вместе.

Разрабатываемые в последнее время противовирусные лекарственные средства на основе индукторов интерферона обладают способностью подавлять широкий спектр вирусов. В число разработанных препаратов этого класса входят медицинский препарат **Ридостин** и его ветеринарный аналог – **Вестин**.

Основное действие этих препаратов обусловлено их способностью после инъекции в организм человека и животных вызывать синтез эндогенных (собственных) интерферонов: α -, β - и γ - в очень высоких концентрациях (титрах). Как известно α -, β -интерфероны – мощные противовирусные средства, а γ -интерферон – активный иммуномодулятор. Их совместное действие позволяет подготовить организм за короткий промежуток времени к эффективной противовирусной защите. Кроме того, индукторы интерферона способны активизировать фа-

гоцитоз нейтрофилов и макрофагов – натуральных киллеров, действуя на Т- и В-клеточные звенья иммунитета.

Препараты в эксперименте показали высокую степень защиты от гриппа (сем. Orthomyxoviridae) у мышей – 23–83 % и птиц – 65–72 %. Это, а также их способность подавлять другие вирусы разных семейств послужило основанием для их рекомендации в качестве противовирусных средств у людей. Клинические испытания инъекционной формы препарата Ридостин при гриппе и ОРВИ показали её высокую эффективность. Через сутки после однократной инъекции температура нормализуется у 20 % пациентов, а у 60 % снижается до уровня 37–38 °С, необходимого для оптимального развития противовирусного процесса. Средняя продолжительность болезни после применения Ридостина составляет: у лиц, обратившихся в первый день заболевания и получивших инъекцию препарата Ридостин, – 4,8 дня, обратившихся на 2-й день болезни – 6,5, обратившихся на 3–4-й день заболевания – 7,0 при 10,8 дня в контрольной группе пациентов, получавших общепринятое лечение. Таким образом, применение Ридостина на ранних стадиях лечения гриппа и ОРВИ наиболее эффективно.

Для профилактики и лечения гриппа и ОРВИ была также эффективна мазь Ридостина. Так, интраназальное (ворота инфекции) 7-кратное применение мази в период эпидсезона оказало выраженный защитный эффект у представителей группы риска (медицинский персонал поликлиник и больниц; лица, находящиеся в контакте по гриппу и ОРВИ в домашних условиях, в том числе дети; пациенты с пониженной резистентностью, находящиеся в условиях стационара; студенты медицинского вуза в период практики). ОРВИ развилось лишь у 3,6 %. Защитный эффект сохранялся в течение 3-месячного наблюдения за испытуемыми. Особенностью применения мази Ридостина является благоприятное влияние на уменьшение симптомов интоксикации и респираторного синдрома – облегчается течение заболевания верхних дыхательных путей. В контрольной группе, где для профилактики использовали препарат курантил, также обладающий способностью к индукции интерферона, заболеваемость составила 10 %. Заболеваемость в группе медперсонала, не проходившего профилактику, достигла 24,7 %. Таким образом, применение мази Ридостина позволило сократить сроки заболевания, длительность и интенсивность интоксикационного синдрома по сравнению с контрольной группой, которую лечили по традиционной схеме.

Не менее перспективными представляются разработки препаратов на основе дсРНК бактериофага ф6. Данный бактериофаг поражает фитопатогенную бактерию *Pseudomonas phaseolicola*, паразитирующую на широком спектре растений, в первую очередь на семействе бобовых, но непатогенную для человека и животных. Бактериофаг ф6 имеет размер головки 60 нм и состоит из липидов (до 25 %), РНК (13 %) и белков (62 %). Содержит двуспиральную РНК, представленную тремя сегментами размером 6370, 4100 и 3000 п. н. [5].

Исследования, проведённые в ИМБТ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» на белых беспородных мышях, показывают, что дсРНК бактериофага ф6 вызывает повышение синтеза α -интерферона, максимальный уровень которого наблюдался через 5 ч после введения. Несмотря на снижение концентрации ИФН-альфа в крови мышей через 24 ч после инъекции, эффект от введения препарата по-прежнему оставался достаточно выраженным. Кроме того, препарат фаговой дсРНК обладает способностью повышать активность перитонеальных (брюшинных) макрофагов, что было установлено по уровню их окислительно-восстановительной активности. Стимулирующий эффект препарата наблюдался уже через 5 ч после введения (134 % от активности в контрольной группе) и продолжал усиливаться к концу первых суток (263 %).

Кроме того, была исследована интерферониндуцирующая активность комплексного препарата Рибомикс, содержавшего смесь дсРНК дрожжей и бактериофага ф6 и одонитевую РНК дрожжей. По сравнению с Ридостином препарат Рибомикс показал более выраженный эффект

уже через 5 ч после введения, а уровень интерферона оставался повышенным даже через 48 ч, в отличие от Ридостина.

Обеспечение безопасности страны в области получения экологически чистых продуктов питания. Современные мировые тенденции в области производства кормов для сельскохозяйственных животных и птицы, а также их профилактики и лечения, направлены на ограничение или полный запрет использования антибиотиков. В качестве альтернативы антибиотикам могут рассматриваться пробиотики, препараты РНК, повышающие иммунологическую реактивность организма, маннанные олигосахариды (МОС), биологически активные пептиды и другие биологически активные вещества (БАВ), являющиеся продуктами микробиологического синтеза [6–10].

По современным воззрениям, резистентность организма к инфекционным заболеваниям, сформированная в процессе эволюции, представляется как система, которая отвечает на воздействие РНК- и ДНК-вирусов (индукторов интерферона), компонентов бактерий с последующей активизацией белков цитокиновой сети. Вновь синтезируемые в макроорганизме цитокины (интерфероны и др.) активируют в клетках тканей-мишеней ряд ферментов (протеинкиназы, эндонуклеазы и др.) в качестве исполнительного механизма защиты. С учётом сказанного выше с использованием биотехнологических методов могут быть созданы препараты БАВ.

Как уже указывалось, основное действие препаратов – индукторов интерферона обусловлено их способностью после введения в организм человека и животных вызывать синтез эндогенных (собственных) интерферонов: α -, β - и γ -ИНФ в высоких концентрациях, а также других цитокинов (различных интерлейкинов, факторов некроза опухолей и др.). Как известно, α - и β -интерфероны – мощные противовирусные средства, а γ -интерферон и другие цитокины – активные иммуномодуляторы. Их совместное действие позволяет за короткий промежуток времени подготовить организм животного к эффективной противоинойфекционной защите. Кроме того, индукторы интерферона способны активизировать фагоцитоз нейтрофилов и макрофагов – натуральных киллеров, действуя на Т- и В-клеточные звенья иммунитета, и повышать эффективность вакцинации в организме животных и птицы.

В связи с этим в НИКТИ БАВ (в настоящее время ИМБТ) разработан комплекс ветеринарных препаратов БАВ, включающий противоинойфекционные лекарственные средства на основе индукторов интерферона (Ридостин, Вестин, Провест), цитокинов (ФНО-альфа), пробиотиков (Субалин), ферментов (Эндоглюкин, Профезим) и иммуномодулятор на основе РНК (Полирибонат). Экспериментальные исследования показали, что индукторы интерферона и цитокины обладают способностью подавлять широкий спектр вирусов и бактериальных инфицирующих агентов и повышать эффективность вакцинации против бактериальных и вирусных инфекций у сельскохозяйственных животных и птиц. Ферментные препараты протеазы (Профезим) подавляют бактериальную раневую инфекцию, а нуклеазы (Эндоглюкин) – размножение вирусов, проникших в клетки организма пчел, птицы, плотоядных и телят.

Изучение совместного применения иммуномодуляторов (Вестина и Полирибоната) и пробиотиков (Субалина) с целью полной замены антибиотиков проводили на птице в процессе выращивания. Введение только одних пробиотиков недостаточно для создания в организме птицы полноценного вакцинного иммунитета к вирусным заболеваниям. Совместное применение пробиотиков и иммуномодуляторов приводило к достоверной стимуляции поствакцинального иммунитета.

Молекулярные механизмы противоинойфекционных эффектов указанных выше препаратов в настоящее время активно исследуются. Они могут быть обусловлены как участием мембранных и внутриклеточных рецепторов (например, toll-like рецепторов), так и комплексным взаимодействием пула РНК-аптамеров, образующихся в организме под действием эндогенных

РНКаз, с пептидами, полисахаридами, липидами. Это перспективный путь создания новых препаратов и вакцин.

Внедрение эффективных способов применения разработанных препаратов позволяет использовать их в качестве этиотропных средств экстренной профилактики и лечения вирусных заболеваний телят, поросят, плотоядных, птиц и рыб, коррекции иммунодефицитов, усиления протективных свойств вакцин.

К числу хорошо зарекомендовавших себя противовирусных препаратов для борьбы с инфекционными заболеваниями пчел относится препарат Эндоглюкин, действующим началом которого является эндонуклеаза *Serratia marcescens*. Одновременно он является стимулятором развития пчелиных семей. Применение Эндоглюкина позволяет предотвращать гибель пчел от вирусных болезней в весенне-летний период, оздоравливать пчелиные семьи, быстро наращивать их силу, получать больше отводков, меда и других продуктов пчеловодства. Препарат обладает широким спектром противовирусной активности, что делает его перспективным для применения при выявлении новых вирусных болезней пчел и для борьбы с так называемым «коллапсом» пчел в мире. При проведении биологических исследований Эндоглюкина во всех экспериментах было убедительно показано, что мед, полученный от пчел, которые были обработаны препаратом Эндоглюкин, не содержит действующее начало препарата – эндонуклеазу, не проявляет аллергенных свойств [10]. Препарат может эффективно применяться в качестве противовирусного средства в птицеводстве и животноводстве.

Последующая организация высоконаучного биотехнологического производства перечисленных средств неизбежно приведет к созданию новых конкурентоспособных технологий ветеринарного обслуживания в стране (за счет снижения применения антибиотиков и гормонов), получению экологически чистых продуктов питания, оздоровлению населения, созданию новых рабочих мест. Эти составляющие являются важным условием работы агропромышленного комплекса (АПК) при вступлении в ВТО, а также против санкционной политики Запада.

В современном животноводстве, в том числе птицеводстве и рыбоводстве России, проблема профилактики и борьбы с массовыми инфекционными болезнями животных (особенно молодняка) вирусного и бактериального характера, обусловленных вторичными иммунодефицитами различного происхождения, широким распространением латентного вирусного и бактериального носительства, технологическими и техногенными факторами, нарушением обменных процессов, ослабляющих иммунный статус организма, стоит очень остро. Все это требует применения препаратов, обладающих этиотропным противовирусным действием и корректирующих иммунный ответ.

Среди 10 млн телят в стране 50–60% болеют инфекциями желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), респираторными заболеваниями – 35–45%; среди 20 млн поросят 40–50 и 4–25% соответственно; при численности птиц 217,6 млн голов заболеваемость вирусными и ассоциированными инфекциями достигает 10–30%. Противовирусных средств для рыбоводства вообще не разработано. Все это свидетельствует о потребности в таких средствах в объеме нескольких десятков миллионов доз в год. Кроме того, нельзя не учитывать угрозу биотерроризма, особенно в отношении антропозоонозов и очаговых инфекций.

Заболеваемость гнойно-некротическими заболеваниями 10 млн телят и 20 млн взрослого поголовья крупного рогатого скота составляет: заболевания конечностей (некробактериоз и др.) – 15–20%, эндометриты – 35–40, маститы – 30–35%. Таким образом, потребность в препаратах, обеспечивающих эту область терапии у крупного рогатого скота, свиней, овец, может достигать не менее 54 млн доз.

В НИКТИ БАН ГНЦ ВБ Вектор на основе БАН (двуспиральной и высокополимерной РНК из дрожжей, ферментов, цитокинов) создан комплекс препаратов для ветеринарной медицины,

обладающих всеми вышеуказанными свойствами. В ООО «Диафарм» было организовано их производство на базе ИМБТ (в настоящее время почти уничтожено).

Область применения данных препаратов – животноводство, птицеводство, рыбоводство, пчеловодство. Препараты на основе БАВ микробиологического происхождения способны выступать в качестве противовирусных средств, стимуляторов неспецифической резистентности, развития и гемопоэза, иммуномодуляторов, иммуноадьювантов при вакцинации, антимутагенов. Препараты могут работать в очагах особо опасных инфекций. Других средств с такой высокой противоинойфекционной активностью в настоящее время не имеется. Кроме того, это этиотропные противовирусные средства. Впервые для ветеринарной практики созданы препараты с выраженными противовирусными свойствами. Это достигается не за счёт дополнительных механизмов, стимулирующих иммунную систему, а за счёт прямого (этиотропного) их действия.

Разработки защищены патентами, патентообладателем является ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор»:

- А.с. № 972832 «Способ получения высокополимерной (вп) РНК из микроорганизмов»;
- Патент № 2083221 (1996) «Индуктор интерферона Ридостин»;
- Патент РФ № 1790414 от 22.09.1992 «Способ профилактики туберкулеза животных»;
- Патент РФ № 1801012 от 09.10.1992 «Способ выращивания телят»;
- Патент РФ № 2038776 от 05.07.1995 «Средство “эндогликин” для профилактики и лечения вирусных заболеваний пчел и стимуляции развития пчелиных семей»;
- Патент № RU 2043714 C1 (1995) «Способ профилактики вирусных заболеваний рыб»;
- Патент № 2219915 от 27.12.2003 «Способ лечения микоплазмоза животных»;
- Патент № 2172631 от 30.03.2004 «Индукторы интерферона пролонгированного действия»;
- Патент № 2258523 от 20.08.2005 «Способ профилактики бронхопневмонии у поросят»;
- Патент № 2272632 от 30.03.2004 «Способ лечения и профилактики желудочно-кишечных инфекционных болезней поросят в условиях промышленного свиноводства» и др.

Препараты с 1994 г. используются в ветеринарной медицине, утверждены в Россельхознадзоре РФ. Исследования противовирусных свойств дрожжевой дсРНК показали, что препараты на её основе обладают широким спектром противовирусных эффектов на различных семействах вирусов, определенных *in vivo* как у лабораторных, так и у сельскохозяйственных животных. Это энцефалиты лошадей, обусловленные альфа-вирусами (до 50–75% защиты); флавивirusы – клещевой энцефалит (до 60% защиты); ортомиксовirusы – грипп, в том числе птиц (до 83%), герпес-virusы – генитальный человека (до 70%), парамиксовirusы, в том числе чума собак (до 70–95%), парвовirusы – парвовирусный энтерит собак (до 75–80%), рабдовирусy – бешенство (до 30%), весенняя виремия карпа (до 78–100%) и др. Кроме этого эффекта, препараты дсРНК дрожжей обладают иммуноадъвантными свойствами, повышая эффективность вакцин против туберкулеза животных, мыта лошадей, классической чумы свиней, болезней Марека, Ньюкасла и Гамборо у птиц.

В современном мире наблюдаются тенденции к ограничению и полному запрету использования кормовых антибиотиков. Предполагается, что использование антибиотиков приводит к появлению лекарственно устойчивых форм бактерий, которые передадут эту устойчивость патогенам человека. Если это случится, то антибиотики, эффективные в настоящее время при лечении заболеваний, станут абсолютно бесполезными [8]. Ситуация, сложившаяся в отношении антибиотиков, подталкивает производителей кормовых добавок, животноводческой и птицеводческой продукции к поиску новых форм препаратов и альтернатив антибиотикам, удовлетворяющих современным требованиям сельскохозяйственного производства. В числе таких альтернатив могут рассматриваться препараты РНК, повышающие иммунологическую реактивность организма, маннанные олигосахариды (МОС), биологически активные пептиды, пробиотики и др. [9, 10]. В число разработанных препаратов этого класса входят: Субалин, Профезим, Эндогликин, Вестин, Полирибонат, Профезим и Эндогликин – ферментные пре-

параты, способные подавлять соответственно бактериальную раневую инфекцию и вирусы, проникшие в клетки организма.

Эффективность применения Полирибоната и Вестина при весенней виремии карпа. Постоянно нарастающая интенсификация рыбоводства, возникновение и развитие новых форм и методов аква- и марикультуры влекут за собой обострение проблемы инфекционных заболеваний культивируемых рыб, в том числе и вирусных болезней. Это обусловлено тем, что промышленное рыбоводство связано со все возрастающим влиянием неадекватных условий культивирования гидробионтов, значительно отличающихся от естественных и изменяющих фенотипические ответы организма, как за счет стрессовых и антропогенных факторов (скученность, иерархия, хендлинг, ограниченность пространства, загрязнения), так и из-за причин эколого-физиологического плана (сезон, температура, соленость и фотопериодичность). Эти факторы приводят к снижению резистентности организма и возникновению заболеваний. В осуществлении коррекции иммунодефицитного состояния и предупреждении развития на их фоне инфекционных заболеваний рыб значительную роль способны сыграть иммуномодуляторы и индукторы интерферона.

Весенняя виремия карпа (SVC) является основным вирусным заболеванием, зарегистрированным у культивируемых рыб в России, среди которых карп традиционно занимает главное место. Болезнь вызывается вирусом *Rhabdovirus carpio* (RVC). Она широко распространена также и за рубежом и наносит в целом значительный ущерб карповодству. Болезнь поражает в основном южные и центральные районы РФ, другие государства СНГ, Европы, Америки, отмечена в Китае. Разработка надежных способов профилактики заболевания является актуальной проблемой. В то же время проблема использования иммуномодуляторов и индукторов интерферона на основе РНК для профилактики вирусных заболеваний рыб оставалась открытой. Указанные причины и послужили основанием для наших исследований [11–14].

Опыты по изучению противовирусной защиты рыб препаратами РНК проводили в аквариальной ФГУП ВНИИПРХ. Для заражения рыбы (сеголетков, годовиков и двухлетков карпа) использовали штамм М2 *Rhabdovirus carpio*, наработанный на перевиваемой культуре клеток карпа ЕРС. Используемые в работе препараты Полирибонат и Вестин были произведены в ИМБТ ГНЦ ВБ «Вектор».

Индукцию интерферона у двухлетков карпа изучали после однократной внутрибрюшинной инъекции препарата Вестин в дозе 5 мг/кг ихтиомассы. Контрольной группе рыб вводили среду Игла-МЕМ с двойным набором аминокислот и витаминов (2 МЕМ) (табл. 2). Активность эндогенных интерферонов определяли в сыворотках крови карпа спустя 1, 2, 3, 4, 7 и 9 суток с момента введения препарата. Индукцию интерферона отмечали на 2–4-е сутки. Пик активности сывороточного интерферона был зарегистрирован через 2 суток после введения дсРНК ($426,0 \pm 445,3$ ИЕ/мл).

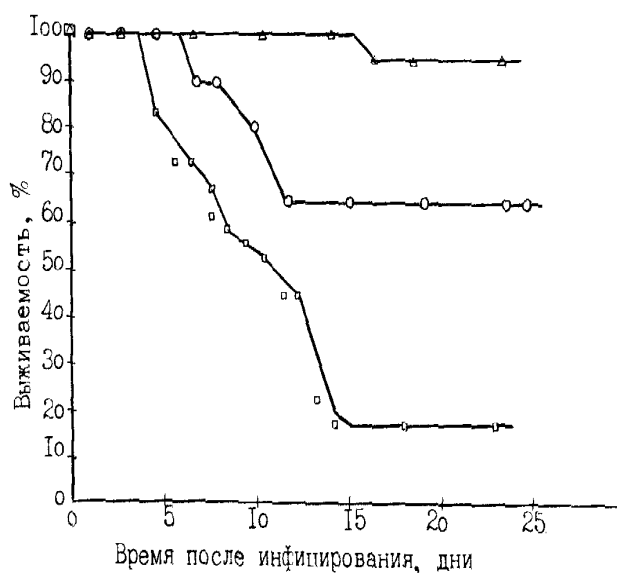
Таблица 2

Противовирусный эффект различных форм дсРНК, вводимых внутрибрюшинно и методом ванн, при экспериментальном заражении сеголетков карпа *Rhabdovirus carpio*

| Метод применения | Препараты | | |
|---------------------------------|-----------|----------|---------------------------|
| | Вестин | ДсРНК+ПГ | контроль (среда Игла-МЕМ) |
| <i>Внутрибрюшинные инъекции</i> | | | |
| Доза, мг/кг | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| Количество рыб в группе | 25 | 25 | 25 |
| Выживших, % | 8 | 36 | 4 |
| <i>Введение методом ванн</i> | | | |
| Доза, мг/кг | 1 | 1 | 1 |
| Количество рыб в группе | 29 | 30 | 30 |
| Выживших, % | 83 | 80 | 63 |

В следующем опыте изучали возможность применения препаратов РНК для профилактики экспериментальной рабдовирусной инфекции. В работе использовали годовиков карпа со средней массой 47 г. Опытным группам (по 20 рыб) инъектировали препарат Вестин в дозе 10 мг/кг или препарат Полирибонат в дозе 100 мг/кг. Контрольным рыбам вводили по 0,5 мл среды Игла. Все группы рыб были рассажены в отдельные аквариумы. Температуру воды, имевшую в момент инъекции препарата 9–10⁰С, через сутки повышали до 14–15⁰С и на этом уровне поддерживали на протяжении всего опыта. Через 2 суток рыбу заражали интраперитонеально вирусом в дозе 10^{7,35} TCID₅₀/гол. Гибель рыб в эксперименте проходила с типичными для данного заболевания признаками. Наблюдения проводили в течение 25 дней.

Результаты сравнительного анализа противовирусной эффективности одно- и двуспиральных РНК показали, что одонитевая РНК (препарат Полирибонат) обладает слабой или умеренной антивирусной активностью (индекс защиты до 55%), в то время как двуспиральная РНК (препарат Вестин) показала высокий положительный профилактический эффект (индекс защиты до 94%) (рисунок).



Сравнительная противовирусная эффективность одно- (○) и двуспиральных РНК (Δ) против контрольной группы (◇)

Полученные экспериментальные данные показывают, что эффективные дозы препарата Вестин, обеспечивающие высокую степень защиты от рабдовирусной инфекции у карпа, находятся в пределах 1–10 мг/кг. Эти данные свидетельствуют о том, что противовирусный эффект препаратов РНК у рыб, как и у млекопитающих, обусловлен индукцией интерферона двуспиральными РНК (Вестин), тогда как одонитевые РНК (впРНК, полирибонат) имеют другой механизм иммуномодулирующего действия. Предполагается, что указанные выше препараты БАВ могут быть перспективными для применения в области марикультуры (культивирование гидробионтов: рыб, моллюсков – мидий, устриц и др.).

Иммуностимулирующие эффекты вп- и дсРНК, а также препаратов на их основе, отмеченные у экспериментальных животных, подтверждены на моделях вакцинации БЦЖ против туберкулеза морских свинок, кроликов и телят, а также с вирус-вакциной против классической чумы свиней.

Таким образом, внедрение разработанных препаратов индукторов интерферона и иммуномодуляторов на основе РНК в качестве этиотропных средств экстренной профилактики и лечения инфекционных заболеваний животных с учетом их способности сочетаться с антибак-

териальными средствами, усиливая действие и корректируя иммунодепрессантные свойства последних, представляет уникальную возможность для создания комплексных биотиков широкого спектра действия.

В ИМБТ ГНЦ ВБ «Вектор» из отходов производства препаратов на основе рибонуклеиновых кислот разработаны кормовые добавки, содержащие МОС (маннаногликаны). Это дрожжевой денуклеотизированный продукт (ДНДП) и биостимулирующая кормовая добавка (БСКД). По результатам испытаний, ДНДП и БСКД по эффективности не уступают препарату Био-МОС (Bio-MOS, Alltech, Jsc), который содержит маннанные олигосахариды [15].

Таким образом, создана безотходная технология получения БАВ для медицины и ветеринарии, в целях получения экологически чистых продуктов питания человека.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Комплекс* лечебно-профилактических препаратов БАВ для противоэпидемической защиты населения и войск / Ю.С. Аликин, Е.Д. Даниленко, Л.Р. Лебедев [и др.] // Достижения науки и практики в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия Вооружённых сил Российской Федерации: тр. 3-го съезда военных врачей медико-профил. профиля Вооружённых сил РФ, 8–10 дек. 2010 г. – СПб., 2010. – С. 153.

2. *Золин В.В., Аликин Ю.С., Оськина О.П.* Оценка и перспективы управления рисками для здоровья персонала, проводящего работы с ПБА в изолирующих пневмокостюмах // История и перспективы отечественной гигиенической науки и практики: материалы Всерос. науч.-практ. конф., посвящ. 150-летию кафедры общей и военной гигиены с курсом военно-морской и радиационной гигиены Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, 23–24 апр. 2015 г. – СПб: ВМА, 2015. – С. 247–248.

3. *Комплекс* препаратов биологически активных веществ (нуклеиновых кислот, цитокинов, ферментов и пробиотиков) для обеспечения противоинойфекционной устойчивости персонала МЧС / Ю.С. Аликин, Е.Д. Даниленко, Л.Р. Лебедев, В.Ф. Подгорный // Пути и направления совершенствования гражданской обороны, повышения безопасности населения и территорий муниципальных образований субъектов Российской Федерации Сибирского федерального округа: материалы науч.-практ. конф. – Новосибирск, 2014. – С. 66–71.

4. *Профилактическая* эффективность комплекса препаратов биологически активных веществ (нуклеиновых кислот, цитокинов и пробиотиков) для обеспечения противоинойфекционной устойчивости организма / Ю.С. Аликин, Е.Д. Даниленко, Л.Р. Лебедев, В.Ф. Подгорный // Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия военнослужащих и населения в современных условиях: материалы 4-го Съезда военных врачей медико-профил. профиля Вооружённых сил РФ, 1–3 окт. 2014 г. – СПб., 2014. – С. 43–44.

5. *Способ* получения и исследование биологических свойств двуспиральной РНК бактериофага ф6 / В.В. Ермолаев, В.П. Клименко, Ю.С. Аликин [и др.] // Биофармацевт. журн. – 2017. – Т. 9, № 3. – С. 21–23.

6. *Аликин Ю.С.* Комплекс препаратов РНК для обеспечения противоинойфекционной устойчивости животных // Фармацевтические и медицинские биотехнологии. Фармацевтические биотехнологии для ветеринарии: материалы Междунар. науч.-практ. конф. – Москва, 20–22 марта 2012 г. – М., 2012. – С. 312–313.

7. *Комплексные* препараты биологически активных веществ для профилактики и лечения инфекционной патологии птиц / Ю.С. Аликин, В.И. Смоленский, В.Ф. Подгорный [и др.] // Материалы VIII Междунар. вет. конгр. по птицеводству, Москва, 19–22 апр. 2012 г., – М., 2012. – С. 116–122.

8. *Комплексное* применение пробиотиков и иммуномодуляторов для получения экологически чистых продуктов питания птицеводства: метод. рекомендации / Ю.С. Аликин, Т.А. Кашперова, Ю.Г. Юшков, В.А. Понюхов; НИКТИ БАВ; РАСХН. Сиб. отд-ние, ИЭВСиДВ; СХ ОАО «Белореченское». – Новосибирск, 2016. – 89 с.
9. *Комплексное* применение пробиотиков и иммуномодуляторов для получения в птицеводстве экологически чистых продуктов питания / Г.А. Ноздрин, Ю.С. Аликин, В.Ф. Подгорный [и др.] // Адаптация, здоровье и продуктивность животных: сб. докл. Сиб. межрегион. науч.-практ. конф., Новосибирск, 22–23 мая 2008 г. – Новосибирск, 2008. – С. 164–169.
10. *Вирусные* болезни пчел и противовирусные препараты: метод. рекомендации / Ю.С. Аликин, А.З. Афиногенов, Ю.М. Батуев [и др.]. – Бердск, 2016. – 43 с.
11. *Индукторы* интерферона на основе РНК – потенциальные противовирусные средства в рыбоводстве / Ю.С. Аликин, В.Ф. Подгорный, В.П. Клименко [и др.] // Рыбоводство и рыбное хозяйство. – 2011. – № 12. – С. 32–42.
12. *Перспективы* применения бактериальных препаратов и пробиотиков в рыбоводстве / А.Б. Иванова, Б.Т. Сариев, Г.А. Ноздрин [и др.] // Вестн. НГАУ. – 2012. – № 2 (23), ч. 2. – С. 58–61.
13. Аликин Ю.С., Щелкунов И.С., Щелкунова Т.И. Проблемы отечественной вирусной ихтиопатологии и пути их решения // Рыбоводство и рыбн. хоз-во. – 2014. – № 1. – С. 56–59.
14. *Использование* разработанных препаратов БАВ для защиты человека, животных и перспективных при получении экологически чистых продуктов питания рыбоводства / Ю.С. Аликин, Г.А. Ноздрин, И.В. Моружи, И.С. Щелкунов // Рыбоводство и рыбн. хоз-во. – 2018. – № 9 (152). – С. 60–66.
15. *Пат. № 218962 РФ*. Биостимулирующая кормовая добавка / Ю.С. Аликин, В.П. Клименко, Л.П. Сенженко [и др.]. – Опубл. 27.09.2002. – 1999–03–15.

REFERENCES

1. Kompleks lechebno-profilakticheskikh preparatov BAV dlya proo-tivoepidemicheskoy zashchity naseleniya i vojsk / YU.S. Alikin, E.D. Dani-lenko, L.R. Lebedev i dr. // Dostizheniya nauki i praktiki v obespechenii sanitarno-epidemiologicheskogo blagopoluchiya Vooruzhyonnyh sil Rossijskoy Federacii: tr. 3-go s»ezda voennyh vrachej mediko-profilakt. pro-filya Vooruzhyonnyh sil RF, 8–10 dek. 2010 g. – Spb., 2010. – S. 153.
2. Zolin V.V., Alikin YU.S., Os'kina O.P. Ocenka i perspektivy upravleniya riskami dlya zdorov'ya personala, provodyashchego raboty s PBA v izoliruyushchih pnevmokostyumah // Istoriya i perspektivy otechestvennoj gigienicheskoy nauki i praktiki: materialy Vseros. nauch. – prakt. konf., posvyashch. 150-letiyu kafedry obshchej i voennoj gigieny s kursom voenno-morskoj i radiacionnoj gigieny Voенno-medicinskoj akademii im. S.M. Kirova 23–24 apr. 2015 g. – Spb: VMA, 2015. – S.247–248.
3. Kompleks preparatov biologicheskii aktivnyh veshchestv (nukleino-vyh kislot, citokinov, fermentov i probiotikov) dlya obespecheniya pro-tivoinfekcionnoj ustojchivosti personala MCHS / YU.S. Alikin, E.D. Dani-lenko, L.R. Lebedev, V.F. Podgornyj // Puti i napravleniya sovershenstvovaniya grazhdanskoj oborony, povysheniya bezopasnosti naseleniya i territorij municipal'nyh obrazovaniy sub'ektov Rossijskoj Federa-cii Sibirskogo federal'nogo okruga: materialy nauch. – prakt. konf. – Novosibirsk, 2014. – S. 66–71.
4. Profilakticheskaya effektivnost» kompleksa preparatov biolo-gicheskii aktivnyh veshchestv (nukleinovyh kislot, citokinov i probioti-kov) dlya obespecheniya protivoinfekcionnoj ustojchivosti organizma / YU.S. Alikin, E.D. Danilenko, L.R. Lebedev, V.F. Podgornyj // Obespeche-nie sanitarno-epidemiologicheskogo blagopoluchiya voennosluzhashchih i naseleniya v sovremennyh usloviyah:

materialy 4-go S'ezda voennyh vra-chej mediko-profilakt. profilya Vooruzhyonnyh sil RF, 1–3 okt. 2014 g. – Spb., 2014. – S. 43–44.

5. Sposob polucheniya i issledovanie biologicheskikh svojstv dvuspi-ral'noj RNK bakteriofaga $\phi 6$ / V.V. Ermolaev, V.P. Klimenko, YU.S. Alikin, YA.S. Gogina, E.A. Il'yasov., I.A. Lompas, A.V. Bateneva, G.M. Sy-soeva, S.G. Gamalej, G.G. SHimina, L.R. Lebedev, E.D. Danilenko // Biofarmacevt. zhurn. – 2017. – T. 9, № 3. – S. 21–23.

6. Alikin YU.S. Kompleks preparatov RNK dlya obespecheniya protivoinfekcionnoj ustojchivosti zhivotnyh / Farmaceuticheskie i medicinskie biotekhnologii. Farmaceuticheskie biotekhnologii dlya veterinarii: mate-rialy Mezhdunar. nauch. – prakt. konf. – Moskva, 20–22 marta 2012 g. – M., 2012. – S. 312–313.

7. Kompleksnye preparaty biologicheski aktivnyh veshchestv dlya pro-filaktiki i lecheniya infekcionnoj patologii ptic / YU.S. Alikin, V.I. Smolenskij, V.F. Podgornyj, L.R. Lebedev, V.P. Klimenko, V.A. Ponyu-hov, E.P. Ponyuhova // materialy VIII Mezhdunarodnogo veterinarnogo kongressa po pticevodstvu, Moskva, 19–22 apr. 2012 g., – M., 2012. – S. 116–122.

8. Kompleksnoe primenenie probiotikov i immunnomodulyatorov dlya polucheniya ekologicheskhi chistyh produktov pitaniya pticevodstva: metodi-cheskie rekomendacii / YU.S. Alikin, T.A. Kashperova, YU.G. YUshkov, V.A. Ponyuhov NIKTI BAV: RASKHN. Sib. otd-nie, IEVSiDV; SKH OAO «Be-lorechenskoe». – Novosibirsk, 2016. – 89 s.

9. Kompleksnoe primenenie probiotikov i immunomodulyatorov dlya polucheniya v pticevodstve ekologicheskhi chistyh produktov pitaniya / G.A. Nozdrin, YU.S. Alikin, V.F. Podgornyj, V.A. Ponyuhov, E.P. Ponyuhova // Adaptaciya, zdorov'e i produktivnost» zhivotnyh: sb. dokl. Sib. mezhre-gion. nauch. – praktich. konf., Novosibirsk, 22–23 maya 2008 g. – Novosi-birsk, 2008. – S. 164–169.

10. Virusnye bolezni pchel i protivovirusnye preparaty: metod. re-komendacii / YU.S. Alikin, A.Z. Afinogenov, YU.M. Batuev, O.F. Grobov, V.P. Klimenko, V.F. Podgornyj: – Berdsk, 2016. – 43 c.

11. Induktory interferona na osnove RNK – potencial'nye proti-vovirusnye sredstva v rybovodstve / YU.S. Alikin, V.F. Podgornyj, V.P. Klimenko, I.S. SHCHelkunov, T.I. SHCHelkunova // Rybovodstvo i rybnoe ho-zyajstvo. – 2011. – № 12. – S. 32–42.

12. Perspektivy primeneniya bakterial'nyh preparatov i probioti-kov v rybovodstve / A. B. Ivanova, B. T. Sariev, G.A. Nozdrin, I. V. Moru-zi, YU.S. Alikin // Vestn. NGAU. – 2012. – № 2 (23), ch. 2. – S. 58–61.

13. Alikin YU.S., SHCHelkunov I.S., SHCHelkunova T.I. Problemy oteche-stvennoj virusnoj ihtopatologii i puti ih resheniya // Rybovodstvo i rybn. hoz-vo. – 2014. – № 1. – S. 56–59.

14. Ispol'zovanie razrabotannyh preparatov BAV dlya zashchity che-loveka, zhivotnyh i perspektivnyh pri poluchenii ekologicheskhi chistyh produktov pitaniya rybovodstva / YU.S. Alikin, G.A. Nozdrin, I. V. Mo-ruzi, I.S. SHCHelkunov // Rybovodstvo i rybn. hoz-vo. – 2018. – № 9 (152). – S. 60–66.

15. Pat. № 218962 RF: Biostimuliruyushchaya kormovaya dobavka / YU.S. Alikin, V.P. Klimenko, L.P. Senzhenko, S.F. Karpova, T.A. Tereshchenko, L.K. Fedosova, V.I. Masycheva, K.YA. Motovilov, N.S. Hrustaleva, D.YU. Biryukova, I.A. Lenivkina – Opubl. 27.09.2002. – 1999–03–15.