

Применение Фелиферона® в качестве средства этиотропной терапии при вирусной лейкемии кошек

С.А. Пархоменко, ветеринарный врач (parhomenko@bio-invest.ru), **О.А. Зейналов**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник ООО «Научно-технологический центр «БиоИнвест» (117246, Москва, Научный проезд, д. 20).

Представлены результаты применения Фелиферона® при вирусной лейкемии кошек. Выявлено снижение количества провирусной ДНК ВЛК в периферической крови кошек вплоть до неопределяемого уровня. Отмечено замедление прогрессирования истощения системы крови. Установлены безопасность применения Фелиферона® и отсутствие отдаленных последствий применения. При включении Фелиферона® в схему симптоматического лечения ВЛК ускоряются сроки купирования симптомов вторичных инфекций.

Ключевые слова: фелиферон, интерферон кошек, лейкемия кошек, вирус лейкемии кошек

Сокращения: БАК — биохимический анализ крови, ВИК — вирус иммунодефицита кошек, ВЛК — вирус лейкемии кошек, в/м — внутримышечно, ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота, ИФН — интерферон, ИФА — иммуноферментный анализ, МЕ — международные единицы, ОАК — общий анализ крови, ПЦР РВ — полимеразно-цепная реакция в режиме реального времени, РНК — рибонуклеиновая кислота

Введение

Вирусная лейкемия кошек вызывается одноименным вирусом и характеризуется полисимптомным течением, которое может сопровождаться синдромом иммунодефицита [1, 2], нарушением кроветворения [2...4] и развитием онкозаболеваний [6]. Название заболевания сложилось исторически, и его не следует понимать буквально, так как развитие лейкемии, индуцированной данным вирусом, — весьма редкое явление.

Возбудитель — РНК-содержащий вирус [11], который, согласно классификации Международного комитета таксономии вирусов, относится к семейству *Retroviridae*, роду *Gammaretrovirus*. Характерная особенность данного семейства — участие в цикле репродукции фермента ревертазы.

Терапия состояний, обусловленных течением ретровирусных инфекций у кошек, основана на симптоматическом лечении, заключающемся в поддержании водно-электролитного баланса, витаминно-минерального обмена, применении противопаразитарных и противомикробных препаратов для устранения вторичных инфекций, связанных с иммунодефицитом [5].

Практика назначения противовирусных средств не получила достаточного распространения при ретровирусных инфекциях кошек по следующим причинам: схемы лечения не адаптированы для животных, препараты высоко токсичны для кошек и, кроме того, при их применении развиваются нежелательные реакции [3, 8, 12].

Для лечения многих вирусных заболеваний домашних животных в ветеринарной практике предлагается использовать ИФН, которые в отличие от химиотерапевтических противовирусных препаратов обладают менее выраженной токсичностью. Однако попытки применения человеческого ИФН для терапии ретровирусных инфекций кошек обычно не дают желаемого результата из-за его низкой активности в организме кошки и образования нейтрализующих антител [8, 12].

В данной ситуации наиболее перспективным представляется применение кошкам видоспецифичного (кошачьего) ИФН, который прерывает репродукцию вирусов и вполне успешно используется на практике [9, 10].

Относительно применения видоспецифичного ИФН при ВЛК в литературе имеется достаточное количество данных, свидетельствующих об эффективности одного из видов рекомбинантного ИФН кошек при состояниях, обусловленных течением ВЛК-инфекции [3, 5, 12].

В частности, в ходе плацебо-контролируемых исследований было установлено, что смертность в группе кошек, получавших рекомбинантный кошачий ИФН, снижалась в сравнении с группой контроля на 20 %. Кроме того, лечение животных видоспецифичным ИФН сопровождалось незначительным, но последовательным улучшением некоторых гематологических параметров [1].

В ходе практического применения кошкам с диагнозом ВЛК препарата Фелиферон®, содержащего в качестве активного начала ИФН кошки, специалистами ветеринарных клиник Москвы, Московской области и Санкт-Петербурга было отмечено клиническое улучшение течения основного заболевания. Больные кошки лучше поддавались лечению вторичных инфекций вирусно-бактериальной этиологии при включении в схему лечения Фелиферона®.

Цель исследования

Изучить эффективность и безопасность применения Фелиферона® при инфекции, вызванной ВЛК.

Материалы и методы

В исследование были включены две группы кошек, больных ВЛК, не получавших ранее этиотропного лечения. В каждую группу входило по 10 животных в возрасте от 1 года, с верифицированным диагнозом вирусной лейкемии кошек. Больные кошки содержались в приюте для бездомных животных Московской области. Все животные получали одинаковое кормление и имели постоянный доступ к свежей воде.

Комплексный диагноз устанавливали на основании данных анамнеза, клинического осмотра и результатов лабораторных исследований. Диагноз верифицировали по совокупности положительных результатов тестов ИФА на р27 и ПЦР РВ на ДНК ВЛК.

При дифференциальной диагностике исключали ВИК-инфекцию, панлейкопению и гемобартонеллез.

Однородность клинического статуса больных животных определяли по совокупности результатов статистического анализа гематологических показателей (ОАК, и БАК, данных электрофорограммы белков сыворотки крови), форме течения основного заболевания (ВЛК-инфекции), выраженности клинических симптомов вторичных инфекций. ОАК и БАК проводились в лаборатории «Айболит-лаб» (г. Москва, ул. Болотниковская, д. 21, стр. 1).

Статистический анализ гематологических показателей не выявил достоверных различий между животными, составляющими популяцию исследования. На основании совокупности данных клинико-лабораторных тестов у всех животных было установлено течение ВЛК-инфекции, сопровождающееся иммуносупрессией с поражением системы крови. Степень выраженности симптомов, связанных с присоединением вторичной инфекции (конъюнктивиты, диарея, риниты), была определена как средняя.

Эффективность Фелиферона® оценивали на основании наблюдения за динамикой клинических симптомов, результатов определения провирусной ДНК, показателей ОАК в 0 и 14-й день исследования.

Безопасность применения Фелиферона® контролировали путем оценки показателей ОАК, БАК и клинических симптомов в 0 и 14-й день эксперимента, с последующим наблюдением за животными в течение 180 дней под контролем гематологических (ОАК), биохимических (БАК) и вирусологических показателей (определение ДНК ВЛК методом ПЦР РВ). За животными наблюдали на протяжении 180 дней, чтобы исключить отдаленные последствия применения Фелиферона® на организм кошек, в том числе ускоренного прогрессирования основного заболевания (ВЛК-инфекции).

Для определения провирусной ДНК использовали тест-наборы (ООО «Фрактал Био», Санкт-Петербург, Россия). Указанные наборы зарегистрированы на территории РФ и широко применяются в ветеринарной практике для ПЦР-диагностики инфекционных болезней домашних и сельскохозяйственных животных.

В анализе диагностических маркеров ВЛК до лечения соответствующая провирусная ДНК была обнаружена у всех кошек, участвующих в эксперименте. Результаты ОАК больных кошек до начала применения Фелиферона® свидетельствовали об ухудшении

гемограммы, что можно связывать с латентным течением ВЛК-инфекции.

Фелиферон® применяли в опытной группе по схеме 400 000 МЕ (1,0 мл), в/м, 1 раз в день с 1-й по 7-й день, далее по одной инъекции в дозе 400 000 МЕ, в/м, в 9-й, 11-й, 13-й день. Данная схема была признана как наиболее универсальная по результатам предыдущих наблюдений за животными, которым в экспериментальном порядке назначали Фелиферон® в разных разовых дозах, с различной кратностью и продолжительностью введения.

Проводили сравнительный анализ времени выздоровления кошек от вторичных инфекций между опытной и контрольной группами животных. В опытной группе в качестве этиотропной терапии по окончании курса Фелиферона® применяли ципрофлоксацин (таблетки) из расчета 5,0 мг/кг, перорально, один раз в день, в течение 5 дней. В контрольной группе применяли только ципрофлоксацин (таблетки) из расчета 5,0 мг/кг, перорально, один раз в день, 5 дней.

Результаты

Результаты оценки эффективности применения Фелиферона®. Количество провирусной ДНК ВЛК исследовали до лечения, при прекращении лечения Фелифероном®, а также на 45-й и 180-й день исследования (табл. 1, 2).

1. Результаты определения провирусной ДНК ВЛК* методом ПЦР у рандомизированных животных по контрольным срокам в группе Фелиферона®
1. Results of PCR RT on FLV DNA on the control days of the experiment in the Feliferon group

№ животного	День эксперимента			
	0	14-й	45-й	180-й
1	1/1000	НО	НО	5/1
2	1/1000	НО	НО	1/4
3	13/1	1/33	НО	НО
4	10/1	2/1	НО	НО
5	27/1	5/1	10/1	15/1
6	7/1	1/1	1/1000	5/1
7	1/3	1/33	НО	НО
8	3/1	НО	НО	НО
9	4/1	НО	НО	НО
10	15/1	1/1	НО	НО

Примечание. * — измеряемый показатель: соотношение числа копий провирусной ДНК и клеточной ДНК, НО — не обнаружено

2. Результаты определения провирусной ДНК ВЛК* методом ПЦР у рандомизированных животных по контрольным срокам в контрольной группе
2. Results of PCR RT on FLV DNA on the control days of the experiment in an intact group

№ животного	День эксперимента			
	0	14-й	45-й	180-й
1	1/1000	1/1	НО	НО
2	1/1000	2/1	НО	НО
3	6/1	12/1	4/1	14/1
4	4/1	6/1	3/1	3/1
5	1/1000	2/1	НО	12/1
6	10/1	15/1	5/1	11/1
7	1/10	НО	НО	НО
8	5/1	3/1	НО	НО
9	5/1	5/1	НО	НО
10	6/1	7/1	2/1	10/1

Примечание. * — измеряемый показатель: соотношение числа копий провирусной ДНК и клеточной ДНК, НО — не обнаружено

В группе Фелиферона®, в нулевой день исследования, до начала применения Фелиферона®, все животные демонстрировали уровень провирусной ДНК ВЛК в пределах от 1/1000 (1 копия ДНК ВЛК на 1000 копий ДНК клетки) до 27/1 (27 копий ДНК ВЛК на 1 копию ДНК клетки). Медиана вариационного ряда «День 0» в таблице 1 составляет 6/1 (6 копий ДНК ВЛК на 1 копию ДНК клетки).

На 14-й день исследования динамика изменения количества провирусной ДНК ВЛК по группе Фелиферона® в целом характеризуется снижением, у части животных — до неопределяемого уровня.

На 45-й день у 8 из 10 животных провирусная ДНК не обнаруживалась, а в 180-й день титры ДНК ВЛК выявлены у 4 из 10 животных. У двух животных опытной группы (№ 5, 6) на всем протяжении опыта отмечалась устойчивая вирусемия, однако уровень вирусемии на 180-й день не принял столь же высоких значений, как по состоянию на «День 0».

Данные по изменению значений провирусной ДНК ВЛК в контрольной группе представлены в таблице 2.

В контрольной группе до начала применения Фелиферона® (день 0) все животные демонстрировали уровень провирусной ДНК ВЛК в пределах от 1/1000 (1 копия ДНК ВЛК на 1000 копий ДНК клетки) до 10/1 (10 копий ДНК ВЛК на 1 копию ДНК клетки). Медиана вариационного ряда «День 0» в таблице 2 составляет 5/1 (5 копий ДНК ВЛК на 1 копию ДНК клетки).

На 14-й день исследования динамика изменения количества провирусной ДНК ВЛК в целом характеризуется повышением. Лишь у одного животного (№ 7) в группе на 14-й день ДНК ВЛК не обнаружена.

На 45-й день у 6 из 10 животных контрольной группы провирусная ДНК в крови не выявлена. На 180-й день исследования провирусная ДНК не обнаруживалась у 5 из 10 животных. У четырех животных (№ 3, 4, 6, 10) на всем протяжении опыта отмечалась устойчивая вирусемия, причем в трех из четырех случаев количество провирусной ДНК ВЛК повышалось в динамике.

Сравнивая данные таблиц 1 и 2 очевидно, что в опытной группе вирусемия оставалась на низком уровне, либо ДНК ВЛК не обнаруживалась вовсе после применения Фелиферона®, в отличие от контрольной, где в 14-й день в целом по группе отмечено увеличение количества ДНК ВЛК, что служит показателем усиления вирусемии.

У подопытных животных отмечалось раннее, в сравнении с контролем, купирование симптомов вторичных бактериальных инфекций (конъюнктивиты, риниты, диарея). Также был выявлен отдаленный эффект, заключающийся в статистически значимой стабилизации показателей тромбоцитов и гемоглобина в периферической крови на 180-й день наблюдения (табл. 3, 4).

3. Динамика содержания гемоглобина у рандомизированных животных в опытной и контрольной группах					
3. Dynamics of hemoglobin in randomized animals in groups					
Группа	Норма лаборатории	День эксперимента			
		0	14-й	45-й	180-й
Фелиферон®	80...150	142±24,2	100±28,3	106±31,4	106,5±14,7*
Контроль		127±24,6	81±29,6	94±15,4	86±26,4

Примечание. * — статистически значимое различие между группой Фелиферона® и контрольной группой $p \leq 0,05$.

Полученные нами клинические данные об улучшении гемограммы на поздних сроках у больных ВЛК кошек, получавших Фелиферон®, согласуются с результатами исследований K. de Mari (2004), применявшей для лечения кошек видоспецифичный ИФН [1].

По результатам клинических наблюдений было отмечено четко выраженное улучшение общего состояния кошек (кожи и шерсти, слизистых оболочек, повышение степени упитанности, нормализация поведенческой активности), получавших Фелиферон®, в сравнении с животными контрольной группы.

Результаты оценки безопасности применения Фелиферона®. Результаты БАК кошек, больных ВЛК, после применения Фелиферона® не имели статистически достоверных отличий от исходных, что указывает на отсутствие нежелательных реакций со стороны жизненно важных органов после назначения Фелиферона®. На всем протяжении эксперимента у больных животных не выявлено побочных реакций и осложнений, связанных с применением Фелиферона®.

Заключение

Применение Фелиферона® кошкам с ВЛК-инфекцией:

- снижает количество провирусной ДНК в периферической крови вплоть до неопределяемого уровня без достоверных изменений показателей гемограммы;
- в перспективе замедляет прогрессирование истощения системы крови, с достоверным различием показателей гемоглобина и тромбоцитов относительно контроля;
- способствует улучшению общего состояния организма и повышает эффективность терапии вторичных вирусно-бактериальных инфекций.

Сроки и периодичность повторных курсов Фелиферона® при ВЛК зависят от множества клинических факторов и факторов окружающей среды и могут колебаться в широких диапазонах. Рекомендуется индивидуальный подход к каждому больному животному.

Применение Фелиферона® кошкам с тяжелым нарушением картины крови (гемоглобин ≤ 80 г/л, тромбоциты $\leq 100 \times 10^3$ /л) не исследовалось.

Схема применения, используемая в данном исследовании (400 000 МЕ (1,0 мл), в/м, 1 раз в день с 1-го по 7-й день, далее по одной инъекции в дозе 400 000 МЕ, в/м, на 9-й, 11-й, 13-й день) рекомендована как стандартная. В зависимости от клинической ситуации она может быть индивидуализирована путем увеличения или уменьшения разовой дозы.

Научно-технологическим центром «БиоИнвест» планируется проведение дополнительных, расширенных клинических исследований Фелиферона® у кошек, больных ВЛК.

Фелиферон® был представлен широкой ветеринарной общественности в 2015 году в рамках XXIII Между-

4. Динамика количества тромбоцитов у рандомизированных животных в опытной и контрольной группах					
4. Dynamics of blood platelets in randomized animals in experimental groups					
Группа	Норма лаборатории	День эксперимента			
		0	14-й	45-й	180-й
Фелиферон®	300...630	265,0±122,7	232,5±206,5	229,0±199,7	196,0±44,0*
Контроль		190,0±98,1	209,3±80,7	209,0±164,0	108,0±65,1

Примечание. * — статистически значимое различие между группой Фелиферона® и контрольной группой $p \leq 0,05$.

народного ветеринарного конгресса как средство этиотропной терапии вирусных инфекций кошек, а также в качестве вспомогательного препарата к антибиотикотерапии бактериальных, микоплазменных и хламидийных инфекций кошек.

Фелиферон® обладает видовой специфичностью по отношению к кошке и противовирусным действием.

Клинические исследования эффективности и безопасности Фелиферона® при вирусной лейкемии кошек выполнены при финансовой поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере, в рамках программы «Коммерциализация», Государственный контракт № 352ГКС4/16170 от 03.08.2015.

Библиография

1. de Mari, K. Therapeutic Effects of Recombinant Feline Interferon- ω on Feline Leukemia Virus (FeLV)-Infected and FeLV/Feline Immunodeficiency Virus (FIV)-Coinfected Symptomatic Cats / K. de Mari, L. Maynard, A. Sanquer et al. // *J Vet Intern Med.* — 2004. — No. 18. — pp. 477–484.
2. Dean, G.A. Hematopoietic target cells of anemogenic subgroup C versus nonanemogenic subgroup A feline leukemia virus / G.A. Dean, P.M. Groshek, J.I. Mullins, E.A. Hoover // *J Virol.* — 1992. — No. 66. — pp. 5561–5568.
3. Hartmann, K. FeLV infection / K. Hartmann, W. Kraft // *Rev Med Vet.* — 1994. — No. 145. — pp. 191–197.
4. Shelton, G.H. Hematologic abnormalities associated with retroviral infections in the cat / G.H. Shelton, M.L. Linenberger // *Semin Vet Med Surg (Small Anim).* — 1995. — No. 10. — pp. 220–233.
5. Dunham, S.P. Retroviral infections of small animals / S.P. Dunham, E. Graham // *Vet. Clin. Small Anim.* — 2008. — No. 38. — pp. 879–901.
6. Rydzewski, L. Identification of a novel feline large granular lymphoma cell line (S87) as non-MHC-restricted cytotoxic T-cell line and assessment of its genetic instability / L. Rydzewski, S. Scheffold et al. // *Vet Immunol Immunopathol.* — 2016 Sep. — No. 177. — pp. 24–34. doi: 10.1016/j.vetimm.2016.05.012. Epub 2016 Jun 2.
7. Miyake, A. Novel Feline Leukemia Virus Interference Group Based on the env Gene / A. Miyake, S. Watanabe, et al. // *J Virol.* — 2016 Apr. — Vol. 14. — No. 90(9). — pp. 4832–4837. doi: 10.1128/JVI.03229-15. Print 2016 May.
8. Zeidner, Nordin S. Mathiason-dubard et al. Alpha Interferon (2b) in Combination with Zidovudine for the Treatment of Presymptomatic Feline Leukemia Virus-Induced Immunodeficiency Syndrome / Nordin S. Zeidner, Matthew H. Myles, Candace K. // *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 1990. — No. Sept. — pp. 174–176.
9. Collado, V.M. Effect of type I interferons on the expression of feline leukaemia virus / V.M. Collado, E. Gymez-Lucna, G. Tejerizo, G. Miry, E. Escolar, S. Martin, A. Domenech // *Vet. Microbiol.* — 2007. — No. 123. — pp. 180–186.
10. Truyen, U. A study of the antiviral activity of interferon-omega (IFN- ω) against selected canine and feline viruses / U. Truyen, S. Blewaska, U. Schultheiss // *J. Mod. Vet. Med.* — 2002. — No. 10. — pp. 862–864.
11. Сулимов А.А. Вирусные болезни кошек / А.А. Сулимов. — М.: КолосС, 2004. — 88 с.
12. Caney, S. Antiviral therapy in cats: current rationale and recommendations / S. Caney // *In Pract.* — 2005. — No. 27. — pp. 454–457.

References

1. de Mari K., Maynard L., Sanquer A. et al., *J Vet Intern Med*, 2004, No. 18, pp. 477–484.
2. Dean G.A., Groshek P.M., Mullins J.I., Hoover E.A. *J Virol*, 1992, No. 66, pp. 5561–5568.
3. Hartmann K., Kraft W., *Rev Med Vet*, 1994, No. 145, pp.191–197.
4. Shelton G.H., Linenberger M.L. *Semin Vet Med Surg (Small Anim)*, 1995, No. 10, pp. 220–233.
5. Dunham S.P., Graham E., *Vet. Clin. Small Anim.*, 2008, No. 38, pp. 879–901.
6. Rydzewski L., Scheffold S. et al., *Vet Immunol Immunopathol.*, 2016 Sep, No. 177, pp. 24–34. doi: 10.1016/j.vetimm.2016.05.012. Epub 2016 Jun 2.
7. Miyake A., Watanabe S., et al., *J Virol.*, 2016 Apr, Vol. 14, No. 90(9), pp. 4832–4837. doi: 10.1128/JVI.03229-15. Print 2016 May.
8. Zeidner Nordin S., Myles Matthew H., K. Candace *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 1990, Sept., pp. 174–176.
9. Collado V.M., Gymez-Lucna E., Tejerizo G., Miry G., Escolar E., Martin S., Domenech A., *Vet. Microbiol.*, 2007, No. 123, pp. 180–186.
10. Truyen U., Blewaska S., Schultheiss U., *J. Mod. Vet. Med.*, 2002, No.10, pp. 862–864.
11. Sulimov A.A., *Virusnye bolezni koshek (Virus diseases of the cats)*, Moscow, KolosS, 2004, 88 p.
12. Caney S., *In Pract.*, 2005, No. 27, pp. 454–457.

ABSTRACT

S.A. Parkhomenko, O.A. Zeynalov

Science & Technology Center «BioInvest» (20, Nauchny pr., Moscow, 117246).

Application of Feliferon® as the Means of Etiotropic Therapy against the FLV. The results of Feliferon® therapy against FLV are described. A decrease in the number of DNA of the FLV in the peripheral blood of cats was found down to an undetectable level. Deceleration of the progression of the depletion of the blood system under the influence of FLV was noted. The safety of Feliferon® was established, including the absence of long-term effects of the application. With the inclusion of Feliferon® in the treatment of FLV, the periods of relief of symptoms of secondary infections are accelerated.

Keywords: Feliferon, feline interferon, feline leukemia virus, feline infectious.