

Исследование биологической активности композиций на основе рекомбинантного рецепторного антагониста интерлейкина-1 при инъекционном и ингаляционном введении на модели лёгочного воспаления у мышей

А.М. Ищенко¹, К.А. Некрасова¹, Д.С. Лаптев², Д.В. Бобков², А.А. Колобов², А.С. Симбирцев¹

¹Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов, Санкт-Петербург, Россия;

²Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека, Санкт-Петербург, Россия

АННОТАЦИЯ

Обоснование. Тяжесть респираторного дистресс-синдрома связана с развитием системных многофакторных воспалительных процессов, приводящих к гипервоспалению. Существенный вклад в эти патологические процессы вносят провоспалительные цитокины, в первую очередь, интерлейкин-1 (IL-1) и активные формы кислорода. Использование в качестве блокатора IL-1 рецепторного антагониста (IL-1Ra) является ключевым в терапии первой линии у пациентов с синдромом «цитокинового шторма». Новизна разрабатываемого подхода заключается в изучении эффективности ингаляционного применения IL-1Ra, в том числе совместно с ингибитором активных форм кислорода — супероксиддисмутазой (СОД).

Цель. Изучение эффективности действия IL-1Ra при парентеральном и ингаляционном применении в виде индивидуального средства и в сочетании с СОД на модели острого респираторного дистресс-синдрома, индуцированного блеомицином.

Материалы и методы. В исследовании использовали мышей-самцов BALB/c. При моделировании респираторного дистресс-синдрома животным вводили блеомицин внутривентриально в дозе 2 мг/мышь на 1, 8 и 15-й дни эксперимента. Исследуемые препараты: 10,0 мг/мл раствор IL-1Ra и 10,0 мг/мл раствор IL-1Ra, содержащий 0,4 мг/мл СОД — вводили животным опытных групп подкожно или ингаляционно в дозе 2 мг/мышь ежедневно в течение 15 дней, начиная с 1-го дня эксперимента. Проводили взвешивание, спирографию и гистологические исследования, оценивали выживаемость животных.

Результаты. Подкожное и ингаляционное введение IL-1Ra + СОД, а также подкожное введение IL-1Ra положительно влияли на выживаемость животных. Подкожное введение IL-1Ra и IL-1Ra + СОД приводило к статистически значимому улучшению показателей, характеризующих внешнее дыхание мышей при интоксикации блеомицином. Снижение деструктивных изменений в лёгких, вызванных внутривентриальным введением блеомицина, наблюдалось у подопытных животных в группах, получавших ингаляционно IL-1Ra или IL-1Ra + СОД и подкожно IL-1Ra.

Заключение. Суммируя результаты проведённых исследований, можно констатировать достижение положительного действия обоих исследуемых препаратов — IL-1Ra и IL-1Ra + СОД, использованных в режимах инъекционного и ингаляционного введения, при лечении респираторного дистресс-синдрома, вызванного действием блеомицина на модели у мышей.

Ключевые слова: респираторный дистресс-синдром; рецепторный антагонист интерлейкина-1; супероксиддисмутаза; блеомицин; инъекционное введение; ингаляционное введение.

КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Ищенко А.М., Некрасова К.А., Лаптев Д.С., Бобков Д.В., Колобов А.А., Симбирцев А.С. Исследование биологической активности композиций на основе рекомбинантного рецепторного антагониста интерлейкина-1 при инъекционном и ингаляционном введении на модели легочного воспаления у мышей // Цитокины и воспаление. 2024. Т. 21, № 3. С. 00–00. DOI: 10.17816/CI643495

Статья получена: 13.01.2025

Статья одобрена: 04.03.2025

Опубликована online: 19.04.2025

Study of the biological activity of compositions based on a recombinant interleukin-1 receptor antagonist upon injection and inhalation administration in a model of pulmonary inflammation in mice

Alexander M. Ischenko¹, Kseniya A. Nekrasova¹, Denis S. Laptev², Dmitry V. Bobkov², Alexandr A. Kolobov², Andrey S. Simbirtsev¹

¹ State Research Institute of Highly Pure Biopreparations, Saint Petersburg, Russia;

² Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology, Saint Petersburg, Russia

ABSTRACT

BACKGROUND: The severity of respiratory distress syndrome (RDS) is associated with the development of systemic multifactorial inflammatory processes leading to hyperinflammation. Proinflammatory cytokines, primarily interleukin-1 (IL-1) and reactive oxygen species (ROS), make a significant contribution to these pathological processes. The use of an interleukin-1 receptor antagonist (IL-1ra) as an IL-1 blocker is key in first-line therapy in patients with cytokine storm syndrome. The novelty of the developed approach lies in the study of the effectiveness of inhalation use of IL-1ra, including in combination with the ROS inhibitor superoxide dismutase (SOD).

AIM: study of the effectiveness of IL-1ra when administered parenterally and by inhalation, as an individual agent and in combination with SOD, in a model of acute RDS induced by bleomycin.

METHODS: The study involved male BALB/c mice. When modeling ARDS, the animals were administered bleomycin intraperitoneally at a dose of 2 mg/mouse on the 1st, 8th, and 15th days of the experiment. The study drugs: 10.0 mg/ml IL-1ra solution and 10.0 mg/ml IL-1ra solution containing 0.4 mg/ml SOD - were administered to the animals of the experimental groups subcutaneously or by inhalation at a dose of 2 mg/mouse daily for 15 days, starting from the 1st day of the experiment. Weighing, spirometry and histological studies were carried out, and the survival rate of animals was assessed.

RESULTS: Subcutaneous and inhalation administration of IL-1ra + SOD, as well as subcutaneous administration of IL-1ra had a positive effect on the survival of animals. Subcutaneous administration of IL-1ra and IL-1ra + SOD led to a statistically significant improvement in the indices characterizing the external respiration of mice intoxicated with bleomycin. A decrease in destructive changes in the lungs caused by intraperitoneal administration of bleomycin was observed in experimental animals in the groups receiving inhalation IL-1ra or IL-1ra + SOD and subcutaneously IL-1ra.

CONCLUSION: Summarizing the results of the conducted studies, we have established the achievement of a positive effect of both studied drugs IL-1ra and IL-1ra+SOD, used in injection and inhalation modes, in the treatment of respiratory distress syndrome caused by the action of bleomycin in a mouse model.

Keywords: Respiratory distress syndrome; interleukin-1 receptor antagonist; superoxide dismutase; bleomycin; injection; inhalation.

TO CITE THIS ARTICLE:

Ischenko AM, Nekrasova KA, Laptev DS, Bobkov DV, Kolobov AA, Simbirtsev AS. Study of the biological activity of compositions based on a recombinant interleukin-1 receptor antagonist upon injection and inhalation administration in a model of pulmonary inflammation in mice. *Cytokines and Inflammation*. 2024;21(3):??-??. DOI: 10.17816/CI643495

Submitted: 13.01.2025

Accepted: 04.03.2025

Published online: 19.04.2025

ОБОСНОВАНИЕ

Острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС), тяжёлая форма дыхательной недостаточности, является основной причиной госпитализации в отделение интенсивной терапии и имеет высокий уровень смертности [1]. ОРДС может быть вызван как прямым поражением лёгких, например, вследствие бактериальных или вирусных инфекций, так и косвенными повреждениями, такими как сепсис [2–3].

Несмотря на гетерогенность ОРДС, острая экссудативная фаза обычно характеризуется обширным альвеолярным и эндотелиальным повреждением, что приводит к отёку лёгких и усилению воспалительной реакции. Последнее проявляется повышением лёгочных и системных уровней провоспалительных цитокинов [например, интерлейкина (IL)-1 β , IL-6, IL-8, фактора некроза опухоли α (ФНО α)] и нейтрофильной инфильтрацией в лёгкие, что усиливает альвеолярное повреждение и отёк лёгких [4]. Быстрое разрешение этой обратимой острой фазы имеет решающее значение для разрешения ОРДС до развития и установления лёгочного фиброза, в конечном итоге приводящего к дыхательной или полиорганной недостаточности [5].

Исходя из описанного патогенеза ОРДС, блокирование ключевого провоспалительного цитокина IL-1 может прервать развитие всего каскада острой воспалительной реакции. Одним из наиболее эффективных блокаторов биологического действия IL-1 является рецепторный антагонист (IL-1Ra), представляющий собой эндогенную молекулу, синтезируемую клетками организма для контроля развития воспаления. IL-1ra ингибирует действие IL-1 путём конкурентного связывания мембранного рецептора первого типа к IL-1 и предотвращения взаимодействия рецептора с его аксессуарным белком, что исключает проведение сигнала внутрь клетки [6].

Те же сигналы опасности, которые образуются при повреждении эпителия, стимулируют продукцию активных форм кислорода (АФК), включая супероксид-анион (O $_2^{\cdot-}$), гидроксильный радикал (OH $\cdot$) и пероксид водорода (H $_2$ O $_2$), которые в норме участвуют в борьбе с любыми инфекционными агентами. Повреждённые клетки хозяина сдвигают редокс-гомеостаз в сторону накопления АФК, что приводит к окислительному стрессу, хронической активации иммунных реакций, воспалению и вносит свой негативный вклад в патогенез ОРДС [7–9].

Супероксиддисмутаза (СОД) катализирует реакцию дисмутации супероксидных радикалов и предотвращает образование других, более опасных для организма радикалов: гидроксильного радикала и синглетного кислорода. Кроме того, СОД предотвращает накопление в очаге воспаления нейтрофилов, которые секретируют значительные количества лизосомальных ферментов, разрушающих близлежащие ткани; нормализует протекающие с участием свободных радикалов кислорода окислительные процессы и предупреждает окислительную модификацию белков, а также связанное с активацией перекисного окисления липидов разрушение биомембран клеток.

Фармакологическое лечение с использованием экзогенного СОД ещё не является установившейся клинической практикой, и обычно препарат применяется в виде пищевых добавок, хотя в ряде публикаций описаны позитивные эффекты применения человеческой Cu, Zn-СОД при лечении хронических и острых заболеваний лёгких у детей и купировании РДС у новорождённых, при этом был использован интраназальный способ введения СОД [10–11]. Известен также способ лечения РДС, включающий проведение искусственной вентиляции лёгких и медикаментозной терапии, в состав которой дополнительно вводят такие антиоксидантные препараты, как СОД и альфа-токоферол [12].

Совместное применение IL-1ra и СОД при ОРДС ранее не изучалось, хотя представляется целесообразным, поскольку IL-1Ra и блокатор АФК, каким является СОД, действуют каждый на свою мишень и предполагается, что комплексный препарат IL-1ra и СОД должен обеспечивать аддитивный эффект при лечении ОРДС. Кроме того, действие IL-1ra ранее не было исследовано при ингаляционном применении, хотя при лечении лёгочных патологий его прямая доставка в очаг воспаления кажется более предпочтительной.

В рамках настоящей работы биологическую активность разработанных композиций на основе рекомбинантного IL-1Ra человека исследовали на модели ОРДС, индуцированного блеомицином.

Поражения лёгких при ОРДС включают нарушения гемодинамики (такие как альвеолярный отёк и кровоизлияние), повреждение сосудов и бронхов, интерстициальные воспалительные скопления клеток и, в конечном итоге, фиброз. Блеомицин вызывает прямое повреждение клеток лёгких у мышей и крыс, разрушая цепочки ДНК, создавая свободные радикалы и индуцируя окислительный стресс. При повреждении поражённые клетки выделяют мочевую кислоту и многие другие факторы,

которые инициируют агрегацию альвеолярных макрофагов и высвобождение провоспалительных цитокинов («цитокиновый шторм»).

В течение первой недели после введения блеомицина сообщалось о заметном повышении уровня провоспалительных цитокинов (ФНО α , IL-1, IL-6). Усиление регуляции профибротических маркеров [трансформирующий фактор роста (TGF) β 1, фибронектин и коллаген] наблюдалось на 14-й день. На второй-третьей неделе в лёгочной ткани проявляются неоднородные фиброзные участки с отложением внеклеточного матрикса (ЕСМ), в основном в форме фибронектина и коллагена I. Фиброз, индуцированный блеомицином, может быть связан с цитокинами, секретируемыми альвеолярными макрофагами после повреждения лёгких, такими как TGF, IL-1, фактор роста тромбоцитов и воспалительный белок макрофагов-1. Фиброз развивается на 30-й день после первого введения блеомицина и подтверждается гистологическими методами [13].

ЦЕЛЬ

Целью настоящей работы являлось изучение эффективности действия IL-1ra при парентеральном и ингаляционном применении как в виде индивидуального средства, так и в сочетании с СОД на модели ОРДС, индуцированного блеомицином.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании использовали мышей-самцов BALB/c массой 16,4–24,3 г (филиал НИЦ «Курчатовский институт» — ПИЯФ, ПЛЖ «Рапполово»). Рандомизацию на группы проводили по массе тела. Всем животным выполняли фоновую оценку функции внешнего дыхания (спирометрию).

При моделировании ОРДС животным контрольных и опытных групп вводили блеомицин внутривентриально в дозе 2 мг/мышь на 1, 8 и 15-й дни эксперимента.

Исследуемые препараты: 10,0 мг/мл раствор рекомбинантного IL-1Ra и 10,0 мг/мл раствор IL-1Ra, содержащий 0,4 мг/мл СОД (IL-1ra + СОД), — вводили животным опытных групп подкожно (п/к) в дозе (по IL-1ra) 2 мг/мышь (0,2 мл/мышь) или ингаляционно в дозе (по IL-1Ra) 2 мг/мышь (около 0,3 мл/мышь) ежедневно в течение 15 дней, начиная с первого дня эксперимента. Животным контрольной группы в таком же объёме вводили физиологический раствор подкожно или ингаляционно ежедневно в течение 15 дней.

Используемые дозы определены на основе предыдущих исследований *in vivo* и данных литературы, показывающих эффективную антагонистическую активность IL-1Ra (связывание с рецептором и ингибирование нисходящего сигнального пути) [14].

Взвешивание животных проводили через день. Ежедневно отмечали гибель животных. Через 24 ч после последней инъекции блеомицина, а также на 7-е и 15-е сутки после окончания введения блеомицина всем выжившим животным проводили спирометрию. По 3–5 животных из каждой группы подвергали эвтаназии методом цервикальной дислокации, после чего производили забор материала для гистологических исследований.

Статистический анализ проводили с помощью программы Microsoft Excel (Microsoft Corporation). Результаты представляли в виде средних значений и ошибок среднего ($M \pm m$). Сравнение показателей между группами проводили с помощью непарного Т-критерия Стьюдента с неравными отклонениями, а также по U-критерию Манна–Уитни. Отличия считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты оценки влияния исследуемых препаратов на динамику массы тела животных на фоне внутривентриального введения блеомицина представлены в табл. 1.

Таблица 1. Влияние препаратов на основе IL-1Ra на динамику массы тела животных на фоне внутривентриального введения блеомицина

Table 1. Effect of IL-1Ra-based drugs on the dynamics of animal body weight with intraperitoneal administration of bleomycin

Группы	Масса тела животных, г ($M \pm SD$)								
	Фон	3-й день	5-й день	7-й день	9-й день	11-й день	13-й день	15-й день	21-й день
Контроль (интактный)	20,86 $\pm$ 2,42 <i>n</i> =15	21,95 $\pm$ 1,98 <i>n</i> =15	23,53 $\pm$ 2,11 <i>n</i> =15	24,95 $\pm$ 1,86 <i>n</i> =15	25,93 $\pm$ 1,85 <i>n</i> =15	26,00 $\pm$ 1,95 <i>n</i> =15	27,15 $\pm$ 1,81 <i>n</i> =15	27,38 $\pm$ 1,82 <i>n</i> =15	28,92 $\pm$ 2,47 <i>n</i> =10

Контроль (физ. раствор, п/к)	20,82±2,04 n=15	18,82±2,08 n=15	16,78±2,85* n=12	18,09±3,93 * n=9	18,13±3,72 * n=9	17,23±2,02 * n=8	16,70±1,58 * n=8	17,07±1,72* n=8	17,05±3,75* n=2
IL-1Ra, п/к	20,80±1,38 n=15	19,26±1,61 n=15	16,86±1,80* n=14	17,52±2,33 * n=12	18,26±2,21 * n=12	17,03±1,60 * n=12	16,89±1,17 * n=12	17,98±1,67* n=12	16,38±1,74* n=6
IL-1Ra + СОД, п/к	20,84±1,83 n=15	19,19±1,95 n=15	17,10±1,94* n=13	18,28±1,61 * n=13	18,79±1,75 * n=13	16,81±1,44 * n=13	16,86±1,34 * n=13	17,39±1,84* n=13	17,01±2,72* n=7
Контроль (физ. раствор, инг.)	20,86±1,82 n=15	18,81±1,67 n=15	17,10±1,60* n=11	17,88±2,68 * n=10	18,40±2,93 * n=9	16,13±1,91 * n=9	15,97±2,27 * n=8	16,65±2,48* n=8	17,57±2,61* n=3
IL-1Ra, инг.	20,82±2,02 n=15	19,19±1,97 n=15	17,44±1,62* n=12	18,38±2,89 * n=12	18,47±2,93 * n=11	16,79±1,96 * n=10	17,42±1,25 * n=8	18,27±1,28* n=8	16,23±0,64* n=3
IL-1Ra + СОД, инг.	20,81±1,60 n=15	19,05±1,47 n=15	16,91±1,62* n=14	17,59±1,50 * n=14	17,93±1,48 * n=14	16,61±1,56 * n=13	16,86±1,47 * n=12	16,91±1,98* n=12	16,53±1,50* n=4

Примечание здесь и в табл. 2. * Статистически значимые отличия от интактной группы ($p \leq 0,05$) по критерию Стьюдента. Инг. — ингаляционно; п/к — подкожно; СОД — супероксиддисмутаза.

В ходе эксперимента были обнаружены статистически значимые различия экспериментальных групп с группой интактных животных ($p \leq 0,05$). Введение блеомицина приводило к ожидаемой потере массы тела животных, начиная с 3-го дня и достигая максимальных значений 20–23%. Потеря массы животными после инъекций блеомицина отмечена и в других исследованиях [15]. Однако между группами животных, получавших лечение и физиологический раствор, существенных различий не выявлено.

Результаты оценки влияния курсового подкожного и ингаляционного введения препаратов на основе IL-1Ra на выживаемость животных после трёхкратного внутрибрюшинного введения блеомицина представлены на рис. 1. Используемая модель ОРДС, вызванного блеомицином, оказалась достаточно летальной для животных контрольной группы, получавших физиологический раствор: отмечали существенную гибель животных (до 7 голов из 15 на 11-й день эксперимента). Такие же результаты наблюдали в опытной группе, получавшей ингаляционно IL-1Ra. Тогда как в экспериментальных группах животных, получавших подкожно композиции IL-1Ra и IL-1Ra + СОД и ингаляционно композицию IL-1Ra + СОД, количество погибших животных доходило максимум до 2–3 из 15. Приведённые результаты позволяют заключить, что подкожное введение IL-1Ra и IL-1Ra + СОД и ингаляционное введение IL-1Ra + СОД положительно влияют на выживаемость животных после трёхкратного внутрибрюшинного введения блеомицина.

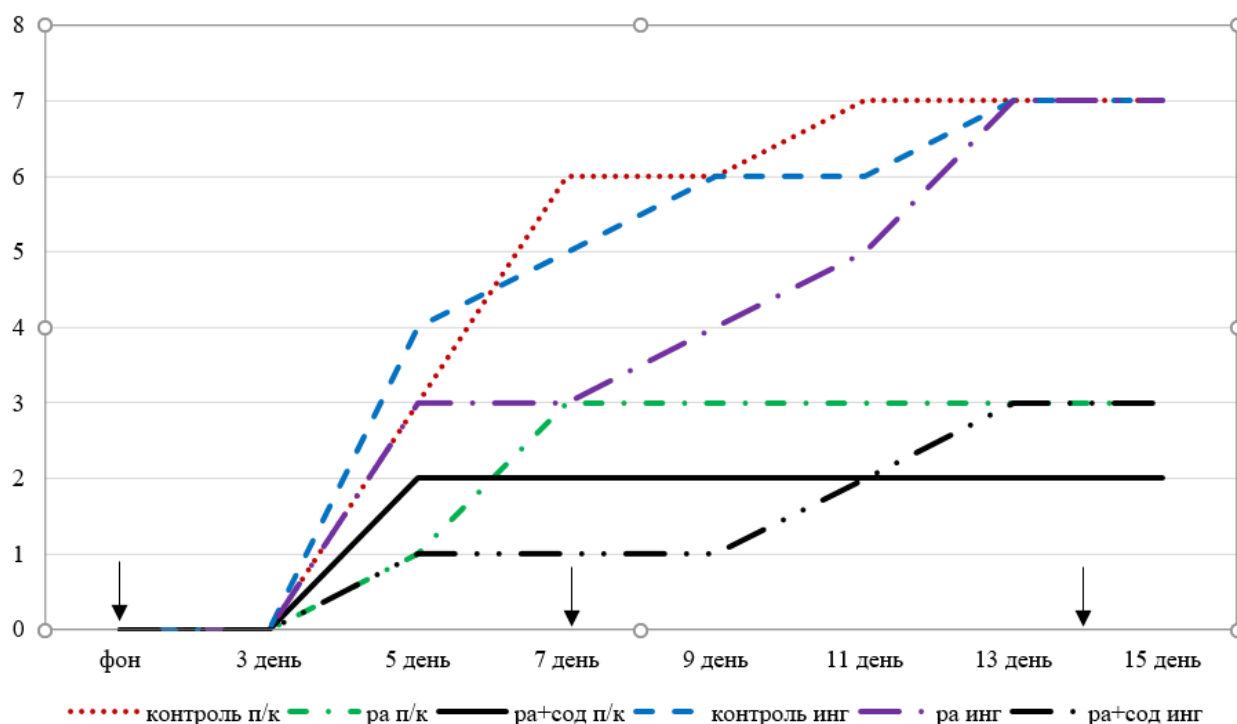


Рис. 1. Количество погибших животных при подкожном (п/к) и ингаляционном (инг.) курсовом введении IL-1Ra («Ra») и IL-1Ra + СОД («Ra + СОД») на фоне трёхкратного внутрибрюшинного введения блеомицина. Стрелками обозначены дни введения блеомицина. СОД — супероксиддисмутаза.

Fig. 1. The number of animals that died after subcutaneous and inhalation course administration of IL-1Ra and IL-1Ra + SOD («Ra + СОД») with triple intraperitoneal administration of bleomycin. Arrows indicate the days of bleomycin administration. СОД — superoxide dismutase.

Результаты оценки влияния курсового введения композиций на основе IL-1Ra на показатели функции внешнего дыхания животных представлены в табл. 2.

Таблица 2. Результаты исследования функции внешнего дыхания мышей на 1 сутки после трехкратного внутрибрюшинного введения блеомицина [данные представлены в виде Me (Q1; Q3)]

Table 2. Results of the study of the external respiratory function of mice on the 1st day after triple intraperitoneal administration of bleomycin [data are presented as Me (Q1; Q3)]

Группа	ЧД, мин ⁻¹	Амплитуда, мм вод. ст.	Скорость выдоха, мм вод. ст/с	Скорость вдоха, мм вод. ст/с
Контроль (интактный), n=13	330,1 (319,4; 362,3)	0,153 (0,146; 0,155)	7,971 (7,528; 8,987)	11,499 (9,570; 12,290)
Контроль (физ. раствор, п/к), n=6	349,3 (329,8; 360,2)	0,103 (0,081; 0,125)*	5,916 (5,249; 6,208)*	8,420 (6,020; 10,007)
IL-1Ra, п/к, n=10	394,1 (368,8; 400,8)* ^α	0,136 (0,121; 0,155)	7,613 (6,702; 8,177) ^α	11,275 (7,429; 14,221)
IL-1Ra + СОД, п/к, n=11	398,1 (378,6; 414,2)* ^α	0,132 (0,124; 0,149) ^α	6,909 (6,717; 7,985)* ^α	10,720 (9,260; 12,195)
Контроль (физ. раствор, инг.), n=6	366,4 (339,9; 371,5)	0,121 (0,108; 0,122)*	6,303 (6,131; 6,660)*	9,427 (8,853; 9,848)
IL-1Ra, инг., n=6	378,9 (373,4; 382,0)*	0,161 (0,142; 0,174)	9,027 (8,833; 9,645)	14,464 (12,780; 15,090)* ^α
IL-1Ra + СОД, инг., n=10	354,0 (326,8; 375,5)	0,130 (0,092; 0,148)*	6,796 (5,715; 8,478)	9,644 (5,459; 11,192)

Примечание. * Статистически значимые отличия от интактной группы ($p \leq 0,05$) по критерию Манна–Уитни; ^α статистически значимые различия с группой, получавшей физ. раствор ($p \leq 0,05$), по критерию Манна–Уитни. ЧД — частота дыхания.

Представленные данные показывают, что основными параметрами функции внешнего дыхания, существенно уменьшающимися при интоксикации блеомицином, являются амплитуда изменения давления воздушного потока и скорость его нарастания при выдохе. Амплитуда снижалась на 21–33%, скорость выдоха — на 21–26% ($p \leq 0,05$) по сравнению с результатами интактных животных. Графически данные представлены на рис. 2, 3.

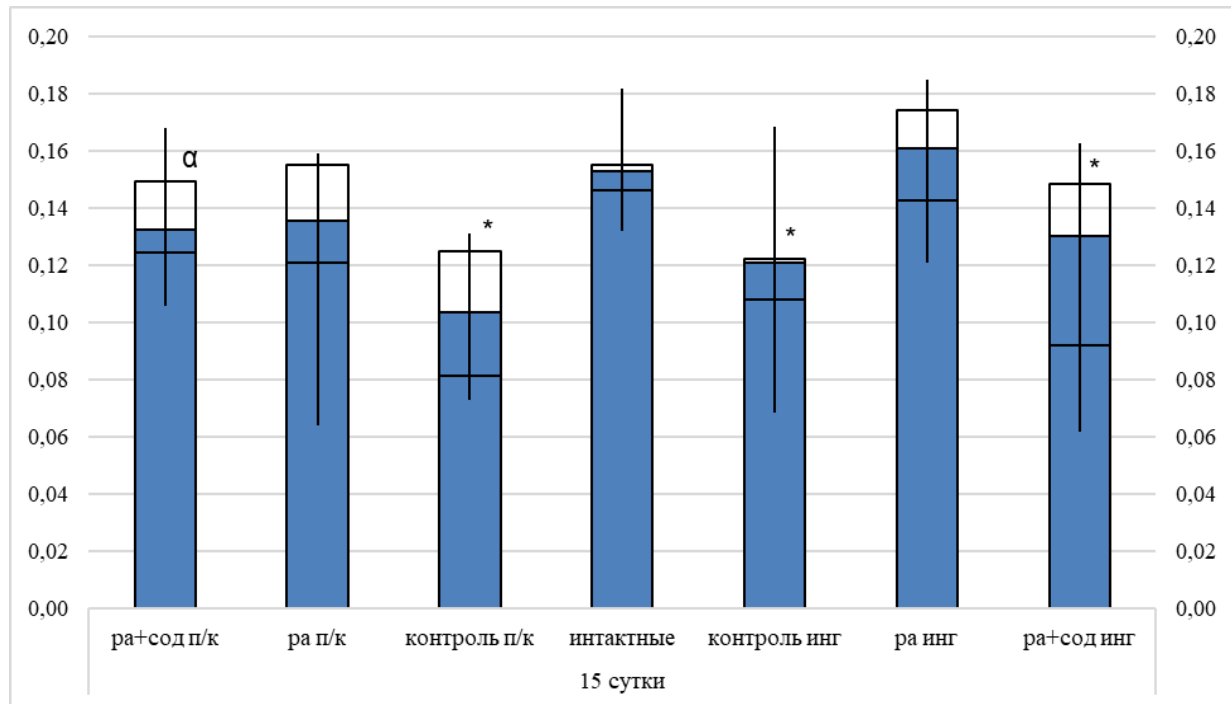


Рис. 2. Амплитуда изменения давления воздушного потока (мм вод. ст.) при подкожном (п/к) и ингаляционном (инг.) курсовом введении IL-1Ra («Ra») и IL-1Ra + СОД («Ra + СОД») на фоне трёхкратного внутрибрюшинного введения блеомицина. СОД — супероксиддисмутаза.

Fig. 2. The amplitude of the change in air flow pressure (mm H₂O) during subcutaneous (п/к) and inhalation (инг.) course administration of IL-1Ra and IL-1Ra + SOD («Ra + СОД») with triple intraperitoneal administration of bleomycin. СОД — superoxide dismutase.

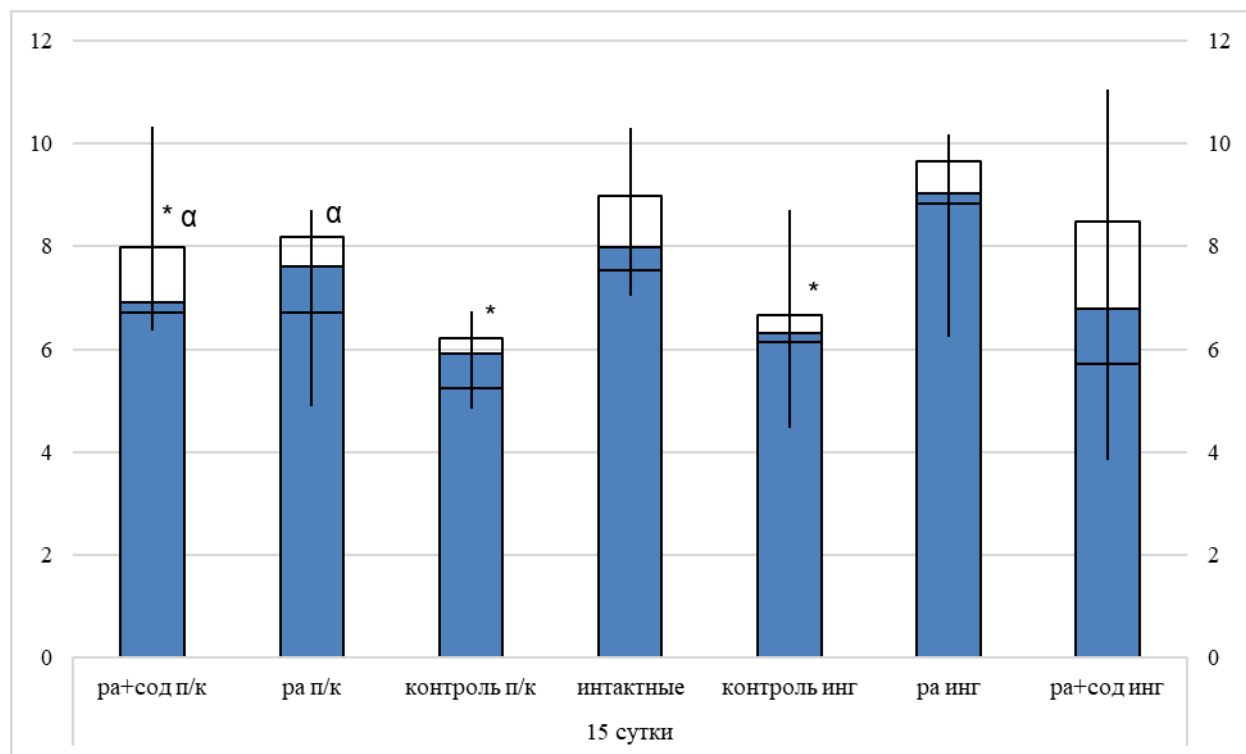


Рис. 3. Скорость увеличения давления воздушного потока при выдохе (мм вод. ст/с) при подкожном (п/к) и ингаляционном (инг.) курсовом введении IL-1Ra («Ra») и IL-1Ra + СОД («Ra + СОД») на фоне трехкратного внутрибрюшинного введения блеомицина. СОД — супероксиддисмутаза.

Fig. 3. The rate of increase in air flow pressure during exhalation (mm H₂O/s) with subcutaneous (п/к) and inhalation (инг.) course administration of IL-1Ra and IL-1Ra + SOD («Ra + СОД») with triple intraperitoneal administration of bleomycin. СОД — superoxide dismutase.

При подкожном введении IL-1Ra амплитуда снизилась на 11% ($p=0,1138$), скорость выдоха — на 4% ($p=0,2642$) по сравнению с интактными животными, однако эти изменения не были статистически значимыми. В то же время по сравнению с результатами животных, получавших подкожно физиологический раствор, эти показатели были выше: амплитуда — на 32% ($p=0,0934$), скорость выдоха — на 29% ($p=0,0312$).

Подобные изменения обнаружены также при подкожном введении IL-1Ra + СОД. По сравнению с интактными животными амплитуда снизилась на 14% ($p=0,0559$), скорость выдоха — на 13% ($p=0,0426$), а по сравнению с животными, получавшими подкожно физиологический раствор, амплитуда была выше на 28% ($p=0,0394$), скорость выдоха — на 17% ($p=0,0077$).

Таким образом, курсовое подкожное введение IL-1Ra и IL-1Ra + СОД приводило к статистически значимому улучшению показателей, характеризующих внешнее дыхание мышей при интоксикации блеомицином.

Между группами животных, получавшими ингаляционно IL-1Ra или IL-1Ra + СОД и физиологический раствор, статистически значимых различий оцениваемых показателей функции внешнего дыхания не выявлено.

Для патоморфологического исследования эвтаназию животных всех экспериментальных групп и группы интактного контроля осуществляли через 7 сут после последнего внутрибрюшинного введения блеомицина.

У всех мышей из группы позитивного контроля, получавшей физиологический раствор, наблюдали выраженное полнокровие сосудов лёгких, плазматизация и геморрагическое пропитывание межальвеолярных перегородок, у 2 из 3 подопытных мышей отмечали различной степени выраженности и зрелости (наличие сидерофагов) участки кровоизлияний.

В опытной группе, получавшей подкожно IL-1Ra, только у 1 из 3 животных к 7-м суткам отмечали кровоизлияние, у двух других самцов подобные деструктивные изменения в паренхиме лёгких не наблюдали.

Сравнивая выявленные изменения в лёгких у подопытных мышей между всеми изучаемыми группами, можно отметить наиболее выраженные деструктивные изменения у животных группы позитивного контроля. Снижение деструктивных изменений наблюдали у подопытных животных в группах, получавших подкожно или ингаляционно IL-1Ra и ингаляционно IL-1Ra + СОД.

ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведённых исследований биологической активности композиций на основе IL-1Ra при инъекционном и аэрозольном введении на модели лёгочного воспаления у мышей, индуцированного блеомицином, было показано, что лечение препаратами IL-1Ra и IL-1Ra + СОД (при обоих способах введения) не оказывало влияния на динамику массы тела мышей на фоне внутрибрюшинного введения блеомицина.

При оценке влияния курсового подкожного и ингаляционного введения препаратов на основе IL-1Ra на выживаемость животных после трёхкратного внутрибрюшинного введения блеомицина следует отметить, что подкожное и ингаляционное введение IL-1Ra + СОД, а также подкожное введение IL-1Ra положительно влияли на выживаемость животных. Не было выявлено преимуществ при использовании комплексного препарата IL-1Ra + СОД, так же как и выраженного эффекта от ингаляционной доставки IL-1Ra в сравнении с подкожным введением.

Изучение влияния препаратов на основе IL-1Ra на показатели функции внешнего дыхания (в том числе, амплитуда изменения давления воздушного потока, скорость увеличения давления воздушного потока при выдохе) при курсовом введении на фоне трёхкратного внутрибрюшинного введения блеомицина показало, что подкожное введение IL-1Ra и IL-1Ra + СОД приводит к статистически значимому улучшению показателей, характеризующих внешнее дыхание мышей при интоксикации блеомицином. В то же время при ингаляционном введении IL-1Ra и IL-1Ra + СОД статистически значимых различий оцениваемых показателей с группой животных, получавших ингаляции физиологического раствора, не обнаружено. Однако в группе животных, получавших ингаляционно IL-1Ra, наблюдали позитивные изменения по показателям: амплитуда изменения давления воздушного потока и скорости его нарастания при выдохе и выдохе — достигающие и превышающие значения этих показателей у интактных животных. Это, несмотря на отсутствие статистически значимых отличий по сравнению с контрольными группами, которое может быть связано с малым количеством мышей в данной опытной группе, может свидетельствовать о положительном воздействии IL-1Ra при ингаляционном пути введения на функцию внешнего дыхания подопытных животных.

Снижение деструктивных изменений в лёгких, вызванных внутрибрюшинным введением блеомицина и характеризующихся выраженным полнокровием сосудов лёгких, кровоизлияниями в паренхиму лёгких с плазматизацией и геморрагическим пропитыванием межалвеолярных перегородок, наблюдали у животных, получавших подкожно или ингаляционно IL-1Ra и ингаляционно IL-1Ra + СОД.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Суммируя результаты проведённых исследований, можно констатировать достижение положительного действия обоих исследуемых препаратов IL-1Ra и IL-1Ra + СОД, которые были использованы в режимах инъекционного и ингаляционного введения, при лечении ОРДС, вызванного действием блеомицина на модели у мышей. В то же время расчёт на ожидаемое синергичное действие комплексного препарата IL-1Ra + СОД в рамках этой модели не получил должного достоверного подтверждения. Результаты исследования также не позволяют отдать предпочтение инъекционному или ингаляционному путям введения при очевидности достижения реальных положительных эффектов.

Вместе с тем опыт применения рекомбинантного IL-1Ra (международное непатентованное наименование — анакинра) в виде единственного зарегистрированного лекарственного средства «Кинерет» демонстрирует необходимость его ежедневного внутривенного или подкожного введения из-за короткого времени полувыведения и чрезвычайной длительности инъекционного курса (28 инъекций) для достижения требуемой эффективности¹. Полученные результаты,

¹ ClinicalTrials.gov [Internet]. Clinical Trial of the Use of Anakinra in Cytokine Storm Syndrome Secondary to Covid-19 (ANA-COVID-GEAS) (ANA-COVID-GEAS). [cited 2024 Dec 26]. Available from: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT04443881>

показавшие равную эффективность препаратов IL-1Ra и IL-1Ra + СОД при лечении ОРДС, со всей очевидностью свидетельствуют в пользу, во-первых, неинвазивного ингаляционного способа введения и, во-вторых, достаточности использования индивидуального препарата IL-1Ra с целью минимизации влияния вводимых в организм человека количеств биологически активных субстанций.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. А.М. Ищенко — разработка концепции, написание рукописи — рецензирование и редактирование; К.А. Некрасова — административное руководство исследовательским проектом, написание черновика рукописи; Д.С. Лаптев — проведение исследования, формальный анализ, визуализация; Д.В. Бобков — проведение исследования, формальный анализ, визуализация; А.А. Колобов — написание рукописи — рецензирование и редактирование; А.С. Симбирцев — научное руководство. Все авторы одобрили рукопись (версию для публикации), а также согласились нести ответственность за все аспекты работы, гарантируя надлежащее рассмотрение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой её части.

Этическая экспертиза. Протокол исследования был одобрен на заседании комиссии по биоэтике Научно-исследовательского института гигиены, профпатологии и экологии человека (№ 3 от 21 июня 2024 г.).

Источники финансирования. Научное исследование проведено при поддержке Федерального медико-биологического агентства (государственный контракт № 25.451.23.0).

Раскрытие интересов. Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов за последние три года, связанных с третьими лицами (коммерческими и некоммерческими), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи.

Оригинальность. При создании настоящей работы авторы не использовали ранее опубликованные сведения (текст, иллюстрации, данные).

Доступ к данным. Редакционная политика в отношении совместного использования данных к настоящей работе не применима, новые данные не собирали и не создавали.

Генеративный искусственный интеллект. При создании настоящей статьи технологии генеративного искусственного интеллекта не использовали.

Рассмотрение и рецензирование. Настоящая работа подана в журнал в инициативном порядке и рассмотрена по обычной процедуре. В рецензировании участвовали два внешних рецензента, член редакционной коллегии и научный редактор издания.

ADDITIONAL INFORMATION

Author contribution. A.M. Ishchenko — с conceptualization, writing - review & editing ; K.A. Nekrasova — project administration, writing - original draft preparation; D.S. Laptev — investigation, formal analysis, visualization; D.V. Bobkov — investigation, formal analysis, visualization; A.A. Kolobov — writing — review & editing; A.S. Simbirtsev — supervision. Thereby, all authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Ethics approval. The present study protocol was approved at the meeting of the Bioethics Committee of the Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology (protocol No. 3, dated June 21, 2024).

Funding sources. This work was supported by the Federal Medical and Biological Agency (government contract № 25.451.23.0).

Disclosure of interests. The authors have no relationships, activities or interests for the last three years related with for-profit or not-for-profit third parties whose interests may be affected by the content of the article.

Statement of originality. In creating this work, the authors did not use previously published information (text, illustrations, data).

Data availability statement. The editorial policy regarding data sharing does not apply to this work, and no new data was collected or created.

Generative AI. Generative AI technologies were not used for this article creation.

Provenance and peer-review. This paper was submitted to the journal on an unsolicited basis and reviewed according to the usual procedure. Two external reviewers, a member of the editorial board, and the scientific editor of the publication participated in the review.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Bellani G, Laffey JG, Pham T, et al; LUNG SAFE Investigators; ESICM Trials Group. Epidemiology, patterns of care, and mortality for patients with acute respiratory distress syndrome in intensive care units in 50 countries. *JAMA*. 2016;315(8):788–800. doi: 10.1001/jama.2016.0291
2. Matthay MA, Arabi Y, Arroliga AC, et al. A new global definition of acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 2024;209(1):37–47. doi: 10.1164/rccm.202303-0558ws EDN: KGGZJL
3. Matthay MA, Zemans RL, Zimmerman GA, et al. Acute respiratory distress syndrome. *Nat Rev Dis Primers*. 2019;5(18). doi: 10.1038/s41572-019-0069-0 EDN: WYILYX
4. Butt Y, Kurdowska A, Allen TC. Acute lung injury: a clinical and molecular review. *Arch Pathol Lab Med*. 2016;140(4):345–50. doi: 10.5858/arpa.2015-0519-RA
5. Bosch NA, Lee M-M, LeSieur MN, et al. Death due to irreversible hypoxemic respiratory failure in ARDSnet clinical trials. *J Crit Care*. 2022;67:85–87. doi: 10.1016/j.jcrc.2021.10.017 EDN: DQCOJN
6. Ortiz LA, Dutreil M, Fattman C, et al. Interleukin 1 receptor antagonist mediates the antiinflammatory and antifibrotic effect of mesenchymal stem cells during lung injury. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(26):11002–7. doi: 10.1073/pnas.0704421104
7. Chang R, Mamun A, Dominic A, Le NT. SARS-CoV-2 mediated endothelial dysfunction: the potential role of chronic oxidative stress. *Front Physiol*. 2021;11:605908. doi: 10.3389/fphys.2020.605908 EDN: RTIKQO
8. Khomich OA, Kochetkov SN, Bartosch B, Ivanov AV. Redox biology of respiratory viral infections. *Viruses*. 2018;10(8):392. doi: 10.3390/v10080392 EDN: SAZWEF
9. Fernandes IG, de Brito CA, Dos Reis VMS, et al. SARS-CoV-2 and other respiratory viruses: what does oxidative stress have to do with it? *Oxid Med Cell Longev*. 2020;2020:8844280. doi: 10.1155/2020/8844280 EDN: OVXFWJ
10. Suresh GK, Davis JM, Soll RF. Superoxide dismutase for preventing chronic lung disease in mechanically ventilated preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2001;2001(1):CD001968. doi: 10.1002/14651858.CD001968
11. Rosenfeld WN, Davis JM, Parton L, et al. Safety and pharmacokinetics of recombinant human superoxide dismutase administered intratracheally to premature neonates with respiratory distress syndrome. *Pediatrics*. 1996;97(6 Pt 1):811–7. EDN: CGFQYB
12. Patent RUS № 2190400/ 21.06.99. Paramonov BA, Zinovyev EV, Churilova IV, et al. Treatment method for respiratory distress syndrome. Available from: https://yandex.ru/patents/doc/RU2190400C2_20021010?ysclid=m7nfv9vbo173755964 (In Russ.)
13. Alzahrani B, Gaballa MMS, Tantawy AA, et al. Blocking Toll-like receptor 9 attenuates bleomycin-induced pulmonary injury. *J Pathol Transl Med*. 2022;56(2):81–91. doi: 10.4132/jptm.2021.12.27 EDN: PNRWCX
14. Engeroff P, Belb zier A, Monsel A, Klatzmann D. Anakinra reduces lung inflammation in experimental acute lung injury. *Immun Inflamm Dis*. 2022;10(2):123–129. doi: 10.1002/iid3.548 EDN: JDITSO

15. Meunier É, Aubin Vega M, Adam D, et al. Evaluation of interleukin-1 and interleukin-6 receptor antagonists in a murine model of acute lung injury. *Exp Physiol.* 2024;109(6):966-979. doi: 10.1113/EP091682 EDN: AYYWDB

Accepted for publication

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS' INFO

* Некрасова Ксения Александровна, канд. биол. наук; адрес: Россия, 197110, Санкт-Петербург, ул. Пудожская, д. 7; ORCID: 0000-0002-0242-9615; eLibrary SPIN: 9435-6100; e-mail: k.a.nekrasova@hpb.spb.ru	* Kseniya A. Nekrasova, Cand. Sci. (Biology); address: 7 Pudozhskaya st, Russia, Saint Petersburg, 197110; ORCID: 0000-0002-0242-9615; eLibrary SPIN: 9435-6100; e-mail: k.a.nekrasova@hpb.spb.ru
Ищенко Александр Митрофанович, канд. биол. наук; ORCID: 0000-0002-6661-6145; eLibrary SPIN: 5860-4216; e-mail: amischenko1946@mail.ru	Alexander M. Ischenko, Cand. Sci. (Biology); ORCID: 0000-0002-6661-6145; eLibrary SPIN: 5860-4216; e-mail: amischenko1946@mail.ru
Лаптев Денис Сергеевич, канд. биол. наук; ORCID: 0000-0002-3960-3058; eLibrary SPIN: 2873-5071; e-mail: laptev@gpech.ru	Denis S. Laptev, Cand. Sci. (Biology); ORCID: 0000-0002-3960-3058; eLibrary SPIN: 2873-5071; e-mail: laptev@gpech.ru
Бобков Дмитрий Владимирович; ORCID: 0000-0003-3989-0437; eLibrary SPIN: 2673-8240; e-mail: bobkov@gpech.ru	Dmitry V. Bobkov; ORCID: 0000-0003-3989-0437; eLibrary SPIN: 2673-8240; e-mail: bobkov@gpech.ru
Колобов Александр Александрович, д-р биол. наук; ORCID: 0000-0002-9222-6773; eLibrary SPIN: 7019-2420; e-mail: aak1959@internet.ru	Alexandr A. Kolobov, Dr. Sci. (Biology); ORCID: 0000-0002-9222-6773; eLibrary SPIN: 7019-2420; e-mail: aak1959@internet.ru
Симбирцев Андрей Семенович, д-р мед. наук, профессор; ORCID: 0000-0002-8228-4240; eLibrary SPIN: 2064-7584; e-mail: a.s.simbirtsev@hpb.spb.ru	Andrey S. Simbirtsev, MD, Dr. Sci. (Medicine), professor; ORCID: 0000-0002-8228-4240; eLibrary SPIN: 2064-7584; e-mail: a.s.simbirtsev@hpb.spb.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author