Министерство здравоохранения и социального развития Российской Федерации

Федеральное государственное бюджетное учреждение

«Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи»

ИНТЕРФЕРОН–2011

Сборник научных статей

к 80-летию академика РАМН Феликса Ивановича Ершова

Москва, 2012

УДК 615.571(035)
ББК 52.81я2
И73

Под редакцией академика РАМН, профессора Ф. И. Ершова и профессора А. Н. Наровлянского

Редакционная коллегия: к. м. н. Т. П. Оспельникова (ответственный редактор),
проф. В. В. Малиновская, проф. О. Н. Щегловитова, проф. С. С. Григорян, проф. Ф. Ю. Гариб,
д. м. н. С. Б. Чекнев, д. б. н. Т. М. Соколова, к. м. н. В. В. Парфенов.
Секретариат редакции: Е. П. Панкова, В. И. Козина, к. м. н. Л. С.Манахова, к. м. н. В. О. Полонский, Г. С. Брагина, С. А. Андреева, Т. В. Миронова, А. Н. Шувалов.

Интерферон — 2011 / Сборник научных статей. — Москва. — 2012. — 512 с.

Редакционная коллегия искренне благодарит за оказанное содействие в издательстве сборника — ООО «НТФФ «Полисан»; ООО «Ферон»; ООО «Ниармедик плюс»; ЗАО «Вектор-Бест-Европа»; ООО «Аллоферон», ООО «ГамаВетФарм» и Московское Представительство компании «Генфа Медика С. А., Швейцария».

Мы посвятили выпуск сборника научных статей «Интерферон — 2011» юбилею академика РАМН Феликса Ивановича Ершова, одного из основоположников разработки и развития проблемы интерферонов в нашей стране. В сборнике собраны воедино обзорные статьи по интерферонам и индукторам интерферонов, написанные ведущими специалистами по проблеме (глава 1), представлены результаты клинических исследований препаратов интерферона и индукторов интерферона, выполненных в известных клинических центрах (глава 2), и результаты экспериментальных исследований, проведенных в отделе интерферонов НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи и других научных учреждениях (глава 3).

ISBN 978-5-9902840-2-9

Дорогие друзья! 10 декабря 2011 г. исполнилось 80 лет со дня рождения и 55 лет научной деятельности академика РАМН, профессора Феликса Ивановича Ершова.

В 1956 году Ф. И. Ершов с отличием окончил 2-й Московский медицинский институт (2-ой МОЛМИ) имени Н. И. Пирогова (ныне Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова) и был оставлен в аспирантуре при кафедре микробиологии. В 1959 г. досрочно защитил кандидатскую диссертацию на тему «Биологическая характеристика и классификация дизентерийных бактериофагов Ньюкасл» (руководитель — академик АМН СССР В. Д. Тимаков). С 1959 по 1962 год Ф. И. Ершов работал в Центральной научно-исследовательской лаборатории (ЦНИЛ) 2-го МОЛМИ имени Н. И. Пирогова. В 1962 г. Ф. И. Ершов перешел в Институт вирусологии имени Д. И. Ивановского АМН СССР, где работал вначале старшим научным сотрудником, а затем — заведующим лабораторией онтогенеза вирусов и отделом репродукции вирусов.

В 1966 г. Ф. И. Ершов защитил докторскую диссертацию на тему «Закономерности репродукции РНК-содержащих вирусов» (научный консультант — академик АМН СССР В. М. Жданов). В 1970 г. ему присвоено ученое звание профессора по специальности «вирусология». С 1988 г. по настоящее время Ф. И. Ершов является руководителем отдела интерферонов и лаборатории интерфероногенеза Научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Н. Ф. Гамалеи.

В 1988 г. Ф. И. Ершов избран членом-корреспондентом АМН СССР, в 1998 году — действительным членом РАМН по специальности «химиотерапия вирусных инфекций». С 1989 г. он — действительный член РАЕН.

Основные результаты исследований.

Ф. И. Ершовым проведены фундаментальные исследования по молекулярной биологии арбовирусов, определены физико-химические параметры и особенности биосинтеза макромолекул этой группы вирусов, обнаружена возможность синтеза РНК и белков вирусов на субклеточных структурах, установлена возможность репликации гибридных инфекционных вирусных РНК в изолированных митохондриях и обнаружено явление формирования инфекционных РНП-комплексов, названных псевдовирусами. В 1969 г. это явление зарегистрировано как открытие в Государственном реестре изобретений и открытий. Логическим завершением проведенного комплекса исследований стали монография В. М. Жданова и Ф. И. Ершова «Молекулярные основы биологии арбовирусов» (1973) и «Атлас вирусной цитопатологии» (в соавторстве с А. Ф. Быковским, 1975).

Параллельно Ф. И. Ершов продолжал экспериментальную разработку проблемы интерферонов, начатую еще в 1962 г., то есть через 5 лет после открытия этих белков. Проведенные исследования были посвящены расшифровке закономерностей индукции, продукции и действия интерферонов, получению и трансляции информационных РНК интерферонов и антивирусных белков, разработке новых методов супериндукции интерферона. Эти работы обогатили медицинскую науку новыми оригинальными данными о системе интерферона и показали ее важнейшую роль в естественной (врожденной) резистентности организма.

Особенно весом вклад Ф. И. Ершова и созданной им школы в разработку проблемы индукторов интерферона. На протяжении почти 30 лет целенаправленно разрабатывались теоретические и прикладные аспекты этой проблемы. Впервые предложена классификация индукторов интерферона, экспериментально доказан широкий спектр их противовирусных и иммуностимулирующих эффектов. Впервые разработаны методы отбора (скрининга) и оценки индукторов интерферона, которые легли в основу создания ряда новых отечественных профилактических и лечебных препаратов, среди которых хорошо известны Циклоферон®, Кагоцел®, Амиксин®, Ридостин®, Ларифан®. В настоящее время названные препараты нашли широкое клиническое применение при вирусных гепатитах, герпетических поражениях, энцефалитах, гриппе, ОРЗ и других заболеваниях. В 1983 г. Ф. И. Ершовым и его школой разработан комплекс методов определения интерферонового статуса, что позволило научно обосновать показания и контролировать эффективность клинического использования интерферона и его индукторов. Данные,

полученные при изучении системы интерферона, опубликованы в виде обширной серии статей и обобщены Ф. И. Ершовым в монографиях «Индукторы интерферона» (1978), «Интерферон и его индукторы» (1980), «Основы экспериментальной химиотерапии вирусных инфекций» (1988), «Система интерферона в норме и при патологии» (1996).

Ф. И. Ершовым опубликовано более 500 научных статей в отечественных и зарубежных журналах и 25 монографий. Помимо упомянутых выше, это: «Методологические проблемы вирусологии» (в соавторстве с В. М. Ждановым и Д. К. Львовым, 1975), «Методологические основы прогресса современной вирусологии» (в соавторстве с В. М. Ждановым и Д. К. Львовым, 1981), «Противовирусные средства» (1993), «Антивирусные препараты» (1998, 2006). Ф. И. Ершовым написаны разделы в известных руководствах по вирусологии «Progress in Medical Virology» (1977), «Общая и частная вирусология» (1982), «Virology reviews» (1987, 1989). Кроме того, совместно с академиком В. М. Ждановым Ф. И. Ершов опубликовал такие научно-популярные книги, как «Занимательная микробиология», «Укрощение строптивых», «Тайны третьего царства». Последняя была переведена на французский, итальянский и японский языки. Выступая в качестве популяризатора науки, Ф. И. Ершов в ряде статей в газетах и журналах в доступной форме объясняет широкому кругу читателей проблемы современной вирусологии и существующие методы борьбы с инфекционными заболеваниями.

Ф. И. Ершов имеет более 30 авторских свидетельств на изобретения и 12 патентов Российской Федерации. Под его руководством и при его научном консультировании выполнены 16 докторских и 45 кандидатских диссертаций.

Ф. И. Ершов — председатель специализированной комиссии по противовирусным препаратам Фармакологического комитета Минздравсоцразвития России, член Всероссийских обществ микробиологов и вирусологов, член Международного комитета Российского отделения международной Ассоциации исследователей интерферона и цитокинов (ISICR). Он входит в состав редколлегий журналов «Acta Virologica», «Materia Medica», «Вопросы вирусологии», «Новые лекарства» и других.

В 1984 г. за цикл исследований «Разработка и внедрение в практику комплекса средств и методов лечения и профилактики герпес-вирусных заболеваний» Ф. И. Ершову присуждена премия Совета Министров СССР; в 2000 г. за цикл исследований «Разработка технологии получения субстанции интерферона Альфа 2В человеческого рекомбинантного, готовых лекарственных средств на его основе и внедрение их в медицинскую прак-

тику» — премия Правительства РФ; в 2010 г. за цикл исследований «Разработка, организация промышленного производства и внедрение в практику здравоохранения Российской Федерации, стран СНГ и Юго-Восточной Азии российского оригинального лекарственного препарата Цитофлавин» — премия Правительства РФ. Он — обладатель профессиональных премий имени академиков Н. Ф. Гамалеи и В. Д. Тимакова. Ф. И. Ершов награжден орденом «Знак почета» и медалями.

Редколлегия и авторы сборника научных статей «Интерферон — 2011», сотрудники отдела интерферонов НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи, друзья, коллеги и ученики сердечно поздравляют Феликса Ивановича с юбилеем и желают ему новых творческих успехов, здоровья, долгих и счастливых лет жизни!

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие 11

Глава 1. Фундаментальные аспекты функционирования системы интерферона 13

Ершов Ф. И., Наровлянский А. Н. **Основные итоги изучения системы интерферона к 2011 году** 14

Малиновская В. В. **Онтогенез системы интерферона и проблемы терапии в неонатальном периоде** 35

Соколова Т. М. **Иммунное узнавание вирусных нуклеиновых кислот приводит к индукции интерферонов и воспалительных цитокинов** 52

Григорян С. С. **Интерфероны лямбда (3-й тип интерферонов) и вирусные инфекции** 63

Щегловитова О. Н. **Комплексная системная реакция клеток кровеносных сосудов (лейкоцитов крови и эндотелия) на вирусную инфекцию и действие интерферона** 73

Ершов Ф. И., Тазулахова Э. Б. **От чего зависят эффекты индукторов интерферона?** 80

Оспельникова Т. П. **Выявление и коррекция интерферонодефицитов** 107

Наровлянский А. Н., Пронин А. В., Санин А. В., Ершов Ф. И. **Изопреноиды и система интерферона** 129

Боев Б. В., Ершов И. Ф. **Компьютерная оценка эффективности действия противовирусных препаратов** 139

Клещева Е. А., Кочергин С. А., Чернакова Г. М. **Некоторые аспекты офтальмоиммунологии** 149

Гариб Ф. Ю. **Влияние патогенов на продукцию интерферонов и других цитокинов** 158

Глава 2. Клинический опыт применения препаратов интерферона и его индукторов 173

Колобухина Л. В., Меркулова Л. Н., Малышев Н. А., Щелканов М. Ю., Исаева Е. И., Шестакова О. М., Гатич Р. З., Гусева Т. С., Паршина О. В., Малиновская В. В. **Возможности местной интерферонотерапии гриппа, осложненного ангиной** 174

Оспельникова Т. П., Гущин В. С., Полонский В. О., Миронова Т. В., Рябичева Т. Г., Рукавишников М. Ю., Вараксин Н. А. **Цитокиновый статус пуповинной крови как оценка эффективности терапии беременных с урогенитальными инфекциями** 182

Катинас Е. Б., Рябова М. А., Кучерова Л. Р., Тотолян А. А. **Местное применение рекомбинантного интерферона-альфа2 в терапии рецидивирующего респираторного папилломатоза** 187

Егорова О. Н., Балабанова Р. М., Оспельникова Т. П., Ершов Ф. И. **Интерфероновый статус при ревматических заболеваниях. Возможности коррекции** 195

Беляев Д. Л., Бабаянц А. А., Долгина Е. Н., Фролова И. С., Хатунцева Н. В., Ширин И. Р., Антоненко С. М. **Индуцированная продукция интерферонов клетками крови больных с хроническими смешанными инфекциями** 202

Астанина Н. С., Оспельникова Т. П., Эсауленко Е. В. **Хронический гепатит С: цитокиновый статус и эффективность противовирусной терапии** 213

Кулагина И. Ц., Зайцев А. А. **Эффективность применения интерферона при остром бронхите** 218

Ершов И. Ф., Боев Б. В. **Обоснование использования математической модели эпидемии гриппа и компьютерной программы для оценки эффективности антивирусных препаратов** 221

Нестеренко В. Г., Сергеева Э. М. **Профилактика гриппа и других ОРВИ среди групп населения высокой степени риска инфицирования** 225

Романцов М. Г., Мельникова И. Ю. **Возможности использования Циклоферона при вирусных и бактериальных инфекциях у детей** ...232

Лизогуб Н. В., Оспельникова Т. П., Гервазиева В. Б., Панкратова В. Н., Колодяжная Л. В., Конищева А. Ю., Мазурина С. А., Осипова Г. Л., Чучалин А. Г., Ершов Ф. И. **Применение Циклоферона у больных с обострениями бронхиальной астмы на фоне острых респираторных инфекций** 252

Донсков В. В., Старцев В. Ю. **Коррекция иммунного дисбаланса у больных с политравмой, осложненной пиелонефритом** 266

Кудряшова И. П., Оспельникова Т. П. **Особенности цитокинового профиля у больных с хроническим пиелонефритом** 280

Демидик С. Н., Суханов Д. С., Романцов М. Г., Коваленко А. Л., Вольф С. Б. **Комплексное лечение больных туберкулезом легких с включением Циклоферона как средства патогенетической терапии** 286

Шульженко А. Е., Зуйкова И. Н., Шульженко С. С. **Папилломавирусная инфекция: новая стратегия противовирусной терапии** 291

Соснова Е. А. **Применение препарата «Аллокин-альфа» в комплексной терапии пациенток с хроническим эндометритом** 299

Анаев Э. Х., Дугарова И. Д., Оспельникова Т. П., Чучалин А. Г. **Цитокиновый профиль конденсата выдыхаемого воздуха у больных бронхиальной астмой** 303

Рябичева Т. Г., Вараксин Н. А., Рыжикова С. Л., Дружинина Ю. Г. **Стандартизация методики определения продукции цитокинов клетками крови** *ex vivo* 311

Вараксин Н. А., Рыжикова С. Л., Рябичева Т. Г., Дружинина Ю. Г. **Оценка клеточного иммунитета по продукции цитокинов клетками крови при антигенной стимуляции** 321

Черевко Н. А. **Обоснование комбинированной терапии для пациентов с бронхиальной астмой на фоне рецидивирующей герпетической инфекции** 328

Воляник О. В., Воляник М. Н. **Интерфероны у детей с бронхиальной астмой при баротерапии** 331

Исаева Е. И., Морозова О. В., Крель П. Е., Цинзерлинг О. Д. **Особенности продукции ИФН-γ и экспрессия его рецепторов мононуклеарами крови у больных хроническим вирусным гепатитом С** 338

Кочергин С. А., Чернакова Г. М., Клещева Е. А., Шаповал И. М., Мезенцева М. В. **Местный иммунитет при острых и хронических формах аденовирусной инфекции глаз** 342

Мельниченко А. В., Мезенцева М. В., Шаповал И. М., Трегубова М. И., Подчерняева Р. Я., Львов Н. Д. **Значимость комплексного исследования состояния иммунитета и вирусологического обследования больных с острой и хронической герпетическими инфекциями** 347

Петрова А. Г., Москалёва Е. В., Смирнова С. В., Евсеева М. Г., Шугаева С. Н. **Медикаментозная коррекция иммунной недостаточности у детей с ВИЧ-инфекцией** 355

Ткаченко И. В. **Индукторы интерферона в лечении идиопатической тромбоцитопенической пурпуры у детей** 372

Ершов Ф. И., Шульженко А. Е., Седов А. М., Зуйкова И. Н., Васильев А. Н., Пронин А. В., Санин А. В., Наровлянский А. Н. **Клиническое исследование безопасности и реактогенности противовирусного и иммуномодулирующего препарата Фортепрен® у добровольцев** 380

Глава 3. Экспериментальные исследования интерферонов и их индукторов 388

Соколова Т. М., Шувалов А. Н., Колодяжная Л. В., Оспельникова Т. П., Ершов Ф. И. **Механизмы действия препарата Кагоцел® в клетках человека. Сообщение 1. Регуляция транскрипции генов системы интерферона и апоптоза** 389

Оспельникова Т. П., Соколова Т. М., Колодяжная Л. В., Миронова Т. В., Чкадуа Г. З., Ершов Ф. И. **Механизмы действия препарата Кагоцел® в клетках человека. Сообщение 2. Синтез иммуномодулирующих цитокинов** 401

Андреева Л. А., Мезенцева М. В., Нагаев И. Ю., Шаповал И. М., Руссу Л. И., Ершов Ф. И., Мясоедов Н. Ф. **Пептиды, обладающие антивирусной, интерфероноиндуцирующей и иммуномодулирующей активностями, как перспективные лекарственные препараты** 408

Мезенцева М. В., Исаева Е. И., Подчерняева Р. Я. **Цитокиновый ответ при экспериментальной инфекции, вызванной вирусом гриппа A(H1N1)v *in vitro*** 417

Иванова А. М., Наровлянский А. Н., Шевлягина Н. В., Диденко Л. В., Боровая Т. Г., Изместьева А. В., Герасимова Е. В., Санин А. В., Пронин А. В. **Эффективность препаратов Фортепрен и Ацикловир в экспериментальной модели инфекции простого герпеса 2-го типа (генитальный герпес, ВПГ-2) у морских свинок** 424

Изместьева А. В., Саличев А. В., Мезенцева М. В., Березина Л. К., Ольшанская А. А., Амченкова А. М., Зубашев И. К., Козлов В. С., Оже-

релков С. В., Пронин А. В., Санин А. В., Наровлянский А. Н. **Морапренилфосфаты: экспериментальное изучение противовирусной и иммуномодулирующей активности** 431

Логинова Н. А., Саркисова К. Ю., Клодт П. М., Кудрин В. С., Лосева Е. В. **Влияние интерферона-альфа человека на поведение крыс при психосоциальном стрессе и содержание моноаминов в их мозге** 439

Лосева Е. В., Логинова Н. А., Князева С. И., Шаповал И. М., Трегубова М. И., Осипова В. А., Мезенцева М. В. **Интерфероновый статус и цитокиновый профиль крыс, содержащихся в условиях скученности** 448

Баринский И. Ф., Лазаренко А. А., Алимбарова Л. М., Давыдова А. А. **Экспериментальное изучение защитного эффекта сочетанного действия некоторых отечественных иммуномодуляторов, индукторов интерферона и специфических убитых вакцин при альфа- и флавивирусных инфекциях** 455

Морозова О. В., Бахвалова В. Н., Чичерина Г. С., Потапова О. Ф., Исаева Е. И. **Сравнение экспрессии генов цитокинов у мышей, иммунизированных или зараженных вирусом клещевого энцефалита** 461

Подчерняева Р. Я., Мезенцева М. В. **Клеточные культуры как модель исследования механизмов синтеза цитокинов** 466

Глинских Н. П., Мезенцева М. В., Устьянцев П. В., Устьянцев И. В., Осипова В. А., Шаповал И. М. **Препараты «культуры клеток диплоидных человека для заместительной терапии» как продуценты цитокинов** 472

Агрба В. З., Мезенцева М. В., Карал-оглы Д. Д., Игнатова И. Е., Гварамия И. А., Шаповал И. М., Кутовой М. С. **Цитокины, состояние клеточного и гуморального звеньев иммунитета у лабораторных приматов** 480

Саличев А. В., Ожерелков С. В., Изместьева А. В., Амченкова А. М., Сосновская О. Ю., Санина В. Ю., Тимофеева Т. Ю., Смирнова Е. Г., Виденина А. А., Кожевникова Т. Н., Санин А. В. **Сравнительное исследование антитоксической эффективности Гамавита® и Гамавитфорте® в эксперименте *in vivo* с применением имидокарба дипропионата** 485

Жуковский Н. С., Хватова Г. И., Мезенцева М. В., Подчерняева Р. Я. **Генфаксон® — новый препарат β-интерферона на российском рынке** 492

Исаева Е. И., Страдомский Б. В., Солодунов Ю. Ю. **Влияние препарата Стелланин и его метаболита 1,3-диэтилбензимидазолия йодида на регуляторные цитокины клеточного иммунитета** 499

ПРЕДИСЛОВИЕ

В настоящем издании мы попытались дать представление об основных научных достижениях в проблеме интерферона, которые стали явными к 2011 году. Спустя 54 года после открытия интерферонов (ИФН) накоплена обширная информация об их физико-химических и биологических свойствах, по сути — создано учение о системе ИФН, подробно охарактеризованы смысловые и регуляторные гены ИФН, определены нуклеотидная и аминокислотная последовательности всех основных типов и субтипов ИФН и в основном установлены механизмы их действия, а также роль и место ИФН в норме и при различных видах патологии. Установлено, что ИФН формируют первый барьер на пути развития вирусной инфекции или при попадании в организм других носителей чужеродной генетической информации, и в то же время служат основными сигнальными молекулами, отвечающими за включение механизмов врожденного иммунитета. Распознавание клеточными рецепторами возбудителей вирусной инфекции и последующая передача каскада сигналов регулируют продукцию ИФН и обеспечивают его секрецию инфицированными клетками. Секретируемые ИФН связываются с ИФН рецепторами инфицированных клеток и защищают соседние неинфицированные клетки, в которых сигналы ИФН передаются посредством JAK-STAT путей и определяют экспрессию сотен ИФН-стимулированных генов. Продукты последних и определяют антивирусное, иммуномодулирующее действие ИФН и множество других эффектов, которые ограничивают репродукцию и распространение вирусов и приводят к усилению ответа на инфекцию через включение механизмов адаптивного иммунитета.

В настоящее время десятки фармацевтических фирм производят широкий перечень лекарственных форм препаратов ИФН: альфа, бета, гамма и лямбда. Наиболее широко ИФН используются при вирусных инфекциях. В первую очередь это острые и хронические вирусные гепатиты, грипп и другие ОРВИ, различные герпетические поражения (кератиты и кератоконъюнктивиты, герпес гениталий, опоясывающий лишай). Установлена эффективность ИФН при ВИЧ-инфекции, папилломавирусных инфекциях (остроконечные кондиломы, ювенильный папилломатоз гортани, бородавки), кори, эпидемическом паротите и бешенстве. К этому перечню следует добавить вирусные осложнения при пересадке органов с применением иммунодепрессантов, гнойно-септические заболевания новорожденных, постнатально приобретенные хронические цитомегаловирусные инфекции,

псориаз, рассеянный склероз и, наконец, различные бактериальные заболевания (хламидиозы, легионеллез, риккетсиозы).

К настоящему времени накоплена важная информация о применении ИФН при различных онкологических заболеваниях. В основе антитуморогенных эффектов лежат антипролиферативные и иммунокорригирующие эффекты ИФН. При этом важную роль имеет усиление активности цитотоксических Т-лимфоцитов, макрофагов и NK-клеток.

Опыт клинического использования ИФН доказал их несомненную терапевтическую эффективность, что позволяет объективно оценить основные достоинства и недостатки этих препаратов. Вместе с тем практика длительного (многомесячного) применения высоких доз ИФН, когда препараты ИФН являются основной составляющей терапии, например, при хронических вирусных гепатитах В и С, неврологических заболеваниях (рассеянный склероз), в онкологии (лейкозы, саркомы), выявила серьезные недостатки ИФН-терапии. В связи с этим важным альтернативным подходом является использование препаратов, относящихся к индукторам эндогенного ИФН, что существенно расширяет возможности интерферонотерапии.

В результате многолетнего целенаправленного скрининга отечественным исследователям удалось создать группу оригинальных индукторов интерферона (ИИ), имеющих высокий химиотерапевтический индекс и пригодных для профилактики и лечения вирусных инфекций и ряда других заболеваний. Изучение эффективности отобранных индукторов при инфекциях показало, что спектр их клинической активности, по сути дела, совпадает с активностью ИФН. В целом, учитывая все «за» и «против», можно утверждать, что ИФН и его индукторы еще долго будут служить прекрасной моделью для биологических исследований и одновременно все шире использоваться как высокоэффективные лекарственные средства при различных заболеваниях.

Глава 1

Фундаментальные аспекты функционирования системы интерферона

ОСНОВНЫЕ ИТОГИ ИЗУЧЕНИЯ СИСТЕМЫ ИНТЕРФЕРОНА К 2011 ГОДУ

Ф. И. Ершов и А. Н. Наровлянский

ФГБУ «НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздравсоцразвития России, Москва

Общие сведения об интерферонах и механизмах их действия

Прошло 54 года после открытия интерферонов (ИФН). За это время открыты разные виды ИФНов, накоплена обширная информация об их физико-химических и биологических свойствах, выявлены основные элементы системы ИФН, изучена локализация интерфероновых и регуляторных генов, определены нуклеотидная и белковая последовательности всех основных типов и субтипов ИФН и, в основном, установлены механизмы действия ИФНов, а также роль и место ИФН в норме и при различных видах патологии.

Интерфероны (ИФН) относятся к цитокинам (медиаторам иммунитета) и представлены семейством белков, обладающих антивирусной, иммуномодулирующей, противоопухолевой и другими видами активности. Семейство ИФНов составляют важные индукторы врожденного антивирусного ответа, которые также влияют на процесс адаптивного иммунного ответа и осуществляют распознавание и элиминацию чужеродной генетической информации. Они являются первой линией защиты против вирусных инфекций и играют важную роль в иммунологическом надзоре за злокачественными клетками. Платой за распознавание чужеродных нуклеиновых кислот является приостановка общей трансляции в клетке, этим и обусловлен антипролиферативный эффект ИФН, который имеет и положительную сторону — подавление опухолевого роста.

Система ИФН, контролирующая нуклеиновый гомеостаз, тесно связана с иммунной системой, обеспечивающей белковый гомеостаз. Доказательством прямого влияния системы ИФН на систему иммунитета является тот факт, что ИФН стимулирует фагоцитоз, активность естественных киллеров, экспрессию антигенов HLA, а также дифференцировку и созревание дендритных клеток. В то же время ИФН угнетает образование антител, развитие анафилактического шока, воспаления, гиперчувствительности замедленного типа, пролиферацию лимфоцитов, реакцию на трансплантат, реакцию связывания комплемента. Существует и обратная связь — влияние факторов иммунитета на систему ИФН. Так, хорошо известны факты резкого снижения ИФН-продуцирующей способности лейкоцитов у больных

с иммунодефицитами и при пониженной иммунореактивности (например, при онкологических, аутоиммунных и хронических рецидивирующих инфекционных заболеваниях).

Всего к настоящему времени описано более 300 различных эффектов ИФН, которые и определяют медицинскую значимость препаратов этого типа. Основные биологические эффекты ИФН включают: подавление роста внутриклеточных и внеклеточных инфекционных агентов вирусной и невирусной природы (хламидии, риккетсии, простейшие, бактерии); антипролиферативную активность; антитуморогенный эффект; антимутагенный эффект; антитоксическое действие; радиопротективный эффект; подавление или усиление продукции антител; стимуляцию макрофагов, усиление фагоцитоза; активацию цитотоксического действия сенсибилизированных лимфоцитов на клетки-мишени; активацию естественных киллерных клеток; стимуляцию освобождения гистамина базофилами; индукцию синтеза простагландина Е; усиление экспрессии антигенов главного комплекса гистосовместимости; усиление или ингибицию активности ряда клеточных ферментов; усиление цитотоксического действия двухнитевых РНК; подавление гиперчувствительности замедленного типа; многочисленные изменения клеточных мембран; стимуляцию выработки факторов и молекул адгезии.

Семейство ИФНов подразделяют на ИФНы I, II и III типов. У людей известно пять ИФНов I-го типа: ИФН-α (который содержит 13 экспрессируемых субтипов), -β, -ε, -κ, и -ω, один ИФН II-го типа — ИФН-γ, и три ИФН III-го типа (лямбда), ИФН-λ1-3 или IL-28A/B и IL29. ИФНы I и III типов экспрессируются в различных типах клеток. ИФН II типа продуцируется предпочтительно ЕК-клетками и Т-лимфоцитами. К тому же ИФН разных типов отличаются по структуре, по строению и утилизации клеточных поверхностных рецепторов и внутриклеточным сигнальным путям, которые обеспечивают экспрессию ИФН-стимулированных генов (ISG).

Многообразие физиологических функций ИФН указывает на их контрольно-регулирующую роль в сохранении гомеостаза. Система ИФН относится к числу быстрореагирующих и является одной из важнейших составляющих естественного (врожденного) иммунитета, во многом определяя течение и исход вирусных инфекций. Функционирование системы ИФН складывается из строго следующих друг за другом этапов, представляющих своеобразную цепную реакцию клеток организма (индукция — продукция — действие — эффекты) в ответ на внедрение чужеродной информации или использование индукторов ИФН. В последние годы с открытием так называемых паттерн-распоз-

нающих рецепторов (pattern recognition receptors (PRRs), было выяснено, как клетки распознают патогены и чужеродные нуклеиновые кислоты, за что в 2011 году Брюс Бойтлер и Жюль Хоффманн (Bruce Beutler and Jules Hoffmann) как первооткрыватели Toll-like рецепторов (TLRs) были удостоены Нобелевской премии по физиологии и медицине. Известные PRRs включают: 1) семейство TLRs, которые состоят из 10 субтипов и локализуются либо на клеточной поверхности, либо на эндосомах и узнают различные вирусные структуры; 2) семейство RIG-I-подобных рецепторов (RLR). Это семейство рецепторов локализовано в цитоплазме и состоит из RIG-I (retinoic acid-inducible gene-I), MDA-5 (melanoma differentiation-associated gene 5) и LGP-2 (laboratory of genetics and physiology 2) внутриклеточных сенсоров, которые узнают внутриклеточную дсРНК. Указанные RLRs связываются с РНК-лигандами и узнают различные классы вирусов; 3) семейство NOD (nucleotide-binding oligomerization domain)-подобных рецепторов (NLRs); 4) семейство рецепторов внутриклеточной ДНК, которое состоит из рецептора DAI (DNA-dependent activator of IFN-regulatory factors) и других неидентифицированных членов.

К настоящему времени во многом расшифрованы сигнальные пути, обеспечивающие передачу сигналов с рецепторов ИФН в клеточное ядро и активацию семейства генов, необходимых для формирования клеточной защиты от вирусных и бактериальных инфекций. По современным представлениям вслед за вирусной инфекцией эпителиальных и фибробластных клеток происходит индукция ИФН-1 типа в 3 фазы. **В первой фазе,** или в фазе сенсибилизации, сенсоры врожденного иммунитета, известные как PRRs, взаимодействуют с консервативными вирусными последовательностями — PAMPs (pathogen-associated molecular patterns) и приводят к координированной активации факторов клеточной транскрипции, таких как NF-κB, AP-1, и ИФН-регулирующего фактора 3 (IRF3), который индуцирует низкие концентрации ИФН-β. Все известные PRRs передают сигнал через IRF3 на индукцию ИФН-1 типа. IRF3 эндогенно экспрессируется в цитоплазме большинства типов клеток и активируется вслед за фосфорилированием с помощью TANK-связывающей киназы 1 (TBK-1) и/или ингибитора эпсилон киназы NF-κB (IKK-ε). Активация приводит IRF3 к гомодимеризации и транслокации в ядро, где он связывается с промотером гена ИФН-β. **Во второй,** или индуктивной, фазе секретируемый ИФН-β связывается с рецепторами и передает сигнал через Янус-активированную киназу (JAK) и пути активации транскрипции (STAT). Вслед за связыванием ИФН со своими специфическими рецепторами белки,

ЦИКЛОФЕРОН®

мы создаем УНИКАЛЬНОЕ

НТФФ "ПОЛИСАН"

www.polysan.ru

ЩИТ И МЕЧ ИММУННОЙ ЗАЩИТЫ

- Первый российский низкомолекулярный индуктор интерферона
- Оригинальный механизм фармакологического действия
- Безопасность, надежность и доказанная эффективность
- Идеальная совместимость
- Производится в соответствии с международным стандартом качества GMP

Показания к применению:

Таблетки
(Рег№ 001049/02):
вирусные инфекции (грипп, ОРЗ, гепатиты, герпес), кишечные инфекции, нейроинфекции
Инъекции
(Рег№ 001049/03):
вирусные инфекции, заболевания передаваемые половым путем, кишечные инфекции, нейроинфекции
Линимент
(Рег№ 001049/01):
уретриты, баланопоститы, вагиниты, стоматиты, парадонтиты

Форма выпуска: **раствор** для инъекций 125 мг/мл в ампулах по 2 мл №5;
таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой по 150 мг;
линимент 5% тубы по 5 мл и 30 мл

ЦИКЛОФЕРОН таблетки по 150 мг (Tabulettae CYCLOFERONI 150 мг)

Регистрационный номер: P N001049/02-121207
Торговое название: ЦИКЛОФЕРОН® (CYCLOFERON®)
Лекарственная форма: таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой.

Состав: 1 таблетка содержит:
активное вещество - меглюмина акридонацетат в пересчете на акридонуксусную кислоту - 150 мг; вспомогательные вещества: повидон, кальция стеарат, гипромеллоза, полисорбат 80, метакриловой кислоты и этилакрилата сополимер, пропиленгликоль.
Описание: таблетки двояковыпуклые желтого цвета, покрытые кишечнорастворимой оболочкой.
Фармакотерапевтическая группа: иммуностимулирующее средство. **Код АТХ** – L03AX

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА
Фармакодинамика.
Циклоферон является низкомолекулярным индуктором интерферона с выраженной интерфероногенной активностью, сохраняющейся в течение 3-х суток, что и определяет широкий спектр его биологической активности (противовирусной, иммуномодулирующей, противовоспалительной и др.)
Основными клетками-продуцентами интерферона после введения Циклоферона являются макрофаги, Т- и В-лимфоциты. В зависимости от типа инфекции имеет место преобладание активности того или иного звена иммунитета. Препарат индуцирует высокие титры интерферона в органах и тканях, содержащих лимфоидные элементы (слизистая тонкого отдела кишечника, селезенка, печень, легкие), активирует стволовые клетки костного мозга, стимулируя образование гранулоцитов, преодолевает гематоэнцефалический барьер. Циклоферон активирует Т-лимфоциты и естественные киллерные клетки, нормализует баланс между субпопуляциями Т-хелперов и Т-супрессоров. Усиливает активность α-интерферонов.
Циклоферон обладает прямым противовирусным действием, подавляя репродукцию вируса на ранних сроках (1-5 сутки) инфекционного процесса, снижая инфекционность вирусного потомства, приводя к образованию дефектных вирусных частиц. Повышает неспецифическую резистентность организма в отношении вирусных и бактериальных инфекций.
Фармакокинетика.
При приеме суточной дозы максимальная концентрация в плазме крови достигается через 2-3 часа, концентрация постепенно снижается к 8 часу, а через 24 часа Циклоферон обнаруживается в следовых количествах. Период полувыведения препарата составляет 4-5 часов, поэтому использование препарата Циклоферон в рекомендуемых дозах не создает условий для кумуляции в организме.

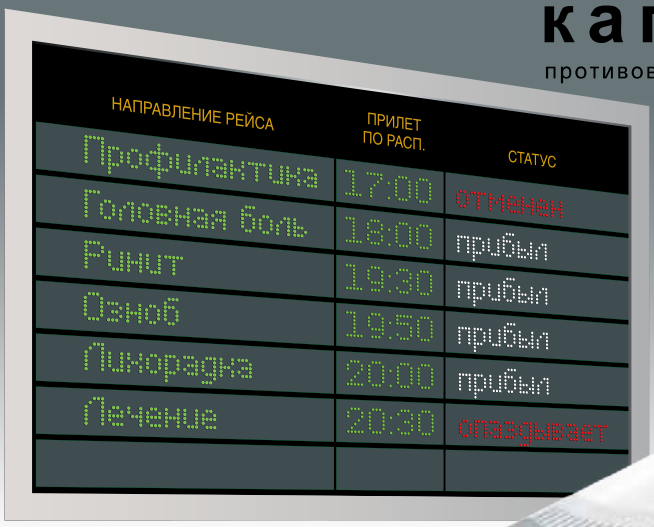
ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ
У взрослых в комплексной терапии: гриппа и острых респираторных вирусных заболеваний.
У детей в комплексной терапии, начиная с четырех лет при: профилактике и лечении гриппа и острых респираторных вирусных заболеваний;
ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ Беременность, период лактации, повышенная чувствительность к компонентам препарата, детский возраст до 4-х лет, декомпенсированный цирроз печени.
СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ И ДОЗЫ Внутрь, один раз в день, за полчаса до еды, не разжевывая.
У взрослых: При лечении гриппа и острых респираторных вирусных заболеваниях принимают по четыре таблетки на прием на 1, 2, 4, 6, 8 сутки (20 таблеток). Лечение необходимо начинать при первых симптомах инфекции. При тяжелом течении гриппа в первый день принимают шесть таблеток. При необходимости дополнительно проводят симптоматическую терапию (жаропонижающие, болеутоляющие, отхаркивающие средства).
У детей Циклоферон назначается в следующих возрастных дозах:
В возрасте 4-6 лет по 150 мг (одна таблетка), в возрасте 7-11 лет по 300-450 мг (2-3 таблетки), старше 12 лет 450-600мг (3-4 таблетки) на прием один раз в сутки Повторный курс целесообразно проводить через 2-3 недели после окончания первого курса.
При гриппе и острых респираторных вирусных инфекциях препарат назначают в возрастных дозах на 1, 2, 4, 6, 8, 11, 14, 17, 20, 23 сутки и далее один раз в три дня. Курс лечения составляет от 5 до 15 приемов в зависимости тяжести состояния и выраженности клинических симптомов. **В качестве средства экстренной неспецифической профилактики** острых респираторных вирусных инфекций и гриппа (в период сезонного подъема заболеваемости) препарат назначают в указанных возрастных дозах на 1, 2, 4, 6, 8 сутки, далее еще пять приемов с интервалом 72 часа (трое суток).
ПОБОЧНОЕ ДЕЙСТВИЕ Аллергические реакции.
ПЕРЕДОЗИРОВКА Сведения о передозировке препарата отсутствуют.
ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С ДРУГИМИ ЛЕКАРСТВЕННЫМИ СРЕДСТВАМИ Циклоферон совместим со всеми лекарственными препаратами, применяемыми при лечении указанных заболеваний (интерфероны, химиотерапевтические, симптоматические лекарственные средства и др.). Усиливает действие интерферонов и аналогов нуклеозидов. Уменьшает побочные эффекты химиотерапии, интерферонотерапии.
ОСОБЫЕ УКАЗАНИЯ Циклоферон не оказывает влияния на способность управлять транспортными средствами. При заболеваниях щитовидной железы необходима консультация врача- эндокринолога.
ФОРМА ВЫПУСКА Таблетки, покрытые кишечно-растворимой оболочкой, по 150 мг. По 10 таблеток в контурной ячейковой упаковке. По 1 или 5 контурных ячейковых упаковок вместе инструкцией по применению в картонной пачке.
УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ Список Б. В сухом, защищенном от света месте, при температуре 10 - 25 оС. Хранить в недоступном для детей месте.
СРОК ГОДНОСТИ 2 года. Не использовать по истечении срока годности, указанного на упаковке.
УСЛОВИЯ ОТПУСКА ИЗ АПТЕК По рецепту.
Производитель: ООО «Научно-технологическая фармацевтическая фирма «ПОЛИСАН» (ООО «НТФФ «ПОЛИСАН»).

Подробная информация находится в инструкции к препарату
Информация для специалистов здравоохранения

Лечение прибудет вовремя

кагОцел®

противовирусный препарат



Кагоцел®– противовирусный препарат для лечения и профилактики ОРВИ и гриппа, сочетающий в себе свойства ингибитора вирусной репродукции и эффективного стимулятора иммунной защиты организма.

- Начинать лечение препаратом Кагоцел® не поздно вплоть до 4-го дня от начала болезни
- Кагоцел® быстро улучшает самочувствие и сокращает продолжительность клинических симптомов гриппа и ОРВИ вне зависимости от этиологии заболевания
- Сокращает длительность катарального синдрома
- Кагоцел® безопасен и хорошо переносится
- Рекомендован Минздравсоцразвития РФ для профилактики и лечения «свиного» гриппа A/H1N1

Кагоцел® эффективно защищает от возбудителей ОРВИ и гриппа как в момент профилактического приема препарата, так и в течение последующих 30 дней.

Препарат отпускается из аптек без рецепта.
Рег. уд. № P N002027/01 от 19.11.2007 г.

ЛЕЧЕНИЕ ОРВИ И ГРИППА ПРОФИЛАКТИКА

Подробную информацию
Вы можете получить на сайте

www.kagocel.ru

НИАРМЕДИК ПЛЮС

123098, Москва, ул. Гамалеи, 18
Тел./факс: +7 (495) 741 49 89

Телефон горячей линии:

8 800 555 000 6

ВЕКТОР БЕСТ

РАЗРАБОТКА И ПРОИЗВОДСТВО НАБОРОВ

для диагностики заболеваний человека методами:

Иммуноферментного анализа
Real-time ПЦР
Клинической биохимии

Точная диагностика-эффективное лечение

ЗАО «Вектор-Бест»
630117, Новосибирск, а/я 492
т/ф: (383) 227-73-60, 332-81-34
e-mail: vbmarket@vector-best.ru
www.vector-best.ru

ассоциированные с JAK, активируются и по очереди фосфорилируют белки STAT-1 и STAT-2. Последовательно STAT-1 и STAT-2 формируют комплекс с IRF9, который транслоцируется в ядро и связывается с промотерными районами ISG, включая IRF7. В ответ на вирусную инфекцию активированные IRF3 и IRF7 гетеродимеризуются, приводя в результате к продукции различных видов ИФН-α и большого числа ISG. **В третьей фазе,** или фазе амплификации, ИФН-α/β индуцирует большинство ISG, экспрессия которых ограничивает репликацию и распространение вирусов. Один из основных механизмов действия ИФН заключается в индукции синтеза дсРНК-зависимой протеинкиназы R (PKR) и олигоаденилатсинтетазы (OAS). Индуцируемая ИФНом PKR является внутриклеточным сенсором дсРНК и вызывает антивирусный эффект посредством ингибирования трансляции белка. PKR содержит несколько функциональных доменов, таких как дсРНК-связывающий домен в N-конце и киназный домен в С-конце. PKR активируется при связывании с дсРНК, что приводит к аутофосфорилированию, гомодимеризации и субстратной киназной активности. PKR фосфорилирует α-субъединицу eIF-2, фактора инициации белкового синтеза, и тем самым ингибирует синтез белка. Неактивная OAS экспрессируется конститутивно в низкой концентрации в цитоплазме большинства типов клеток, однако ее концентрация значительно возрастает при индукции ИФНом. OAS становится активной при взаимодействии с дсРНК и вызывает синтез 2′-5′ олигоаденилатов, которые связывают и активируют рибонуклеазу L (RNase L). Активация RNase L приводит к деградации клеточной и вирусной РНК и индукции апоптоза через деградацию рРНК. Врожденный иммунный ответ вызывается также и в отсутствии ИФН-продукции вслед за вирусным проникновением. IRF3 играет важную роль во время такого ответа, так как его активация прямо индуцирует ISG, которые способны индуцировать антивирусное состояние. Кроме того, в антивирусный ответ также вовлекаются члены семейства фосфоинозитол-3-киназы, однако этот ответ не зависит от TLR или RIG-1.

Препараты ИФН: классификация

Существующие медицинские препараты ИФН делятся по типу активного компонента на -α, -β, -γ, а по способу создания и времени применения — на природные человеческие лейкоцитарные ИФН (первое поколение) и рекомбинантные ИФН (второе поколение), полученные с помощью методов генной инженерии. В табл. 1 суммированы наиболее широко используемые в настоящее время препараты ИФН.

Таблица 1.

Препараты ИФН

Типы ИФН	Препараты*
Природные ИФН (первое поколение)	
1. Альфафероны	Человеческий лейкоцитарный ИФН (ЧЛИ), Эгиферон®, Вэллферон®
2. Бетафероны	Человеческий фибробластный ИФН, Ребиф®, Ферон®
3. Гаммафероны	Человеческий иммунный ИФН (ИФН-γ)
Рекомбинантные ИФН (второе поколение)	
1. ИФН-α2a	Реаферон®, Роферон-А®, Виферон®, Интераль®
2. ИФН-α2b	Интрон-А®, Инрек®, Пэгинтерферон®
3. ИФН-α2c	Берофор®
4. ИФН-β	Авонекс®, Фрон®
5. ИФН-γ	Гаммаферон®, Актиммун®, Имукин®, Ингарон®

В последние годы отмечаются стремительное расширение масштабов использования рекомбинантных ИФН и сокращение применения природных препаратов, что связано с дефицитом сырья (донорская кровь) для производства последних и с высокой стоимостью конечного продукта. По степени изученности и масштабам применения рекомбинантные ИФН занимают сейчас лидирующее положение среди используемых в клинической практике цитокинов. ИФН-α и ИФН-β оказывают выраженное антивирусное действие, блокируя синтез вирусных белков и подавляя другие этапы их репродукции. ИФН-α активно воздействует на иммуноциты (NK-клетки, Т-лимфоциты, моноциты, макрофаги и гранулоциты), а также усиливает экспрессию мембранных антигенов I и II классов комплекса гистосовместимости (HLA).

Препараты ИФН: антивирусная активность и клиническое использование

Для ИФН-α антивирусная активность является основной и наиболее детально изученной. Многолетнее клиническое применение этих препаратов позволяет говорить об их универсально широком диапазоне антивирусных эффектов и возможности использования их при самых различных вирусных инфекциях. Важно подчеркнуть, что ИФН могут применяться при наиболее распространенных заболеваниях, таких как грипп и другие ОРВИ, герпес, вирусные гепатиты, СПИД. Данные о применимости различных препаратов ИФН суммированы в табл. 2.

Таблица 2.
Антивирусная эффективность препаратов ИФН

Вирусы	Эффективные препараты ИФН
Вирусы гриппа и др. ОРВИ (адено-, рино-, корона- и др.)	Альфаинтерферон®, Альфарона®, Лейкинферон®, Локферон®, Гриппферон®, Интерген®, Инфагель®, Реаферон®, Реальдирон®, Инрек®, Ингарон®
Герпесвирусы (ВПГ-1, 2, HZV, ВЭБ, ЦМВ)	Альфаинтерферон®, Альфарона®, Локферон® (заболевания глаз), Сверофор®, Эгиферон®, Ферон®, Виферон®, Интераль®, Интерген®, Инфагель®, Роферон-А®, Инрек®, Интрон-А®, Берофор®, Авонекс®, Фрон®, Ингарон®
Вирусы гепатитов B, C, D	Альфаинтерферон®, Альфарона®, Вэллферон®, Эгиферон®, Ферон®, Виферон®, Интераль®, Реаферон®, Инрек®, Интрон-А®, Пегинтрон®, Фрон®, Ингарон®
Ювенильный папилломатоз, генитальные бородавки	Вэллферон®, Эгиферон®, Ферон®, Интераль®, Реаферон®, Липинт®, Роферон-А®, Интрон-А®, Берофор®, Авонекс®
Нейровирусы (возбудители менингитов, менингоэнцефалитов)	Альфаинтерферон®, Инрек®
ВИЧ-инфекция (оппортунистические инфекции при ВИЧ)	Альфаинтерферон®, Вэллферон®, Роферон-А®, Интрон-А®, Ингарон®

Биодоступность интерферонов I типа достигает 80%, а период полувыведения колеблется: для ИФН-α он составляет около 2 ч., для ИФН-β — 8-10 ч., а для ИФН-γ — 0,5 ч.

Спектр заболеваний, чувствительных к ИФН, чрезвычайно широк. Условно его можно разделить на 3 большие группы: вирусные инфекции, онкологические заболевания и другие виды патологии. Наиболее широко ИФН используются при вирусных инфекциях. В первую очередь это различные герпетические поражения (кератиты и кератоконъюнктивиты, герпес гениталий, опоясывающий лишай), острые и хронические вирусные гепатиты, а также грипп и другие ОРВИ.

Менее изучена, хотя и установлена, эффективность ИФН при ВИЧ-инфекции, папилломавирусных инфекциях (остроконечные кондиломы, ювенильный папилломатоз гортани, бородавки и др.), кори, эпидемическом паротите и бешенстве. К этому перечню следует добавить вирусные осложнения при пересадке органов с применением иммунодепрессантов, гнойно-септические заболевания новорожденных, постнатально приобре-

тенные хронические цитомегаловирусные инфекции, псориаз, рассеянный склероз и, наконец, различные бактериальные заболевания (хламидиозы, легионеллезы, риккетсиозы).

Наиболее широко испытаны различные лекарственные формы природных и рекомбинанных типов ИФН-α, опыт клинического использования которых насчитывает более 30 лет. ИФН-β применялись по более узким показаниям (рассеянный склероз, глиомы, ювенильный папилломатоз). Данные об эффективности клинического использования ИФН при вирусных инфекциях приведены в табл. 3.

Таблица 3.

Эффективность клинического использования препаратов ИФН при вирусных инфекциях

Нозологическая форма	Эффективность использования
Герпес генитальный, опоясывающий лишай	Заметное сокращение сроков рецидива, уменьшение болей, увеличение межрецидивных периодов. У больных, получающих иммунодепрессанты, на фоне интерферонотерапии опоясывающий лишай наблюдается в 3 раза реже
Кератиты и кератоконъюктивиты (герпетические и аденовирусные)	Местное назначение препаратов ИФН снижает тяжесть и сокращает длительность заболевания
Цитомегаловирусная инфекция при СПИДе и после трансплантации почек и костного мозга	Для профилактики цитомегаловирусных пневмоний и гепатитов
Грипп и другие ОРВИ	Для экстренной профилактики ОРВИ, особенно в группах риска (дети, лица пожилого возраста), при РС-инфекциях у детей раннего возраста с лечебной целью используют введение ИФН
Вирусные гепатиты (острые и хронические формы гепатитов В, С)	Выраженный клинический эффект. В тяжелых случаях — уменьшение интенсивности и продолжительности интоксикации. Снижение частоты летальных исходов до 60%, исчезновение маркеров вирусной репликации HBs- и HBe-антигенов, специфической ДНК-полимеразы и др., нормализация показателей активности сывороточных трансаминаз
Папилломавирусные инфекции	При местном использовании ИФН наблюдается достоверный клинический эффект (исчезновение папиллом)
Генитальные бородавки и остроконечные кондилломы	Полное рассасывание бородавок через 6-10 нед. после начала лечения (50-100% случаев)

Нозологическая форма	Эффективность использования
Папилломатоз гортани	После удаления папиллом доказана эффективность интенсивной интерферонотерапии
Подострый склерозирующий панэнцефалит	Различная степень клинического улучшения при введении ИФН в спинно-мозговой канал или в желудочки мозга
СПИД	Нормализация иммунологических параметров, снижение остроты течения инфекции более чем в 50% случаев, исчезновение сывороточных маркеров заболевания. Эффект в отношении саркомы Капоши, ассоциированной со СПИДом, достигает 32-50%. Показана комбинированная терапия с анти-ВИЧ-препаратами

Таким образом, препараты ИФН обладают универсально широким спектром антивирусной активности и не вызывают формирования резистентных форм вирусов в отличие от химиопрепаратов. Будучи одним из основных факторов естественного (врожденного) иммунитета, ИФН синтезируются почти сразу же (первые 1-2 часа) после контакта организма с вирусами как немедленный ответ на вирусное инфицирование.

ИФНы как наиболее плеотропные цитокины обладают выраженным иммунокоррегирующим (активирующим ЕК-клетки) действием, осуществляя соответственно три взаимосвязанных эффекта: (1) прямую внутриклеточную ингибицию репродукции вирусов; (2) удаление с помощью ЕК-клеток инфицированного материала и (3) защиту окружающих незараженных клеток. Уникальность этих эффектов трудно переоценить, если учесть ежедневное и многократное инфицирование практически каждого организма различными вирусными агентами. В наиболее распространенных случаях болезнь вообще не развивается.

Общие сведения об индукторах интерферонов и механизмах действия

Создание отечественными учеными новой перспективной группы антивирусных препаратов, относящихся к индукторам эндогенного ИФН, органично дополняет начатое ранее использование в клинической практике экзогенных ИФН. Подобный альтернативный подход существенно расширяет возможности интерферонотерапии. Синтез собственного (эндогенного) ИФН, в сущности, является одной из самых ранних реакций естественного (врожденного) иммунитета. Известно, что на попадание вируса здоровый организм быстро отвечает образованием ИФН и останавливает последующее развитие инфекции.

Возможность использования индукторов для «включения» собственной системы ИФН рассматривалась давно, хотя этот ме-

тод сначала не получил широкого распространения, т.к. первые индукторы ИФН были токсичными, дорогостоящими и малодоступными. В связи с этим индукторы ИФН как медицинские препараты долгое время находились «в тени» собственно ИФН и в лучшем случае рассматривались лишь в качестве удобного инструмента для изучения механизмов их продукции или для получения препаратов ИФН первого поколения.

Первоначально задача «включения» системы ИФН решалась путем создания искусственных вирусных нуклеиновых кислот — синтетических полинуклеотидов, имитирующих в организме своеобразную абортивную вирусную инфекцию. Классическим препаратом этого типа стал синтетический полинуклеотид — комплекс полиинозиновой и полицитидиловой кислот, широкое экспериментальное использование которого позволило во многом расшифровать закономерности включения системы ИФН и сформулировать требования к клинически пригодным идеальным индукторам.

Индукторы ИФН (ИИ) представляют собой весьма пестрое по составу семейство высоко- и низкомолекулярных природных и синтетических соединений. Способностью индуцировать ИФН обладают тысячи различных соединений, и в первую очередь — практически все известные вирусы, многие микроорганизмы (бактерии, риккетсии, микоплазмы, хламидии и др.), продукты из них, природные полифенолы и широкий круг синтетических соединений. Однако подавляющее большинство ИИ оказалось непригодно для медицинского использования из-за их токсичности, антигенности, инфекционности, аллергизирующих, канцерогенных свойств и других серьезных побочных эффектов.

В результате многолетнего целенаправленного скрининга отечественным исследователям удалось выявить несколько весьма перспективных для медицины ИИ, имеющих высокий химиотерапевтический индекс и пригодных для профилактики и лечения вирусных инфекций и ряда других заболеваний (табл. 4).

Таблица 4.

Индукторы ИФН

Химическая природа	Препарат (коммерческое название)
А. Синтетические соединения	
1. Низкомолекулярные: флуореноны, акриданоны.	Амиксин®, Циклоферон®, Неовир®
2. Полимеры (дсРНК): поли(А) поли(У); поли(И) поли(Ц)	Полудан®, Амплиген®
Б. Природные соединения	
1. Полифенолы	Мегосин®, Кагоцел®, Гозалидон®
2. Полимеры (дсРНК)	Ларифан®, Ридостин®

Широкое системное использование ИИ различной природы показало, что их активность совпадает с ранее выявленной активностью экзогенных интерферонов. Действительно, клиническое применение ИИ касается гриппа и других ОРВИ, герпеса, вирусных гепатитов, энцефалитов, бешенства, медленных и смешанных инфекций. При введении в организм они вызывают ряд эффектов, которые связаны с ингибированием роста клеток, модуляцией их дифференцировки и синтезом мембранных рецепторов, а также — с действием на различные звенья системы иммунитета. Как и при действии ИФН, это выражается в активации макрофагов, цитотоксических Т-клеток, антителообразующих В-клеток, естественных киллеров и др. Действие ИИ осуществляется в комплексе с другими медиаторами воспалительных и иммунных ответов (цитокинов), а также совместно с гормонами и нейромедиаторами. Индукторы ИФН, обладая теми же иммуномодулирующими свойствами, что и собственно ИФН, стимулируют пролиферацию и дифференцировку клеток костного мозга, используя механизмы врожденного и адаптивного иммунитета.

Известно, что одним из свойств ИИ является формирование в организме длительной антивирусной резистентности. Сформировавшаяся на длительный период резистентность не может быть объяснена только действием эндогенного ИФН, синтезированного в ответ на введение индуктора, т.к. ИФН выводится из организма гораздо раньше. По-видимому, она является следствием непосредственного влияния ИИ на клеточный и гуморальный иммунитет, что требует дальнейшего изучения.

Клинически наиболее перспективными являются низкомолекулярные препараты — Циклоферон® и Амиксин®, а также некоторые высокомолекулярные природные и синтетические полимеры — Ларифан®, Ридостин®, Полудан® и Кагоцел®. Хотя активность индукторов практически аналогична активности ИФН, они имеют свои «точки приложения» в иммунной системе. Например, среди наиболее изученных отечественных низкомолекулярных ИИ Амиксин® вызывает медленную продукцию ИФН Т-лимфоцитами, а Циклоферон® — быструю продукцию ИФН В-лимфоцитами.

Индукторы заметно различаются по способности «включать» синтез ИФН в различных органах (мозг, легкие, печень, селезенка и др.). Это в конечном счете определяет тактику их использования при различных вариантах органной патологии. Так, низкомолекулярные препараты (Циклоферон®, Амиксин®) способны преодолевать гематоэнцефалический барьер, и поэтому активны при вирусных энцефалитах.

Индукторы не только «включают» систему ИФН, но и вызывают образование ряда провоспалительных и противовоспалительных цитокинов. Это очень важное обстоятельство позволяет рассматривать данные препараты биорегуляторами цитокиновой сети. На модели ВИЧ-инфекции показано, что Циклоферон® нарушает нормальное размножение вируса таким образом, что формируются так называемые дефектные интерферирующие частицы, которые неспособны заражать клетки, но могут вызывать подобно индукторам синтез ИФН.

Основными требованиями при создании клинически пригодных ИИ были специфическая активность, низкая токсичность, отсутствие мутагенности, канцерогенности, эмбриотоксичности. Для эффективного использования ИИ, когда их биологические эффекты выявляются наиболее полно, необходимо знать, какие клетки продуцируют ИФН в ответ на введение индуктора и какой тип ИФН индуцируется в органах-мишенях.

Накопленные к настоящему времени данные показывают, что двуспиральные индукторы ИФН (Ларифан®, Полудан®, Ридостин®) способны вызывать синтез ИФН у широкого круга клеточных популяций, включая клетки мононуклеарно-фагоцитарной системы, гранулоциты, нейтрофилы, клетки эндотелия и фибробласты в ответ на дсРНК. В ответ на дсРНК Т-клетки синтезируют ИФН только в присутствии макрофагов как вспомогательных клеток. ДсРНК являются активными индукторами ИФН-α и ИФН-β, причем в культурах лимфоцитов они индуцируют синтез преимущественно ИФН-α, а в культурах фибробластов они являются активными индукторами ИФН-β. При парентеральном введении большинство дсРНК синтезирует относительно высокие уровни ИФН.

Двуспиральные индукторы ИФН, являясь по сути мультифункциональными иммуностимуляторами, усиливают гуморальный иммунитет, повышая титр сывороточных антител при первичном иммунном ответе, сокращают индуктивный период антителообразования и увеличивают время циркуляции антител. Количество АОК при этом не увеличивается. Препараты этого типа действуют на самые ранние этапы иммунного ответа, не влияя на число клеток, отвечающих за антиген и дифференцирующихся в АОК. ДсРНК модулирует также Т-клеточный иммунитет, повышая реакцию бласт-трансформации и синтез ДНК Т-клетками при развитии иммунного ответа на субоптимальные количества растворимых антигенов и митогенов, и ускоряет генерацию цитотоксических Т-лимфоцитов. Они стимулируют активность ЕК, повышая цитотоксический ответ этих клеток против клеток, несущих опухолеспецифические антигены, а также

дифференцировку Т-клеток из предшественников и повышают количество кроветворных стволовых клеток. Кроме ИФН дсРНК стимулируют синтез других цитокинов, в частности интерлейкина-1 (ИЛ-1) и возможно других факторов роста и дифференцировки клетки.

Совокупность названных выше эффектов делают этот класс соединений пригодными для практического применения, что подтверждается результатами использования Ларифана®, Полудана® и Ридостина®.

Низкомолекулярные индукторы — акридононы и флуореноны (Циклоферон®, Амиксин®) обладают высокой интерфероиндуцирующей активностью, о чем свидетельствуют высокие титры ИФН в ответ на введение этих препаратов в органах, богатых лимфоидной тканью. Синтез ИФН Т-клетками осуществляется без помощи макрофагов как вспомогательных клеток. Универсальной широтой действия характеризуется и их противовирусная активность.

Многие полифенолы (Мегосин®, Кагоцел®, Гозалидон®), содержащие альдегидные группы, способны активно ингибировать репликацию вирусов. Механизм действия этих препаратов связывают с их способностью реагировать с аминогруппами пуриновых и пиримидиновых соединений нуклеиновых кислот вирусов. Среди этого класса ИИ медицинское применение нашла группа производных госсипола, характеризующихся слабой токсичностью и относительно высокой интерфероиндуцирующей способностью. Характерной особенностью данной группы считается стимуляция функциональной активности широкого спектра клеточных популяций. Полифенолы индуцируют синтез смеси ИФН-α/β в разных пропорциях.

Индукторы интерферона: клиническое применение

Более чем десятилетний опыт клинического использования ИИ демонстрирует безусловную медицинскую значимость этих препаратов, эффективных для профилактики и лечения острых и хронических вирусных инфекций (табл. 5).

Таблица 5.

Индукторы интерферона, разрешенные для медицинского применения

Название препарата	Форма выпуска	Показания	Производитель
Аллоферон®	Лиофилизированный порошок для инъекций во флаконах или ампулах 1 мл по 0,1; 1 и 10 мг действующего вещества. В упаковке 10 шт.	Хронический рецидивирующий генитальный герпес.	ОАО «Аллоферон», Россия.
Амиксин®	Таблетки, покрытые оболочкой, по 0,125 г для взрослых и по 0,06 г для детей. В упаковке 5 шт.	Лечение и профилактика гриппа и др. ОРВИ, комплексная терапия хламидиозов, герпеса, цитомегаловирусной инфекции, вирусных гепатитов А, В и С.	ОАО «Фармстандарт», Россия.
Кагоцел®	Таблетки по 0,1, содержащие 0,012 г действующего вещества.	Лечебное и профилактическое средство при гриппе и др. ОРВИ, лечебное средство при герпесе.	ЗАО «Ниармедик плюс», Россия.
Ларифан®	Лиофилизированный порошок для инъекций в ампулах, содержащих 10 мг препарата. Мазь 0,05% в тубах по 25 г.	В качестве терапевтического средства при герпетических заболеваниях и кератоконъюктивитах.	Опытный завод Института микробиологии им. Кирхенштейна, Латвия.
Мегосин®	Мазь 3% по 10 г в банках.	Применяется при простом, опоясывающем и генитальном герпесе.	ИБОХ, Узбекистан.
Неовир®	Ампулы для инъекций, содержащие 12,5% раствор препарата (250 мг активного вещества). В упаковке 5 ампул по 2 мл. Таблетки, покрытые оболочкой, 0,125 г.	Лечебное средство при герпесвирусных инфекциях, при остром вирусном гепатите А и хронических гепатитах В и С, а также для лечения и профилактики Гриппа и др. ОРВИ.	ЗАО «Фармасинтез», Россия.

Название препарата	Форма выпуска	Показания	Производитель
Полудан®	Флаконы по 5 мл, содержащие по 200 мкг (100 ЕД) лиофилизированного порошка для инъекций, в коробке 10 шт. Флакон с лиофилизированным порошком для приготовления глазных капель — 200 мкг (100 ЕД) в комплекте с крышкой-капельницей, в коробке 1 и 3 шт.	Применяют у взрослых при герпетическом кератите и кератоконъюнктивите.	«Верофарм», Россия.
Ридостин®	Лиофилизированный порошок для инъекций в ампулах и флаконах по 8 мг действующего вещества.	Для профилактики и лечения гриппа и др. ОРВИ (аппликации в нос). Терапевтическое средство при герпесе и хламидиозе (внутримышечно) и вирусных заболеваниях кожи и слизистых, кератоконъюктивитах вирусной и бактериальной этиологии (местные аппликации).	НПО «Вектор», Россия.
Циклоферон®	Таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой, по 0,15 г активного вещества, в блистере 10 шт., в упаковке 1 или 5 блистеров. Линимент 5% во флаконе 5 мл по 5 или 10 флаконов в коробке. 12,5% (0,25 г активного вещества) стерильный водный раствор для инъекций в ампулах по 2 мл по 5 или 10 шт. в коробке. Лиофилизированный порошок для инъекций во флаконах или ампулах по 0,25 г активного вещества по 5 или 10 шт. в коробке.	Для профилактики и лечения гриппа и др. ОРВИ. Лечебное средство в терапии герпетической, цитомегаловирусной и хламидийной инфекции, вирусных гепатитов А, В, С, D. В комплексной терапии нейровирусных инфекций, ВИЧ-инфекций (стадии I-III), кишечных инфекций. В качестве компонента иммунотерапии при вторичных иммунодефицитах различной этиологии.	НТФФ «Полисан», Россия.

Основным достоинством ИИ является универсально широкий спектр антивирусной активности, связанный, главным образом, с их способностью «включать» синтез эндогенных ИФН — важнейших факторов естественного (врожденного) иммунитета.

ИИ в ряде случаев имеют ряд преимуществ перед собственно ИФН: 1) в отличие от наиболее широко используемых в настоящее время рекомбинантных ИФН они не обладают антигенностью; 2) синтез ИФН при введении индукторов сбалансирован и контролируется организмом, что предотвращает побочные эффекты, наблюдаемые при передозировке препаратов ИФН; 3) однократное введение индукторов приводит к длительной продукции и поддержанию уровня ИФН в терапевтической концентрации, тогда как для достижения подобного уровня ИФН при использовании экзогенных препаратов из-за короткого периода полужизни (20 мин) требуется многократное введение значительных доз ИФН; 4) некоторые ИИ обладают уникальной способностью «включать» синтез ИФН в определенных популяциях клеток и органов, что в ряде случаев имеет определенные преимущества перед поликлональной стимуляцией иммуноцитов ИФНом.

В течение длительного периода накапливались данные о клиническом использовании высокомолекулярных природных и синтетических полимеров, таких как препараты Ларифан®, Кагоцел®, Полудан®, Ридостин®, а также клинически перспективных низкомолекулярных препаратов, таких как Мегосин®, Циклоферон®, Амиксин®, Аллоферон®. ИИ индуцируют синтез смеси ИФН-α/β, реже -γ, в разных пропорциях, хорошо сочетаются с различными иммуномодуляторами и химиотерапевтическими средствами. Комбинированное использование ИИ с другими препаратами часто приводит к синергидному или аддитивному эффекту. Каждый из названных ИИ, подобно экзогенному ИФН, обладает универсально широким спектром антивирусной активности. Это свойство ИИ используется для профилактики и лечения многих вирусных заболеваний (грипп, ОРВИ, герпес, вирусные гепатиты, ВИЧ-инфекция, хламидиозы, нейровирусные инфекции). Помимо этиотропного действия ИИ обладают выраженными иммунокоррегирующими эффектами, что определяет их эффективность в отношении ряда невирусных заболеваний. Следует особо подчеркнуть, что все наиболее известные ИИ разработаны отечественными учеными. Создание препаратов этого типа шло вслед за успешным клиническим применением экзогенных ИФН, так как механизм действия и спектр активности ИИ и ИФН, по сути дела, аналогичы.

К настоящему времени ИИ заняли достойное место в терапии вирусных инфекций как антивирусные препараты и корректоры иммунитета, обеспечивающие эффективное завершение терапии и предотвращение хронизации инфекционного процесса и его рецидивы.

К числу наиболее изученных и широко применяемых препаратов относятся Циклоферон®, Амиксин® и Кагоцел®. В табл. 6 суммированы результаты клинического использования ИИ, разрешенных для медицинского применения при различных формах инфекционной патологии.

Таблица 6.

Клиническое применение индукторов интерферона

Название препарата	Клинические показания
Амиксин®	Герпес, вирусные гепатиты, энтеровирусные инфекции, грипп и др. ОРВИ, бактериальные заболевания
Кагоцел®	Грипп и др. ОРВИ, генитальный герпес
Ларифан®	Грипп и др. ОРВИ, различные формы герпеса (генитальный, офтальмогерпес, опоясывающий), гепатит В
Мегосин®	Герпес 1 и 2 типа, опоясывающий лишай
Неовир®	Герпесвирусные инфекции, острый вирусный гепатит А, хронические вирусные гепатиты В и С, грипп и др. ОРВИ
Полудан®	Герпетический кератит и кератоконъюнктивит
Ридостин®	Арбовирусные инфекции, герпес, хламидиоз
Циклоферон®	Гепатит, герпес, ВИЧ-инфекция, хламидиоз

В заключении хотелось бы ещё раз отметить, что система ИФН играет одну из центральных ролей в иммунорегуляции, включает механизмы врожденного и адаптивного иммунного ответа, является первой линией защиты от вирусных и других внутриклеточных инфекций, участвует в поддержании гомеостаза организма. Не удивительно, что ИФНы и их индукторы, являясь центральными пусковыми молекулами системы ИФН, эффективно предупреждают самые ранние негативные процессы взаимодействия носителей чужеродной информации с организмом и занимают приоритетное место среди современных средств антивирусной и противораковой терапии. Однако, возможности использования этих лекарственных препаратов далеко не исчерпаны, и дальнейшее изучение может выявить новые перспективы их медицинского использования.

Рекомендуемая литература

1. *Ершов Ф. И. Система интерферона в норме и при патологии. // М, «Медицина», 1996, 238 с.*
2. *Ершов Ф. И. Антивирусные препараты. Справочник, 2-е издание // М, ГЕОТАР-Медиа, 2006, 312 с.*
3. *Ершов Ф. И. //Вестник РАМН, 2001, 11: 34-39.*
4. *Ершов Ф. И. // Вестник РАМН, 2004, 2: 9-13.*
5. *Ершов Ф. И., Жданов В. М. // Вестник АМН СССР, 1985, 7: 35-40.*
6. *Ершов Ф. И., Киселев О. И. Интерфероны и их индукторы (от молекул до лекарств) // М, Гэотар-Медиа, 2005, 356с.*
7. *Ершов Ф. И., Наровлянский А. Н. // В кн.: Иммунотерапия (под ред. Р. М. Хаитова и Р. И. Атауллаханова), М, Гэотар-Медиа, 2011, с.80-98.*
8. *Ершов Ф. И., Новохатский А. С. Интерферон и его индукторы // М, «Медицина», 1980, 173с.*
9. *Ершов Ф. И., Тазулахова Э. Б. // Вестник РАМН, 1999, 4: 52-56.*
10. *Инфекционные болезни //Под ред. В. И. Покровского, М, Медицина, 1996.*
11. *Наровлянский А. Н. // Биологические науки, 1991, 9: 5-26.*
12. *Государственный реестр лекарственных средств // М, Медицина, 2006, т.1-2.*
13. *Садыков А. С., Ершов Ф. И., Новохатский А. С. и др. Индукторы интерферона // Ташкент, Фан, 1978, 304с.*
14. *Соловьев В. Д., Бектемиров Т. А. Интерфероны в теории и практике медицины // М, Медицина, 1981, 400с.*
15. *Федеральное руководство по использованию лекарственных средств (выпуск V) // М, 2004, 943с.*
16. *Honda K., Taniguchi T. // Nat Rev Immunol, 2006, 6(9): 644-658.*
17. *Isaacs A., Lindenmann J. // Proc.R.Soc.Bond, 1957, .147: 258-263.*
18. *Liu S-Y., Sanchez D. J., Cheng G. // Current Opinion in Immunology, 2011, 23 (1) 57-64.*
19. *Paladino P., Mossman K. L. // J.Interf.&Cytokine Res, 2009, .29 (9) 599-607.*
20. *Pichlmair A., Reis e Sousa C. // Immunity, 2007, 27(3): 370-383.*
21. *Platanias L. C. // Nature Rev Immunol, 2005, 5 (5): 375-386.*
22. *Stewart W. The interferon system // NY, 1979.*
23. *Takaoka A., Taniguchi T. // Adv Drug Deliv Rev, 2008, 60(7): 847-857.*
24. *Unterholzner L., Bowie A. G. // Biochem Pharmacol, 2007, 75(3): 589-602.*

ОНТОГЕНЕЗ СИСТЕМЫ ИНТЕРФЕРОНА И ПРОБЛЕМЫ ТЕРАПИИ В НЕОНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

В. В. Малиновская

ФГБУ «НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздравсоцразвития России, Москва

К настоящему времени доказано, что интерфероны (ИФН) — это полифункциональные белки-цитокины, которые могут вырабатываться практически всеми клетками организма в ответ на внедрение чужеродной информации вне зависимости от ее этиологии (вирусы, грибы, бактерии, внутриклеточные патогены, онкогены). А основной их биологический эффект заключается в процессах распознавания и удаления этой чужеродной информации. Уникальность свойств ИФН состоит в сочетании противовирусной, иммуномодулирующей и антипролиферативной активности, что делает их универсальным фактором неспецифической резистентности, которые участвуют в осуществлении защиты организма от чужеродной инвазии.

Многочисленные исследования, посвященные изучению особенностей функционирования системы ИФН в онтогенезе, легли в основу разработки нового и перспективного направления терапии и профилактики инфекционных заболеваний у детей разного возраста, начиная с периода новорожденности. Более чем полувековая история исследований ИФН доказала их роль в осуществлении противоинфекционной защиты и координации различных звеньев иммунитета. Интерферонотерапия сохраняет свои лидирующие позиции в лечении большинства вирусных инфекций у новорожденных, включая недоношенных детей, а также входит в состав стандартных схем комплексной терапии различных бактериальных, грибковых, смешанных, в том числе гнойно-септических, инфекций у этой категории детей.

Предпосылками к созданию препаратов на основе ИФН послужили фундаментальные исследования в области изучения функционирования интерфероновой системы и её роли на всех этапах становления иммунной системы, начиная с периода эмбрионального развития.

Большой вклад в создание и развитие целого направления в иммунологии, посвященного изучению различных аспектов молекулярно-биологических свойств ИФНов и онтогенеза интерфероновой системы, принадлежит отечественному ученому, академику В. Д. Соловьёву, являющемуся основоположником интерферонологии в нашей стране. В дальнейшем на базе отдела НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи РАМН была создана лаборатория

онтогенеза и коррекции системы интерферона, где под руководством автора исследования продолжаются вплоть до настоящего времени.

ИФН в организме начинают действовать намного раньше механизмов специфического иммунитета, при этом они, не обладая специфичностью в отношении вирусов, подавляют проникновение последних в клетку, блокируя синтез нуклеиновых кислот, трансляцию вирусных белков и сборку вирионов. К настоящему времени накоплено большое количество неопровержимых доказательств роли ИФНов в активации механизмов захвата и переваривания бактериальных, в том числе внутриклеточных патогенов (стафилококка, хламидий, легионелл, листерий), а также грибов и простейших, т.е. наличия у них опосредованного антибактериального эффекта. ИФН принимают участие в усилении естественной цитотоксичности, регуляции процессов созревания иммунокомпетентных клеток, межклеточных взаимодействий и антителообразования. Установлена чёткая корреляция между показателями интерферонового и иммунного статусов, указывающая на наличие прямых и обратных связей между этими системами.

Благодаря многолетним фундаментальным исследованиям были выявлены и сформулированы возрастные особенности функционирования системы ИФНов, раскрывшие понимание многих иммунологических процессов, эволюционно происходящих в организме ребенка на разных этапах развития. Установлено, что в процессе онтогенеза происходит поэтапное созревание системы ИФНов с изменением их биологических свойств и характеристик. Очевидно, что во многом благодаря несовершенству функционирования интерфероновой системы в раннем возрасте, новорожденные и дети первых лет жизни проявляют повышенную чувствительность к инфекционным болезням со склонностью к их более тяжелому и генерализованному течению с высоким риском осложнений и летальных исходов.

Имеются доказательства значения ИФН на самых ранних стадиях эмбрионального развития, начиная с периода имплантации. Так, при применении внутриматочных контрацептивов происходит выход в эндометрий макрофагов, вырабатывающих ИФН, преимущественно ИФН-γ, который играет важную роль в предотвращении имплантации оплодотворенной яйцеклетки и начала её дробления. В случае состоявшейся имплантации оплодотворённая яйцеклетка начинает вырабатывать ИФН, который синтезируется в течение всей фазы гаструляции, заканчивающейся образованием двухслойного зародыша. У плода уже на 10-й неделе в период интенсификации процессов дифференци-

ВИФЕРОН®

Эффективный иммуномодулирующий и противовирусный препарат с высокой степенью безопасности

АКУШЕРСТВО

ДЕРМАТОВЕНЕРОЛОГИЯ

НЕОНАТОЛОГИЯ

ПЕДИАТРИЯ

ВИФЕРОН® – комплексный противовирусный и иммуномодулирующий препарат, изготавливаемый в форме суппозиториев, мази и геля, включающий интерферон человеческий рекомбинантный альфа-2b и антиоксиданты

123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18, корп. А
тел/факс: 8(499) 193 30 60, (495) 646 12 19 многоканальный
сайты: http://www.viferon.su, http://www.interferon.su
e-mail: info@viferon.su

суппозитории мазь и гель

ВИФЕРОН®

ИНТЕРФЕРОН ЧЕЛОВЕЧЕСКИЙ РЕКОМБИНАНТНЫЙ АЛЬФА-2 С АНТИОКСИДАНТНЫМ КОМПЛЕКСОМ

- **ВИФЕРОН® вошел в список ЖНВЛС***
- **ВИФЕРОН® отпускается по фиксированным ценам**

* жизненно необходимые и важнейшие лекарственные стредства

ЖНВЛС

- Препарат разрешен к применению у беременных женщин и новорожденных детей
- Не вызывает побочных эффектов, имеет минимум противопоказаний и хорошо совместим с другими лекарствами
- Эффективность подтверждена ведущими клиницистами

ГЕРПЕС И ЦИТОМЕГАЛИЯ

ВИРУСНЫЕ ГЕПАТИТЫ B, C, D

ХЛАМИДИОЗ, МИКОПЛАЗМОЗ УРЕАПЛАЗМОЗ

УРОГЕНИТАЛЬНЫЕ И БРОНХОЛЕГОЧНЫЕ ИНФЕКЦИИ

ПИЕЛОНЕФРИТ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТ

ДИСБАКТЕРИОЗ

ЭНДОМЕТРИОЗ И ВУЛЬВОВАГИНИТ

МЕНИНГИТЫ

КАНДИДОЗ

ГРИПП И ОРВИ

ферон

ПРОИЗВОДСТВО ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Адрес: 125424 г. Москва, Волоколамское ш., д. 73
Производство: ООО «ФЕРОН» 123098 г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18, корп. А
тел/факс (495/499) 193-3060, 646-1219 многоканальный
электронная почта: viferon@rol.ru; адрес web-сайта: http://www.viferon.su
информационный сайт: http//:www.interferon.su

ровки иммуноцитов начинает определяться ИФН-γ, концентрация которого значительно увеличивается к 22-й неделе гестации и определяется в крови и тканях плода до тех пор, пока клетки селезенки не начинают синтезировать иммуноглобулины, что подтверждает защитную роль ИФН в раннем эмбриогенезе. При этом в крови здоровых матерей в данный период ИФН не обнаруживается, что является свидетельством его эмбрионального происхождения и автономного функционирования интерфероновой системы у плода.

В проведенных ранее экспериментальных исследованиях были выявлены различия в молекулярном строении ИФНов, продуцируемых в разные возрастные периоды. Установлено, что клетки новорожденных животных (мыши, крысы) вырабатывали «ранний» ИФН (р-ИФН), состоящий из одной субъединицы с молекулярной массой 45-62 КД, в отличие от «взрослого» ИФН (в-ИФН), который синтезировался в клетках половозрелых животных и имел 2 субъединицы с молекулярной массой 25-40 КД и 32-45 КД. У человека появление так называемого раннего ИФН зафиксировано, начиная с 10 недели внутриутробного развития, а к моменту рождения концентрация раннего ИФН в несколько раз превышала таковую у взрослых, с наиболее высоким уровнем у недоношенных. Однако, р-ИФН характеризовался низкой гидрофобностью, а также сниженной противовирусной и иммуномодулирующей активностью: в основном его действие было направлено не на защиту, а на участие в развитии и дифференциации клеток плода и новорожденного. Наиболее высокий уровень р-ИФН регистрировался у глубоко недоношенных детей. Установлена взаимосвязь снижения уровня продукции раннего ИФН с отклонениями от нормы плода у беременных женщин.

В дальнейшем в становлении противоинфекционной защиты новорожденных принимает участие только α-звено интерфероновой системы. Однако, синтез ИФН-α у новорожденных, особенно у недоношенных детей, в сравнении со взрослыми резко снижен, что в свою очередь способствует смещению иммунорегуляторного индекса в сторону преобладания супрессорной активности Т-лимфоцитов и снижения киллерной активности клеток, усугубляя иммунологическую несостоятельность детей данной возрастной категории.

Сниженная способность к продукции ИФН-α недоношенных новорожденных рассматривается как следовая реакция на длительную ингибицию отторжения плода во время беременности. Принято считать, что данный механизм опосредуется через ИФН-α, что подтверждается способностью клеток крови к его спонтанной продукции. В свою очередь у доношенных новорож-

денных отмечается 8-кратное усиление образование α-ИФН, обусловленное, по-видимому, участием последнего в процессе рождения.

В механизмах регуляции интерфероногенеза в неонатальном периоде доказана роль возрастных гуморальных факторов. Было установлено, что в сыворотке крови новорожденных животных наблюдаются низкомолекулярные факторы (с молекулярной массой 15-18 КД), повышающие выход из лизосом фермента катепсина Д. Как следует из данных литературы, активация выхода катепсина Д из лизосом всегда взаимосвязана с процессами регенерации и активного размножения клеток. Другой фактор, определяющий синтез р-ИФН, был взаимосвязан с липидной природой энергетической составляющей раннего этапа жизни организма новорожденного, характеризуется высоким уровнем перекисного окисления липидов (ПОЛ) и низкой антиокислительной активностью (АОА). Изменение интенсивности ПОЛ, ответственного за проницаемость клеточных мембран и, в частности, лизосом для катепсина Д, происходило буквально по дням. У новорожденных мышей сыворотка крови обладала 50% прооксидантным действием, а 1-, 2- и 10-ти дневных сосунков — 3%, 14%, и 20-30% антиокислительной активностью соответственно. Кроме того, по мере взросления организма происходила замена низкомолекулярных факторов в сыворотке крови на высокомолекулярные (с молекулярной массой 30-40 КД), ингибирующие выход катепсина Д из лизосом. При внесении в систему клеток новорожденных сыворотки крови взрослых животных, содержащей факторы, ингибирующие выход катепсина Д, и обладающей выраженной антиокислительной активностью, происходил синтез в-ИФН, состоящего из 2 субъединиц. Такая же картина наблюдалась, если к клеткам брюшнополостного экссудата новорожденных добавлялся антиоксидант — токоферола ацетат (витамин Е).

В норме для регуляции многих жизненно важных функций необходим низкий фоновый уровень эндогенного ИФН, а внезапно большие его выбросы могут оказаться катастрофическими, особенно для растущего организма. Инфекции, особенно вирусной этиологии, индуцируют выработку огромного количества ИФН, в буквальном смысле наводняющего организм и длительно циркулирующего в крови с последующим метаболизмом в печени и почках. Экспериментально доказано, что высокий уровень эндогенного ИФН, как и введение экзогенного новорожденным животным, приводили к подавлению их роста, некрозу клеток печени, развитию гломерулонефрита и даже гибели животных, что является доказательством цитопатического действия ИФН в данной возрастной группе.

На многочисленных моделях вирусных инфекций у различных видов животных установлено, что по мере взросления организма и совершенствования противовирусных функций системы ИФН происходят постепенное снижение тяжести течения инфекционного процесса, уменьшение количества генерализованных форм и летальных исходов. Этот феномен обусловлен прямой связью возраста в ранний период онтогенеза с одной стороны — с интенсивностью ростовых факторов, ингибиторов синтеза и действия ИФНов, а с другой — чувствительностью к инфекциям. Но возможность применения препаратов ИФНа в ранний период жизни вызывало сомнение и опасение у многих исследователей в связи с тем, что экспериментально была доказана его способность тормозить рост, развитие организма и даже вызывать летальные исходы, и что его интенсивная продукция, защищая от инфекций взрослых животных, могла приводить к быстрой гибели новорожденных. Однако установлено, что ИФН оказывал парадоксальное действие только на определенном отрезке онтогенеза. И уже начиная с 8-10 дня после рождения, введение ИФН животным не тормозило их рост и развитие, не обуславливало изменений в паренхиматозных органах и не вызывало летальных исходов.

Важным фактором регулирования интерфероновой системы, как уже было отмечено, является интенсивность ПОЛ клеточных мембран. Научно доказана прямая зависимость между физиологическим снижением с возрастом процессов ПОЛ и циркуляцией р-ИФН и обратная — в отношении ИФН-γ. Усиленное образование продуктов ПОЛ на раннем этапе постнатального развития физиологически предопределено ввиду того, что липиды в данный период являются основной составляющей энергетического обмена. Наряду с этим, для детей раннего возраста характерно наличие гиповитаминоза Е, дисбаланса ферментативных систем, участвующих в антиокислительной защите организма, что способствует увеличению в общем пуле интерферонов «раннего» ИФН и ингибиции выработки ИФН- γ.

При развитии инфекционного процесса интенсивность процессов ПОЛ возрастает, одновременно на фоне нарастания концентрации конечных продуктов ПОЛ усиливается чувствительность ткани почек к повреждающему действию р-ИФН, что в конечном итоге может привести к дегенеративным изменениям ткани почек (данные пато-морфо-логических исследований). Катаболизм в-ИФН, синтезируемого клетками половозрелых животных, как более гидрофобного, происходит в клетках печени. При моделировании инфекционного процесса установлено, что ткань печени, аналогично почечной ткани, проявляет повы-

шенную чувствительность по отношению к усилению процессов ПОЛ с нарушением целостности мембран гепатоцитов. Однако, сочетанное введение ИФНов с природным антиоксидантом (витамин Е) способствует нивелированию побочных эффектов их воздействия на паренхиматозные органы. Кроме того, на фоне такой антиоксидантной поддержки отмечается достоверное повышение противовирусной активности ИФНов.

Качественный этап перехода интерфероновой системы с «незрелого» типа на «зрелый» приходится на период раннего детства (от 1 года до 3 лет), когда отмечается резкое снижение уровня циркулирующего ИФН, исчезновение р-ИФН. В этот период у детей свойства ИФНов начинают соответствовать таковым у взрослых, ИФН-γ приобретает способность активировать киллерную активность, однако, его синтез значительно снижен и к тому же продолжает зависеть от равновесия в системе АОА-ПОЛ. Поэтому дети данной возрастной категории также остаются высокочувствительными в отношении возбудителей инфекционных болезней с частым развитием среднетяжелых и тяжелых форм, суперинфицированием и высоким процентом смешанных инфекций. С увеличением возраста увеличивается продукция ИФНов с улучшением их противовирусных и иммуномодулирующих характеристик. Однако, даже у детей младшего школьного возраста синтез ИФНов ещё не достигает взрослого уровня, а на фоне любого инфекционного процесса отмечается угнетение интерфероногенеза.

Таким образом, в результате многолетних исследований установлены некоторые закономерности, лежащие в основе возрастных особенностей системы ИФН: в различные периоды онтогенеза продуцируются ИФНы, отличные по физико-химическим и биологическим свойствам. При этом у новорожденных отмечается циркуляция незрелого, функционально несостоятельного р-ИФН, а у детей раннего возраста — снижение всех показателей интерферонового статуса. Одним из ключевых механизмов неадекватного функционирования интерфероновой системы у новорожденных и детей раннего возраста является её зависимость от нарушений равновесия в системе ПОЛ-АОА. Изучены и научно доказаны механизмы токсического действия ИФНов на растущий организм. Продемонстрирована целесообразность применения антиоксидантов для устранения побочных действий эндогенного и экзогенного ИФНов на растущий организм.

Немаловажную роль в осуществлении противоинфекционной защиты организма как взрослого, так и ребёнка играют согласованные взаимодействия систем врождённого и приобретённого иммунитетов. Ключевая задача системы врождённого

иммунитета состоит в обнаружении инфекционного агента и его распознавании на рецепторном уровне посредством патогенраспознающих рецепторов (PRR), основными из которых являются Toll-like подобные рецепторы (TLR). При связывании с TLR происходит активация синтеза ряда цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО-α, ИЛ-12, хемокинов и др.), способствующих вовлечению в процесс элиминации возбудителя приобретенного звена иммунитета с последующим образованием специфических антител. Первоначально TLR были описаны как участники формирования иммунного ответа на бактерии, однако, данные последних лет доказывают способность вирусов также стимулировать TLR и демонстрируют их роль в антивирусном ответе. Существует мнение о том, что необходимым условием индукции ответа является высокое содержание инфекционного агента, превышающее пороговый уровень, необходимый для запуска TLR на вирусную инфекцию.

У новорожденных в условиях функциональной незрелости иммунный ответ на инфекцию является во многих отношениях дефектным: по уровню комплемента, несостоятельности интерфероновой системы, по образованию и миграции полиморфноядерных лейкоцитов и своеобразию взаимодействия с дендритными клетками, активирующими Т-лимфоциты, которым принадлежит ключевая роль в адаптивном иммунном ответе, направленном на элиминацию возбудителя из организма. Следствием такой иммунологической несостоятельности и отсутствия адекватной реакции на проникновение в организм микробов и вирусов, предположительно, может явиться гораздо более высокий, чем у взрослого, уровень вирусной (микробной) нагрузки. Одновременно с этим существуют убедительные доказательства более высокой продукции некоторых цитокинов (в том числе ИЛ-6, ИЛ-8) у новорожденных в ответ на определенные микроорганизмы, включая вирусы простого герпеса (ВПГ-I, ВПГ-II). Наличие сильного цитокинового ответа, который формируется при участии TLR (TLR2) у новорожденных, во многом объясняет уникальность клинической картины большинства инфекций (включая группу TORCH), склонность к их тяжелому генерализованному течению с развитием сходной клинической картины неонатального сепсиса вне зависимости от вида возбудителя. У взрослых и детей более старшего возраста, не имеющих дефектов иммунной системы, данные инфекции протекают в более легкой, часто локализованной форме и имеют определенные клинические различия, свойственные каждому возбудителю.

Таким образом, установлено, что в патогенезе септического синдрома при инфекционных заболеваниях у новорожденных

ведущая роль принадлежит иммунным механизмам взаимодействия возбудителя со стимуляцией TLR2 и последующим формированием более сильного цитокинового ответа с участием воспалительных цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-8). А поиск терапевтических возможностей связывания белков TLR может быть перспективным методом лечения тяжелых неонатальных инфекций.

На современном этапе терапия многих инфекций у новорожденных и недоношенных детей представляет значительные трудности, что связано как с морфо-функциональными особенностями детей этого возраста, их иммунологической некомпетентностью, частым срывом механизмов адаптации, так и с тяжестью течения инфекционных заболеваний, склонностью к генерализации, высокой частотой смешанных инфекций, их полиэтиологичностью. В связи с этим терапия неонатальных инфекций на сегодняшней день базируется не только на использовании антимикробных и противовирусных химиопрепаратов, многие из которых являются высокотоксичными соединениями, но и на обязательном включении в лечебные схемы препаратов с иммуномодулирующим действием. При этом предпочтение отдаётся высокоэффективным с позиций доказательной медицины и безопасным лекарственным средствам. Таким требованиям в полной мере отвечают препараты на основе рекомбинантного ИФН. Многолетний опыт экспериментальных и клинических наблюдений с учетом данных об особенностях становления и функционировании системы ИФН у детей позволил определить основные подходы к их применению в педиатрической практике, основным из которых является необходимость сочетания ИФНов с препаратами антиоксидантного действия. В поиске оптимального состава был использован рекомбинантный интерферон альфа 2b в сочетании с антиоксидантным комплексом (витамин Е и аскорбиновая кислота). В исследовании А. Н. Васильева, посвященном оценке влияния различных антиоксидантов на специфическую противовирусную активность интерферона альфа-2b в отношении вирусов простого герпеса в культуре клеток, установлено, что одним из наиболее мощных антиоксидантов, помимо витамина Е, является аскорбиновая кислота (витамин С). Данный антиоксидант не только обладает прямой противогерпетической активностью в культуре клеток, но и потенцирует эффект ИФН, выступая его синергистом, следствием чего является повышение более чем в 5 раз противогерпетической активности последнего. Экспериментально доказано, что аскорбиновая кислота восстанавливает активный центр альфа-токоферола ацетата (витамин Е), который может частично окисляться продуктами ПОЛ, пролонгируя его действие. Оптимальное соотношение

терапевтически значимых концентраций этих антиоксидантов оказывает синергидное действие на противовирусный эффект ИФН, усиливая его в 14 раз, а также нивелирует возможное негативное воздействие ИФН на состояние паренхиматозных органов новорожденного ребенка. Несколько позднее в подобном исследовании по изучению *in vitro* противовирусной активности сочетаний интерферона альфа-2b с различными антиоксидантами в отношении высоковирулентного вируса гриппа птиц A/H5N1 автором получены аналогичные данные, свидетельствующие о наличии противогриппозной активности у витамина Е и аскорбиновой кислоты.

Изложенный выше многолетний комплекс наших исследований лег в основу создания препарата ВИФЕРОН®, который на протяжении нескольких десятилетий с успехом используется для лечения и профилактики большого спектра инфекций, являясь единственным в своём классе препаратом, разрешенным Государственным Фармкомитетом МЗ РФ для лечения инфекционно-воспалительных заболеваний у детей, включая новорожденных, недоношенных, а также у беременных женщин. Производство данного препарата соответствует требованиям GMP.

ВИФЕРОН® представляет собой комплексный препарат рекомбинантного альфа 2b-интерферона в сочетании с антиоксидантным комплексом — токоферола ацетатом (витамин Е) и аскорбиновой кислотой.

ВИФЕРОН®, в отличие от парентеральных препаратов рекомбинантного ИФН, не вызывает побочных эффектов, а лекарственная форма в виде ректальных суппозиториев является наиболее удобной и «неинвазивной», что особенно актуально при использовании в педиатрии. Ректальный способ введения обеспечивает быстрое всасывание ИФН, который попадает в кровоток, минуя печеночный барьер, что позволяет достичь более высокой его сывороточной концентрации.

Комплексное действие ВИФЕРОНА® обусловливает множественность эффектов препарата: снижение уровня циркулирующего р-ИФН, усиление синтеза ИФН-γ, улучшение функциональной активности Т-клеточного звена иммунитета, нормализация показателей гуморального иммунитета. Существенным преимуществом препарата является возможность проведения противовирусной терапии с эффектом иммуномодуляции естественным цитокином, в отличие от индукторов, стимулирующих у детей выработку р-ИФН, обладающего иными свойствами и функциями, что было указано выше. Установлено также, что при длительном применении ВИФЕРОНА® не образуются антитела, нейтрализующие антивирусную активность рекомбинантного альфа 2b-интерферона.

ВИФЕРОН® совместим и хорошо сочетается со многими другими средствами этиотропной и патогенетической терапии, включая противовирусные, антибактериальные химиопрепараты, иммуноглобулины и др. препараты.

ВИФЕРОН® с успехом применяется для лечения вирусных и бактериальных инфекций у новорожденных: различных респираторных инфекций, пневмоний, сепсиса, инфекционных поражений ЦНС, а также при внутриутробном инфицировании хламидиозами, герпесвирусными, цитомегаловирусными инфекциями, микоплазмозе и уреаплазмозе. Анализ полученных данных позволяет провести чёткую корреляционную взаимосвязь между различными факторами специфической, неспецифической и антиоксидантной защиты организма, корригируемой ВИФЕРОНОМ® (ИФН-γ, IgG, интенсивность фагоцитоза, R-белки, МДА, АОА). Клиническая эффективность виферонотерапии заключается в более быстром купировании проявлений инфекционного процесса, разрешении патологического очага, уменьшении выраженности и длительности инфекционного токсикоза, частоты развития осложнений и хронизации инфекции, а также в сокращении длительности и массивности антибактериальной терапии. У детей с неонатальными менингитами различной этиологии включение в комплекс лечения ВИФЕРОНА® способствовало нормализации ликворологических показателей на две недели раньше, чем в группе сравнения. При этом имело место более быстрое усиление способности клеток крови и ликвора к продукции ИФН-α и -γ. А спустя сутки синтез ИФН-γ клетками ликвора увеличился в 6 раз. Одновременно имела место быстрая нормализация состояния в системе ПОЛ-АОА как в ликворе, так и в плазме крови. Впоследствии в группе детей, получавших ВИФЕРОН®, наблюдался меньший процент гнойных и неврологических осложнений.

Включение ВИФЕРОНА® в комплексное лечение бактериальных пневмоний у новорожденных с различным гестационным возрастом, наряду с положительным клиническим эффектом в виде достоверно более быстрого купирования основных симптомов заболевания, улучшением рентгенологической картины, сокращением сроков стояния центральных катетеров и курса антибактериальной терапии приводило к существенному улучшению иммунологических показателей. На фоне виферонотерапии у детей отмечалось увеличение абсолютного количества зрелых Т-лимфоцитов, увеличение жизнеспособности лимфоцитов (снижение экспрессии маркера активации и апоптоза CD 95 на клетках), также наблюдалось повышение чувствительности лимфоцитов к ИЛ-2, цитоток-

сической активности Т-лимфоцитов, усиление фагоцитарной функции нейтрофилов (Солдатова И. Г. и соавт.).

Первые исследования особенностей функционирования системы ИФН и возможности коррекции их нарушений у беременных женщин с различными инфекционно-воспалительными заболеваниями в разные сроки гестации, проводимые Т. Г. Тареевой на базе МОНИАГ МЗ РФ, позволили установить не только основные типы нарушений интерфероногенеза у беременных и их связь с осложнениями гестационного периода, но и разработать систему прогнозирования реализации ВУИ и перинатальных осложнений у детей. Доказана возможность корригирующего воздействия виферонотерапии не только на организм беременной женщины, но и на иммунную систему плода. При этом у новорожденных детей отмечались нормализация показателей гуморального иммунитета и интерферонового статуса, достоверное снижение частоты тяжелых форм внутриутробной инфекции в 3 раза (с 26,7 до 8,1%.), перинатальных осложнений неинфекционного характера и малых форм внутриутробной инфекции в 2 раза.

Большой интерес представляют исследования врожденного звена иммунитета, проведенные у новорожденных со сроком гестации от 37 до 41 недели от матерей с урогенитальными инфекциями, получавших в комплексе дородовой терапии препарат ВИФЕРОН®, суппозитории. В образцах пуповинной крови определяли количество и степень цитотоксичности натуральных киллеров, фенотипические и функциональные особенности моноцитов, степень экспрессии на поверхности моноцитов патоген-распознающих рецепторов CD14, TLR-2, TLR-4, молекул HLA-DR, а также оценивали способность моноцитов секретировать провоспалительные цитокины ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНО-альфа *in vitro*. В результате было установлено, что на фоне виферонотерапии урогенитальной патологии у беременных, рождались дети с фенотипическими и функциональными показателями врожденного иммунитета, близкими к таковым у новорожденных от здоровых женщин. Проведенное исследование позволяет рассматривать ВИФЕРОН® в качестве антенатального иммунокорректора, выравнивающего показатели врожденного иммунитета до нормальных значений у новорожденных ещё во внутриутробном периоде (Малиновская В. В., Дмитриева Е. В. и соавт.).

И. И. Бочаровой и соавт. было установлено, что у новорожденных детей с тяжелыми внутриутробными инфекциями (ВУИ) при отсутствии иммунокоррекции у их матерей во время беременности состояние иммунитета характеризовалось лимфопенией, снижением абсолютного количества Т- и В-лимфоцитов, а

также Т-хелперов, способных к продукции ИЛ-2 при увеличении клеток, экспрессирующих рецепторы к ИЛ-2. Авторами было выявлено снижение цитотоксического потенциала клеток иммунной системы, низкие уровни IgG и повышение уровней IgM и IgA в сыворотке крови больных новорожденных. Выявленные закономерности функционирования иммунной системы новорожденных с ВУИ свидетельствуют о целесообразности включения с целью заместительной иммунокорригирующей терапии препаратов рекомбинантного ИФН альфа-2b (ВИФЕРОН).

Оптимальная доза ВИФЕРОНА® для новорожденных детей с тяжелыми формами инфекционно-воспалительных заболеваний, установленная на основании определения наилучшего иммунокорригирующего и интерферонкорригирующего эффекта *in vitro* в крови новорожденных, составляет 100 000-150 000 МЕ на кг массы тела. Новорожденным, в том числе недоношенным детям с гестационным возрастом более 34 недель, назначают ВИФЕРОН® 150 000 МЕ ежедневно по 1 суппозиторию 2 раза в сутки через 12 часов. Курс лечения — 5 дней. Недоношенным новорожденным детям с гестационным возрастом менее 34 недель препарат назначается в той же разовой дозе, но уже 3 раза в сутки с интервалом 8 часов. Количество курсов зависит от тяжести заболевания, нозологической формы с учетом наличия отягощающих факторов и глубины иммунологических изменений

В дальнейших исследованиях И. И. Бочаровой, посвященных совершенствованию тактики ведения новорожденных, родившихся от матерей с урогенитальной инфекцией, был предложен дифференцированный алгоритм виферонотерапии новорожденных в зависимости от клинико-иммунологического варианта патологии и эффективности проводимой антенатальной иммунокоррекции:

- при положительном антенатальном прогнозе на внутриутробную инфекцию и наличии локальных инфекционных процессов без системной воспалительной реакции, морфологических изменений в ЦНС и внутренних органах, а также при лабораторно подтверждённом внутриутробном инфицировании новорожденных и детей с перенесенной гипоксией применяется ВИФЕРОН® по 150 000 МЕ 2 раза в день в течение 5 дней;
- при тяжелых формах внутриутробной инфекции на фоне интранатального инфицирования, а также детям со ЗВУР и внутриутробной гипотрофией назначают ВИФЕРОН® 150 000 МЕ 2 раза в день в течение 10 дней;
- при тяжелых формах внутриутробной инфекции на фоне позднего антенатального инфицирования назначается ВИФЕРОН® в

дозе 500 000 МЕ 2 раза в день в течение 5 дней, а далее ВИФЕРОН® по 150 000 МЕ 2 раза в день - 5 дней;

Здоровые новорожденные и дети с гипоксически-ишемическими поражениями ЦНС без внутриутробного инфицирования или после проведения эффективной антенатальной иммунокоррекции в назначении ВИФЕРОНА® не нуждаются.

Эффективность виферонотерапии у новорожденных различного гестационного возраста с осложнённым течением неонатального периода, инфицированных вирусами простого герпеса и цитомегаловируса, продемонстрирована в исследовании Е. Г. Гетия, проведенном под руководством проф. М. В. Дегтярёвой. Авторами получены данные, свидетельствующие о связи обнаружения прямых маркеров герпесвирусных инфекций в цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) и/или крови у детей с тяжёлым течением неонатальных инфекций с выраженным дисбалансом в системе цитокинов, наличие которого может явиться неблагоприятным фактором развития неврологической инвалидизации в раннем возрасте. У недоношенных новорожденных, имеющих прямые маркёры герпесвирусных инфекций в ЦСЖ, чаще манифестировались тяжёлые формы патологии как со стороны ЦНС (у 46% детей — ДЦП), так и со стороны других органов. Иммуномодулирующее действие препарата ВИФЕРОН® выражалось в разнонаправленном изменении уровней индуцированной продукции ИФН-α и ИФН-γ лейкоцитами недоношенных детей, имеющих маркеры активной ВПГ- и ЦМВ-инфекции в зависимости от величины исходного уровня эндогенных ИФНов. Установлено, что включение в состав комплексной терапии внутриутробных инфекций у недоношенных детей ВИФЕРОНА®, помимо противовирусного и иммуномодулирующего эффекта, статистически значимо снижало показатель летальности, частоту развития неврологической инвалидизации, а также бронхолегочной дисплазии и тяжелых форм ретинопатии недоношенных.

Практический интерес представляет анализ клинико-экономической эффективности применения препарата ВИФЕРОН® в комплексной терапии внутриутробных инфекций. В результате этого анализа было установлено, что включение ВИФЕРОНА® в комплексную терапию внутриутробных инфекций позволяет сократить затраты на лечение новорожденного ребенка в условиях стационара, а также суммарные затраты на госпитализацию новорожденного ребенка с внутриутробной инфекцией в целом на 25% на одного пациента, что позволяет расценивать данный вид лечения как затратно-сберегающую технологию, способствующую снижению показателя летальности и числа инвалидизирующих осложнений неонатального периода.

Таким образом, анализ фундаментальных исследований в области онтогенеза интерфероновой системы, а также многолетний опыт успешного применения препарата ВИФЕРОН® в комплексной терапии внутриутробных и неонатальных инфекций у новорожденных и недоношенных детей, демонстрирующий высокую клинико-лабораторную и фармакоэкономическую эффективность, позволяет рекомендовать данный вид иммунотерапии для широкого клинического применения в неонатологии.

Рекомендуемая литература

1. *Бочарова И. И., Кузьменко Л. Э., Аксенов А. Н., Башакин Н. Ф., Малиновская В. В., Сускова В. С., Абаева З. Р. Иммунокоррекция в неонатальном периоде // В кн. «Иммунокоррекция в педиатрии» // М., «Медицина для всех», 2001, с 174-194.*
2. *Бочарова И. И. Клинико-иммунологические варианты патологических состояний у новорожденных, родившихся у матерей с урогенитальной инфекцией (диагностика, прогнозирование, технология ведения) // Автореф. Дисс. д. м. н., Москва, 2008, 44 с.*
3. *Буданов П. В., Асланов А. Г. Вопросы практической педиатрии, 2006, том 1, 4: 16-17.*
4. *Васильев А. Н. Антибиотики и химиотерапия, 2010, том 55, 7-8: 20-25.*
5. *Васильев А. Н., Дерябин П. Г., Галегов Г. А. Цитокины и воспаление, 2011, том 10, 2: 32-37.*
6. *Володин Н. Н., Дегтярева М. В. Онтогенетические особенности иммунной системы плода и новорожденного // Материалы 3 съезда РАСПМ, Москва, 2000, с.59-60.*
7. *Гетия Е. Г., Солдатова И. Г., Панкратьева Л. Л., и др. Вопросы практической педиатрии, 2011, том 6, 4: 22-27.*
8. *Ершов Ф. И. Система интерферона в норме и при патологии // Москва, «Медицина», 1995, 240 с.*
9. *Кетлинский С. А., Симбирцев А. С. Цитокины // СПб.: Фолиант, 2008, с. 23-36.*
10. *Кешишян Е. С. и др. Применение генно-инженерного 2-интерферона — виферона в комплексной терапии тяжелых форм инфекционно-воспалительных заболеваний у новорожденных детей // Тезисы докладов Росс. нац. конгр. «Человек и лекарство». Москва, 1995, с. 162.*
11. *Кистенева Л. Б. Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2003, том 48, 5: 52-56.*
12. *Малиновская В. В. Возрастные особенности системы интерферона // В сборнике «Интерферону — 50 лет», Москва, 2007, с. 50-66.*
13. *Малиновская В. В. Российский вестник перинатологии и педиатрии, 1999, том 44, 3: 36-43.*
14. *Малиновская В. В. Особенности системы интерферона в онтогенезе // В кн. «Система интерферона в норме и при патологии» //Москва, «Медицина», 1996, с. 117-134.*
15. *Малиновская В. В., Деленян Н. В., Ариненко Р. Ю. Виферон: руководство для врачей // Москва, 2007, 87 с.*
16. *Малиновская В. В., Дмитриева Е. В., Паршина О. В., Гусева Т. С., и др. Иммунология, 2009, 6: 346-349.*
17. *Павлова М. В., Федорова Н. Е., Гаджиева З. С. Педиатрия, 2009, том 87, 2: 55-62.*

18. *Солдатова И. Г., Гетия Е. Г., Омельяновский В. В., и др. Педиатрия, 2011, том 90, 5:67-75.*
19. *Тареева Т. Г. Перинатальные аспекты смешанной урогенитальной инфекции (патогенез, прогнозирование, профилактика) // Автореф. дисс. д. м. н., Москва, 2000.*
20. *Тареева Т. Г., Антипова И. И., Малиновская В. В. и др. Русский журнал иммунологии, 2000, Том 5, 2: 193-202.*
21. *Экспериментально-клинические исследования применения рекомбинантного альфа-2В-интерферона (Виферона) // Руководство для врачей, под редакцией В. В. Малиновской, М. Г. Романцева / Москва, 1997, 75 с.*
22. *GriffitsP. D. Semin. Neonatol., 2002, Aug; 7/4: 293-9.*
23. *Kurt-Jones E. A. et all. J. of Inf. Dis., 2005, 191: 746-8.*
24. *Michaels MG. Expert Rev Anti Infect Ther. 2007, Vol. 5, 3: 41-48.*
25. *Malinovskaya V. Interferon 2b antivirus action modulation with the help of antioxidant action preparation. // International Conference on Interferons Biology and Clinical Applications. 1998, P. 77.*
26. *Medzhitov R., Preston-Hurburt P., Janeway C. A. Narute, 1997, Vol. 388: 394-7.*
27. *Revello M. G., Gerna G. Clin. Microbiol. Rev., 2002, 15/4: P. 680-715.*
28. *Van Amersfoort E. S., Van Berkel T. J., Kuiper J. Receptors, mediators, and mechanisms involved in bacterial sepsis and septic shock // Clin. Microbiol. Rev., 2003, 16: P. 379-414.*

ИММУННОЕ УЗНАВАНИЕ ВИРУСНЫХ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ ПРИВОДИТ К ИНДУКЦИИ ИНТЕРФЕРОНОВ И ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ

Т. М. Соколова

ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского» и ФГБУ «НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздравсоцразвития России, Москва

Узнавание вирусных нуклеиновых кислот и индукция синтеза интерферонов (ИФН) — главные составляющие врождённого иммунитета [1, 6, 11, 28, 57]. Идея первостепенной роли системы ИФН в защите от чужеродной генетической информации была высказана академиками В. М. Ждановым и Ф. И. Ершовым ещё в 1983 г. в публикации «Роль интерферона в гомеостазе» [4]. В дальнейшем идея получила развитие (проблемная статья: Ф. И. Ершов и В. М. Жданов «Интерферон и гомеостаз» [2]) в научных исследованиях в нашей стране и за рубежом. Предвидение ученых основывалось на многолетнем изучении закономерностей индукции ИФН вирусами и индукторами ИФН — разными видами двуспиральных РНК (**дсРНК**) [3, 5]. Антивирусная и иммуномодулирующая активности дсРНК-индукторов были тесно взаимосвязаны и проявлялись на очень ранних сроках инфекции, значительно опережая гуморальный ответ на вирусные антигены. Антивирусное действие дсРНК усиливалось их внутриклеточным проникновением и было вызвано активацией синтеза дсРНК-зависимых ферментов и фосфорилированием цитоплазматических и ядерных белков. Возникла концепция существования у дсРНК прямого механизма антивирусного действия [7, 8].

Первое сообщение о существовании в клетках человека Toll-like подобного рецептора (**TLR**), узнающего дсРНК, появилось в 1997 г. (Medzhitov et al.) [37]. Генетическая информация вирусов представлена разными формами РНК и ДНК (одно- и двуспиральные, длинные и более короткие, непрерывные и сегметированные молекулы). При внутриклеточной репликации дополнительно появляются репликативные формы, которые отличаются от клеточных матриц и становятся сигналом наличия вируса. После открытия группы рецепторов врожденного иммунитета, специфически узнающих разные формы вирусных нуклеиновых кислот, стало понятным, как эти сенсорные структуры клеток инициируют антивирусный и антибактериальный ответ [13, 28, 44, 56, 57].

Защита от инфекционных патогенов основывается на реакциях врожденного и адаптивного (индуцированного) иммунite-

та [15, 25, 38]. Врожденный иммунитет необходим для инициации иммунного ответа в периферических и лимфоидных тканях. Для этого патогены должны быть узнаны группой рецепторов, получивших название Pattern-Recognition Receptors (**PRRs**). Они взаимодействуют с набором разных молекулярных структур — Pathogen-Associated Molecular Patterns (**PAMPs**). Среди известных PAMPs вирусные РНК и ДНК занимают важное место, вызывая активацию сигнальных каскадов индукции генов провоспалительных цитокинов и ИФН 1 типа. Именно ИФН-α и ИФН-β играют главную роль в антивирусном ответе [47].

По сравнению с бактериями и грибами узнавание вирусов как внутриклеточных паразитов является для клетки трудной задачей. Вирусные компоненты имеют много общего с клеточными. Сегодня известно 5 видов семейства PRRs, узнающих вирусные нуклеиновые кислоты:

Таблица 1.

Узнавание чужеродных нуклеиновых кислот PRRs

PRRs	Вирусные нуклеиновые кислоты	Синтетические лиганды
TLRs TLR3 TLR7/8 TLR9	эндосомальные дсРНК осРНК CpG ДНК	 полиИЦ ORNs ODNs
RLRs RIG1 MDA5 LGP2	цитоплазматические 5'PPP-дсРНК короткие дсРНК длинные дсРНК	 РНК-транскрипты полиИЦ полиИЦ
DNA sensor DAI P200 (AIM2)	 дсДНК В-форма дсДНК	 поли (дА-дТ)
SR-As	внеклеточные дсРНК	полиИЦ

- эндосомальные Toll-like receptors (**TLRs**) [30,38];
- цитоплазматические рецепторы **RLRs** (RIG-1-like, продукты гена RIG-1, индуцируемого ретиноевой кислотой);
- семейство **NLRs** (NOD-like Receptor, nucleotide oligomerization). С рецептором NOD связывают индукцию апоптоза при гриппозной инфекции [21, 58].
- недавно открытые и пока малоизученные сенсоры дсДНК — **p200 семейство** белков Ifi202-204 (interferon inducible), Mndal и AIM2 (absent in melanoma) с активатором **DAI (**ДНК dependent activator IRFs);
- рецепторы внеклеточных дсРНК **SR-as,** обеспечивающие проникновение в клетку, взаимодействие с внутриклеточными сенсорами и в результате приводящие к синтезу ИФН I типа [18, 31, 39].

TLRs в иммунном ответе играют одну из ведущих ролей [37, 38]. Эти рецепторы объединены в семейство трансмембранных белков, экспрессируемых преимущественно в иммунных клетках (таких как макрофаги и ДК) [28]. Особенность их структуры — наличие лейцин-богатых повторов (leucine rich repeats, **LRR**), которые узнают патогены и содержат внутриклеточный сигнальный домен, известный как **Toll/IL-1-рецептор (TIR)**. Члены семейства TLRs, локализованные на клеточной поверхности (TLR1, 2, 4, 5 и 6) узнают компоненты клеток бактерий и грибов. **TLR3, 7, 8 и 9 узнают вирусные нуклеиновые кислоты в эндосомах** [16, 26, 49, 50, 54]**.** Для них характерен сигнал индукции группы воспалительных цитокинов с участием фактора NFkB, таких как интерлейкины 1 и 6 (IL1 и IL6) и фактор некроза опухоли TNF-α. TLRs имеют специфические адапторы для передачи сигналов (рис. 1).

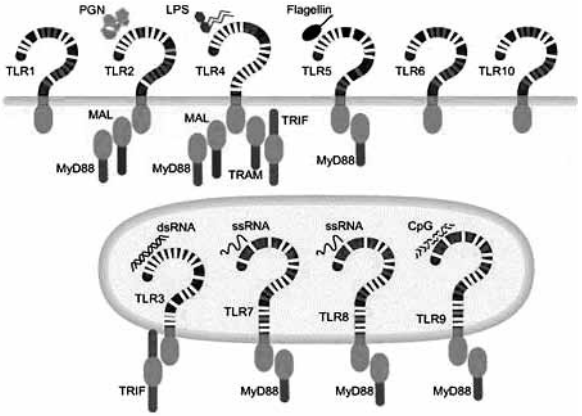


Рис. 1. Toll-like (TLRs) рецепторы и их внутриклеточные сигнальные адапторы на клеточной мембране и в эндосоме.

TLR3 узнаёт вирусные дсРНК: геномные, репликативные формы и транскрипционные интермедиаты (рис. 2, 4). Экспрессия TLR3 преимущественно наблюдается во внутриклеточных структурах дендритных клеток (ДК) и макрофагах, некоторые фибробласты также способны экспрессировать TLR3 на клеточной поверхности. Мыши, дефицитные по TLR3, дают сниженную продукцию ИФН I типа и воспалительных цитокинов в ответ на синтетическую дсРНК (полиИЦ) и геномную РНК реовируса [10]. В дальнейшем было показано, что TLR3 узнают и одно-

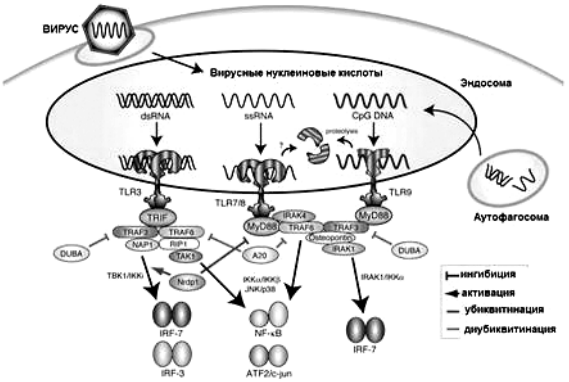


Рис.2. Сигнальные каскады узнавания вирусных нуклеиновых кислот в эндосоме с участием TLR3, TLR7/8 и TLR9.

спиральные РНК (осРНК) вирусов, таких как респираторно-синцитиальный (РС), Западного Нила, энцефаломиокардита (ЭМК), лесов Семлики, гриппа А. TLR3 играет защитную роль в инфекциях, вызванных ДНК-содержащими вирусами (цитомегаловирус и вирус герпеса). Данные о физиологическом значении TLR3 в антивирусном иммунитете противоречивы. Есть сообщения о связи TLR3 с патогенезом вирусных инфекций [42, 55]. Такие различные роли TLR3 свидетельствуют о сложности регуляции реакций врожденного и адаптивного иммунитета в заражённых вирусами клетках.

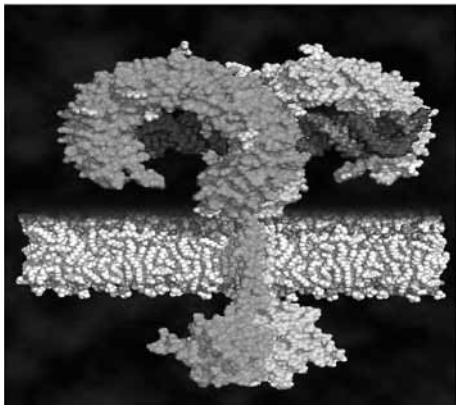


Рис. 3. Структурная модель узнавания TLR3 двуспиральной РНК на эндосомальной мембране.

Кристалическая структура TLR3 демонстрирует, как происходит такое взаимодействие [32] (рис. 3). дсРНК-лиганд узнается TLR3 через N-концевой эктодомен (ectodomain, **ECD**), который состоит из специфических лейцин-богатых повторов (leucine rich repeats, **LRRs**). Взаимодействие происходит между положительно заряженными поверхностями и сахаро-фосфатным остовом РНК и не зависит от последовательности дсРНК. Для стабильного комплекса размер дсРНК должен быть не менее 46 нп, но и более короткие дсРНК (малые ингибиторные — миРНК 21 нп) могут быть узнаны TLR3 [29]. В TLR3 найдены 2-ой связывающий сайт для дсРНК и последовательность для активации ИФН [43].

Адаптором для TLR3 является **TRIF** (известный как **TICAM** — TIR domen-containing adaptor molecule 1), передающий сигнал на ген ИФН-бета [41]. В передачу сигнала привлекаются **TRAF** (TNF-receptor associated factor), киназа **TAK** (transforming growth factor-alpha kinase), **RIP**-белок, взаимодействующий с рецептором. В результате активируются факторы **NFkB, IRF3 и IRF7**. Цепочка активируемых киназ приводит к фосфорилированию **IRF3** и **IRF7**. В этом процессе участвуют ферменты системы убиквитина. Так, факторы **TRAF3** и **TRAF7** являются Е3 убиквитин-лигазами [9]. Есть данные о дифференцированном влиянии процессов убиквитинизации на активацию факторов транскрипции IRFs и NFkB, в которых участвуют ферменты **A20** и **DUBA** (deubiquitinating enzyme).

TLR7/8, структурно гомологичные между собой, узнают вирусные **осРНК** (рис. 2). Сначала было показано взаимодействие

этих рецепторов с антивирусными соединениями R-837 и R-848 (имидазолкуналины). Затем обнаружено, что РНК вируса иммунодефицита человека (ВИЧ), содержащая участки богатые гуанином и уридином, и осРНК других вирусов (Сендай, Везикулярного стоматита, Коксаки и Денге) взаимодействуют с TLR7/8 [19]. В клетках человека TLR7 участвует в продукции ИФН-α, преимущественно экспрессируясь в плазматических ДК. TLR8 больше представлен в миелоидных ДК и моноцитах. Цитоплазматические вирусные РНК транспортируются в лизосомы аутофагией и узнаются TLR7/8. Адаптором служит **Myd88**, содержащий **TIR**-домен и домен смерти. Образуется цепочка передачи сигналов с киназами **IRAK 1/2/4, TRAF3/6** и **Остеопоэтином** [51]. Возможно участие в этой цепи и **PI(3)K** (фосфатидилинозитолкиназы).

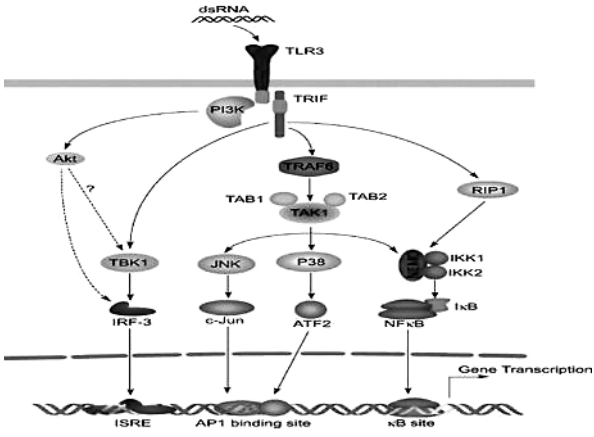


Рис. 4. Сигнальные пути передачи сигнала дсРНК-TLR3 на факторы транскрипции и регулируемые ими участки промотора гена ИФН I типа.

Рецептор **TLR9** преимущественно локализован в эндосомальных структурах плазматических ДК и в В-клетках, где узнаёт **CpG ДНК** (рис. 2). Сигнальный каскад завершается продукцией воспалительных цитокинов и ИФН-α. Сигнальный каскад TLR9 напоминает TLR7/8 путь. ДНК вирусов герпеса 1 и 2 типов, ЦМВ и аденовирусов являются лигандами [60]. Также с TLR9 взаимодействуют и синтетические олигодезоксинуклеотиды (**ODN**). Выраженность индукции воспалительных цитокинов или ИФН-α зависит от особенностей структуры ДНК. **А/Д тип ДНК** преимущественно активирует **MYD88** и **IRF7,** путь и синтез **ИФН-α.** Поэтому были созданы несколько видов ODN с разной специфической направленностью для применения в терапевтических целях (инфекционные болезни и рак). Взаимодействие рецептора TLR9 с ODN сопровождается протеолитическим расщеплением с освобождением **TIR** домена.

RIG-1 подобные рецепторы (RLR) — это РНК-хеликазы. Они являются сенсорами вирусных РНК в цитоплазме зараженных клеток. **RLR** гены найдены только в геномах высших позвоночных и являются рецепторами типа 1. У млекопитающих извест-

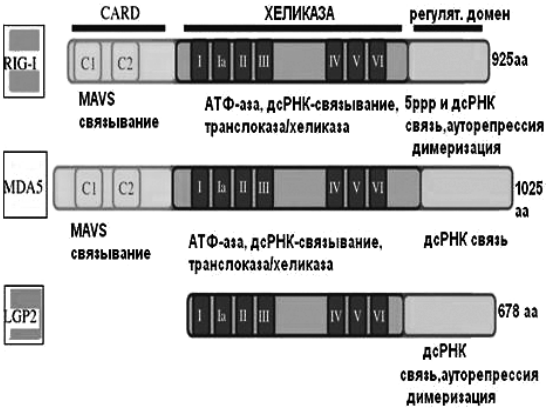


Рис. 5. Функциональные домены цитоплазматических рецепторов RLRs вирусных дсРНК и осРНК.

ны три вида **RLR** [13, 58]:

- **RIG-1 (retinoic acid inducible gene-1)**,
- **MDA-5 (melanoma differentiation associated gene 5),**
- **LGP-2 (laboratory of genetics and physiology 2)**.

Все они содержат хеликазный домен и проявляют АТФазную активность (рис. 5). Хеликазные домены **RLR** и фермента **Dicer (РНКаза III)** имеют гомологию. Поскольку Dicer — один из основанных эффекторов механизма РНК-интерференции (РНК-и) у позвоночных, наличие подобного домена предполагает возможную эволюционную связь между РНК-и и RLR системами врождённого иммунитета в отношении определения чужеродных РНК. В N-концевой части рецепторов RIG-1 и MDA-5 локализованы два каспазных домена **CARD** (caspase recruitment domain). В рецепторе LGP2 каспазных доменов нет. Другим функциональным доменом RLRs является С-концевой домен **CTD** (C-terminal domen), также названный репрессорным доменом **RD**. В отсутствии вирусной инфекции RD выключает активность RIG. Все рецепторы **RLRs** — ИФН-стимулированные гены (**ISG**), и для них характерна обратимая регуляция сигнальной активности.

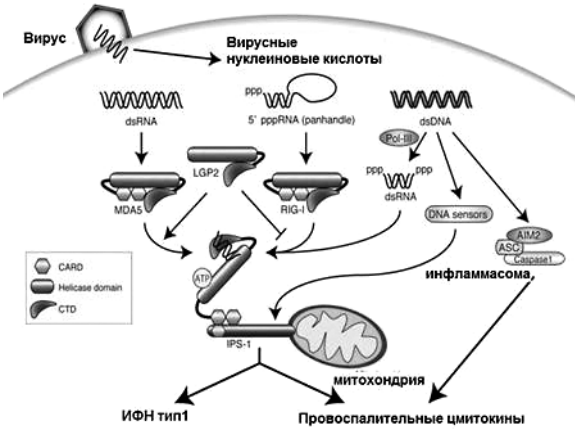


Рис. 6. Сигнальные пути с цитоплазматических рецепторов RLRs на митохоодриальные активаторы генов ИФН I типа и провоспалительных цитокинов.

Передача сигналов **RLRs** происходит с участием стимулятора промотора ИФН-β **IPS** (interferon promoter stimulator), также известного как митохондриальный сигнальный адаптор **MAVS** или вирусиндуцированные **VISA** и **CARDif** (CARD адаптор, индуцирующий ИФН-β) (рис. 6). **RIG определяет вирусные РНК или трансфецированные**

дсРНК, индуцируя синтез ИФН I типа с участием АТФ [27, 40, 47]. У мышей с делетированным геном **RIG** показано снижение вирусиндуцированной экспрессии генов ИФН. Дефицит по RIG нарушает ответ на вирусы с осРНК (парамиксовирусы, флавирусы, ортомиксовирусы, рабдовирусы) [24]. В узнавании участвует 5′-концевой трифосфат (5-ТФ) вирусных РНК. **RIG-**рецептор не используется у вирусов с защищенным 5-ТФ (пикорнавирусы) или имеющих механизм его удаления (хантавирусы, буньявирусы — Крымская геморрагическая лихорадка и борнавирусы), [22]. Малые РНК**,** образуемые при деградации ОАС/РНКазой клеточных РНК, также могут инициировать продукцию ИФН без вирусной инфекции [35]. Для обнаружения РНК вируса гепатита С (HCV) имеют значение полиУ и полиА мотивы [46]. Короткие дсРНК длиной менее 1000 нуклеотидов также могут быть лигандами RIG1. Недавние исследования указывают на важность **panhandle** структур, образующихся при спаривании 5′ и 3′-концов [52]. ДсРНК, образующиеся при репликации ДНК-вирусов, также узнаются RIG-1. Образование **RIG/IPS** комплекса на митохондрии инициирует передачу сигналов. В процесс включены факторы **TRAF3/6** (TNF-receptor associated factors), **каспазы 8/10**, **RIP1** (receptor interaction protein 1), **FADD** (Fas associated domen death), **TRADD** (TNF-receptor domain death). После активации киназ и фосфорилирования ими факторов **IRF3** и **NFkB** происходит индукция генов ИФН I типа и воспалительных цитокинов. Процесс регулируется позитивными и негативными регуляторами **MITA** (mediator of IRF3 activation) и убиквитиновыми лигазами Е3 (**DUBA и REUL**).

MDA-5 участвует в определении РНК пикорнавирусов (вирусы ЭМК, Менго, Тейлор), коронавирусов и длинных сегментов дсРНК реовируса [33]. РНК флавивирусов и длинные комплексы полиИЦ также узнаются **MDA-5,** т.е. у этого рецептора имеется зависимость от длины дсРНК. Механизм взаимодействия РНК с MDA-5 пока не известен. Сила связи **MDA-5** с дсРНК слабая и, повидимому, для образования комплекса необходимы адапторные белки. С полиморфизмом гена MDA-5 ассоциируют заболевания диабетом 1 типа и аутоиммунные расстройства. Для выяснения роли MDA5 в адаптивном иммунитете требуются дополнительные исследования.

LGP2-рецептор скорее является конкурентом RIG1, т.к. обладает высоким аффинитетом к дсРНК, но при инфекции вирусом ЭМК он позитивно регулировал антивирусный ответ, вероятно дополняя узнавание вирусных РНК рецептором MDA-5.

NOD-подобные рецепторы (nucleotide oligomerization domen, **NLR)** больше связаны с цитоплазматическим выявлением PAMP бактериального происхождения [1]. Однако совсем недавно установлено, что при вирусной инфекции **NOD2** способствует активации **MAVS,** взаимодействуя с митохондриальным сигнальным комплексом, участвующим в регуляции продукции ИФН I типа. Дополнительно рецептор стимулирует дсРНК-связывающий белок - олигоаденилатсинтетазу (ОАС), что приводит к образованию олигоаденилатов и активации ИФН-зависимой РНК-азы L [21]. При этом продукты деградации вирусных РНК действуют как агонисты рецепторов RLR. Пока не получены данные о непосредственном взаимодействии NOD2 с вирусными РНК.

Сенсоры цитоплазматических дсДНК – белки семейства p200, кодируются генами (**AIM2, IFI16, IFIX, MNDA**) [17,25]. В их структуре консервативные повторы 200 аминокислот, которые взаимодействуют с олигонуклеотидами ДНК. Пуриной домен (PYD) ассоциирован с апоптозным адаптором **ASC** (apoptosis-associated speck-like protein containing CARD). Приоритет имеют **B-формы ДНК,** содержащие участки, богатые АТ-парами нуклеотидов. Сигнальный процесс в основном идет по пути митоходриальной инфламмасомы с участием каспазы 1 и регулируется **MITA** и **DAI** (DNA-dependent activator of IRFs). Последний взаимодействует с киназой TBK1 и ИФН-регулирующим фактором транскрипции **IRF3.** Для активации **NFkB** дополнительно требуются **RIP1** и **RIP2**. Возможно взаимодействие p200 с синтетическими комплексами поли(дА)поли(дТ) и ДНК вирусов герпеса и аденовируса. Механизм ДНК-индуцированного иммунитета в настоящее время изучается на модели ДНК вируса оспавакцины.

Внеклеточные сенсоры РНК – Scavenger рецепторы класса A (SR-as). Репликация многих вирусов сопровождается лизисом клеток и освобождением во внеклеточное пространство как зрелых вирионов, так и медиаторов синтеза — дсРНК, которые устойчивы во внешней среде. Эти внеклеточные формы дсРНК становятся индукторами синтеза ИФН I типа (доказательства получены в системах ин витро и ин виво) [18, 31, 39]. Основная роль **SR-as охранников** — облегчить проникновения дсРНК внутрь соседних клеток и доставить их к эндосомальным и цитоплазматическим сенсорам (TLR3, RIG-1, MDA-5).

Заключение. Индукция синтеза ИФНов и воспалительных цитокинов является важной составляющей защитной реакции от чужеродной генетической информации, которая в случае вирусной инфекции представлена разными формами вирусных

РНК и ДНК. На первом этапе встречи с патогенами клетка имеет ряд эффективных рецепторов распознавания. Главный вопрос — как **PRRs** различают «свои» и «чужие» нуклеиновые кислоты? Сегодня ответ на него далеко не полный. Предстоит более детальное выяснение отличий в структуре вирусных и клеточных РНК. Существуют два основных пути передачи вирусного сигнала с **TLRs** (TRIF-зависимый и MyD88-зависимый). Для **RLRs** характерно прямое взаимодействие с митохондриальным активатором гена ИФН-β (IPS-I или MAVS). У каждого вида рецепторов имеется свой сигнальный каскад, который замыкается на ряд универсальных факторов транскрипции, регулирующих активность генов ИФН I типа и воспалительных цитокинов. Основные транскрипционные факторы, принимающие участие в активации TLR3 при действии дсРНК:

- ИФН-регулирующие **IRFs 3, 5, 7 (**interferon regulation factors);
- **ATF2/c-Jun,** регулируется MAP-киназами (JNK и p38);
- **NFkB** универсальный регулятор большой группы генов (рис. 4).

Фактор NFkB является основным активатором экспрессии воспалительных цитокинов IL-1β и TNF-α и дополнительным для гена ИФН-β. Из 9 видов известных IRFs в активации генов **ИФН-α** основными являются **IRF5 и IRF7**. Все эти факторы связываются со специфическими мотивами в промоторах генов **ИФН I типа**, названными **PRD** (positive regulatory domen). В результате формируется усилитель транскрипции (**энхенсор**).

Из индуцируемых цитокинов только ИФН обладают выраженной антивирусной активностью. ИФН секретируются иммунными клетками, регулируют адаптивный иммунитет, индуцируя созревание ДК, активацию естественных киллеров (NK-клетки) и дифференциацию цитотоксических Т-лимфоцитов [25]. Поэтому ИФНы I типа важны для регуляции антивирусного иммунного ответа в целом [53]. Поиск агонистов рецепторов нуклеиновых кислот представляет новое важное направление в иммунотерапии [6, 34]. Прежде всего, это неинфекционные синтетические и природные аналоги дсРНК, которые могут быть доставлены внутриклеточно. Такие препараты уже используются как индукторы ИФН (Ридостин, Ларифан), и их комбинация с другими антивирусными химиопрепаратами может давать аддитивный эффект.

Рекомендуемая литература

1. *Друцкая М. С., Белоусов П. В., Недоспасов С. А. Молекулярная биология. 2011. Т.45(1): 7-19.*
2. *Ершов Ф. И., Жданов В. М. Интерферон и гомеостаз. Вестник АМН СССР. 1985. 7: 35-40.*
3. *Ершов Ф. И., Новохатский А. С. Интерферон и его индукторы. М. «Медицина», 1980, 180 с.*
4. *Жданов В. М., Ершов Ф. И. Роль интерферона в гомеостазе. Вопросы вирусологии. 1983. 6: 757-761.*
5. *Индукторы интерферона / Под ред. В. М. Жданова и Ф. И. Ершова / М., 1982, 185 с.*
6. *Козлов И. Г. Вестник РАМН. 2011. 1: 42-50*
7. *Соколова Т. М. Дисс. д. б. н. (в форме науч. доклада), 1991.*
8. *Соколова Т. М. Интерфероны, dcРНК и вирусы (история изучения и эволюция взглядов). В кн. «Интерферону-50», М. 2007, 81-92.*
9. *Adhikari A., Xu M., Chen Z. J. Oncogene. 2007. Vol. 26. 3214-3226.*
10. *Alexopoulou L., Holt A. C., Medzhitov R., Flavell R. A. Nature. 2001. Vol. 413. 732-738.*
11. *Baum A., Garcia-Sastre A. Amino acids. 2010. Vol. 38.1283-1299.*
12. *Baum A., Sachidanandam R., Garcia-Sastre A. PNAS. 2010. Vol. 107(37): 16303-16308.*
13. *Baum A., Garcia-Sastre A. Virulence. 2011. Vol. 2(2): 166-169.*
14. *Bo Jin, Tao Sun, Xiao-Hong Yu et al. J. of Biomed a. Biotechnol. 2010. ID690438 -17 c.*
15. *Boo K-H, Yang J-S. Yonsey Med. J. 2010. Vol. 51(1): 9-17.*
16. *Botos I., Liu L., Wang Y. et al. Biochim. Biophys. Acta. 2009. Vol. 178(9-10): 667-674.*
17. *Choubey D., Duan X., Dickerson E. et al. J. of Interferon&Cytokine Res. 2010. Vol. 30(6): 371-380.*
18. *DeWitte-Orr S. J., Collins S. E., Bauer C. M. T. et al. PLOS pathogens. 2010. Vol. 6(3): 1-15.*
19. *Diebold S. S. Adv/ drug Deliv. Rev. 2008. Vol. 60. 813-823.*
20. *Donnelly R. P., Kotenko S. V. J. Interferon&Cytokine Res. 2010. Vol. 30(8): 555-564.*
21. *Dugan J. W., Albor A., David L. et al. Mol. Immunol. 2009. Vol. 47. 560 — 567.*
22. *Habjan M., Andersson I., Klingstrom J. et al. PLos ONE. 2008. Vol. 3. 2032.*
23. *Hornung V., Ablasser A., Charrel-Dennis M. et al. Nature. 2009. Vol. 458(7237): 514-518.*
24. *Ikegame S., Takeda M., Ohno S. et al. J. of Virology. 2010. Vol. 84(1): 372-379.*
25. *Iwasaki A., Medzhitov R. Science. 2010. Vol. 327. 291-295.*
26. *Jelinek I., Leonard J. N., Price G. E. et al. J. Immunol. 2011. Vol. 186(4): 2422-2429.*
27. *Kato H., Sato S., Yoneyama M. et al. Immunity. 2005. Vol. 23. 19-28.*
28. *Kawai T., Akira S. Nat. Immunol. 2010. Vol. 11. 373-384.*
29. *Kleinman M. E., Yamada K., Takeda A. et al. Nature. 2008. Vol. 452. 591-597.*
30. *Khoo J. J., Forster S., Mansell A. J. interferon&Cytokine Res. 2011. Vol. 31(1): 13-25.*
31. *Lammon J. V., Arredouani M., McCann K. I. et al. FASEB J. 2008. Vol. 22. 159-167.*
32. *Liu L., Botos I., Wang Y. et al. Science. 2008. Vol. 320. 379-381.*
33. *Loo Y. M., Fornek J., Crochet N. et al. J. Virol. 2008. Vol. 82. 335-345.*
34. *Makkouk A., Abdelnoor A. M. Immunopharmacol.&Immunotoxicol. 2009. Vol. 31(3): 331-338.*
35. *Malathi K., Dong B., Gale M., Silverman R. H. Nature. 2007. Vol. 448. 816-819.*
36. *Matsumoto M., Funami K., Oshiumi H, Seya T. Microbiol. Immunol. 2004. Vol. 48 (3): 147-154.*
37. *Medzhitov R., Preston-Hurlbert P., Janeway C. A. Nature. 1997. Vol. 388. 394-397.*

38. *Medzhitov R. Nat. Immunol. 2001. Vol. 1. 136-144.*
39. *Murphy J. E., Tedhury PR, Hommer-Vanniasinkarn S et al. Atherosclerosis. 2005. Vol. 182. 1-15.*
40. *Myskiw C., Arsenio J., Booy E. P. et al. Virology. 2011.*
41. *Oshiumi H., Matsumoto M., Funami K. et al. Nat. Immunol. 2003. Vol. 4. 161-167.*
42. *Ospet C., Gay S. The international J. Biochem&Cell Biol. 2010. Vol. 42(4): 495-505.*
43. *Piher N., Ivasak K., Pohar J. et al. Nat. Struct. Mol. Biol. 2008. Vol. 15. 761-763.*
44. *Rakoff-Nahoum S., Medzhitov R. Biochemistry (Moscow). 2008. Vol. 73(5): 555-561.*
45. *Rehwinkel J., Tan C. P., Goubau D. et al. Cell. 2010. Vol. 140. 397-408.*
46. *Saito T., Gale M. Virusu. 2008. Vol. 58(2): 105-116.*
47. *Samuel C. E. Clin Microbiol. Rev. 2001. Vol. 14. 778-809.*
48. *Sandler A. J., Williams B. R. Nat. Rev. Immunol. 2008. Vol. 8. 559-568.*
49. *Sen G., Sarkar S. N. Cytokines&Growth factor Rev. 2005. Vol. 16 (1): 1-14.*
50. *Seys M. M. Adv. Drug Deliv. Rev. 2008. Vol. 60(7): 805-812.*
51. *Shinohara M. L., Lu L., Bu J. et al. Nat. Immunol. 2006. Vol. 7. 498-506.*
52. *Schlee M., Roth A., Hornung V. et al. Immunity. 2009. Vol. 31. 25-34.*
53. *Stetson D. B., Medzhitov R. Immunity. 2006. Vol. 25. 373-381.*
54. *Vercammen E., Staal J., Beyaert R. Clin. Micribiol. Rev. 2008. Vol. 21(1): 13-25.*
55. *Wang T., Town T., Alexopoulou L. et al. Nat. Med. 2004. Vol. 10. 1366-1373.*
56. *Xarogan A., Chlichlia K. The Open Microbiology J. 2008. Vol. 2. 49-59.*
57. *Yoneyama M., Fujita T. Rev. Med. Virol. 2010. Vol. 20. 4-22.*
58. *Yoneyama M., Fujita T. Immunol. Rev. 2009. Vol. 227. 54-65.*
59. *Zhang D., Zhang D.-Er J. of Interferon a. Cytokine Res. 2011. Vol. 31(1): P.119-130.*
60. *Zhu J., Huang X., Yang Y. J. Virol. 2007. Vol. 81. 3170-3180.*

ИНТЕРФЕРОНЫ ЛЯМБДА (3-й ТИП ИНТЕРФЕРОНОВ) И ВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИИ

С. С. Григорян

ФГБУ «НИИЭМ им. Н. Ф. ГАМАЛЕИ» Минздравсоцразвития России, Москва

Интерфероны лямбда (ИФНы-λ) — семейство 3-х различных, но тесно связанных друг с другом цитокинов — ИФН-λ1, ИФН-λ2 и ИФН-λ3, которые известны также как интерлейкин 29 (ИЛ-29), ИЛ-28А и ИЛ-28В соответственно, открыты в 2003 году двумя независимыми группами ученых под руководством Kotenko S. V. and Gallagher G. B. и Sheppard G. et al. и отнесены к ИФН 3 типа. Филогенетически гены ИФН-λ находятся между генами семейства ИФН 1 типа и ИЛ-10, причем ИФНы-λ1, -λ2 и -λ3 человека кодируются 3-мя различными генами, расположенными в 19 хромосоме, в отличие от генов семейства ИФН 1 типа, расположенных в 9 хромосоме. Геномная структура ИФНов-λ имеет большее сходство с таковой членов семейства ИЛ-10, однако, на аминокислотном уровне и функционально ИФНы-λ более связаны с ИФН 1 типа, при этом аминокислотная последовательность ИФН-λ3 имеет 96% гомологию с ИФН-λ2 и 81% гомологию с ИФН-λ1. В целом, ИФНы -λ являются эволюционно связующим звеном между ИЛ-10 и ИФНами 1 типа. Все ИФНы 3 типа так же, как ИФН 1 типа, обладают антивирусной, иммуномодулирующей и противоопухолевой активностью.

Индукция и экспрессия интерферонов 3-го типа

В отличие от ИФН 1 типа, которые в той или иной степени продуцируются всеми ядерными клетками, ИФНы-λ при инфицировании различными вирусами *in vitro* и *in vivo* индуцируются ограниченным типом клеток. Экспрессия ИФНов 3 типа определяется в крови человека, легких, поджелудочной железе, слизистых, плаценте, яичниках, простате и тестикулярной ткани. Подобно ИФН 1типа ИФН 3 типа могут быть индуцированы *in vitro* двуспиральной РНК или при инфицировании вирусами EMC, Синдбис, Денге 2, VSV, кори, CMV, гриппа А и Сендай. Респираторно-синтициальный вирус (РСВ) индуцирует экспрессию ИФН-λ в моноцитарно-макрофагальных клетках и дендритных клетках (DC) здоровых волонтеров, но в альвеолярных макрофагах и бронхо-эпителиальных клетках больных астмой при РСВ инфекции определяется дефицит продукции ИФН-λ.

Хотя фактически при вирусных инфекциях ряд клеток может экспрессировать ИФН-λ, основными продуцентами ИФН-λ

in vivo являются PBMC и дендритные клетки. При стимуляции агонистами Toll-like рецепторов (TLR), такими как ЛПС или поли(И) поли(Ц), антигенпредставляющие клетки (APC) — DC и макрофаги продуцируют относительно небольшой уровень ИФН-λ, тогда как плазмоцитарные дендритные клетки (pDC) при вирусных инфекциях экспрессируют высокий уровень ИФН-λ. Кроме того, ИФН-α оказывает позитивный регуляторный эффект на экспрессию ИФН-λ. Экспрессия иРНК ИФН-λ в вирусинфицированных клетках стимулируется ИФНом-α и ИФНом-β. Предобработка ИФНом-α повышает продукцию ИФН-λ макрофагами, стимулированными агонистами TLR3 и TLR4 и значительно повышает поли(И)поли(Ц) индуцированную активацию генов ИФН-β и ИФН-λ. Эти результаты оправдывают гипотезу общего механизма регуляции продукции ИФНов 1-го и 3-го типов.

Ген ИФН-λ1 регулируется вирус-активированным IFR3 и IFR7 и имеет сходство с регуляцией гена ИФН-β, в то время как экспрессия генов ИФН-λ2 /λ3 в большей степени контролируется IRF7 и потому имеет сходство с генами ИФН-α. Однако экспрессия ИФН-λ носит тканезависимый характер: в тканях ЦНС, например, при инфицировании вирусами даже в условиях высокой экспрессии ИФН-α/β практически не индуцируется ИФН-λ, в то же время иРНК ИФН-λ быстро экспрессируется в клетках печени после инфицирования вирусом гепатита мышей, а образцы биопсии печени человека при инфицировании HCV продуцируют ИФН-λ.

Рецептор ИФН 3 типа, который был идентифицирован и охарактеризован в 2003 году, состоит из рецептора ИФН-λR1 (также называемого IL 28Rα), специфичного для ИФНов-λ, и дополнительного рецепторного звена IL-10R2, который также является частью рецепторов для ИЛ-10, ИЛ-22 и ИЛ-26. Однако если рецепторы ИФН 1 типа экспрессированы практически на всех типах клеток, экспрессия рецептора ИФН-λR1 определяется в более узком спектре клеток, ограничивая ответ на ИФН 3 типа преимущественно эпителиальными тканями. В то же время в гепатоцитах из образцов биопсии определяется высокий уровень экспрессии IL-28Rα, но на фибробластах, эндотелиальных клетках или первичных клетках ЦНС этот рецептор не обнаружен. Ограниченный профиль экспрессии рецептора ИФН-λR1 в клетках организма должен, вероятно, сократить число побочных эффектов, характерных для ИФН 1 типа, при применении ИФН 3 типа.

Иммунные клетки в целом являются важной мишенью ИФНов, но не все они экспрессируют рецептор ИФН-λ. В-лимфоциты, например, имеют высокий уровень экспрессии рецептора ИФН-λ, моноциты — минимальный, а данные по Т-лимфоцитам расходятся.

Все интерфероны активируют STAT зависимые и STAT не-

зависимые сигнальные пути. После связывания с рецептором STATs фосфорилируются, формируют гомо- или гетеродимеры и траслоцируются в ядро клеток, где, связываясь со специфическими секвестрами, активируют соответствующие гены-мишени. И хотя ИФНы 1-го и 3-го типов действуют через различные рецепторные системы, они активируют одни и те же сигнальные пути и индуцируют общие ISGs, которые в конечном счете и опосредуют все биологические эффекты ИФНов. Однако кинетика активации STAT ИФН-α и ИФН-λ и потенциал индуцированных ими генов отличаются: эффекторные функции генов ИФНα нарастают и снижаются быстро, пикообразно, генов ИФН-λ — нарастают постепенно и устойчиво.

Антивирусные эффекты интерферонов 3-го типа

Антивирусная активность ИФНов 3-го типа продемонстрирована *in vitro* в различных культурах клеток в отношении ряда вирусов: EMC, VSV, гриппа A, HSV1, CMV, HBV, HCV и HTNV, а также *in vivo* при заражении мышей вирусом HSV2 и вирусом вакцины. Все эти исследования подтверждают зависимость протективного противовирусного действия ИФНов-λ не только от модели вирусной инфекции, но и, что особенно важно, от типа клеток. Так, Dellinger et al., получив все 3 субтипа человеческого ИФН-λ, показали, что ИФН-λ3 оказывает наиболее сильно выраженное антивирусное действие на репликацию вируса EMC в культуре HepG2, которое в 2 раза превышает действие ИФН-λ1 и в 16 раз — действие ИФН-λ2 , а в культуре клеток MDBK ИФН-λ3 не оказывает противовирусное действие на вирус VSV даже в дозе 400 ng/ml. Вместе с тем в культуре эпителиальных клеток WISH протективная способность ИФН-λ1 и ИФН-λ2 против вируса VSV аналогична таковой у ИФН-α2b. В целом ИФНы-λ проявляют менее выраженное, чем ИФН 1 типа, противовирусное действие и индуцируют антивирусную активность в немногих, избранных, линиях клеток. Индукция, продукция и действие ИФН-λ в отличие от ИФН-α носит избирательный ткане- и органоспецифичный характер. Для получения сравнимого с ИФН 1 типа антивирусного ответа необходимы относительно высокие концентрации ИФН-λ1 и особенно ИФН-λ2, т.е. ИФНы-λ1 и λ2 действуют как «слабый» ИФН 1 типа.

Противовирусное действие на вирус гриппа А

В человеческих миелоидных дендритных клетках ИФН-λ1 индуцирует экспрессию противовирусного MxA белка и проявляет противовирусную активность относительно вируса гриппа А, хотя эта активность менее выражена, чем таковая ИФН-α

или ИФН-β. Интраназальное (и/н) введение ИФН-λ вызывает быструю индукцию белка MxA в легких мышей и эффективно защищает IFNR1 дефицитных мышей от летальной гриппозной инфекции. В то же время внутрибрюшинное введение ИФН-λ не индуцирует MxA в печени IFNR1 дефицитных мышей и не защищает их от гепатотропной вирусной инфекции. Мыши, у которых отсутствуют функционирующие IFN-λR рецепторы только незначительно, более чувствительны к вирусу гриппа, чем дикий тип мышей, но мыши, у которых отсутствуют рецепторы ИФН-α/β и ИФН-λ1, гиперчувствительны даже к непатогенному мутанту вируса гриппа, у которого отсутствует антагонист ИФН-фактор NS1. Эти результаты свидетельствуют о том, что ИФН-λ способствует врожденной резистентности легких к респираторным вирусным инфекциям. Более того, показано, что количество ИФН 3-го типа — ИФН-λ в легких и/н инфицированных вирусом гриппа А (H3N2 или сезонным H1N1) мышей преобладает над таковым ИФН 1 типа не только у обычных, но и у нокаутных по рецептору ИФН 1 типа — $IFNAR^{-/-}$ мышей, что свидетельствует о ключевой роли ИФНов-λ, в частности ИФН-λ3/λ2, которые могут служить альтернативным механизмом защиты мышей при гриппозной инфекции, а также о существовании независимых от рецептора ИФН-α/β сигнальных путей. Наряду с этим обработка ИФНом-α и поли(И)поли(Ц) вызывает экспрессию ИФН-λ2 и его продукцию макрофагами и альвеолярными эпителиальными клетками легочной ткани. Кроме того, при размножении в DC клетках обнаружена большая чувствительность пандемичного вируса гриппа А H1N1 2009 года к антивирусному действию ИФН-λ3, чем сезонных H1N1 и H3N2 вирусов гриппа А.

Противовирусное действие при герпетической инфекции

ИФНы-λ и -α обладают сравнимой противовирусной активностью на вирус герпеса 1 типа (HSV-1), а их применение вместе увеличивает антивирусный ответ на HSV. В антивирусном иммунном ответе человека TLR7-, TLR8- и TLR9- зависимая индукция ИФН-λ и ИФН-α/β является в значительной степени избыточной, в то время как при первичной HSV инфекции ЦНС детей решающей является TLR3 зависимая индукция ИФН-λ и α/β, но она же избыточна в иммунитете большинства других вирусных инфекций. Более того, HSV-1 инфекция является нейротропной инфекцией, которая способна инфицировать не только нейроны, но также микроглию и астроциты, и устанавливать латентную инфекцию в ЦНС. При обработке ИФНом-λ первичной человеческой культуры астроцитов и нейронов репликация HSV-1 вследствие низкой экспрессии ДНК и белков HSV-1 значительно

подавлена как в астроцитах, так и в нейронах. Но эксперименты *in vivo* показали, что ИФНы 3 типа являются важными медиаторами антивирусного ответа в эпителиальных/слизистых тканях. На модели вагинальной HSV-2 инфекции ИФНы-λ индуцируют выраженную противовирусную активность. Предобработка ИФНом-λ при HSV-2 инфекции *in vivo* повышает экспрессию ИФН-γ. Кроме того, антивирусная активность ИФН-λ на модели вагинальной HSV-2 инфекции превосходит таковую ИФН-α, хотя при тестировании *in vitro* обнаруживает ограниченную активность против HSV-2. Такое расхождение антивирусной активности ИФН-λ *in vivo* и *in vitro* указывает, что большую часть своего противовирусного действия *in vivo* ИФН-λ скорее реализует через стимуляцию иммунной системы, чем через индукцию медиаторов антивирусного состояния. Обработка эпителиальных линий клеток *in vitro* ИФНами-λ после инфицирования цитомегаловирусом (ЦМВ) также снижает количество клеток позитивных по экспрессии гена этого вируса. Наоборот, экспрессия мышиных ИФНов-λ2 и λ3 вирусом вакцины (VV) не влияет на репликацию VV в мышиных клетках, экспрессирующих IFN-λ R, указывая, что ИФНы-λ не обладают антивирусным действием на VV *in vitro*. Однако на мышиной кожной модели, где контрольный вирус вызывает локализованную инфекцию, ИФНы-λ2/λ3 демонстрируют выраженную антивирусную активность и задерживают формирование мелких поражений кожи, указывая, что 3-ий тип ИФН биологически важен и необходим в защите от поксвирусной инфекции. Полагают, что кодируемый VV белок B18, антагонист ИФН, не способен в условиях *in vivo* действовать на сигнальные пути и биологическую активность ИФНов 3 типа, а потому они могут быть более эффективны и в лечении других поксвирусных инфекций.

Действие ИФН 3 типа на вирусы гепатита B и C

В различных сообщениях показано, что ИФНы-λ проявляют ингибирующее действие на репликацию вирусов гепатита B (HBV) и гепатита C (HCV). При обработке высокими дозами ИФН-λ репликация HBV в клетках гепатомы человека снижается на 30%. На гепатоцитах нормальной печени преобладает экспрессия гена рецептора ИФН-λ (IFN-λR), и потому в этих клетках ИФНы-λ1 и -α индуцируют эквивалентный уровень экспрессии генов 2′-5′ OAS и MxA. В различных линиях клеток мышиных гепатоцитов ИФНы-λ с такой же кинетикой и эффективностью, как и ИФН-α/β, также подавляют репликацию HBV, и активность эта не нуждается в экспрессии ИФН-α/β или ИФН-γ. Значительно снижая вирусную нагрузку HBV, ИФН-λ *in vitro* пода-

вляет также цитопатический эффект реплицирующегося вируса Западного Нила. Кроме того, ИФНы-λ блокируют репликацию субгеномной и геномной HCV в репликон-культуре гепатоцитов человека Huh 7. Показано, что ИФН-λ2 эффективно ингибирует репликацию РНК вируса гепатита С и в клетках гепатомы человека, где, активируя антивирусные сигнальные пути JAK – STAT, индуцирует экспрессию генов ISG и антигенов HLA 1 класса. Но существует различие между антивирусным состоянием, индуцированным ИФН-λ и ИФН-α: ИФН-λ опосредует зависимую от дозы и времени ингибицию HCV, независимую от рецепторов ИФНов 1 и 2 типа. Кинетика активации STAT и индукции потенциально эффективного гена, опосредованная ИФНом-λ, также отличается от таковых ИФН-α. ИФН-λ индуцирует постепенное устойчивое увеличение уровня ISG, в то время как ИФН-α вызывает ранний пик ISG и быстрое его падение. Кроме того, из-за ограниченной экспрессии рецепторов, ИФН-λ подавляет репликацию различных генотипов HCV с гораздо меньшими гематопоэтическими побочными эффектами, чем ИФН-α.

Особый интерес представляют исследования самых последних лет (2009 – 2011 гг.) с использованием генетических технологий, открывшие связанный с SNPs (single nucleotide polymorphisms) полиморфизм гена ИФН-λ3 на популяционном уровне, который рассматривается как доминантный фактор организма хозяина, определяющий исход лечения HCV инфекции. Первые результаты геномных исследований, опубликованные Ge et al. в 2009 году обнаружили достоверную корреляцию исхода лечения 1670 пациентов с HCV инфекцией смешанной этнической принадлежности с генотипом ИФН-λ3 хозяина. Показано также, что тот же протективный аллель гена ИФН-λ3 играет ключевую роль в спонтанном разрешении первичной HCV инфекции. Потенциальная связь между генотипом ИФН-λ3, генотипами HCV и исходом лечения гепатита С подтверждена в ряде последующих генетических исследований различных этнических популяций. Полагают, что в будущем предварительное генетическое тестирование аллелей протекции или риска гена ИФН-λ3 хозяина позволит прогнозировать клинический исход HCV инфекции и будет включено в алгоритм лечения гепатита С наряду с другими известными параметрами.

Иммунорегуляторная функция ИФН 3 типа

ИФНы 3 типа проявляют иммуномодулирующие эффекты на врожденную и адаптивную ветви иммунной системы, которые частично совпадают с таковыми ИФНов 1 типа и включают стимуляцию Th1 ответов, повышение цитотоксичности Т- и NK-

клеток, стимуляцию экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости (MHC), в том числе в опухолевых клетках, способствующую презентации антигенов и последующему апоптозу этих клеток. Более того, в недавних исследованиях показано, что предобработка мононуклеаров периферической крови (МПК) ИФНом 3 или 1 типа увеличивает связывание и репликацию вируса иммунодефицита человека — HIV, что является следствием экспрессии рецепторов и корецепторов HIV на плазматической мембране мононуклеаров. Иммунорегулирующее действие ИФНов-λ, также как и антивирусное, является специфичным типу клеток и зависит от распределения рецепторов ИФН-λ, природы передачи сигнала и активированных генов. ИФНы-λ способны сигнализировать через почти все молекулы STAT и поэтому имеют более широкий спектр функций, чем ИФНы 1 типа. ИФНы, продуцируемые DC, оказывают значительное влияние на их дифференциацию и созревание, в котором ИФН-λ проявляет специфическое действие. При дифференцировке из моноцитов DC экспрессируют IFN-λR рецепторное звено и приобретают чувствительность к ИФН-λ, который, в отличие от множества эффектов ИФН 1 типа, индуцируя лишь частичное созревание DC, стимулирует регуляцию молекул MHC 1 и 2 класса и способность к миграции в лимфатические узлы. Дендритные клетки, обработанные ИФНом-λ, способствуют генерации толерогенных DC и CD4 + CD25 регуляторных Т-лимфоцитов, оказывающих супрессивное действие на пролиферацию Т-клеток, связанную с созреванием DC. Активированные ИФНом-λ моноциты и макрофаги продуцируют ряд цитокинов. В мононуклеарах периферической крови человека (PBMC) под действием ИФН-λ повышается продукция IL-6, -8 и -10, основными продуцентами которых является субпопуляция моноцитов, отличающаяся большей, чем лимфоциты, чувствительностью к ИФН-λ. Индукция IL-6 ИФНом-λ указывает на его роль в связывании врожденного иммунитета с адаптивным. Кроме того, в PBMC человека под действием ИФН-λ повышается продукция тех же хемокинов, что и под действием ИФН-γ, которая, однако, не связана с промежуточной индукцией ИФН-γ. ИФН-λ выполняет важные иммунорегуляторные функции в отношении Th2 иммунных ответов. Показано, что ИФН-λ предпочтительно и значительно подавляет продукцию Т-лимфоцитами IL-13, частично опосредованную миелоидными DC, но также и продукцию IL-4 и IL-5, т.е. ИФН-λ выступает как ингибитор Th2 ответов человека, действие которого направлено в первую очередь против IL-13, но может поражать Th2 ответы в целом, без дополнительного повышения продукции ИФН-γ. Подавление ИФНом-λ продукции моноцитами IL-13 является кли-

нически необходимым и важным в развитии астмы. Поражая Th2 ответ, ИФН-λ индуцирует продукцию $CD4^+$ Т-лимфоцитами Th1 цитокинов. У IFN-λ2 трансгенных мышей повышается продукция ИФН-γ и стимулируется развитие Con A индуцированного гепатита, но ИФН-λ2 специфичные олигонуклеотиды подавляют эту патологию печени и у нетрансгенных мышей, обработанных Con A. Эти результаты свидетельствуют о том, что ИФН-λ2 является ключевым регуляторным цитокином, обладающим патогенетической функцией в патологии печени, опосредованной Т-клетками.

Клинические исследования ИФН 3-го типа

Первое клиническое испытание ИФН 3 типа, проведенное в 2007 году, связано с применением в терапии рецидивирующего хронического гепатита С препарата PEG-IFN -λ1, разработанного фармацевтической компанией Zymogenetics (США) (http://www.zymogenetics.com), поскольку к тому времени биологический потенциал и особенности ИФН-λ3 не были достаточно детально исследованы и результаты этих исследований не были еще опубликованы. В 1 фазе клинических испытаний пациенты-волонтеры с генотипом 1 HCV инфекции 1 раз в неделю в течение 4 недель получали PEG-IFN-λ1 в дозе 1,5 мкг/кг. Испытания показали, что наряду со значительным снижением количества и выраженности характерных для IFN-α побочных эффектов, IFN-λ1 *in vivo* оказывает значимое противовирусное действие: вирусная нагрузка у 23-х из 24 пациентов по окончании лечения снижалась на 2 log и более вплоть до нетестируемой виремии. Этот противовирусный ответ на препарат PEG-IFN-λ1 вскоре был подтвержден во 2-ой фазе клинических испытаний при комбинированной терапии рибавирина с PEG- IFN-λ1 или PEG-IFN-α пациентов с генотипом 1-4 HCV инфекции, получавших эти препараты в течении 24 — 48 недель с 2-х недельным периодом лечения только одним PEG-IFN-λ1 или PEG-IFN-α. Следует отметить, однако, что у 20% пациентов получавших PEG-IFN-λ1 наблюдались признаки гепатотоксичности, которые нивелировались со снижением дозы препарата. Можно полагать, что с учетом изложенных в настоящем обзоре современных знаний и достижений в исследованиях IFN-λ3, в ближайшее время будут проведены и опубликованы результаты аналогичных клинических испытаний препарата PEG-IFN-λ3.

Заключение

Открытие и интенсивные исследования ИФНов 3 типа последних лет выявили не только значительное сходство с антивирусной активностью ИФН 1 типа, но и существенные отличия

индукции, продукции и действия ИФН 3 типа, коррелирующие с ограниченным распределением его рецептора. В отличие от убиквитарной экспрессии рецептора ИФН-1 типа практически во всех ядерных клетках экспрессия рецептора ИФН-λR1 (IL-28Rα) ИФН 3 типа определяется преимущественно в эпителиальных клетках слизистых оболочек внутренних органов и кератиноцитах кожи. Такое избирательное распределение экспрессии и действия ИФНов 3 типа обеспечивает дополнительную адресную защиту слизистых структур респираторного, желудочно-кишечного тракта, ряда других органов и кожных покровов и, препятствуя инвазии через поверхность слизистой и кожи большинства окружающих патогенных вирусов (или микробов), создает вместе с ИФН 1 типа первую линию противовирусной защиты организма в целом.

Ограниченный ткане- и органоспецифичный профиль экспрессии рецептора ИФН-λR1 в клетках организма создает предпосылки уменьшения или элиминации побочных эффектов, характерных для ИФН 1 типа, которое нашло подтверждение при клинических испытаниях ИФН 3 типа — PEG-IFN-λ1 у пациентов с хронической HCV инфекцией.

Хотя рекомбинантный ИФН-λ изначально рассматривается как потенциальное альтернативное средство терапии гепатитов С или В, этот противовирусный цитокин, как показали исследования, может быть более эффективным, чем ИФН 1 типа в защите дыхательных путей при гриппе А, вызванном, в том числе, сезонным или пандемичным (2009 г.) штаммом вируса гриппа А H1N1, и других респираторных вирусных инфекциях.

Обнаруженный в последние годы с помощью генетических технологий полиморфизм гена ИФН-λ3 и его потенциальная связь с исходом лечения гепатита С открывают возможность разработки индивидуального режима лечения пациентов с HCV инфекцией. Предварительное генетическое тестирование аллелей протекции или риска гена ИФН-λ3 хозяина позволит прогнозировать клинический исход HCV инфекции.

Не исключено также, что среди исследуемых нами в настоящее время уже известных или новых препаратов индукторов ИФН будут обнаружены индукторы различных субтипов ИФН 3 типа, что позволит разработать другие эффективные схемы их применения в практической медицине по существующим или новым показаниям.

Рекомендуемая литература

1. *Kotenko S. V., Gallangher G et al. Nat. Immunol. 2003, 4: 69 — 77.*
2. *Sheppard P., Kindsvogel W. et al. Nat. Immunol. 2003, 4: 63 – 68.*
3. *Donnelly R. P and Kotenko S. V. J. Interferon & Cytokine Research, 2010, 8: 555 — 564*
4. *Contoll M., Message S. et al. Nat. Med. 2006, 12: 1023 – 26 .*
5. *Onoguchi K., Yoneyama M. et al. J. Biol. Chem. 2007, 282: 7576 — 81.*
6. *Iversen M. B., Paludan S. R . J. Interferon & Cytokine Res. 2010, 8: 573 — 8.*
7. *Sommereyns C., Paul S. et al. PLaS Pathol. 2008, 4: 100007.*
8. *Kelly Ch., Klenerman P, Barnes E. Gut, 2011, 60: 1284 – 93.*
9. *Ank N., Iversen M. et al. J. Immunol. 2008, 180: 2474 – 85.*
10. *Delligner G., Gad H. et al. Genes. 2009, 10: 125 – 31.*
11. *Pagliaccetti N. E., Robek M. D. J. Inter.Cytok. Res. 2010, 30, 8: 585 – 90.*
12. *Marcello T., Grakouni A. et al. Gastrornterology. 2006, 131: 1887 – 98.*
13. *Ge D., Fellay J. et al. Nature 2009, 461: 399 – 401.*
14. *Labie D., Gigenkranz H. et al. Med. Sci. 2010, 26: 225 – 8.*
15. *Rallon N. I , Naggie S. et al. AIDS. 2010, 24: 23 – 29.*
16. *Thomas D. L., Thio C. et al. Nature. 2009, 461: 798 – 01.*
17. *Rauch A., Kutalik Z. et al. Gastroenterology. 2010, 136: 1338 – 45.*
18. *Muir A. J. , Shiffman M. et al. J. Biol. Chem. 2008, 283: 3079 – 89.*
19. *Muir A. J., Lawitz E. et al. Hepatology. 2010, 52: 715A – 16A.*
20. *Jewell N. A., Cline T. Mertz S. E. et al. J. Virology. 2010, 11515 – 22.*
21. *Osterlund P., Pirhonen J., Ikonen N. et al. J. Virology. 2010, 1414 – 22.*
22. *Li J., Hu S., et al. Glia. 2011, 59, 1: 58 – 67.*

КОМПЛЕКСНАЯ СИСТЕМНАЯ РЕАКЦИЯ КЛЕТОК КРОВЕНОСНЫХ СОСУДОВ (ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ И ЭНДОТЕЛИЯ) НА ВИРУСНУЮ ИНФЕКЦИЮ И ДЕЙСТВИЕ ИНТЕРФЕРОНА

О. Н. Щегловитова

ФБГУ «НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздравсоцразвития России, Москва

Реакция организма на внедрение инфекционного агента связана с синтезом растворимых медиаторов, являющихся проводниками реализации врожденного и приобретенного иммунитетов. Основными продуцентами растворимых медиаторов и участниками иммунного процесса являются клеточные популяций крови, лимфоидных органов, стенки сосудов. Лейкоциты крови и эндотелий, выстилающий внутреннюю поверхность кровеносных сосудов, осуществляют гуморальный и клеточной иммунный надзор при физиологических условиях и при инфицировании организма и развитии воспалительного процесса, направленного на элиминацию патогена (10, 12, 15).

Входными воротами для инфекционных агентов могут быть различные ткани организма. С высокой вероятностью инфекционный агент попадает в кровеносные сосуды, и здесь клетками-мишенями для него становятся клеточные популяции кровеносных сосудов, основные из которых — клетки крови и клетки эндотелия. Эндотелий сосудов является динамичным, гетерогенным, диссеминированным органом, обладающим секреторной, синтетической, метаболической и иммунной функциями (15). Эндотелий сосудов осуществляет миграцию лейкоцитов крови из сосудистого русла, в нем синтезируются факторы, принимающие участие в поддержании тонуса сосудов (вазодилятаторы и вазоконстрикторы). Эндотелий играет важную роль, поддерживая баланс при действии про- и противовоспалительных стимулов; продуцирует анти- и протромбогенные медиаторы, анти- и проангиогенные факторы. Эндотелий сосудов наряду с другими иммунокомпетентными клетками обладает презентирующей функцией (20).

Большое число вирусов может инфицировать как лейкоциты крови, так и эндотелий сосудов. Подтверждением этому является обнаружение вирусспецифических антигенов и нуклеиновых кислот вирусов в эндотелиальных клетках (10, 12). На клеточных мембранах клеток присутствуют рецепторы для патогенов (1, 20). На поверхности клеток эндотелия показана экспрессия рецепторов для полиовирусов (22), риновируса 1 типа (16), Echo (11), альфа герпесвирусов (22), ВИЧ-1 (28, 32). Возможность моделирова-

ния инфекционного процесса на первичной культуре эндотелия кровеносных сосудов показана для ВИЧ-1 (32), ВПГ-1 (33), вируса Денге (24), вирусов группы герпеса КРС (5).

Заболевания, вызываемые вирусами группы герпеса, широко распространены в человеческой популяции (4). Вирус простого герпеса 1 типа (ВПГ-1) является одним из наиболее известных и широко распространенных. ВПГ-1 сохраняется в организме пожизненно, как правило, в клетках сенсорных ганглиев, вызывая латентную инфекцию — механизм поддержания своей жизнеспособности в организме хозяина, при этом латенция позволяет ВПГ-1 уклоняться от воздействия иммунной системы (4). ВПГ-1 может инфицировать и лейкоциты крови, и этот процесс воспроизведен на культурах активированных лейкоцитов крови человека (1, 6, 23, 30). ВПГ-1 вызывал в культурах человеческих лейкоцитов развитие продуктивной инфекции, при которой отсутствовала активация синтеза альфа-интерферона (ИФН-α) и отмечалось подавление спонтанного синтеза гамма-интерферона (ИФН-γ) (рис. 1А). Не были выявлены изменения продукции ИЛ-1β и ИЛ-4, выработка ИЛ-6 и ИЛ-8 была подавлена, но активировалась продукция ФНО-α (7).

А	—	↓	←→	←→	↓	↓	↑
Б	—	нет	↑	нет	↓	↑* ↓+	↓
	ИФН α	ИФНγ	ИЛ-1β	ИЛ-4	ИЛ-6	ИЛ-8	ФНОα

Рис. 1. Продукция интерферонов и цитокинов культурами активированных ФГА лейкоцитов крови человека (А) и в культуре эндотелия сосудов (ЭКПВЧ) (Б) при инфекциях ВПГ-1 (7, 33) — отсутствие продукции; ←→ продукция без изменений; ↑ - активация продукции; ↓ - подавление продукции; * - высокая МИ; + - низкая МИ; нет — клетки цитокин не продуцируют.

Вирусспецифический антиген и нуклеиновая кислота ВПГ-1 были обнаружены в эндотелии биоптатов сосудов роговицы, плаценты, мозга, в атеросклеротических бляшках (6). Возможно, герпетическая инфекция характеризуется вирусной латенцией не только в сенсорных ганглиях, но и в эндотелии сосудов (29). Подтверждения этому получены в экспериментах на животных моделях и в культуре клеток *in vitro* (18).

В культуре эндотелиальных клеток (ЭК), полученных из пупочной вены человека (ЭКПВЧ), был смоделирован инфекционный процесс, инициированный ВПГ-1 (34). ВПГ-1 в культуре ЭКПВЧ вызывал развитие продуктивной инфекции. При этом не происходило активации выработки ИФН-α, но отмечалось увеличение продукции ИЛ-1β (рис. 1Б). Происходило подавление синтеза ИЛ-6 и ФНО-α. Выработка ИЛ-8 зависела от множественности инфицирования (МИ) культуры ВПГ-1: при высокой

МИ происходила активация продукции этого цитокина, тогда как при низкой МИ — подавление его продукции.

Следовательно, при инфицировании ВПГ-1 реакция культур лейкоцитов крови и эндотелия сосудов имеет значительное сходство: продуктивная инфекция обеих культур подавляет синтез ИФН-α и снижает синтез ИФН-γ в культуре лейкоцитов. Кроме этого инфекционный процесс в обеих культурах ограничивал продукцию цитокинов ИЛ-4 и ИЛ-6, влияющих на функциональную активность Т-хелперов 1 и 2 типа. С помощью этого механизма ВПГ-1 может влиять на развитие иммунного процесса. Однако за счет продукции ФНО-α (культура лейкоцитов) и ИЛ-1β (ЭКПВЧ) инфекционный процесс в культурах может приводить к выраженному провоспалительному действию. Это действие характеризуется активацией экспрессии молекул клеточной адгезии (МКА) на мембранах лейкоцитов крови и клеток эндотелия сосудов, увеличением прокоагулянтной активности эндотелия, дисфункции в продукции факторов, влияющих на тонус сосудов (10, 15). Поэтому при инфицировании организма ВПГ-1, как лейкоциты крови, так и клетки эндотелия сосудов, по-видимому, вносят равнозначный вклад в создание цитокиновой сети и развитие воспалительного процесса путем индукции ИЛ-1β и ФНО-α.

Участие ВПГ-1 в становлении цитокиновой сети в организме может быть связано не только с инфицированием лейкоцитов крови, но и с механизмами индукции синтеза этих медиаторов. Индуцирующими агентами могут быть как внеклеточный ВПГ-1, так и инфицированные ВПГ-1 лейкоциты и клетки эндотелия сосудов (рис. 2). Инфицированные ВПГ-1 лейкоциты крови и ЭКПВЧ, фиксированные глютаровым альдегидом, сохраняли на наружной мембране вирусспецифические антигены (13, 34). При всех использованных типах индукции происходила активация синтеза ИФН-α, ИФН-γ, ИЛ-6 и ФНО-α, но не было изменений в продукции лейкоцитами крови ИЛ-4 и ИЛ-8. По-видимому, существует единый механизм индукции цитокинов при исполь-

А	↑	↑	↑	←→	↑	←→	↑
Б	↑	↑	↑	←→	↑	←→	↑
В	↑	↑	↑	←→	↑	←→	↑
	ИФН α	ИФНγ	ИЛ-1β	ИЛ-4	ИЛ-6	ИЛ-8	ФНОα

Рис. 2. Продукция интерферонов и цитокинов культурами неактивированных лейкоцитов крови человека при использовании разных типов индукции (7, 34): А- ВПГ-1, Б-лейкоциты крови человека, инфицированные ВПГ-1 и фиксированные глютаровым альдегидом; В-ЭКПВЧ, инфицированные ВПГ-1 и фиксированные глютаровым альдегидом. Обозначения стрелок см. на рис 1.

зовании этих индукторов. Предполагается, что индуктором цитокинов является гликопротеин D ВПГ-1 (27), так как таким же эффектом обладал рекомбинантный гликопротеин D, но не другие гликопротеины ВПГ-1 (9).

Следовательно, при индукции как внеклеточным ВПГ-1, так и инфицированными клетками в лейкоцитах крови происходит продукция растворимых медиаторов, обладающих антивирусным эффектом. Это — ИФН-α, ИФН-γ и ФНО-α, которые, как известно, подавляют репродукцию ВПГ-1 (31, 34). Кроме этого было показано, что среда лейкоцитов, индуцированных инфицированными ВПГ-1 ЭКПВЧ, защищала интактные ЭКПВЧ от инфекции ВПГ-1. Этот эффект был связан с ИФНα, ИФНγ и ФНО-α, так как моноклональные антитела к этим цитокинам отменяли защитный эффект (34). В дополнение к этому активация продукции ИЛ-6 и ФНО-α направлена на провоспалительную модификацию обоих типов клеток и активацию воспалительного процесса, направленного на элиминацию патогена из организма (15). Можно сделать вывод, что антивирусный процесс и индукция цитокинов в кровеносных сосудах проявляются как при первичной инфекция ВПГ-1, так и при реактивации инфекции. В результате формируется первичная защитная реакция организма на действие инфекционного агента.

Для лечения вирусных заболеваний используют ИФН-α, получаемый с помощью рекомбинантой технологии (2). Лечебный эффект ИФН-α связан как с торможением репродукции вирусов в тканях инфицированных органов, так и с иммуномодулирующим и противовоспалительным действием, которые, по большей части реализуются через систему индукции синтеза про- и антивоспалительных цитокинов (2). Ранее было показано, что в лейкоцитах крови *in vitro* ИФН-α индуцирует выработку цитокинов (3, 7). Эндотелий сосудов также реагирует на действие ИФН-α: в культуре ЭКПВЧ отмечалось увеличение синтеза провоспалительных цитокинов ИЛ-6, ИЛ-8, но не ИЛ-1β, ФНО-α (рис. 3). Действие провоспалительных цитокинов направлено на активацию экспрессии молекул клеточной адгезии (МКА) на наружной мембране лейкоцитов крови и клеток эндотелия сосудов, что приводит к увеличению адгезии лейкоцитов на поверхность эндотелия вследствие соединения комплементарных молекул и к увеличению рекрутирования лейкоцитов и их трансмиграции в очаг воспаления (8).

Рис 3. Продукция цитокинов культурой эндотелия (ЭКПВЧ) после обработки ИФН-α. Обозначения стрелок см. на рис 1.

Экстраклеточные домены некоторых мембранных белков отделяются от клеточной

поверхности, как растворимые белки, путем протеолиза, и этот механизм отщепления называется шеддингом (ectodomain shedding) (19). Эффект шеддинга характерен для конститутивно экспрессируемых и индуцибельных МКА, экспрессируемых эндотелием сосудов, и большинство из них может быть выявлено в крови в виде растворимых форм (17, 38). Шеддинг МКА происходит вследствие разных причин, основные из которых: воспалительный процесс (25), измененное давление крови в сосуде (35), апоптоз (21). Уменьшение МКА на поверхности эндотелия уменьшает их участие в одном из этапов рекрутирования или трансмиграции лейкоцитов. С другой стороны, растворимые формы МКА, отделившиеся от поверхности эндотелия путем шеддинга, могут конкурировать с МКА, экспрессированными на поверхности эндотелия, соединяясь с комплементарными молекулами на поверхности лейкоцитов (12). Этот процесс может регулировать как адгезию, так и рекрутирование лейкоцитов и их трансмиграцию и, как результат, регулировать развитие и завершение воспалительного процесса (26, 36). Показано, что ИФН-α уменьшал шеддинг Р-селектина, увеличивал шеддинг Е-селектина, ICAM-1 и VE-кадхерина, но не влиял на шеддинг PECAM-1 с интактных ЭКПВЧ (8) (рис. 4А). Однако инфицирование ЭКПВЧ ВПГ-1 изменяло характер влияния ИФН-α на шеддинг исследованных МКА: не отмечалось изменения физиологического шеддинга Р-селектина, Е-селектина и ICAM-1, но происходило уменьшение шеддинга PECAM-1 и сохранялось увеличение шеддинга VE-кадхерина (рис. 4Б).

А	↓	↑	↑	←→	↑
Б	←→	←→	←→	↓	↑
	Р-селектин	Е-селектин	ICAM-1	PECAM-1	VE-кадхерин

Рис. 4. Влияние ИФН-α на шеддинг молекул клеточной адгезии с культуры эндотелия (ЭКПВЧ; А — интактная, Б — инфицированная ВПГ-1) (8). Обозначения стрелок см. на рис. 1.

Следовательно, ИФН-α может регулировать рекрутирование и трансмиграцию лейкоцитов, активируя шеддинг МКА с интактного эндотелия, однако инфицирование эндотелия ВПГ-1 отменяет активацию шеддинга ряда МКА, вызываемого с помощью ИФН-α. По-видимому, общий характер вос-

А	↓↑	←→	↓	↓
Б	←→	←→	↓	↓
	NO	Эндотелин	ФвВ	проММП-1

Рис.5. Влияние ИФН-α на продукцию культурой эндотелия (ЭКПВЧ; А — интактная, Б — инфицированная ВПГ-1) факторов, характеризующих функциональную активность эндотелия. Обозначения стрелок см. на рис. 1.

палительного процесса при инфицировании организма ВПГ-1 и реактивации герпетической инфекции во многом определяется инфицированием эндотелия сосудов. При этом результирующий эффект в организме, по-видимому, является суммарным от действия ИФН-α на интактный и инфицированный эндотелий сосудов. Не ясно значение увеличения шеддинга VE-кадхерина с ЭКПВЧ под воздействием ИФН-α, так как особенность этих МКА заключается в том, что они находятся на поверхности ЭК, обращенных друг к другу, соединяются между собой и поддерживают целостность слоя эндотелия (37). Возможно, это приводит к изменению проницаемости эндотелия.

При исследовании эффекта ИФН-α на продукцию эндотелием сосудов других факторов, отражающих течение воспалительного процесса, было отмечено отсутствие влияния на продукцию инфицированными ЭКПВЧ оксида азота и эндотелина, обладающих анти- и провоспалительным действием соответственно. Продукция фактора вон Виллебранда (ФвВ), отражающего тромбогенные потенции эндотелия, и проматриксной металлопротеиназы, характеризующей ангиогенез, были снижены под воздействием ИФН-α как в ЭКПВЧ интактных, так и в инфицированных ВПГ-1 ЭКПВЧ (рис.5). Следовательно, ингибирующее действие ИФН-α на продукцию факторов, отражающих функциональное состояние сосудов и участие NO и эндотелина в воспалительном процессе, мало менялось при инфицировании клеток эндотелия сосудов и указывает на другой механизм его действия.

Таким образом, лейкоциты крови и эндотелий кровеносных сосудов образуют комплексную систему, реагирующую на ВПГ-1, и, возможно, в том числе и на реактивацию латентной герпетической инфекции и оказывающую воздействие на течение инфекционного процесса и реализацию защитных потенций в организме. Инфицирование эндотелия ВПГ-1 оказывает негативное воздействие на противовоспалительный эффект ИФН-α, выявляемый на модели шеддинга МКА с интактного эндотелия сосудов, но не выявляемый на модели эндотелия сосудов, инфицированного ВПГ-1. По-видимому, действие ИФН-α при герпетической инфекции носит сложный характер и включает в себя реакции лейкоцитов крови, интактного и инфицированного эндотелия сосудов.

Рекомендуемая литература

1. *Баринский И. Ф., Шубладзе А. К. Лейкоцитарные культуры в вирусологических исследованиях. М, «Медицина», 1980.*
2. *Ершов Ф. И. Система интерферона в норме и при патологии. М, Медицина, 1996.*
3. *Наровлянский А. Н. Классификация и механизмы действия интерферона. Сб. Интерферону — 50 лет. М, 2007, 44-50.*

4. *Сухих Г. Т., Ванько Л. В., Кулаков В. И. Иммунитет и генитальный герпес. Изд. НГМА, Нижний Новгород-Москва, 1997.*
5. *Шуляк А. Ф., Щегловитова О. Н., Величко Г. Н. Сборник. Современное состояние и перспективы исследований по инфекционной и протозойной патологии животных, рыб и пчел. Москва, 2008, 291-298*
6. *Щегловитова О. Н. Вопр. Вирусол. 2005, 5: 17-23.*
7. *Щегловитова О. Н., Максянина Е. В. Вопр. Вирусол. 2004, 4: 25-30.*
8. *Щегловитова О. Н., Склянкина Н. Н., Бабаянц А. А. и др. Вестник РАМН, 2011, 10: 30-35.*
9. *Ankel H., Westra D. F., Welling-Wester S., Lebon P. Virology, 1998, 251: 317-326.*
10. *Beilke M. A. Rev Infect Dis, 1989; 41: 273-283.*
11. *Bergelson J. M., Shepley M. P., Chan B. M. et al. Science, 1992, 255: 1718-1720.*
12. *Biederman B. C. New Physiol Sci, 2001, 16:84-88.*
13. *Capobianchi M. R., Facchini J., Di Marco P. et al. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1985, 178: 551-556.*
14. *Cines D. B., Pollak E. S., Buck C. A. et al. J of Amer Soc Hemathol, 1998, 91: 3527-3561.*
15. *Crump C. E., Arruda E., Hyden F. G. Antiviral Chem. and Chemother, 1993, 4(6): 323-327.*
16. *Garton K. J, Gough P. J, Raines E. W. J Leukemic Biol., 2006, 79:1105- 1116.*
17. *Hajjar D. P. Amer.J.Pathol., 1991, 139: 1195-1211.*
18. *Hayashida K, A. H. Bartlett, Y. Chen, P W. The Anatomical Record 2010, 293(6): 925-937.*
19. *Hirschberg H. Hum. Immunol, 1981, 2: 235-246.*
20. *Ilan N, Mohsenin A, Cheung L, Madri J. A. FASEB J., 2001, 15:362-72.*
21. *Irie K., Shimisu K., Sakisara T. at al. Semin Cell Dev Biol, 2004, 15: 643-656.*
22. *Larcher C., Gasser A., Hattmannstorfer R. et al. 2001, 116: 150-156.*
23. *Liu P., Woda M., Ennis F. A., Libraty D. H. J. Infect Dis., 2009, 200(2):191-201.*
24. *Melis M., Pace E., Siena L. et al. Am J Respir Crit Care Med, 2003, 67:1131-1138.*
25. *Meyer D. M., Dustin M. L., Carron C. P. J Immunol, 1995, 155:3578-3584.*
26. *Mogensen T. H., Poludan S. R. Molecular Pathway in Virus-Induced Cytokine Production, 2001, 65(1): 131-150.*
27. *Molino M., Woolkalis M. J., Prevost N. et al. Biochim. Biophys. Acta, 2000, 1500 (2): 227-240.*
28. *Nicholson A. C., Hajjar D. P. Vasc. Biol. 1998, 18: 339-348.*
29. *Rinaldo C. R., Richter B. S., Black P. H., Callery R. 1978, 120(1): 130-136.*
30. *Sainz B. Ir, Halford W. P. J Virol 2002, 76 (22): 11541-11550.*
31. *Scheglovitova O. N., Capobianchi M. R., Antonelli G. et al. Arch. Virol 1993, 132(1): 267-280.*
32. *Scheglovitova O. N., Romanov Yu. A., Maksianina E. V. et al. Russian J. Immunol., 2001, 6: 367-376.*
33. *Scheglovitova O. N., Romanov Yu. A., Maksianina E. V. et al. Russian J. Immunol., 2002, 2: 367-376.*
34. *Sultan S., Gosling M., Nagase H., Powell J. T. FEBS Letters, 2004, 564:161-165.*
35. *Tedgui A., Mallat Z. Circ Res, 2001, 88: 877-887.*
36. *Wallez Y., Huber P. Biochim Biophys Acta, 2008, 1778(3): 794-809.*
37. *Witkowska A. M., Borawska M. H. Eur Cytok Netw, 2004, 15: 91-98.*

ОТ ЧЕГО ЗАВИСЯТ ЭФФЕКТЫ ИНДУКТОРОВ ИНТЕРФЕРОНА?

Ф. И. Ершов, Э. Б. Тазулахова

ФГБУ «НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздравсоцразвития России, Москва

Ниже суммированы результаты наших многолетних исследований закономерностей индукции и продукции интерферонов (ИФН) и приведены сведения о механизмах действия индукторов интерферона (ИИ).

Четверть века назад [8] нами было высказано предположение о том, что синтез эндогенного ИФН является одной из самых ранних реакций естественного (врожденного) иммунитета в ответ на проникновение чужеродной информации. Действительно, в природе способностью индуцировать ИФН обладают тысячи различных соединений и в первую очередь — практически все известные вирусы, многие микроорганизмы (бактерии, риккетсии, микоплазмы, хламидии и др.), продукты из них.

Идея использования системы ИФН для стимуляции защитных сил организма возникла вскоре после того, как было доказано, что гены ИФН присутствуют практически во всех его клетках. Первоначально исследования системы ИФН как одной из самых ранних реакций естественного иммунитета были направлены на изучение противовирусной защиты организма. Поэтому поиск индукторов ИФН (ИИ) — препаратов, включающих систему ИФН, проводили среди веществ, имитирующих вирусные нуклеиновые кислоты, но не вызывающих заболеваний. Первым и классическим препаратом этого типа стал синтетический полинуклеотид поли(И) поли(Ц), представляющий собой комплекс полиинозиновой и полицитидиловой кислот, широкое экспериментальное использование которого позволило во многом расшифровать закономерности индукции, продукции и действия ИФН и сформулировать основные требования к клинически пригодным «идеальным» ИИ. Однако синтетические дсРНК, среди которых велся поиск, оказались довольно токсичными и поэтому малопригодными для дальнейшего использования их в качестве противовирусных средств и долгое время рассматривались лишь как удобный инструмент изучения механизмов индукции, продукции и действия ИФН [30].

Созданные затем индукторы ИФН (ИИ) представляли собой весьма многочисленное и «пестрое» по составу **семейство высоко- и низкомолекулярных природных и синтетических соединений,** единичные представители которого были отобраны для медицинского использования.

Вначале исследования ИФН-индуцирующей активности различных препаратов проводили *in vitro*, в основном в культурах клеток фибробластного типа — первично-трипсинизированных фибробластах эмбрионов кур (ФЭК) или перевиваемых культурах клеток человека и животных. Такие исследования были удобны по ряду причин: простота постановки эксперимента, минимум затрат для его осуществления и т.д.

Важнейшим этапом скрининга ИИ стало изучение ИФН-индуцирующей активности различных веществ в организме животных. Первым ИИ, не относящимся к дсРНК, стал **тилорон (отечественный препарат — амиксин**) — низкомолекулярное синтетическое соединение, относящееся к классу флуоренонов [10]. Этот препарат, не вызывая продукцию ИФН в культурах фибробластного типа, тем не менее стимулировал синтез ИФН у мышей.

В дальнейшем было доказано, что способностью индуцировать синтез ИФН обладают множество высоко- и низкомолекулярных природных и синтетических соединений самой различной химической структуры [10, 16, 26]. Кроме вирусов такой способностью обладают многие микроорганизмы (бактерии, риккетсии, микоплазмы, хламидии), продукты из них, а также препараты природного происхождения. ИФН-индуцирующими и противовирусными свойствами как в культуре клеток, так и в организме экспериментальных животных обладают многочисленные низкомолекулярные вещества, относящиеся к алифатическим аминам, хинолинам, акридинам, тиахинам, антибиотикам, биогенным аминам, природным полифенолам, комплексам металлов, меркаптоалкиламинам, тиофосфатам, а также производным поликонденсированных ароматических соединений и другим группам. Биологическая активность низкомолекулярных ИИ суммирована в ряде обзоров [1].

В результате многолетнего целенаправленного скрининга высоко- и низкомолекулярных соединений природного и синтетического происхождения коллективом лаборатории онтогенеза вирусов Института вирусологии им. Д. И. Ивановского РАМН СССР в течение почти четверти века удалось выявить группы веществ, среди которых активные ИИ встречаются наиболее часто. Внутри этих групп соединений были обнаружены единичные весьма перспективные вещества, индуцирующие синтез ИФН, циркулирующего в кровотоке в течение длительного времени. Они имели достаточно высокий химиотерапевтический индекс и оказались пригодны для профилактики и лечения ряда вирусных инфекций, а также других заболеваний невирусной этиологии [6]. Позже была разработана общепринятая в настоящее время классификация ИИ [10].

В дальнейшем диапазон веществ, обладающих способностью вызывать синтез ИФН, пополнялся благодаря исследованиям других авторских коллективов [26, 36, 38].

В настоящее время с уверенностью можно сказать, что многие вещества способны в той или иной степени вызывать или влиять на продукцию ИФН, поскольку система ИФН как врожденный механизм защиты организма реагирует на практически любое чужеродное воздействие. Однако низкая ИФН-индуцирующая активность большинства веществ, индуцирующих продукцию ИФН, сделала их непригодными для медицинского использования в качестве индукторов ИФН. Кроме того, многие из них, как указывалось выше, являются токсичными либо обладают антигенностью, инфекционностью, мутагенностью, аллергизирующими, канцерогенными свойствами или рядом иных серьезных побочных эффектов.

Зависимость активности индукторов интерферона от их структуры

Уже первые исследователи ИИ задавались вопросом, почему некоторые производные в одном и том же ряду соединений обладают способностью индуцировать высокие уровни ИФН, а другие не обладают ИФН-индуцирующими свойствами вообще, и чем объясняется функциональная активность того или иного препарата.

Так, для первых полирибонуклеотидных ИИ было показано, что их ИФН-индуцирующая активность определяется химической структурой, молекулярной массой, температурой фазового перехода — точкой плавления (т.пл.) и конформацией в растворе. Был сделан важный вывод: биологическая активность этих интерфероногенов определяется не первичной структурой, а образуемой полинуклеотидами вторичной структурой, от которой, в свою очередь, зависит способность индуктора присоединяться к рецепторам клеточных мембран. Нуклеотидный состав, так же, как и модификации оснований, сказываются на активности индуктора лишь в том случае, когда они изменяют конфигурацию комплексов. Для индукции синтеза ИФН необходима полианионная структура с определенным расположением отрицательных зарядов. Это положение справедливо не только для полинуклеотидов, но и для неполинуклеотидных полимеров — ИИ, таких как полифосфаты, полисульфаты и поликарбоксилаты.

Одним из важных условий, необходимых для индукции ИФН полирибонуклеотидами, является наличие активных 2′-ОН групп в сахарных остатках полинуклеотидных цепей. Поскольку саха-

ром может быть только рибоза, но не дезоксирибоза, было доказано, что ИФН-индуцирующей активностью не обладают ДНК, гибриды ДНК с РНК, двунитевые комплексы полирибонуклеотидов с полидезоксирибонуклеотидами. 2′-ОН группа в значительной степени определяет конфигурацию двойной спирали, оказывая влияние на ориентацию связей в сахаро-фосфатном скелете молекулы. Химические модификации 2′-ОН группы в пиримидиновой или в пуриновой нити рибозы (хлорирование, метилирование и др.) приводят к угнетению ИФН-индуцирующей активности полирибонуклеотидов в 10-10 000 раз.

Обнаружение высокоактивного ИИ (тилорона) среди низкомолекулярных соединений (производных флуорена) стимулировало дальнейшие исследования зависимости функции ИИ от их структуры. Сами по себе флуорен и флуоренон — вещества, содержащие поликонденсированную ароматическую систему, не вызывают синтеза ИФН и не обладают противовирусными свойствами. Однако многие синтетические производные флуорена и особенно флуоренона проявляют биологическую активность в экспериментах на животных.

К настоящему времени синтезировано большое количество производных флуорена и других полициклических ароматических систем. Суть замещений в этих препаратах заключается в том, что ароматические радикалы прикрепляют к боковым цепям.

Установлено, что монозамещенные эфиры и дизамещенные производные флуорена не вызывают индукцию ИФН. ИФН-индуцирующая активность проявляется у производных флуорена, имеющих в качестве боковых цепей эфиры или тиоэфиры и кетонную или тиокетонную группу [37].

Были выявлены условия преобразований, необходимых для проявления биологической активности производных флуорена:

1) наличие в боковой цепи молекулы двух групп с основными свойствами (например, аминов);

2) наличие центральной липофильной системы ароматической и гетероциклической природы.

Широкое использование производных акридина в медицине началось с открытия противомалярийных свойств акрихина и антибактериальных свойств этакридина лактата [17]. Однако активность препаратов группы акридина оказалась значительно шире. Акридины и их производные представляют значительный интерес для создания препаратов с различным спектром биологической активности. Они обладают антибактериальной, антипаразитарной, противовирусной и противоопухолевой активностью, выраженной в разной степени [4].

Простейшим представителем этой группы веществ по химическому строению является акридонуксусная кислота, представляющая собой плоскую трициклическую гетероароматическую молекулу с N-карбоксиметильным заместителем [17]. В настоящее время в клинической практике широко применяются соли незамещенной акридонуксусной кислоты, обладающие уникальным свойством индуцировать парадоксально высокие уровни ИФН в организме животных и человека: N-метилглюкаминовая соль (препарат циклоферон) и натриевая соль (препарат неовир).

Исследования в области синтеза производных акридина позволили прийти к выводу о том, что для проявления биологического действия вещества наиболее важны такие его свойства, как распределение электронной плотности и стерическое строение молекулы. От распределения электронной плотности, как оказалось, зависит способность молекулы к ионизации, облегчающей или препятствующей взаимодействию вещества с рецептором. Стерические свойства молекулы определяют степень ее комплементарности к рецептору [4]. Перспективным направлением в дизайне акридинов является получение олигомеров [4, 17], что приближает эти производные к полимерным препаратам на их основе [4].

Растительные вещества, обладающие физиологической активностью, с незапамятных времен используются в медицине как эффективные лекарственные средства. Было обнаружено, что многие вещества, выделенные из растений и играющие важную роль в их развитии и росте, обладают ИФН-индуцирующей активностью. К ним относятся пурины, фенолы и их производные (теофиллин, кофеин, теобромин, таннин и др.) [43]. Имеются данные о противовирусной активности простых соединений, содержащих альдегидные группы, а также их производных [31].

Особую группу ИИ представляют собой многочисленные полифенолы растительного происхождения, среди которых выделяются производные госсипола. При сравнении биологических свойств в ряду бензоидная → нафталиновая → динафталиновая структура наибольшая активность отмечена для динафталинового ряда, к которому относятся производные госсипола [28].

Госсипол — низкомолекулярный природный полифенол, выделенный из растений рода Gossipium и близких к нему родов семейства мальвовых. Уникальная химическая структура, полифункциональность, способность к таутомерным переходам в сочетании с высокой реакционной способностью обусловливают широкий спектр биологической активности госсипола (противоопухолевой, противовирусной, иммуномодулирующей). Сам по себе госсипол обладает низкой ИФН-индуцирующей активностью, и противовирусное действие его обычно проявв-

ляется в токсических и субтоксических дозах. Однако введение дополнительных радикалов в молекулу исходного препарата может привести к изменению биологических свойств.

В основе молекулы госсипола лежат 2 нафталиновых ядра, замещенные гидроксильными, альдегидными и алкильными группами. Чтобы установить роль каждой из этих функциональных групп для проявления биологической активности вещества, молекулы госсипола были поэтапно модифицированы, и таким путем созданы многочисленные производные.

Оказалось, например, что производное госсипола, Na-аминоэтилсернокислый госсипол (ГСН), обладает гораздо меньшей цитотоксичностью по сравнению с исходным препаратом.

Дальнейшее изменение свойств препарата шло по пути введения в молекулу госсипола ароматических, алифатических и циклических аминов [28].

Конденсация госсипола с первичными аминами и соединениями, содержащими активные метиленовые группы, приводила к резкому снижению токсических свойств производных по сравнению с исходным препаратом. При этом в зависимости от природы заместителя у некоторых аналогов госсипола не только изменялись биологические свойства, но и появлялась водорастворимость, отсутствующая у исходного вещества.

Особенно интересными оказались продукты конденсации госсипола по альдегидным группам с различными алифатическими и ароматическими соединениями, содержащими в составе молекулы аминогруппы (**азометиновые** производные). Эти производные индуцировали гораздо более высокий уровень синтеза ИФН. Наиболее активным соединением среди них оказался **рагосин.**

Надо отметить, однако, что азометиновые производные госсипола (и, в частности, рагосин) обладают существенным недостатком: они практически нерастворимы в воде и мало растворимы в хлороформе, органических растворителях.

Наиболее интересным способом повышения водорастворимости и снижения токсичности гидрофобных соединений явилось присоединение производных госсипола к высокомолекулярной цепочке, т.е. создание из низкомолекулярных производных госсипола высокомолекулярных соединений, состоящих из комбинации полимера-носителя и низкомолекулярного физиологически активного вещества. Преимуществом таких комплексов является аддитивность свойств их составляющих, а в ряде случаев — придание производным новых свойств. При этом физико-химические свойства вновь образованного соединения (в данном случае растворимость) определяются, в основном, полимером-носителем, а физиологическая активность — присоединенным к нему низко-

молекулярным компонентом. Оказалось, что вновь образованные полимеры приобретали еще одно уникальное свойство — способность длительно индуцировать синтез ИФН в организме после однократного приема, что особенно актуально для лечения хронических заболеваний, требующих длительного применения лекарства, так как это снижает частоту приема препарата.

Было установлено, что полимер-носитель должен удовлетворять определенным требованиям: он должен хорошо растворяться в воде, иметь определенную молекулярную массу, содержать функциональные группы, за счет которых возможно присоединение физиологически активного вещества и т.д. [51]. Одним из таких активных веществ, обладающих всеми перечисленными свойствами, оказался поливинилпирролидон (ПВП), с помощью комплексирования которого с рагосином был создан высокомолекулярный индуктор ИФН — **гозалидон** (рагосин + ПВП), содержащий 10% действующего препарата рагосина. В результате модификации молекулы рагосина уровень продукции ИФН при индукции вновь синтезированным веществом увеличивался в 10-20 раз.

Другим примером создания высокомолекулярных соединений на основе производных госсипола было использование в качестве полимера-носителя 2-х производных хлопковой целлюлозы — карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ) и водорастворимой аминоацетилцеллюлозы (ВРАЦ).

Сами по себе производные хлопковой целлюлозы (КМЦ и ВРАЦ), так же, как ПВП, не обладали интерферониндуцирующей активностью, но в результате присоединения к ним производных госсипола начинали проявлять интерферон-индуцирующие и противовирусные свойства. Биологическая активность модельных соединений зависела от присутствия госсипола или его аналогов в молекуле вновь образованного полимера. Наибольший интерферониндуцирующий ответ наблюдался при присоединении к ВРАЦ динафталиновых производных ароматических оксиальдегидов. При изучении свойств одного из таких аналогов, названного **гомицелом**, открылось еще одно его достоинство: для достижения максимально выраженного биологического эффекта можно снизить дозу вводимого в организм производного в 5-10 раз по сравнению с исходным препаратом.

Известно, что замещения альдегидной группы альдегидофенолов, альдегидонафтолов соединениями, содержащими активные NH_2 группы, приводит к усилению биологической активности лекарственных препаратов. Используя данную модель получения полимеров, был создан новый оригинальный индуктор ИФН (**саврац**) путем взаимодействия ВРАЦ с 2-оксибензиламином, являющимся фрагментом структуры низкомолекулярного полифенола госсипола.

Лечение прибудет вовремя

кагОцел®

противовирусный препарат

Кагоцел® – противовирусный препарат для лечения герпетической инфекции, обладающий наряду с антивирусным действием иммунокорригирующим эффектом.

ЛЕЧЕНИЕ ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ

- Кагоцел® эффективен даже при запоздалом начале лечения обострения герпеса
- Кагоцел® сокращает продолжительность болевых ощущений, зуда и дискомфорта в местах герпетических высыпаний
- Снижает частоту рецидивов более чем в 2 раза
- Нормализует интерфероновый статус
- Кагоцел® также эффективен в отношении резистентных к ацикловиру штаммов ВПГ-1 и ВПГ-2

Препарат отпускается из аптек без рецепта.
Рег. уд. № Р N002027/01 от 19.11.2007 г.

Подробную информацию Вы можете получить на сайте

www.kagocel.ru

НИАРМЕДИК ПЛЮС

123098, Москва, ул. Гамалеи, 18
Тел./факс: +7 (495) 741 49 89

Телефон горячей линии:

8 800 555 000 6

противовирусный препарат нового поколения

АЛЛОКИН-АЛЬФА®

цитокиноподобный пептид аллоферон

ОРИГИНАЛЬНЫЙ СЕЛЕКТИВНЫЙ СТИМУЛЯТОР АКТИВНОСТИ ФАКТОРОВ ЕСТЕСТВЕННОГО ИММУНИТЕТА

- активизирует систему естественных киллеров
- действует ЛОКАЛЬНО в очаге поражения
- восстанавливает функциональную активность Т-клеточного звена иммунитета

ЭФФЕКТИВЕН в лечении

- герпетической инфекции
- папилломавирусной инфекции
- смешанных (вирусным + бактериальных) инфекций, в составе комплексной терапии
- острого вирусного гепатита В

НЕ ПРОИЗВОДИТ:

- токсического действия на организм;
- неспецифической (в отсутствии вируса) активации имунной системы

на правах рекламы

Эксклюзивный дистрибьютор в СНГ:

BRAND-PHARM

ООО «Брэнд-фарм»
109316, Россия, Москва, Остаповский пр., 5, корп. 17
тел./факс: (495) 781-83-55; e-mail: info@brand-pharm.ru

www.allokin.ru

Исследование ИФН-индуцирующей активности новых производных Na соли КМЦ (Na-КМЦ), отличающихся различным процентным содержанием госсипола (от 0,5% до 20%), позволило выявить, что наиболее высокой ИФН-индуцирующей активностью обладал полимер, названный **кагоцелом**, содержание госсипола в котором составляло 3%. Было показано, что дальнейшее увеличение содержания госсипола в молекуле не приводит к изменению биологических свойств вновь полученных аналогов. Уменьшение концентрации госсипола ниже 0,5% приводило к уменьшению биологической активности полимеров.

Сравнительное изучение ИФН-индуцирующей активности производных госсипола и его модельных соединений позволило расположить их по величине активности в следующий ряд: производные госсипола → производные нафтальдегидов → производные бензальдегидов.

Структурно-функциональный анализ полученных соединений позволил установить зависимость активности производных госсипола от наличия различных функциональных групп и природы заместителей по альдегидным группам в самой молекуле госсипола, а также от характера и расположения различных функциональных групп в молекуле заместителей. Наибольшую биологическую активность как среди производных госсипола, так и среди его модельных соединений проявил саврац, содержащий фрагмент -2-оксибензиламина, что подтверждает структурные требования при создании индукторов ИФН на основе замещенных альдегидофенолов и альдегидонафтолов.

Зависимость активности индукторов интерферона от дозы и способа их введения

По способности индуцировать синтез ИФН все вещества, обладающие таким свойством, можно разделить на 3 группы:

1) высокоактивные ИИ;

2) препараты, вызывающие синтез средних уровней ИФН;

3) вещества с низкой ИФН-индуцирующей активностью.

Из всех известных в настоящее время ИИ наиболее активную продукцию ИФН вызывает **циклоферон**, индуцирующий в организме животных до 1 000 000 Ед/мл и в культурах клеток лимфоцитов человека до 1280-2560 Ед/мл ИФН. Среди активных индукторов ИФН оказались также полифенолы растительного происхождения — **рагосин** и **кагоцел**, вызывающие продукцию сывороточного ИФН в концентрации 1280-2560 Ед/мл, а также дсРНК — **амплиген (**1280 Ед/мл**)** и **ларифан (**до 8000 Ед/мл**)**.

Интегральным показателем ответа организма на введение индуктора ИФН является динамика накопления сывороточно-

го ИФН. Максимальная концентрация ИФН в сыворотке крови мышей зависит от дозы и способа применения каждого конкретного ИИ. Так, например, для **рагосина** оптимальным способом аппликации является ректальное введение вещества. Динамика синтеза ИФН при применении различных препаратов, введенных одним и тем же способом, также отличается. Это объясняется участием различных клеточных популяций в продукции ИФН в организме в ответ на воздействие конкретного индуктора, что в свою очередь зависит от возможности реакции индуктора с рецепторным аппаратом той или иной популяции иммуноцитов. Конкретным примером такого избирательного воздействия индуктора на рецепторы определенных популяций иммуноцитов является ИФН-индуцирующая активность **циклоферона**. Этот индуктор вызывает образование ИФН в В-лимфоцитах, макрофагах и нейтрофилах, но не способен индуцировать синтез ИФН в Т-клетках.

Длительность циркуляции ИФН в организме также зависит как от природы конкретного индуктора, так и от способа его введения. При пероральном способе введения препаратов ИФН накапливается в кровотоке относительно рано (через 24 часа), но в ответ на индукцию большинством препаратов так же быстро исчезает, что объясняется разрушением молекул ИФН нуклеазами, обильно присутствующими в кишечнике, где он и образуется. Наоборот, при внутримышечном введении индукторов максимальные уровни накопления ИФН в сыворотке отмечаются гораздо позже.

Пролонгированный характер циркуляции ИФН, который наблюдается при внутримышечном и подкожном способах введения крупных полимеров, к которым относятся производные госсипола (**кагоцел, рагосин, саврац)** связан, вероятно, с высокой молекулярной массой этих препаратов и объясняется сниженной биодоступностью — созданием в этих случаях своеобразного депо, в связи с чем в кровоток они поступают постепенно. При других способах введения полимеры всасываются относительно быстро и, попадая в кровоток, индуцирует синтез ИФН в различных органах и тканях, чем объясняется высокий уровень циркуляции его в крови животных уже через 4 часа после индукции.

Как при системном, так и при пероральном введении различных полифенолов растительного происхождения в организме человека и у животных отмечается длительная циркуляция ИФН в кровотоке — около 6-8 суток.

ИФН-индуцирующая способность препарата определяется дозой, вводимой в организм, которая может различаться у разных по своей природе индукторов в десятки раз. Так, например, для осуществления полинуклеотидами (амплиген, полигуацил) максимальной ИФН-индуцирующей активности в культурах лим-

фоцитов человека и животных необходима концентрация препаратов, равная 25-50 мкг/мл, производные госсипола (кагоцел, саврац) осуществляют максимальную индукцию синтеза ИФН в этих культурах в концентрации 125-150 мкг/мл, акридононы (циклоферон) — в дозе 600 мкг/мл. Увеличение или уменьшение дозы индуктора ведет к снижению его ИФН-индуцирующей активности. Максимальная ИФН-индуцирующая доза зависит также от способа введения препарата. При ректальном и пероральном введении ИИ дозу вещества для достижения максимального эффекта можно снизить в 5-10 раз [13].

Во многих случаях эффективные дозы препарата, необходимые для проявления им максимальной ИФН-индуцирующей, противовирусной и иммуномодулирующей активности, не совпадают.

Нами было показано, что зависимость биологической эффективности таких препаратов, как кагоцел, амиксин и др., от их концентрации в организме имеет парадоксальный **синусоидальный характер**. Уменьшение концентрации вводимого мышам вещества сначала приводит к снижению его биологической активности. Затем после достижения некоторого минимума при дальнейшем уменьшении дозы вводимого препарата его активность начинает постепенно возрастать, достигает максимального эффекта и опять начинает снижаться. Можно отметить несколько (8-10) таких точек проявления максимальной активности препарата, вводимого в организм, при постепенном снижении его концентрации. Для полимеров, в частности — кагоцела, возможной причиной такого проявления биологической активности может быть полиморфизм структуры разных модификаций, входящих в их состав. Разные по своему химическому строению компоненты могут по-разному взаимодействовать с рецепторным аппаратом клетки, или вообще воздействовать на разные популяции иммуноцитов. Однако против этой гипотезы имеются возражения: во-первых, существует четкая «шаговая зависимость» проявления максимальной биологической активности препарата от его дозы, т.е. препарат каждый раз разводится определенное количество раз (для каждого индуктора индивидуально), что вряд ли возможно, если допустить гетерогенность составляющих его компонентов; во-вторых, вряд ли среди компонентов препарата может быть такое количество модификаций, проявляющих биологические эффекты в равной степени. Так или иначе, механизм этого феномена остается пока невыясненным, однако сам факт открывает перспективу снижения концентрации многих препаратов, вводимых в организм в субтоксических дозах.

Особенности индукции и продукции ИФН в разных органах и тканях организма

Распределение ИФН в организме животных может не совпадать с возможностью продукции ИФН в конкретном органе и зависит от двух причин: во-первых, от интенсивности кровообращения, т.к. ИФН может быть занесен сюда с кровотоком, и во-вторых, от степени участия тканей данного органа в синтезе ИФН [32]. Однако, ИФН, локально концентрирующийся в той или иной ткани организма, играет существенную роль в физиологических процессах и патогенезе вирусных инфекций.

Продукция ИФН *in vivo* зависит прежде всего от способности конкретного индуктора вызывать синтез ИФН в той или иной ткани организма. Известно, что низкомолекулярные индукторы ИФН, относящиеся, например, к классу акридонов (**циклоферон**) или флуоренонов (**амиксин**), не способны стимулировать синтез ИФН в культурах фибробластного типа и поэтому не вызывают продукцию ИФН при внутримышечном применении, но в связи с тем, что таким препаратам легче проникать через гематоэнцефалический барьер, они стимулируют активную и длительную продукцию ИФН в тканях мозга.

Способность индуцировать синтез ИФН не ограничивается только наличием клеточных систем, чувствительных к действию индуктора. В огромной степени она обусловлена возможностью встречи клеток-продуцентов с индуктором. Распределение ИФН по органам показало, что встреча индуктора с чувствительными клетками-продуцентами зависит от способа введения препарата. Так, например, внутримышечное введение индукторов, относящихся к классу дсРНК, вызывает усиленную местную продукцию ИФН. Незначительные количества ИФН, которые отмечаются в этом случае в других органах и тканях, объясняются его заносом с током крови. Аналогичные результаты получаются при внутримозговом введении дсРНК.

Тилорон относится к индукторам, активным как при парентеральных, так и при пероральном путях введения. На примере **тилорона** (**амиксина**) впервые удалось показать, что в ответ на пероральное введение ИИ продукция ИФН осуществляется преимущественно в тканях кишечника и, скорее всего, отсюда поступает в кровоток и другие органы.

В целом, доза и способ введения индуктора могут определять стратегию его применения против конкретного заболевания.

Обобщенные данные о способности ИИ синтетического и природного происхождения индуцировать синтез ИФН в органах и тканях мышей позволяют судить о перспективах их клинического использования.

Поскольку основным свойством ИИ является их способность вызывать продукцию ИФН, практически все они активны против гриппа и ОРВИ. Однако не все индукторы способны защищать организм в одинаковой степени. Большинство ИИ могут быть применены только по профилактической схеме и лишь немногие (**циклоферон, кагоцел**) — по лечебной.

Циклоферон и **кагоцел** имеют сродство к рецепторам альвеолярных макрофагов и вызывают продукцию ИФН в легких. Длительная циркуляция ИФН в кровотоке (до 5-7 дней) при пероральном введении **кагоцела,** а также высокая его концентрация, которая отмечается при этом способе введения в легочной ткани (1280-2560 Ед/г), делает его применение особенно актуальным при респираторных заболеваниях. Наоборот, **циклоферон** вызывает быстрый и мощный ответ организма на его введение. Уже через 2 часа после применения циклоферона огромные концентрации ИФН обнаруживаются в крови животных и через 4-6 часов — в тканях легких, что также делает этот индуктор эффективным против респираторных заболеваний.

В мышцах ИФН синтезируется только в ответ на индукцию полимерами (**ларифаном, кагоцелом, ридостином**), но не низкомолекулярными ароматическими углеводородами (**амиксином, циклофероном**). Небольшие концентрации ИФН (до 80 Ед/г), которые отмечаются в мышцах животных при внутрибрюшинной индукции их **циклофероном,** являются, вероятнее всего, результатом заноса ИФН с кровотоком, так как в крови животных в это время отмечается очень высокий уровень продукции ИФН (10000-12000 Ед/мл). Этим обстоятельством объясняется тот факт, что полимеры применимы против таких заболеваний, как бешенство, а флюореноны и акриданоны — нет.

Практически все без исключения индукторы имеют сродство к рецепторам гепатоцитов и стимулируют синтез ИФН в печени. Те из них, которые к тому же индуцируют синтез значительных количеств ИФН в селезенке (**циклоферон**, **кагоцел** и **ларифан**), эффективны против вирусных гепатитов.

Большинство индукторов ИФН разрушается в желудочно-кишечном тракте, и лишь немногие способны индуцировать ИФН в кишечнике. К ним относятся так называемые пероральные индукторы ИФН (**амиксин, рагосин, гозалидон, кагоцел, саврац и др.**). При введении этих индукторов значительные количества ИФН синтезируются эпителиальными клетками кишечника уже через 4 часа после индукции. Клетками-продуцентами могут быть, по всей вероятности, не только энтероциты кишечника, способные, как известно, синтезировать ИФН в ответ на индукцию вирусами [41], но и элементы лимфоидного ряда, ассоции-

рованные с тканью кишечника. По крайней мере, для **тилорона** (**амиксина**) и **кагоцела** показана возможность персистенции этого низкомолекулярно индуктора в клетках ретикулоэндотелиальной системы [27], что делает возможным реализацию его интерфероноиндуцирующей способности через систему моноцит-макрофаг. Следует отметить, что высокие титры ИФН отмечаются в кишечнике животных не только при пероральном, но и при парентеральных путях введения индукторов, что было показано на примере производных госсипола. Это подтверждает возможность участия в синтезе ИФН клеток ретикулоэндотелиальной системы кишечника, куда ИИ может быть занесен с током крови. Как бы то ни было, индукторы, стимулирующие накопление высоких уровней ИФН в кишечнике, могут быть эффективны при энтеровирусных заболеваниях.

Известно, что мозговая ткань синтезирует ИФН в ответ на заражение вирусами, способными размножаться в ЦНС. Клетками-продуцентами в мозге являются, по всей вероятности, не высокоспециализированные нейроциты, а клетки нейроглии или эпидемы, выстилающие стенки желудочков мозга, или лимфоидные элементы. Динамика накопления ИФН в мозговой ткани в ответ на введение препаратов разной природы прежде всего зависит от способности тканей мозга синтезировать ИФН в ответ на конкретный индуктор. С другой стороны концентрация ИФН в мозге при системном введении индуктора определяется его возможностью проникать через гематоэнцефалический барьер, в связи с чем ИФН синтезируется в мозге в основном в ответ на индукцию низкомолекулярными препаратами (**амиксин, изопринозин**). Они индуцируют в тканях мозга более высокий уровень продукции ИФН ($1 \cdot 10^4$ Ед/мл), чем высокомолекулярные соединения (**ларифан**). При парентеральном введении грызунам полирибонуклеотидов в мозговой ткани отмечается как минимум в 2 раза более низкая продукция ИФН, чем в сыворотке крови животных [21]. По-видимому, индуктор полинуклеотидной природы для проявления своих ИФН-индуцирующих свойств в мозговой ткани должен иметь вес, не превышающий 100 КД. Если индуктор имеет больший размер молекул, то он не может проникнуть через гематоэнцефалический барьер. Наличие ИФН в мозговой ткани в ответ на системное введение **ларифана** (высокомолекулярной дс-РНК), а также **полимеров на основе госсипола** отчасти возможно объяснить частичным заносом его в мозг с кровотоком. Известно, что ИФНы-α не могут проникать через гематоэнцефалический барьер, поэтому при необходимости их вводят интрацеребрально. Однако основной пул циркулирующего ИФН и синтезированного этими препаратами в других ор-

ганах и тканях относится к β-типу, который, в отличие от ИФН-α, способен проникать через гематоэнцефалический барьер.

Все индукторы, в результате введения которых в организм животных отмечается накопление ИФН в мозговой ткани, могут быть эффективны против вирусных энцефалитов. Высокая концентрация ИФН, которая создается в мозгу животных при всех способах применения **кагоцела**, и длительное сохранение в тканях мозга противовирусной активности, могут служить критерием применения **кагоцела** при нейровирусных инфекциях.

В ответ на индукцию разными по своей природе препаратами ИФН накапливается в различных органах животных с различной скоростью, что свидетельствует об участии различных популяций клеток в его синтезе.

С другой стороны, имеются многочисленные сообщения о том, что различные клеточные популяции формируют различные антигенные типы ИФН. Известно, например, что макрофаги и В-лимфоциты синтезируют ИФН I типа (α и β) и не могут синтезировать ИФН-γ. Наоборот, Т-клетки являются продуцентами ИФН как I, так и II типов [3]. По данным одних исследователей фибробласты человека, индуцированные поли(И)-поли(Ц), синтезируют только ИФН-β. Другие авторы выявили небольшие примеси ИФН-α в препаратах фибробластного ИФН. В ответ на индукцию вирусами клетки лейкоцитов периферической крови синтезируют в основном ИФН-α, в то время как лимфобластоидные клетки человека формируют смесь ИФН-α и -β.

Как уже упоминалось выше, участие клеток-продуцентов в синтезе ИФН в ответ на введение ИИ в свою очередь зависит от химической структуры вещества. Определяющим условием для проявления препаратом ИФН-индуцирующих свойств является конформация индуктора в процессе его связывания с рецепторами клетки.

Почему активность индукторов интерферона, как правило, выходит за рамки только индукции интерферонов?

Изучение специфической активности индукторов ИФН обнаружило их важнейшее свойство — универсально широкий диапазон антивирусной активности. Широкое системное использование ИИ различной природы показало, что их активность во многом совпадает с ранее выявленной активностью экзогенных ИФН, но часто выходит за рамки только индукции ИФНов

Изучение эффективности ИИ, отобранных в результате многолетнего целенаправленного скрининга при различных экспериментальных вирусных инфекциях, установило спектр активности этих препаратов и позволило наметить основные пути их дальнейшего клинического применения [10]. Полученные результаты выявили,

что противовирусная активность ИИ во многих случаях объясняется их прямым этиотропным эффектом против конкретных вирусов, воздействием на разные этапы вирусной репродукции.

Так, например, «**Арбидол**» — оригинальный отечественный противовирусный препарат, вызывающий продукцию ИФН, оказывает противогриппозное действие, специфически подавляя вирусы гриппа А и В.

Такие полифенолы, как **мегосин, кагоцел, саврац,** содержащие альдегидные группы, способны активно подавлять репликацию вирусов *in vitro* и *in vivo*. Механизм действия этих препаратов связывают с их способностью реагировать с аминогруппами пуриновых и пиримидиновых соединений нуклеиновых кислот вирусов.

Циклоферон способствует снижению вирус-индуцированного блокирования синтеза собственных белков, а также нарушению «одевания» вируса в оболочку. Он подавляет размножение вируса герпеса в культурах лимфобластоидного типа, препятствуя сборке вирионов.

Противовирусная и противоопухолевая активность препаратов акридинового ряда прямо коррелирует с ДНК- и/или РНК-связывающей способностью. Оба вида активности, если предположить прямое действие на опухолевые клетки или репликацию вирусов, связаны с эффективностью взаимодействия производных акридина с нуклеиновыми кислотами. Разработка новых подходов в синтезе акридинов открыла перспективы синтеза уникальных димерных соединений с высокой противовирусной активностью. Особенно привлекательны возможности создания на основе акридина противовирусных средств для лечения хронических вирусных инфекций [4]. Относительная простота получения препаратов с использованием полимерных носителей позволяет в свою очередь существенно улучшать их фармакологические свойства и даже придавать им принципиально новые качества [5, 16].

Из данных литературы известно, что простые и сложные эфиры **госсипола**, полученные замещением по гидроксильной группе, теряют способность синтезировать ИФН, но тем не менее обладают противовирусным эффектом в отношении некоторых экспериментальных вирусных инфекций [16].

Прямым противовирусным действием обладает **фоспренил** — новый индуктор ИФН, с успехом применяемый в ветеринарной практике. На примере этого препарата было показано, что эффект действия может зависеть от строения вируса (наличия у него оболочки). Фоспренил не блокирует специфические для вируса рецепторы клетки, однако он может связываться с вирусами вне клеток, воздействуя на оболочки самих вирусов и, тем самым, препятствует их сорбции (может сорбации?) на клетки. Не

исключено, что фоспренил нарушает сборку вирионов на уровне гликозилирования вирусных белков внутри клетки.

Помимо прямого этиотропного действия практически все ИИ обладают, подобно ИФН, выраженной иммуномодулирующей активностью, что позволяет отнести их к бифункциональным препаратам [7, 14, 49]. Физиологические уровни индукции ИФНов основаны на использовании природных путей активации экспрессии генов, кодирующих ИФН, и в первую очередь тех рецепторов и сигнальных систем клеток организма, которые вовлечены в регуляцию врожденного иммунитета. Однако иммуномодулирующая и противовирусная активность ИИ заключается не только в индукции ИФН, но и в воздействии на клеточное и гуморальное звенья иммунитета и различные этапы репродукции вирусов. При введении в организм ИИ вызывают ряд эффектов, связанных с ингибированием роста клеток, модуляцией их дифференцировки и синтезом мембранных рецепторов, а также действием на различные звенья системы иммунитета. Как и при действии ИФН, это выражается в активации макрофагов, цитотоксических Т-клеток, антителобразующих В-клеток, естественных киллеров и др. [7, 47].

Подобно иммуномодуляторам, ИИ отличаются друг от друга рядом свойств. Различные по химической структуре препараты воздействуют на разные популяции иммуноцитов. Эффекты ИИ прежде всего связаны с ингибицией роста и модуляцией дифференцировки клеток и синтезом мембранных рецепторов, что, в конечном счете, выражается в воздействии на различные звенья иммунитета. Так, например, многие ИИ стимулируют пролиферацию и дифференцировку клеток костного мозга, практически все активируют макрофаги. Большинство ИИ стимулируют дифференцировку и активность цитотоксических Т-клеток и естественных киллеров (NK), другие — пролиферацию и дифференцировку антителообразующих В-клеток (АОК). Специфическое действие ИИ осуществляется в комплексе с другими медиаторами воспалительных и иммунных ответов (цитокинами), а также совместно с гормонами и нейромедиаторами. Накопленные к настоящему времени данные доказывают существование прямых и обратных связей между интерфероновой, иммунной и нейроэндокринной системами, которые в целом составляют общую систему биологической защиты организма [35, 40,].

Двуспиральные ИИ как природного, так и синтетического происхождения являются поликлональными стимуляторами, вызывающими продукцию ИФН у широкого круга популяций клеток, включая Т- и В-лимфоциты, макрофаги, нейтрофилы, гранулоциты, эндотелиальные клетки и фибробласты, они обладают выраженным иммуномодулирующим действием. дсРНК стимулируют про-

дукцию смеси ИФН-α и -β в разных пропорциях в зависимости от степени участия различных популяций клеток в их продукции. Наиболее интенсивный синтез ИФН осуществляют Т-лимфоциты. Они способны образовывать ИФН в ответ на индукцию дсРНК только в присутствии макрофагов как вспомогательных клеток.

Как иммуномодуляторы дсРНК усиливают гуморальный иммунитет [25], повышают титр сывороточных антител при первичном иммунном ответе, сокращают индуктивный период антителообразования и увеличивают время циркуляции антител. Количество АОК при этом не увеличивается. Препараты этого типа действуют на самые ранние этапы иммунного ответа, влияя на число клеток, отвечающих за антиген и дифференцирующихся в АОК.

ДсРНК модулируют также Т-клеточный иммунитет. Они повышают уровень РБТЛ и синтез ДНК Т-клетками при развитии иммунного ответа на субоптимальные количества растворимых антигенов и митогенов и ускоряют генерацию цитотоксических Т-лимфоцитов. ДсРНК стимулируют активность ЕК, повышая цитотоксический ответ этих клеток против клеток, несущих опухолеспецифические антигены, а также дифференцировку Т-клеток из предшественников, и повышают количество кроветворных стволовых клеток.

Кроме ИФН дсРНК стимулируют синтез других цитокинов, в частности интерлейкина-1 (ИЛ-1) и, возможно, других факторов роста и дифференцировки клеток. Все перечисленные выше эффекты дсРНК являются дозозависимыми. Они делают этот класс соединений привлекательным для практического использования, что подтверждается результатами практического использования ларифана, полудана и ридостина [15].

Полифенолы растительного происхождения (производные госсипола) также являются поликлональными стимуляторами продукции ИФН. **Кагоцел, рагосин, саврац, гозалидон** стимулируют синтез ИФН в различных популяциях иммуноцитов: в Т- и В-лимфоцитах, гранулоцитах и нейтрофилах. Достаточно высокие уровни ИФН синтезируются фибробластами. В отличие от высокомолекулярных дсРНК низкомолекулярные (**рагосин**) и высокомолекулярные (**саврац, гозалидон** и **кагоцел**) производные госсипола индуцируют синтез ИФН в Т-лимфоцитах, который осуществляется без посредства макрофагов.

Основным механизмом действия полифенолов растительного происхождения является, как уже отмечалось выше, способность индуцировать продукцию ИФН. **Кагоцел** вызывает образование в организме человека так называемого «позднего» ИФН (пик активности достигается через 18-24 часа после ведения индуктора), являющегося смесью ИФН-α и -β. Помимо продук-

ции ИФН, кагоцел индуцирует выработку различными клетками других цитокинов. Проведенные на клеточных моделях исследования демонстрируют способность **кагоцела** регулировать цитокиновый профиль клеток различного происхождения и модулировать его при инфицировании клеток вирусами [2, 19, 20].

Олигопептиды. В последнее время ИИ обнаружены среди олигопептидов [48]. Один из них, **аллокин-альфа,** активирует не весь каскад иммунологических реакций организма. Он является эффективным индуктором синтеза эндогенных ИФН и активатором системы естественных киллеров. Способен стимулировать распознавание и лизис дефектных клеток цитотоксическими лимфоцитами. Способствует восстановлению функциональной активности Т-клеточного иммунитета. Применим при лечении герпетической, папиломавирусной, цитомегаловирусной, ВЭБ- инфекции и др. [8, 9]

Флюореноны. Основными продуцентами ИФН в ответ на введение флюоренонов (**амиксина**) являются Т-лимфоциты, причем синтез ИФН в ответ на индукцию **амиксином** может осуществляться в чистой культуре Т-лимфоцитов без участия вспомогательных клеток. В меньшей степени принимают участие в продукции ИФН В-лимфоциты, нейтрофилы и гранулоциты. Как иммуномодулятор **амиксин** является активным стимулятором Т-клеточного иммунитета. Он восстанавливает соотношение Т-хелперы/Т-супрессоры, повышая активность естественных киллерных клеток (ЕК) и цитотоксичность лимфоцитов. Кроме того амиксин активируют фагоцитоз. Амиксин является регулятором про- и противовоспалительных цитокинов.

В последнее время было доказано, что ИИ могут воздействовать на Т-клеточное звено иммунитета, переключая иммунный ответ с Тх1 на Тх2. Так, например, **амиксин** подавляет клеточный иммунитет и является стимулятором гуморального иммунного ответа. Увеличивая продукцию IgM и IgG, он восстанавливает соотношение высоко- и низкоавидных антител.

Применение амиксина приводит к исчерпыванию запаса лимфоцитов в селезёнке крыс и, как реакции на это, к последующей пролиферации В-лимфоцитов до тех пор, пока количество лимфоцитов не возобновится. Таким образом, амиксин приводит к смещению равновесия между Т- и В-лимфоцитами. Это может быть использовано в поддерживающей терапии при трансплантации.

Акриданоны. Продукция ИФН в ответ на введение в организм акриданонов и, в частности, **циклоферона и неовира** осуществляется в основном в В-клетках. Кроме В-клеток в синтезе ИФН принимают участие нейтрофилы и макрофаги. Т-лимфоциты не принимают участия в продукции ИФН, индуцированного акриданонами. Под действием ИФН, индуцируемого этими препара-

тами, корригируется иммунный статус при иммунодефицитных состояниях различного происхождения [26, 33].

Циклоферон обладает как прямым, так и опосредованным действиями на различные звенья иммунитета. Иммуномодулирующий эффект циклоферона выражается в стимуляции стволовых клеток костного мозга, активации макрофагов и их миграции в ткани, активации и завершении фагоцитоза. Воздействие **циклоферона** на Т-клеточный иммунитет, выражающееся в нормализации субпопуляций Т-лимфоцитов, повышении активности ЕК и цитотоксических Т-лимфоцитов, осуществляется, скорее всего, не непосредственно препаратом, а индуцированным им эндогенным ИФН. Циклоферон стимулирует также и гуморальный иммунитет, что заключается в увеличении концентрации высокоавидных антител. Кроме того **циклоферон** способствует также повышению чувствительности нейтрофилов к другим иммунокорректорам и экспрессии антигенов. Эндогенный интерферон, индуцированный циклофероном, угнетает развитие анафилактического шока, воспаления, гиперчувствительности замедленного типа, реакцию связывания комплемента. Циклоферон является индуктором синтеза мРНК для ИФН-γ, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-1, т.е. препарат является индуктором смешанного (Th1/Th2) типа иммунного ответа.

Различия в цитокиновом ответе (индукция или подавление) каждого использованного препарата могут отражать различия в их антивирусном действии, поскольку существует прямая связь между цитокиновым ответом и репродукцией вируса. Применение антивирусных препаратов может предотвратить и/или восстановить вызываемые вирусами нарушения в цитокиновой сети. Подобный подход также может быть перспективным при отборе новых антивирусных средств.

Взаимосвязь между цитокиновым ответом клеток и антивирусным эффектом была выявлена нами на модели экспериментального вируса гепатита С (ВГС), способного накапливаться в культурах клеток различного происхождения в высоких титрах.

Исследования, выполненные на линии клеток SW-13 и линии клеток МТ-4 [20], показали, что **циклоферон** подавлял размножение вируса в культуре клеток SW-13 на 1,2- 2,5 lg по сравнению с контролем и существенно (на 2,1-5,5 lg) подавлял размножение вируса в культуре МТ-4 по сравнению с контролем клеток, необработанных циклофероном. Сопоставление мРНК цитокинов, обнаруживаемых в контрольных инфицированных и зараженных, но обработанных циклофероном культурах клеток SW-13 и МТ-4, позволило предположить, что определенную роль в пода-

влении размножения ВГС в этих культурах клеток может играть индукция провоспалительных цитокинов.

Большое значение в подавлении инфекционной активности ВГС принадлежит ИЛ-4, синтез которого восстанавливается в культуре клеток МТ-4, инфицированных ВГС, в ответ на индукцию циклофероном. Определенную роль в защите клеток против вируса ВГС играет, по-видимому, ИЛ-1β, обладающий широким спектром активностей.

Известно, что одним из свойств индукторов ИФН является формирование стойкой резистентности организма к вирусам в течение длительного периода времени после их введения. Этот период может продолжаться иногда неделями [11, 12], что не может быть объяснено только действием эндогенного ИФН, синтезированного в ответ на введение индуктора, так как этот ИФН разрушается или выводится из организма гораздо раньше. Помимо того, оптимальная ИФН-индуцирующая и иммуномодулирующая дозы одного и того же препарата зачастую не совпадают. Наконец, ИФН и его индукторы могут вызывать экспрессию или подавление синтеза разных цитокинов [7, 14].

Все вышесказанное свидетельствует о том, что врожденная и специфическая резистентности организма, развивающиеся в ответ на стимуляцию ИИ, могут явиться следствием непосредственного влияния индукторов на клеточный и гуморальный иммунитеты. Так, амиксин обладает противовоспалительной активностью, по-видимому, не связанной со стимуляцией выработки ИФН. Противовоспалительная активность амиксина может быть опосредована холинергическим противовоспалительным каскадом (ХПК), поскольку показано, что данный препарат является избирательным агонистом α7 никотиновых ацетилхолиновых рецепторов [39, 42]. Как индуктор ХПК амиксин способен подавлять синтез провоспалительных цитокинов, играющих определяющую роль в развитии ряда патологий [39, 45].

Помимо врожденных, индукторы ИФН могут модулировать и специфические иммунные ответы организма. Непрямое воздействие индукторов ИФН на клетки-мишени заключается в активации макрофагов, цитотоксических Т-лимфоцитов, антителообразующих В-клеток и натуральных киллеров. Подобно **полиоксидонию** (N-оксидированное производное полиэтиленпиперозина с высоким молекулярным весом) — иммуномодулятору, применяемому при лечении острых инфекционных процессов, многие индукторы ИФН (циклоферон, кагоцел, дсРНК и др.) осуществляют свою иммуномодулирующую деятельность в результате воздействия на клетки макрофагально-фагоцитарной системы, в которые они проникают путем эндоцитоза [36].

Известно, что большие дозы ИФН при добавлении на начальных этапах синтеза антител подавляют гуморальный иммунитет. Однако эти же дозы ИФН не оказывают действия на продукцию антител после окончания периода индукции или стимулируют синтез при добавлении в конечной фазе антителообразования. Наоборот, малые дозы ИФН стимулируют гуморальный иммунитет. В отличие от ИФН, который, как правило, вводится в организм в больших дозах, подавляющих гуморальный иммунитет, индукторы вызывают стимуляцию физиологических доз эндогенного ИФН, которые усиливают антителообразование, что открывает перспективы сочетанного применения ИИ с вакцинами.

ИИ стимулируют не только продукцию ИФН, но и ряд других цитокинов, контролирующих гемопоэз и процессы иммуногенеза. Это делает перспективным применение ИИ для регуляции как клеточного, так и гуморального иммунитета [14, 36].

На примере герпесвирусной инфекции (ВПГ) нами было показано, как с помощью ИИ осуществляется модуляция противовирусного иммунитета

Как известно, вирусная инфекция индуцирует, как правило, цитотоксический иммунный ответ, опосредуемый активацией Тх-1 лимфоцитов [29]. Герпесвирусная инфекция не является исключением. У больных генитальным герпесом по сравнению со здоровыми лицами наблюдается активация **клеточного звена иммунитета,** опосредованная стимуляцией продукции мРНК ИЛ-2 — одного из цитокинов, продуцируемых Т-хелперами 1-го типа (Тх-1 клетками). Стимуляция **гуморального иммунитета** обусловлена активацией мРНК ИФН-α и ИЛ-1β, синтезируемых В-лимфоцитами, и мРНК ИЛ-4, ИЛ-6 и ИЛ10, вырабатываемых Т-хелперами 2-го типа (Тх-2 клетками).

На ранних этапах заболевания активируются механизмы врожденного иммунитета (система ИФН, NK клеток и макрофагов). Несколько позднее вступают специфические цитотоксические лимфоциты. ВПГ-инфекция стимулирует секрецию целого ряда цитокинов различными клетками-продуцентами. Роль цитокинов при формировании противогерпетического иммунитета хоть и очевидна, но неравнозначна. Продукция и секреция провоспалительных цитокинов (ИФН-α/β, ИЛ-1β, ФНО-α, ИЛ-6 и ИЛ-8) относиясь к самым ранним событиям при ВПГ-инфекции, сопутствующим взаимодействию микроорганизмов с макрофагами. Они обладают защитным эффектом при ВПГ и способствуют развитию воспалительной реакции и клеточного иммунного ответа. Этот ранний неспецифический ответ влияет на последующий специфический иммунный ответ. При заболеваниях, вы-

званных ВПГ, имеет место «парадокс постоянной иммунной реакции» против латентной инфекции [19].

Наоборот, ИЛ-4 и ИЛ-10 уменьшают воспалительную реакцию, однако, вместе с тем способствуют репликации вируса. ИЛ-12 и ИЛ-18 защищают клетки от острой ВПГ-инфекции, снижают смертность от ВПГ, способствуют развитию Тх-1 зависимого специфического противовирусного ответа скорее всего за счет усиления синтеза ИФН-γ. Эти цитокины совместно с ИФН-γ и ФНО-α являются основными в реакции врожденного (первичного) иммунитета на вирусную инфекцию. Таким образом, при ВПГ-инфекции цитокины, соответствующие активности Тх-1 клеток, способствуют уменьшению репликации вируса и ускорению клинического выздоровления, в то время как цитокины Тх-2 клеток обладают противоположным действием.

Активация ВПГ всегда происходит на фоне нарушений в цитокиновом профиле. У больных наряду с адекватным клеточным типом ответа на активацию ВПГ встречается парадоксальный тип, при котором в ответ на обострение инфекции активируется гуморальное звено иммунитета [34]. Причем в 65% случаев иммунный ответ развивается по клеточному типу, в 25% случаев — по гуморальному типу, а в 10% случаев имеет место недифференцированный иммунный ответ.

Частота рецидивов, особенности иммунитета, связанные с иммунодефицитным состоянием, создают определенные трудности лечения ВПГ и побуждают рассматривать это заболевание как серьезную проблему здравоохранения. Максимальный лечебный эффект может быть получен, как впрочем и при других хронических инфекциях, если использовать терапию, сочетающую в себе элементы этиотропного и патогенетического воздействия, которая приводила бы одновременно к подавлению инфекционного начала и нормализации иммунного и интерферонового статуса. Коррекция иммунного статуса может быть достигнута при использовании различных препаратов: ИФН, их индукторов, других иммуномодуляторов, активность которых опосредована цитокинами [34]. Однако наиболее всего подходят для этой роли ИИ, обладающие двумя указанными видами активности.

Примером эффективности лечения ИИ хронической рецидивирующей герпесвирусной инфекции гениталий (ХРГВИ) и коррекции цитокинового профиля является применение **кагоцела** [19, 23]. Эффективность лечения коррелировала с изменениями в цитокиновом профиле опытной и контрольной групп. В начале рецидива (до назначения терапии) у всех пациентов преобладали цитокины, вырабатываемые Th2-лимфоцитами (ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8 и ИЛ-10), а также ИЛ-18 и ИФН-α. В конце рецидива (на-

чале ремиссии) стали преобладать цитокины, вырабатываемые Th1-лимфоцитами (ИФН-γ и ИЛ-2) и моноцитами-макрофагами (ИЛ-1β, ИЛ-12 и ФНО-α). Причем на фоне приема кагоцела развивался преимущественно цитокиновый ответ Th1-типа, в то время как Th2-ответ подавлялся.

Все ИИ в отличие от ИФН стимулируют гуморальный иммунитет. Одним из возможных механизмов адъювантного действия ИИ может быть усиление антигенпрезентирующей функции мононуклеарных фагоцитов, а также индукции секреции ИЛ-1, необходимого для активации иммунного ответа. Другим возможным механизмом адъювантного действия ИИ является их способность поликлонально активировать В-лимфоциты. Активация лимфоцитов может осуществляться либо в результате непосредственного воздействия ИИ на В-лимфоциты, либо опосредованного синтезом ИФН 1 типа.

Строго говоря, нет четкой границы между ИИ и препаратами, которые принято относить к иммуномодуляторам [7, 14]. Среди веществ, отнесенных к ИИ, есть препараты, проявляющие слабую ИФН-индуцирующую активность, но обладающие сильными антивирусными и иммуномодулирующими свойствами (**полудан, госсипол**). Вместе с тем и среди препаратов, отнесенных к иммуномодуляторам, имеются вещества, обладающие выраженными ИФН-индуцирующими свойствами (**левамизол**, **изопринозин**, **зимозан**, **мурамилдипептид** и др.). Очень активными ИИ являются митогены Т-клеток (**фитогемагглютинин**, **конканавалин А**, **СЕА** и т.д.) и В-клеток (**липополисахариды**).

Заключение

Индукторы ИФН, обладая выраженными противовирусными и иммуномодулирующими свойствами, используются в настоящее время как эффективные средства предупреждения и лечения целого ряда заболеваний. Тот факт, что отличающиеся по своей химической природе ИИ действуют на разные этапы репродукции вирусов и различные звенья врожденного и приобретенного иммунитета, объясняет все расширяющиеся масштабы применения этой группы препаратов в медицинской практике (8).

Как следует из представленных данных, активности, свойственные ИИ, зависят от множества факторов, частично разобранных выше. Особенно важно отметить, что действие ИИ часто выходит за рамки только индукции ИФНов. Для ряда препаратов, отнесенных к ИИ, собственно индукция ИФНов является лишь одним и не всегда основным свойством. Эта проблема требует дальнейшего углубленного изучения.

Рекомендуемая литература

1. *Асланов Х. А., Ауелбеков С. А., Сайиткулов А. М. Проблемы и перспективы развития химии природных и физиологически активных веществ. Ташкент. «ФАН» 1988: 119-154.*
2. *Галегов Г. А., Наровлянский А. Н., Сарымсаков А. А. Вопр. вир. 2002. Т. 47, 4: 42-44.*
3. *Григорян С. С., Ершов Ф. И., Поверенный А. М., Попов Г. А. и др. Вопр. вир. 1988, 1: 67-70.*
4. *Деева Э. Г. Сравнительный анализ противогриппозной активности соединений ряда азоло-азинов, флуоренов и акридонов. Автореферат дисс... канд. мед. наук, СПб., 2000: 16-22.*
5. *Деева Э. Г., Павловская Я. В., Киселев О. И. и др. Вестник РАМН. 2004, 2: 29-34.*
6. *Дужак А. Б., Костомаха А. Н., Лобова Н. Н. и др. Антибиотики и Мед. Биотехнол. 1985, 1: 19-20.*
7. *Ершов Ф.И. Система интерферона в норме и при патологии. М., 1996.*
8. *Ершов Ф. И., Жданов В. М. Интерферон и гомеостаз. Вестник АМН СССР. 1985, 7: 35 -40.*
9. *Ершов Ф. И., Исаков В. А., Шульженко А. Е. и др. Герпес. 2007, 2: 25-29.*
10. *Ершов Ф. И., Киселев О. И. Интерфероны и их индукторы (от молекул до лекарств). М. 2005. 368 с.*
11. *Ершов Ф. И., Мощик К. В. Вопр. вир. 1984, 6: 706-707.*
12. *Ершов Ф. И., Мощик К. В. Вопр. вир. 1985, 1.*
13. *Ершов Ф. И., Сайиткулов А. М., Тазулахова Э. Б., Садыков А. С. Вопр. вир. 1986, 3: 335-338.*
14. *Ершов Ф. И., Тазулахова Э. Б. Антибиотики и химиотерапия. 1989, 4: 270-276.*
15. *Исаков В. А., Ермоленко Д. К., Черных М. Д. Терапия герпетической инфекции. СПб. 1993.*
16. *Киселев О. И., Ткаченко Б. И., Ершов Ф. И. Медицинский академический журнал. 2005. Том 5, 2: 76-95.*
17. *Киселев О. И., Деева Э. Г., Слита А. В., Платонов В. Г. Антивирусные препараты для лечения гриппа и ОРЗ. Дизайн препаратов на основе полимерных носителей. СПб., 2000: 77-80, 87-98.*
18. *Киселев О. И., Ткаченко Б. И., Ершов Ф. И. Медицинский академический журнал. 2005. Том 5, 2: 76-95.*
19. *Мезенцева М. В., Щербенко В. Э., Наровлянский А. Н. и др. Materia Medica. 2003, 4: 46-54.*
20. *Наровлянский А. Н., Дерябин П. Г., Вершинина М. Ю. и др. Вопр. вирусол. 2002, 6: 17-21.*
21. *Носик Н. Н., Ершов Ф. И. Вопр. вир. 1984, 3: 599-602.*
22. *Носик Н. Н., Ершов Ф. И. и др. Вопр. вир. 1984, 6: 718-720.*
23. *Оспельникова Т. П., Полонский В. О., Наровлянский А. Н.и др. Клиническая фармакология и терапия. 2004. Т.13(2): 74-76.*
24. *Павловская Я. В., Киселев О. И., Литвинчук Л. Ф. и др. Тезисы научной конференции «Новые препараты в профилактике, терапии и диагностике вирусных инфекций». СПб. 2002: 15-16.*
25. *Разворотнев В. А., Сысоева Г. М., Фадина В. А. Антибиотики и мед. биотехнология. 1987. Т.32, 4: 285-288.*
26. *Романцов М. Г., Шульдякова О. Г., Коваленко А. Л. Фундаментальные исследования. 2004, 1: 29-33.*

27. *Сайиткулов А. М., Тазулахова Э. Б., Ершов Ф. И. Вопр. вир. 1988, 6: 750-752.*
28. *Сайиткулов А. М., Халмуратов Х. А., Ауелбеков С. А. и др. Узб. биол. журн. 1988, 6: 5-9.*
29. *Садыков А. С., Ершов Ф. И., Новохатский А. С. и др. Индукторы интерферона. Ташкент. «Фан». 1978.*
30. *Соколова Т. М. Интерфероны, дсРНК и вирусы (история изучения и эволюция взглядов). «Интерферону — 50 лет», М., 2007: 81-92.*
31. *Сунамато Дзюндзо, Ивомато Иисси. «Биополимеры». Москва. «Мир». 1988: 446-466.*
32. *Тазулахова Э. Б., Козловский М. М., Чижов Н. П. и др. Вопр. вир. 1991, 4.33. Тазулахова Э. Б., Нестерчук С. Л., Мезенцева М. В. и др. Вопр. вир. 1989, 1: 72-86.*
33. *Тутушкина Т. В., Шульженко А. Е., Наровлянский А. Н. и др. Цитокины и воспаление. 2005. Том 4, 2: 59-65.*
34. *Учакин П. Н.,. Учакина О. Н, Тобин Б. В., Ершов Ф. И. Вестник РАМН. 2007, 9: 26-31.*
35. *Хаитов Р. М., Пинегин Б. В., Андронова Т. М. Отечественные иммунотропные лекарственные средства последнего поколения и стратегия их применения. Фармакология. 2002.*
36. *Чижов Н. П. Вопр. вирусол. 1985, 3: 266-279.*
37. *Шперлинг Н. В. Бюллетень сибирской медицины. 2009, 1.*
38. *Bernik T. R., Friedman S. G., Ochani M., et al. J Exp Med. 2002. V.195 (6): 781-788.*
39. *Bienvenu J., Doche C., Gutowski M. C. et al. J. Cardiovasc. Pharmacol. 1995, 25 (2): 80-84.*
40. *La Bonnardier C., Laude H. Inf. Immun. 1981. V. 32: 28-31.*
41. *Briggs C. A., Schrimpf M. R., Anderson D. J. et al. Br. J. Pharmacol. 2008. V.153 (5): 1054-61.*
42. *Carlson C. B., Beal P. A. Organic Letters. 2000. V. 10: 1979-1982.*
43. *Faghih R, Gfesser G.A., Gopalakrishnan M. Recent Pat. CNS Drug Discov. 2007. V.2 (2): 99-106.*
44. *Hiyama Y, Kuriyama K. Agents Actions. 1991. V.33 (3-4): 229-32.*
45. *Levy H. B., Quinn T. Bioactive Polym. Syst. New-York — London. 1985: 387-415.*
46. *Okada H., Kalinski P., Ueda R., Hoji A., et al. J Clin Oncol. 2011. V.29(3): 330-336.*
47. *Rubenstein M., Hollowell C. M., Guinan P. In Vivo. 2011, 25(1): 61-7.*
48. *Silin D. S., Lyubomska O. V., Ershov F. I., et al. Mikrobiol Z. 2003, 65(1-2):191-204.*
49. *Tazulakhova E. B., Parshina O. V., Guseva T S., Ershov F. I. J. Interferon Cytokine Res. 2001, 2: 65-73.*
50. *Zucca M., Scupham A., Diansani F. Abstr. 79-th Annu. Meet. Amer. Soc. Microbiol., Los Angeles, Calif. 1979-Washington (D.C.) P. 277.*

ВЫЯВЛЕНИЕ И КОРРЕКЦИЯ ИНТЕРФЕРОНОДЕФИЦИТОВ

Т. П. Оспельникова

ФГБУ «НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздравсоцразвития России, Москва

«Интерфероновый статус» был предложен Ф. И. Ершовым в 1986 г. Тогда же были разработаны методы определения интерферонового (ИФН) статуса [13], которые в последующем стали широко использоваться для определения состояния системы ИФН у больных с различными формами патологии вирусно-инфекционного и неинфекционного генеза: вирусный гепатит, грипп и ОРВИ, герпес, аутоиммунные, онко- и аллергические заболевания и другие [2, 6, 7, 10, 14, 15, 20, 21, 23, 28]. Было показано, что интерферондефицитные состояния с полным или частичным выпадением альфа- или гамма- звеньев системы ИФН постоянно наблюдаются при острых и хронически рецидивирующих вирусных инфекциях, врожденных или приобретенных ее дефектах, сопровождающих стрессорные воздействия, аутоиммунных, аллергических и онкологических заболеваниях. Как оказалось, сниженный интерфероногенез свидетельствует о прогрессировании вирусной инфекции и хронизации заболевания. В целом, **ИФН статус** как интегральный показатель функциональной активности системы ИФН позволяет в известной степени судить об иммунореактивности организма in situ. Было показано влияние на ИФН статус экзогенных препаратов ИФН-α, -β, -γ и индукторов ИФН-препаратов эндогенного ИФН.

В последующем важным дополнением к определению ИФН статуса стало выявление индивидуальной чувствительности пациента к препаратам индукторов ИФН и иммуномодуляторам, которую оценивали по нарастанию титров ИФН-α и -γ после воздействия указанных препаратов на лейкоциты периферической крови этого пациента *in vitro* [8].

Естественно, исследование ИФН статуса с определением чувствительности к препаратам следует назначать до начала терапии для выявления оптимальной чувствительности лейкоцитов крови к конкретным препаратам у конкретного пациента, что позволяет рекомендовать наиболее активные препараты для персонализированной терапии.

Ниже приводятся некоторые **результаты многолетних исследований отдела интерферонов** НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи совместно с различными клиническими базами, свидетельствующие о прямой связи между показателями продукции ИФН-α и -γ лейкоцитами крови и тяжестью заболевания и обратной связи — с количеством сывороточного ИФН [7, 22, 23, 28].

В настоящем обзоре отражены результаты исследований ИФН статуса при гриппе, инфекционно-воспалительных гинекологических заболеваниях, пиелонефрите, аутоиммунных заболеваниях (ревматические болезни, рассеянном склерозе), аллергических заболеваниях (бронхиальной астме, атопическом дерматите).

Грипп и ОРВИ

Наблюдали 253 больных гриппом и острым тонзиллитом (у всех больных был представлен лакунарной ангиной), протекающими на фоне острой респираторной инфекции. Больных с неосложненным течением гриппа, лабораторно подтвержденным, было 93 человека. В период 2000 — 2003 гг. циркулировали все три вируса: H1N1, B и H3N2 с доминированием последнего. Кроме того, наблюдали 160 больных лакунарной ангиной, протекающей на фоне гриппа и других ОРВИ. Ангина и грипп диагностированы у 68 больных, ангина и парагрипп — у 43, ангина и аденовирусное заболевание — у 49 больных [22, 28]. Диагноз респираторного вирусного заболевания у всех больных подтверждён лабораторно: обнаружением вирусных антигенов в мазках со слизистой оболочки носа методом флюоресцирующих антител и в смывах из носа методом иммуноферментного анализа, нарастанием специфических антител в РТГА.

При исследовании **ИФН статуса у больных неосложнённым гриппом** выявлена недостаточность системы ИФН со снижением титров ИФН-α (10 x 3,24 ± 0,29 $\log_2$ Ед/мл) более чем у 55%, снижением продукции ИФН-γ (3,86 ± 0,13 $\log_2$ Ед/мл) более чем у 65%, повышением титров сывороточного ИФН (3,81 ± 0,27 $\log_2$ Ед/мл) более чем у 60%, выявлением спонтанной продукции ИФН (1,4 ± 0,27 $\log_2$ Ед/мл) более чем у 55%.

При исследовании показателей клеточного иммунитета у больных неосложненным гриппом до лечения отмечено выраженное снижение относительного количества CD3+ за счет клеток субпопуляции CD8+. Фагоцитирующая активность нейтрофилов была выше нормы. Превышало норму и количество циркулирующих иммунных комплексов до лечения. По окончании лечения с применением в базисной терапии индукторов ИФН кагоцела, циклоферона произошла нормализация показателей ИФН статуса: у 90%, получавших кагоцел, и 80% — циклоферон, восстановилась способность лейкоцитов крови синтезировать ИФН-α в отличие от 55%, получавших плацебо ($p < 0,05$). У 85%, 60% и 45% соответственно восстановилась способность к синтезу ИФН-γ ($p < 0,05$). У 65%, 97% и 55% больных соответственно нормализовались показатели сывороточного ИФН ($p < 0,05$). Спонтанная продукция ИФН обнаруживалась у 10%, 3% и 15% со-

ответственно ($p < 0,05$). Можно отметить сопоставимость интерфероиндуцирующей активности кагоцела и циклоферона. При лечении испытуемыми препаратами происходила иммунокоррекция в основном Т-клеточного звена иммунитета: достоверно возрастало относительное количество CD3+, CD4+ Т-лимфоцитов, а у больных, получавших плацебо, существенных изменений количества субпопуляций CD3+ и CD4+ не происходило. Сравнительный анализ полученных данных показал, что кагоцел и циклоферон близки по иммуномодулирующему эффекту [22, 28].

У больных **гриппом, осложнённым лакунарной ангиной**, до начала лечения нарушения показателей ИФН статуса были более выраженными, чем в группах неосложнённого гриппа, свидетельствуя о более глубоком угнетении различных звеньев системы ИФН. Так, в данной группе больных отмечено снижение показателей индуцированного ИФН-α у 18 (81%) больных, получавших кагоцел и антибактериальную терапию, 5 (23%) больных, получавших антибиотики и циклоферон и у 20 (75%) больных, получавших монотерапию антибиотиками. Показатели ИФН-γ были снижены у 17 (76%), 17 (85%) и 16 (60%) больных соответственно ($p > 0,05$). Показатели сывороточного ИФН были нарушены у 15 (67%), 4 (18%) и 17 (65%) больных соответственно. Спонтанная продукция ИФН определялась у 12 (52%), 13 (65%) и 16 (60%) больных соответственно ($p > 0,05$). По окончании лечения произошла нормализация показателей ИФН статуса в целом и его отдельных показателей. Так, у больных, получавших кагоцел и антибактериальную терапию, показатели ИФН-α нормализовались у 17 (85%) больных, циклоферон и антибиотики — 17 (85%), монотерапию антибиотиками — 16 (60%) больных ($p < 0,05$). Показатели ИФН-γ нормализовались у 18 (81%), 12 (62%) и 12 (45%) больных соответственно ($p < 0,05$). Сывороточный ИФН был в норме у 18 (81%), 20 (100%) и 14 (55%) больных соответственно ($p < 0,05$). Спонтанная продукция ИФН не определялась у 17 (76%), 19 (94%) и 17 (65%) больных соответственно ($p < 0,05$).

В 2009 г. наблюдали больных со **свиным гриппом A/H1N1 sw1** ($n = 43$), у которых так же, как и при гриппе A/H3N2, определялись нейтрофильный лейкоцитоз, лимфоцитопения, недостаточность CD3+ Т-лимфоцитов за счет субпопуляций CD4+ и CD8+, активация NK-клеточного звена иммунитета, повышение содержания В-лимфоцитов с увеличением концентрации IgA, IgG и снижением IgM в сыворотке крови. Состояние системы ИФН у этих больных проявилось в недостаточности ИФН-α/γ-продуцирующей способности лейкоцитов крови 2-ой и 3-ей степени (соответственно 118 ± 13,5 Ед/мл и 12 ± 0,5 Ед/мл), что сопровождалось повышением уровня циркулирующего в крови

ИФН до 15 ± 2,5 Ед/мл и наличием продукции спонтанного ИФН (0,87 ± 0,15 Ед/мл). В цитокиновом статусе сыворотки крови выявлен повышенный уровень провоспалительных цитокинов, таких как ИЛ-6, ИЛ-8, ИФН-α и ИФН-γ. После лечения препаратом Ингавирин определялось повышение значений ИФН-α-продуцирующей способности лейкоцитов до 250 ± 31 Ед/мл (недостаточность 1 — 2 степени), ИФН-γ достигал до 18 ± 1,3 Ед/мл (недостаточность 2-ой степени). Содержание ИФН в сыворотке и продукция спонтанного ИФН снижались до значений физиологической нормы. В состоянии системы клеточного иммунитета у больных также следует отметить положительную динамику ряда иммунологических показателей: за счёт CD4+ Т-хелперов и CD8+ цитотоксических Т-лимфоцитов возрастало количество клеток CD3+. При этом отмечалась тенденция к снижению NK-клеток субпопуляций CD16+ и CD56+. Несколько снижалось исходно повышенное содержание В-лимфоцитов и IgG. В цитокиновом статусе отмечено снижение уровней исходно повышенных значений провоспалительных цитокинов ИЛ-6, ИЛ-8, ИФН-α и ИФН-γ под воздействием препарата.

Таким образом, мониторинг ИФН статуса при гриппе и гриппе, осложненном ангиной, выявил в той или иной степени в зависимости от нозологии значительное подавление показателей врожденного иммунитета, выражавшееся в угнетении продукции лейкоцитами ИФН 1-го и 2-го типов, увеличении циркулирующего ИФН, наличии спонтанного ИФН в реакции *in vitro*. После проведенного курса лечения с препаратами-индукторами ИФН отмечена тенденция к нормализации показателей ИФН статуса со снижением вирусной нагрузки и/или её отсутствием и клинической стабилизацией. В целом, следует отметить коррекцию показателей ИФН статуса с клинической картиной заболевания до лечения и после корригирующей терапии.

Инфекционно-воспалительные гинекологические заболевания

Известно, что проникновение вируса в клетку и развитие инфекционного процесса напрямую зависят от эффективности включения системы ИФН и способности клетки хозяина противостоять репродуктивным и антиинтерфероновым механизмам вирусов [38].

В этиологии любого воспаления, в том числе и воспаления внутренних половых органов женщин, большая роль принадлежит вирусам, бактериальным токсинам и др., причем микробный фактор имеет основное значение в развитии воспалительного процесса. Кроме того, хронические воспалительные гинекологические заболевания (ВГЗ) характеризуются обязательным присутствием вирусов, как правило, в виде смешанной инфекции.

Поэтому включение препаратов-индукторов ИФН в комплексную противовоспалительную терапию (КПВТ) можно рассматривать как наиболее рациональный подход лечения больных ВГЗ, поскольку индукторы ИФН, с одной стороны, обладают широким спектром неспецифического противовирусного воздействия, с другой — иммуномодулирующей способностью, т.е. корригируют нарушения как в системе ИФН, так и иммунитета в целом.

Как было нами показано, у больных ВГЗ (n = 157) при наличии дисбаланса в клеточном звене иммунитета выявляются значительные нарушения в системе ИФН. В наших исследованиях до лечения у больных были выявлены характерные при обострении вирусных инфекций нарушения показателей ИФН статуса: выраженное подавление активности ИФН-α, умеренное снижение активности ИФН-γ, выраженное повышение содержания ИФН в сыворотке крови и наличие у ряда больных спонтанной продукции клетками крови ИФН [1, 23, 24, 28].

Для лечения хронических ВГЗ применялись 2 низкомолекулярных индуктора ИФН: амиксин (пероральный путь применения) и циклоферон (парентеральный путь введения). При лечении острых ВГЗ применяли парентерально циклоферон в комплексной терапии.

Было выявлено, что ИФН статус при острых и хронических ВГЗ характеризуется своими особенностями. При ВГЗ имеется значительное угнетение как α-, так и γ-звеньев системы ИФН: хронические ВГЗ характеризуются преобладанием дефицита продукции ИФН-γ, острые ВГЗ — преобладанием дефицита продукции ИФН-α. ИФН статус при ВГЗ — информативный показатель иммунореактивности организма, отражающий хроническое (дефицит ИФН-γ) или острое (дефицит ИФН-α) течение заболевания. Низкомолекулярные индукторы ИФН (**амиксин или циклоферон)** в КПВТ при **хронических ВГЗ** способствуют коррекции ИФН- и иммунодефицита и имеют сходную терапевтическую эффективность. Применение **циклоферона** в комплексной противовоспалительной терапии при **острых ВГЗ** стимулирует систему ИФН, что ускоряет реабилитацию больных в послеоперационном периоде [23].

Хронический пиелонефрит

Хронический пиелонефрит (ХП) является самым частым заболеванием почек, причем рост заболевания неуклонно прогрессирует во всех возрастных группах [19]. Обследовано 30 больных с ХП в различные периоды заболевания: 1 группа — с латентным течением ХП без лабораторных проявлений обострения (в ремиссии), 2 группа — пациенты с обострением ХП, леченные антибиотиками в соответствии с результатами посева мочи,

3 группа — пациенты с обострением ХП, получавшие помимо базисной терапии Циклоферон по стандартной схеме. Циклоферон назначался в таблетках (300 мг/сутки) по схеме (1, 2, 4, 6, 8, 11, 14, 17, 20, 23 дни) с суммарной дозой 3,0 г. У всех пациентов определяли показатели ИФН статуса биологическим методом; у пациентов 2 и 3 группы проводилось контрольное исследование ИФН статуса после проведенной терапии [19].

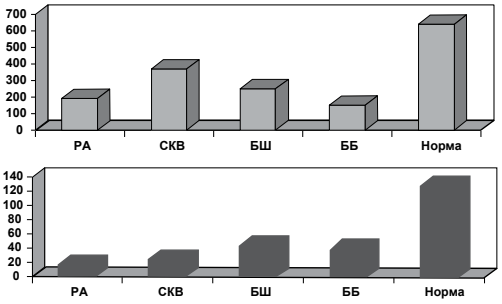
Выявлено, что у пациентов с ХП имеет место выраженная недостаточность системы ИФН по α- и особенно γ- ИФН-продуцирующей способности лейкоцитов крови, выявлено повышение уровня сывороточного ИФН у 24 (80%) больных, наличие спонтанного ИФН в реакции *in vitro* как при латентном течении пиелонефрита, так и при клинико-лабораторных проявлениях обострения ХП. На фоне терапии у всех пациентов отмечена нормализация анализов мочи, увеличение способности к продукции ИФН-α и -γ клетками крови (см. статью И. П. Кудряшовой с соавт.).

Аутоиммунные заболевания

При **ревматических заболеваниях (РЗ**) наиболее часто встречаются вирусные инфекции с длительным (месяцы и годы) инкубационным периодом и последующим медленным прогрессирующим течением, сопровождающимся развитием тяжелых клинических симптомов, иногда заканчивающихся летально [35, 37].

В наших исследованиях использован биологический материал от 350 пациентов с подтвержденным диагнозом РЗ. Проведенные исследования выявили наличие вирусной инфекции у подавляющего большинства обследованных, а также дефицит функциональной способности лейкоцитов крови к продукции ИФН [9, 11, 17, 18, 25, 27].

Представлялось уместным определить при РЗ место системы ИФН с изучением количественных и качественных параметров, позволяющих получать информацию о стадии и глубине развития патологического процесса, определять выбор наиболее эффективной формы терапии и прогнозировать последствия аутоиммунных заболеваний. Ранее разной степени выраженность ИФН-дефицитных синдромов [9, 27] описаны при СКВ, РА, системных васкулитах, хронические формы которых возможно связаны с персистирующей вирусной инфекцией. Сходные изменения ИФН статуса при этих формах патологий указывают на возможно единый механизм их возникновения (рис. 1). Таким больным показана коррекция системы ИФН препаратами экзогенного ИФН в комплексной терапии и/или стимуляция эндогенного ИФН с помощью индукторов ИФН. Положительный клинический эффект



РА — ревматоидный артрит; СКВ — системная красная волчанка; БШ — болезнь Шегрена; ББ — болезнь Бехчета.

Рис. 1. Продукция (Ед/мл) ИФН-α (верхняя часть рисунка) и ИФН-γ (нижняя часть рисунка) лейкоцитами крови при различных РЗ.

при СКВ, РА препаратами ИФН (гаммаферон, реаферон, реальдирон) является весомым подтверждением участия системы ИФН в развитии аутоиммунных заболеваний [5, 12].

Резюмируя приведенные выше данные, следует признать важную роль иммунных нарушений в развитии аутоиммунных заболеваний. Исследование системы цитокинов, отражающей функциональную активность иммунокомпетентных клеток, позволяет уточнить многие механизмы иммунопатогенеза при аутоиммунитете, необходимые для целенаправленной профилактики и терапии этого контингента больных.

Рассеянный склероз

В патогенезе рассеянного склероза (РС) ведущая роль принадлежит иммунопатологическим процессам с развитием аутоиммунных реакций [34] и указывают на недостаточность как интерферонового, так и клеточно-гуморального звеньев системы иммунитета. Недостаточность системы ИФН проявляется сниженной способностью лейкоцитов к продукции ИФН-α/γ *in vitro* [26, 31]. В клеточном звене системы иммунитета отмечено увеличение содержания активированных лимфоцитов при низком количестве цитотоксических Т-лимфоцитов, а также снижение содержания и активности натуральных киллеров [29]. Установлено, что более чем у 50% больных РС имеется сенсибилизация к основному белку миелина (ОБМ) и ганглиозидам мозга с повышенным уровнем IgG-антител к ОБМ.

С начала 80-х годов прошлого столетия в терапии РС стали применять препараты ИФН. Использование препаратов ИФН-α (реаферон, виферон) и особенно ИФН-β (бетаферон, ребиф, авонекс) оказывало положительное влияние на клинические проявления болезни, увеличение продолжительности ремиссий и изменения в результатах магнито-резонансной томографии [36]. В результате комбинированного лечения рекомбинантными ИФН 1-го типа наступает стабилизация процесса, ограничение повреждения ЦНС и улучшение клинического состояния пациентов [30]. Попытки же применения ИФН-γ в лечении РС оказались неудачными, более того, они приводили к существенно-

му утяжелению течения заболевания возможно из-за того, что ИФН-γ участвует в механизмах обострения РС.

В настоящее время ведется поиск препаратов, позволяющих увеличить продукцию эндогенного ИФН, что является более физиологичным, чем постоянное введение больших доз ИФН экзогенного [15]. К достоинствам отечественных низкомолекулярных индукторов ИФН относят их экономическую рентабельность, что особенно актуально при длительных курсах терапии РС, а также их способность проникать через гематоэнцефалический барьер. Доклинические испытания показали, что все эти препараты обладают достаточно широким спектром противовирусного действия, а также иммуномодулирующей активностью, что не менее важно, учитывая сложный этиопатогенез РС. Поиск препаратов направлен на решение комплексной проблемы: достижение и продление ремиссии; изменение течения болезни; улучшение неврологических функций; коррекция нарушений со стороны систем ИФН и иммунитета.

В связи с этим целью исследования было оценить ИФН статус в динамике больных РС и эффективность применения индукторов ИФН в комплексном лечении РС [26]. Нами на базе клинико-диагностического неврологического отделения МОНИКИ им. М. Ф. Владимирского открытым рандомизированным способом было обследовано 86 больных с верифицированным диагнозом РС, цереброспинальной формой, согласно диагностическим критериям Позера (Poser C. и др. 1983); в основном с ремиттирующим течением болезни — 67 пациентов; длительностью заболевания от 4 месяцев до 10 лет.

Под наблюдением находились больные РС легкой и средней степени тяжести с индексом прогрессирования заболевания EDSS (Expanded Disability Status Scale по J. Kurtzke) или ШИ (шкала инвалидизации в модификации Weiner H. L. и Ellison G. W.) — от 1 до 4 баллов, т.е. это были амбулаторные больные со слабо выраженными нарушениями походки, сенсорными расстройствами.

В течение 6 месяцев до первичного обращения больные получали базисную сосудистую терапию (витамин Е, трентал, пирацетам) и не получали иммуномодулирующего лечения. При проведении исследования на фоне сосудистой терапии все больные РС получали дополнительные препараты: традиционное моногормональное лечение преднизолоном (первая группа, n = 15), гормональная терапия одновременно с определенным индуктором ИФН (комбинированная терапия, вторая группа, n = 10), терапия тем индуктором IFN, к которому выявлена максимальная чувствительность лейкоцитов периферической крови (ЛПК) больного (третья группа, n = 44).

Контрольная группа была представлена больными с РС цереброспинальной формы и состояла из 17 человек (женщин — 11,

мужчин — 6) от 25 до 40 лет, которым проводили только сосудистую терапию.

У всех пациентов контролировали ИФН статус до и после лечения, выявляли индивидуальную чувствительность лейкоцитов периферической крови к индукторам ИФН с последующей рекомендацией к применению соответствующего препарата во второй или третьей группах [8].

В ходе проведенного исследования было выявлено, что пациенты с различными формами РС имели разной степени выраженности изменения в ИФН-продуцирующей способности лейкоцитов. У всех больных РС (табл. 1) ИФН-продуцирующая способность лейкоцитов по сравнению с группой практически здоровых людей была значительно снижена: ИФН-α/ИФН-γ в 4,38/2,82 раз при первично-прогредиентном течении; в 5,49/3,1 раз в стадии обострения и в 3,24/2,4 раз в стадии ремиссии ремиттирующей формы заболевания. Следует отметить, что наиболее значительное снижение α- и γ- ИФН-продуцирующей способности лейкоцитов определялось в стадии обострения ремиттирующей формы РС, что коррелировало с клиническими проявлениями заболевания. Показатели сывороточного и спонтанного ИФН у обследованных больных РС за исключением единичных случаев были в пределах нормы. Содержание IgG-антител к ОБМ у больных РС с любой формой течения заболевания было достоверно повышено (табл. 1). Причем при первично-прогредиентном течении высокий уровень антител почти в 3 раза превышал таковой при ремиттирующей форме.

Для оптимального подбора индуктора ИФН и последующего лечения у всех пациентов до начала курса терапии выявляли индивидуальную чувствительность лейкоцитов крови *in vitro* к амиксину, неовиру, циклоферону. При увеличении α- и γ- ИФН-продуцирующей способности ЛПК в 2—4 и более раз под влиянием препарата по сравнению с контролем без препарата таким больным назначали тот индуктор, на который в большей степени реагировали ЛПК пациента. Чуть больше половины (n = 54; 62,8%) обследованных больных имели выраженную чувствительность ЛПК к определенному (одному из трех представленных) индуктору ИФН. Все эти пациенты были разделены на две группы в зависимости от формы течения РС. Из них большая часть (n = 34; 63%) находилась в стадии ремиссии ремиттирующей формы заболевания (ШИ = 2,4 балла) и была включена в группу терапии индуктором ИФН (группа № III). В группу комбинированной терапии (№ II) были включены больные (n = 10; 19%) с ремиттирующим течением заболевания в стадии неполной ремиссии (ШИ = 2,6 балла).

По результатам проведенного лечения клиническое улучшение отмечалось у больных всех групп (табл. 2). Наиболее отчетливое улучшение с положительной динамикой неврологического статуса отмечено в группе больных № I, получавших впервые гормонотерапию при обострении РС, и в группе больных № III, принимавших индуктор ИФН без комбинации с гормонотерапией, в стадии ремиссии ремиттирующего течения заболевания. Можно отметить, что выявляемый изначально дефицит продукции ИФН-α лейкоцитами больных РС нормализовался в ходе терапии. Так, в группах больных с гормональной терапией (№ I) и терапией индуктором ИФН (№ III) можно отметить увеличение способности ЛПК продуцировать ИФН-α, достоверно выраженное только у больных, получавших индукторы ИФН. Продукция ИФН-γ ЛПК после проведенного лечения практически не изменялась. Лечение гормонами (№ I) или индукторами ИФН (№ III) способствовало уменьшению IgG-антител к ОБМ, тогда как в группе больных с комбинированной терапией (№ II) такая корреляция не наблюдалась. При увеличении показателей ИФН-α содержание IgG-антител к ОБМ уменьшалось.

В контрольной группе пациентов с РС около 60% составили пациенты с ремиссией ремиттирующей формы заболевания (средняя длительность РС 3,6 года). Сосудистая терапия больным РС оказала незначительное влияние как на показатели ИФН статуса, так и на уровень антител к ОБМ и ШИ (снижение показателей от 1,9 до 1,85).

Следует отметить, что в группе с гормональной терапией (№ I) в основном находились больные в стадии обострения ремиттирующего течения (n = 11; 73,3%) (средняя длительность РС 1,2 года) с необходимостью срочного купирования активного процесса. Таким пациентам назначали раннюю гормонотерапию: пульс-терапия высокими дозами метипреда в/в капельно через день по схеме: 1000 мг – 750 мг – 750мг – 500мг – 500мг с последующим назначением преднизолона в дозе 1 мг на кг массы тела больного через день с постепенным снижением дозы в течение 1,5 месяцев. В ходе терапии выявлено увеличение показателей ИФН-α-продуцирующей способности ЛПК, значительное уменьшение индекса инвалидизации (с 3,5 до 2,6) при уменьшении уровня антител к ОБМ. Однако клинические наблюдения показывают, что многократные курсы гормонотерапии у одних и тех же больных в течение заболевания оказываются малоэффективными. Поэтому наличие в арсенале средств терапии больных РС эффективных иммунокорректоров, способных заменить гормоны (возможно временно), представляет исключительную важность.

В следующей группе больных (№ II), имевших характер ремиттирующего течения заболевания в стадии неполной ремиссии (сред-

няя длительность РС 1,36 года), применили индукторы ИФН на фоне снижаемых доз гормонотерапии. После лечения, несмотря на сниженные титры ИФН-α (400,0 ± 69,28/150,0 ± 31,85; $p < 0,05$), а также высокий уровень антител к ОБМ (167,3 ± 27,71/192,9 ± 30,67), выявлено незначительное снижение коэффициента ШИ с 2,6 до 2,5 раза. По-видимому, отсутствие выраженного действия индукторов ИФН в этой группе больных нивелируется гормонами. Известно, что кортикостероиды усиливают способность CD4+ Т-клеток к синтезу ИЛ-4, а последний ингибирует высвобождение таких цитокинов, как ИЛ-1, ИЛ-12, ИФН-γ.

Более впечатляющими, чем в группе № II, оказались результаты у больных в группе № III, леченных индуктором ИФН на фоне сосудистой терапии, несмотря на их клиническую разнородность. Среди них преобладали больные с ремиттирующим течением в стадии ремиссии ($n = 34$) при средней длительности заболевания 3,4 года. Назначение этим больным индукторов ИФН выявило увеличение титров ИФН-α в 1,4 раза ($p < 0,1$) при неизмененной ИФН-γ-продуцирующей способности ЛПК и снижении уровня антител к ОБМ в 1,5 раза ($p < 0,05$) (рис. 2). С 2,4 — до лечения до 2,2 — после лечения снизился общий индекс инвалидизации, что говорит о терапевтическом эффекте этих препаратов у больных ($n = 34$, 77,3%) в стадии ремиссии ремиттирующего течения РС.

Среди больных в этой группе были 8 человек, чувствительных к амиксину (из них 5 — с первично-прогредиентным течением, 3 — в стадии ремиссии ремиттирующего течения); 10 пациентов, чувствительных к неовиру (9 — в стадии ремиссии ремиттирующего течения, 1 — с первично-прогредиентным течением); остальные 26 — чувствительны к циклоферону (22 — в стадии ремиссии ремиттирующего течения, 2 — с первично-прогредиентным течением, 2 — с вторично-прогредиентным течением). После лечения амиксином индекс инвалидизации снизился с 3,71 до 3,43; неовиром — с 2,1 до 1,83; циклофероном — с 2,3 до 2,1.

15 больных с ремиттирующим течением РС в стадии ремиссии находились под наблюдением после лечения индуктором ИФН в течение 1,3 года. Все больные имели до лечения одно обострение заболевания в 4, 6, 8 или 12 месяцев. После проведенного лечения из 6 больных, имевших обострение в течение полугода, у 4 (66,7%) — отмечена длительная ремиссия в течение наблюдаемого периода. Среди 9 больных, имевших обострение заболевания в период с 6 до 12 месяцев, у 7 (77,8%) на фоне индукторов ИФН наблюдалась стабилизация неврологического состояния на протяжении 15 месяцев. Остальные 19 пациентов из группы терапии индуктором ИФН (№ III) с ремиттирующим течением РС, нахоящиеся в стадии ремиссии и имевшие до лечения 1 обострение в 18 месяцев ($n = 4$),

в 2 года (n = 2) и более (n = 13), после лечения индукторами ИФН в наблюдаемый период не имели обострения заболевания.

У большинства исследуемых нами больных в процессе терапии была отмечена стабилизация неврологического статуса: улучшение двигательной функции, уменьшение координаторных нарушений, расстройств мочеиспускания, исчезновение нистагма, глазодвигательных и зрительных нарушений. Особого внимания заслуживает снижение частоты обострений и увеличение длительности ремиссий у больных, прошедших курс терапии индукторами ИФН 1-го типа на фоне сосудистой терапии без применения гормональных препаратов. Оценка значений ИФН статуса и антител к ОБМ в динамике выявляет тенденцию к нормализации показателей после лечения [26].

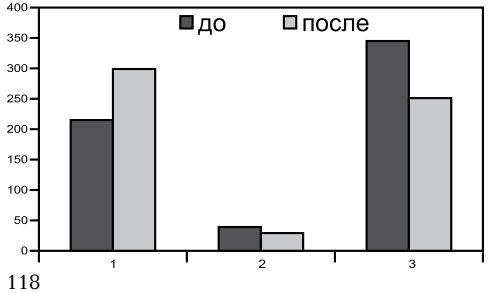
Таким образом, проведенное исследование позволило оценить состояние интерферонового и неврологического статусов больных РС с разными формами течения заболевания и предложить с помощью тестов индивидуальной чувствительности индукторы интерферона в качестве иммунокорректоров в комплексной терапии РС. Использование в терапии РС низкомолекулярных индукторов ИФН, таких как циклоферон, неовир и амиксин, позволило скорректировать имевший место дефицит в продукции ИФН-α и обеспечить позитивную динамику неврологического статуса больных на фоне снижения уровня антител к ОБМ.

Таблица 1.

Суммарные показатели продукции ИФН-α и -γ лейкоцитами и уровень антител к ОБМ у больных с разными формами течения РС (M ± m).

Показатели	Первично-прогредиентная форма течения РС (n = 16)	Стадия обострения ремиттирующего течения РС (n = 20)	Стадия ремиссии ремитттирующего течения РС (n = 45)	Практически здоровые люди (n = 25)
ИФН-α	219,4 ± 79,84***	174,95 ± 48,8***	296 ± 50,49***	960,0 ± 320,0
ИФН-γ	33,58 ± 9,92*	30,61 ± 6,48***	39,67 ± 9,58*	96,0 ± 32,0
Сывороточный ИФН	3,9 ± 0,6	4,6 ± 0,6	5,0 ± 0,6	5,0 ± 3,0
IgG антитела к ОБМ	991,67 ± 306,45**	341,8 ± 88,39**	359,6 ± 58,33***	96,0 ± 16,1

*** P < 0,05; ** P < 0,01; * P < 0,1 — достоверное различие по сравнению с практически здоровыми людьми.



Примечание:
1 — показатели ИФН-α (Ед/мл) (p < 0,1);
2 — показатели ИФН-γ (Ед/мл);
3 — уровень антител к ОБМ (мкг/мл) (p < 0,1)

Рис. 2. Мониторинг показателей ИФН-α/γ-продуцирующей способности лейкоцитов периферической крови и уровня антител к ОБМ в процессе лечения индукторами ИФН пациентов группы № III в стадии ремиссии ремиттирующего течения.

Таблица 2.

Мониторинг лабораторных (продукция ИФН, уровень IgG антител к ОБМ) и клинических (ШИ) показателей до и после лечения (M ± m).

Показатели	Группы больных в зависимости от вида терапии							
	Гормональная (№ I) (n = 15)		Комбинированная (№ II) (n = 10)		Индукторов ИФН (№ III) (n = 44)		Контрольная (n = 17)	
	До	После	До	После	До	После	До	После
ИФН-α	176,0 ± 39.19	270,0 ± 66,62	400,0 ± 69,28	150,0 ± 31,85 ***	214,9 ± 22,86	296,4 ± 35,98*	230,6 ± 34,9	213,3 ± 39,55
ИФН-γ	26,13 ± 4,95	32,8 ± 7,3	36,44 ± 11,78	32,0 ± 6,047	40,29 ± 5,44	32,79 ± 5,67	40,47 ± 7,96	33,33 ± 10,21
IgG-антитела к ОБМ	672,2 ± 223,1	402,3 ± 112,5	167,3 ± 27,71	192,9 ± 30,67	356,0 ± 33,63	243,0 ± 35,79 ***	599,1 ± 103,9	578,2 ± 120,1
ШИ	3,5	2,6	2,6	2,5	2,4	2,2	1,9	1,85

Примечание:

*** $P < 0,05$; * $P < 0,1$ — достоверное различие показателей в процессе лечения.

Аллергические заболевания

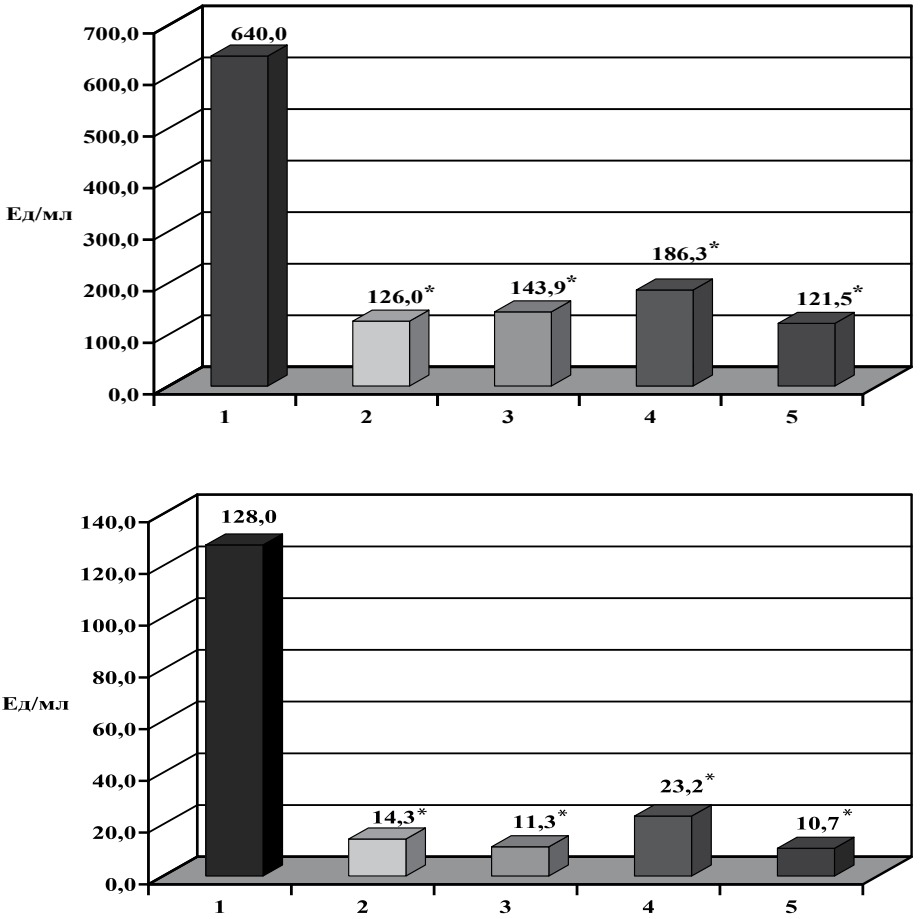
Представлялось целесообразным исследование системы ИФН у **больных бронхиальной астмой (БА)** ввиду характерных для них высокого уровня заболеваемости острыми респираторными инфекциями и возникновения обострений астмы на этом фоне [20, 32].

Больные атопической формой БА лёгкого и среднетяжелого течения в дополнение к базисной терапии получали отечественные препараты — бактериальную поликомпонентную вакцину Иммуновак ВП-4 или низкомолекулярный индуктор ИФН — Циклоферон. Имуновак ВП-4 получали 23 пациента по схеме: в течение 3-х дней препарат вводили интраназально, затем через 3—5 суток переходили к подкожному введению в дозах от 0,05 до 0,2 мл, соблюдая интервал между инъекциями 3—5 суток; циклоферон 0,15 г. получали 15 пациентов по 2 таблетки однократно в 1, 2, 4, 6, 8, 11, 14, 17, 20, 23 сутки лечения. Курсовая доза препарата составила 3,0 г. Контрольную группу составили 15 пациентов.

Основными критериями эффективности препаратов являлись уменьшение количества острых респираторных инфекций и уменьшение количества обострений заболевания в течение 1 года после иммуномодулирующей терапии, улучшение показателей ИФН статуса.

Было обследовано 86 больных с разными формами течения БА: в ремиссии — легкое течение (n = 23), среднетяжелое персистирующее (n = 33), тяжелое персистирующее течение (n = 11); в обострении (n = 19) [20]. Практически во всех группах больных, независимо от степени тяжести и фазы заболевания, отмечена выраженная недостаточность ИФН-продуцирующей способ-

ности лейкоцитов: дефицит II степени ИФН-α-продуцирующей способности лейкоцитов и дефицит II—III степени по продукции ИФН-γ лейкоцитами. Продукция ИФН-α лейкоцитами была снижена в среднем в 5—6 раз от нижней границы нормы, продукция ИФН-γ — в 6—12 раз. Отмечена тенденция к более низкой продукции ИФН-α и -γ лейкоцитами больных в фазе обострения заболевания по сравнению с больными вне обострения (рис. 3).



1 — норма, 2 — лёгкое течение БА, ремиссия, 3 — среднетяжелое течение БА, ремиссия, 4 — тяжелое течение БА, ремиссия, 5 — обострение БА, * — достоверность различий между показателями нормы и у больных БА.

Рис. 3. Продукция ИФН-α (верхняя часть рисунка) и продукция ИФН-γ (нижняя часть рисунка) лейкоцитами в норме и при БА.

У больных БА в фазе относительной ремиссии при подобном угнетении системы ИФН существует постоянная угроза обострения заболевания в случае присоединения ОРВИ.

В группах с разной тяжестью течения заболевания отмечен достоверно более высокий уровень общего IgE в группе больных с лёгким течением БА по сравнению с группой больных с тяжелым течением БА вне выраженного обострения и достоверно более частое наличие спонтанного ИФН у больных с тяжелым персистирующим течением БА по сравнению с группой больных со среднетяжелым течением заболевания.

Отмечена тенденция к более низкой продукции лейкоцитами ИФН-α (до 121,5 ± 19,5 Ед/мл) и ИФН-γ (до 10,7 ± 1,77 Ед/мл) при обострении по сравнению с пациентами вне обострения. При обострении БА уровень сывороточного ИФН-γ составил 100,8 ± 23 пг/мл, IL-4 — 18,6 ± 16,8 пг/мл, общего IgE — 607 ± 173 кЕ/л, что достоверно превышало уровень общего IgE у пациентов со среднетяжелым и тяжелым течением заболевания вне обострения. Причём при обострении БА повышенный уровень общего IgE отмечался у 18 (94,7%) пациентов, что было достоверно чаще встречаемости повышенного уровня общего IgE у пациентов вне обострения заболевания. Продукция спонтанного ИФН при обострении БА выявлена у 3 (15,7%) пациентов (табл. 3, 4).

Таблица 3.

Уровни спонтанного, сывороточного ИФН и общего IgE (количество случаев (абсолютное,%))

Группа	Сывороточный ИФН > 8 Ед/мл	Спонтанный ИФН ≥ 2 Ед/мл	Общий IgE > 100 кЕ/л
БА, лёгкое течение, ремиссия, n = 23, (1)	7 (30,4)	6 (26)	17 (73,9)
БА, среднетяжелое течение, ремиссия, N = 33, (2)	10 (30,3)	7 (21,2)	18 (54,5)
БА, тяжелое течение, ремиссия, n = 11, (3)	6 (54,5)	6 (54,5)*	3 (27,2)*
БА, обострение, n = 19, (4)	1 (5,2)**^ #	3 (15) #	18 (94,7)**^ #
Всего	24 (27,9)	22 (25,5)	56 (65,1)

* — достоверность различий между группами 1—3, p < 0,05;
** — достоверность различий между группами 1 и 4, p = 0,02;
^ — достоверность различий между группами 2 и 4, p = 0,01;
# — достоверность различий между группами 3 и 4, p < 0,05.

Таблица 4.

Иммунологическая характеристика групп.

Группа больных	Лейкоциты, x 10^9/л, M±m	Эозинофилы (%), M±m	Лимфоциты (%), M±m	Моноциты (%), M±m	Сывор ИФН, Ед/мл, M±m	Продукция ИФН-α лейкоцитами, Ед/мл, M±m	Продукция ИФН-γ лейкоцитами, Ед/мл, M±m	Сывор ИФН-γ, пг/мл, M±m	IL-4, пг/мл, M±m	Общий IgE, кЕ/л, M±m
БА, лёгкое течение, ремиссия, n = 23 (1)	5,93 ± 0,42	2,4 ± 0,67	35,1 ± 4,8	6,6 ± 0,94	8,86 ± 1,42	126,08 ± 21,3	14,34 ± 1,58	143,4 ± 59	135 ± 60,5	572,7 ± 153
БА, среднетяжелое течение, ремиссия, n = 33 (2)	6,13 ± 0,35	3,0 ± 0,58	35,0 ± 1,78	4,95 ± 0,66	9,27 ± 1,57	143,9 ± 24,2	11,36 ± 2,14	62,3 ± 9,5	43,8 ± 20,2	468,3 ± 130
БА, тяжелое персистирующее течение, n = 11 (3)	7,13 ± 0,81	4,25 ± 2,1	32,37 ± 3,57	5,7 ± 1,53	12,54 ± 2,58	186,3 ± 53,67	23,27 ± 8,92	113,6 ± 33,9	111,27 ± 89	254,5 ± 176,2*
БА, обострение, n = 19 (4)	12,6 ± 1,1**^ #	1,25 ± 0,14*	25,9 ± 1,68**^	7,0 ± 0,95	4,73 ± 0,7 #	121,5 ± 19,5	10,7 ± 1,77	100,8 ± 23	18,6 ± 16,8	607 ± 173^ #

* — достоверность различий между группами 1 — 3 , p < 0,05;

** — достоверность различий между группами 1 и 4, p < 0,05;

^ — достоверность различий между группами 2 и 4, p < 0,05;

\# — достоверность различий между группами 3 и 4, p < 0,05.

При обострении БА (n = 19) отмечен достоверно более высокий уровень общего IgE по сравнению с пациентами со среднетяжелым и тяжелым течением БА вне обострения (см. статью Н. В. Лизогуб с соавт.).

В целом, полученные результаты позволили сделать следующие выводы.

При атопической форме БА с лёгким, среднетяжелым и тяжелым персистирующим течением, независимо от фазы заболевания, выявлена выраженная недостаточность ИФН-продуцирующей способности лейкоцитов: дефицит II степени ИФН-α-продуцирующей способности лейкоцитов и дефицит II — III степени продукции ИФН-γ лейкоцитами.

Выявленное при БА вне обострения повышение сывороточного ИФН у 23 (34,3%) пациентов и наличие спонтанного ИФН ≥ 2 Ед/мл у 19 (28,3%) пациентов может косвенно свидетельствовать о наличии вирусного/бактериального инфицирования этих больных.

У подавляющего (89,9%) количества пациентов со среднетяжелыми и тяжелыми обострениями атопической БА выявлены острые респираторные инфекции вирусной и микоплазменной этиологии, причем подавляющее количество обострений ассоци-

ировано с микст-инфекциями (73,7%): вирусно-микоплазменными — 63,2%; вирусно-вирусными — 10,5%.

Существует взаимосвязь между инфицированием Chlamydia pn. и наличием тяжелого обострения БА ($r = 0,34$ при $p < 0,05$).

Включение в комплексную терапию больных атопической БА лёгкой и средней степени тяжести в фазе ремиссии бактериальной поликомпонентной вакцины Иммуновак ВП-4 способствует повышению клинической эффективности базисной терапии, приводит к стабильному повышению продукции ИФН-α лейкоцитами крови в течение полугода после вакцинации ($p < 0,05$) и достоверному снижению заболеваемости ОРВИ и обострений БА.

Включение циклоферона в комплексную терапию больных атопической БА средней и лёгкой степени тяжести приводит к повышению ИФН-α/γ-продуцирующей способности лейкоцитов, снижению заболеваемости ОРВИ и числа обострений заболевания.

В связи с выявленными нарушениями в системе ИФН представляется целесообразным при обострениях БА на фоне ОРВИ как проведение интерферонотерапии, так и применение индукторов ИФН.

Атопический дерматит

Иммунопатогенез **атопического дерматита (АД)** включает угнетение клеточного иммунитета, активацию клеточно-опосредованной аллергической реактивности. Причем степень отклонений показателей клеточного иммунитета находится в зависимости от клинических особенностей течения заболевания [33]. Известно, что ИФН-γ активирует макрофаги, способствует продукции ФНО-α и ИЛ-1β, усиливает бактерицидную активность сыворотки крови. В то же время ИФН-γ является антагонистом ИЛ-4, который выполняет функцию основного индуктора синтеза IgE. Следовательно, воздействие ИФН-γ приводит к уменьшению гиперпродукции IgE при аллергическом воспалении, что имеет важное значение в регуляции иммунного ответа при АД.

Под наблюдением находилось 28 пациентов с АД в возрасте от 18 до 25 лет [4]. Из них 20 пациентов — в стадии обострения (1-я группа) и 8 — в стадии ремиссии (2-я группа); 15 пациентов в дополнении к базисной терапии (антигистаминные, детоксикационные, гипосенсибилизирующие лекарственные средства) получали Циклоферон в инъекциях по 2,0 мл, в/м по схеме (дни инъекций 1, 2, 4, 6, 8, 11, 14, 17, 20, 23). Все пациенты имели клинические проявления с раннего детства. У всех обследованных больных АД отмечалось среднетяжелое течение заболевания (частота обострений 3—4 раза в год, длительность ремиссии 2—3 месяца), процесс нес распространенный характер (площадь поражения 46—49%).

У всех обследованных пациентов с АД выявлена недостаточность системы ИФН по продукции ИФН-α (170 ± 14,5 Ед/мл) и -γ (12,5 ± 0,9 Ед/мл) (2 и 3 степени соответственно) лейкоцитами крови. При этом у 40% больных обнаружен повышенный уровень сывороточного ИФН и наличие спонтанного ИФН у 30% больных в стадии обострения заболевания. Как отмечено ранее, несмотря на молодой возраст от 18 до 25 лет, пациенты имели длительный хронический характер заболевания (с раннего детства) с периодическими обострениями процесса.

Проведенная базисная терапия с Циклофероном оказала положительный клинико-лабораторный эффект на течение заболевания. Как видно из рис. 4, достоверная ($p < 0,05$) положительная динамика продукции ИФН-α и ИФН-γ лейкоцитами крови с тенденцией к нормализации, а также нормализация уровней сывороточного ИФН и исчезновение спонтанного ИФН в реакции *in vitro* отмечены после проведенного лечения.

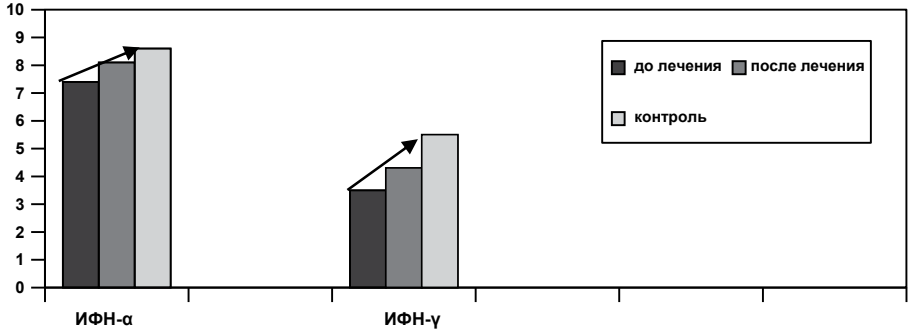


Рис. 4. Продукция ИФН-α и ИФН-γ (Ед/мл) лейкоцитами крови у больных до и после лечения (шкала $\log_2$).

В результате клинических наблюдений за пациентами в течение 6 месяцев после окончания терапии отмечена положительная динамика у всех пациентов, которые получали Циклоферон в сочетании с базисной терапией: уменьшение количества обострений в 2 раза, увеличение продолжительности ремиссий (4—6 мес.), уменьшение выраженности эритематозных проявлений и площади поражения. Следует отметить, что у пациентов, получавших только базисную терапию, также отмечалась положительная динамика после завершения курса терапии, но при динамическом наблюдении клиническая картина не менялась (длительность ремиссий и количество обострений остались прежними).

Данные клинических наблюдений других авторов свидетельствуют об эффективности препаратов ИФН и их индукторов в терапии аллергических болезней кожи [3].

Заключение.

Оценивая **информативность показателей ИФН статуса**, можно заключить, что:

- показатели ИФН статуса в целом позволяют судить об иммунореактивности организма in situ;
- повышение титров сывороточного ИФН может свидетельствовать об острой стадии заболевания;
- снижение продукции ИФН-α и ИФН-γ говорит о дефектности системы ИФН (врождённой или приобретенной) и служит показанием для ИФН-стимулирующей терапии;
- низкая продукция ИФН-γ или её отсутствие у лиц старше 60 лет при отсутствии других причин может быть преклиническим маркером онкологических заболеваний;
- восстановление (нормализация) показателей ИФН статуса обычно совпадает с процессами выздоровления;
- определение ИФН статуса в динамике при использовании препаратов экзогенного ИФН, индукторов ИФН или иммуномодуляторов может служить объективным критерием эффективности проводимой терапии у больных.

Показано, что стрессы, острые вирусные инфекции, аллергические состояния сопровождаются повышением уровня циркулирующего ИФН и снижением уровня индуцируемой продукции ИФН-α и -γ лейкоцитами. При бронхиальной астме, аллергическом рините, атопическом дерматите, крапивнице уровень циркулирующего интерферона часто коррелирует с тяжестью заболевания. Хронические вирусные инфекции (грипп, герпес, гепатит) сопровождаются подавлением показателей ИФН статуса. Это же характерно и для аутоиммунных заболеваний (системная красная волчанка, ревматоидный артрит, рассеянный склероз, неспецифический язвенный колит, псориаз). Острый лимфолейкоз, злокачественные образования сопровождаются дефицитом индуцируемой продукции, особенно ИФН-γ.

Следует заметить, что результаты исследования ИФН статуса необходимо рассматривать в комплексе с остальными лабораторными и клинико-анамнестическими данными. Снижение продукции ИФН-α и -γ, которое может быть и причиной, и следствием острых и хронических вирусных заболеваний, свидетельствует о врожденном или приобретенном дефиците системы ИФН и может рассматриваться как показание для ИФН-стимулирующей терапии.

Исследование параметров ИФН статуса используют для подбора и оценки эффективности терапии при применении препаратов экзогенного ИФН, индукторов ИФН и иммуномодуляторов.

При клинических испытаниях препаратов ИФН и их индукторов и/или в ходе их последующего клинического применения существует необходимость исследования мониторинга показателей ИФН статуса как критерия эффективности предложенной терапии.

Учитывая выраженную антитуморогенную активность ИФН-γ, его тесную связь с системой интерлейкинов и натуральных киллеров, дефицит продукции ИФН-γ у пожилых людей при отсутствии других вызывающих его причин можно рассматривать как преклинический маркер онкогенных заболеваний. В группу риска могут быть включены также часто болеющие дети и женщины детородного возраста, особенно при наличии различных гинекологических заболеваний, ассоциированных с папиллома-, герпес-, цитомегаловирусными и хламидийными инфекциями, учитывая, что, как правило, эти инфекции имеют латентный персистирующий характер.

Все вышесказанное указывает на целесообразность периодического тестирования системы ИФН у людей, и при выявлении её функциональной неполноценности необходимо проведение коррекции при помощи иммуноактивных препаратов. Научно обоснованная тактика профилактической и лечебной коррекции дефектов системы ИФН с помощью препаратов ИФН и его индукторов, а также иммуномодуляторов, позволяет повысить резистентность организма при различных патологических состояниях и, как правило, обнаруживает корреляцию с клиническими результатами. Показано, что нормализация показателей ИФН статуса обычно совпадает по времени с процессами выздоровления.

Как указывалось выше, в лечебной практике широкое распространение получил экзогенный рекомбинантный ИФН. Перспектива широкого клинического использования индукторов ИФН и иммуномодуляторов в качестве профилактики и лечения требует определения у здоровых лиц и пациентов с различными формами патологии чувствительности их лейкоцитов к этим препаратам и научно обоснованного контроля за эффективностью их действия. Определение показателей ИФН статуса и их оценка позволяют осуществить такой контроль, а также выбор адекватных (профилактических и лечебных) схем применения этих и других биологически активных препаратов.

Значимость показателей ИФН статуса велика, особенно при оценке клинического состояния как здорового индивидуума, так и больного человека. По совокупности показателей ИФН статуса можно оценить ту или иную степень недостаточности системы по способности к выработке ИФН лейкоцитами крови или же интерпретировать повышенные уровни циркулирующего ИФН в крови и его спонтанно-продуцируемый синтез.

Следует принять во внимание тот важный факт, что вовремя назначенное, индивидуально-подобранное лечение с предварительным тестом на определение чувствительности лейкоцитов конкретного человека к препаратам индукторов ИФН и/или иммуномодуляторов приведет в дальнейшем к коррекции показателей ИФН статуса этого индивидуума и более быстрой клинической стабилизации/выздоровлению.

Учитывая вышеизложенное, следует отметить, что изменения в ИФН статусе при различных формах патологии с необходимой последующей коррекцией этих нарушений связаны с применением препаратов корригирующего действия, к которым можно отнести препараты ИФН, индукторы ИФН, иммуномодуляторы.

В целом, определение ИФН статуса целесообразно при таких состояниях, как: вирусные инфекции — острые и хронические формы; аллергические и аутоиммунные заболевания; рецидивирующие оппортунистические инфекции; а также у часто болеющих детей, пожилых лиц; врождённые и приобретенные дефекты системы ИФН. Наконец, изучение ИФН статуса при клинических испытаниях таких препаратов, как ИФН, их индукторы и иммуномодуляторы. При клиническом использовании названных препаратов определение ИФН статуса позволяет оценить эффективность терапии, разрабатывать индивидуальные схемы лечения препаратами ИФН, его индукторами и другими иммуноактивными препаратами.

Рекомендуемая литература

1. *Антонова Л. В., Ершов Ф. И., Григорян С. С., Бесаева Т. П., Орлов В. Н., Оспельникова Т. П. Вестн. Росс. Ассоц. Акуш.и гинекол., 1996, № 2, с.80—83.*
2. *Белостоцкая О. И. Дисс. к. м. н. М., 1989.*
3. *Булгакова В. А, Балаболкин И. И. Педиатрическая фармакология. 2006; 5: 22—29.*
4. *Геворкян О. В., Оспельникова Т. П., Ершов Ф. И. Росс аллергол. ж. 2010, 6: 14—19.*
5. *Горячев Д. В. Дисс. к. м. н. М., 1999.*
6. *Готовцева Е. П., Ершов Ф. И. Сборник научных трудов «Интерферон 1989». М., 1989, 140—143.*
7. *Григорян С. С. Дисс. д. м. н. М., 1992.*
8. *Григорян С. С., Оспельникова Т. П., Ершов Ф. И. Методические рекомендации. М., 2000.*
9. *Григорян С. С., Балабанова Р. М., Егорова О. Н., и др. II Всеросс. съезд ревматологов. Сб. научных трудов. 1997, 42.*
10. *Егорова О. Н., Балабанова Р. М. Клиническая ревматология. 1993, 2: 51—54.*
11. *Егорова О. Н, Балабанова Р. М. Антибиотики и химиотерапия. 2006, (9—10): 18—25.*
12. *Егорова О. Н. Дисс... к. м. н. М., 1994.*
13. *Ершов Ф. И., Готовцева Е. П., Носик Н. Н. Иммунология. 1986, 3: 52—54.*
14. *Ершов Ф. И., Готовцева Е. П., Лаврухина Л. А. Вопросы вирусологии. 1990, 6: 444—448.*
15. *Ершов Ф. И. Система интерферона в норме и при патологии. М., Медицина, 1996, 239 с.*
16. *Ершов Ф. И., Киселев О. И. Интерфероны и их индукторы (от молекул до лекарств). М. «ГЭОТАР-Медиа». 2005. 356 с.*
17. *Ершов Ф. И. Антивирусные препараты. М., Мед., 1998, 189 с.*
18. *Ершов Ф. И., Оспельникова Т. П. Инфекции и антимикробная терапия. 2001, 3, 4:100—104.*
19. *Кудряшова И. П., Оспельникова Т. П., Ершов Ф. И. Тер. архив. 2011, 6; 33—36.*
20. *Лизогуб Н. В. Дисс. к. м. н. М., 2008.*
21. *Малиновская В. В., Темичева Е. В., Панасюк А. Ф., Семенова Т. Б. Вопросы вирусологии. 1991, 3: 254—256.*
22. *Машкова С. А. Дисс. к. м. н. М., 2004.*
23. *Оспельникова Т. П. Дисс. к. м. н. М., 1998.*
24. *Оспельникова Т. П., Григорян С. С., Евсеев А. А., и др. Вопросы вирусол. 1999, 3:130—133.*
25. *Оспельникова Т. П., Егорова О. Н., Балабанова Р. М., и др. Вестник РАМН. 2010, 7: 3—7.*
26. *Оспельникова Т. П., Григорян С. С., Воробьева Н. Л., и др. Аллергология и иммунология. 2006, т.7, 2: 214—218.*
27. *Оспельникова Т. П., Григорян С. С., Прокаева Т. Б., и др. II Всеросс. съезд ревматологов. Сб. научных трудов. 1997, 141.*
28. *Полонский В. О. Дисс. к. м. н. М., 2003.*
29. *Чекнев С. Б., Латышева О. Л., Прицкер А. Д. с соавт. Иммунология. 1990; 1: 55—57.*
30. *Чекнев С. Б. Научно-практич. конфер. неврологов. С-Пб., 2001; 282—283.*
31. *Чекнев С. Б., Мезенцева М. В., Ершов Ф. И. Иммунология. 2002; 5: 293—296.*
32. *Чучалин А. Г, Оспельникова Т. П., Осипова Г. Л., и др. Пульмонология. 2007, 5:14—18.*
33. *Шестакова Н. А., Борисов В. И., Пронкина Н. В. Медицинская иммунология. 2009; 6: 531—540.*
34. *Goodin D. S. Neurology. 1993, 41: 980—985.*
35. *Goodnow C. C. Cell. 2007, 130, 1: 25—35.*
36. *Mailing H. J. Eur. J. Allergy Clin. Immunol. 2001, Vol. 1, 1: 43—50.*
37. *McInnes I. B., Schett G. Nat. Rev. Immunol. 2007, 7, 6: 429—442.*
38. *Mossman K. L. Viral Immunology. 2002. Vol. 15, 1: 3—15.*

ИЗОПРЕНОИДЫ И СИСТЕМА ИНТЕРФЕРОНА

А. Н. Наровлянский, А. В. Пронин, А. В. Санин, Ф. И. Ершов

ФГБУ «НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздравсоцразвития России, Москва

Введение

В настоящее время система изопреноидов считается одной из самых филогенетически древних систем, присущих всем живым клеткам от бактерий до человека [1, 9, 10, 20, 30]. Однако остаются слабо изученными многочисленные взаимодействия изопреноидов с иммунной и интерфероновой (ИФН) системами в организме человека и животных. Тем не менее, все эти системы активируются при внедрении инфекционных агентов и в частности вирусов при различных неинфекционных заболеваниях, при злокачественной трансформации, стрессах и др. Недостаточность системы изопреноидов или дефектность ее метаболических путей могут приводить к заболеваниям различного генеза, преждевременному старению и смерти.

Изопреноиды (терпеноиды) — большая и разнообразная группа органических соединений, полученных из пятиуглеродных изопреновых единиц. Ниже представлена структурная формула такой минимальной пятиуглеродной изопреновой единицы изопентинилпирофосфата (рис. 1).

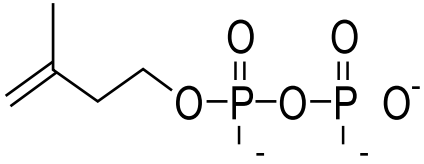


Рис. 1. Минимальная изопреновая единица — изопентинилпирофосфат.

Система изопреноидов включает изопреноиды с различным числом звеньев, а также изопреноидные хиноны и оксихиноны, убихиноны, витамины Е и К, витамин А и его производные, фосфорилированные полипренолы и другие производные полипренолов [14], а также целый спектр ферментов и метаболических путей клетки [20].

Пренолы — это ациклические изопреноидные спирты, построенные из пятиуглеродных (С5) изопреновых звеньев, соединенных между собой по принципу «голова к хвосту», и содержащие гидроксигруппу, как правило, в α-изопреновом звене. Полипренолы — подгруппа пренолов, содержащих более 4-х изопреновых звеньев. Структуры, содержащие более 8 изопреновых единиц, обычно называют полиизопреноидами [29]. Полипренолы с насыщенным (2,3-дигидро) α-звеном также называют долихолами (от греческого слова «долихос» — длинный).

На рисунке 2 представлена структурная формула полипренолов и долихолов.

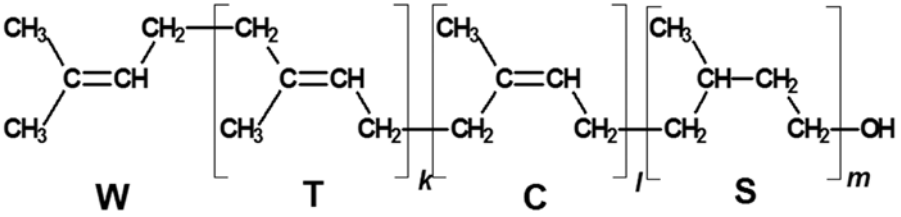


Рис. 2. Строение полипренолов и долихолов (структурная формула), где W — концевое звено; T — транс-; C — цис-; S — насыщенное звено; K + l + m + 1 = n — общее число звеньев.
Сокращенно эту формулу обычно записывают как: $WT_kC_lS_m$.

Дифосфаты короткоцепных изопреноидов служат предшественниками в биосинтезе различных классов физиологически активных веществ: линейных и циклических терпеноидов, каротиноидов, ретиноидов, стероидов, поликетидов, некоторых алкалоидов, фитоалексинов, хлорофиллов, S-пренилированных белков и др. Дифосфаты полипренолов являются донорами алкильных радикалов при биосинтезе убихинонов и менахинонов [9]. В свою очередь, монофосфаты полипренолов, образующиеся из соответствующих дифосфатов путем ферментативного дефосфорилирования, теряют способность к алкилированию. При этом они приобретают совершенно новое свойство — служат промежуточными донорами или акцепторами гликозильного или гликозилфосфатного остатка в процессе сборки углеводных цепей биополимеров. Аналогичным свойством обладают монофосфаты 2,3-дигидропренолов (долихолов) [10].

Основные пути синтеза изопреноидов в клетках хорошо изучены. Один из них — путь мевалоновой кислоты (MVA) (рис. 3) [25].

Синтез начинается с мевалоната, который в свою очередь является продуктом взаимодействия ацетилКоА и ОМГКоА редуктазы (3-окси-3-метилглутарил КоА редуктаза). Синтез мевалоната представляет обязательную ступень при образовании холестерина и изопреноидов (пренилипидов). Мевалонат превращается в 5-углеродную субъединицу изопентенилпирофосфата. Конденсация двух таких субъединиц приводит к образованию геранилпирофосфата, а трех таких субъеди-

Рис. 3. Схема биогенеза изопреноидных соединений (путь мевалоновой кислоты).

ниц — приводит к образованию фарнезилпирофосфата (FPP). Добавление четвертой субъединицы дает геранилгераниолпирофосфат (GGPP). Последующее добавление 5-углеродных субъединиц изопентенилпирофосфата и/или конденсация уже готовых FPP и/или GGPP приводит к образованию полипренолов и долихолов, а также убихинонов, витамина Е и К и других [9].

Нарушения в синтезе различных изопреноидов могут приводить к различным заболеваниям, таким как атеросклероз, диабет 2-го типа, болезнь Альцгеймера, деменции, болезням периферических сосудов и коронарных артерий, рассеянному склерозу, вирусным и аллергическим заболеваниям, остеопорозу, артритам, некоторым формам онкологических заболеваний, иммунодефицитам, наследственным нарушениям гликозилирования и др. [4, 17, 25].

Большое значение, как оказалось, изопреноиды имеют также в жизненном цикле вирусов и могут влиять на некоторые стадии вирус-клеточного взаимодействия [5]. Так, пренилирование впервые было описано для различных клеточных белков. В настоящее время стало очевидным, что вирусы могут также использовать посттрансляционную модификацию, обеспечиваемую ресурсами клетки-хозяина. Лишая вирусы доступа к пренилированию, можно тем самым эффективно воздействовать на жизненный цикл вируса [16, 23].

В работе Бланк и соавторов [12] была изучена связь между врожденным иммунным ответом на инфекцию и ИФН регуляцией изопреноидной/стероловой метаболической сети. Авторы обнаружили избирательную координированную негативную регуляцию всего пути изопреноидного биосинтеза в ответ на вирусную инфекцию или при обработке IFN-γ или -β. Количественный анализ содержания отдельных ферментов метаболизма изопреноидов при инфекции показал сходный уровень супрессии и снижение выхода метаболитов. Доказательством участия изопреноидной системы в механизмах противовирусного действия ИФН служило и то, что в присутствии избытка метаболитов геранилгераниола значительно снижалась антивирусная активность ИФН 1-го типа. Авторы провели также эксперименты с генетическим нокаутом *ifnar1 (*рецепторов для всех членов семейства ИФН 1-го типа) или *tyk2 (*компонента рецепторов, связанного с передачей ИФН сигнала) и выявили полную отмену подавления изопреноидной биосинтетической активности в ответ на инфекцию. Таким образом, сигналы, индуцируемые ИФН 1-го типа, являются необходимыми и достаточными для снижения метаболической активности изопреноидной сети на инфекцию. Все это указывало на прямую связь регуляции изопреноидного пути с интерфероновым антивирусным ответом.

Для многих вирусов установлено, что инфекция приводит к индуцированной экспрессии ИФН 1-типа и провоспалительных цитокинов[21]. Два сигнальных каскада — вирус-индуцированный ИФН-продуцирующий сигнал и опосредованный ИФН-рецепторами вторичный сигнал, регулируют систему ИФН [26]. Первый начинается при выявлении вирусных компонентов клеточными паттерн-распознающими рецепторами (PRRs) и приводит к активации факторов транскрипции — NFkB, ATF2/c-Jun, IRF3 и IRF7, которые активируют гены IFN-α и -β [21, 24, 27]. Синтезированные ИФНы затем передают вторичный аутокринный или паракринный сигнал через взаимодействие с рецепторами I-го типа. В результате активируются JAK-STAT пути и, в конечном счете, активируются ИФН-стимулированные гены (ISG) [24, 27], но при этом ингибируется стерол-регулирующий белок 2 (Srebp2), который является основным фактором транскрипции и координирует изопреноидный/стероловый путь биосинтеза [12, 22]. Srebp2 синтезируется в виде предшественника и сохраняется в мембранах эндоплазматического ретикулума. Далее при ограниченном протеолизе он активируется и виде зрелых форм входит в ядро, взаимодействует со многими генами изопреноидного пути и регулирует их экспрессию. Показано, что координированное снижение Srebp2 как на уровне синтеза белка, так и на уровне РНК-экспрессии при инфекции строго зависят от активации рецепторов ИФН 1-го типа (Рис. 4).

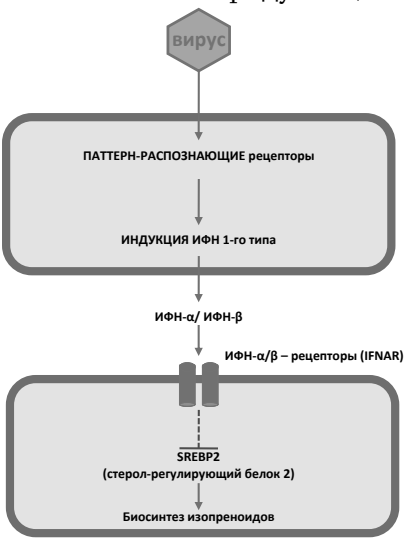


Рис. 4. Регуляция синтеза изопреноидов при вирусной инфекции и индукции интерферона 1-го типа (ИФН-I) [12].

На основе продуктов, получаемых при фосфорилировании высокоочищенных полипренолов хвои сосны, пихты или ели, в НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи совместно с ИОХ им. Н. Д. Зелинского РАН разработан противовирусный препарат «Фортепрен®» широкого спектра действия [13]. На рис. 5 представлена его пространственная модель.

Экспериментально показана активность полипренилфосфатов (ППФ) в отношении вирусов гриппа, кори, свинки, гепатита А, западного энцефаломиелита лошадей, герпеса простого I и II типа, бешенства, иммунодефицита человека, клещевого энцефалита, желтой лихорадки и др. [8, 13].

Механизмы антивирусного

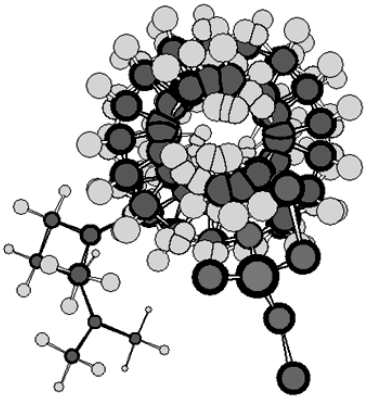


Рис. 5. Пространственная модель молекулы полипренилфосфата натрия (ППФ).

действия ППФ, по-видимому, затрагивают практически все этапы взаимодействия вируса с клеткой: ППФ действуют на уровне рецепции (предотвращают взаимодействие вируса с клеточными рецепторами), пенетрации (ингибируют проникновение вируса в клетку), репликации (подавляют транскрипцию вирусного генома и синтез вирусных белков), а также на стадии выхода вируса из клетки. Одним из механизмов действия ППФ, по-видимому, является нарушение сборки вирусных частиц у группы вирусов с внешней липидной оболочкой, имеющих при созревании стадию почкования на плазматической мембране клеток, что ведет к усиленному образованию дефектных интерферирующих вирусных частиц [2]. С помощью методов электронной микроскопии было показано, что как при прямой обработке вирусов ППФ, так и у вирусов, полученных из обработанных ППФ клеточных культур, может происходить дезинтеграция вирусной оболочки или вирусы могут иметь нарушенную структуру и терять способность инфицировать другие клетки-мишени (рис. 6).

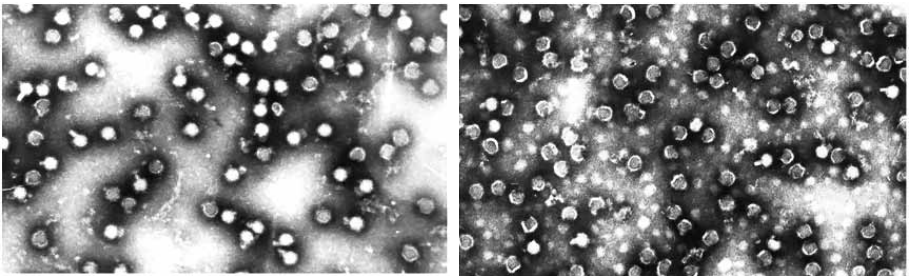


Рис. 6. Вирионы вируса клещевого энцефалита после 2-часового воздействия плацебо (слева) или ППФ (справа) [3].

Видно, что структура вируса клещевого энцефалита сохраняется в растворе плацебо, но в растворе ППФ происходит разрушение оболочки вируса.

В последующих экспериментах было показано, что ППФ подавляют образование ранних вирусных белков [3]. Так, например, ППФ в концентрации 400 мкг/мл подавляли накопление оболочечного белка Е вируса клещевого энцефалита, штамм Абсеттаров в культуре клеток СПЭВ на сроке 8 часов после заражения.

Известно, что TLR2 и TLR4 после взаимодействия с лигандами ак-

тивируют фосфолипазу Cγ (PLCγ), которая катализирует гидролиз фосфатидилинозитолбифосфата (PtdInsP2) на инозитолтрифосфат (InsP3) и диацилглицерол (DAG). InsP3 связывается с рецепторами (InsP3R) в мембране ER, что приводит к высвобождению Ca^{2+} из внутриклеточного депо. Уменьшение концентрации Ca^{2+} в ER приводит к активации кальциевых каналов (CRAC calcium-release-activated calcium) на плазматической мембране. Увеличение концентрации внутриклеточного кальция, поступающего через CRAC, приводит к активации Ca-зависимых ферментов (в частности, кальциневрина) и, как следствие, к активации NFκB [15]. В работе T. Kuritz (2009) [19] было показано, что ППФ активируют Toll-like рецепторы (TLR2 и 4) и индуцируют кальциевый сигнал в клетках ретинобластомы WERI-Rb-1 и моноцитарной линии THP-1, что в конечном счете, по-видимому, приводит к активации NFκB и индукции интерферонов [13]. Было установлено, что ППФ индуцируют продукцию ИФН 1-го и 2-го типов в сыворотке крови мышей (16 — 256 МЕ/мл). В отдельных экспериментах было показано, что ППФ также стимулировали экспрессию генов ИФН-β в моноцитарной культуре клеток J96 через 4 час и усиливали экспрессию этих генов через 24 час при совместной обработке с ВКЭ [6], тем самым подтверждая данные [24], что вирусная ИФН-индукция осуществляется через кратковременную экспрессию генов ИФН-β. При этом опережающая (или совместо с вирусом) обработка клеток ППФ приводит к вирусоподобному эффекту ИФН-β-индукции и, по-видимому, может усиливать антивирусные эффекты ИФН. Кроме того, ППФ индуцируют продукцию ряда цитокинов, в частности, служат индуктором фактора некроза опухолей альфа, оказывают модулирующее действие на продукцию интерлейкина-1 [7].

Таким образом, механизмы действия ППФ, исходя из вышесказанного, по-видимому, могут быть связаны как с прямым действием на вирус, так и с ингибированием различных стадий вирусной репродукции. Мы попытались представить схему механизмов действия ППФ (рис. 7).

Как видно из схемы, действие вирусов связано с распознаванием клеткой через свои PRRs так называемых патоген-ассоциированных молекулярных паттернов (PAMPs), что приводит через ряд сигнальных молекул к активации генов ИФН и последующей продукции клеткой ИФН-альфа/бета [21, 24]. В свою очередь, ИФН-альфа/бета через ИФН-рецепторы приводит к индукции ряда ISG и соответствующих противовирусных белков, в том числе олигоаденилатсинтетазы, протеинкиназы P, Mx и стерол-регулирующего белка 2 (Srebp2), который регулирует синтез ряда метаболитов мевалонатного пути синтеза полиизопреноидов [12]. Вирусы, которые для своего размножения используют стадии пренилирования и гли-

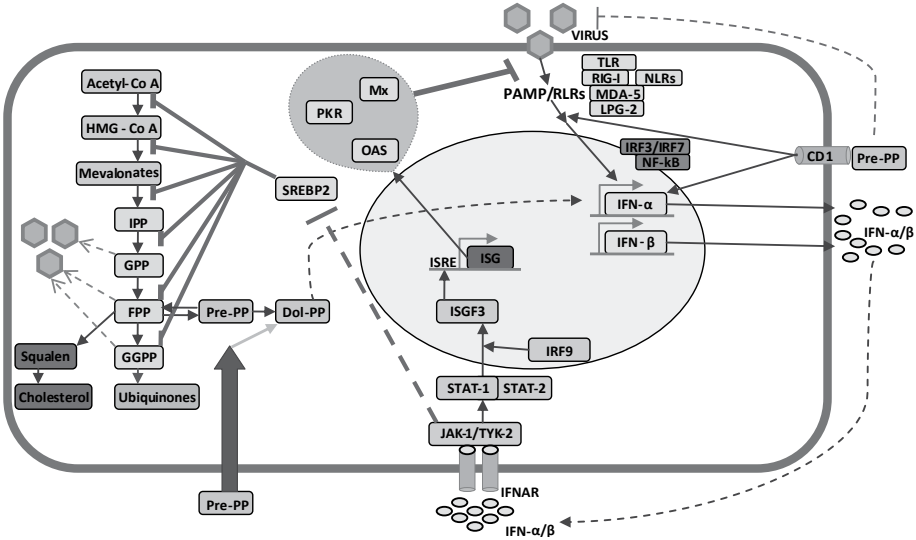


Рис. 7. Механизмы действия полипренилфосфатов (Pre-PP).

козилирования белка, не могут нормально завершить свой цикл репродукции. Кроме того, увеличение концентрации ППФ в клетках по механизму обратной связи также подавляет синтез пренолов, необходимых для вирусной репродукции. С другой стороны, введение ППФ, по-видимому, также приводит к избыточному образованию долихилфосфатов, которые, в свою очередь, дополнительно индуцируют синтез ИФНов, что приводит к так называемой «циклизации» процесса усиления противовирусного эффекта.

Таким образом, система изопреноидов играет исключительно важную роль в организме млекопитающих и человека. Пренолы и полиизопреноиды (в частности, долихолы, долихилмонофосфаты и долихилпирофосфаты) принимают активное участие в ряде жизненно-важных клеточных функций — в синтезе углеводсодержащих биополимеров, стабилизации мембран, участвуют в процессах окислительного метаболизма, принимают участие в процессинге большинства клеточных белков, осуществляя их пренилирование и гликозилирование и, тем самым, способствуя белковому транспорту [4]. Кроме того, с непосредственным участием пренолов и полиизопреноидов происходит индукция и формирование широкого спектра биологических эффектов (антивирусный, иммуномодулирующий, цитокин-индуцирующий и др.), благодаря которым может осуществляться поддержание клеточного гомеостаза и взаимосвязь с другими системами организма, в том числе с иммунной и интерфероновой.

Рекомендуемая литература

1. *Григорьева Н. Я., Моисеенков А. М. Хим-фарм. журнал, 1989, 23 (2): 144.*
2. *Деева А. В., Данилов Л. Л., Ожерелков С. В. и др. Ветеринарная патология, 2003, 3: 20—31. Кожевникова Т. Н. Автореф.канд.дисс., М, 2008, 23 с.*
3. *Наровлянский А. Н., Васильев А. Н., Савойская С. Л. и др. Ведомости научного центра экспертизы средств медицинского применения, 2007, (3): 66—78.*
4. *Наровлянский А. Н., Васильев А. Н., Савойская С. Л. и др. Юбилейный сборник «Интерферону — 50 лет», М, 2007, с.106—125.*
5. *Ожерелков С. В., Куприянов В. В., Калинина Е. С. и др. Юбилейный сборник «Интерферону — 50 лет», М, 2007, с.184—191.*
6. *(Пронин А. В.) Pronin A. V., Ozherelkov S. V., Narovlyansky A. N. et al. Russ. J. Immunol, 2000, .5: 156—164.*
7. *Санин А. В., Данилов Л. Л., Наровлянский А. Н. и др.// патент РФ № 2005475 от 01.10.1991. Зарегистрирован 15.01.1994.*
8. *Федуров В. В. Усп. совр. биол., 1990, 109 (1): 21—33.*
9. *Федуров В. В. Усп. совр. биол, 1990, 110, 3 (6): 396—409.*
10. *Alejo A., Yanez R. J., Rodriguez J. M. et al. J. Biol. Chem., 1997, 272 (14): 9417—9423.*
11. *Blanc M., Hsieh W. Y., Robertson K. A. et al. PLoS Biology, 2011, .9 (.3): 1—19, www.plosbiology.org.*
12. *Danilov L. L., Maltsev S. D., Deyeva A.V. et al. Arch. Imm. Ther. Exp., 1997, 44 (5—6): 395—400.*
13. *Fahy E., Subramaniam S., Brown H. A. et al. J. Lipid Res., 2005, .46 (5): 839—862.*
14. *Feske S. Nature Rev. Immunol., 2007, 7: 690—702.*
15. *Glenn J. S., Watson J. A., Havel C. M. et al. Science, 1992, .256: 1331—1333.*
16. *Goodacre R., Vaidyanathan S., Dunn W. B. et al. Trends Biotechnol., 2004, 22: 245—252.*
17. *Ko T. -P., Wang A. H. J. Eur. J. Biochem., 2002, 269: 3339—3354.*
18. *Kuritz T. US Patent Application Publication. Pub. N.: US 2009/0306017A1, Dec. 10, 2009, 16 p. Liang P. -H., Ko T. -P., Wang A. H. J. Eur. J. Biochem., 2002, 269: 3339—3354.*
19. *Liu S. -Y., Sanchez D. J., Cheng G. Current Opinion in Immunology, 2011, 23 (1): 57—64.*
20. *Mo H., Elson C. E. Exp. Biol. Med., 2004, v. 229, p. 567—585.*
21. *Overmeyer J. H., Maltese W. A. J. Biol. Chem., 1992, 267 (31): 22686—22692.*
22. *Paladino P., Mossman K. L. J. Interferon&Cytokine Res., 2009, 29 (9): 599—607.*
23. *Pappu A. S., Connor W. E., Merkens L. M. et.al. J. Lipid Res., 2009, March 29, p. 1—34. 2.*
24. *Platanias L. C. Nature Rev. Immunol., 2005, 5 (5): 375—386.*
25. *Poludan S. R., Bowie A. G., Horan K. A., Fitzgerald K. A. Nature Rev. Immunol., 2011, 11: 143—154.*
26. *Porter J. W., Spurgeon S. L. Biosynthesis of isoprenoid Compounds. John Wilej & Sons. NY. 1981. V. 1. 452 p.*
27. *Watson A. D. J. Lipid Res., 2006, 47: 2101—2111.*
28. *Ye J., Wang C., Sumpter R. et al. PNAS, 2003, 100 (26): 15865—15870.*

СитоПрен®

Источник бета-ситостерина и полипренолов

Новейшая разработка ученых НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи

Останови время!

Профилактика атеросклероза

- **Бета-ситостерин** снижает уровень холестерина, задерживая его всасывание в кишечнике
- **Полипренолы** и их фосфаты нейтрализуют воздействие избыточного холестерина и потенцируют действие бета-ситостерина
- Снижается риск развития гипертонии и ишемической болезни сердца

Мембранопротективное действие полипренолов и их фосфатов

- **Полипренолы** метаболизируются в долихолы, играющие ведущую роль в долихол-фосфатном цикле, и замещают их действие при дефиците долихолов в организме (хронические воспалительные, онкологические заболевания, алкоголизм, сахарный диабет, мужское бесплодие и др.)
- **Полипренолы** защищают клеточные мембраны, участвуют в гликозилировании мембранных белков, образовании гликопротеинов, глюкозаминогликанов
- **Полипренолы** способствуют восстановлению мембран клеток печени, нормализуют ее дезинтоксикационную функцию

Укрепляет иммунитет

- **Полипренолы и их фосфаты** активизируют биосинтез гликопротеинов, необходимых для образования иммуноглобулинов, α-, β- и γ-интерферонов
- Обеспечивают нормальное функционирование клеток иммунной системы
- Обладают противовирусным действием

Замедляет старение организма

Способствует профилактике аденомы предстательной железы и злокачественных опухолей

Узнайте больше о препарате СитоПрен® на **www.sitopren.ru**

СитоПрен®

Таблетки 130 мг №60

Останови время!

Регулярное применение не имеющего аналогов сбалансированного препарата **СитоПрен®** позволяет быстро и эффективно восполнить недостаток фитостеринов, полипренолов и их фосфатов в организме

2 таблетки 1 раз в день!

Преимущества СитоПрена®:

- высокая безопасность и отсутствие побочных эффектов за счет природных компонентов;
- возможность применения для пожилых, ослабленных лиц;
- эффективность малых доз за счет синергитического действия бета-ситостерина и полипренолов;
- возможность длительного приема;
- удобство применения.

СитоПрен ® показан:

- при повышенном уровне холестерина и триглицеридов в крови;
- при гипертонии и атеросклерозе;
- после перенесенных инсультов, инфарктов;
- при стрессах и переутомлении;
- пожилым людям;
- ослабленным и часто болеющим людям.

Состав:
Экстракт лапки пихты Abies sibirica: источник бета-ситостерина, содержит полипренолы.

Рекомендации по применению:
Взрослым - 2 таблетки в день во время еды. Продолжительность приема 1 месяц.
При необходимости прием можно повторить.

Перед применением рекомендуется проконсультироваться с врачом.

Противопоказания:
Индивидуальная непереносимость компонентов, беременность, кормление грудью.

Не является лекарственным средством
СоГР № 77.99.11.3.У.1829.3.10 от 12.03.2010
ТУ 9197-006-17312132-10

Производитель: ООО «ГамаВетФарм» 123098, г. Москва, ул. Гамалеи,18, Тел.: (499) 193-4355
Маркетинг и дистрибуция: ООО «РУСФАРМКО» (группа компаний «БизнесЭффект»)
127055, г. Москва, ул. Лесная д. 43, оф.431. Тел.: (499) 978-7202 www.farmenergy.ru

КОМПЬЮТЕРНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ДЕЙСТВИЯ ПРОТИВОВИРУСНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Б. В. Боев (boev@orc.ru), И. Ф. Ершов

ФГБУ «НИИЭМ им Н. Ф. Гамалеи» Минздравсоцразвития России, Москва

Введение

Эпидемиологическая ситуация в России по гриппу и острым респираторным вирусным инфекциям (ОРВИ) в «холодный период» года характеризуется высокой заболеваемостью во всех группах населения. Прежде всего, это связано с ростом числа «простудных» заболеваний — ОРЗ, вызываемых представителями семейств вирусов гриппа, парагриппа, аденовирусов, риновирусов и др. Сегодня регистрируется повышение уровня ОРЗ на 10-12% по сравнению с предыдущим десятилетием, при этом уровень заболеваемости взрослого населения г. Москвы превышает соответствующий показатель в целом по стране в 1,3 раза [1]. Следует отметить, что эта статистика по ОРЗ далеко не полная, поскольку включает только зарегистрированные случаи гриппа и ОРВИ без учета 30-35% тех заболевших, которые не обращались к врачу.

Высокий уровень заболеваемости ОРЗ (гриппом и ОРВИ) в России является серьезной государственной социально-экономической проблемой. По оценкам специалистов и экспертов 2/3 всех больничных листов тесно связаны с диагнозами грипп и ОРВИ. Так, в 2000 году общее количество заболевших гриппом и ОРВИ превысило 37 млн. человек [2], а летальность от гриппа и его осложнений в разные годы подъема заболеваемости составляла от 0,5% до 2,5% от числа заболевших [1].

Средняя продолжительность периода нетрудоспособности при гриппе или ОРВИ для городского населения России составляет 9—10 и более дней. Прямые и косвенные финансовые потери общества от гриппа и ОРВИ связаны с потерями рабочего времени в экономике, оцениваемыми ежегодно на сумму свыше 1 млрд. дол. США [1], а также с затратами населения на приобретение лекарственных и других средств (противовирусные, жаропонижающие, болеутоляющие, противокашлевые, средства от насморка, витамины и иммуностимуляторы).

В нашей работе на примере Кагоцела® показано, что использование новых антивирусных препаратов для целей профилактики и терапии гриппа и ОРВИ, обладающих клинической эффективностью, безопасностью, отсутствием побочных действий, а также доступных по стоимости, дает основание к оптимизму в части снижения заболеваемости ОРЗ.

Моделирование

Оценки эффективности препарата для терапии и профилактики гриппа и ОРВИ были использованы нами в расчетах по прогнозу показателей предотвращенной заболеваемости в городе с населением в 1 млн. человек. Прогноз проводился с помощью математической модели эпидемии гриппа «Барояна-Рвачева» [5], которая была описана в нашей работе [6].

В работе использована инновационная модель «управляемой» эпидемии гриппа и ОРВИ с феноменологией инфекционного процесса типа {**PSEI2RF**}, где: **P: p (t)** — население города; **S: x (t)** — число восприимчивых лиц в группе риска; **E: u (τ, t)** — число лиц в инкубации; **I1: y1 (τ, t)** — число больных гриппом, принимающих противовирусный препарат; **I2: y2 (τ,t)** — число больных гриппом, которым дают плацебо; **R: zr (t)** — число переболевших и иммунных (реконвалесценты); **F: zf (t)** — число умерших от осложнений гриппа среди больных (финальная стадия). Соотношения математической модели развития «управляемой» эпидемии с учетом реализации мер по профилактике **ax (t), %** и терапии **ay (t), %** препаратом Кагоцел® имеют вид системы уравнений:

Управление эпидемией

1. Меры профилактики восприимчивых лиц среди населения — $0 < \mathbf{ax\ (t) < 100, \%;}$

2. Терапия больных противовирусным препаратом — $0 < \mathbf{ay\ (t) < 100, \%.}$

плацебо — $\mathbf{(100 - ay\ (t)), \%}$

Развитие эпидемии

3. Изменение числа восприимчивых лиц в группе риска:

$\mathbf{S: dx\ (t)/dt = - u\ (0,t);}$ начальные условия: $\mathbf{x\ (t0) = \alpha * p\ (t0);}$

где α — доля восприимчивых лиц среди населения;

4. Число невосприимчивых (иммунных) лиц среди населения:

$\mathbf{Zr\ (t0) = (1 - \alpha) * p\ (t0)\ ;}$

5. Изменение числа лиц в инкубационном периоде гриппа:

$\mathbf{E: \delta u\ (\tau, t)\ /\ \delta\tau + \delta u\ (\tau, t)\ /\ \delta t = - \gamma\ (\tau) * u\ (\tau,t);}$ начальные условия:

$\mathbf{u\ (\tau, t0) = u\ (\tau);}$

6. Число лиц в инкубации гриппа:

$$\mathbf{U\ (t) = \int_0^{Tu} \gamma\ (\tau) * u\ (\tau, t)\ d\tau;}$$

7. Число лиц, вновь заболевших гриппом, которое фиксируется здравоохранением:

$$\mathbf{W\ (t) = \int_0^{Tu} \gamma\ (\tau) * u\ (\tau, t)\ d\tau;}$$

8. Тотальная заболеваемость гриппом — Sw(t):

$$Sw(t) = \int_0^{T_prognosis} w(t)\,dt;$$

9. Изменение числа инфекционных больных гриппом (терапия):

$$I1: \delta y1(\tau, t) / \delta\tau + \delta y1(\tau, t)/\delta t = ay / 100 * \gamma(\tau) * u(\tau, t) + \delta 1(\tau) * y1(\tau, t);$$

начальные условия: $y1(\tau, t0) = y1(\tau);$

10. Число больных гриппом:

$$y1(t) = \int_0^{Ty1} y1(\tau, t)\,d\tau;$$

11. Изменение числа инфекционных больных гриппом (терапия):

$$I2: \delta y2(\tau, t) / \delta\tau + \delta y2(\tau, t) / \delta t = (1 - ay1 / 100) * \gamma(\tau) * u(\tau, t) + \delta 1(\tau) * y1(\tau, t);$$

начальные условия: $y2(\tau, t0) = y2(\tau);$

12. Число больных гриппом:

$$y2(t) = \int_0^{Ty2} y2(\tau, t)\,d\tau;$$

13. Изменение числа лиц, погибших от осложнений гриппа:

$$Dzf(t) / dt = e * \int_0^{Ty2} \delta 2(\tau) * y2(\tau)\,d\tau;$$

начальные условия: $zf(t0) = 0;$

14. Изменение числа переболевших гриппом (реконвалесценты):

$$Dzr(t) / dt = \int_0^{Ty1} \delta 1(\tau) * y1(\tau)\,d\tau + (1 - e) * \int_0^{Ty2} \delta 2(\tau) * y2(\tau)\,d\tau;$$

начальные условия: $zr(t0) = zr0;$

15. Граничные условия (уравнения заражения):

$$U(0, t) = [\lambda(t) / p(t)] * [x(t) * (1 - ax)] * \left[\int_0^{Ty1} y1(\tau, t)\,d\tau + \int_0^{Ty2} y2(\tau, t)\,d\tau\right];$$

$$y1(0, t) = y2(0, t) = 0;$$

16. Изменение численности населения территории, пораженной эпидемией гриппа:

$$Dp(t) / dt = -e * \int_0^{Ty2} \delta 2(\tau) * y2(\tau)\,d\tau;$$

начальные условия: $p(t0) = p0.$

где: $u(0, t)$ — число лиц, вновь зараженных гриппом; $p(t)$ — население территории, пораженной гриппом; λ — средняя интенсивность контактов восприимчивых лиц $x(t)$ с инфекционными больными $\{y1(t), y2(t)\}$ при бытовых или иных контактах;

Ty1 – максимальная длительность инфекционного периода гриппа (дней) с учетом терапии; **Ty2 –** максимальная длительность инфекционного периода гриппа (дней) без терапии; **t –** календарное время развития эпидемии (дни); $\tau = (t - t_{inf})$ **–** время, прошедшее с момента заражения гриппом отдельного лица (дней); $0 < t_{inf} < t$ **–** момент заражения гриппом (день); **ax (t) / 100 –** доля восприимчивых лиц среди населения, которым проводится профилактика препаратом; **(1 – αx (t) / 100)** — доля восприимчивых лиц среди населения с профилактикой плацебо; **ay / 100** — доля больных гриппом, которым проводится терапия препаратом; **(1 – αy / 100) –** доля больных гриппом с терапией плацебо.

В уравнениях (1-16) были определены исходные значения «параметров» эпидемии ОРЗ**:** 1) $\lambda = 1.60$ — средняя интенсивность контактов восприимчивых с инфекционными больными (через воздушно-капельный механизм передачи); 2) $\alpha = 0.40$ —доля восприимчивых лиц среди населения (группа риска заражения гриппом); 3) $0 \le \gamma(\tau) \le 1$ — вероятность (риск) развития заболевания (появление симптомов гриппозной инфекции с момента заражения); 4) $0 \le \delta 1(\tau) \le 1$ — вероятность (риск) окончания инфекционного периода гриппа у больных с терапией препаратом; 5) $0 \le \delta 2(\tau) \le 1$ — вероятность (риск) окончания инфекционного периода гриппа у больных без терапии (плацебо); 6) $e = 1.5\%$ — коэффициент смертности среди больных от осложнений гриппа; 7) $Tu = 5$ — максимальная длительность инкубационного периода гриппа (дни); 8) $Ty1 = 9$ — максимальная длительность инфекционного периода у больных гриппом с терапией (дни); 9) $Ty2 = 12$ — максимальная длительность инфекционного периода у больных без терапии гриппа (дни).

Расчеты по математической модели эпидемии ОРЗ проводились по исходным данным из таблицы 1, которые были «загружены» в меню компьютерной программы эпидемии **EpidFlu-2010.**

Таблица 1.

Настройки модели и начальные условия эпидемии гриппа

Вариант эпидемии гриппа	Инкубационный период, дни	Инфекционный период, дни	В инкубации U (0), чел.	Больные y1 (0), y2 (0)
Опытная (Кагоцел®)	От 1 до 5	от 5 до 9	100	60, 20
Контрольная (Плацебо)	От 1 до 5	от 5 до 12	100	60, 20
Начальные условия эпидемии (u (0), y1 (0), y2 (0)) на момент обнаружения гриппа в городе.				

Компьютерная программа

Ввиду того, что математическая модель эпидемии гриппа не имеет аналитического решения (список конечных формул прогнозирования), нами была разработана соответствующая компьютерная программа.

Программа многократно использована в расчетах по оценке ИЭ и показателей предотвращенного числа больных **y (t) = y1 (t) + y2 (t)** и умерших **zf (t)** от осложнений гриппа в сезон заболеваемости среди населения крупного города. Расчеты проводились для нескольких сценариев развития событий (см. табл. 1 и 2) в крупном городе с населением 1 млн. человек при числе восприимчивых в группах риска **x (t0) = 400** тыс. человек (40% от населения).

Таблица 2.

Система сценариев развития эпидемии гриппа (меры терапии и профилактики)

Тип эпидемии, сценарий	Профилактика	Терапия	% охвата населения города
Контрольная эпидемия C_1	плацебо	плацебо	Ax = 0.0; ay = 0.0;
Опытная эпидемия C_2	плацебо	препарат	Ax = 0.0; ay = 75;
Опытная эпидемия C_3	препарат	плацебо	Ax = 25; ay = 0.0;
Опытная эпидемия C_4	препарат	препарат	Ax = 25; ay = 75;
Опытная эпидемия C_5	препарат	препарат	Ax = 30; ay = 80;

Для оценки ИЭ и показателей предотвращенного числа заболевших гриппом и умерших от осложнений гриппа при реализации мер терапии и профилактики препаратом Кагоцел в компьютерную программу были введены исходные данные по 5-и сценариям (**C_1, ..., C_5)** и проведены расчеты.

Результаты и обсуждение

Оценки ИЭ мер терапии и профилактики. Для расчета предотвращенного числа заболевших ОРЗ и умерших от гриппа при мерах профилактики и терапии препаратом Кагоцел® или плацебо в компьютерную программу были последовательно введены исходные данные по 4-м сценариям (**C_1 — контрольная эпидемия и C_2, C_3, C_4, C_5 — опытные эпидемии)**. Расчеты проводились по двум компьютерным программам (программа эпидемии ОРЗ и программа для сравнения 2-х эпидемий). Алгоритм вычислений по этим программам содержит следующие шаги:

Шаг_1 — расчет параметров контрольной эпидемии ОРЗ по сценарию C_1, когда для профилактики и терапии применялся только плацебо.

Шаг_2 — расчет параметров опытных эпидемий ОРЗ последовательно по сценариям C_2, C_3 и C_4, когда применялся препарат Кагоцел® или/и плацебо**.**

Шаг_3 — последовательное сравнение 2-х расчетных эпидемий (контрольной и любой опытной) и оценка локальных значений ИЭ на основе расчетных оценок числа предотвращенных случаев заболеваний Sw (t)) и умерших от осложнений гриппа zf (t) среди населения города (табл. 3).

Таблица 3.

Результаты расчетов по эпидемиям (основные переменные) ОРЗ

Тип эпидемии	Общее число заболевших, чел., %.		Общее число умерших, чел., %	
	Число заболевших	% заболевших	Число умерших	% умерших
1. Оценка влияния мер терапии больных (ау = 75%)				
Контрольная С_1	380862	100	5713	100
Опытная С_2	369485	97,01	1386	24,26
Предотвращено	11377	2,99	4327	75,74
ИЭ_Т (75%) = 380862 / 369485 = 1.03				
2. Оценка влияния мер профилактики восприимчивых (ах = 25%)				
Контрольная С_1	380862	100	5713	100
Опытная С_3	347093	91.13	5208	91,16
Предотвращено	33769	8,87	505	8,84
ИЭ_П (25%) = 380862 / 347093 = 1.097				
3. Оценка мер профилактики и терапии одновременно (ах = 25%, ау = 75%)				
Контрольная С_1	380862	100	5713	100
Опытная С_4	323456	84.92	1213	21,23
Предотвращено	57406	15,07	4500	78,76
ИЭ_П (25%) Т (75%) = 380862 / 323456 = 1.177				

Из таблицы 3 следует, что за счет применения препарата Кагоцел® для профилактики восприимчивых и терапии больных формируется локальный фактор влияния препарата на эпидемию. При этом наблюдается небольшой рост ИЭ (от 1.0 до 1.177), что обеспечивает до 57 тыс. предотвращенных случаев заболевания гриппом или на уровне 15.07% от максимального числа заболевших. Этот факт следует учитывать при разработке комплекса мер противодействия эпидемии гриппа (вакцинация, выявление и изоляция больных и др.).

Сравнение 2-х эпидемий гриппа A(H1N1)/K в 1 млн. городе дает положительный эффект от применения препарата Кагоцел® (25% — профилактика и 75% — терапия). Кроме того, оценка расчетных значений индексов эффективности из таблицы 6 позво-

ляет составить упрощенную модель прогнозирования индекса ИЭ в зависимости от мер профилактики и терапии препаратом Кагоцел — (**ax%, ay%**):

ИЭ_ПТ (ax%, ay%) = 1.0 + Kx * ax (t)% + Ky * ay (t)% + Kxy * (ax (t)% * ay (t)%);

где: ИЭ_ПТ(ax%, ay%) — интегральный индекс эффективности мер профилактики и терапии для эпидемии гриппа; Kx (ax%) — коэффициент чувствительности по мерам профилактики; Ky (ay%) — коэффициент чувствительности по мерам терапии, Kxy (ax%, ay%) — коэффициент синергии (взаимодействия) мер профилактики и терапии.

В таблице 4 приведены расчетные значения коэффициентов чувствительности мер профилактики и терапии гриппа (**Kx, Ky, Kxy)**, позволяющие сделать объективное заключение о степени влияния мер профилактики и терапии препарата на эпидемию.

Таблица 4.

Алгоритм расчета коэффициентов чувствительности (Kx, Ky, Kxy) модели ИЭ

Сравнение сценариев эпидемий	Влияние на ИЭ_ПТ		Причинно-следственная связь	
	Воздействие	Индекс	Коэффициент	Примечание
C_1, C_2	ax = 0, ay = 75	ИЭ_Т = 1.03	Ky = 0.000133	Терапия
C_1, -C_3	ax = 25, ay = 0	ИЭ_П = 1.097	Kx = 0.00352	Профилактика
C_1, -C_4	ax = 25, ay = 75	ИЭ_ПТ = 1.177	Kxy = 0.0000856	Профилактика и терапия
Модель синергетического воздействия препарата Кагоцел® на эпидемию гриппа A(H1N1)/K **ЭИ_ПТ (ax, ay) = 1.0 + 0.000133 * ay (t) + 0.00352 * ax (t) + 0.000085y * (ax (t) * ay (t))**				

Из таблицы 4 следует, что ведущую роль воздействия препарата Кагоцел® на эпидемию гриппа A(H1N1)/K играют меры по профилактике восприимчивых лиц в сравнении с мерами терапии больных (во много раз) — Kx / Ky = 0.00352 / 0.000133 = 26.4. Кроме того, процесс воздействия мер профилактики и терапии препаратом Кагоцел® носит синергетический характер, когда в «живой системе» два ее элемента оказывают большее воздействие, чем сумма локальных воздействий элементов по отдельности. Принцип синергии для ИЭ имеет вид нелинейной причинно-следственной связи — **Kxy * (ax * ay) = 0.0000856 * (ax * ay).**

В таблице 5 приведены оценки заболеваемости эпидемии гриппа с мерами профилактики и терапии (ax = 30, ay = 80) с показателем ИЭ_ПТ = 1.4174, что позволяет оценить число предотвращенных случаев гриппа — 275 тыс. человек.

Таблица 5.

Результаты расчетов по модели ИЭ_ПТ(ax = 30%, ay = 80%) для эпидемии A(H1N1)/K

Тип эпидемии	Общее число заболевших, чел., %		Общее число умерших, чел., %	
	Число заболевших	% заболевших	Число умерших	% умерших
Оценка влияния мер терапии больных				
Контрольная C_1	380862	100	5713	100
Опытная C_5	304878	80.05	915	16.01
Предотвращено	75984	19.95	4798	83.98
ИЭ_ПТ = 392677 / 277040 = 1.249				

Оценки ИЭ из таблиц 2 и 3 позволяют рассчитать уровень экономического ущерба от эпидемии ОРЗ при реализации различных стратегий мер профилактики и терапии препаратом (контрольная эпидемия — C_1, опытные эпидемии — C_2, C_3, C_4 и C_5).

Оценки ущерба. В таблицах 6 и 7 приведены прогностические оценки тотальной заболеваемости гриппом и ОРВИ в 6-и городах России, когда один случай заболевания «стоит» для городского здравоохранения около 5 тыс. рублей (в ценах 2010 года).

Таблица 6.

Предварительные оценки заболеваемости ОРЗ по сценариям C_1, C_2, C_3 и C_4 в 6-и городах России при массовом использовании препарата Кагоцел®

Город	Население, чел.	Общее число заболевших, чел.			
		Сценарий C_1	Сценарий C_2	Сценарий C_3	Сценарий C_4
Ростов-на-Дону	1107300	421736	409137	384453	*358166*
Челябинск	1066000	406004	393875	370112	*344806*
Волгоград	1025900	390728	379056	356187	*331835*
Уфа	1011100	385091	372265	351048	*327047*
Пермь	981200	373701	362537	340665	*317375*
Красноярск	922500	351340	340845	320282	*298386*
Всего	*6114000*	*2328600*	*21555844*	*2122747*	*1977615*

Таблица 7.

Предварительные оценки ущерба (млн. руб.) от заболеваемости гриппом по сценариям С_1, С_2, С_3 и С_4 для эпидемии в 6-и крупных городах России

Город	С_1-С_4 (эффект)	Сценарий С_1	Сценарий С_2	Сценарий С_3	Сценарий С_4
Ростов-на-Дону	317,85	2108.68	2045,685	1922,265	*1790,83*
Челябинск	305,99	2030.020	1969,375	1850,56	*1724,03*
Волгоград	294,465	1953,64	1895,28	1780,935	*1659,175*
Уфа	290,22	1925,455	1861,325	1755,24	*1635,235*
Пермь	281,63	1868,505	1812,685	1703,325	*1586,875*
Красноярск	264,77	1756,7	340845	1601,41	*1491,93*
Всего	*1754,925*	*11643*	*107779,22*	*10613,735*	*9888,075*

Из таблиц 6 и 7 следует, что локальные эпидемии ОРЗ в 6-и городах страны (население в 6.11 млн. чел.) могут привести к ущербу в 11643 млрд. рублей в очередной сезон подъема заболеваемости. Однако за счет применения препарата Кагоцел® открывается возможность понизить ущерб на 1.754 млрд. рублей и предотвратить заражение гриппом около 350 тыс. человек из 6 млн. населения.

Заключение

Рассмотренный здесь подход позволяет использовать экспериментальные данные и характеристики клиники развития гриппа, а также оценку лечебно-профилактической эффективности этиотропных препаратов профилактики и терапии гриппа для составления прогнозов заболеваемости и оценить возможный ущерб от эпидемий и вспышек гриппа в городах страны.

Математическая модель эпидемии ОРЗ и ее компьютерная программа могут быть использованы экспертами и специалистами органов здравоохранения для получения оперативной прогностической информации по заболеваемости и смертности населения от эпидемии гриппа.

Часто такая информация необходима для постановки и решения задач планирования комплекса мероприятий по ограничению эпидемий гриппа и повышению степени готовности органов здравоохранения крупных городов к процессам эпидемического распространения ОРЗ на территории всей страны. Безусловно, ключевым компонентом процедур планирования и подготовки специалистов к ожидаемой эпидемии гриппа на территории страны является необходимость в создании за-

пасов противовирусных препаратов (2-ой и 3-ей групп) и других средств противодействия эпидемии гриппа и ОРВИ.

Применение препарата Кагоцел® для профилактики восприимчивых лиц и терапии больных гриппом создает условия для ограничения масштабов распространения пандемического варианта гриппа A(H1N1)/K, что может быть хорошим дополнением к другим противоэпидемическим мерам (вакцинация, экстренная профилактика и др.).

Рекомендуемая литература

1. *Ершов Ф. И. Антивирусные препараты. Справочник. М.: Медицина, 2006; 311 с.*
2. *Карпухин Г. И. Профилактика и лечение гриппа. Л.: Медицина, 1991; 191 с.*
3. *Киселев О. И., Ершов Ф. И., Быков А. Т., Покровский В. И. Пандемия гриппа 2009/2010: противовирусная терапия и тактика лечения. Санкт-Петербург-Москва-Сочи. 2010; 98 с.*
4. *Боев Б. В. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2010, 1 (50): 52—57.*
5. *Боев Б. В. Бюллетень проблемной комиссии «Грипп и гриппоподобные инфекции (включая особо опасные формы гриппозной инфекции). Фундаментальные и прикладные аспекты изучения». С-Петербург. 2008: 30—42.*
6. *Боев Б. В., Ершов Ф. И. Вестник РАМН, 2009, 9: 3—12.*
7. *Бароян О. В., Рвачев Л. А., Иванников Ю. Г. Моделирование и прогнозирование эпидемий гриппа на территории СССР. Москва.: ИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи. 1977; 546 с.*
8. *Белоусов Ю. Б. с соавт. Качественная клиническая практика, 2002; спецвыпуск «Профилактика и лечение ОРВИ»: 3—4.*
9. *Ершов Ф. И. Система интерферона в норме и при патологии. М.: Медицина, 1996; 240.*
10. *Ершов Ф. И. и соавт. Индукторы интерферона — новое поколение иммуномодуляторов. Terra Medica. 1998; (2): 2—7.*
11. *Нестеренко В. Г. с соавт. Rus. J. Immun. 2004; 9 (suppl 1): 174.*
12. *Машкова С. А. с соавт. Приложение к журналу «Клинические исследования лекарственных средств в России». М., 2003; 264—265.*
13. *Меркулова Л. М. с соавт. Клин. фарм. и тер. 2002; (5): 21—23.*

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ОФТАЛЬМОИММУНОЛОГИИ

Е. А. Клещева, С. А. Кочергин, Г. М. Чернакова
ГОУ ДПО РМАПО Росздрава, г. Москва

Изучение закономерностей иммунной регуляции воспалительных процессов открывает целый ряд перспектив для лечения множества острых и хронических заболеваний в разных областях медицины, в том числе и в офтальмологии. Высокая социальная значимость органа зрения обуславливает особый, пристальный подход к изучению воспалительных заболеваний глаз. Вирусные, бактериальные, а также разнообразные микст-инфекции имеют широкое распространение и нередко отличаются длительным хроническим течением. Многие авторы полагают, что в основе патогенеза значительной части воспалительных заболеваний глаз лежат нарушения иммунологического реагирования — как местного, так и общего характера [3, 6, 10, 13, 14, 17].

Особенности иммунологических реакций в тканях глазного яблока в норме и при патологии

Большое количество современных исследований позволяет говорить об иммунной обособленности органа зрения [16, 29, 30, 33, 34]. Еще в пятидесятых годах прошлого столетия английский биолог П. Б. Медавар [30] в экспериментальных исследованиях установил, что чужеродные ткани, помещенные внутрь глаза, могут находиться там достаточно долго «незамеченными» иммунной системой. Помещенные же в другие области живого организма те же ткани отторгаются в результате иммунологического конфликта между донором и реципиентом. Локальная регуляция иммунного ответа на интраокулярный трансплантат такова, что чужеродные ткани в глазу приживаются, что и было расценено как «иммунная привилегия» глаза [7, 28]. «Иммунная привилегия» задается анатомическими, физиологическими и иммунорегуляторными процессами и запрограммирована, в основном, на генетическом уровне [23, 29]. В доступной литературе имеется ряд публикаций, посвященных механизмам иммунного реагирования тканей глаза [16, 33, 34, 39, 43].

Любое воспаление может обернуться снижением или даже утратой зрения, и в этой связи глаз обладает несколькими стратегиями сдерживания воспалительных процессов. Во-первых, гематоофтальмический барьер (сосуды радужки и эпителий цилиарного тела, пигментный эпителий и сосуды сетчатки) в значительной степени (хотя и не полностью) препятствует доступу в глаз разных молекул и клеток, в частности эффекторных

Т-клеток и антител. Однако при нарушении гематоофтальмического барьера (вследствие воспаления, травмы и других причин) иммунологически неактивные в норме интраокулярные ткани могут активироваться вследствие увеличения продукции лимфокинов и интерферонов (ИФН). К таким потенциально «иммунокомпетентным» областям относятся центр и периферия роговицы, ее эндотелий, радужка, цилиарное тело, трабекула, пигментный эпителий сетчатки [8].

Во-вторых, к факторам сдерживания интраокулярного воспаления относят также отсутствие в глазу лимфатических сосудов, а также сниженные экспрессия и презентация антигенов главного комплекса гистосовместимости классов I и II. Кроме того, из литературных источников известно, что в лимбальной зоне глаза локализуются клетки, обладающие фенотипом мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток, обладающих супрессивным эффектом [15].

В-третьих, известно, что в селезенке происходит индукция периферической толерантности к антигенам глаза [42]. Этот процесс обеспечивается селективной миграцией антиген-презентирующих клеток из глаза гематогенно в маргинальные зоны селезенки. В этих мультиклеточных группах (кластерах) наивные антигенспецифичные Т-клетки превращаются в Т-регуляторные клетки, обладающие способностью супрессировать иммунный ответ как по Тх1, так и по Тх2 пути.

И, наконец, четвертая группа факторов обуславливает локальное иммуносупрессивное и антивоспалительное микроокружение путем секреции цитокинов, факторов роста и нейропептидов во внутриглазных жидкостях, а также за счет экспрессии ингибирующих и нейтрализующих молекул паренхиматозными клетками глаза.

Таким образом, становится очевидным, что «иммунная привилегия» глаза формируется за счет согласованной работы множества структурно-функциональных механизмов, в том числе и тех, которые уникальны только для глаза [19, 33, 34, 36, 39].

Кроме вышеперечисленных факторов важную роль в торможении иммунного ответа в глазу на воздействие любого чужеродного агента или аутоантигена играют экспрессия на поверхности интраокулярных клеток ряда мембранных молекул, в том числе молекул апоптоза Fas-лиганд (мембранный ингибитор активации комплемента), и иммуносупрессивное микроокружение тканей глаза. Так, Fas-лиганд, противодействуя образованию каскада комплемента, в норме предотвращает иммунозависимый клеточный лизис (апоптоз). Иммуносупрессивное окружение тканей глаза обеспечивается за счет секреции эндотелиальными роговичными клетками, эпителиальными клетка-

ми радужки, цилиарного тела, клетками пигментного эпителия и клетками Мюллера ряда иммуносупрессивных веществ, цитокинов, гормонов и гормоноподобных белков. Во влаге передней камеры были обнаружены трансформирующий фактор роста, α-меланостимулирующий гормон, вазоактивный интестинальный полипептид, кальцитонинсвязанный пептид, свободный кортизол, рецепторный антагонист интерлейкина 1 (ИЛ-1). По-видимому, перечисленные вещества и многие другие, еще неизвестные, обуславливают способность внутриглазной жидкости предупреждать или подавлять выраженное внутриглазное иммунное воспаление. В условиях патологии отмечается нарушение продукции вышеуказанных иммуносупрессивных факторов, что способствует развитию иммунно-опосредованного воспаления [1, 8, 9, 20, 22, 32, 35, 40].

Кроме того, в слизистой оболочке глаза обнаруживается так называемая мукозоассоциированная лимфоидная ткань (MALT — от англ. mucosa-associated lymphoid tissue), которая встречается в слизистых желудочно-кишечного, респираторного и урогенитального трактов. Она представляет собой лимфоидные образования, в которых встречаются все типы Т- и В-лимфоцитов, особенно IgA-синтезирующих, а также макрофагов, тучных клеток и иммуноглобулин-секретирующих плазматических клеток. Иммунный ответ на инфекционные агенты, репродуцирующиеся в слизистых, развивается в основном по гуморальному типу. При активации лимфоцитов в слизистых оболочках происходит их миграция в региональные лимфатические узлы, а оттуда в кровь и далее по всем слизистым оболочкам. В-лимфоциты дифференцируются и превращаются в плазматические клетки, продуцирующие специфические антитела, относящиеся к иммуноглобулинам разных классов. В случае образования иммуноглобулинов класса А они поступают в кровь или транспортируются через слизистую в форме секреторного иммуноглобулина А, обеспечивающего противоинфекционную защиту слизистых. Таким образом, по мнению авторов, данный механизм обеспечивает защиту от конкретного антигена всех слизистых оболочек, даже если контакт с ним происходит только в одной конъюнктиве [31, 41, 42].

Суммируя приведенные литературные данные, можно отметить, что ткани глаза обладают многими возможностями для обеспечения активной многозвеньевой антигенной регуляции. Механизмы, лежащие в основе иммунной привилегии глаза, обеспечивают особенности иммунной реакции на антигены, попавшие или внедренные в глаз, предупреждая развитие иммунного воспаления в глазу, которое может привести к поражению

структур глаза с манифестацией каких-либо симптомов.

Роль цитокинов в развитии и поддержании патологического процесса тканей глаза при различных видах офтальмопатологии

Цитокины представляют собой группу полипептидных макромолекул межклеточного взаимодействия, участвующих в формировании и регуляции защитных реакций организма при внедрении патогенов и нарушении целостности тканей. Цитокины вырабатываются клетками иммунной системы и некоторыми другими клетками (соединительной ткани, эпителия, эндотелия). В глазу цитокины продуцируются клетками стромы и эпителия роговицы, эпителиальными клетками хрусталика, цилиарного тела, клетками пигментного эпителия и клетками Мюллера [1, 2, 8, 11]. Определение цитокинов обычно проводят с помощью иммуноферментного анализа (ИФА), проточной цитофлюориметрии, вестерн-блотинга и иммуногистохимии *in situ*, методами обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР). Качественное и количественное определение местной продукции цитокинов дает возможность изучить роль последних в развитии локального воспаления оболочек глаза.

Согласно существующим научным данным, в норме цитокины не вырабатываются или секретируются в достаточно низких концентрациях. Патологический процесс (воспаление, травма и т. д.) может усилить их продукцию в значительной степени [1, 5].

Развитие воспаления обеспечивается синтезом комплекса провоспалительных и других цитокинов, стимулирующих большинство дальнейших событий в развитии воспалительной реакции и активации различных типов клеток, участвующих в поддержании и регуляции воспаления, включая все типы лейкоцитов, дендритные клетки, Т- и В-лимфоциты, НК-клетки, эндотелиальные и эпителиальные клетки и др. Кроме того, некоторые цитокины (ФНО, ИЛ-1) способствуют миграции лейкоцитов из кровотока в очаг воспаления.

Существенные нарушения именно в системе цитокинов при воспалительных заболеваниях глаз инфекционной и аутоиммунной этиологии обуславливают, по мнению многих авторов, хроническое и рецидивирующее течение, тяжесть исходов и недостаточную эффективность терапии [2, 7, 12, 21, 24, 28, 38]. В последние несколько лет активно изучается роль цитокинов в патогенезе увеитов. По мнению ряда российских и зарубежных исследователей, в развитии глазного воспаления ведущая роль придается ФНО-α. Повышение концентрации этого цитокина в сыворотке крови, слезной и внутриглазных жидкостях отмечено при увеитах различной этиологии [12, 25]. Исследования О. С. Слеповой и соавт. [12] выявили ассоциацию тяжелого течения и частых рецидивов вирус-ин-

дуцированных кератитов и кератоувеитов с ослаблением способности к продукции ИФН-α в слезной жидкости и крови больных [12]. Некоторые авторы подчеркивают ведущую роль гиперпродукции ИЛ-1β, ИЛ-6, ИФН-γ в развитие острого процесса при хламидийной инфекции глаз и ассоциацию хронического течения хламидийного воспаления с повышенным уровнем ИЛ-4 [18].

Изучение иммунитета при различных травмах глаза (ранения, ожоги, кератопластика) выявляет совокупность изменений местных и системных реакций, затрагивающих основные звенья неспецифического и специфического звеньев иммунитета (гиперпродукция провоспалительных цитокинов, сдвиги в Т- и В-системах, аутоиммунные реакции). Так, тяжелые и средней степени тяжести травмы глаз протекают в условиях увеличения в сыворотке крови уровня ФНО-α, ИЛ-1β, ИЛ-2 — ключевых цитокинов, участвующих в развитии неспецифического воспаления. Кроме того, установлена прямая зависимость высокого уровня продукции данных цитокинов в слезной жидкости с тяжестью течения посттравматического периода и угрозой болезни трансплантата после кератопластики [12]. При ожоговой болезни некоторые авторы выявляют повышение уровня ИЛ-1β, ФНО-α, ИЛ-6, ИЛ-4 в слезной жидкости, причем продукция этих же цитокинов в сыворотке крови снижена, что свидетельствует о преобладании роли местного иммунитета над системным при данном виде травмы. Изменение уровня вышеуказанных цитокинов в слезной жидкости и в сыворотке крови указывает на активацию иммуновоспалительного процесса. Возникающий дисбаланс цитокинов можно рассматривать как маркер дефекта иммунной системы [4].

Хотелось бы отметить важную роль иммунных механизмов в патогенезе симпатической офтальмии. Иммунопатогенез симпатической офтальмии состоит в повреждении антиген-содержащих клеток сетчатки, пигментного эпителия, хориоидальных меланоцитов. Взаимодействие иммунных лимфоцитов с данными структурами глаза является необходимым этапом формирования эпителиоидноклеточной гранулемы, где главными клеточными элементами являются макрофаги и Т-лимфоциты, секретирующие провоспалительные цитокины (ФНО-α, ИЛ-1β, ИЛ-2, ИФН-γ). Этим цитокинам принадлежит ведущая роль в дальнейшем активировании клеток и в развитии воспалительного процесса в увеальном тракте. ФНО-α, ИЛ-1β, ИЛ-2, ИФН-γ стимулируют синтез оксида азота в макрофагах, резидентных клетках увеального тракта, способствуя активации свободно-радикальных процессов с образованием высокореактивных соединений — таких как пероксинитриты, гидроксил-радикалы, гипохлорид — вызывающих

повреждение клеточных мембран, нуклеиновых кислот, приводя к апоптозу и определяя различный спектр тканевого повреждения в зоне воспаления. Особое значение в развитии аутоиммунного процесса в глазу придается пигментному эпителию, клетки которого могут модулировать увеальное воспаление, освобождая различные провоспалительные цитокины, или подавлять его, освобождая ТФР-β и другие растворимые факторы, включая новый протективный ретинальный белок (PEDF от англ. pigment epithelium-derived factor), с продукцией которого связывается редкость поражения хориокапилярного слоя [1, 37].

Таким образом, изменения в системном и локальном цитокиновых звеньях иммунитета при различных видах офтальмопатологии (травмы, воспалительные заболевания) свидетельствуют о важной роли цитокинов в развитии и поддержании иммунопатологических процессов и диктует необходимость проведения патогенетически обоснованной иммунной терапии.

Цитокиновый статус при аденовирусной инфекции глаз

Сведения о значении цитокинов при аденовирусной инфекции конъюнктивы и роговицы в научной литературе единичны [18, 42]. Так, например, японские ученые Matsuda и Tagawa [26] исследовали изменение уровня трансформирующего фактора роста ТФР-β (ТФР-β) на фоне аденовирусного кератоконъюнктивита. Интерес офтальмологов к данному виду цитокинов объясняется тем, что это достаточно большое семейство многофункциональных активных белков с широким спектром действия, включающим влияние на рост клеток, дифференцировку, апоптоз и фиброгенез. Исследователями было отмечено повышение уровня изоформы ТФР-β2, значительное содержание которой отмечено в поверхностных слоях и менее выраженное — в супрабазальных отделах, с чем авторы связывают появление помутнений роговицы [26].

Согласно данным Mondal [31], развитие воспалительных процессов в конъюнктиве глаза при аденовирусной инфекции ассоциируется с менее высоким локальным уровнем цитокинов по сравнению с таковым при кератитах (на примере офтальмогерпеса), что объясняется наличием в конъюнктиве глаза человека MALT, связанной со слизистыми оболочками и формирующей полноценный гуморальный ответ [31]. Сопоставление содержания цитокинов с клиническим течением заболевания в этом исследовании выявило ассоциацию более высоких уровней ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНО в сыворотке крови и слезной жидкости при неблагоприятном (глубокие формы, рецидивы) течении заболевания, что, по мнению авторов, может иметь прогностическое значение.

Исследования Н. Е. Шевчук [17, 18] выявили ведущую роль ИЛ-6

в развитии воспалительного процесса при аденовирусной инфекции глаз, содержание которого в сыворотке крови и слезной жидкости увеличивается более чем в 3 раза, при незначительном повышении уровней ИЛ-1 и ФНО. По мере элиминации аденовируса из организма и стихания воспалительного процесса наблюдается снижение уровня ИЛ-6 в сыворотке крови и слезной жидкости при практически неизменном содержании ИЛ-1 и ФНО. Автором была установлена однонаправленность цитокинового реагирования при герпетической и аденовирусной инфекциях глаз, а именно — дисбаланс локального и системного содержания цитокинов. Проведенные исследования показали, что изменение системы цитокинов является отражением реактивности организма на инфицирование аденовирусами оболочек глаза и дополняет наши представления о механизме их взаимодействия с макроорганизмом [16].

Кроме того, в литературе описаны закономерности секреции ИФН второго типа (иммунного или ИФН-γ) и ФНО в ответ на вирусную стимуляцию. Он заключается в том, что стимулированные вирусными антигенами Т-клетки высвобождают цитокины, в том числе ИФН-γ, и хемокины, привлекающие макрофаги и моноциты. Данный механизм ответа на вирусную инфекцию присущ клеткам многих тканей организма и, возможно, интраокулярным в том числе [10, 39]. Попадая в очаг инфекции, мононуклеарные фагоциты активируются и продуцируют ФНО, действующий синергично с ИФН-γ, и в результате соседние клетки становятся непригодными для репликации вируса. Таким образом вокруг очага вирусной инфекции создается «заслон» из резистентных клеток [4, 10].

В заключение хотелось бы отметить, что иммунные реакции в тканях глаза чрезвычайно разнообразны и имеют, как становится ясно из приведенных выше литературных источников, свои особенности. Обычное спокойное состояние глаз у здоровых людей обеспечивается целым каскадом напряженной обороны глаза от излишних иммунных стимулов и секрецией нейтрализующих веществ (цитокины, гормоны, гормоноподобные вещества). Для всего организма глаз остается в норме «секретным объектом», особой зоной, где действуют свои законы, всецело направленные на обеспечение полноценных зрительных функций. При каком-либо патологическом воздействии (травма глаза, хирургическое вмешательство, инфекция, системные обменные нарушения) нарушается врожденная иммунологическая привилегия органа зрения, что ведет к развитию иммунного дисбаланса, и, как следствие, активного воспаления. Изучение факторов, опосредующих интра- и периокулярные иммунные реакции, открывает новые перспективы лечебного воздействия при целой группе воспалительных заболеваний глаз.

Рекомендуемая литература

1. *Архипова Л. Т. Симпатическая офтальмия. М., Триада. 2006; 102—105.*
2. *Бикбов М. М., Шевчук Н. Е., Мальханов В. Б. Цитокины в клинической офтальмологии. Уфа, ГУ Уфимский научно-исследовательский институт глазных болезней АН РБ, ГУП РБ «Уфимский полиграфкомбинат». 2008;11—20, 42—48.*
3. *Каспаров А. А. Офтальмогерпес. М., Медицина. 1994; 224 с.*
4. *Керимов К. Т., Джафаров А. И., Гахраманов Ф. С. Ожоги глаз: патогенез и лечение. М., РАМН. 2005; 462 с.*
5. *Кетлинский С. А., Симбирцев А. С. Цитокины. Санкт-Петербург, 2008; 242—243, 286—287.*
6. *Майчук, Ю. Ф. Справочник поликлинического врача. 2005; 4: 73—76.*
7. *Мальханов В. Б., Марванова З. Р., Шевчук Н. Е. Вопросы вирусологии. 2004, 1: 28—30.*
8. *Маркова Е. В., Климова Т.В. Учебное пособие. Новосибирск: Изд. НГПУ, 2010.*
9. *Найхин А. Н., Петухова Г. Д., Баранцева И. Б.и др. Цитокины и воспаление. 2006, 3: 32—35.*
10. *Никитин Н. А., Кузбеков Ш. Р. Цитокины и воспаление. 2009, 8, 1: 3—9.*
11. *Рабсон А., Ройт А., Делвз П. Основы медицинской иммунологии. М., 2006; 168—169.*
12. *Слепова О. С., Герасименко В. А., Макаров П. В. и др. Вестн. Офтальмол. 1998, 114 (3): 28—32.*
13. *Сомов Е. Е. Герпетические и эпидемические вирусные кератоконъюнктивиты. С.-Петербург. 1996; с. 48.*
14. *Теплинская Л. Е., Филичкина Н. С., Матевосова К. С. Вестник офтальмологии. 2005, 4: 22.*
15. *Тонаева Х. Д., Борзенок С. А., Онищенко Н. А. и др. http://bone-surgery.ru/view/sposob_vydeleniya_i_organnogo_kultivirovaniya_multipotentnyh_mezenhimalnyh_/.*
16. *Харченко Е. П., Клименко М. Н. Журнал неврологии и психиатрии. 2007, 1: 70—77.*
17. *Шевчук Н. Е., Мальханов В. Б., Марванова З. Р. Проблемы офтальмологии. 2007, 1: 29—32.*
18. *Шевчук Н. Е., Шамратова А. Р., Мальханов В. Б.и др. Цитокины и воспаление. 2008, Т. 7, 3: 52—54.*
19. *Abu el-Asrar A. M., Geboes K., Tabarra K. F. et. al Bull. Soc. Belge Ophthalmol. 1996, 261 (1): 15—24.*
20. *Ferguson T. A., Griffith T. S. Chem. Immunol. Allergy. 2007, 92 (2): 140—154.*
21. *Grajewski R. S., Hansen A. M., Agarwal R. K. et al. J. Immunol. 2008, 181 (7): 4791—4797.*
22. *Kasp-Grochowska E., Graham E., Sanders M.D., et al. Trans. Ophalmol. Soc. UK. 1981, 101 (2): 342—348.*
23. *Kazama H., Ricci J-E., Herndon J. M., Hoppe G. et. al. Immunity. 2008, 29 (1): 21—31.*
24. *Khanna K. M., Lepisto A. J., Dedman V. and Hendricks R. L. Curr. Opin. Immunol. 2004, 16 (4): 463—469.*
25. *Lacomba M. S., Martin C. M., Galera G. et al. Ophthalmic Res. 2001, 33 (5): 251—255.*
26. *Lenardo M. J. Introduction Semin. Immunol. 1997, 9 (1): 1—5.*
27. *Matsuda A., Tagawa Y., Matsuda H. Jpn. J. Ophthalmol. 1999, 43 (4): 251—256.*
28. *McInnis K. A. et al. Investigative Ophthalmology and Visual Science. 2005 46 (5): 1668—1674.*

29. *Medawar P. B. Uniqueness of the individual, L., 1957.*
30. *Medawar P. B. Immunological tolerance, Les prix Nobel en 1960, Stockh. 1961; 125—134.*
31. *Mondal S. K. Ind. J. of Pathol. and Microbiol. 2008, 51 (3): 407—408.*
32. *Nichols J. E., Niles J. A., Roberts N. J. J. Virol. 2001, 75 (13): 5921—5929*
33. *Niederkorn J. Y., Stern M. E., Pflugfelder S. C. et Journal of Immunology. 2006, 176 (4): 3950—3957.*
34. *Niederkorn J. V. J. Investig. Dermatol. Symp. Proc. 2003, 8 (2): 168—172*
35. *Nussenblatt R. B., Palestine A. G. Uveitis. Year book medical publishers, inc. Chicago, London. 1989; 443 p.*
36. *Olsen C. W., Kehren J. C., Dybdahl_Sissoko N. R., Hinshaw V. S. J. Jen. Virol. 1996, 70 (1): 663—666.*
37. *Rao N. A. Eye. 1997, 11 (2): 213—216.*
38. *Sonoda K. H., Nakamura T., Young H. A.et al. J. Immunol. 2007, 179 (4): 2215—2222.*
39. *Streilein J. W. Nature Rev. Immunol. 2003, 3 (11): 879—889.*
40. *Takizawa T., Fucuda R., Miyawaki T. et al. Virol. 1995, 209 (3): 288—296.*
41. *Tammie L. Keadle, Keith A. Laycoc, Jessica L. Morris at al. Journal of General Virology. 2002, 83: 2361—2365.*
42. *Than Hoang-Xuan, Christophe Baudouin, Catherine Creuzot-Garcher. Inflammatory diseases of the conjunctiva. New York, Thieme, 2001.*
43. *Wadell, G.. Curr. Top. Microbiol. Immunol. 1999, 110: 191—220.*

ВЛИЯНИЕ ПАТОГЕНОВ НА ПРОДУКЦИЮ ИНТЕРФЕРОНОВ И ДРУГИХ ЦИТОКИНОВ (обсуждение актуальной проблемы)

Ф. Ю. Гариб

Российская медицинская академия последипломного образования, Росздрава, Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, ФГБУ «НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздравсоцразвития России, Москва

Введение

Многоклеточные организмы обладают механизмами защиты от непрерывной атаки микробов. В свою очередь, все патогенные микроорганизмы располагают многочисленными способами воздействия на организм хозяина. Логично, что среди них превалируют «антииммунные» механизмы, направленные на ускользание от распознавания рецепторами иммунной системы и управление иммунными реакциями. Нужно признать, что эволюционное развитие микроорганизмов очень динамично и изощренно благодаря беспрецендентно высокой изменчивости и скорости размножения. В то же время, по многим причинам иммунная система млекопитающих не успевает адаптироваться к такому прогрессу со стороны патогенов. Особенно это стало заметным в последние десятилетия, когда появилось около 40 новых болезней и активизировались известные возбудители, в основном, вирусной природы. Очевидно, что относительная «несостоятельность» системы иммунитета привела к развитию инфекций в глобальном масштабе. Так, туберкулезом, вирусными гепатитами, герпесвирусной инфекцией заражены миллиарды людей на планете. К примеру, ежегодно от инфекций гибнут около 20 миллионов человек, чаще от диареи, СПИДа, туберкулеза и малярии. Поэтому появилось понятие — «успешные патогены», которые реализуют множество стратегий, позволяющих им преодолевать врожденный и приобретенный иммунный ответы. Нужно с горечью признать, что человечество проигрывает конкуренцию с патогенами. Очевидно, что возможности иммунной системы имеют определенные ограничения, потому нельзя рассчитывать на эффективную защиту от современных и, тем более, будущих микроорганизмов с высоким потенциалом инвазивности. Наш «ответ» патогенам должен основываться на использовании интеллектуального потенциала человечества. Конечно, заметным успехом в защите от патогенов является создание и масштабное использование вакцин. Но за последние 200 лет удалось создать вакцины только против 30 возбудителей при

наличии свыше 200 распространенных инфекционных болезней (а сколько еще будет?). Другими словами, проблема борьбы с «успешными» патогенами становится все более актуальной и сложной. Поэтому новая область науки, которую можно обозначить как «антииммунитет», развивается стремительно. Это связано с необходимостью изучения свойств патогенов с позиций их взаимодействия с системой иммунитета, что имеет фундаментальное значение для биологии и медицины.

Инициация синтеза ИФН и активация врожденного антивирусного ответа

Специальные паттерн-распознающие рецепторы (PRR) вызывают продукцию ИФН, когда они распознают так называемые патоген-ассоциированые молекулярные паттерны (PAMP), присутствующие либо в самом вирионе, либо в промежуточных продуктах вирусной репликации и инфекции. Существуют специфические для вирусов PRR, включающие толл-подобные рецепторы (TLR) и семейство DexD\PHK хеликаз. Связавшись с определенным PAMP лигандом, PRR инициируют внутриклеточный каскад, результатом которого является активация латентных транскрипционных факторов, включая ИФН регулирующий фактор 3 (IRF-3) и ядерный фактор (кВ) (NF-кВ). Активированные IRF-3 и NF-кВ накапливаются в ядре клетки хозяина и связываются с целевыми промотерами для того, чтобы координировано индуцировать экспрессию ИФН и других генов ИФН ответа. Предполагается, что продукты многих генов ИФН ответа обладают активностями, благодаря которым можно направлено ограничивать вирусную репликацию и, в конечном счете, облегчить элиминирование вируса из клеток хозяина. Экспрессия и распределение PRR, которые, как известно, варьируют в различных тканях, определяют большей частью подверженность определенного клеточного типа заражению вирусом.

TLRs экспрессируются как на клеточной поверхности, так и в составе эндосомальных везикул в различных типах клеток. Экспрессируемые на клеточной поверхности TLR2 и TLR4 взаимодействуют с белками клеточной оболочки, вирусным гемаглютинином и целыми неактивными вирусными частицами, и таким образом эти рецепторы могут опосредовать узнавание вирусных поверхностных гликопротеиновых и липопротеиновых комплексов во время вирусной адгезии и внедрения в клетку. TLRs 3, 7, 8, 9 задействованы в распознавании нуклеиновых кислот вируса. Эти TLRs почти исключительно экспрессируются в составе внутриклеточных эндосомальных компартментов. Такое месторасположение идеально подходит для детекции вирусов

вскоре после того, как они сбрасывают оболочку внутри клетки хозяина. TLR7 и TLR8 отведена роль распознавания уридин-богатых мотивов в односпиральных (ос) РНК, они участвуют в распознавании вируса везикулярного стоматита, вируса гриппа и вируса иммунодефицита человека. TLR9 распознает CpG ДНК мотивы и запускает ответ хозяина на заражение аденовирусом и вирусом простого герпеса, в то время как TLR3 выступает как PRR для двуспиральных (дс) РНК мотивов, присутствующих во вторичной структуре вирусной РНК.

Компартментализация TLRs позволяет проводить распознавание PAMP как во внеклеточном пространстве, так и в полости эндосом. TLRs 2, 4, 7, 8, 9 запускают продукцию ИФН 1 типа посредством активации белка MyD88, который в свою очередь активирует киназы, ассоциированные с рецептором к IL-1 (IRAK-1 и IRAK-4), факторы, ассоциированные с рецептором к фактору некроза опухолей (TRAF3 и/или TRAF6) и TGFβ. В противовес этому TLR3 запускает ИФН каскад через MyD88-независимый путь ИФН-β. Цитоплазматические белки RIG-1 и MDA-5 — это уникальные члены суперсемейства РНК хеликаз, так как они содержат тандемные домены каспазной активности (CARDs). CARDs, как известно, управляют взаимодействиями с другими CARDs-содержащими молекулами и распространены среди каспазных сигнальных компонентов. Биохимические исследования выявили, что белки RIG-1 и MDA-5 могут связывать различные РНК лиганды посредством консервативных хеликазных доменов этих рецепторов. Связывание с определенным PAMP, принадлежащими РНК, как полагают, вызывает конформационные изменения с затратой энергии АТФ, что облегчает CARD-зависимое взаимодействие с адапторными молекулами, связанными с митохондриями, известными как IPS-1 или MAVS, или CARDIF, или VISA, необходимыми для запуска ответа хозяина. Взаимодействие RIG-1 с IPS-1 вызывает активацию TRAF3, TRAF6, IKKi\IKKε-содержащих макромолекулярных комплексов, которые запускают активацию IRF-3 и NF-κB, приводящую к продукции ИФН. Исследования, проведенные на клетках мышей с делециями генов Mda-5 или Rig-1, продемонстрировали, что белок MDA-5 необходим для обнаружения пикорнавирусов, а белок RIG-1 является первичным сенсором для РНК различных вирусов, в том числе вируса гриппа, вируса везикулярного стоматита, вируса болезни Ньюкасла, вируса Сендай. Белок RIG-1 также необходим для индукции ответа хозяина на заражение вирусом гепатита С. Клетки мышей с делецией гена Ips-1 не способны ответить на заражение РНК вирусами, за исключением плазмоцитоидных дендритных клеток, в которых запуск ИФН

каскада сильно зависит от функционирования TLRs.

Таким образом, продукция ИФН 1 типа транскрипционно регулируется и индуцируется через распознавание PAMP вируса с помощью PRR во время инфицирования. Транскрипционные факторы, которые известны как регулирующие продукцию ИФН 1 типа, включают АТФ-2, NF-κB и IRF. IRF-3 прежде всего регулирует транскрипцию ИФН-β. После заражения в результате передачи сигнала с PRR происходит фосфорилирование IRF-3 TANK-связанной киназой 1 (TBK1) и/или неканонической киназой IKB-киназы IKK/IKKε. Фосфорилированные IRF-3 димеризуются и накапливаются в ядре, где вместе с другими транскрипционными факторами и кофакторами координированно связываются с целевым промотером, запускают экспрессию ИФН-β и индуцируют экспрессию набора ISGs. В результате ИФН-β секретируется во внеклеточное пространство, где связывается с рецепторами ИФН-α/β на поверхности клетки для передачи сигнала, который запускает ответ клеток хозяина через JAK-STAT путь. Активация транскрипционного комплекса ISGF3 специфически запускает экспрессию IRF-7. IRF-7, активированный TBK1 и/или киназой IKK/IKKε, может гомодимеризоваться, а может образовывать гетеродимеры с IFR-3, запуская экспрессию субтипов ИФН-α, таким образом усиливая передачу сигнала ИФН. Чрезмерный ответ хозяйской клетки предупреждается клеточными негативными регуляторами JAK-STAT, включая белки-ингибиторы STATs (PIAS1 и PIAS) и супрессоры сигнального каскада цитокинов (SOCS1 и SOCS3).

Вирусная регуляция ответа клеток хозяина

Ниже обсуждаются несколько стратегий, используемых вирусами для реализации контроля или уклонения от опосредованного ИФНом клеточного ответа, что необходимо для их успешной репликации и распространения.

Вирусное ингибирование PRR сигналов. Вирусное вмешательство в распознавание PAMP и активацию PRR лишает клетки возможности детектировать присутствие вирусов и передавать сигнал. Последующее ослабление клеточного ответа позволяет вирусам успешно инфицировать клетки без ограничений, накладываемых ИФНом. В то время как некоторые вирусы укрываются от обнаружения PRR, другие кодируют факторы, которые нарушают распознавание PAMP или блокируют активацию PRR на последующих этапах. Например, вирус гриппа и вирус Эбола кодируют белки, называемые соответственно NS1 и VP35, связывающие дсРНК, что препятствует продукции ИФНов. Для работы обоих белков необходима эффективная вирусная амплификация

и вирулентность. Белок NS1 вируса гриппа ослабляет продукцию ИФН 1 типа либо посредством глобальной супрессии созревания мРНК, или нарушая процессы передачи сигнала активации на IFR-3 и NF-κB. Кроме того, мутация двух основных аминокислотных остатков (R38 (аргинин) и K41 (лизин)), наличие которых критично для связывания дсРНК, также приводит к увеличению продукции ИФНов и ослаблению патогенности у мышей. Это позволяет предположить, что способность белка NS1 функционировать как антагонисту ИФНа может быть частично опосредована способностью NS1 связывать дсРНК. Активность белка NS1 связывать дсРНК приводит к необходимости, чтобы NS1 ингибировал и другие клеточные белки, связывающие дсРНК. Именно эта стратегия является общей и используется вирусом гриппа, чтобы контролировать процессы ответа клетки хозяина. VP35 вируса Эбола останавливает продукцию ИФН 1 типа путем ингибирования активации IRF-3. В результате исследования мутаций удалось связать антагонистическую активность VP35 по отношению к ИФН с его С-концевым РНК-связывающим доменом. Мотив, содержащий основные аминокислоты в составе этого домена, необходим для блокировки ответа хозяйской клетки. Этот мотив гомологичен части домена белка NS1 вируса гриппа, связывающего дсРНК. У рекомбинантных вирусов, кодирующих мутатный белок VP35, дефектный для связывания дсРНК, была частично ухудшена способность блокировать передачу сигнала от RIG-1 на индукцию ИФН 1 типа. Отсюда можно предположить, что ингибиторный эффект белка VP35 опосредован его способностью связывать дсРНК и изолировать РНК из процесса активации RIG-1 и передачи сигнала.

Инактивация транскрипционных факторов ИФН. Вирус герпеса, ассоциированный с саркомой Капоши (KSHV), и вирус диареи крупного рогатого (КРС) скота кодируют белки, которые управляют полиубиквитинилированием и деградацией IRFs. KSHV кодирует убиквитин Е3 лигазу, специфичную для IRF-7, в то же время протеазный фрагмент на N-конце полипротеина (Npro) вируса диареи КРС специфически действует на IRF-3, направляя его к убиквитилинизирующему комплексу. Белок NSP1 ротавируса, связывающий дсРНК, также вызывает быструю деградацию IRF-3, IRF-5 и IRF-7, снижая таким образом продукцию ИФН. Поскольку экспрессия белка NSP1 точно коррелирует с повышенной вирулентностью и способностью к распространению вируса, предполагается, что дисрегуляция передачи сигнала на IRF-3 помогает вирусам избегать ответа хозяйской клетки. Таким образом, активация IRF-3 подвергается регуляции со стороны вирусов на различных этапах. Вирус болезни Борна и вирус

бешенства экспрессируют фосфопротеин P, который блокирует фосфорилирование TBK1 и активацию IRF-3. Фосфопротеин вируса болезни Борна осуществляет свою функцию как конкурирующий субстрат по отношению к TBK1. Риновирус ингибирует ответ клетки хозяина, блокируя гомодимеризацию IRF-3. Члены семейства герпевирусов, как было показано, ослабляют ответ хозяина, блокируя действие транскрипционных факторов, необходимых для продукции ИФН. Уникальная стратегия, используемая KSHV, состоит в экспрессии кодируемых вирусами гомологов IRF, дефектных для передачи сигнала. Вирусные гомологи IRF угнетают транскрипционную активность клеточных IRF и предотвращают их связывание с целевым промотером. Более того, вирус Эпштейна-Барр, как и KSHV, кодирует факторы, которые блокируют IRF-7 активность, а белок IE86 цитомегаловируса человека ослабляет управляемую NF-κB экспрессию генов цитокинов и хемокинов, блокируя NF-κB от связи с целевыми промотерами. Следовательно, дестабилизация NF-κB предоставляет вирусам еще одну стратегию контроля клеточного ответа и часто используется пикорнавирусами.

Нарушение JAK-STAT передачи сигнала. Вирусы нарушают JAK-STAT каскад, управляя деградацией, изоляцией и инактивацией белков STAT. Протеин V рубулавируса связывается со STATs и управляет их полиубиквитинилированием, в результате которого STAT деградируют внутри протеасом. V-белок вирусов семейства Henipa выполняет свою функцию, блокируя транскрипционную активность STAT белков. Это достигается тем, что происходит зависимая от V-белка изоляция STAT в виде высокомолекулярных комплексов в цитоплазме, таким образом предотвращается активация STAT. V-белок вируса кори блокирует перенос активированных STATs в ядро, предотвращая таким образом их транскрипционную активность. У вируса простого герпеса (ВПГ-1) белок ICP-0 ингибирует клеточный ответ, содействуя полиубиквитинилированию и деградации STAT1. ВПГ в дальнейшем участвует в блокировке транскрипционной активности STAT, индуцируя экспрессию SOCs3. Цитомегаловирус кодирует антагонист ИФН, который ингибирует транскрипционную активность STAT белков. В этом случае IE1-72kDa физически образует комплекс с STAT1 и STAT2, блокируя взаимодействие комплекса ISGF3 с целевыми промотерами. Для фосфопротеина P вируса бешенства целью являются STAT белки. Происходит однозначное селективное взаимодействие с фосфорилированными STAT1 и STAT2. Это взаимодействие между STAT и фосфопротеином P впоследствии удерживает активированные STAT в цитоплазме, и последние не могут инициировать транскрипцию целевых ге-

нов. Флавивирусы регулируют индуцированную ИФН передачу сигнала с ИФН-α/β рецептора посредством экспрессии белков, предотвращающих активацию STAT. Вирус лихорадки Денге (тропическая лихорадка) и вирус японского энцефалита препятствуют фосфорилированию тирозина, индуцируемого ИФН, и активации Tyk2 киназы. В случае вируса японского энцефалита этот процесс опосредуется вирусной РНК-зависимой РНК полимеразой NS5 через механизм, который требует активации фосфатазы тирозина. Вирусы Лангат и WNV одинаково ослабляют передачу сигнала ИФН, предотвращая фосфорилирование киназы, связанной с рецептором ИФН. Таким образом, JAK-STAT передача сигнала также может контролироваться вирусами и обеспечивать еще один способ стратегической регуляции интерферонового клеточного ответа.

Ингибирование вирусами экспрессии генов клетки хозяина. Вирусы могут избегать ответа клеток хозяина, селективно ингибируя экспрессию генов клетки и одновременно содействуя транскрипции и трансляции вирусных генов. Белок NS1 вируса гриппа А (NS1A) ингибирует процессы клеточной трансляции, блокируя экспорт из ядра мРНК, содержащей 3′ поли (А) концы. Регуляция белком NS1A клеточного транспорта мРНК — двойная. Белок NS1A связывает фактор специфичности расщепления/полиаденилирования (CPSF) и поли (А)-связывающий белок II (PAB II), необходимые для эффективной обработки 3′-конца клеточной пре-мРНК. Через эти взаимодействия белок NS1A блокирует процессинг пре-мРНК и, следовательно, оставляет мРНК в ядре, где она не доступна для трансляции. Инфицирование клеток рекомбинантными вирусами гриппа, кодирующими мутантный белок NS1A, неспособный связывать CPSF, индуцирует сильную продукцию ИФН. В соответствии с этим, вирус гриппа В, который кодирует белок NS1B с недостаточной способностью к связыванию CPSF, не демонстрирует ингибирования клеточной транскрипции и, соответственно, этому вирусу не удается заблокировать продукцию ИФН во время инфицирования. Эти наблюдения предоставили доказательства того, что регуляция пост-трансляционного процессинга мРНК белком NS1 вируса гриппа притупляет врожденный антивирусный ответ на вирусную инфекцию. Вирус везикулярного стоматита супрессирует экспрессию генов хозяина, ингибируя экспорт мРНК из ядра под действием матричного протеина (М). Протеин М инактивирует компоненты ядерного механизма экспорта мРНК, белки Rae1 и Nup98. Полиовирус, вирус Коксаки, вирус ящура (FMDV) кодируют различные факторы, которые блокируют транспорт белков и созревание через секреторные пути. FMDV показывает пример

пикорнавирусной стратегии блокировки белков ответа клеток хозяина: он кодирует лидирующую протеиназу и 3С протеиназу, функция которых — в специфическом расщеплении и инактивации клеточных факторов инициации трансляции eIF4G и eIF4A в составе инфицированной клетки, таким образом, ингибируя кэпзависимый синтез клеточных белков. Поскольку трансляция белков пикорнавируса и FMDV зависит от внутреннего сайта входа рибосом, синтез вирусных белков не нарушается.

Вирусы уклоняются от индуцированного ИФН врожденного ответа клетки хозяина, ингибируя глобальные транскрипционные процессы в клетке. Например, белок Nss, кодируемый вирусом лихорадки Рифт-Валли (RVFV), взаимодействует с основным фактором транскрипции TFIIH и нарушает TFIIH сборку, таким образом ингибируя экспрессию клеточных генов. RVFV штаммы, которые экспрессируют мутантный белок Nss, неспособный привлекать TFIIH, являются мощным индуктором ИФН и демонстрируют ослабленный фенотип вследствие отсутствия способности контролировать клеточные транскрипционные процессы. Эти наблюдения позволяют предположить, что вирусные штаммы с ослабленными свойствами контроля над передачей сигнала ИФН могут служить платформой для разработки вакцин.

Влияние бактериальных патогенов на цитокиновый ответ

Воспаление — это протективный механизм, но оно же является причиной многочисленных болезней, включая хронические гипервоспалительные состояния: астму, аутоиммунные заболевания и другие заболевания, плохо поддающиеся лечению.

Известно, что в иммунном, в т. ч. воспалительном процессе ведущую роль играют цитокины, вовлекающие различные клеточные популяции в эти реакции. Важно понимать, что цитокины оказывают влияние на клетки не по отдельности, а комплексно, потому ответ клеток, по сути, является результирующим многочисленных сигналов. В связи с этим возникло представление о «цитокиновой сети». Основными индукторами цитокинов являются PAMP бактерий. Известно порядка 20-ти классов бактериальных компонентов, способных индуцировать синтез цитокинов: липополисахариды, пептидогликаны, липопептиды, гликолипиды, суперантигены, экзотоксины, олигосахариды, олигопептиды, липопротеины, гликопротеины, адгезины, CpG ДНК, липоарабиноманнаны, шапероны, липиды, фимбрии, фосфолипазы, протеиназы и др. Наиболее активные индукторы цитокинов — это бактериальные эндотоксины, обозначаемые поэтому как суперантигены.

К ранним провоспалительным цитокинам, которые синтезируются через 1-3 часа после активации рецепторов врожденно-

го иммунитета и соответствующих сигнальных путей, относят IL-1β, ИФН-α и TNF-α, которые начинают формировать цитокиновую сеть путем паракринных и аутокринных взаимодействий между клетками, под влиянием чего синтезируются TNF-α, рецепторный антагонист IL-1ra, IL-6, IL-8, IL-10, которые контролируют клетки, вовлекаемые в антибактериальный инфекционный процесс. Так формируется локальная цитокиновая сеть, обеспечивающая развитие местной воспалительной реакции против патогена: воздействие на эндотелий сосудов для захвата лейкоцитов из кровотока селектинами, их направленного трафика в зону воспаления (IL-8), активизация фагоцитоза, продукция новых цитокинов, стимулирующих или угнетающих активность клеток-участников воспалительного ответа. Также посредством цитокинов поступают сигналы в гипоталамус (IL-6) и костный мозг (гранулоцитарно-моноцитарные колониестимулирующие факторы — GM-CSF).

Цитокиновый ответ хозяина на инфекционный агент сводится к одной из трех возможностей: а) недостаточная или б) избыточная продукция цитокинов опасны для жизни хозяина; в) только оптимальная продукция цитокинов может привести к завершению инфекционного процесса.

Механизм ингибиции бактериями синтеза цитокинов в клетках хозяина

Способность контролировать воспалительный ответ на уровне цитокинов является доминирующей (и наиболее очевидной) в стратегии выживания патогенных бактерий. Сложной проблемой для исследователей оказалось выяснение механизма формирования цитокиновой сети при инфекционной патологии. Нужно глубже понять, как бактериальные компоненты воздействуют на синтез цитокинов. В настоящее время внимание сфокусировано на цитокин-индуцирующем действии липополисахаридов из грам-негативных и пептидогликана с липотейхоевыми кислотами из грам-позитивных бактерий. Они связываются с разными TLRs и индуцируют синтез и формирование ранней цитокиновой сети (IL-1β, TNF-α, IL-1ra, IL-6, IL-8, IL-10), из которых 2 ключевых провоспалительных цитокина: IL-1β и TNF-α. Но нужно учесть, что каждая бактерия может генерировать более десятка цитокин-индуцирующих молекул.

Оказалось, что бактерии могут ингибировать синтез цитокинов в макрофагах через систему секреции протеинов III типа посредством «бактериального шприца». Например, секретируемые бактериальные TTSS эффекторы, в том числе AvrA, SseL, определены как убиквитиназы для молекулы сигнального пути IκBα, убиквитинирование которой приводит к ингибированию

NF-kB. В свою очередь, MAPK-путь контролируется AvrA/YopJ белками. AvrA/YopJ ингибируют C-JNK этап, что ослабляет воспалительные реакции и влияет на процессы апоптоза. OspF действует как фосфатаза, которая дефосфорилирует MARK, тем самым предотвращая фосфорилирование гистона. В результате подавляются воспаление и апоптоз.

Центральную роль во врожденном иммунитете играет транскрипционный фактор NFκB, который регулирует воспалительный ответ, стимулируя синтез цитокинов, таких как TNF-α, IL-1, IL-6, IL-8, белки острой фазы, адгезионные молекулы и др., а также вовлечен в защиту от апоптоза. Поэтому этот фактор избран мишенью для патогенов. Так, некоторые интестинальные бактериальные патогены активируют NFκB для развития болезни, в то время как непатогенные кишечные бактерии подавляют его активность, чтобы кишечная нормофлора не индуцировала воспалительную реакцию. В свою очередь, для выживания и размножения в тканях хозяина иерсинии подавляют активность NFκB, что направлено на выключение синтеза провоспалительных цитокинов. Микобактерии и хламидии имеют дополнительные механизмы для контроля над сигнальной системой цитокинов.

В нескольких исследованиях выявлено, что патогенные бактерии подавляют синтез цитокинов. Энтеропатогенная кишечная палочка синтезирует токсин, получивший название «лимфостатин», бруцеллы содержат особый протеин во внутренней мембране Omp 25, действующий как цитокиновый ингибитор. Липоарабиноманнаны микобактерий подавляют продукцию дендритными клетками IL-12, что прерывает формирование Т-клеточного ответа, оптимального для защиты от микобактерий. Иерсинии ингибируют выделение провоспалительных цитокинов TNF-α и ИФН-γ, которые в наибольшей степени защищают хозяина от инфекции. Одновременно иерсинии взаимодействуют с определенным комплексом из TLR и индуцируют продукцию IL-10, обладающего противовоспалительным действием (рис. 1.). Супрессия синтеза TNF-α достигается блокадой транслокации NFκB в ядро макрофагов с помощью белка иерсиний YopP/J, инъецированного в клетку «бактериальным шприцем». Причем для этого потребовалось всего 30-60 мин. Итак, убедительно показано, что бактерии способны контролировать формирование провоспалительных и регуляторных цитокиновых сетей, например, подавлять их синтез путем прямого контакта с клетками хозяина путём инъекции в них специфических пептидов.

Ингибирование опосредованного инфламмасомой процессинга IL-1β

Выделение ключевого провоспалительного цитокина IL-1β клетками хозяина зависит от активации рецепторов врожденного ответа и сигнальных путей с вовлечением NF-κβ и AP-1, в частности, приводящих к транскрипции генов про-IL-1β. На втором этапе NLR запускают процесс сборки инфламмасомы с активацией каспазы-1, которая протеолитически трансформирует про-IL-1β в активную форму IL-1β, который поступает в окружающую среду. Патогенные бактерии создали несколько способов инактивации инфламмасомы. *Y.enterocolitica* экспрессирует YopE и YopT, которые нарушают олигомеризацию каспазы-1. YopK, секретируемая путем T3SS, также блокирует инфламмасому. Эффекторные молекулы ExoU и ExoS, выделяемые *P. aeruginosa,* блокируют активацию инфламмасомы NLRC4. Ген *Mycobacterium tuberculosis — zmp1* воздействует на инфламмасому NLRP3. Pneumolysin из *Streptococcus pneumonia* также блокирует выделение IL-1β, подавляя активность каспазы-1. В итоге происходит инактивация каспазы-1 под влиянием приведенных выше белков, секретируемых внутриклеточными бактериями, что приводит к ингибиции опосредованного инфламмасомой процессинга про-IL-1β в IL-1β.

Воздействие бактериальных протеиназ на цитокины

Бактерии секретируют многочисленные протеиназы, которые содействуют их питанию, патогенности, в т. ч. иммунной эвазии. К примеру, *Pseudomonas aeruginosa* производит две главных протеиназы — щелочную протеиназу и эластазу, которые могут инактивировать ИФН-γ и TNF-α. Легионеллы продуцируют металлопротеиназу, которая разрушает IL-2, а также удаляет CD4 с поверхности Т-клеток. Многие бактерии разрушают рецептор к IL-6 на моноцитах. Бактерии, вызывающие широко распространенные болезни пародонта, находятся в биопленках в полости рта и способны разрушать цитокины IL-1β и IL-6, а также противовоспалительный цитокин — рецепторный антагонист IL-1rα. Главные цистеиновые протеиназы Arg-gingipains и Lys-gingipains инактивируют TNF-α, IL-6, и IL-8. Эти наблюдения свидетельствуют, что протеиназы действуют как ингибиторы провоспалительных цитокинов. Но картина усложняется тем, что одновременно внутренний фрагмент адгезивного домена Lys-gingipain усиливает цитокиновый синтез. Arg-gingipain также стимулирует эпителиальные клетки к секреции IL-6.

Усиление воспалительного процесса

Однако некоторые патогены, наоборот, фактически даже усиливают воспалительный процесс. Такое подчинение воспалитель-

ных клеток, в частности — их приток в зону воспаления, может обеспечить новые репликативные ниши для патогенов и истощить фагоциты. В связи с этим могут возникнуть серьезные воспалительные болезни. Например, шигеллы и сальмонеллы, которые вызывают тяжелое воспаление кишечника, используют секрецию третьего типа для инъекций в клетку хозяина регулирующих субстанций IpaB и SipB соответственно, которые активируют каспазу-1, которая активирует провоспалительные цитокины IL1-β и IL-18 и передает провоспалительный сигнал, который обеспечивает инфекцию новыми клетками, нужными для развития патогенов. Эти механизмы также активирует макрофаги, в которых выживают патогены. В итоге нейтрализуются клетки иммунной защиты и в них размножаются патогенные бактерии. Таким образом, патогенные бактерии усиливают действие индукторов воспалительной реакции, стимулируя приток фагоцитов и вызывая апоптоз в макрофагах; оба этих процесса обеспечивают более успешное бактериальное размножение и распространение.

Управление врожденными сигнальными путями

Установлено, что сигнальные пути, идущие через транскрипционный фактор NF-kB и сигнальный каскад MAPK, являются ключевыми для развития воспалительных реакций. Каскад сигнальных реакций, идущих от рецепторов врожденного иммунитета через NF-kB, включает молекулы TRAF6, TAK1, IKKβ, IκBα, их фосфорилирование, убиквитинирование, транслокацию и, в результате, активацию NF-kB — молекулу, определяющую конкретный ответ клетки (продукцию цитокинов, пролиферацию, дифференцировку и др.). Упрощенно, MAPK включает в себя несколько последовательных регуляторных этапов: TRAF6, TAK1, MKK6, и MAPK. Учитывая их важную роль, неудивительно, что бактериальные патогены модифицируют провоспалительные сигнальные пути.

Мало данных о том, что бактерии способны прямо нарушать передачу сигнала от TLR, однако есть несколько примеров по подавлению ответа TLR путем изменения продукции многих цитокинов, ключевых для врожденного ответа. Так, *Yersinia sp.* секретируют антиген вирулентности LcrV (рис. 1). Эта молекула индуцирует сигнал, подобный идущему от CD14 и TLR2, которые запускают секрецию IL-10 — цитокина, вызывающего иммуносупрессию вместо активации.

Возрастает число примеров патогенов, которые продуцируют и секретируют молекулы, подавляющие воспаление, причем общей мишенью для них являются сигнальные пути, идущие через MAP-киназу и транскрипционный фактор NFkB. Например, *Yersinia sp.* имеет эффектор третьего типа секреции — YopJ (YopP), который является убиквитин-подобной цистеиновой протеазой, подавляющей

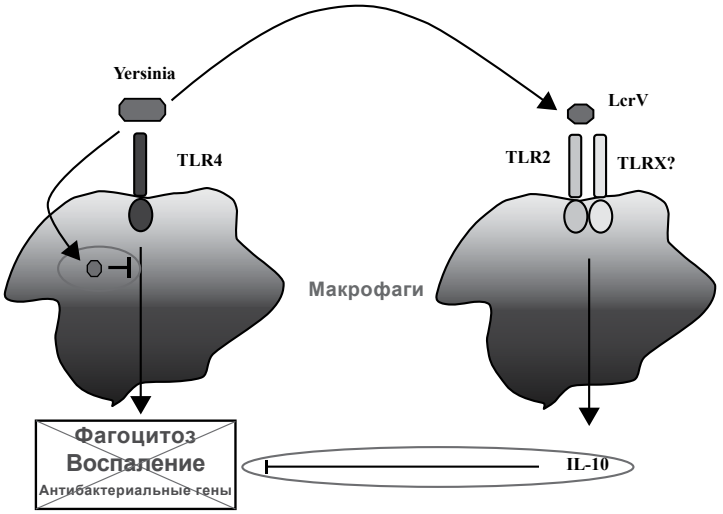


Рис. 1. Блокирование йерсиниями сигнальных путей в макрофагах для угнетения фагоцитоза и контроля над воспалением, подавляя транскрипцию антибактериальных генов путем продукции эффекторных протеинов (Kopp E., Medzhitov R., 2002).

оба указанных выше сигнальные пути. YopJ связывается со многими членами суперсемейства MAPK-киназ, включая MKKs и IkB киназы, и блокирует их способность активировать указанные воспалительные пути. Однако имеются примеры патогенов, специфически воздействующих на цитокиновые сигнальные пути для усиления их патогенеза. Например, протеин A *Staphylococcus aureus* прямо связывается с рецептором к TNF-a (TNFR1), расположенным на эпителии респираторного тракта, который потенциально запускает хемокиновый и цитокиновый каскады, что способствует развитию воспаления и болезни. *Shigella flexneri*, которая является причиной тяжелой диареи, имеет эффектор третьего типа OspG, который является протеин-киназой и воздействует на энзимы, конъюгированные с убиквитином, и таким образом приводит к деградации комплекса фосфорилированного IkBa, что приводит к активации NFkB.

Рецепторы к цитокинам на бактериях

В последние 20 лет идентифицировано много продуктов вирусного генома, которые копируют цитокины и рецепторы хозяина, названные вирокинами и вироцепторами. Они используются вирусами с целью ускользания от иммунного ответа. Логично предположить, что аналогичный механизм используют и бактерии, но пока такие факты единичны. Было обнаружено, что на поверхности вирулентных *E.coli* располагается до 40 000 молекул, взаимодействующих с IL-1, причем их количество было намного большим, чем на клетках млекопитающих. Эти результаты интриговали тем, что бактерии не только нейтрализовали основной провоспали-

тельный цитокин, но и использовали его в качестве фактора роста. Рецепторные молекулы к другому ключевому провоспалительному цитокину — TNF-α обнаружены на кишечной палочке, шигелле, сальмонелле. Микобактерии также связывают цитокины человека, включая эпидермальный фактор роста, и используют их для своего размножения. Нужно признать, что способность блокировать ключевые цитокины путем рецепции и более того — использовать их для своего роста, является поразительно успешным механизмом эвазии патогенных микроорганизмов.

Выводы и перспективы

Последнее десятилетие отличается прогрессом в понимании важнейшей роли реакций врожденного иммунитета в иммунном ответе против патогенов, что индуцировало новое направление научных разработок — изучение способности микроорганизмов преодолевать достаточно мощные механизмы иммунной защиты. Неуспехи в создании новых вакцин и проблемы в лечении инфекционных болезней ограничивают способность человечества противостоять появлению и распространению глобальных и опасных инфекций. Хотя иммунная система довольно хорошо изучена, действия патогенов служат превосходным инструментом для того, чтобы иссле-

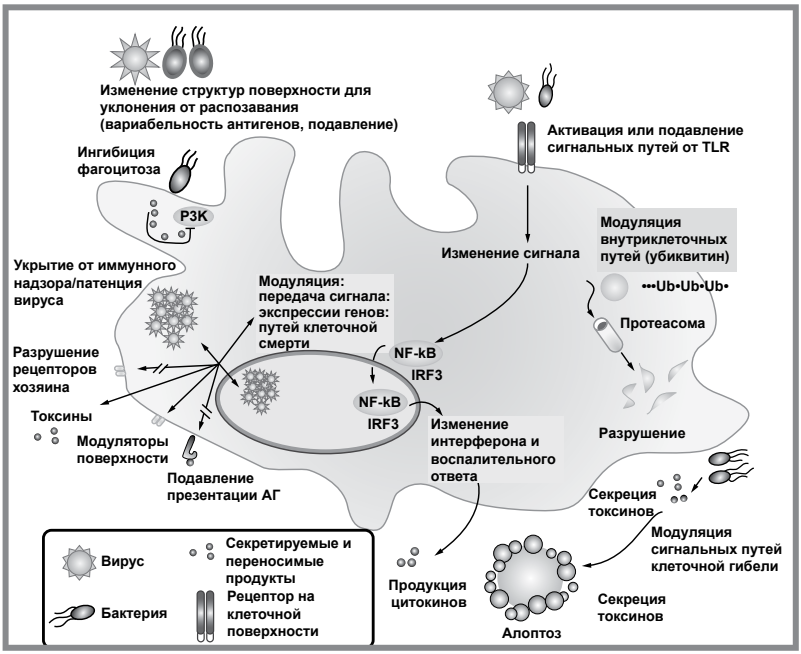


Рис. 2. Молекулярные механизмы ускользания патогенов от врожденных иммунных реакций (Finlay B. B., McFadden G., 2006).

довать иммунную систему более глубоко. Путем изучения того, как патогены используют свои «антииммунные» системы в хозяине, мы лучше понимаем различные «ахиллесовы пяты» в защите хозяина, таким образом более точно раскрываем фундаментальные свойства микробного патогенеза.

Фактически патогенные микроорганизмы широко используют оригинальные механизмы воздействия на все звенья системы иммунитета (рис. 2.). Именно к этому стремится современная иммунофармакология. Очевидно, что «непатентуемые» изобретения патогенов будут оценены по достоинству и использованы для профилактики и лечения инфекционных, аутоиммунных, гипервоспалительных и онкологических заболеваний.

Стратегически важные механизмы патогенных бактерий состоят из: ускользания, обхода, обрушения, подавления, инактивации, блокирования, модуляции, имитации и активации, т. е. они разнообразны, но на наш взгляд, укладываются в общее понятие — «антииммунитет».

Рекомендуемая литература

1. *Belkaud Y. a. K. Tarbell. Ann. Rev. Immunol. 2009. 27: 551—89.*
2. *Bowie A. G. & L. Unterholzner. Nature Rev. Immunol. 2008, 8: 911—922.*
3. *Brodsky, I. E. & Medzhitov. R. Nature Cell. Biol. 2009, 11: 521—526.*
4. *Coburn B., Sekirov I., Finlay B. B. Clin. Microbiol. Rev. 2007 Oct; 20 (4): 535—49.*
5. *Coombes B. K., Valdez Y., and Finlay B. B. Current Biology, 2004, 14: R856—R867.*
6. *Hajishengallis G. A., Lambris J.D. Nature Reviews Immunology, 2011, 11: 187.*
7. *Diacovich L. & Gorvel J. P. Nature Rev. Microbiol. 2010, 8: 117—128.*
8. *Finlay B. B. & McFadden G. Cell, 2006, 124: 767—782.*
9. *Flannagan R. S., Cosio, G. & Grinstein S. Nature Rev. Microbiol. 2009, 7: 355—366.*
10. *Kaufmann S. H. E., H. L. Collihs, U. E. Schaible. In: Clinical Immunology — principls and Practice. Mosby, Elsevier, 2008 (3): 389—409.*
11. *Kopp E., Medzhitov R. J. Exp. Med. 2002, 196 (8): 1009—12.*
12. *Lambris J. D., Ricklin D. & Geisbrecht B. V. Nature Rev. Microbiol. 2008, 6: 132—142.*
13. *Loo Y. -M. and M. Gale. In: Interferon: The 50th Anniversary. P. M. Pitha (Ed.) Springer. Berlin Heidelberg—N Y, 2007, 295—313.*
14. *Ly K. T. and J. E. Casanova. Cellular Microbiology 2007, 9 (9): 2103—2111.*
15. *Medzhitov R, Janeway C. A. Cell, 1997, 91: 295—298.*
16. *Sansonetti P. J. & Di Santo, J. P. Debugging. Immunity, 2007, 26: 149—161.*