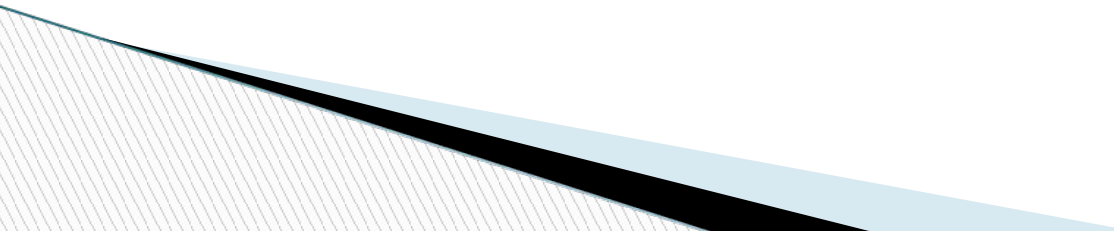
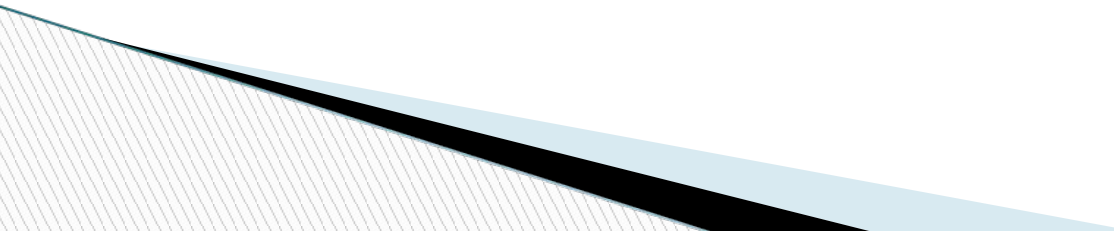


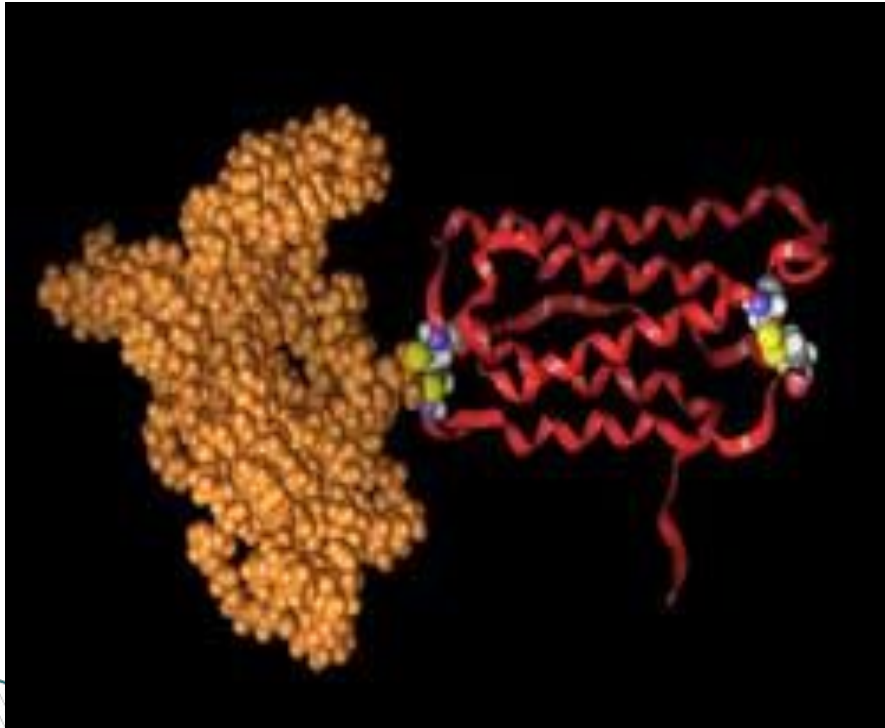
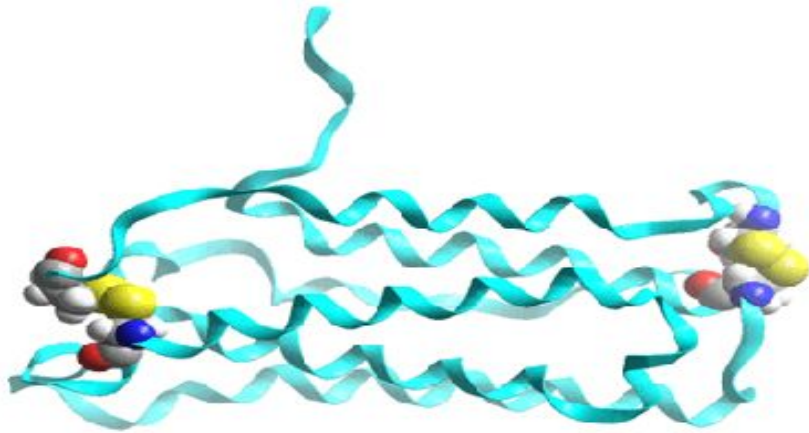
Лекция 4

ИНТЕРФЕРОНЫ

План лекции

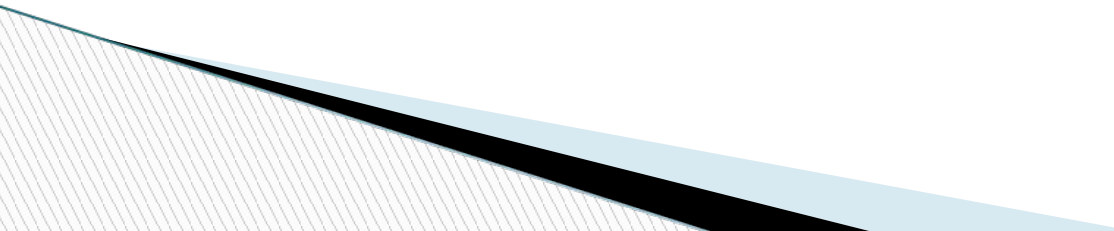
- Биологическая природа интерферонов (ИФН).
 - Классификация ИФН.
 - Технологическая схема получения лейкоцитарного α -ИФН.
 - Генно-инженерные ИФН.
 - Сравнительная характеристика нативных и генно-инженерных ИФН.
 - Лекарственные формы ИФН.
- 

- Термин «интерферон» появился в научной литературе, посвященной вирусологии.
 - В 1957 году английский вирусолог Айзеке и швейцарский вирусолог Линдерман, изучая явление взаимного подавления (интерференции) вирусов в развивающихся куриных эмбрионах, в культурах ткани или в организме животных, опровергли связь этого процесса с конкуренцией между вирусами.
 - Оказалось, что интерференция обусловлена формированием в клетках вполне конкретного низкомолекулярного белкового вещества, которое удалось выделить в чистом виде.
 - Ученые назвали этот белок интерфероном (ИФН), поскольку он подавлял репродукцию вируса гриппа и многих других вирусов, создавая в клетках состояние резистентности к их последующему реинфицированию.
- 



Явление антагонизма вирусов назвали английским словом "интерференция", что означает "помеха", "препятствие". Оно отмечается при введении в организм двух вирусов одновременно или с интервалом не более 24 часов. Исследователи предположили, что в этой борьбе вирусов участвует белок. Соответствующий низкомолекулярный белок был обнаружен и назван интерфероном. Интерферон найден у всех позвоночных животных, причем у различных видов животных интерферон различен; он максимально активен лишь в клетках того вида животных, от которых получен.

- Позднее было установлено, что ИФН представляют собой гликопротеиды с молекулярной массой 20000-30000 и специфической активностью, равной или превышающей 10^9 на 1 мг белка.
- Они синтезируются *in vitro* и *in vivo* в ответ на воздействие природных (вирусы, эндотоксины, внутриклеточные паразиты) и синтетических (высоко- и низкомолекулярных) индукторов; действуют на внутриклеточные этапы репродукции широкого круга РНК и ДНК-содержащих вирусов, ингибируя трансляцию вирусных информационных РНК и их биосинтез.
- Интерфероны не токсичны, не повреждают нормальных функций клеток (энергетический обмен, синтез макромолекул), но подавляют размножение быстро делящихся клеток, включая опухолевые.

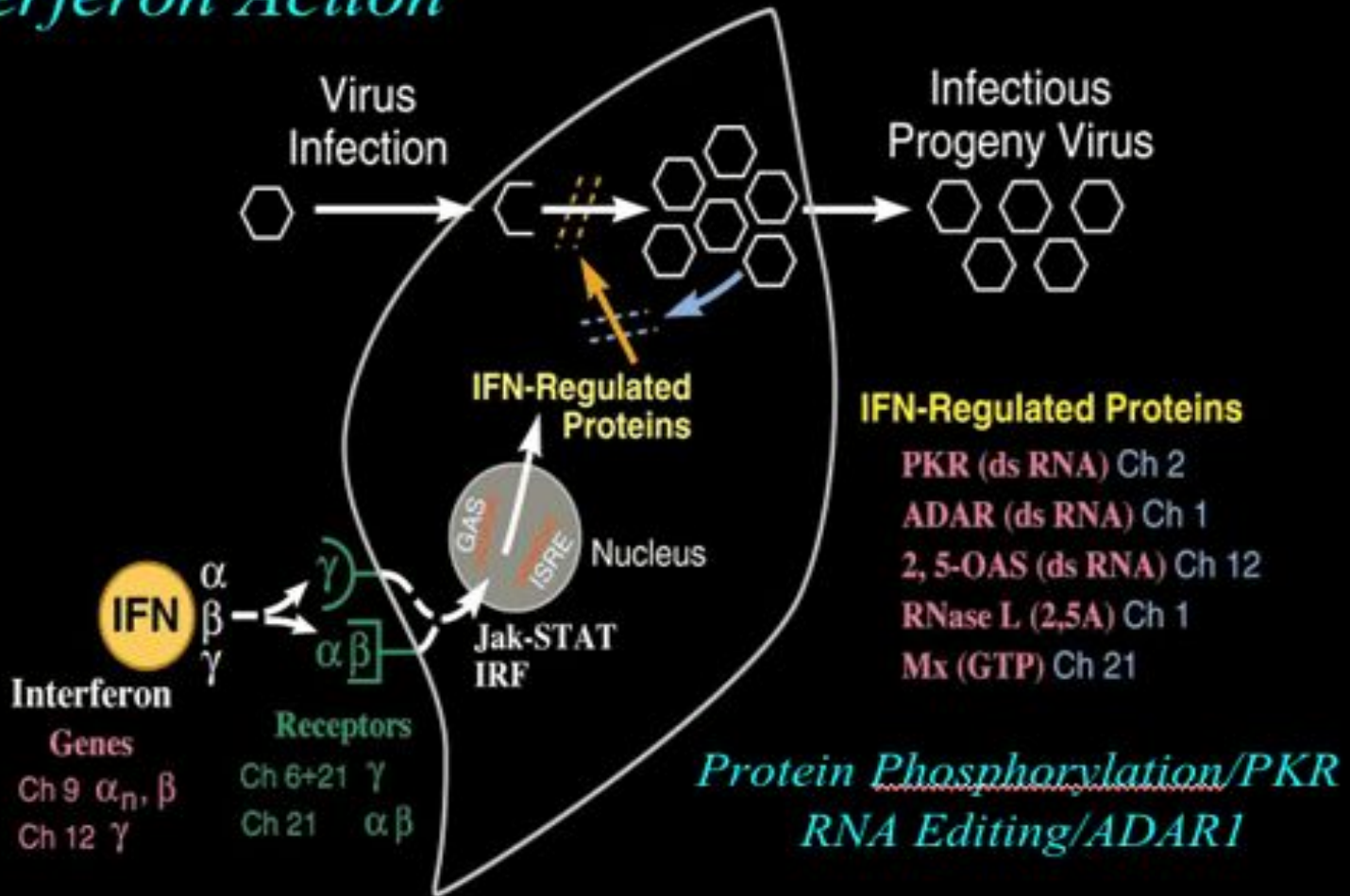
- Наиболее детально изученным биологическим свойством интерферонов является противовирусная активность, которая имеет следующие основные черты:
 - универсальность - интерфероны активны против широкого круга РНК и ДНК-содержащих вирусов;
 - тканевая специфичность - интерфероны высокоактивны в гомологичных системах и слабоактивны или неактивны в гетерологичных;
 - последствия - даже после удаления ИФН в обработанных ими клетках в течение длительного времени сохраняется способность подавлять репродукцию вирусов;
- 

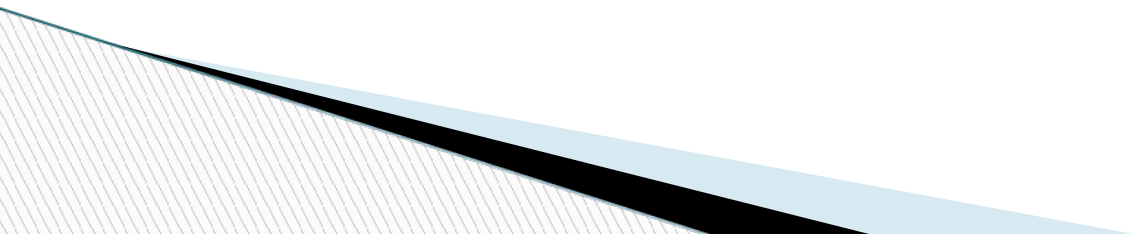
- действие по типу катализаторов - в процессе контакта с клетками расходуются лишь малые количества ИФН;
- внутриклеточная точка приложения - ИФН действует на вирусы лишь в процессе их репродукции;
- обязательность клеточной стадии - состояние резистентности клеток развивается лишь после определенного времени контакта ИФН с клетками;
- необходимость полноценного метаболизма клеток - эффект действия ИФН снижается ингибиторами синтеза белка и нуклеиновых кислот;
- эффективность действия - даже очень небольшие дозы ИФН (10^{-6} - 10^{-7} мг/мл) обладают противовирусной активностью;
- отсутствие антигенности в гомологичных системах - ИФН не обнаруживает тканевой специфичности.

Классификация интерферонов

- В 70-х годах все ИФН подразделяли на 2 типа: индуцированные вирусами (лейкоцитарный и фибробластный), которые относили к первому типу и индуцированные мутагенами (иммунный) - ко второму.
- В 1980 г. комитетом экспертов Всемирной организации здравоохранения была принята и рекомендована к использованию классификация, согласно которой все ИФН человека подразделяют на 3 класса.
- Они кодируются различными генами и имеют характерную для каждого класса последовательность аминокислот, из которых построены их молекулы.
- При наличии рекомбинантных вариантов ИФН их обычно обозначают римскими буквами.

Interferon Action





Классификация интерферонов человека

Класс ИФН	Используемое наименование	Тип ИФН	Наличие подтипов. Наименование рекомбинатных вариантов
Лейкоцитарный	ИФН-сс	I	Не менее 12 А, В, С, Е, I; С, Н
Фибробластный	ИФН-р	I	Существуют
Иммунный	ИФН-γ	II	Существуют



- В настоящее время все полученные знания о ИФН можно обобщить в науку «интерферология», которая включает теоретические и практические (медицинские и фармацевтические) аспекты этой проблемы. В последнее десятилетие произошло 4 важнейших события в интерферологии (выделены проф. Ф. И. Ершовым, 1996):
- - сформулировано понятие «система интерферона» и выявлены ее прямые и обратные связи с системами иммунитета и нейроэндокринной системой;
- открыта множественность генов ИФН-ст (более 20 в клетках человека);
- с помощью современных технологических приемов усовершенствованы существующие и созданы препараты ИФН нового поколения, прошли апробацию оригинальные индукторы ИФН;
- определены показания и противопоказания для клинического использования ИФН и их индукторов при вирусных и невирусных заболеваниях.
- Нас, как провизоров, наиболее интересуют два последних положения, которые мы далее разберем.

- В качестве индуктора интерферогенеза используют вакцинный штамм вируса болезни Ньюкасла или вирус Сендай.
- Предварительное культивирование вирусов проводят в развивающихся 9-11 сут. куриных эмбрионах.
- Основные технологические операции: овоскопия, отбраковка, инкубирование куриных эмбрионов, введение инфекционной взвеси в аллантоисную полость с последующим инкубированием в течение 48-72 часов и стягиванием инфицированной жидкости у погибших куриных эмбрионов. Вирусосодержащую аллантоисную жидкость центрифугируют.
- Очень важной операцией, определяющей качество готового препарата, является удаление из лейкоконцентрата примесей эритроцитов (стадия 1).
- Наиболее полно устраняет присутствие эритроцитов в лейкоконцентрате их избирательный лизис раствором хлористого аммония в физиологической концентрации.

- На этапе культивирования лейкоцитов (стадия 2) лейкоконцентрат ресуспендируют в культуральной жидкости, которая, помимо основных компонентов, содержит некоторые белки сыворотки крови, без которых биосинтез ИФН практически не происходит.
- Также установлено, что при культивировании лейкоцитов, особенно при большой плотности суспензии (10^7 клеток/мл), в них активируются метаболические процессы, что сопровождается образованием кислых продуктов.
- В связи с этим важно в период прайминга и биосинтеза ИФН сохранять pH среды в оптимальных пределах. Для поддержания pH среды на необходимом уровне к среде добавляют различные вещества, обладающие буферной емкостью.
- Оптимальные условия при выработке ИФН (стадия 4) создаются при культивировании лейкоцитов при $37-37,5^{\circ}\text{C}$. Снижение температуры инкубирования до 35°C и ниже, или, напротив, повышение ее до 38°C и выше приводило к значительному ослаблению продукции ИФН.

- ИФН-а может продуцироваться как в стационарных условиях культивирования, так и в культурах с постоянным перемешиванием клеток.
- Считается, что клетки во взвешенном состоянии более интенсивно вырабатывают ИФН-а.
- Большое значение для выживания клеток в суспензионных культурах имеет форма сосудов, высота слоя жидкости и достаточные количества кислорода в воздушной среде.
- Оптимальные условия для получения титров ИФН-а создаются при культивировании лейкоцитов в круглодонных колбах, накрытых фольгой, заполненных клеточной взвесью наполовину, при постоянном перемешивании.
- Предварительная обработка лейкоцитов малыми дозами ИФН-а приводила к увеличению выхода ИФН в 3-10 раз.

- После ресуспендирования лейкоциты индуцируют аллантаисными (без оболочки) вирусами болезни Ньюкасл или Сендай. После инкубации в течение 20 часов при температуре 37,5°C, во время которой преимущественное значение имеет поддержание жизнеспособности культур и высокого метаболизма клетки при постоянстве pH, клетки отделяют низкоскоростным центрифугированием (2 000 об/мин.) в течение 40 минут. Активность интерферона в препаратах, полученных в результате описанной процедуры, составляют 30-200 000 ЕД/мл.
- Аналогичные биотехнологические приемы лежат в основе получения других препаратов природных ИФН, которые отличаются по природе клеток-продуцентов и индукторов:
 - ИФН-β- клетки продуценты фибробласты
 -
 - ИФН-γ-лейкоциты от здоровых доноров
 - Индуктор актиномицин циклогексимид
 -
 - Специфические антиген или митогены-стафилококковый энтеротоксин

- В культуральной жидкости, собранной с клеточной культурой и представляющей полуфабрикат ИФН, содержится значительное количество примесей, в том числе и гетерологичных для человека (антигены вируса - индуктора, белки алантоисной жидкости и другие компоненты клеток-продуцентов), которые способны при введении вызвать побочные реакции и осложнения (особенно при парентеральном введении).
- Отсюда становится очевидной необходимость очистки ИФН от указанных примесей.
- В последние годы для очистки природных ИФН, как для клинических испытаний, так и для изучения биологических свойств, широко используется высокоэффективный метод жидкостной хроматографии.
- При этом смесь белков адсорбируется на каком-либо твердом носителе, а затем элюируется растворителем, при этом различные компоненты смеси элюируются с разной скоростью. Все активнее для очистки ИФН внедряются методики аффинной хроматографии.

- Анализируя схему получения природных ИФН, необходимо обратить внимание на следующие моменты:
- донорская кровь, компоненты которой - лейкоциты, плазма, предназначена для получения природных препаратов ИФН допускается к переработке только при отрицательных результатах контроля на СПИД, гепатиты В и С и сифилис, а также других инфекций;
- для повышения безопасности препаратов ИФН на базе донорской крови в процессе производства используются методы химической инактивации, при чем она должна строиться на использовании не менее двух дезинфектантов с различным механизмом действия;

Рекомендуемые схемы инактивации человеческих вирусов в препаратах ИФН

Препараты	Схема инактивации
Интранальные нативного типа ИФН-а	Перекись водорода 1% + кислотная (НС1) обработка при рН 2,2 + 0,2
Инъекционные нативного типа ИФН-а	Перекись водорода 1% + хлороформ (10%)
Инъекционные типа ИФН-а	Этанол (94%, рН 4,2,) + хлороформ (20%)
Инъекционные нативного типа ИФН-у	Перекись водорода 1 % + этанол (50%)

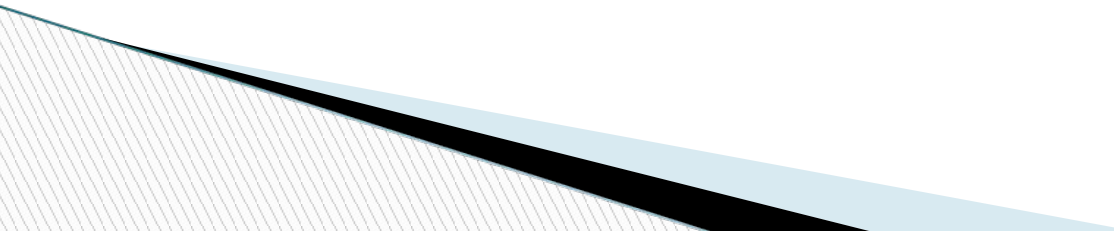
Генно-инженерные интерфероны

- В современной биотехнологии все более широко используются методы генной инженерии. Уже во многих лабораториях мира успешно получают и интегрируют в генетический аппарат культивируемых бактериальных или соматических клеток гены, кодирующие образование ряда биологически активных веществ.
- Функциональные гены для биотехнологического производства воссоздают методом обратной транскрипции или синтезируют из отдельных нуклеотидов, выделяя из ДНК соответствующих хромосом.
- Опыты по переносу генов ИФН человека в бактериальные клетки были начаты в конце 70-х годов. Почти одновременно в 3 научно-исследовательских группах: в Институте молекулярной биологии и Цюрихского университета под руководством Вейсмана, в отделе биохимии Института по исследованию рака в Токио под руководством Т.Танигучи и в США филиалом фирмы «Genentech» под руководством Дж. Геддела.

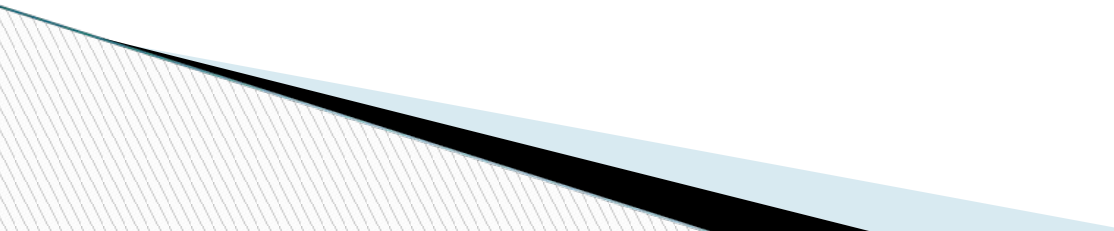
- Все три группы исследователей использовали для клонирования метод обратной транскрипции мРНК интерферонов. В качестве примера рассмотрим ход экспериментов группы Вейсмана.
 - Для клонирования гена α -ИФН в качестве исходного материала использовали фракцию 12 S поли (А) мРНК (информационная аденилированная РНК), полученную из клеток лейкоцитов, индуцированных вирусом Сендай.
 - На базе информационной РНК получена комплементарная ей ДНК, состоящая из 2 цепей.
 - Полученная двухспиральная ДНК была расщеплена с помощью рестриктаз путем образования липкого конца олиго-dG.
 - Аналогичная операция была проведена с плазмидой с образованием липкого олиго-dC-конца.
 - С помощью лигаз осуществлено встраивание комплементарного ДНК, содержащей информацию о структуре α -ИФН в плазму pBR322.
- 

- Эта плаزمида несет в своем составе гены, определяющие устойчивость к двум антибиотикам: тетрациклину и ампицилину. Вставка ДНК интерферона инактивирует ген, ответственный за устойчивость к ампицилину, поэтому первичный отбор клеток, получивших гибридные плазмиды, шел по устойчивости к тетрациклину.
- Для отбора нужных клонов использовали следующий метод: смесь нескольких плазмид из разных клонов, одна из которых может содержать ДНК интерферона, денатурируют и связывают с твердой подложкой.
- С этой ДНК гибридизируют образцы РНК, полученные из продуцирующих ИФН клеток человека, фильтры промывают, элюируют РНК в денатурирующих условиях и элюат инъецируют в овоциты африканской зеленой лягушки для выявления мРНК интерферона.
- Среди гибридизирующихся клонов выбран один, названный Hif-2h, имеющий вставку соответствующую размеру полного гена α - ИФН.

- Клетки кишечной палочки, содержащие гибридные плазмиды, несущие такую вставку способны синтезировать полипептид с биологической активностью интерферона.
- Работы по клонированию генов интерферона были повторены и развиты как названными выше авторами, так и другими группами исследователей во многих странах. В СССР первое успешное клонирование гена лейкоцитарного интерферона описано в 1982г. акад. Овчинниковым, фибробластного в 1983 г. -Ю.И. Козловым, иммунного - в 1985 г. Е.Д. Свердловым.
- В настоящее время экспрессия генов ИФН произведена не только в клетки кишечной палочки, но и в клетки грамотрицательных бактерий, (*Pseudo-mones*) - лежит в основе промышленного производства ИФН в России. В настоящее время считается, что наиболее эффективно использование для этих целей дрожжей.

- Дрожжи рода *Saccharomyces* не патогенны для человека, имеют многовековой опыт их использования.
 - Дрожжи не подвержены лизису, автолизу, легко сепарируются, используют дешевые субстраты.
 - Биомасса дрожжей не содержит токсичных и пирогенных факторов, как клетки грамотрицательных бактерий.
 - Весьма важным обстоятельством является также сходство секреторных механизмов дрожжей и высших эукариот, это позволяет предположить, что клонированные гены преинтерферонов смогут давать зрелый ИФН в результате правильного процессинга.
- 

- Отработана технология массового культивирования клеток-продуцентов рекомбинантного ИФН. Так, для отечественного препарата реаферона она включает:
- культивирование бактериального штамма-продуцента реаферона в ферментерах объемом 100 л с выходом $5-7 \times 10^3$ МЕ из 1 л культуральной жидкости;
- разрушение биомассы методом, позволяющим увеличить процесс с 60-70 %-ным выходом целевого продукта;
- предварительную очистку реаферона на ионнообменнике; окончательную очистку препарата проводят на иммуносорбенте с моноклональными антителами к лейкоцитарному ИФН-а типа 5АС.

- Основным продуктом рекомбинантного ИФН являются бактериальные штаммы, в цитоплазме, которой синтезируется ИФН и составляет лишь доли процента от общей массы бактериальных белков.
 - После накопления в специальных ферментерах достаточно высокой концентрации клеток их удаляют из ферментера и разрушают (лизируют).
 - В качестве основных методов лизиса используют: осмотический шок, замораживание-оттаивание, гомогенизирование, обработку детергентами.
 - Затем с помощью последовательных процедур фильтрования, центрифугирования, ионообменной хроматографии и гельхроматографии происходит предварительная очистка ИФН, дающая в итоге прозрачный бактериальный экстракт, в котором ИФН все еще составляет не более 1-2% от общего количества белка.
 - Окончательную очистку препарата на иммуносорбенте с моноклональными антителами к ИФН.
- 

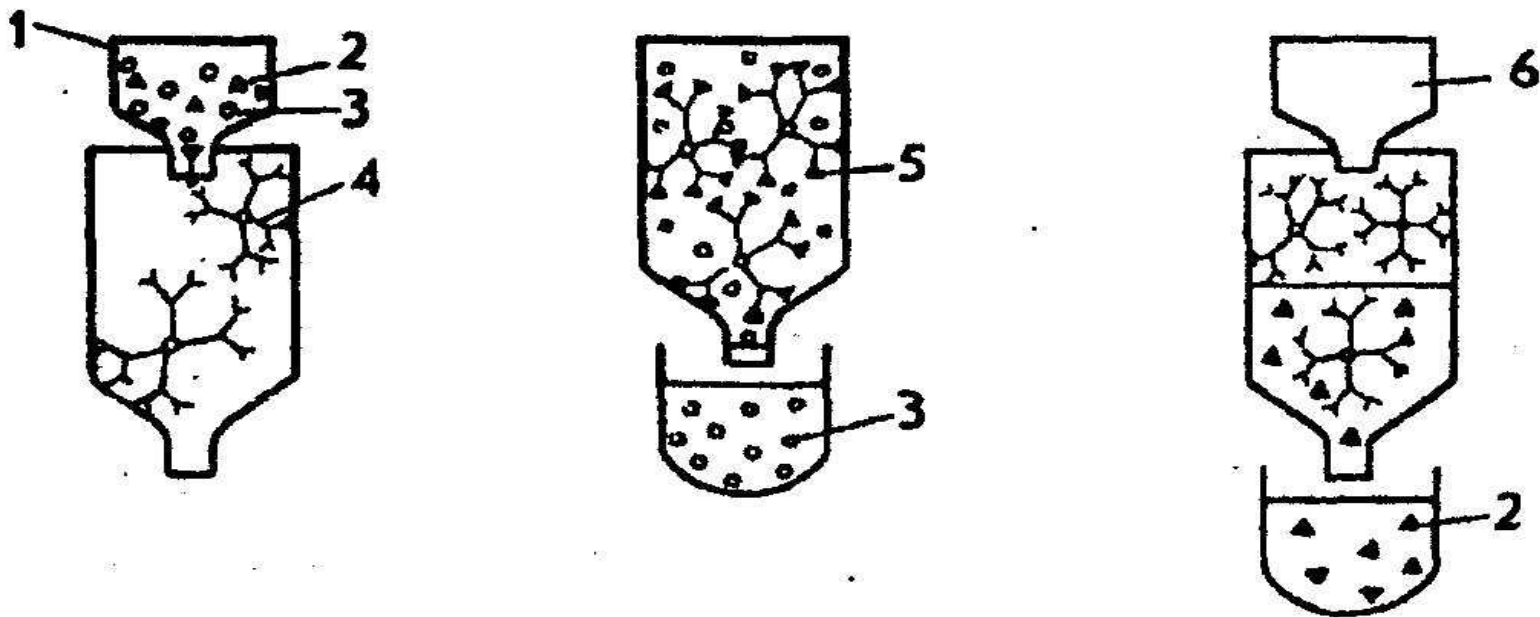


Схема очистки рекомбинантного интерферона с помощью моноклональных антител (МкАТ): 1 - диализат с интерфероном и другими бактериальными белками, 2 - интерферон, 3 - балластные белки, 4 - МкАТ, 5 - интерферон, связывавший с МкАТ, 6 - слабая кислота

- Моноклональные антитела к ИФН «пришивают» к гранулам носителя и помещают в хроматографическую колонку.
- Затем наносят на колонку бактериальный экстракт, содержащий рекомбинантный ИФН. С антителами связывается лишь ИФН, другие же компоненты экстракта, в том числе все бактериальные токсины, свободно проходят через колонку и удаляются промывным раствором.
- Для извлечения из колонки адсорбировавшийся на антителах рекомбинантный ИФН через нее пропускают элюирующий буферный раствор, имеющий слабокислую реакцию. При этом связь между молекулами ИФН и антителами нарушается.
- ИФН переходит с поверхности частиц сефарозы в буферный раствор и может быть собран в виде чистого вещества, не содержащего загрязняющих белков.

- На современном уровне рекомбинантные ИФН - это лишь воспроизведенные отдельные субтипы ИФН (продукты) одного гена, что сказывается на потенциале терапевтической активности.
-
- Идеальный препарат должен, подобно природному, иметь их физиологически сбалансированное сочетание.
- Установлено, что в процессе интерферогенеза в культурах донорских лейкоцитов синтезируется ряд цитокинов: факторы, влияющие на экспрессию антигенов комплекса гистосовместимости (ГКГ) 2-го класса ИФН-с белков, тормозящих миграцию макрофагов и нейтрофилов и активирующих фагоцитарную активность макрофагов и гранулоцитов, а также цитологическую функцию лимфоцитов.
- Сохранение цитокинов открывают новые возможности повышения терапевтической эффективности препаратов ИФН .

- Семейство ИФН-а содержит около 20 подтипов, поэтому природные препараты - Человеческий лейкоцитарный интерферон, Эгиферон, Вэлферон многокомпонентны и содержат все или по крайней мере большинство из подтипов. Кроме того, природные ИФН не обладают антигенными свойствами и не вызывают сенсibilизации при длительном многократном введении. Некоторые рекомбинантные ИФН, напротив, при введении инъекционным путем могут вызвать образование нейтрализующих или связывающих антител.
- Наиболее часто используются рекомбинантные ИФН- $\alpha 2a$ (Реаферон, Роферон), ИФН- $\alpha 2b$ (Интрон А, Реальдирон) и ИФН- $\alpha 2c$ (Берофор), являющиеся аналогами природных подтипов с точечными мутациями в белковой структуре *lis-his*, *arg-his*, *arg-arg*, соответственно, которые мало влияют на активность, но существенны с точки зрения сенсibilизации. Так препараты ИФН- $\alpha 2a$, не являющиеся характерными для человеческой популяции, имеют большой риск вызвать сенсibilизацию и образование антител, которые в высоких титрах будут снижать их терапевтический потенциал.

- С фармакологической точки зрения препараты ИФН должны рассматриваться, прежде всего, как иммуномодуляторы, оказывающие воздействие на функциональную активность эффекторных клеток иммунной системы и прежде всего Т-лимфоцитов и моноцитов (макрофагов). Под действием ИФН повышается эффективность иммунного распознавания антигена и усиливаются фагоцитарная и цитолитическая функции, направленные на элиминацию возбудителя или антигенно-измененных клеток.
- Многолетний опыт показал, что при интраназальном введении ИФН обладает выраженной профилактической эффективностью в отношении различных вирусов гриппа и парагриппа. Защитное действие наиболее выражено при ежедневном применении препарата с помощью ингаляторов или распылителей. Многократные интраназальные инсталляции или ингаляционное введение раствора препарата через нос и рот в форме аэрозоля в течение первых двух дней болезни приводило к более быстрому снижению явлений интоксикации и лихорадочной реакции. Быстрее уменьшались и выраженность воспалительных явлений в верхних дыхательных путях.

- Исследования последних лет показали, что ИФН подавляет размножение опухолевых клеток, что делает его эффективным при лечении опухолевых заболеваний. Противоопухолевое действие ИФН можно объяснить стимуляцией естественных защитных механизмов организма, в частности на лимфоциты, которые убивают раковые клетки или образуют антитела.
- К настоящему времени определен круг заболеваний, при которых эффективно использование ИФН. Из вирусных инфекций - это ОРВИ, грипп, энцефалиты, вирусные гепатиты, герпетические поражения глаз (конъюнктивиты, кератоконъюнктивиты), слизистых оболочек и глаз. По мнению клиницистов при герпетических поражениях кожи и слизистых оболочек следует отдавать предпочтение местному применению препарата. ИФН нашел применение при пересадках органов как средство, предупреждающее вторичные вирусные инфекции. Краткий анализ позволяет заключить, что ИФН способен положительно влиять на развитие самых различных заболеваний вирусной этиологии. Его эффективность наиболее выражена при острых инфекциях, на ранних сроках заболевания. При клиническом использовании следует отдавать предпочтение местному введению, обеспечивающему минимальный расход препарата. Кроме того, местное применение позволяет избежать отрицательных явлений, наблюдающихся при системном введении высоких доз ИФН.

- Каждая лекарственная форма имеет свою область применения, обусловленную ее иммунобиологическими и фармакологическими свойствами. Это положение формулируется следующим образом:
- Препараты ИФН не должны вызывать явлений сенсibilизации при длительном многократном применении прерывистыми курсами. Биосинтез ИФН для приготовления различных лекарственных форм может проводиться по единой технологической схеме, но способы очистки ИФН и ее критерии должны отвечать задачам терапии. В инъекционных лекарственных формах примеси, антигенные для человека, должны отсутствовать. Их уровень в препаратах для местного пользования должен быть ниже порога сенсibilизации.

- Теоретически в природных препаратах ИФН-α могут присутствовать 3 основные группы антигенов:
- антигены вируса-индуктора и куриной аллантаической жидкости;
- эритроцитарные антигены, определяющие группу крови и резус-принадлежность;
- лейкоцитарные антигены HLA.
- Биотехнология получения ИФН должна включать операции, ограничивающие возможность прикосновения этих антигенов в лекарственные формы. Технологически наиболее трудной задачей является удаление антигенов I группы, так как на стадии индукции их вводят в суспензию в большом количестве.
- Лекарственные формы ИФН-α, разрешенные к медицинскому применению обобщены в таблице. Препараты природного ИФН-α в зависимости от методов очистки можно разделить на две группы - нативные и концентрированные*. Препараты нативного типа по белковому составу практически не отличаются от исходных полуфабрикатов, характеризуются невысокой удельной активностью - до $1 \cdot 10^4$ МЕ на 1 мг белка, но сохраняют все цитокины, продуцированные в процессе интерфероногенеза, в их естественном соотношении. Поэтому они обладают высоким потенциалом иммунобиологического действия.

- Биотехнология получения концентрированных препаратов включает химическую очистку, что приводит к снижению потенциала иммунобиологического действия из-за утраты цитокинов. Однако эти препараты представляют также ценность для практического здравоохранения. Например, высококонцентрированный человеческий лейкоцитарный ИФН – ЧЛИ для инъекций – пока незаменим в ситуациях, когда необходимо ввести высокие разовые дозы (лимфобластный лейкоз в стадии обострения), а также при лечении вирусных и онкологических поражений, локализованных за гематоэнцефалическим барьером. К препаратам концентрированного типа относится и интерлок, который успешно применяют для местного лечения вирусных поражений глаз.
- Третью группу составляют рекомбинантные ИФН, представленные реафероном и реальдоном.

- При многих формах патологии препараты для местного применения (интраназальные капли, мазь, ректальные суппозитории, глазные пленки и др.) более эффективны, чем инъекционные. Например, при активном хроническом ВГВ использование ректальных суппозиторий, содержащих всего 1 00 000 МЕ ИФН-а, дает такие же результаты, как и внутримышечное введение высококонцентрированного препарата в дозе 3 МЕ. Расход препарата и стоимость лечения при применении ректальных суппозиторий снижается в десятки раз.
- Современные рекомбинантные препараты ИФН
- Реаферон (человеческий рекомбинантный ИФН-а2) производство НПО «Вектор» г. Новосибирск
- получен при культивировании бактериального штамма *Pseudomonas sroogeposa*, содержащего в своем генетическом аппарате встроенную рекомбинантную плазмиду гена ИФН-а2 человека.
- предназначен для внутримышечного, субконъюнктивального и местного применения.

- Выпускается в виде лиофилизированного порошка в ампулах.
- Интрон А (человеческий рекомбинантный ИФН- $\alpha 2b$) фирмы Schering Plough -США.
- Препарат получен по рекомбинантной ДНК-технологии с использованием бактериальных *E.coli*, содержащих встроенный генно-инженерным путем
- ген, кодирующий этот человеческий белок.

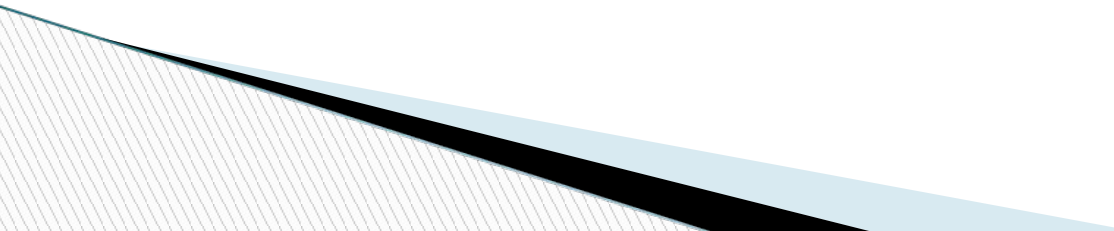
- Спецификация активности $2 \cdot 10^8$ МЕ/мг белка.
- Форма выпуска- флаконы с активностью $1 \cdot 10^6$
- $3 \cdot 10^6$
- $5 \cdot 10^6$
- $10 \cdot 10^6$

- Интрон А рекомендуется для лечения волосатоклеточного лейкоза, множественной рецидивирующей миеломы у пациентов, нечувствительных ко всем видам химиотерапии, а также саркомы Капоши, ассоциированной со СПИДом.

- Введение больших доз белка сопровождается повышением температуры, появлением головной боли, расстройством желудочно-кишечного тракта (тошнота, иногда обострение гепатита), возникают нарушения в работе сердечно-сосудистой системы. На основании изучения онтогенеза системы ИФН разработан новый отечественный препарат виферон-суппозитории, включающие в себя рекомби-нантный ИФН- α , и препараты антиоксидантного действия. Виферон положительно зарекомендовал себя при лечении вирусных и бактериальных заболеваний у новорожденных детей: внутриутробный герпес, хламидиоз, ОРВИ, кандидоз.

▣ Определение активности ИФН

- ▣ Титрование ИФН в 96- луночных плоскодонных планшетах с диплоидной культурой фибропластов человека М 19 в среде Игла с 10% бычьей сыворотки (105 кл/мл). Культуру в объеме 200 мкл на 1 лунку выращивают 24-48 часов (до образования сплошного монослоя) при 37°C в атмосфере 3% CO₂.
- ▣ В качестве тест-вируса используют ВВС (вирус везикулярного стоматита) или ВЭМК (вирус энцефаломиокардита). За единицу активности ИФН принимают величину, обратную его разведению, задерживающую деструкцию монослоя на 50 % (МЕ/мл). В каждое титрование берут пробу референс-ИФН с известной активностью, выраженной в международных единицах на миллилитр.

- Новой и весьма перспективной группой противовирусных препаратов являются индукторы ИФН, представляющие разнородную группу высоко- и широкомолекулярных природных и синтетических соединений, объединенных способностью вызывать образование ИФН.
 - Индукторы ИФН обладают противовирусными и иммуномодулирующими и другими характерными ИФН эффектами.
- 

Индукторы ИФН, пригодные для клинического использования

Химическая природа	Препарат
А. Синтетические соединения	!
Низкомолекулярные флуорены Азотные основания	Амиксин Камедон
2. Полимеры поли (А) поли (У) поли (Г) · поли (Ц)	Полудан Полигуацин
В. Природные соединения	Мегасин, кагоцел, рагосин, газали-дон, совран
1. Низкомолекулярные полифенолы (производные госсипола)	
2. Полимеры двухспиральная РНК	Ларифан, ридостин
С. Официальные препараты	Теofilлин, теобромин, эуфиллин, кофеин
1. Метилксантины	
2. Производные изохинолина	Папаверин, но-шпа
3. Производные имидазола	Дибазол
4. Производные бензофурана	Кордарон
5. Производные хромена	Интенкордин

Нечто интересное

К серьезным вирусным заболеваниям животных можно отнести ящур крупного рогатого скота, рожистое воспаление у свиней, чуму птиц и миксоматоз кроликов. Все эти болезни вызываются вирусами. Вирусное заражение растений обычно приводит либо к появлению желтых крапинок на листьях (так называемой мозаики листьев), либо к морщинистости или карликовости листьев. Вирусы вызывают и задержку роста растений, что впоследствии приводит к снижению урожая. Ряд серьезных заболеваний вызывают вирусы желтой мозаики турнепса, табачной мозаики, карликовой кустистости томатов и бронзовости томатов. Появление полосок на цветках некоторых сортов тюльпанов также обусловлено вирусом, а ведь цветоводы продают эти тюльпаны, выдавая их за особый сорт. Вирусы растений, по-видимому, всегда относятся к РНК-содержащим вирусам.

И еще: Ученые выяснили, что прием препарата интерферона может значительно отодвинуть начало развития рассеянного склероза, а в некоторых случаях - затормозить развитие болезни, сообщает CNN. Исследования проводились на группе из 383 пациентов в 50 клиниках. Прием препарата значительно отдал началу заболевания у половины пациентов, начавших принимать его при первых симптомах заболевания. У некоторых прием препарата приостановил развитие болезни.

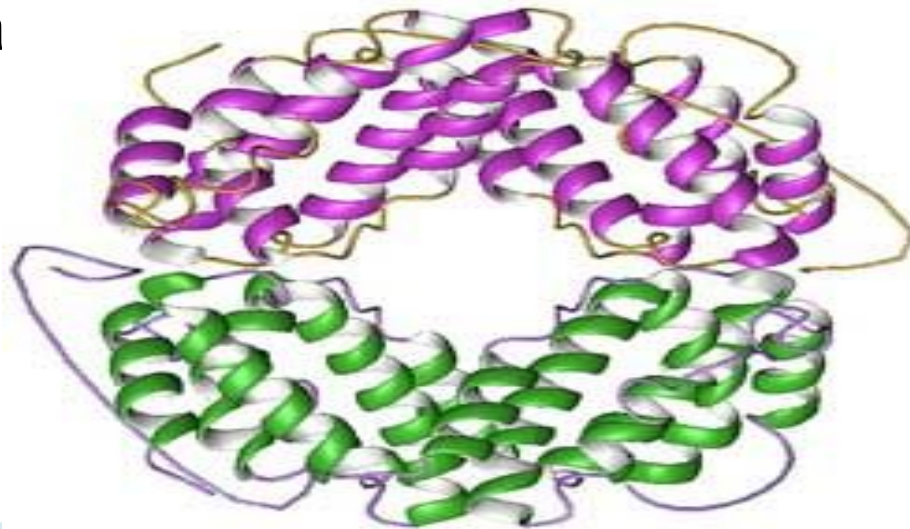
Данные исследований опубликованы в журнале "New England Journal of Medicine".



Биотехнологическое получение микробных иммунобиологических препаратов

Увеличивающаяся потребность в иммунологических препаратах привела к созданию промышленного производства вакцинных и иммунодиагностических препаратов на основе использования клеток человека и животных. Открытие принципов гибридной техники привело к получению в 1975 году моноклональных антител – одному из наиболее знаменательных событий в медико-биологических науках второй половине XX века. С этого периода началось массовое производство антительных препаратов, основанное на биотехнологии клеток. Культуры клеток и тканей животных и человека в наши дни широко используются как в научно-исследовательской работе, так и в крупнотоннажных производствах для получения вирусных препаратов, создания материала клеток для трансплантации, синтеза физиологически активных веществ. В последние годы широкое применение получают трансплантация эмбрионов и создание гибридом.

Применяются также препараты-индукторы (интерфероногены), которые стимулируют выработку клетками организма человека эндогенного интерферона. *Индукторы эндогенного интерферона* - новый класс наиболее перспективных препаратов, самым эффективным среди которых является циклоферон, отличающийся низкой токсичностью, отсутствием аллергенного, мутагенного и эмбриотоксического действия на



"Ампулы интерферона - сейчас такая же принадлежность любой семейной аптечки, как, например, активированный уголь или анальгин. И мы твердо уверены, что это надежный друг, который защитит от вездесущих вирусов, к тому же он абсолютно безвреден, и врачи дают ему только хвалебные отзывы."

М.Я. Жолондз.

Спасибо за внимание !

