

# Иммуотропные свойства анаферона и анаферона детского

Е. С. ЖАВБЕРТ, Ю. Л. ДУГИНА, О. И. ЭПШТЕЙН

Общество с ограниченной ответственностью «Научно-производственная Фирма «Материя Медика Холдинг», Москва

## Immunotropic Properties of Anaferon and Anaferon Pediatric

E. S. ZHAVBERT, YU. L. DUGINA, O. I. EPSTEIN

Materia Medica Holding, Ltd, Moscow

Препараты анаферон и анаферон детский, созданные на основе релиз-активных антител к интерферону-гамма (Р-А антител к ИФН-гамма), эффективны в лечении целого ряда вирусных инфекций. В серии доклинических исследований, проведённых в ведущих российских и зарубежных научных организациях, были выявлены иммуномодулирующие (иммуотропные) свойства препаратов, обзор которых представлен в настоящей статье. Анаферон и анаферон детский стимулируют гуморальный и клеточный иммунный ответ, повышают фагоцитарную активность нейтрофилов и макрофагов. Ключевым механизмом иммуотропного действия Р-А антител к ИФН-гамма является влияние на систему интерферонов, в частности на ИФН-гамма, и функционально сопряжённых с ней цитокинов, приводящее к нормализации функциональной активности естественных факторов иммунной защиты и к усилению противовирусного действия. Благодаря широкому спектру иммуотропной активности препараты анаферон и анаферон детский более 10 лет успешно применяются в лечении и профилактике заболеваний, в основе которых лежат нарушения функционального состояния иммунной системы.

*Ключевые слова: анаферон, анаферон детский, релиз-активные антитела к ИФН-гамма, иммуотропная активность, иммуномодулятор, противовирусный препарат.*

Anaferon and pediatric anaferon based on release-active antibodies to interferon- $\gamma$  (R-A antibodies to INF- $\gamma$ ) proved to be efficient in the treatment of many viral infections. Immunomodulating (immunotropic) properties of the drugs were revealed in the preclinical studies at many Russian and foreign research medical institutions and are reviewed herein. Anaferon and pediatric anaferon stimulated the humoral and cellular immune responses and increased the neutrophil and macrophage activity. The crucial mechanism of the immunotropic action of R-A antibodies to INF- $\gamma$  was the effect on the system of interferons and in particular on INF- $\gamma$  and functionally conjugated cytokines, resulting in normalization of the functional activity of the innate factors of the immune defense and increasing of the antiviral action. The broad spectrum of the immunotropic activity provided the success of anaferon and anaferon pediatric for more than 10 years in the treatment and prophylaxis of the diseases associated with disorders in the immune system functional state.

*Key words: anaferon, pediatric anaferon, release-active antibodies to INF- $\gamma$ , immunotropic activity, immunomodulators, antivirals.*

## Введение

Среди современных препаратов, применяемых для лечения вирусных инфекций, в особую группу выделяют препараты, которые в дополнение к противовирусной активности обладают иммуотропными свойствами. Иммуотропные лекарственные средства (иммуномодуляторы) — это препараты, регулирующие и восстанавливающие деятельность иммунной системы. Иммунная система человека выполняет важную функцию по сохранению постоянства внутренней среды организма, распознавая и удаляя из организма чужеродные антигены как эндогенной (клетки, измененные вирусами, ксенобиотиками, злокачественные клетки и т. д.), так и экзо-

генной природы (вирусы, бактерии, грибы, ксенобиотиками). В осуществлении данной функции участвуют факторы врождённого (нейтрофилы, моноциты, макрофаги, дендритные клетки, естественные киллеры) и приобретённого (адаптивного) иммунитета (Т- и В-клетки) [1]. Интерфероны — естественные цитокины, обладающие универсальными антивирусными свойствами — способностью к подавлению репликации многих РНК- и ДНК-содержащих вирусов за счёт ингибирования процессов транскрипции и трансляции вирусных матриц [2]. Помимо противовирусного действия, интерфероны (ИФН) влияют на клеточный и гуморальный иммунитет, пролиферацию и дифференцировку клеток, продукцию и активность различных цитокинов, внутриклеточных ферментов (аденилатциклазы, фосфодиэстеразы), онкогенез, апоптоз, нейроэндокринные и обменные процессы, происходя-

© Коллектив авторов, 2013

Адрес для корреспонденции:

E-mail: zhavbertes@materiamedica.ru

щие в клетках. В настоящее время выделяют 3 основных свойства системы интерферонов: антимикробное действие, иммуномодулирующую активность, антипролиферативные эффекты. Особый интерес для лечения многих заболеваний, в том числе вирусной природы, представляют препараты, способные оказывать иммуномодулирующее действие, заключающееся в разнонаправленном действии на иммунную систему в зависимости от её исходного состояния и способные восстанавливать нормальное функционирование иммунной системы (обеспечивать эффективную иммунную защиту).

В 2001 году на основе релиз-активных (P-A) антител к ИФН-гамма специалистами компании ООО «НПФ «Материя Медика Холдинг» были разработаны препараты, влияющие на систему интерферонов: анаферон детский (РУ РN000372/01 от 31.05.2007, разрешён к применению у больных с 1 месяца) и анаферон (РУ РN003362/01 от 06.11.2009, разрешён к применению у больных с 18 лет). P-A антитела к ИФН-гамма также являются компонентом нового эффективного противовирусного препарата эргоферон, зарегистрированного в 2010 году (РУ ЛСР-007362/10 от 29.07.2010).

Используемая в производстве препаратов субстанция антител к ИФН-гамма, аффинно очищенных, произведена в Великобритании в компании Angel Biotechnology Inc в полном соответствии с международными требованиями надлежащей производственной практики (GMP). Как и другие препараты релиз-активных (P-A) антител, P-A антитела к ИФН-гамма оказывают специфическое модифицирующее действие на антиген, к которому они выработаны. С помощью метода ядерно-магнитного резонанса было показано, что P-A антитела к ИФН-гамма вызывают конформационные изменения в молекуле ИФН-гамма. В подтверждение данного феномена, в радиолигандных исследованиях *in vitro* было выявлено, что P-A антитела к ИФН-гамма усиливают взаимодействие ИФН-гамма с его рецептором (количество ИФН-гамма связавшегося с рецептором). Кроме того, P-A антитела к ИФН-гамма изменяют аффинность связывания ИФН-гамма с антителами к ИФН-гамма, что было обнаружено с использованием иммуносенсорного метода и метода иммуноферментного анализа [3, 4].

Целью настоящего обзора явился анализ данных экспериментальных исследований, посвященных изучению иммуотропных свойств P-A антител к ИФН-гамма (препараты анаферон и анаферон детский).

По заказу ООО «НПФ «Материя Медика Холдинг» было проведено 76 доклинических исследований фармакологической активности и безопасности препаратов P-A антител к ИФН-гамма:

56 исследований в ведущих научных учреждениях России, в том числе в НИИ фармакологии СО РАМН, Волгоградском медицинском университете, ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор», НИИ гриппа РАМН и др., и 20 исследований в зарубежных научных институтах и контрактных организациях, в том числе в компании Arcis SA, Франция, университете Питтсбурга, США, компании Euroscreen, Бельгия, в государственном университете штата Юта, США, компании Ceger, Франция и др. В настоящее время идут и запланированы ряд новых исследований с целью углублённого изучения механизмов действия и эффектов препаратов.

Анаферон и анаферон детский давно и успешно используются в клинической практике для профилактики и лечения острых и хронических вирусных инфекций: гриппа, острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ), герпесвирусных инфекций и др. В доклинических исследованиях была доказана противовирусная эффективность P-A антител к ИФН-гамма как при профилактическом, так и при лечебном применении в условиях экспериментального заражения животных РНК- (вирусы гриппа А/Н3N2, А/Н3N8, «птичий грипп» А/Н5N1, несколько штаммов пандемического «свиного» гриппа А/Н1N1) и ДНК- (вирус простого герпеса II типа, штаммы MS и EC) содержащими вирусами [5–7]. Клиническая эффективность и безопасность анаферона и анаферона детского была изучена при следующих инфекциях: грипп (вирусы гриппа А, В), ОРВИ (вызванные аденовирусом, респираторно-синцитиальным вирусом, коронавирусом, вирусом парагриппа, микоплазмой, а также микстинфекцией); герпесвирусные инфекции (ветряная оспа, инфекционный мононуклеоз, генитальный герпес); острые кишечные инфекции вирусной этиологии (вызванные калицивирусом, коронавирусом, ротавирусом) и др. [8–14].

Ключевым механизмом действия P-A антител к ИФН-гамма является влияние на функциональное состояние системы интерферонов, в том числе через систему естественных аутоантител к ИФН-гамма [15]. Влияние на систему интерферонов является триггерным механизмом, через который анаферон/анаферон детский вовлекают в реализацию своей фармакологической активности естественные факторы врождённого и приобретённого иммунитета (клеточный и гуморальный иммунитет, фагоцитарная активность нейтрофилов и макрофагов). В клинических исследованиях подтверждено наличие у препаратов P-A антител к ИФН-гамма противовирусной и иммуотропной активности. Иммуотропные свойства препарата были отмечены при различных патологиях (ОРВИ, грипп, мононуклеоз, калицивирусная, коронавирусная, ротавирусная

инфекция) как при профилактическом, так и при лечебном введении [15–19].

Способность препарата увеличивать количество ИФН-гамма, связывающегося со своим рецептором, позволяет сделать предположение, что Р-А антитела к ИФН-гамма увеличивают количество функционально активных рецепторов на клеточной мембране и, возможно, являются аллостерическим модулятором рецептора ИФН-гамма. Выявленный эффект нашёл подтверждение и в клинических исследованиях препарата — анаферон детский увеличивал субпопуляцию лимфоцитов, экспрессирующих на клеточной мембране рецепторы к ИФН-гамма (CD119+ -лимфоциты) [20].

В экспериментальных исследованиях *ex vivo* было показано, что Р-А антитела к ИФН-гамма стимулируют продукцию ИФН-гамма. Важно отметить, что использование Р-А антител к ИФН-гамма не приводит к гиперпродукции ИФН-гамма. Так в условиях экспериментальной модели меланомы В-16 было показано отсутствие усиления роста и метастазирования на фоне курсового введения Р-А антител к ИФН-гамма крысам, что позволило сделать вывод об отсутствии гиперпродукции ИФН-гамма, так как известно, что данный цитокин приводит к увеличению метастазирования в лёгкие и резистентности клеток меланомы к терапии [21].

## Материал и методы

Эксперименты проведены на 246 мышах (180 самцах и 66 самках) линии СВА, 25 мышах-гибридах F1 (СВАхС57В1/6) и 36 мышах-самцах линии С57В1/6 массой 16–18 г. Препараты Р-А антител к ИФН-гамма вводили животным в виде водного раствора внутривентриально.

При проведении опытов по оценке влияния Р-А антител к ИФН-гамма на пролиферативную активность Т- и В-лимфоцитов в качестве источника материала была использована периферическая кровь 10 здоровых доноров в возрасте от 22 до 36 лет.

При исследовании влияния Р-А антител к ИФН-гамма на гуморальный иммунный ответ эксперименты были проведены на мышах-самцах линии СВА (16–18 г) и мышах-самцах линии С57В1/6 (16–18 г). Мышей иммунизировали минимальными дозами эритроцитов барана (ЭБ) [22] —  $5 \times 10^6$ /мышь (однократно внутривентриально в объёме 0,2 мл). Для моделирования иммуносупрессии мышам однократно внутривентриально вводили циклофосфан в дозе 125 мг/кг (1/2 максимально переносимой дозы). Мышам линии СВА Р-А антитела к ИФН-гамма ( $n=36$ ) и дистиллированную воду (контроль,  $n=36$ ) вводили внутривентриально в дозе 0,2 мл/мышь в течение 5 дней. Исследования проводили на здоровых мышах, мышах с иммуносупрессией, иммунизированных мышах и иммунизированных мышах с иммуносупрессией. Введение ЭБ и циклофосфана осуществляли в первый день введения дистиллированной воды или Р-А антитела к ИФН-гамма. 6 мышей оставались интактными.

Мышам линии С57В1/6 (здоровым мышам и мышам с иммуносупрессией) Р-А антитела к ИФН-гамма ( $n=15$ ) и дистиллированную воду (контроль,  $n=15$ ) вводили внутривентриально в дозе 0,2 мл/мышь в течение 5 дней. Шесть мышей оставались интактными. На 5-е сутки после иммунизации общепринятыми методами [22, 23] определяли общее количество лейкоцитов в периферической крови (ОКЛ), весовые ин-

дексы (ИТ и ИС) и клеточность (ОКТ и ОКС) иммунокомпетентных органов (тимуса, селезёнки), а также относительное (%) и абсолютное ( $\times 10^6$ ) количество антителообразующих клеток (АОК) в селезёнке мышей по методу А. Cunningham [24] и титр антител (АТ) в сыворотке крови с помощью стандартной реакции геммагглютинации (РГА).

Клеточный иммунный ответ изучали в реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) на мышах-самках линии СВА (16–18 г) и мышах-самках гибридах F1 (СВАхС57В1/6) (16–18 г). Р-А антитела к ИФН-гамма ( $n=9$ ) и дистиллированную воду (контроль,  $n=9$ ) вводили мышам внутривентриально в дозе 0,2 мл/мышь в течение 10 дней. В конце курсового введения Р-А антитела к ИФН-гамма или дистиллированной воды проводили сенсibilизацию мышей ЭБ  $1 \times 10^7$ /мышь (подкожно в объёме 0,1 мл), разрешающую дозу ЭБ ( $1 \times 10^8$  в объёме 20 мкл) вводили в подушечку задней лапы на 5-й день после сенсibilизации [22]. Параллельно в контралатеральную лапу вводили физиологический раствор в том же объёме. Интенсивность реакции оценивали через 24 ч по индексу реакции (ИР), который вычисляли индивидуально для каждого животного по формуле:

$$\text{ИР (\%)} = (\text{Р}_0 - \text{Р}_к) / \text{Р}_к \times 100,$$

где  $\text{Р}_0$  — масса опытной лапы;  $\text{Р}_к$  — масса контрольной лапы.

В отдельной серии экспериментов при постановке реакции ГЗТ у части опытных и контрольных животных (в каждой группе  $n=6$ , кроме контроля, где  $n=7$ ) на 4-й и 5-й дни после инъекции сенсibilизирующей дозы ЭБ внутривентриально вводили специфический ингибитор NO-синтазы — NММА (NG-монометил-L-аргинин). Интенсивность реакции оценивали у каждого животного по индексу реакции.

Фагоцитарную активность Р-А антител к ИФН-гамма оценивали на мышах-самках линии СВА ( $n=48$ ). Мышам-самкам линии СВА (16–18 г) внутривентриально в течение 10 дней вводили Р-А антитела к ИФН-гамма ( $n=24$ ) и дистиллированную воду (контроль,  $n=24$ ) в дозе 0,2 мл/мышь. Фагоцитарная активность нейтрофилов и макрофагов перитонеального экссудата оценивалась через 24 ч после окончания 10-дневного курса введения Р-А антител к ИФН-гамма или дистиллированной воды по способности этих клеток поглощать суточную культуру *S.aureus*, штамм 209; концентрация взвеси микробов — 100 млн/мл; учитывали процент нейтрофилов, либо макрофагов, поглотивших микробы (фагоцитарный индекс) и среднее число стафилококков, поглощённое одной клеткой (фагоцитарное число).

Пролиферативную активность Т- и В-лимфоцитов оценивали с помощью реакции бласттрансформации [22], основанной на способности некоторых лектинов вызывать поликлональную активацию и пролиферацию лимфоцитов, которая оценивается радиометрически по интенсивности включения в клетки  $^3\text{H}$ -тимидина. Для активации Т-лимфоцитов использовали фитогеммагглютинин (ФГА); для активации В-лимфоцитов — митоген лаконоса (МЛ). В исследовании использовали взвесь мононуклеаров периферической крови 10 здоровых доноров. Пролиферативную активность оценивали с помощью реакции индуцированной (смешивая 50 мкл мононуклеаров, 50 мкл митогена и 50 мкл Р-А антител к ИФН-гамма) и спонтанной (смешивая 50 мкл мононуклеаров, 50 мкл Р-А антител к ИФН-гамма и 50 мкл ростовой среды) бласттрансформации. В контроле вместо Р-А антител к ИФН-гамма добавляли 50 мкл ростовой среды (РС). Оценку результатов опыта определяли по индексу стимуляции (ИС):

$$\text{ИС} = \text{О} / \text{К},$$

где  $\text{О}$  — радиоактивность в лунках с митогеном;  $\text{К}$  — радиоактивность в лунках без митогена.

Те же супернатанты культур мононуклеаров использовали и для оценки активности ИЛ-1 по методу Mizel S. B. [25]. Получали 4 вида супернатанта: 1) от клеток, стимулированных липополисахаридом (ЛПС, 75 мкг/мл) — для индукции продукции ИЛ-1 в присутствии препарата (50 мкл/мл); 2) от кле-

ток, стимулированных ЛПС; 3) от клеток, культивируемых в присутствии препарата; 4) от клеток, культивируемых только в РС. Оценку результатов опыта определяли по индексу стимуляции (ИС), который рассчитывался по вышеприведённой формуле.

При оценке влияния Р-А антител к ИФН-гамма *in vitro* на функциональную активность естественных киллеров (ЕК) в качестве источника ЕК была также использована суспензия мононуклеарных клеток (МНК) периферической крови здоровых доноров. Функциональную активность ЕК определяли в цитотоксической реакции по их способности лизировать клетки миелобластоидной линии К-562, используя радиометрический метод. Р-А антитела к ИФН-гамма в виде водного раствора добавляли в полную ростовую среду из расчёта 50 мкл на 1 мл среды.

Эксперименты по изучению влияния Р-А антител к ИФН-гамма на выработку ИФН-гамма, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-10 проведены на мышах-самцах линии СВА/СаЛас (18–20 г, 2–2,5 мес). Мышам-самцам линии СВА/СаЛас ежедневно в течение 10 дней внутрижелудочно вводили Р-А антитела к ИФН-гамма ( $n=48$ ) или дистиллированную воду (контроль,  $n=48$ ) в дозе 0,2 мл/мышь. 6 мышей были интактными. Продукцию цитокинов определяли на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10 дни введения препаратов у 6 мышей в каждой точке. Лимфоциты выделяли из взвеси селезёночных клеток мышей на градиенте Фиколла-Пака (плотность 1,077), дважды отмывали средой 199 с 5% эмбриональной телячьей сывороткой. Жизнеспособные лимфоциты опытных и контрольных групп, а также фона доводили до концентрации  $2 \times 10^6$  клеток/мл и инкубировали в течение суток без (спонтанный вариант) или с добавлением 20 мкг/мл ФГА (стимулированный вариант). ИФН-гамма в культуральных супернатантах тестировали иммуноферментным (ИФА) методом.

## Результаты и обсуждение

В экспериментальных исследованиях *in vivo* Р-А антитела к ИФН-гамма стимулировали гуморальный иммунный ответ. Курсовое введение препарата в течение 5 дней мышам способствовало повышению эффективности гуморального иммунного ответа на корпускулярный тимусзависимый антиген (эритроциты барана) (иммунизация минимальными дозами антигена одновременно с первым введением препарата), при этом отмечалось повышение функциональной активности антителообразующих клеток в селезёнке в 1,5 раза ( $p < 0,05$  vs контрольная группа) и нарастание титров гемагглютининов в сыворотке крови в 1,6 раза ( $p < 0,05$  vs контрольная группа). В условиях иммуносупрессии, индуцированной введением мышам циклофосфана в дозе 125 мг/кг, также отмечено усиление иммунологических реакций под действием Р-А антител к ИФН-гамма, а именно: зарегистрировано увеличение относительного содержания антителообразующих клеток в селезёнке в 1,7 раза ( $p < 0,05$  vs контрольная группа). Важно отметить, что стимулирующее влияние Р-А антител к ИФН-гамма было зарегистрировано в условиях минимальных доз антигена, индуцировавших весьма слабый иммунный ответ [14, 26, 27].

Курсовое введение Р-А антител к ИФН-гамма мышам в течение 10 дней повышало активность Т-эффекторов, что выражалось в усилении реакции гиперчувствительности замедленного типа, в

ответ на сенсibilизацию эритроцитами барана: индекс реакции увеличился в 1,7 раза по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,05$ ). Эффекторное звено этой реакции как в контроле, так и при введении Р-А антител к ИФН-гамма в основном реализовывалось через NO-зависимые механизмы. Как известно, основным индуктором синтеза оксида азота при иммунном ответе является ИФН-гамма. Подавление продукции NO при введении ингибитора NO синтазы NMMA *in vivo* отменяло это усиление (индекс реакции ГЗТ снизился в 3,3 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с группой, в которой не вводили NMMA) [14, 26, 27].

При изучении фагоцитарной активности нейтрофилов и макрофагов перитонеального экссудата мышей, которую оценивали через 24 часа после 10-дневного курса введения препарата, была выявлена способность Р-А антител к ИФН-гамма стимулировать фагоцитоз за счёт увеличения доли нейтрофилов и макрофагов, способных поглощать стафилококки на 37,4 и 62% по сравнению с контрольной группой соответственно ( $p < 0,05$ ). При этом количество поглощённых каждой клеткой микроорганизмов статистически значимо не менялось [26].

*In vitro* Р-А антитела к ИФН-гамма при добавлении в культуру мононуклеаров оказывали умеренное комитогенное действие в реакции бласттрансформации, стимулируя пролиферацию как Т-, так и В- лимфоцитов. Добавление Р-А антител к ИФН-гамма к культуре мононуклеаров совместно с Т или В митогеном способствовало повышению индекса стимуляции в 1,7 и 1,6 раза соответственно ( $p > 0,05$ ). При этом Р-А антитела к ИФН-гамма не оказывали влияния на спонтанную бласттрансформацию лимфоцитов [14].

В культуре мононуклеаров Р-А антитела к ИФН-гамма в 1,8 раза повышали выработку лимфоцитами ИЛ-1 (со стимуляцией ЛПС) и в 1,7 раза (без стимуляции ЛПС) по сравнению с контролем ( $p > 0,05$ ), а также увеличивали функциональную активность естественных киллеров, которые играют важную роль в защите организма от различных внутриклеточных микроорганизмов и опухолевых клеток, на 12,7% по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ) [14].

При изучении влияния Р-А антител к ИФН-гамма на продукцию ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-10 было показано, что препарат стимулировал преимущественно функциональную способность Т-хелперов I типа, функциональными маркерами которых являются ИФН-гамма и ИЛ-2. При стимуляции лимфоцитов фитогемагглютинином на фоне введения исследуемого препарата происходило усиление продукции как ИФН-гамма и ИЛ-2, так и ИЛ-4 и ИЛ-10, что также говорит и о стимуляции Т-хелперов II типа [14]. На фоне курсового введения Р-А антитела к ИФН-гамма достоверно по-



вышали спонтанную продукцию лимфоцитами ИФН-гамма относительно контроля на 1-е и 3—7-е сут наблюдения, с максимумом на 3-и сут введения — более чем в 8 раз по сравнению с исходным уровнем и в 6,5 раз по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ). Повышение ФГА-стимулированной выработки ИФН-гамма было менее выраженным, максимум приходился на 7-е сут введения, а повышение составило 9,5% относительно контроля ( $p < 0,05$ ).

На фоне введения Р-А антител к ИФН-гамма повышение спонтанной выработки ИЛ-2 лимфоцитами селезёнки мышей отмечали со 2-х по 7-е сутки. Однако статистически значимое увеличение в 1,5 раза в продукции исследуемого цитокина наблюдалось лишь на 3-е и 7-е сутки опыта ( $p < 0,05$ ). Повышение ФГА-стимулированной продукции ИЛ-2 лимфоцитами по сравнению с контролем было менее выраженным и составило 17—29% ( $p < 0,05$ ).

Повышение спонтанной выработки ИЛ-4 лимфоцитами в 3 раза и в 1,4 раза относительно контрольной группы было зарегистрировано на

7-е и 10-е сутки соответственно ( $p < 0,05$ ). Влияние введения Р-А антител к ИФН-гамма на ФГА-стимулированную продукцию ИЛ-4 было разнонаправленным в разные сроки наблюдения. Так на 1-е, 2-е и 4-е сутки это влияние было стимулирующим: отмечено увеличение продукции на 41, 38 и 19% соответственно по сравнению с группой контроля ( $p < 0,05$ ). А на 6-е и 10-е сутки ФГА-стимулированная продукция ИЛ-4 была, напротив, снижена на 17 и 26,8% относительно группы контроля соответственно ( $p < 0,05$ ).

Курсовое введение Р-А антител к ИФН-гамма не влияло на спонтанную выработку ИЛ-10 лимфоцитами селезёнки, но достоверно повышало его ФГА-стимулированную продукцию на 40,6—84,5% по сравнению с контрольной группой на 1—5-е сутки эксперимента ( $p < 0,05$ ).

Необходимо отметить, что возрастание продукции того или иного цитокина в спонтанном тесте, вероятно говорит о функциональном состоянии клеток продуцентов, в то время как в стимулированном варианте обуславливается преимущественно резервными возможностями лим-



Механизмы иммуотропного действия Р-А антител к ИФН-гамма.

фоцитов экспериментальных животных секретировать исследуемые клеточные факторы.

В клинических исследованиях была подтверждена способность препаратов на основе Р-А антител к ИФН-гамма стимулировать синтез функционально активных ИФН-гамма и ИФН-альфа, а также активировать функции и повышать функциональный резерв Т-хелперов и других иммунокомпетентных клеток (В-лимфоцитов, цитотоксических Т-лимфоцитов, ЕК-клеток, фагоцитов и др.) [28–30].

Проведённые исследования позволяют предположить следующий механизм иммуотропного действия Р-А антител к ИФН-гамма (см. рисунок).

## Выводы

В серии экспериментальных исследований иммуотропного действия было выявлено, что Р-А антитела к ИФН-гамма (препараты анаферон и анаферон детский) *in vivo* стимулируют гуморальный иммунный ответ, в том числе на фоне иммуносупрессии: повышают функциональную активность антителообразующих клеток в селезёнке; активизируют функцию Т-эффекторов, что выражается в усилении реакции гиперчувствительности замедленного типа; повышают фагоцитарную активность нейтрофилов и макрофагов перитонеального экссудата за счёт увеличения процента активных фагоцитов. *In vitro* культуре мононуклеарных клеток Р-А антитела к ИФН-гамма стимулируют пролиферативную активность Т- и В-лимфоцитов; повышают функциональную активность естественных киллеров; стимулируют выработку ИЛ-1 (в присутствии липополисахарида). *Ex vivo* было обнаружено стимулирующее действие Р-А антител к ИФН-гамма на продукцию

ИФН-гамма и функционально сопряжённых цитокинов (ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-10).

Ключевым механизмом иммуотропного действия Р-А антител к ИФН-гамма является влияние на систему интерферонов и функционально сопряжённых с ней цитокинов, приводящее к нормализации функциональной активности естественных факторов иммунной защиты (клеточный, гуморальный иммунный ответ, фагоцитарная активность нейтрофилов и макрофагов).

Фармакологической мишенью Р-А антител к ИФН-гамма является ИФН-гамма и его рецептор, а точкой приложения иммуотропной активности Р-А антител к ИФН-гамма — клетки иммунной системы, чувствительные к действию эндогенного ИФН-гамма. Р-А антитела к ИФН-гамма способны стимулировать продукцию не только самого ИФН-гамма, но и ряда функционально сопряжённых с ним цитокинов: вырабатываемых макрофагами (ИЛ-1), Т-хелперами I типа (ИЛ-2) и Т-хелперами II типа (ИЛ-4, ИЛ-10) [13, 26]. Это объясняет способность Р-А антител к ИФН-гамма стимулировать клеточный и гуморальный иммунный ответ, а также увеличивать фагоцитарную активность нейтрофилов и макрофагов перитонеального экссудата [13, 25].

Полученные данные позволяют сделать вывод, что применение препаратов на основе Р-А антител к ИФН-гамма (препараты анаферон и анаферон детский) эффективно для лечения и профилактики развития инфекционных заболеваний, а также для коррекции дисбаланса иммунной системы у иммунокомпрометированных пациентов (в том числе у пациентов в период реконвалесценции после инфекционных заболеваний).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Афиногенова В.П., Лукачев И.В., Костинов М.П. Иммуноterapia: механизм действия и клиническое применение иммунокорректирующих препаратов. Леч врач 2010; 4: 75–78.
2. Еришов Ф.И., Киселёв О.И. Интерфероны и их индукторы (от молекул до лекарств). М.: «ГЭОТАР-Медиа». 2005; 368.
3. Тарасов С.А. Экспериментальная фармакология анаферона детского: спектр противовирусной активности и механизмы действия. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. Томск. 2012; 22.
4. Эпштейн О.И. Феномен релиз-активности и гипотеза «пространственного» гомеостаза. Успехи физиол наук 2013; 3: 54–76.
5. Сергеев А.Н., Пьянков О.В., Шишкина Л.Н., Дубень Л.Г., Петрищенко В.А., Жуков В.А., Пьянкова О.Г., Святченко Л.И., Шерстобоев Е.Ю., Каримова Т.В., Мартошев-Поклад А.В., Сергеева С.А., Эпштейн О.И., Глотов А.Г., Глотова Т.И. Противовирусная активность сверхмалых доз антител к гамма-интерферону при пероральном введении: экспериментальное исследование гриппозной инфекции у мышей. Антибиотики и химиотер 2004; 49, 11: 7–11.
6. Шишкина Л.Н., Сергеев А.Н., Кабанов А.С., Скарнович М.О., Евтин Н.К., Мазуркова Н.А., Сергеев А.А., Белопольская М.В., Хейфец И.А., Дугина Ю.Л., Тарасов С.А., Сергеева С.А., Эпштейн О.И. Изучение эффективности лечебно-профилактического действия анаферона детского при гриппозной инфекции у мышей. Бюлл эксперим биол 2008; 146, 12: 671–673.
7. Tarasov S.A, Zarubaev V.V., Gorbunov E.A. et al. Activity of ultra-low doses of antibodies to gamma-interferon against lethal influenza A (H1N1)2009 virus infection in mice. Antiviral Res 2012; 93, 2: 219–224.
8. Савельева К.В., Учайкин В.Ф., Кладова О.В., Дринецкий В.П., Осидак Л.В., Петров В.А., Бобров М.В., Егоров В.Б., Тарасов С.А., Елфимова У.В., Мартошев-Поклад А.В., Сергеева С.А., Эпштейн О.И. Результаты клинических исследований лечебной эффективности анаферона при гриппе и других ОРВИ у детей. Мед иммунол 2006; 8: 2–3: 461–462.
9. Тарасов С.А., Качанова М.В., Жавберт Е.С., Дугина Ю.Л., Эпштейн О.И., Сергеева С.А. Применение сверхмалых доз антител к интерферону- $\gamma$  в комплексной терапии бактериальных инфекций и профилактике бактериальных осложнений. Бюлл эксперим биол мед 2009; 148, 8. Прил.: 43–44.
10. Скрипченко Н.В., Моргацкий Н.В., Иванова Г.П., Аксенов О.А., Иванова М.В., Карасев В.В., Пульман Н.Ф., Вильниц А.А., Мурина Е.А., Горелик Е.Ю. Современные возможности экстренной неспецифической профилактики клещевого энцефалита у детей. Педиатр фармакол М.: 2007; 4, 7: 23–26.
11. Фомин В.В., Тункина Е.Е., Горельшова И.Ю., Лагерова Ю.Г., Сабурова Е.Б., Старопорова Е.Ю., Бацкалевич Н.А. Опыт применения ацикловира и анаферона детского при инфекционном мононуклеозе у детей. Вест Урал Госуниверс мед акад 2004; 14: 54–56.
12. Кудин М.В., Федоров Ю.Н. Динамика кожного и гипертермического синдрома у детей с ветряной оспой на фоне лечения анафероном. Вопр совр педиатр М.: 2006; 5, 1: 735–736.
13. Дондурей Е.А., Осидак Л.В., Головачева Е.Г., Голованова А.К., Амосова И.В., Гладченко Л.Н. Острые вирусные инфекции с сочетан-

- ным поражением респираторного и желудочно-кишечного трактов у детей. Интерферонотерапия. Бюл экспер биол мед 2009; 148, 8: 31—34.
14. *Эпштейн О.И.* Сверхмалые дозы (история одного исследования). М.: Издательство РАМН; 2008; 336.
  15. *Мартюшев-Поклад А.В.* Механизмы противовирусных и иммуномодулирующих эффектов сверхмалых доз антител к гамма-интерферону. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. Томск; 2003; 22.
  16. *Дондурей Е.А., Осидак Л.В., Головачева Е.Г., Данини Г.В., Голованова А.К., Габбасова Ф.А., Николаева В.А., Минченко С.И., Сироткин А.К.* Эффективность Анаферона детского при смешанных инфекциях у детей. Дет инфекц 2006; 5, 1: 55—60.
  17. *Семенченко Л.В.* Сравнительная оценка клинико-иммунологической эффективности индукторов интерферона в реабилитации реконвалесцентов острых респираторных заболеваний. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М.: 2006; 24.
  18. *Раздьяконова И.В.* Клинико-иммунологическая характеристика калицивирусной инфекции у детей и тактика терапии. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. СПб.; 2009; 20: 18.
  19. *Кондюрина Е.Г., Малахов А.Б., Ревякина В.А.* Анаферон детский. Клинические и иммуностропные эффекты в педиатрии. Фармако-тер альман 2008; 1: 80—87.
  20. *Сизякина Л.П., Мельникова О.М.* Иммуномодулирующие эффекты Анаферона детского, проявляющиеся при лечении детей с рецидивирующими респираторными инфекциями. Фармако-тер альман 2009; 3: 52—62.
  21. *Taniguchi K., Petersson M., Höglund P., Kiessling R., Klein G., Kärre K.* Interferon-gamma induces lung colonization by intravenously inoculated B16 melanoma cells in parallel with enhanced expression of class I major histocompatibility complex antigens. Proc Natl Acad Sci USA 1987 May; 84: 10: 3405—3409.
  22. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. В.П. Фисенко. М.: ЗАО «ИИА «Ремедиум»; 2000; 398.
  23. *Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Шахов В.П.* Методы культуры ткани в гематологии. Томск; 1992; 264.
  24. *Cunningham A.J.* A method of increased sensitivity for detecting single antibody-forming cells. Nature 1965; 207: 5001: 1106—1107.
  25. *Mizel S.B.* Studies on the purification and structure-function relationships of murine lymphocyte activating factor (Interleukin 1). Mol Immunol 1980; 17: 571—577.
  26. *Шерстобоев Е.Ю., Масная Н.В., Чурин А.А., Борсук О.С., Мартюшев А.В., Эпштейн О.И.* Иммуностропные свойства гомеопатических доз антител к интерферону- $\gamma$  человека. Бюлл эксперим биол 2001; 3: 37—39.
  27. *Шерстобоев Е.Ю., Масная А.В., Чурин А.А., Борсук О.С., Бельский Ю.П., Мартюшев А.В., Осидак Л.В., Дринеvский В.П., Эпштейн О.И.* Иммуностропные свойства сверхмалых доз антител к гамма-интерферону. Цитокин воспаление 2002; 1: 2: 40.
  28. *Головачева Е.Г.* Клинико-лабораторное обоснование применения иммунокорректирующей терапии при респираторно-синцитиальной вирусной инфекции у детей. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. СПб.: 1998; 18.
  29. *Афанасьева О.И., Осидак Л.В., Головачева Е.Г., Милькин К.К., Дринеvский В.П., Образцова Е.В., Калинина Н.М., Эпштейн О.И.* Результаты изучения лечебной эффективности препарата «Анаферон детский» при гриппе у детей. Дет инфекц 2003; 2: 48—53.
  30. *Удилова Е.Е.* Клиника, иммунокорректирующая терапия и функциональное состояние Т-клеточного и фагоцитарного звеньев иммунитета при инфекционном мононуклеозе у детей. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. Екатеринбург. 2007; 24.