

М. Г. БОСТАНДЖЯН

ИНТЕРФЕРОН

В последние годы достигнуты большие успехи в борьбе с вирусными заболеваниями, связанные в основном с применением живых и убитых вакцин. Однако вакцинопрофилактика успешно применима лишь в борьбе с инфекциями, оставляющими стойкий иммунитет, возбудители которых не имеют большого количества антигенных разновидностей. В то же время трудность создания эффективных вакцин очевидна для таких полиантигенных групп инфекций, которые вызываются респираторными вирусам, энтеровирусами и другими. По-видимому, важное значение в деле снижения вирусных заболеваний будет иметь создание неспецифических профилактических и лечебных препаратов.

В настоящее время имеются большие достижения по изучению структуры и химического состава вирусных частиц, их синтеза и взаимодействия с чувствительной клеткой. Было показано, что механизм вирусной репродукции в принципе совпадает с механизмом построения собственного вещества клетки. Отсюда возникает необходимость искать, с одной стороны, вещества, способные снять репродукцию отдельных фрагментов вируса, а с другой—вещества, препятствующие композиции полноценной вирусной частицы, а также входу и выходу вируса из клетки. Во всех случаях необходимо помнить принцип Эрлиха—исключить токсичные для клеток вещества.

В течение ряда лет было распространено мнение, что все ингибиторы вирусов обязательно токсичны для клетки, так как вирус тесно связан с обменом веществ клетки хозяина. Однако Тамм с сотрудниками (1962) показал избирательную задержку синтеза вирусного генетического материала при помощи 2- α -оксибензилбензимидазола, который подавлял размножение энтеровирусов. Синтез клеточной РНК хозяина при этом не затрагивался теми концентрациями, которые обуславливали задержку синтеза РНК энтеровируса.

С открытием интерферона намечаются новые пути профилактики и терапии вирусных инфекций [1, 20]. Интерферон является противовирусной неспецифической (по отношению к вирусам) и нетоксичной (по отношению к клетке) субстанцией, которая продуцируется жизнеспособными клетками в ответ на раздражение их убитыми или живыми как РНК-, так и ДНК-содержащими вирусами, а также в ответ на раздражение чужеродной нуклеиновой кислотой [15, 21, 28].

Интерферон был открыт при изучении явления, известного под названием интерференции вирусов. Давно уже было отмечено, что наличие

одного вируса в организме препятствует развитию другого. Еще Дженер заметил, что оспенная вакцина не прививается у больных герпесом. Впоследствии многие исследователи установили, что инфекция одними вирусами может защитить животных от инфекции другими. Такое же явление наблюдалось и при вирусной инфекции растений растительными вирусами и при инфекции бактерий бактериофагами. Начало по систематическому изучению феномена интерференции было положено работами Хоскинса, который отметил, что аттенуированный нейротропный штамм вируса желтой лихорадки защищает обезьян от летальной инфекции при последующем введении вирулентного пантропного штамма [17]. Финдлей и Мак-Коллум подтвердили возможность такого явления между вирусами лихорадки долины Рифт и желтой лихорадки [10]. В дальнейшем феномен интерференции был воспроизведен со многими вирусами на различных моделях вирус-клетка [13].

Еще в 1944 г. Гард получил вещество типа интерферона из мозга мышей, зараженных активным вирусом полиомиелита II типа [11]. А в 1946 г. Леннет и Копровский открыли ту субстанцию, которая защищала клетку от проникновения второго вируса. Они показали, что культуральная среда, снятая с куриных фибробластов, на которых культивировался вакцинный штамм вируса желтой лихорадки, препятствовала размножению вирусов Азиби и Западного Нила [27]. Однако антивирусное вещество не было дальше изучено и оставалось забытым до тех пор, пока Айзекс и Линденманн не описали его в 1957 г. [23, 24]. Культивируя в питательной среде кусочки хорионаллантоисной оболочки куриных эмбрионов, авторы вносили в пробирки инактивированный прогреванием вирус гриппа. Через 2 ч. оболочки промывали и в течение 18—24 ч. инкубировали в питательной среде при 37°. Последующее внесение в эти пробирки живых вирусов не сопровождалось их размножением на хорионаллантоисной оболочке, т. е. наблюдался обычный феномен интерференции. Открытие заключалось в том, что авторы впервые обнаружили наличие в культуральной жидкости антивирусного фактора, который в свежих оболочках препятствовал размножению вирусов гриппа и осповакцины. Этот фактор был назван ими интерфероном [23, 24].

В настоящее время интерферон получен во многих странах мира. В СССР интерферон впервые был получен в 1960 г. З. В. Ермольевой с сотр. на хорионаллантоисных оболочках куриных эмбрионов [2, 6].

В первых работах по изучению интерферона было показано, что он не имеет ничего общего с вирусной частицей и является продуктом метаболизма клетки после ее контакта с вирусом или чужеродной нуклеиновой кислотой. Имеется большое количество работ, в которых дано подробное описание методов получения интерферона в различных системах вирус-клетка. Интерферон получен в переживающих клетках и в аллантоисной полости куриных эмбрионов, в первично-трипсинизированных культурах и в организме животных.

С первых же дней открытия интерферона были предприняты попытки к его очистке и концентрации. В настоящее время существует большое количество методов химической очистки и концентрации интерферона. Наиболее высокоочищенные препараты интерферона были получены Лампсоном с сотрудниками. Интерферон был осажден ацетатом цинка, после чего следовал этап хроматографии на КМ-целлюлозе. Наиболее активные фракции белка подвергались зональному электрофорезу на певиконе. Благодаря этому методу была достигнута высокая степень очистки [26].

Нагано предложил метод осаждения сопутствующих белков уксусной кислотой с дальнейшим фракционным осаждением интерферона сульфатом аммония. Каждая фракция подвергалась центрифугированию при 10000 об/мин. в течение 30 мин. с последующей хроматографией на ТЕАЕ-целлюлозе [29].

В работах Г. А. Смирновой для осаждения интерферона применялся сульфат аммония. При полунасыщении препарата в осадок выпадало большинство балластных белков. Интерферон осаждался при последующем полном насыщении [6].

Интерфероны, полученные в различных системах, сходны по своим физико-химическим и биологическим свойствам. Активность препарата не снижается при нагревании в течение 30 мин. при 56°, в широком диапазоне рН от 2 до 10. В жидком виде активность интерферона сохраняется при +4° в течение нескольких месяцев, а в лиофилизированном виде еще дольше. Хранение жидкого препарата при комнатной температуре, замораживание и оттаивание заметно снижают его активность, в то время как многократная лиофилизация проходит без потери активности [6, 16, 23, 24]. По последним данным, интерферон является основным белком с молекулярным весом в 20000—35000, не проходит через градоколовые мембраны с величиной пор 0,62 м μ и частично проходит через поры диаметром в 1 м μ . Как и всякий белок, интерферон чувствителен к УФ-облучению, не диализуется через полупроницаемые мембраны, не осаждается при многократном центрифугировании от 2000 до 100000 оборотов. Интерферон чувствителен к протеолитическим ферментам—трипсину, пепсину, химотрипсину, папаину и не чувствителен к пептидазам, амилазе, липазе, РНК-азе, ДНК-азе. Адсорбируется стеклом, агаром, бумагой, целлюлозой и певиконом. Разрушается при встряхивании с эфиром. Приведенные свойства интерферона подтверждаются в работах многих исследователей [1, 14, 21, 22, 37, 38].

По данным Хиллемана, Лампсона и др., в состав интерферона входят следующие аминокислоты: тирозин—2,3%, триптофан—2,6%, аргинин—7,2%, лизин—11,1%. Кроме того, обнаружены следы углеводов [14, 26].

Основным биологическим свойством интерферона является торможение размножения различных вирусов в чувствительных клетках. В отличие от других противовирусных субстанций—ингибиторов, специфических антител, которые могут образовывать тесные связи с вирусом непосредственно в пробирке (ингибитор-вирус или антитело-вирус), ин-

терферон влияет на вирус опосредовано через клетку. Контакт вируса с интерфероном вне клетки не приводит к снижению инфекционности вируса и не оказывает влияния на серологические реакции [16, 33, 34, 37]. Являясь продуктом взаимодействия вируса с клеткой, интерферон действует на вирус исключительно внутри клетки. Большинство авторов считает, что интерферон не только не вызывает гистологических изменений в клетках, но и, наоборот, стимулирует рост клеточного пласта, удлиняет срок жизни клеток [16, 18, 38]. Интерферон не обладает сенсibilизирующим действием при внутривенном введении белым мышам и в опытах на морских свинках и кроликах [9]. По данным многих авторов, интерферон не обладает токсическим действием на макроорганизм. В опытах на белых мышах, кроликах, морских свинках как однократное, так и многократное введение препарата не вызывало гибели животных [9, 20, 23, 29, 39].

До настоящего времени нет единого мнения относительно механизма действия интерферона. Исследования многих авторов показали, что действие интерферона проявляется на одной из стадий вирусной репликации внутри клетки. Инфекция клетки вирусом протекает в следующие стадии: 1) контакт вируса с клеткой, 2) проникновение вируса в клетку, 3) синтез вирусной нуклеиновой кислоты и белка, 4) композиция вирусных частиц, 5) выход вируса из клетки. Показано, что интерферон не препятствует проникновению вируса в клетку. Действие интерферона проявляется на одной из внутриклеточных стадий репликации вирусной нуклеиновой кислоты [9, 22, 37].

В настоящее время большинство авторов указывает на задержку синтеза вирусной РНК или ДНК интерфероном, возможно через блокирование РНК-азы или ДНК-азы. Если полимеризация вирусной нуклеиновой кислоты вызывается специфической вирус-индуцированной полимеразой, тогда имеется основание для специфичности действия интерферона, и синтез РНК клетки хозяина мог бы протекать нетронутым в присутствии интерферона. Доказано отдельное существование клеточной и вирусной РНК-полимеразы. Актиномицин—Д задерживал синтез клеточной РНК, в то время как синтез цитоплазматической вирусной РНК не задерживался. Известно, что РНК-содержащие вирусы интерферируют с ДНК-содержащими вирусами, и наоборот. Тем не менее такое избирательное действие интерферона на вирусные (но не клеточные) РНК и ДНК-полимеразы, по мнению ряда авторов, кажется невероятным. По-видимому, интерферон действует на процессы более общие для всех видов вирусов, и действие это должно быть более тонким, чем явно избирательная задержка полимераз [13, 14, 26, 31, 37, 39].

Механизм действия интерферона остается все еще не разрешенным. С теоретической и практической точек зрения этот вопрос имеет, несомненно, первостепенное значение при изучении интерферона.

Многими исследователями было показано, что интерферон активен к целому ряду как ДНК-, так и РНК-содержащих вирусов. К интерферону чувствительны пикорнавирусы [16, 21], арбовирусы [15, 16, 38],

миксовирусы [1, 2, 23, 24], вирусы герпеса [16], псевдобешенства [34], вакцины [2, 24, 29] и др. Сравнивая чувствительность вирусов к интерферону, большинство авторов считает наиболее чувствительными аденовирусы, наименее — вирусы герпеса, псевдобешенства, экстремелии и болезни Ньюкасла.

При контакте с клеткой хозяина интерферон проникает в клетку и настолько прочно с ней связывается, что даже не освобождается при гомогенизации клеток. Установлено, что после 24-часового контакта почти весь интерферон связывается с клеткой [38]. Интерферон задерживает репликацию вируса не только при внесении за 12—24 ч. до заражения, но и при одновременном и в первые 3 ч. после заражения вирусом.

В опытах на кроликах Айзекс и Линденманн установили противовирусное действие интерферона по отношению к вирусу осповакцины. Полученный авторами интерферон при взаимодействии вируса гриппа с хорионаллантоисными оболочками куриных эмбрионов вводился кроликам внутрикожно за 24 ч. до заражения вирусом осповакцины. Вирус вводился в место введения интерферона, и не наблюдалось ни воспалительных реакций, ни специфических некротических поражений, которые были ярко выражены в контроле [23, 24].

В настоящее время многими авторами описано защитное действие интерферона на различных животных при инфицировании их вирусами.

Изучение возможности применения интерферона в клинике с профилактической или лечебной целью проводилось в различных странах. В Англии были проведены клинические испытания интерферона на добровольцах против вируса осповакцины [19]. Интересные данные были получены Джонсом с сотрудниками, которые лечили больных, страдающих кератитом, вызванным вирусом осповакцины. Интерферон был назначен больным с помутнением эпителия роговицы и изъязвлением. Полное излечение наступало при закапывании препарата в глаз каждые 30 мин. в течение 2—3 дней [25].

По данным З. В. Ермольевой с сотр., применением интерферона в клинических испытаниях для лечения гриппа в период январской вспышки 1962 г., а также для профилактики возможных внутрибольничных вирусных инфекций было достигнуто лишь сокращение длительности катаральных явлений. При местном применении интерферона с целью лечения кератоконъюнктивитов аденовирусной этиологии сроки выздоровления были сокращены с 40 до 10 дней [3].

Проведенные многими авторами наблюдения показали, что интерферон, примененный как лечебное или профилактическое средство, не вызывал никаких побочных явлений.

Некоторые авторы считают интерферон антибиотиком широкого спектра действия. Образуюсь в различных клетках человека и животных при вирусной инфекции, интерферон одновременно является и важным фактором естественного иммунитета, устойчивости клеток к инфекции и, несомненно, способствует выздоровлению организма от вирусных болезней.

Таким образом, как фактор неспецифического противовирусного иммунитета и как химиотерапевтическое средство интерферон представляет большой интерес, и применение его для профилактических и терапевтических целей против вирусных инфекций является весьма перспективным. Это связано с дальнейшим изучением свойств интерферона, механизма действия и способа получения высокоактивных препаратов, обладающих широким противовирусным спектром действия.

Институт экспериментальной биологии
АН АрмССР

Поступило 5/V 1966 г.

Մ. Գ. ԲՈՍՏԱՆԶՅԱՆ

ԻՆՏԵՐՖԵՐՈՆ

Ա մ փ ո փ ու մ

Ինտերֆերոնը իրենից ներկայացնում է սպիտակուցային բնույթի նյութ, որը արտադրվում է բջջի կողմից՝ վիրուսի ներմուծումից հետո:

Ինտերֆերոնի մաքրված պրեպարատները, որոնք ստացվել են տարբեր վիրուս-բջիջ սիստեմներում, նման են իրենց ֆիզիկա-քիմիական և բիոլոգիական հատկություններով: Ինտերֆերոնի ակտիվությունը pH 2—10 դիապազոնում չի թուլանում 30 րոպե 56° տաքացնելիս, ինչպես նաև պեպսինազայով, ամիլազայով, լիպազայով, ԴՆԹ-ազայով և ՌՆԹ-ազայով մշակելիս:

Միևնույն ժամանակ, ինտերֆերոնը զգայուն է պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների նկատմամբ՝ տրիպսին, պեպսին, պապային և ուլտրամանուշակագույն ճառագայթներ:

Ինտերֆերոնը վիրուսի վրա ազդում է անուղղակի կերպով՝ բջջի միջոցով: Հանդես գալով բնական իմունիտետի դերում, ինտերֆերոնը, անկասկած, նրա փաստում է վիրուսային հիվանդությունից հետո օրգանիզմի վերականգնմանը:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бостанджян М. Г., Балежина Т. И. В кн.: Проблемы общей вирусологии. М., 1966, стр. 228.
2. Ермольева З. В., Фурер Н. М., Балежина Т. И., Фадеева Л. Л., Немировская Б. М. Антибиотики, 1961, 3, стр. 196.
3. Ермольева З. В., Фурер Н. М., Фадеева Л. Л., Брауде А. И., Балежина Т. И. Вопросы медицинской вирусологии, 1963, 8, стр. 129.
4. Жданов В. М., Ермольева З. В., Фадеева Л. Л., Балежина Т. И., Корабельникова Н. И., Стаханова В. М., Жантиева Е. М. Материалы XVII сессии Института вирусологии АМН СССР, 1. 1964, стр. 67.
5. Приймаги Л. С. Диссертация. М., 1965.
6. Смирнова Г. А., Бостанджян М. Г. В кн.: Острые респираторные вирусные инфекции. Свердловск, 1966, стр. 164.
7. Фадеева Л. Л., Балежина Т. И., Фурер Н. М., Немировская Б. М. Вопросы медицинской вирусологии, 1963, 8, стр. 133.

8. Burke D. C., Isaacs A. Brit. J. Exp. Path., 1958, 39, 452.
9. De Somer P., Prinzie A. and Denys P. Virology, 1962, 16, 1, 63.
10. Findlay G. M. and McCollum F. O. J. Pat. and Bact., 1937, 44, 405.
11. Gard J. Acta Med. Scand., 1944, 119, 27.
12. Gresser J. Proc. Nat. Acad. Sci., 1961, 47, 11, 1817.
13. Henle W. and Henle G. Science, 1943, 98, 1, 87.
14. Hilleman M. R. Cell. Comp. Physiol., 1963, 62, 3, 337.
15. Ho M. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1961, 107, 3, 639.
16. Ho M. and Enders J. Virology, 1959, 9, 3, 446.
17. Hoskins M. Am. J. Trop. Med., 1935, 15, 675.
18. Isaacs A. Virology, 1960, 10, 3, 144.
19. Isaacs A. New Scientist, 1962, 14, 285, 213.
20. Isaacs A. Nature, 1961, 192, 4805, 806.
21. Isaacs A., Cox R. A., Rotem Z. Lancet, 1963, 2, 7299, 113.
22. Isaacs A. and Burce D. C. Brit. Med. Bull., 1959, 15, 185.
23. Isaacs A. and Lindenmann J. Proc. Roy. Soc. B., 1957, 147, 258.
24. Isaacs A. and Lindenmann J. Ibid., 1957, 147, 268.
25. Jones B. R. and al. Lancet, 1962, 1, 875.
26. Lampson G. P. and al. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1963, 112, 2, 468.
27. Lennette E. H. and Koprowski H. J. Exp. Med., 1946, 83, 195.
28. Levy H. B. Virology, 1964, 22, 4, 575.
29. Nagano J. and Kojima J. In press, 1964.
30. Paucker K. and al. Virology, 1962, 17, 2, 324.
31. Sellers R. F. and Fitzpatrick M. Brit. J. Exp. Path., 1962, 43, 6, 674.
32. Tyrrel D. A. Nature, 1959, 184, Suppl. 7, 452.
33. Vilcek J. Nature, 1960, 187, 4731, 73.
34. Vilcek J. Acta Virol., 1960, 4, 5, 308.
35. Vilcek J. Acta Virol., 1961, 5, 5, 278.
36. Vilcek J. Acta Virol., 1962, 6, 2, 144.
37. Wagner R. R. Bact. Rev., 1960, 24, 151.
38. Wagner R. R. and Levy A. H. An. N. Y. Acad. Sci., 1960, 88, 5, 1308.
39. Zemla J. and Schramec S. Virology, 1962, 16, 2, 204.