

УДК 578.24.2.04:579+615.373:578.245.036.8:616.98:579

**Н. Я. Спивак, Н. И. Грабченко, Л. Н. Лазаренко,
М. И. Товт-Коршинская, Л. А. Ганова, Н. А. Тимошок,
Л. Д. Кривохатская, О. Н. Михайленко, А. В. Карпов,
Т. И. Михайленко, В. Н. Зоценко**

Ин-т микробиологии и вирусологии НАН Украины, Киев

АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТОВ ИНТЕРФЕРОНА И ЕГО ИНДУКТОРОВ

Представлены экспериментальные доказательства антибактериальной эффективности препаратов интерферона (ИФН) и его индукторов при инфекционных процессах, вызванных *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*. Показано, что основную защитную роль в организме при персистенции указанных микробов играет система фагоцитирующих клеток и естественных клеток-киллеров. Выявлены основные закономерности активирующего влияния препаратов ИФН и его индукторов на функциональную активность этих клеток. На основании экспериментальных данных впервые разработаны способы лечения гнойно-септических заболеваний людей с помощью препаратов ИФН.

Ключевые слова: интерферон (ИФН), индукторы ИФН, фагоциты, лимфоциты, бактерии

Развитие бактериальных инфекций протекает на фоне иммунодепрессивного влияния микробных токсинов и антигенов на систему естественной резистентности организма [1, 10, 11]. При этом исход взаимодействия микробного агента или антигена и иммунной системы организма прежде всего определяется состоянием эффекторов иммунитета: моноцитов/макрофагов, нейтрофильных гранулоцитов, лимфоцитов. Активация эффекторов системы иммунитета и регуляция межклеточных взаимодействий в процессе иммунного ответа определяются каскадным эффектом специфических медиаторов — цитокинов, к которым относятся в первую очередь интерфероны (ИФН) — α -, β - и γ -ИФН, фактор некроза опухолей (ФНО) и интерлейкины (ИЛ) — ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6 и т. д. [21, 22, 27].

Интерфероны — семейство гликопротеинов с различной молекулярной массой и антигенными свойствами, которые разделяются на три класса: лейкоцитарный (α -ИФН), фибробластный (β -ИФН) и иммунный (γ -ИФН). Интерферон, который вырабатывается в ответ на обработку клеток вирусами или их двунитчатыми РНК, а также синтетическими полинуклеотидами, относится к ИФН I типа (α -, β -интерфероны), а ИФН, который продуцируют лимфоциты и макрофаги, активированные невирусными индукторами, — ИФН II типа (γ -ИФН) [4, 14].

© Н. Я. Спивак, Н. И. Грабченко, Л. Н. Лазаренко, М. И. Товт-Коршинская, Л. А. Ганова, Н. А. Тимошок, Л. Д. Кривохатская, О. Н. Михайленко, А. В. Карпов, Т. И. Михайленко, В. Н. Зоценко, 1999

Система ИФН выполняет ключевые контрольно-регуляторные функции, направленные на поддержание гомеостаза организма, создание невосприимчивости клеток и организма к вирусным инфекциям, регулирует рост и функционирование клеток в организме, оказывает антибактериальное, противовоспалительное, а также иммуномодулирующее действие [14, 25, 34].

В последние годы защитная роль ИФН при различных патологических процессах (вирусные инфекции, злокачественные новообразования, пострадиационные состояния) интенсивно изучается, и результаты этих исследований изложены в специальных обзорах литературы [10, 33]. Однако анализ данных о биологической активности ИФН при бактериальных инфекциях незначителен, что, несомненно, снижает уровень наших представлений о его важной физиологической роли в развитии инфекционных процессов, вызванных невирусными агентами.

К настоящему времени установлено, что защитное действие ИФН и его индукторов не ограничивается только вирусами, а может распространяться и на другие микроорганизмы. Основанием для этого послужили наблюдения, касающиеся индукции сывороточных ИФН при инфекционных заболеваниях, этиологическим фактором которых являлись *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* и *Staphylococcus aureus*, а также влияния экзогенного ИФН на течение инфекций, вызванных невирусными возбудителями. В последовавших вслед за этим многочисленных исследованиях была обнаружена интерферониндуцирующая активность хламидий, простейших, грибов и бактерий [6, 23]. Среди бактерий ИФН могут индуцировать *in vitro* и *in vivo* бруцеллы, бордетеллы, микобактерии, сальмонеллы, кишечные палочки, стафилококки и некоторые другие, а также продукты их жизнедеятельности. Причем изученные виды микроорганизмов обладают различной интерферонотропной активностью [33, 34]. Живые бактерии, а также их растворимые продукты (ЛПС, очищенный протеин микобактерий) являются индукторами как α -, β -, так и γ -ИФН [14, 49]. Было показано, что живые бактерии *S. aureus* индуцируют в организме выработку ИФН I типа, характерного для вирусных индукторов, в то время как *in vitro* под действием энтеротоксинов А, В, D, Е или белка А тех же микроорганизмов продуцируется ИФН II типа [23]. Образование ИФН, индуцированное бактериями или их продуктами, отличается специфическими моноклональными антителами к антигенам гистосовместимости 1-го класса и снижается при обработке клеток-продуцентов антителами к Thy 1,2; Lyt 1,1; L3T4 или асиало-GM1, а также в результате удаления селезенки [6, 23]. Эти данные свидетельствуют о том, что основными продуцентами "бактериального" ИФН являются клетки ретикулоэндотелиальной системы. Показано, что лейкоцитарный и иммунный ИФНы продуцируются различными типами клеток в ответ на заражение животных бактериями и по времени продукции α -ИФН предшествует γ -ИФН. Очевидно, α -ИФН, индуцируемый бактериями на ранних стадиях инфекции, генерирует антигенспецифические Т-лимфоциты, вовлекаемые в дальнейшем в продукцию иммунного ИФН [14, 19].

Первые работы в области исследования протективного действия ИФНов при невирусных инфекциях выполнены в отношении облигатных внутриклеточно развивающихся возбудителей — хламидий, риккетсий, простейших [6]. Было установлено, что действие ИФН на размножение риккетсий в

L-клетках в 16 раз слабее, чем влияние на размножение хламидий, и в 256 раз слабее, чем влияние на репликацию вирусов [10]. К настоящему времени выявлено протективное действие нативных, очищенных и рекомбинантных α -, β - и γ -ИФНов в отношении *Plasmodium bergii*, *Eperythrozoon cocoides*, *Toxoplasma gondii*, *Chlamydia trachomatis*, *Coxiella burnetti*, *Rickettsia prowazekii* и др. [28, 52].

Следует отметить, что механизмы протективного действия ИФН при бактериальных инфекциях во многом еще остаются не выясненными. Так, при обсуждении защитного действия ИФН при инфекциях, вызванных облигатными внутриклеточными возбудителями, указывается, что это действие связано с ингибированием их инвазивных функций. При этом было обнаружено, что ИФНы подавляют процессы эндоцитоза и репликации патогенов в клетках [28]. В то же время авторы не исключают возможности существования принципиально нового защитного механизма при невирусных инфекциях. Необходимость изучения такого механизма стала еще более очевидной после обнаружения протективного действия ИФН при инфекционных заболеваниях, вызываемых возбудителями, развитие которых в клетках временно или вообще не связано с клеткой [28, 34].

Показано, что предварительное введение α - или γ -ИФНов защищало животных от инфекции, вызванной *Salmonella typhimurium* [44]. Так, однократное введение препарата α -ИФН приводило к ускоренной элиминации сальмонелл из крови и органов зараженных мышей. Уже в ранние сроки от момента заражения морфологически подтверждены антитоксическое действие ИФН, его способность усиливать макрофагальную и активировать иммунные реакции организма [44].

Авторами показано, что если в первые сутки после заражения различия тромбоэластограммы подопытных и контрольных животных были незначительны, то в последующие сроки у мышей, которым предварительно вводили ИФН, эти показатели значительно улучшались и к 3-м суткам достигали уровня показателей интактных животных. Проведенные исследования дают основание считать, что патологические изменения в органах животных, зараженных *S. typhimurium*, в значительной степени можно ослабить введением препаратов ИФН I типа. Введение интерферона приводит к значительно более быстрому очищению крови и органов зараженных животных от возбудителей. Установлено, что протективное действие ИФН связано с повышением функциональной активности фагоцитов: усилением поглотительной и переваривающей функций, возрастанием детоксикационной способности, в том числе способности фагоцитировать избыток факторов свертывания крови и продуктов деградации фибрина. Последнее, по-видимому, и определяет менее выраженные явления гиперкоагуляции у животных подопытной группы [35, 42, 43].

При изучении влияния ИФН на развитие инфекции, вызванной *Pseudomonas aeruginosa* в экспериментальных условиях у мышей, было установлено, что однократное введение ИФН I типа приводит к быстрой стимуляции эффекторных клеток — макрофагов и естественных клеток-киллеров. Авторы предполагают, что иммуномодулирующий эффект ИФН на макрофаги и киллеры, эффекторные функции которых при синегнойной инфекции угнетены, реализуется его способностью к быстрой коррекции функ-

ционального созревания лимфоцитов, особенно Т-клеток, и продукции монокинов — ИЛ-1 и ФНО, опосредующих клеточный иммунный ответ на ранних этапах его реализации [8, 26, 55].

Эксперименты, проведенные нами по изучению роли ИФН I типа в защитных реакциях организма при экспериментальной клебсиеллезной инфекции, показали, что введение препарата мышинного α -ИФН предохраняло зараженных мышей от гибели. Причем протективный эффект ИФН был более выражен при его предварительном (за 24 ч до заражения) введении, чем через сутки после заражения (погибли 10 и 20 % мышей соответственно). В контрольной группе мышей к моменту окончания срока наблюдения (6-е сут) погибли 15 из 16 (93,7 %) животных. При введении ИФН I типа наблюдалось значительное снижение числа клебсиелл в крови и органах зараженных мышей по сравнению с "ложнолеченными" животными. Так, в течение срока наблюдения из крови и печени опытных мышей высевалось $20 - 500$ и $10^3 - 10^4$ КОЕ, тогда как в контроле $500 - 10^4$ и $10^4 - 10^7$ КОЕ соответственно. Следует отметить, что если введение препарата ИФН было начато до заражения, то число персистирующих клебсиелл (в течение срока наблюдения) в органах опытных животных превышало этот показатель в контроле в десятки раз. Такие же различия отмечались и в группе мышей, которым препарат ИФН вводили после заражения. Причем введение препарата до заражения приводило к прекращению бактериемии к 6-м сут от момента заражения, чего не удавалось достичь при введении препарата после заражения животных. Обсемененность печени в этом случае была на порядок ниже, чем в группе животных, получавших ИФН после заражения [45].

У мышей, которым вводили ИФН (предварительно и/или после заражения культурой клебсиелл), микроциркуляторные расстройства и дистрофические изменения клеточных структур были значительно менее выраженными, причем наибольший защитный эффект был отмечен при предварительном введении ИФН. Получены данные, указывающие на протективный эффект γ -ИФН при экспериментальной клебсиеллезной инфекции. Так, двукратное введение естественного γ -ИФН в дозе 250 ед на мышью предотвращало гибель более 90 % зараженных *Klebsiella pneumoniae* мышей. Установлено, что введение естественного γ -ИФН сопровождалось прекращением бактериемии и полным очищением организма от возбудителей к 7-м сут от момента заражения. Экспериментальная клебсиеллезная инфекция сопровождалась угнетением функциональной активности полиморфноядерных лейкоцитов (ПМЯЛ). Введение препаратов естественного γ -ИФН не только корректировало нарушения функций ПМЯЛ, но и значительно повышало фагоцитарную активность и окислительный метаболизм фагоцитов [46].

В то же время показано, что введение рекомбинантного γ -ИФН в тех же условиях не влияет на выживаемость животных, зараженных клебсиеллами. Кроме того, к 7-м сут из крови и печени инфицированных мышей, получавших рекомбинантный γ -ИФН, высевалось соответственно 10^2 и 10^4 КОЕ. Установленные различия в действии рекомбинантного и естественного γ -ИФНов дают основание предположить, что протективный антибактериальный эффект естественного γ -ИФН обусловлен не столько самим ИФН, сколько компонентами, индуцированными в процессе интерферогенеза и содержащимися в препаратах естественного γ -ИФН [46].

При экспериментальной стафилококковой инфекции подкожное введение препарата гомологичного α -ИФН в дозе $1 \cdot 10^3$ ед на животное за 24 ч до заражения защищало мышей от гибели. Протективное действие интерферона сопровождалось снижением длительности диссеминации стафилококка в почках и селезенке инфицированных животных. Так, в почках мышей, обработанных ИФН за 24 ч до заражения стафилококком, количество бактерий через 48 ч уменьшалось в 5,5 раза. Сроки диссеминации бактерий в почках также сокращались в результате подкожной инъекции ИФН мышам одновременно с заражением стафилококком. Однако ИФН наиболее эффективен при обработке мышей до заражения. В дальнейшем было установлено, что двукратная подкожная инъекция ИФН инфицированным стафилококком мышам с интервалом в 2 дня полностью освобождает почки от бактерий через 7 сут. В то же время у животных, которым вводили плацебо или "ложный" ИФН, диссеминация стафилококка в почках наблюдалась до 10 сут, а из почек отдельных мышей бактерии высевались и на 15-е сут. Под влиянием ИФН I типа наблюдалось двукратное уменьшение количества стафилококков в селезенке инфицированных мышей. Полностью селезенка освобождалась от бактерий на 7-е сут после введения ИФН инфицированным животным [34].

Каков же механизм действия препаратов ИФН при бактериальных инфекциях? Вероятно, действие ИФН не ограничивается только иммуномодулирующими эффектами.

При расшифровке механизмов протективного действия ИФН при стафилококковой инфекции было установлено, что препараты ИФН оказывают бактериостатический или бактерицидный эффект как на лабораторные, так и на свежевыделенные от больных штаммы стафилококка. Антистафилококковая активность препаратов ИФН проявляется в более высоких разведениях, чем антивирусная. В то же время мышиный и человеческий ИФН при инкубации со стафилококками в дозах 500 ед/мл и 512 МЕ соответственно не оказывают влияния на биологические свойства (гемолитическую, лецитовителазную, плазмокоагулирующую, ДНК-азную и лизоцимоподобную активности) сохранивших жизнеспособность штаммов стафилококков. Исследование бактериостатического и бактерицидного действия неочищенных и очищенных препаратов ИФН показало, что антистафилококковая активность не связана непосредственно с молекулой ИФН. Так, в результате нейтрализации ИФН специфической антисывороткой антистафилококковая активность препаратов не снижается. В то же время высокоочищенные препараты ИФН теряют антистафилококковую активность при усилении антивирусной. Эти данные свидетельствуют о том, что антистафилококковое влияние оказывает не сам ИФН, а те дополнительные субстанции, которые удаляются из препаратов по мере их очистки. Таким образом, при продукции ИФН синтезируются факторы, оказывающие бактериостатическое и бактерицидное действие на стафилококки, а также повышающие устойчивость к стафилококковым токсинам. Как установлено в последнее время, такими компонентами в препаратах естественных ИФН могут быть низкомолекулярные вещества, относящиеся к дефензинам [7, 15, 18].

На экспериментальных моделях стафилококковой инфекции, а также при исследовании иммунореактивности пациентов с гнойно-септическими забо-

леваниями преимущественно стафилококковой этиологии нами было установлено, что ИФНы I типа *in vitro* и *in vivo* дозозависимо повышают различные стороны функциональной активности макрофагов, моноцитов и ПМЯЛ [12, 13, 16].

Предварительная обработка мышинных макрофагов перитонеального экссудата (МФПЭ) интактных животных гомологичным ИФН I типа за 7 ч до внесения стафилококка (объект фагоцитоза) увеличивает интенсивность поглощения бактерий. Максимальный уровень фагоцитоза отмечен при обработке МФПЭ интерфероном в дозе $1-2 \cdot 10^3$ МЕ/мл. Повышение дозы препарата ИФН до $5 \cdot 10^3$ МЕ/мл не приводит к усилению интенсивности фагоцитоза. Пик поглощения наблюдается в результате 18–20-часовой экспозиции МФПЭ с препаратами ИФН. При культивировании МФПЭ с ИФН 66 % фагоцитов поглощает стафилококк, в то время как показатель фагоцитоза для МФПЭ, обработанных “ложным” ИФН, составляет 43 % [23, 30]. Гомологичные ИФН I и II типов в дозе $1 \cdot 10^3$ МЕ/мл *in vitro* увеличивают показатель фагоцитоза МФПЭ инфицированных стафилококком мышей. Количество фагоцитировавших стафилококк МФПЭ повышается до $74,0 \pm 6,7$ % против $48,0 \pm 6,8$ % в контроле. Интерферон II типа увеличивал показатель фагоцитоза МФПЭ инфицированных мышей до $86,8 \pm 4,2$ % [3]. Следует отметить, что активация поглотительной активности МФПЭ не требует предварительной обработки интерфероном бактериальных клеток и полностью отменяется с потерей антивирусной активности препаратов [33]. Интерфероны I и II типов *in vitro* в дозе $1 \cdot 10^3$ МЕ/мл усиливают кислородозависимую бактерицидную активность МФПЭ как интактных, так и инфицированных стафилококком мышей. При этом также возрастает удельный вес распластанных и агрегированных клеток среди МФПЭ, а также клеток, контактирующих с лимфоцитами перитонеальной полости [23].

Интерфероны I и II типов в дозе $1 \cdot 10^3$ ед при подкожной инъекции инфицированным животным повышают интенсивность поглощения стафилококка МФПЭ. Это влияние наиболее выражено через 48 ч после одновременного введения животным ИФН и стафилококка. Через 3 сут фагоцитарная активность МФПЭ понижается до уровня активности МФПЭ инфицированных мышей, обработанных “ложным” ИФН. При повторной обработке инфицированных мышей ИФНом на 3-и сут поглотительная активность МФПЭ вновь повышается и сохраняется на этом уровне в течение 3 сут. Повторная инъекция ИФН с интервалом в 2 сут не приводит к усилению поглощения стафилококка в организме к данному моменту [29]. Под влиянием ИФН I типа *in vivo* также повышается кислородозависимая бактерицидная активность МФПЭ инфицированных мышей, частично нарушенная стафилококковой инфекцией, а также возрастает уровень активности кислой неспецифической эстеразы (КНЭ). При этом повышение средних величин КНЭ обусловлено перераспределением клеток по группам ферментативной активности с преимущественным повышением удельного веса высоко- и умеренноактивных клеток и снижением количества МФПЭ с низкой активностью и лишенных активности КНЭ [23].

Модулирующее действие ИФН на МФПЭ при стафилококковой инфекции связано с нормализацией внутриклеточного метаболизма фагоцитов. Так, обработка препаратами ИФН инфицированных стафилококком

мышей одновременно с заражением вызывает понижение уровня цАМФ в МФПЭ до уровня показателей в контроле. На 6-е сут наблюдается возрастание внутриклеточной концентрации цАМФ в МФПЭ инфицированных мышей, получавших ИФН, с последующим снижением до контрольных величин на 12-е сут после заражения. Введение ИФН I типа intactным мышам вызывает иной тип реакции — уровень цАМФ в МФПЭ возрастает в течение первого часа опыта, достигая максимальных величин через 24 ч. На 3-и сут после введения ИФН содержание цАМФ в МФПЭ intactных мышей нормализуется. Однако на 6-е сут отмечено вторичное, но менее выраженное повышение концентрации цАМФ в МФПЭ. Уровень цАМФ в МФПЭ intactных животных снижается до контрольного на 12-е сут после введения ИФН [23, 24].

Препараты ИФН I типа нормализуют уровень цГМФ в МФПЭ инфицированных стафилококком мышей, а также изменяют активность ферментов, регулирующих внутриклеточный обмен аденозина, — аденозиндезаминазы (АДЗ) и 5-нуклеотидазы. Нашими исследованиями показано, что при стафилококковой инфекции резко снижается аденозиндезаминазная активность МФПЭ и возрастает активность 5-нуклеотидазы. Под влиянием ИФН уровень активности АДЗ в МФПЭ инфицированных стафилококком мышей восстанавливается до уровня показателей в контроле уже в течение первого часа опыта. В период между 24 часами и 3 сутками после введения ИФН активность фермента в МФПЭ резко возрастает по сравнению с уровнем АДЗ в МФПЭ как инфицированных, так и intactных мышей, обработанных "ложным" ИФН. Уровень активности АДЗ в МФПЭ инфицированных стафилококком мышей, получивших ИФН, снижается до контрольных показателей на 6-е сут. Аналогичные данные были получены при исследовании влияния ИФН I типа на активность АДЗ в МФПЭ intactных мышей с тем лишь различием, что активность фермента сохраняется повышенной и на 6-е сут опыта [23, 24, 34]. Следует отметить, что высокий уровень активности АДЗ в МФПЭ является характерным признаком их активации. Напротив, активность 5-нуклеотидазы в МФПЭ инфицированных стафилококком мышей под влиянием препаратов ТФН снижается. Так, в течение первого часа после заражения активность фермента восстанавливается до уровня показателей в контроле, а через 24 ч и на 3-и сут опыта следует резкое, более чем двукратное, повышение активности 5-нуклеотидазы в клетках. Уровень активности фермента в МФПЭ восстанавливается на 6-е сут после введения ИФН. В МФПЭ intactных мышей, обработанных ИФН, активность 5-нуклеотидазы уменьшается относительно показателей в контроле в течение первого часа после введения препарата. Снижение ферментативной активности МФПЭ intactных мышей, индуцированное ИФН, наиболее выражено в период между 24 часами и 3 сутками [23, 24, 34]. Понижение активности 5-нуклеотидазы в МФПЭ наблюдается в результате воздействия на макрофаги большинства иммуномодулирующих препаратов и является наиболее специфическим признаком их активации [24].

Таким образом, нормализация уровней цАМФ и цГМФ, а также снижение активности 5-нуклеотидазы и повышение активности АДЗ МФПЭ мышей, инфицированных стафилококком, и intactных мышей коррелируют с усилением их поглотительной и бактерицидной активностей.

С другой стороны, к механизмам модулирующего действия ИФНов при стафилококковой инфекции следует отнести их способность угнетать активность супрессоров функциональной активности МФПЭ, которые экспрессируют *Thy*-антигены и индуцируются стафилококковой инфекцией [23].

Представленные данные о благоприятном влиянии препаратов ИФН на течение экспериментальных инфекций, вызванных стафилококками или сальмонеллами, послужили основанием для всестороннего исследования модулирующего действия препаратов человеческих лейкоцитарных ИФН при инфекционных заболеваниях сальмонеллезной и стафилококковой этиологии. Показано, что развитие сальмонеллезной инфекции у людей сопровождается развитием вторичного иммунодефицита. Это нарушение проявляется в изменении числа Т-лимфоцитов и резком угнетении активности фагоцитирующих клеток.

Дополнение этиотропного и патогенетического лечения сальмонеллезной инфекции лейкоинфероном (3 инъекции по 10^4 МЕ с интервалом 48–72 ч) способствовало нормализации числа моноцитов и нейтрофилов и восстановлению функциональной активности клеток, что нашло отражение в увеличении процента фагоцитоза нейтрофилов и процента фагоцитоза и фагоцитарного числа у нейтрофилов и моноцитов, а также в повышении функционального резерва клеток. Кроме того, введение лейкоинферона способствовало нормализации сниженного у больных числа Т-лимфоцитов. При этом лейкоинферон модулировал сниженное число Т-теофиллинчувствительных, еще больше повышал число Т-активных и не изменял постоянного числа Т-теофиллинрезистентных клеток [2, 17].

Следовательно, введение лейкоинферона сальмонеллезным больным приводит к нормализации нарушенных функций фагоцитов и числа Т-лимфоцитов, что способствует благоприятному течению инфекции и выздоровлению без развития осложнений.

У пациентов с неосложненными, осложненными и острыми пневмониями, а также при гнойно-септических заболеваниях человеческий лейкоцитарный ИФН *in vitro* усиливал поглотительную функцию нейтрофилов и моноцитов периферической крови [40, 51]. Активация фагоцитоза зависела от используемых доз препаратов и исходного уровня активности клеток, который находится в прямой зависимости от степени выраженности инфекционного процесса. Так, ИФН в дозе $1 \cdot 10^2$ МЕ стимулировал активность фагоцитов пациентов с неосложненными пневмониями, у которых незначительно снижена поглотительная активность. Интерферон в этой дозе не оказывал влияния на активность моноцитов и нейтрофилов с более выраженным угнетением функции поглощения (больные с очагово-сливной формой пневмонии, осложненной эпиемой плевры). Поглотительная способность фагоцитов этих пациентов увеличивалась под влиянием ИФН в дозе $1 \cdot 10^3$ МЕ. В то же время обработка моноцитов и нейтрофилов исследуемых групп пациентов ИФНом в дозе $1 \cdot 10^4$ МЕ не приводила к последующему повышению фагоцитарной активности [36, 37].

Человеческий лейкоцитарный ИФН в дозах $1-2 \cdot 10^3$ МЕ/мл повышал спонтанную миграцию и хемотаксическую активность моноцитов и нейтрофилов периферической крови больных стафилококковыми пневмониями. Высокие дозы угнетают эти функции. Интерферон в дозе $1-2 \cdot 10^3$ МЕ/мл

стимулировал способность фагоцитов к адгезии, но не восстанавливал ее до уровня в контроле [32].

Препараты человеческого лейкоцитарного ИФН *in vitro* и *in vivo* в дозе $1 \cdot 10^4$ МЕ усиливали поглотительную и кислородозависимую бактерицидную активности моноцитов и нейтрофилов периферической крови пациентов с гнойно-септическими заболеваниями. При разработке оптимальной схемы использования препаратов ИФН I типа в комплексной терапии инфекционных заболеваний, преимущественно стафилококковой этиологии, были приняты во внимание данные, полученные при исследовании влияния ИФН на течение экспериментальной стафилококковой инфекции (сроки элиминации стафилококка из организма животных и длительность сохранения повышенной активности фагоцитирующих клеток и др.) [47, 48]. Эта схема предусматривает 3-кратное введение препарата ИФН больным с интервалом в 48 ч между инъекциями в дозе $1 \cdot 10^4$ МЕ [37]. Применение ИФН по указанной схеме приводило к более быстрой нормализации клинико-лабораторных показателей. Так, при введении лейкинферона больным с местной инфекцией в 1,5–3 раза быстрее нормализовались температура тела и уровень лейкоцитов. Почти у всех пациентов на 3–5-е сут лечения достигала нормы функция нейтрофильных гранулоцитов (НГ) периферической крови. Аналогичные данные были получены у пациентов с генерализованными формами гнойной инфекции. Так, у этих пациентов под влиянием лейкинферона температура тела, количество лейкоцитов и активных Т-лимфоцитов нормализовались в 2 раза быстрее, чем в контроле. Функция НГ восстанавливалась у 87 % пациентов. По отношению к функции НГ лейкинферон обладал выраженным иммуномодулирующим действием: при спонтанной хемилюминесценции, равной $4,27 \pm 0,24 \cdot 10^3$ имп/мин, т. е. находящейся на уровне нормы, больные были рефрактерны к препарату [41].

Модулирующее действие препарата на активные Т-лимфоциты отмечено у 36 % больных с местной инфекцией, рефрактерность — у 46 %. Рефрактерность выявлена у 25–35 % тяжелобольных в зависимости от радикальной операции [50].

Наряду с клинико-лабораторными показателями, свидетельствующими об эффективности лечения лейкинфероном, наблюдали также нормализацию ИФН-статуса и восстановление продукции ФНО у тяжелобольных пациентов. Иммуномодулирующее действие лейкинферона, вероятно, обусловлено цитокинами (ИЛ-1, ФНО), которые содержатся в препаратах лейкинферона и синергично усиливают его модулирующее влияние при инфекционных и других патологических процессах [9, 39, 53, 54].

Хотя многолетний опыт использования ИФНов в клинике доказал их эффективность для профилактики и лечения инфекционных и некоторых онкологических заболеваний, однако были выявлены и определенные недостатки, ограничивающие использование этих препаратов, особенно рекомбинантных. Во-первых, длительное введение ИФНов и в больших концентрациях вызывает формирование антиинтерфероновых антител, которые нейтрализуют вновь вводимые препараты интерферона, что приводит к неэффективности лечения. Во-вторых, было обнаружено большое количество побочных эффектов при передозировках ИФН. Кроме того, длительное лечение препаратами ИФНов дорогостоящее и далеко не всем доступно [2, 20, 34].

В связи с этим большой интерес представляют препараты, которые способны "включить" в организме собственную систему ИФН. Нами проанализированы работы, в которых проводили сравнительный анализ эффективности действия препаратов гомологичного экзогенного ИФН и индукторов ИФН I и II типов на моделях стафилококковой и сальмонеллезной инфекций, для которых показаны длительное сохранение возбудителей в органах и трудная их элиминация в процессе антибактериальной терапии.

В качестве индукторов ИФН использовали левамизол, его отечественный аналог — камизол, а также амбен, которые являются низкомолекулярными химическими соединениями и индуцируют образование ИФН II типа. Из высокомолекулярных индукторов исследовали препараты поли И: поли Ц, ларифан и вирус болезни Ньюкастла, которые приводят к образованию ИФН I типа.

Было установлено, что индукторы ИФН в разной степени защищают животных от летальной дозы микробов. Наибольший протективный эффект проявлял камизол, обеспечивая защиту 90 и 80 % животных соответственно при стафилококковой и сальмонеллезной инфекциях. Несколько слабее проявляли свои защитные свойства другие низкомолекулярные индукторы ИФН — левамизол и амбен. Высокомолекулярные индукторы (поли И: поли Ц; ларифан) по эффективности действия уступали низкомолекулярным [2, 31].

Протективный эффект вышеупомянутых индукторов зависел от времени их введения относительно заражения и в наибольшей степени проявлялся при поступлении в организм за 24 ч до заражения. Сокращение этого промежутка приводило к снижению эффективности индукторов ИФН. Очевидно, действие этих препаратов опосредовано образующимся ИФН и для проявления эффекта последнего необходимо время [11].

Довольно неожиданные результаты были получены при изучении влияния индукторов ИФН на персистенцию бактерий в органах инфицированных животных. Введение экзогенного ИФН значительно снижало обсемененность внутренних органов стафилококками или сальмонеллами. В то же время у мышей, получавших в оптимальных дозах камизол или поли И: поли Ц, их количество оставалось высоким и не имело (особенно на начальных стадиях инфекционного процесса) достоверных отличий от контрольной группы [38].

Таким образом, индукторы ИФН способны к защитному действию при бактериальных инфекциях, обусловленному эндогенно образующимся ИФН. Его эффект реализуется главным образом за счет антитоксической активности и стимуляции начальных этапов фагоцитоза (хемотаксис, адгезия, распластывание). Различия в действии экзогенного ИФН и его индукторов на завершающие стадии фагоцитоза (эндогенный ИФН, по сравнению с экзогенным, слабее активизирует бактерицидность и поглотительную способность макрофагов) приводят к тому, что при выраженном защитном эффекте эндогенный ИФН после однократного введения его индукторов практически не влияет на скорость элиминации бактерий из органов воспаления в начальных фазах инфекции [2, 4].

Определенную роль в реализации защитного действия ИФН, очевидно, играет и способность его индукторов (в частности камизола) активировать клетки-киллеры [11, 34].

Отсроченное во времени сокращение числа персистирующих микроорганизмов и повышение бактерицидности макрофагов (на 5–10-е сут инфекции), т. е. когда индуцированный однократным введением камизола или других индукторов ИФН обнаруживается уже в очень небольших титрах, может быть объяснено двумя фактами: во-первых, способностью интерферогенов индуцировать образование клетками селезенки лимфокина, усиливающего бактерицидность макрофагов; во-вторых, к 10-м сут инфекционного процесса может подключаться и иммунный ответ, опосредованный антителами, так как показано, что малые дозы ИФН могут стимулировать гуморальный иммунитет [5, 6].

Таким образом, нами впервые экспериментально доказана и клинически подтверждена антибактериальная эффективность препаратов ИФН при инфекционных процессах, вызванных микроорганизмами (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*), которые способны длительное время персистировать в организме и плохо поддаются антибиотикотерапии. Механизм защитного действия препаратов ИФН при бактериальных инфекциях может, по-видимому, реализовываться через иммуномодулирующую активность (сам интерферон, цитокины), нарушение жизнедеятельности микробов (антибактериальный фактор, дефензины) и предохранение клеток организма от действия токсинов (антитоксический фактор). Кроме того, препараты ИФН могут повышать чувствительность микробов к некоторым антибиотикам. Это свойство ИФНов необходимо учитывать, так как ИФН, как правило, дополняет лечение тяжелых форм инфекционных заболеваний, которое включает и антибиотикотерапию.

М. Я. Співак, Н. І. Грабченко, Л. М. Лазаренко, М. І. Товт-Коршинська,
Л. О. Ганова, Н. О. Тимошок, Л. Д. Кривохатська, О. М. Михайленко,
О. В. Карпов, Т. І. Михайленко, В. М. Зоценко

Ін-т мікробіології і вірусології НАН України, Київ

АНТИБАКТЕРІАЛЬНА ЕФЕКТИВНІСТЬ ПРЕПАРАТІВ ІНТЕРФЕРОНУ ТА ЙОГО ІНДУКТОРІВ

Резюме

Наведено експериментальні докази антибактеріальної ефективності препаратів інтерферону (ІФН) та його індукторів при інфекційних процесах, викликаних *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*. Показано, що основну захисну роль в організмі при персистенції вказаних мікробів відіграє система фагоцитуючих клітин та природних клітин-кілерів. Виявлено основні закономірності активуючого впливу препаратів ІФН та його індукторів на функціональну активність цих клітин. На підставі експериментальних даних вперше розроблено способи лікування гнійно-септичних захворювань людей за допомогою препаратів ІФН.

Ключові слова: інтерферон (ІФН), індуктори ІФН, фагоцити, лімфоцити, бактерії

N. Ya. Spivak, N. I. Grabchenko, L. N. Lazarenko, M. I. Tovt-Korshinskaya,
L. A. Ganova, N. A. Timoshok, L. D. Krivokhatskaya, O. N. Mikhailenko,
A. V. Karpov, T. I. Mikhailenko, V. N. Zotsenko

Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine

ANTIBACTERIAL EFFICIENCY OF INTERFERON PREPARATIONS AND ITS INDUCERS

Summary

Experimental data have been presented which prove antibacterial efficiency of interferon preparations and inducers under infection processes evoked by *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*. It is shown that the system of phagocytizing cells and natural cells-killers plays the basic protective role in the organism under the persistence of these microbes. The basic regularities of activating effect of interferon preparations and its inducers on the functional activity of the above mentioned cells have been found. The methods of treatment with interferon drugs based on experimental data have been developed for the first time. They were used to cure patients with pyo-septical diseases.

Key words: interferon, interferon inducers, phagocytes, lymphocytes, bacteria

The author's address: N. Ya. Spivak, Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine; 154 Zabolotny St., Kyiv, 252143, Ukraine

1. Анисимова Ю. Н., Фильчаков И. В., Спивак Н. Я. Влияние интерферона I типа на течение эндотоксического шока у животных // Патол. физиология и эксперим. терапия. — 1991. — № 1. — С. 59—61.
2. Братусь Е. В. Протективное действие индукторов интерферона при бактериальных инфекциях: Автореф. дис... канд. биол. наук. — Киев, 1991. — 18 с.
3. Вихоть Н. Е., Спивак Н. Я., Черная Л. Н., Пастер Е. У. Влияние препаратов интерферона α/β - и γ -типов на функциональную активность макрофагов при экспериментальной стафилококковой инфекции // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. — 1989. — № 4. — С. 57—60.
4. Вольська О. Г., Співак М. Я., Карпов О. В. Сучасні лікарські форми інтерферонів та їх індукторів // Ліки. — 1997. — № 4. — С. 80—91.
5. Ганова Л. А., Фильчаков И. В., Спивак Н. Я. и др. Активация интерфероном выработки фактора, повышающего бактерицидную активность макрофагов мышей // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1984. — № 4. — С. 461—464.
6. Ганова Л. Н. Некоторые механизмы антибактериальной эффективности интерферона I типа: Автореф. дис... канд. биол. наук. — Киев, 1992. — 21 с.
7. Ганова Л. А., Спивак Н. Я., Олевинская Э. М. Корректирующее действие гомологичного α -интерферона на продукцию цитокинов при стафилококковой инфекции // Иммунология. — 1995. — № 5. — С. 40—42.
8. Ганова Л. А., Спивак Н. Я., Знаменский В. А. Иммуномодулирующие эффекты α -интерферона при инфекции *Pseudomonas aeruginosa* // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1996. — № 8. — С. 124—127.
9. Грабченко Н. И., Симонова А. А., Спивак Н. Я., Парфенов В. В. Синергидное действие рекомбинантных препаратов γ -интерферона и фактора некроза опухоли на течение экспериментальной стафилококковой инфекции // Антибиотики и химиотерапия. — 1994. — 39, № 11. — С. 42—47.
10. Грабченко Н. И., Зоценко В. Н., Спивак Н. Я. Цитокины и невирусные инфекции // Микробиол. журн. — 1995. — 57, № 6. — С. 63—78.
11. Грабченко Н. Г. Протективна дія бактеріальних глікополімерів при стафілококовій інфекції: Автореф. дис... канд. біол. наук. — Київ, 1998. — 18 с.
12. Данилова О. В., Кожееникова Л. А., Вихоть Н. Е., Спивак Н. Я. Влияние интерферона на функциональное состояние эндокринных желез у мышей линии СВА при стафилококковой инфекции // Пробл. общ. и молекуляр. биологии. — 1989. — № 8. — С. 96—98.
13. Данилова О. В., Вихоть Н. Е., Кожееникова Л. А., Спивак Н. Я. Функциональные особенности супраоптико-нейрогипофизарной секреторной системы мышей линии СВА при стафилококковой инфекции и стимуляции иммуногенеза интерфероном // Пробл. физиологии гипоталамуса. — 1989. — № 23. — С. 99—103.
14. Еришов Ф. И., Жданов В. М. Интерферон и гомеостаз организма // Вестн. АМН СССР. — 1985. — № 7. — С. 35—40.
15. Зуева В. С., Пашутин С. Б., Кузнецов В. П. и др. Антитоксическая активность препаратов интерферона // Антибиотики и мед. биотехнология. — 1985. — № 9. — С. 655—668.
16. Зуева В. С., Кузнецов В. П., Спивак Н. Я. и др. Подавление интерфероном развития стафилококковой инфекции // Антибиотики и мед. биотехнология. — 1985. — № 11. — С. 861—863.

17. Зуева В. С., Спивак Н. Я., Фильчаков И. В. и др. Влияние лейкинферона на фагоцитирующие клетки больных при сальмонеллезной инфекции // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 1991. — № 9. — С. 21—25.
18. Кузнецов В. П., Зуева В. С., Дмитренко О. А., Беляев Д. Л. Антистафилококковая активность в препаратах интерферона // Антибиотики. — 1982. — 27, № 7. — С. 530—533.
19. Кузнецов В. П. Интерферон как средство иммуномодуляции // Иммунология. — 1987. — № 4. — С. 30—34.
20. Кузнецов В. П. Современное состояние проблемы интерферона: Теоретические и практические аспекты // Антибиотики и мед. биотехнология. — 1989. — № 9. — С. 616—619.
21. Кузнецов В. П., Беляев Д. Л., Бабаянц А. А. и др. Препараты интерферона в комплексной терапии бактериальных инфекций // Антибиотики и мед. биотехнология. — 1989. — № 9. — С. 691—696.
22. Кузнецов В. П., Беляев Д. Л., Бабаянц А. А. и др. Комплексные препараты интерферона и цитокинов при бактериальных инфекциях // Актуальные проблемы химиотерапии бактериальных инфекций. — М.: Медицина, 1991. — С. 347—348.
23. Лазаренко Л. Н. Модуляция интерферонами функциональной активности фагоцитирующих клеток при стафилококковой инфекции: Автореф. дис... канд. биол. наук. — Киев, 1991. — 20 с.
24. Лазаренко Л. Н., Спивак Н. Я., Уманский В. Ю. и др. Влияние α -интерферона на уровень ферментов обмена аденозина и бактерицидную активность макрофагов при стафилококковой инфекции // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1992. — № 7. — С. 63—66.
25. Медуницян Н. В., Кузнецов В. П., Крылов О. Р. и др. Сопутствующая цитокиновая активность препаратов интерферона // Иммунология. — 1987. — № 4. — С. 34—40.
26. Павленко В. А., Руденко А. В., Майданник В. Г. и др. Интерферон в модуляции иммунного ответа при стафилококковом и синегнойном пиелонефрите // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 1989. — № 6. — С. 61—66.
27. Руденко А. В., Майданник В. Г., Павленко В. А., Спивак Н. Я. Влияние интерферона на течение экспериментального колибациллярного пиелонефрита // Антибиотики и химиотерапия. — 1990. — 35, № 1. — С. 32—35.
28. Спивак Н. Я., Смирнов В. В., Кузнецов В. П. и др. Действие препаратов различных интерферонов на патогенные микроорганизмы // Микробиол. журн. — 1983. — 45, № 2. — С. 63—66.
29. Спивак Н. Я., Лисовенко В. Г., Зуева В. С. Влияние интерферона 1 типа на персистенцию стафилококка и некоторые показатели иммунореактивности организма // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 1984. — № 5. — С. 74—77.
30. Спивак Н. Я., Зуева В. С., Авакян Л. М., Кривохатская Л. Д. Влияние интерферона на поглощение стафилококков макрофагами перитонеального экссудата мышей // Микробиол. журн. — 1985. — 47, № 2. — С. 74—78.
31. Спивак Н. Я., Якуба Н. И., Бережной В. В., Чернушенко Е. Ф. Влияние левамизола и препарата В-58 на фагоциты крови при острой пневмонии у детей / Редкол. "Микробиол. журн." — Киев, 1986. — 8 с. — Деп. в ВИНТИ 04.02.86, № 808-B86.
32. Спивак Н. Я., Якуба Н. И., Бережной В. В., Чернушенко Е. Ф. Использование интерферона для восстановления функциональной активности фагоцитов крови при острой пневмонии / Редкол. "Микробиол. журн." — Киев, 1986. — 7 с. — Деп. в ВИНТИ 04.02.86, № 809-B86.
33. Спивак Н. Я., Зуева В. С., Белоцкий С. М. Интерферон и бактериальные инфекции // Антибиотики и мед. биотехнология. — 1987. — 32, № 12. — С. 920—925.
34. Спивак Н. Я. Антибактериальная эффективность препаратов интерферона и его индукторов в различных биологических системах: Автореф. дис... докт. биол. наук. — Киев, 1987. — 45 с.
35. Спивак Н. Я., Фильчаков И. В., Братусь Е. В. и др. Изменение бактерицидной активности макрофагов мышей с различной устойчивостью к инфекции *Salmonella typhimurium* под действием интерферона // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 1988. — № 5. — С. 81—84.
36. Спивак Н. Я., Черная Л. Н., Вихоть Н. Е. Влияние стафилококка и его антигенных субстанций на интерфероногенез и корректирующее действие интерферона при стафилококковой инфекции // Стафилококк. — Киев: Наук. думка, 1988. — С. 138—146.
37. Спивак Н. Я., Трещинский А. И., Кривохатская Л. Д., Вихоть Н. Е. Интерферонотерапия больных гнойно-септическими заболеваниями. — Киев, 1988. — 5 с. — (Информ. письмо / МЗ Украины).
38. Спивак Н. Я., Мощич Н. Е., Таринская О. Л., Андрущук А. А. Лечение острой пневмонии у детей препаратами интерферона и его индукторами. — Киев, 1989. — 5 с. — (Информ. письмо / МЗ Украины).
39. Спивак Н. Я., Ганова Л. А., Кривохатская Л. Д. и др. Перспективы использования препаратов интерферона в комплексной терапии бактериальных инфекций // Актуальные вопросы микробиологии, эпидемиологии и иммунологии инфекционных болезней. — Харьков, 1993. — С. 323.
40. Спивак Н. Я., Мощич П. С., Таринская О. Л. и др. Интерферонотерапия острых пневмоний у детей раннего возраста // Антибиотики и химиотерапия. — 1993. — 38, № 7. — С. 40—43.

41. Трещинский А. И., Спивак Н. Я., Белоцкий С. М. Нарушения иммунитета при сепсисе и пути его коррекции // Врачеб. дело. — 1987. — № 3. — С. 109—114.
42. Фильчаков И. В., Спивак Н. Я., Зарицкий А. М. и др. Влияние интерферона I типа на персистенцию *Salmonella typhimurium* in vivo // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 1986. — № 2. — С. 24—27.
43. Фильчаков И. В., Спивак Н. Я., Зуева В. С., Кузнецов В. П. Интерферон повышает бактерицидную активность макрофагов перитонеального экссудата мышей против *Salmonella typhimurium* // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 1987. — № 8. — С. 76—79.
44. Фильчаков И. В., Анисимова Ю. Н., Крамарев С. А., Спивак Н. Я. Изучение протективного действия интерферона I типа при экспериментальной сальмонеллезной инфекции // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 1991. — № 4. — С. 50—53.
45. Фильчаков И. В., Авдеева Л. В., Анисимова Ю. Н. и др. Интерферон типа I в защитных реакциях организма при экспериментальной клебсиеллезной инфекции // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 1992. — № 2. — С. 62—64.
46. Фильчаков И. В., Авдеева Л. В., Фильчаков Ф. В. и др. Антибактериальные эффекты γ -интерферона при экспериментальной клебсиеллезной инфекции // Антибиотики и химиотерапия. — 1992. — 37, № 7. — С. 31—34.
47. Яковенко Л. Ф., Ганова Л. А., Олевинская З. М. Факторы естественной резистентности организма при хронических заболеваниях органов дыхания у детей в процессе лечения реафероном // Актуальные вопросы микробиологии, эпидемиологии и иммунологии инфекционных болезней. — Харьков, 1993. — С. 354.
48. Яковенко Л. Ф. Вплив інтерферону I типу на неспецифічну резистентність організму при вторинних імунodefіцитах (експериментальні моделі): Автореф. дис... канд. біол. наук. — Київ, 1998. — 20 с.
49. А.с. 1172116 СССР. Способ получения интерферона / Н. Я. Спивак, С. Р. Резник, Л. Д. Кривохатская и др. — Оpubл. 06.04.85, Бюл. № 2.
50. А.с. 1202586 СССР. Способ лечения гнойно-септических заболеваний / Н. Я. Спивак, В. С. Зуева, В. П. Кузнецов и др. — Оpubл. 10.01.85, Бюл. № 1.
51. А.с. 1377113 СССР. Способ лечения острых пневмоний у детей раннего возраста / Н. Я. Спивак, Н. И. Якуба, Г. А. Андрушук и др. — Оpubл. 04.05.86, Бюл. № 2.
52. Rudenko A., Romashchenko O., Mikhailenko O., Spivak N. New approaches in the therapy of chlamydia infection of genitals in young womens // Acta dermatovenerol. — 1997. — 1, N 6. — P. 31.
53. Spivak N., Grabchenko N., Simonova A. Antibacterial effects of recombinant gamma interferon and tumor necrosis factor on experimental models of Staphylococcus and Salmonellosis infection // J. Interferon Res. — 1992. — 12, N 1. — С. 158.
54. Spivak N. Ya., Sonensfeld G., Degre M., Byrne G. Cytokines and resistance to pathogenic non-viral infections. — New-York: Biomedpress, 1992. — 298 p.
55. Spivak N., Ganova L., Krivochatskaya L. Interferon action on cell response and cytokines production during *Pseudomonas aeruginosa* infection // J. Interferon Res. — 1994. — 14, N 1. — P. 133.

Одержано 10.09.98