

- гриппа у детей первых месяцев жизни, рожденных от матерей, вакцинированных во время беременности. *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского*. 2013; 2: 86–91.
12. Бурцева Е.И., Власова Л.Н., Слепушкин А.Н., Беляев А.Л., Береговский Н.А. Нейраминидазная активность инактивированных гриппозных вакцин у лиц пожилого возраста. *Вопросы вирусологии*. 2002; 47 (5): 21–5.
  13. Найхин А.Н., Царицина И.М., Сыроедова Л.Г., Олейникова Е.В., Горев Н.Е. Антинейраминидазные антитела при естественном инфицировании гриппом А и иммунизации гриппозными вакцинами. *Вопросы вирусологии*. 1983; 2: 154–9.
  14. Найхин А.Н., Царицина И.М., Олейникова Е.В., Исмагулов А.Т., Резник В.И. Формирование и защитные функции антител к нейраминидазе вируса гриппа А. *Вопросы вирусологии*. 1985; 30 (1): 35–9.
  15. Смолоногина Т.А., Дешева Ю.А., Горева Н.Е., Руденко Л.Г. Оценка антинейраминидазных антител у волонтеров, привитых сезонной трехвалентной живой гриппозной вакциной. *Медицинский академический журнал*. 2011; 11 (3): 44–50.
1. Gendon Yu.Z. Strategy for the struggle of influenza with vaccines. *Vaktsinatsiya*. 1999; 11 (5): 3. (in Russian)
  2. Chen M.I., Barr I.G., Koh G.C., Lee V.J., Lee C.P., Shaw R. et al. Serological Response in RT-PCR Confirmed H1N1-2009 Influenza A by Hemagglutination Inhibition and Virus Neutralization Assays: An Observational Study. *PLoS One*. 2010; 5 (8): e12474.
  3. Burtseva E.I., L'vov D.K., Shchelkanov M.Yu., Kolobukhina L.V., Prilipov A.G., Al'khovskiy S.V. et al. The specific features of the cocirculation of influenza viruses in the 2010–2011 postpandemic period according to the results of activities of the D.I. Ivanovsky Research Institute of Virology, Ministry of Health and Social Development of Russia. *Voprosy virusologii*. 2012; 57 (1): 20–8. (in Russian)
  4. L'vov D.K., Burtseva E.I., Lavrishcheva V.V. Information of the Center for Ecology and Epidemiology of Influenza, D.I. Ivanovsky Research Institute of Virology, Russian Academy of Medical Sciences, on the results of the 2009–2010 influenza and acute respiratory viral infection epidemic season (at week 40 of 2009 to week 22 of 2010) in the world and Russia. *Voprosy virusologii*. 2011; 56 (1): 44–9. (in Russian)
  5. Garten R.J., Davis C.T., Russell C.A., Shu B., Lindstrom S., Balish A. et al. Antigenic and genetic characteristics of swine-origin 2009 A(H1N1) influenza viruses circulating in humans. *Science*. 2009; 325: 197–201.
  6. Mikhaylova E.V., Salov I.A., Romanovskaya A.V., Levin D.Yu., Dubovitskaya N.A., Karal'skiy S.A. Peculiarities of the process of ARVI and influenza A/H1N1/2009 in pregnant women. *Infektsionnye bolezni*. 2011; 2: 89–92. (in Russian)
  7. MU 3.3.2.1758-03. Methodical instructions. Methods for the determination of the criteria of the quality of immunobiological products for the prevention and diagnosis of influenza. Moscow; 2005. (in Russian)
  8. Smolnogina T.A., Desheva Yu.A., Shaldzhyan A.A., Grudin M.P., Rudenko L.G. Formation of antibodies against neuraminidase of A/California/07/2009 (H1N1) influenza virus after immunization with live monovalent influenza vaccine. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2011; 6: 72–6. (in Russian)
  9. Lambre C.R., Terzidis H., Greffard A., Webster R.G. Measurement of anti-influenza neuraminidase antibody using a peroxidase-linked lectin and microtitre plates coated with natural substrates. *J. Immunol. Methods*. 1990; 135 (1–2): 49–57.
  10. Tan S., Gordon D.L., Honda-Okubo Y., Petrovsky N., Phillips P., Huddlestone S. et al. Serological responses following influenza A H1N1 2009 infection in adults. *J. Infect.* 2011; 62 (5): 388–93.
  11. Cherdantsev A.P., Kostinov M.P., Kusel'man A.I., Erofeeva M.K., Azizova R.Sh., Demina E.O. The level of antibodies to influenza viruses in infants born by mothers vaccinated during pregnancy. *Pediatriya. Zhurnal im. G.N. Speranskogo*. 2013; 2: 86–91. (in Russian)
  12. Burtseva E.I., Vlasova L.N., Slepshkin A.N., Belyaev A.L., Beregovskiy N.A. Antineuraminidase activity of inactivated influenza vaccines in elderly people. *Voprosy virusologii*. 2002; 47 (5): 21–5. (in Russian)
  13. Naykhin A.N., Tsaritsina I.M., Syroedova L.G., Oleynikova E.V., Gorev N.E. Antineuraminidase serum antibodies in natural influenza A and immunization with influenza vaccines. *Voprosy virusologii*. 1983; 2: 154–9. (in Russian)
  14. Naykhin A.N., Tsaritsina I.M., Oleynikova E.V., Ismagulov A.T., Reznik V.I. Formation and protective functions of antibodies to neuraminidase of the influenza A virus. *Voprosy virusologii*. 1985; 30 (1): 35–9. (in Russian)
  15. Smolnogina T.A., Desheva Yu.A., Goreva N.E., Rudenko L.G. The assessment of antineuraminidase antibodies of volunteers vaccinated with seasonal trivalent live influenza vaccine. *Meditsinskiy akademicheskij zhurnal*. 2011; 11 (3): 44–50. (in Russian)

Поступила 29.05.14

## REFERENCES

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015  
УДК 615.373:578.248].036.8

Оспельникова Т.П., Исаева Е.И., Колодяжная Л.В., Козулина И.С., Андреева С.А., Полосков В.В., Ершов Ф.И.

# Противовирусная активность препаратов интерферона бета 1а

ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва

Изучена противовирусная активность препаратов интерферона бета 1а Генфаксон® и Ребиф® при гриппе и герпесе. Впервые показан выраженный противовирусный эффект препаратов в отношении вирусов, вызывающих эти заболевания.

Ключевые слова: вирус; грипп; герпес; врожденный иммунитет; препарат интерферона бета.

Для цитирования: Вопросы вирусологии. 2015; 60 (6): 24–28.

Ospelnikova T.P., Isaeva E.I., Kolodyaznaya L.V., Kozulina I.S., Andreeva S.A., Poloskov V.V., Ershov F.I.

## Antiviral activity of the interferon beta 1a

Federal State Budgetary Institution "Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya" of the Ministry of Health of the Russian Federation, 123098, Moscow, Russia  
The antiviral activity of the interferon beta 1a was studied using the example of the antiviral activity of the drugs interferon beta 1a Genfaxon® and Rebif® for the influenza and herpes. A pronounced antiviral effect of the drugs against influenza and herpes viruses was shown for the first time.

Key words: virus; influenza; herpes; innate immunity; interferon beta.

Received 13.03.14

For correspondence: Tatiana Ospelnikova, MD, PhD; e-mail: ospelnikovat@mail.ru  
Citation: Voprosy virusologii. 2015; 60(6): 24–28. (In Russ.)

Для корреспонденции: Оспельникова Татьяна Петровна, канд. мед. наук; e-mail: ospelnikovat@mail.ru

## Введение

История клинического использования интерферона бета (ИФН-β) насчитывает почти 30 лет. Препараты на его основе наиболее эффективны для терапии рассеянного склероза (РС). РС – тяжелое аутоиммунное заболевание, проявляющееся агрессией собственного иммунитета хозяина к белкам клеток нервной системы (демиелинизация), осуществляемой с помощью антител, Т-лимфоцитов и цитокинов. Интерфероны бета обладают иммуномодулирующими, противовирусными и антипролиферативными свойствами.

В настоящее время в медицинской практике используется 7 препаратов ИФН-β: Ребиф, Авонекс, СинноВекс и Генфаксон – представители ИФН-β1а; Бетаферон, Ронбетал – представители ИФН-β1b. Седьмой препарат ИФН-β – Фрон – природный ИФН-β, имеющий в своем составе ИФН-β1а и ИФН-β1b.

Относительно новый по сравнению с Ребифом® препарат Генфаксон® (рекомбинантный человеческий ИФН-β1а) представляет собой природную аминокислотную последовательность ИФН-β человека, полученную методами генной инженерии с использованием культуры клеток яичника китайского хомячка.

Обладая противовоспалительным эффектом, препараты ИФН-β снижают выраженность аутоиммунных процессов, остроту, частоту и тяжесть обострений и в целом замедляют темпы прогрессирования РС, предотвращая развитие инвалидности [1].

Целью исследования было изучение противовирусной активности препаратов ИФН-β1а Генфаксон® и Ребиф® в отношении вирусов гриппа и герпеса человека на экспериментальной модели *in vitro*.

Задачи исследования:

– выявление цитотоксичности препаратов для культуры клеток почки обезьян (Vero), перевиваемой клеточной линии конъюнктивы человека (Chang Conjunctiva, клон 1-5C4), диплоидной культуры фибробластов легких эмбриона человека (ФЛЭЧ);

– изучение противовирусной активности препаратов Генфаксон® и Ребиф® *in vitro* на модели гриппа H3N2 (A/Aichi 1/68) в перmissive (чувствительной) клеточной культуре;

– изучение противовирусной активности препаратов Генфаксон® и Ребиф® *in vitro* в чувствительной клеточной культуре, инфицированной вирусом простого герпеса;

– изучение противовирусной активности препаратов Генфаксон® и Ребиф® *in vitro* в отношении классического тест-вируса энцефаломиокардита мышей (ЕМС) в клеточной культуре ФЛЭЧ 977.

## Материалы и методы

Препараты представлены в виде аптечных упаковок (шприц с препаратом Генфаксон® или Ребиф®) в дозе 12 млн МЕ/0,5 мл (44 мкг/0,5 мл). Использовали Генфаксон® из лаборатории Тюттор С. А. С. И. Ф. И. А., «МР Фарма С.А.», Аргентина) и препарат сравнения Ребиф® («Мерк Сероно С.п.А.», Италия).

В качестве активного вещества Генфаксон и Ребиф содержат ИФН-β1а – рекомбинантный человеческий интерферон, полученный методом генной инженерии с использованием культуры клеток яичника китайского хомячка. Последовательность аминокислот в его молекуле идентична таковой эндогенного человеческого ИФН-β.

Вспомогательные вещества для Генфаксона: маннитол, альбумин человеческий, натрия ацетат, кислота уксусная. Вспомогательные ингредиенты для Ребифа: сывороточный альбумин человека, маннитол, натрия ацетат.

Биологические эффекты ИФН-β1а обусловлены связыванием со специфическими рецепторами на поверх-

ности клеток макроорганизма и запуском сложного каскада межклеточных взаимодействий, приводящих к ИФН-обусловленной экспрессии многочисленных генных продуктов и маркеров, в числе которых главный комплекс гистосовместимости I класса, белок Мх, 2'5'-олигоаденилатсинтаза, β2-микроглобулин и неоптелин. После внутримышечного введения 1 дозы концентрации указанных соединений в сыворотке крови остаются повышенной в течение 4 дней (до 1 нед).

Для внесения в культуру клеток препараты непосредственно перед этим разводили в культуральной среде без сыворотки. Препарат вносили в культуру клеток по трем схемам: за 2 ч до (профилактическая схема), одновременно и через 2 ч после инфицирования вирусом (лечебная схема) в концентрациях от 4,4 до 0,23 мкг/0,5 мл. Дозы препаратов определены по тесту на цитотоксичность.

**Клетки.** В исследование были включены перевиваемая культура Chang Conjunctiva, клон 1-5C4, перевиваемая культура клеток почки обезьян (Vero), полученные из коллекции культур тканей Института вирусологии им. Д.И. Ивановского, и 3 диплоидная культура ФЛЭЧ 977, полученная из Медико-генетического центра. Линии клеток культивировали в 96-луночных планшетах Costar в среде Игла MEM с добавлением 10% фетальной сыворотки телят, 10 мМ глутамин и антибиотиков.

**Вирусы.** Использованы вирус гриппа А (H3N2), адаптированный к размножению на клеточной линии Chang Conjunctiva; вирус простого герпеса (Herpes simplex virus) 1-го типа, штамм L<sub>2</sub>, размноженный на клетках Vero; вирус ЕМС – тест-вирус на препараты ИФН, полученные из Государственной коллекции вирусов НИИ вирусологии.

Инфекционную активность вирусов определяли микроскопически по цитопатическому действию (ЦПД) вируса и рассчитывали по методу Рида и Менча при инфицировании монослоя клеточных культур 10-кратными разведениями вирусной суспензии [2]. При определении инфекционной активности вируса гриппа применяли реакцию геммагглютинации (РГА), активности вируса герпеса – полимеразную цепную реакцию (ПЦР).

Заражение монослоя культур клеток вирусом гриппа в дозе 100 ТЦИД<sub>50</sub> проводили по стандартной методике [3]. Вирус был инокулирован на 3-дневный монослой культуры клеток в среде, содержащей 5 мкг/мл трипсина. Исследование выполняли двукратно в трехкратном повторе общепринятым методом [4]. Монослой клеточной культуры Vero инфицировали Herpes simplex virus в дозе 100 ТЦИД<sub>50</sub>. Инфицированные культуры клеток наблюдали в течение 48 ч при инкубировании при 37°C атмосфере 5% CO<sub>2</sub> и 98% влажности.

**Определение цитотоксического действия препаратов.** Токсичность препаратов изучали при внесении разных их концентраций (от 44 до 0,23 мкг/0,5 мл) на монослой культур клеток, предварительно выращенных в 96-луночных планшетах. Количество жизнеспособных клеток определяли по ЦПД клеток в инвертированном микроскопе либо по оптической плотности (ОП) супернатантов методом иммуоферментного анализа с нейтральным красным [2, 4]. Монослой культуры клеток Chang Conjunctiva/Vero культивировали в присутствии лекарственных препаратов, добавленных в соответствующих концентрациях, в течение 72 ч при 37°C, 5% CO<sub>2</sub>. Концентрацию препарата, ингибирующую значение ОП на 50% по сравнению с клеточным контролем, принимали за 50% цитотоксическую дозу (ЦТД<sub>50</sub>).

**Определение противовирусной активности препаратов Генфаксон® и Ребиф® *in vitro*.** Противовирусное действие препаратов изучали на перmissive линиях клеток для гриппа и герпеса. Система оценки противовирусного действия веществ в культуре клеток включала количественную оценку подавления развития ре-

Таблица 1

Жизнеспособность клеток (в %) при ингибции репродукции вируса гриппа А/Аichi 1/68 Генфаксоном® и Ребифом®

Доза препарата, мкг/0,5 мл	Схема внесения препаратов относительно инфицирования клеток					
	за 2 ч		одномоментно		через 2 ч	
	Ребиф®	Генфаксон®	Ребиф®	Генфаксон®	Ребиф®	Генфаксон®
4,4	40±5,6	0**	100	100	98±9,3	100
2,2	30±10,3	0**	100	100	86±6,9	97±5,3
1,1	24±8,1	0**	100	100	72±5,7	61±6,6**
0,55	0	0	100	72±5,6**	68±9,7	43±4,5*
0,46	0	0	89±7,7	43±7,9**	42±3,4	0*
0,23	0	0	0	0	0	0

Примечание. Здесь и в табл. 2: контроль вируса – 0% жизнеспособных клеток; контроль клеток – 100% жизнеспособных клеток (сохранение монослоя клеток на 90% и более); \* –  $p < 0,01$ ; \*\* –  $p < 0,001$ .

продукции вирусов гриппа в культуре клеток в РГА [4]. Вирусную активность и противовирусный эффект после воздействия препаратов оценивали в ПЦР с тест-системами АмплиСенс (Россия) по инструкции производителя.

Противовирусную эффективность препаратов также определяли по ЦПД в инвертированном микроскопе.

Математическую обработку результатов исследований проводили с использованием статистических программ Biostat, позволяющих объективно оценить количественные результаты [5].

### Результаты цитотоксичности препаратов *in vitro*

Изучение цитотоксического действия препаратов Генфаксон® и Ребиф®. Цитотоксичность препаратов оценивали по жизнеспособности трех культур клеток (рис. 1, а–в). Показано, что, начиная с концентрации 4,4 мкг/0,5 мл оба препарата не оказывали ЦТД на используемые клетки. Через 72 ч инкубации (см. рис. 1, в), начиная с концентрации 5,5 мкг/0,5 мл, препараты также не оказывали ЦТД на используемые клетки.

В целом концентрация 4,4 мкг/0,5 мл была определена как максимально переносимая доза препаратов для клеточных линий, на которых в дальнейшем исследовали противовирусное действие препаратов в отношении вирусов человека.

### Противовирусная эффективность препаратов

Оценка противовирусной активности препаратов Генфаксон® и Ребиф® проведена в соответствии с ранее приведенными нами рекомендациями [4].

Влияние Генфаксона® и Ребифа® на репродукцию вируса гриппа. Показано, что защита клеток Chang Conjunctiva, клон 1-5C4 от ЦПД вируса гриппа зависит от концентрации и схем введения Генфаксона® и Ребифа®.

Препараты вводили в концентрациях от 4,4 мкг/0,5 мл до и после внесения вируса в дозе 100 ТЦИД<sub>50</sub>. Полученные результаты представлены в табл. 1.

При использовании профилактической схемы (внесение препаратов за 2 ч до инфицирования) Генфаксон® в указанных концентрациях не защищал клетки от цитодеструктивного действия вируса гриппа, и через 48 ч инкубирования при 37°C наблюдалась 100% гибель клеток, как и в инфицированном контроле. Можно отметить очень слабовыраженное профилактическое действие препарата сравнения Ребиф® при концентрациях от 4,4 до 1,1 мкг/0,5 мл (от 40 до 24% соответственно;  $p < 0,001$ ).

При одновременном внесении вируса и препаратов Ген-

факсон® и Ребиф® в культуру клеток Chang Conjunctiva 100% защитный эффект клеток от цитодеструктивного действия вируса гриппа был выявлен при концентрациях Генфаксона® от 4,4 до 1,1 мкг/0,5 мл. При концентрациях 0,55 и 0,46 мкг/0,5 мл эффективность препарата снижалась до 72 и 43% соответственно. При дозе 0,23 мкг/0,5 мл препарат не защищал от вируса. Для препарата сравнения Ребиф® в аналогичном эксперименте – 100% инфицированных клеток, их жизнеспособность на уровне неинфицированного контроля отмечена при концентрации от 4,4 до 0,55 мкг/0,5 мл. В дозе 0,46 мкг/0,5 мл 89% клеток не из-

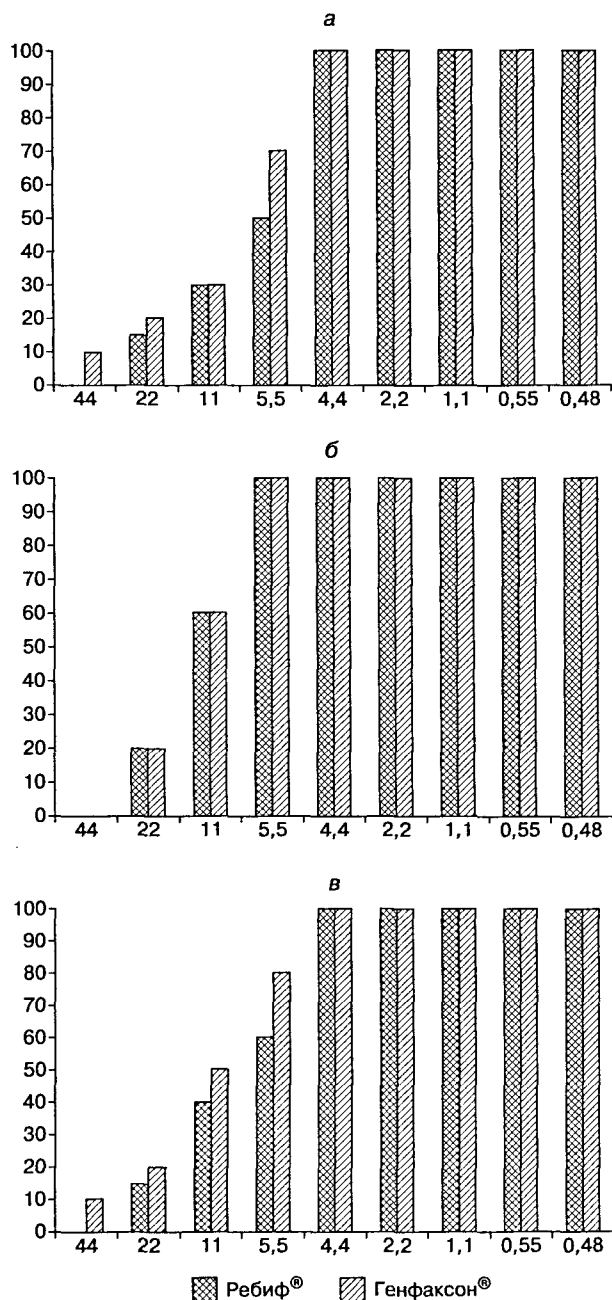


Рис. 1. Определение ЦТД препаратов Генфаксон® и Ребиф® на линиях клеток Chang Conjunctiva, клон 1-5C4 (а), Vero (б) и ФЛЭЧ (в).

По оси абсцисс – концентрация препаратов в мкг/0,5 мл; по оси ординат – процент жизнеспособных клеток; контроль клеток – 100% жизнеспособных клеток; сплошные столбики – Генфаксон®, заштрихованные столбики – Ребиф®.

Таблица 2

## Жизнеспособность клеток (в %) при ингибции репродукции вируса герпеса Генфаксоном® и Ребифом®

Доза препарата, мкг/0,5 мл	Схема внесения препаратов относительно инфицирования клеток					
	за 24 ч		одномоментно		через 24 ч	
	Ребиф®	Генфаксон®	Ребиф®	Генфаксон®	Ребиф®	Генфаксон®
4,4	0	100**	50±4,5	83±8,7*	72±3,8	100**
2,2	0	49±7,9**	43±5,3	75±6,5*	45±6,3	100*
1,1	0	34±4,5**	35±4,8	48±9,1	38±4,9	64±6,7*
0,55	0	0	20±7,2	33±4,8	22±3,9	45±8,1*
0,46	0	0	0	0	0	0
0,23	0	0	0	0	0	0

меняли морфологию. Наблюдаемые различия между препаратами были статистически достоверны при дозах 0,55 и 0,46 мкг/0,5 мл;  $p < 0,001$ .

При лечебной схеме, когда внесение Генфаксона® и Ребифа® в культуру клеток Chang Conjunctiva осуществлялось через 2 ч после инфицирования монослоя вирусом, практически 100% защитный эффект клеток от цитодеструктивного действия вируса гриппа выявлен при концентрациях препаратов от 4,4 до 2,2 мкг/0,5 мл. Начиная с концентрации 1,1 до 0,55 мкг/0,5 мл эффективность препарата снижалась до 61% ( $p < 0,001$ ) и 43% ( $p < 0,01$ ) соответственно. С дозы 0,46 мкг/0,5 мл Генфаксон® не защищал клетки от ЦПД вируса гриппа ( $p < 0,01$ ).

Различия между препаратами были статистически достоверны при дозах 1,1–0,55–0,46 мкг/0,5 мл;  $p < 0,01$ .

Таким образом, при использовании терапевтической схемы максимальное защитное действие Генфаксона® на клетки наблюдалось при концентрациях от 4,4 до 2,2 мкг/0,5 мл. Близкие данные получены с препаратом Ребиф®.

**Влияние Генфаксона® и Ребифа® на репродукцию вируса простого герпеса.** Препараты применяли в концентрациях от 4,4 до 0,23 мкг/0,5 мл согласно схемам за 24 ч до внесения одновременно с внесением и через 24 ч после внесения Herpes simplex virus в дозе 100 ТЦИД<sub>50</sub>. Активность препаратов изучали на модели, чувствительной к вирусу герпеса тканевой культуре, – клетках Vero. Результаты опытов представлены в табл. 2.

При использовании профилактической схемы (введение препаратов за 24 ч до инфицирования монослоя культуры клеток) получены следующие результаты. Жизнеспособность инфицированных клеток оставалась на уровне неинфицированного контроля при применении максимальной дозы Генфаксона® 4,4 мкг/0,5 мл, что указывает на сильный противогерпетический эффект препарата в данной концентрации. При разведении препарата до 2,2 и 1,1 мкг/0,5 мл отмечено снижение защиты клеток до 49 и 34% соответственно. Начиная с концентрации 0,55 мкг/0,5 мл и ниже не отмечено защитного эффекта препарата от цитодеструктивного действия на клетки вируса герпеса, и через 48 ч инкубирования при 37°C наблюдалась 100% гибель клеток, как и в инфицированном контроле. Препарат сравнения Ребиф® не оказывал профилактического действия при использованных концентрациях ( $p < 0,001$ ).

Защитный эффект Генфаксона® изучали при одновременном введении в культуру клеток вируса и препарата. При множественности инфицирующей дозы вируса (100 ТЦИД<sub>50</sub>) в культуре клеток Vero препарат защищал клетки на 83 и 75% от ЦПД вируса герпеса при концентрациях 4,4 и 2,2 мкг/0,5 мл соответственно. Наблюдаемые различия между препаратами при указанных концентрациях были статистически достоверны;  $p < 0,01$ . При снижении концентрации до 1,1 мкг/0,5 мл эффективность препарата снижалась до 48%, при дозе 0,55 мкг/0,5 мл отмечен слабовыраженный 33% защитный эффект. Различия между препаратами при указанных концентрациях были статистически недостоверны. Начиная с концентрации 0,46 мкг/0,5 мл и ниже не отмечено защитного эффекта препарата от цитодеструктивного действия на клетки вируса герпеса, и через 48 ч инкубирования наблюдалась 100% гибель клеток, как и в инфицированном контроле. Препарат сравнения Ребиф® в указанных концентрациях также давал защитный эффект, который оказался несколько слабее, чем у Генфаксона®, – защита клеток лишь на 50–20% от ЦПД вируса.

При стандартной инфицирующей дозе вируса и терапевтической схеме применения Генфаксона® выражен

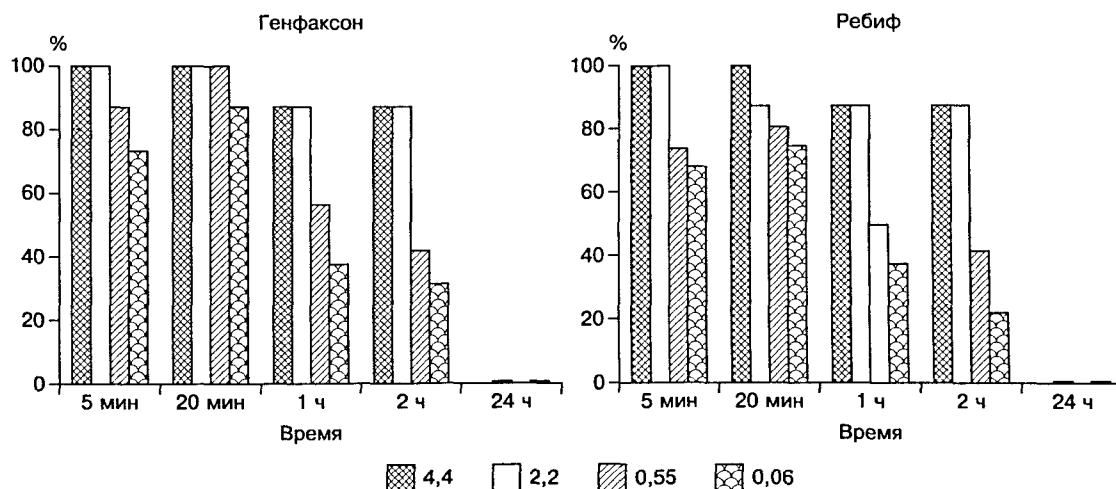


Рис. 2. Защитный терапевтический эффект препаратов Генфаксон® и Ребиф® в отношении вируса EMC.

По оси абсцисс – длительность воздействия EMC на монослой клеток ФЛЭЧ; по оси ординат – процент жизнеспособных клеток; контроль клеток – 100% жизнеспособных клеток; контроль вируса – 0% жизнеспособности клеток; разными штрихами и цветами обозначены концентрации препаратов (в мкг/мл).

ная защита клеток наблюдалась при концентрациях 4,4 и 2,2 мкг/0,5 мл. При внесении препарата в концентрациях 1,1 и 0,55 мкг/0,5 мл Генфаксон® обеспечивает защиту 64 и 45% клеток от ЦПД вируса соответственно. Аналогичное действие проявил и препарат сравнения Ребиф®, однако следует отметить его менее выраженный противогерпетический терапевтический потенциал по сравнению с Генфаксоном®. Различия между препаратами при указанных концентрациях были статистически достоверны;  $p < 0,001$  и  $p < 0,01$ .

В целом исследуемый препарат защищал клетки от цитодеструктивного действия вируса простого герпеса в диапазоне концентраций от 4,4 до 1,1 мкг/0,5 мл.

*Зависимость противовирусной активности препаратов Генфаксон® и Ребиф® от времени контакта клеток с вирусом.* Генфаксон® и препарат сравнения Ребиф® титровали на монослой клеточной культуры ФЛЭЧ 977. Были проверены 3 серии препарата Генфаксон® и 1 серия препарата Ребиф®. По результатам эксперимента серии Генфаксона® между собой значимо не различались.

При лечебной схеме применения препарата в отношении вируса ЕМС использовали монослой клеток ФЛЭЧ. Длительность контакта клеток с вирусом составляла 5 и 20 мин, 1, 2 и 24 ч. Далее клетки обрабатывали в течение 24 ч препаратами в разных концентрациях от 4,4 до 0,06 мкг/0,5 мл.

Полученные результаты указывают на прямую зависимость эффективности препаратов от длительности контакта клеток с вирусом (рис. 2). Так, 5–20-минутный контакт вируса с клетками не успевает запустить полноценный разрушительный вирусный каскад, и 24-часовое воздействие препарата приводит к выраженному защитному эффекту препаратов во всех представленных концентрациях. Более продолжительное инфицирование вирусом (1–2 ч) снижает эффективность препаратов начиная с концентрации 0,55 мкг/0,5 мл. Еще более длительный (24-часовой) контакт вируса с монослоем приводит к полной деструкции клеток, и результаты сравнимы с вирусным контролем.

При профилактической схеме в течение 24-часового контакта Генфаксона® и Ребифа® с монослоем клеток ФЛЭЧ и последующего 24-часового инфицирования клеток классическим тест-вирусом ЕМС выявлен максимальный защитный потенциал (100%) сравниваемых препаратов при всех исследованных концентрациях вплоть до их нанозначений.

### Обсуждение

Исследования последних лет показали, что ИФН типа I у позвоночных способны замедлить репликацию и распространение большинства вирусов в ранних стадиях инфекции [6]. В свою очередь вирусы гриппа и герпеса активно и изобретательно развивают “стратегии выживания” для подрыва этой врожденной защиты, чтобы обеспечить свое эффективное воспроизводство и вызвать тем самым заболевание [7].

При острых респираторных вирусных заболеваниях и хронических персистирующих герпетических инфекциях с постоянными рецидивами выявлен дефицит продукции ИФН лейкоцитами периферической крови, что требует скоординированного терапевтического подхода с включением в комплексное лечение иммуноактивных препаратов, таких как препараты ИФН, модуляторы/индукторы ИФН [8–13].

В настоящей работе впервые показано, что препараты ИФН-β1а Генфаксон® и Ребиф® дают противовирусный эффект в отношении вирусов гриппа и герпеса. Генфаксон® оказывает выраженное противовирусное действие в эксперименте *in vitro* на вирус герпеса при профилактической и терапевтической схемах применения.

### ЛИТЕРАТУРА (п.п. 3, 5, 6 см. REFERENCES)

1. Бойко А.Н., Рябухина О.В., Давыдовская М.В., Гусев Е.И. Патогенетическое лечение рассеянного склероза. В кн. Гусев Е.И., Завалишин И.А., Бойко А.Н., ред. *Рассеянный склероз*. М.: Реал Тайм; 2011: 371–428.
2. Мейхи Б., ред. *Вирусология. Методы*. М.: Мир; 1988.
3. Ершов Ф.И., Тазулахова Э.Б., Наровлянский А.Н., Миронов А.Н., Меркулов В.А., Ленева И.А. и др. Методические рекомендации по доклиническому изучению специфической противовирусной активности лекарственных средств. В кн.: Миронов А.Н., ред. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*. Часть первая. М.: Гриф и К; 2012: 527–51.
4. Оспельникова Т.П. Роль интерферона при гриппе и генитальном герпесе. *Вопросы вирусологии*. 2013; 5: 4–10.
5. Ершов Ф.И., Оспельникова Т.П. Современный арсенал антигерпетических лекарственных средств. *Инфекции и антимикробная терапия*. 2001; 3 (4): 100–4.
6. Ершов Ф.И., Киселев О.И. *Интерфероны и их индукторы (от молекул до лекарств)*. М.: Гэотар-Медиа; 2005.
7. Машкова С.А. *Терапевтическая эффективность нового индуктора интерферона кагоцела и циклоферона при неосложненном гриппе и остром тонзиллите, протекающем на фоне острых респираторных вирусных инфекций*: Дисс. ... канд. мед. наук. М.; 2004.
8. Оспельникова Т.П. *Системы интерферона и иммунитета при воспалительных гинекологических заболеваниях. Коррекция нарушенных индукторами интерферона*: Дисс. ... канд. мед. наук. М.; 1998.
9. Оспельникова Т.П., Григорян С.С., Ершов Ф.И. Новый подход к отбору иммуноактивных препаратов для лечения. *Медицинская иммунология*. 2001; 3 (2): 332–3.
10. Полонский В.О. *Коррекция системы интерферона и клиническая эффективность препарата кагоцел при гриппе, других ОРВИ и генитальном герпесе*: Дисс. ... канд. мед. наук. М.; 2003.

### REFERENCES

1. Boyko A.N., Ryabukhina O.V., Davydovskaya M.V., Gusev E.I. Pathogenetic treatment of multiple sclerosis. In: Gusev E.I., Zavalishin I.A., Boyko A.N., eds. *Multiple Sclerosis. [Rasseyannyi sclerоз]*. Moscow: Real Taym; 2011: 371–428. (in Russian)
2. Meykhi B., ed. *Virology. Methods. [Virusologiya. Metody]*. Moscow: Mir; 1988. (in Russian)
3. Davies H.W., Appleyard G., Cunningham P., Pereira M.S. The use of continuous cell line for the isolation of influenza virus. *Bull. World Health Organ*. 1978; 56 (6): 991–3.
4. Ershov F.I., Tazulakhova E.B., Narovlyanskiy A.N., Mironov A.N., Merkulov V.A., Leneva I.A. et al. Methodical recommendations on pre-clinical study of specific antiviral activity of medicines. In: Mironov A.N., ed. *User Manual for Conducting Pre-clinical Testing of Medicines. [Rukovodstvo po provedeniyu doclineskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv]*. Part one. Moscow: Grif i K; 2012: 527–51. (in Russian)
5. Glantz S.A. *Primer of Biostatistics*. 4th ed. McGraw-Hill; 1998.
6. Wolff T., Ludwig S. Influenza viruses control the vertebrate type I interferon system: factors, mechanisms, and consequences. *J. Interferon Cytokine Res*. 2009; 29 (9): 549–57.
7. Ospel'nikova T.P. The role of interferon in influenza and genital herpes. *Voprosy virusologii*. 2013; 5: 4–10. (in Russian)
8. Ershov F.I., Ospel'nikova T.P. Modern arsenal antiherpes medicines. *Infektsii i antimikrobnaya terapiya*. 2001; 3 (4): 100–4. (in Russian)
9. Ershov F.I., Kiselev O.I. *Interferons and their Inducers. [Interferony i ikh induktory]*. Moscow: Geotar-Media; 2005. (in Russian)
10. Mashkova S.A. *Therapeutic Effectiveness of the New Interferon Inducer Kagocel and Cycloferon in Uncomplicated Influenza and Acute Tonsillitis, Flowing Against the Background of Acute Respiratory Viral Infections: Diss.* Moscow; 2004. (in Russian)
11. Ospel'nikova T.P. *Interferon and Immunity Systems in Case of Inflammatory Gynecology Diseases. Correction of Interferon Inducers: Diss.* Moscow; 1998. (in Russian)
12. Ospel'nikova T.P., Grigoryan S.S., Ershov F.I. A new approach to the selection of immunoactive drugs for treatment. *Meditsinskaya immunologiya*. 2001; 3 (2): 332–3. (in Russian)
13. Polonskiy V.O. *Correction of the System of Interferon and Clinical Efficiency of Kagocel in Influenza, Other Viral Infections and Genital Herpes: Diss.* Moscow; 2003. (in Russian)

Поступила 13.03.14