B3326

INTERFERONOK ANTIVIRÁLIS HATÁSÁNAK BEFOLYÁSOLÁSA AMINOSAVAKKAL

Ph. D. tézis

Készítette:

Tóth Sándor

József Attila Tudományegyetem
Biotechnológiai Tanszéke

SZEGED

1995.

TARTALOMJEGYZÉK

CÉLKITŰZÉSEK....1.

BEVEZETÉS....3.

Az interferon fogalma és élettani jelentősége....3.

Az interferonok biológiai hatásai....6.

Az interferonok terápiás alkalmazása....11.

Tumoros megbetegedések....11.

Vírusfertőzések....15.

Nem virális fertőző betegségek....16.

Egyéb kórképek....17.

Az interferon – kutatás történetének legfontosabb állomásai....18.

Interferon – kutatások Magyarországon....20.

Távlatok az interferon – kutatásban....22.

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK....26.

Anyagok....26.

Vírusok....26.

Sejtek....26.

Interferonok....28.

Aminosavak....28.

Timidin – analógok....28.

Rádioaktív izotópok....28.

Egyéb vegyszerek....28.

Módszerek....29.

Interferon előállítás....29.

α – *interferonok*....29.

Egér ß interferon....30.

Humán γ interferon....30.

Antivirális értékmérés....30.

Microplate módszer....30.

Hemagglutinációs módszer....32.

Yield módszer....32.

Sejtosztódást gátló hatás vizsgálata....33.

Vizuális (sejtszámlálásos) módszer....33.

Timidin inkorporációs módszer....34.

Természetes citotoxikus (NK) hatás vizsgálata....34.

Szuperoxid – diszmutáz (SOD) aktivitás mérése....35.

Lipidperoxidáz aktivitás mérése....35.

Kromatofókuszálás....36.

EREDMÉNYEK....37.

*HuIFN-ok antivirális hatásának befolyásolása aminosavakkal: az alapjelenség*37.

Humán interferonok és természetes aminosavak kölcsönhatásának screenelése....38.

Ellenőrző vizsgálatok....39.

Az aminosavak hatásának koncentrációfüggése....40.

Aminosavak hatása az α – γ szinergizmusra.....41.

Aminosav-párok hatása a humán interferonok antivirális titerére.....42.

Az interferonok és az aminosavak kölcsönhatásának fázisfüggése.....44.

Az antivirális értékmérés fázisai.....44.

Fázisdiagrammok.....45.

Aminosav - HuIFN-γ kölcsönhatások az első fázisban.....46.

IFN - aminosav kölcsönhatások a harmadik fázisban.....51.

Fáziskombinációs vizsgálatok.....53.

Aminosavak befolyása a késleltetett antivirális hatásra.....54.

Az interferon - aminosav kölcsönhatások gyakorlati alkalmazásai.....56.

HuIFN-α altípusok jellemzése aminosav-IFN kölcsönhatásokkal.....56.

Kis mennyiségű IFN kimutatása aminosavas érzékenyitéssel.....58.

IFN - aminosav kölcsönhatások homológ és heterológ antivirális értékmérő rendszerekben.....60.

Vizsgálatok nem humán homológ rendszerekben.....60.

Vizsgálatok heterológ rendszerekben.....63.

Aminosavak és a humán interferonok nem antivirális hatásai.....65.

Aminosav - interferon kölcsönhatások egyéb vírusok esetében.....67.

Egyszerűbb RNS-vírus modell: a poliovírus.....67.

DNS-vírus modell: a HSV-1.....68.

Timidin-analóg kemoterapeutikumok HSV-1 elleni hatásának fokozása interferonnal és aminosavakkal.....71.

HuIFN-α és timidin-analógok együttes hatása.....71.

HuIFN-γ és timidin-analógok együttes hatása.....72.

Aminosavak és timidin-analógok együttes hatása.....73.

HuIFN-α timidin-analógok és aminosavak kombinációja.....74.
HuIFN-γ, timidin-analógok és aminosavak kombinációja.....75.

MEGBESZÉLÉS.....78.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....100.

SAJÁT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE.....101.

CIKKEK JEGYZÉKE.....101.

ÖSSZEFOGLALÓK JEGYZÉKE.....103.

IRODALOMJEGYZÉK.....111.

CÉLKITŰZÉSEK

Jelen értekezés létrejötte annak az újonnan felismert jelenségnek köszönhető, amely szerint a humán α-interferon antivirális hatása bizonyos aminosavakkal modulálható. Az értekezés célja elsősorban az adott jelenség részletes leíró jellegű ismertetése, érvényességi területének feltérképezése, korlátainak megállapítása. Ennek megfelelően az alábbi kérdésekre szerettem volna választ kapni kísérleti munkám során:

1. Az észlelt jelenség csak a HuIFN-α-ra jellemző, vagy valamennyi humán interferon esetén kiváltható?

2. Azonos módon hatnak-e az egyes aminosavak mindhárom interferon-típusra?

3. Hogyan függ az aminosavak módosító hatása a koncentrációjuktól?

4. Hogyan befolyásolják az egyes aminosavak a HuIFN-α és a HuIFN-γ közötti szinergizmust?

5. Az aminosav - interferon kölcsönhatások azonos, vagy eltérő hatásmechanizmuson alapulnak?

6. Az egyes aminosavak hatása függ-e attól, hogy az antivirális értékmérés mely fázisában adjuk őket a mérőrendszerhez?

7. Aminosav - interferon kölcsönhatások csak humán rendszerben észlelhetők, vagy más fajokra is jellemzők?

8. E kölcsönhatások csak homológ mérőrendszerben jelentkeznek, vagy heterológ rendszerben is?

9. Az aminosavak csak az interferonok antivirális hatását képesek modulálni, vagy egyéb biológiai hatásait is?

10. Az antivirális hatást moduláló aminosav - interferon kölcsönhatások csak a vesiculáris stomatitis vírussal szemben érvényesülnek, vagy egyéb vírusoknál is?

11. Befolyásolják-e az aminosavak az egyéb drogokkal terápiás kombinációban alkalmazott IFN-ok antivirális hatását?

12. Vannak-e a vizsgált jelenségnek közvetlen gyakorlati alkalmazási lehetőségei?

BEVEZETÉS

Az interferon fogalma és élettani jelentősége

Interferon gyűjtőnév alatt a fehérjéknek egy olyan - a gerincesek valamennyi osztályára jellemző (Béládi & Pusztai, DeSena & Rio, Krim 1982a, 1982b, Sanders) - csoportját értjük, amely a gazdaszervezet sejtjeiben *idegen* behatásra (vírus, baktérium, kettősszálú RNS, antigén, mitogén, stb.) keletkezik, és antivirális aktivitással rendelkezik. Az interferonokat a jelenleg elfogadott nomenklatúra szerint (Stewart et al. 1980) három csoportra osztjuk:

- alfa (α) interferon: Különböző típusú fehérvérsejtekben (Roberts, N. J. Jr. et al., Saksela et al., Kikuta et al.) vírusok vagy kettős szálú RNS hatására termelődő, 18-26 kD közötti molekulasúlyú (Goren et al.) proteincsalád. A humán α-interferonnak jelenleg 23 altípusa ismert (Bartholomew & Windass, Henco et al.), génjeik a 9-es kromoszómán, egy kapcsolási csoportban helyezkednek el (Owerbach et al., Trent et al., Ullrich et al.).
- béta (ß) interferon: Kb. 20 kD molekulasúlyú glikoprotein, a molekulasúly a gikoziláció mértékétől függően némileg változhat (Rubinstein 1982). Fibroblasztokban termelődik vírusok, vagy kettős szálú RNS hatására (Stanton et al.). Jelenleg két altípusát ismerjük (Seghal & Sagar, Billiau, Weissenbach et al.), mindkettőnek a génje a 9. kromoszómán található (Owerbach et al., Trent et al.).
- gamma (γ) interferon: Antigének, mitogének, endotoxinok és kis molekulájú inducerek hatására(Rubinstein 1982) a T-limfocitákban (Stanton et al.) termelődő, 20-25 kD közötti molekulasúlyú glikoprotein (Rubinstein 1987). Egyetlen altípusát ismerjük (Balkwill), amelynek génje a 12. kromoszómán helyezkedik el (Carrington). Bár a szakirodalomban többen leírják a γ-interferon preparátumok heterogenitását (Friedlander et al., Yip et al.), ezek az észlelések valószínűleg a

molekula poszttranszkripciós módosulásainak, és a glikoziláltság eltérő mértékének tudhatók be (Rinderknecht et al., Rubinstein 1987).

Egyre több jel mutat arra, hogy létezik egy negyedik típusú interferon is, melyet a kutatók feltételesen omega (ω) inteferonnak neveznek (Kruzel et al., Pieler & Hauptmann). Ez a molekula antigén-szerkezetében az α-interferonokkal rokon (Borecky et al. 1989), fizikokémiai jellemzöi a γ-interferonra hasonlítanak (Mécs et al. 1989a, 1989b, Tóth S. et al. 1988a), biológiai hatásaiban pedig mindkettőtől eltér (Mécs et al. 1988, Tóth S. et al. 1988b). Az ω-interferon fehérvérsejtekben termelődik (Klieman et al., Huygen et al., Scheglovitova et al.), megtalálható természetes α-interferon készítményekben (Chadha, Kruzel et al., Filipic et al. 1986a, 1986b, Tóth S. & Mécs 1986), valamint egyes vírusfertőzésekben (Chadha, Huygen et al., Lebon et al., Sherertz), és autoimmun betegségekben (Borecky et al. 1986, Klieman et al., Waschke & Diezel) szenvedő páciensek szérumában. Bocci (1988b) szerint ez a molekula megegyezik a természetes körülmények között "in vivo" keletkező interferonnal.

Végül Pretnar és munkatársai beszámolnak elektroindukció hatására keletkező, antivirális hatású, de sem az eddig ismert interferonokkal, sem egyéb antivirális aktivitású molekulákkal (interleukinok, tumor nekrózis faktor) antigén rokonságot nem mutató anyag létezéséről. Nem kizárt, hogy itt egy ötödik interferon-típusról van szó.

Bár az interferonokat antivirális hatásuk alapján fedezték fel, és ezzel a sajátsággal minden interferonnak definíciószerűen rendelkeznie kell, ezen kívül is igen széles körű biológiai aktivitás jellemzi őket (részletes ismertetésük a következő pontban). Ezek közül a legfontosabb, s egyben valószínűleg az interferonok elsődleges funkciója az immunrendszer modulációjában betöltött szerepük

(összefoglalóul: Maudsley et al., Vilcek & De Maeyer, Virelizer). Ilyen minőségükben az interferonok egy magasabbrendű immunregulációs hálózatnak, a limfokin rendszernek a tagjai (Dinarello & Mier, Szeri), amely viszont - a monokinekkel, a tumor nekrózis faktorokkal és a növekedési faktorokkal együtt - a citokin hálózatot alkotja (Balkvill, Balkvill & Burke, Kawade, Tovey).

Az interferonok azon sajátosságai (Kawade), hogy nem a termelő sejtekben hatnak, közvetlenül a sejtközötti térbe, majd (vagy) a véráramba kerülnek, a célsejteken specifikus receptorokhoz kötődnek, a célsejtek működésére szabályozó hatást fejtenek ki, minden tekintetben megfelelnek a hormonokkal szemben támasztott kritériumoknak (Inglot, Borecky). Ez az analógia, valamint az immunrendszer és az endokrin rendszer közötti szoros kölcsönhatások (összefoglalóul: Balázs, Szabó, Szegedi) késztették Kawade-t arra, hogy megalkossa a **homeokin** fogalmat, értve alatta az endokrin rendszernek és az immunrendszernek olyan transzmitter molekuláit, amelyek szabályozó szerepet töltenek be a homeosztázis fenntartásában.

A fentiek alapján tehát úgy fogalmazhatjuk meg az interferonok élettani jelentőségét, hogy **az interferonok a homeosztázis fenntartásában részt vevő immunregulátor molekulák**. Emellett azonban az interferonok antivirális és antiproliferatív képességgel is rendelkeznek (amelyek belefférnek a homeokin kategóriába, de nem limfokinként). E sajátságok csak részben érvényesülnek áttételesen, immunstimuláció révén, részben direkt mechanizmusokon keresztül nyilvánulnak meg. Mivel az interferonok terápiás alkalmazását főként ez utóbbi két tulajdonságnak köszönhetjük, a terapeuták gyakran figyelmen kívül hagyják az interferonok elsődleges élettani szerepét, és olyan terápiás dózisokat alkalmaznak, amelyek már immunblokkoló hatásúak (E kérdésre kísérleti eredményeim fényében a "Megbeszélés" fejezetben vissza fogok térni.)

Az interferonok biológiai hatásai

Regulátor szerepükből adódóan az interferonok a célsejtekre hatva igen sokrétű, több lépcsős, kaszkádszerűen szélesedő biokémiai folyamatsorokat indítanak el. E folyamatok egyes elemei negatív feedback révén gondoskodnak a beindult reakciók terminálásáról, illetve az interferon-hatáskaszkád által bekapcsolt gének újbóli represszió járól. Az interferon hatások komplexitását sokszorosára növeli, hogy e hatások minősége és mértéke erősen függ olyan moduláló tényezőktől, mint a célsejtek minősége (pl. a HuIFN-α egyes sejtvonalak differenciálódását indukálja, másokét gátolja - ld. Grossberg & Taylor, Moritz & Kirchner), az interferon típusa, mennyisége (az IFN-ok legtöbb biológiai hatásukra nézve bifázisosak: bizonyos koncentráció-optimumon túl az effektus csökken, sőt ellenkezőjére fordul), az interferon-expozíció időpontja a celluláris eseményekhez (sejtciklus, vírusfertőzés stádiuma) képest, a behatás időtartama, stb. Végül az IFN-ok hatásai több szinten nyilvánulnak meg, így célszerű elkülönítve említeni a sejtszintű, a szerv(rendszer)-szintű és az organizmus szintjén jelentkező IFN hatásokat. Az interferonok biológiai hatásainak részletes ismertetése, sőt ezeknek csak teljes körű felsorolása is meghaladja e bevezetés kereteit. Igy csak a főbb hatáscsoportokra és azon belül a legjellemzőbb elemekre fogok szorítkozni (általános áttekintésül itt és a továbbiakban: Balkwill, Maudsley et al, Niederle & von Wussow, Stewart, Vilcek & de Mayer).

Valamennyi IFN valamennyi hatásának közös kiinduló eleme, hogy az IFN molekulának ki kell jutnia a termelő sejtből, és a sejtmembrán külső felszínén lévő specifikus receptorhoz kell kapcsolódnia. Ennek a lépésnek akkor is végbe kell mennie, ha adott specifikus hatás eléréséhez ezután az IFN molekulának újbóli internalizálódására van szükség. A receptor-komplex intracelluláris régiója tartalmaz

egy proteinkinázt - az IFN-α/β receptorok esetében ez a TyK-2, míg az IFN-γ receptornál a JAK-2 -, ami az IFN-kötődéskor foszforilálja a receptor-komplex egy másik elemét, az ISGF-3-t (amely mindkét receptorkomplex közös alkotórésze). Az aktivált ISFG-3-p leválik a komplexről és a sejtmagban a genom megfelelő szakaszaihoz kapcsolódva beindítja bizonyos gének, az ún. IRE (interferon-reaktív elemek) transzkripcióját. Ez a mechanizmus felelős az IFN-ok által indukált *de novo* fehérjeszintézisért (Abbas et al.). Az IRE-fehérjék között találhatók antivirális hatású molekulák, proliferációt befolyásoló komponensek és az immunrendszerhez tartozó elemek.

Az antivirális elemek közül a legismertebbek:

- az Mx (egérnél) vagy Mx-like (embernél) protein, amely az influenzavírus primer transzkripcióját gátolja;
- a dsRNS-függő proteinkináz (a transzlációt gátolja az eIF-2α riboszómális iniciációs faktor foszforilálás útján történő inaktiválásával);
- és a 2´-5´-A-szintetáz, amely dsRNS jelenlétében aktiválódva egy 2´-5´ kötésben lévő oligoadenilát láncot szintetizál. A 2´-5´-A egy 80 kD molekulatömegű endoRN-ázhoz kapcsolódva azt aktiválja, és az enzim hasítja az ssRNS molekulákat az UA, UG és UU szekvenciák mentén.

E két utóbbi mechanizmus nem szelektív a virális RNS-re és fehérjeszintézisre, így feltehetően a sejtosztódás gátlásában is szerepük lehet.

Érdemes még megemlíteni, hogy 1994-ben egy francia kutatócsoport izolált egy 50 kD-os fehérjét, amely az IRE harmadik generációjához tartozik - azaz az IFN-válasz génaktivációs kaszkádjának harmadik lépcsőjében keletkezik -, és eddig minden megvizsgált vírus esetében teljes szaporodási blokkot okozott. A 12 kipróbált

vírustörzs az ismert állati víruscsoportok teljes spektrumát (dsDNS, ssDNS, ssRNS, dsRNS) átfogja (la Bonnardiére, személyes közlés, 1994).

Jóval kevésbé ismert az antiproliferatív hatások biokémiai háttere. Tudjuk, hogy elsősorban represszor-fehérjék keletkeznek, amelyek gátolják bizonyos proto-onkogének (pl. c-myc, c-fos,) expresszióját, továbbá fékezik a sejtciklust és G_0/G_1 fázisban tartják a sejteket. Egy másik proto-onkogén, a c-ras esetében igazolták (Samid), hogy az IFN-ok fokozzák a citozin metilációját az 5-ös szénatomon a gén regulátor régiójában, amelynek a transzkripciója így csökken.

Az is ismert, hogy az IFN-ok (elsősorban az IFN-γ) gátolják az ún. növekedési faktorok sejtproliferációt elősegítő hatásait, pl. a PDGF (trombocita-eredetű növekedési faktor) által aktivált ornitin-dekarboxiláz és poli-ADP-ribóz szintetáz működését (Einat et al.).

Az IFN-ok nem befolyásolják közvetlenül a de novo DNS-szintézist, de -ismeretlen módon- gátolják az újonnan keletkezett Okazaki-fragmensek összekapcsolódását (Clemens & McNurlan, Jacobsen).

IFN-kezelésre fokozódik a célsejtek aktin- és fibronektin termelése, és megerősödik a citoplazmamembrán és a citoszkeleton kapcsolata. Ennek következményeként megnő a membrán rigiditása, ami részben az intramembrán proteinek mozgását gátolja, részben akadályozza a sejtosztódáshoz elengedhetetlen sejttömeg-növekedést (Taylor-Papadimitriou). Az ilyen irányú membránváltozások felelősek lehetnek olyan antivirális hatásokért is, mint a vírus penetrációjának, a szincícium-képzésnek, vagy a vírus kiszabadulásnak (budding) a gátlása.

A sejtmembránok fluiditását egy másik mechanizmuson keresztül is csökkentik az IFN-ok: gátolják a delta-9-deszaturáz enzim aktivitását, amely a telített sztearinsavat

(C : = arány 18 : 0, o.p.: 69°C) mono-deszaturált oleinsavvá (18 : 1, 13.9°C) alakítja (Apostolov). A magasabb o.p. megnövekedett membrán-rigiditást eredményez.

Az IFN-ok elősegítik bizonyos differenciálatlan sejteknek -elsősorban a hematopoézis sejtjeinek- a differenciálódását, ennek mechanizmusáról azonban szinte semmit nem tudunk. Tovább bonyolítja a helyzetet az a tény, hogy ezzel szemben egyes sejtvonalak differenciálódását képesek gátolni is (Grossberg & Taylor).

A legösszetettebb hatást az IFN-ok az immunrendszerre fejtik ki. Mint a citokin-hálózat elemei, más citokinek termelését indukálni képesek, és maguk is indukálhatók egyéb citokinek által. E hálózat működését még csak egyes részleteiben, igen hiányosan ismerjük. Az immunsejtek közötti "kémiai kommunikáció" mellett azonban közvetlen IFN hatások is ismeretesek.

A humorális immunválaszt tekintve az IFN bifázisos hatást fejt ki az IgG és az IgM produkcióra. Alacsony dózisok (100-1500 NE/ml) serkentik az ellenanyag-termelést, míg magasabb dózisokkal gátolni, vagy teljesen blokkolni lehet az ellenanyag-választ (Stewart). Ugyanakkor alacsony dózisok is gátolják a T-sejtek által stimulált poliklonális IgE-produkciót (Coffman & Carty).

Az IFN-ok dózisfüggően fokozzák vagy gátolják a természetes és az antitest-függő celluláris citotoxicitást -valószínűleg a reaktív oxigén-gyökök szintézisének szabályozása útján- (Benczúr, Herberman, Heron et al.), valamint az antigén- és mitogéningerre bekövetkező blasztos transzformációt (Beller, Benczúr, Soos & Johnson, Uher).

Az α és β interferonok fokozzák az MHC-I antigének expresszióját a sejtfelszínen, míg a γ IFN mind az MHC-I mind az MHC-II expressziót stimulálja. IFN-γ hiányában

nem történik meg az antigénprezentáció és felismerés sem (Germain, Maudsley et al.).

Fokozzák az interferonok az adhéziós molekulák (ICAM-1, Integrin-α2, Integrin-β1) expresszióját is mind az immunsejtek, mind a vaszkuláris endotél sejtek felszínén (Capobianchi et al., Dolei et al., Takeuchi et al.), ami egyrészt, elősegíti a limfoid sejtek és makrofágok kitapadását, másrészt serkenti azok migrációját az extravaszkuláris térbe.

Az IFN-ok gátolják a hematopoetikus sejtek osztódását és indukálják azok differenciálódását (Balkwill).

Végül -csak jelzésszerűen- meg kell említenem néhány fontosabb szisztémás IFN hatást is, amelyeknek terápiás jelentősége van (esetleg mellékhatásként szükséges figyelembe venni). Ilyenek:

- az α, β és γ IFN-ok gyulladásgátló (Lemmel & Obert, Lemmel et al., Mécs et al. 1984b, 1985a, 1986) és az ω IFN gyulladásfokozó (Mécs et al. 1989b) hatása;
- az IFN-α opiát-szerű hatása (Adams et al., Bocci 1988a, Dafny & Georgiades, Rohatiner et al., Salazar et al., Scott), amely azon alapul, hogy megnöveli az opiát receptorok expresszióját a neuronok felszínén (Szűcs M., Szűcs V. és Tóth S., nem közölt adatok);
- az IFN-γ kardiotoxicitása (Mannering & Deloria, Scott, Wagstaff et al.1985b)
- az angiogenezis gátlása (Klagsbrun & D´Amore, Sidkey & Borden, Stinson et al.);
- a zsíranyagcsere befolyásolása az arachidonsav-szintézis (az α és β IFN gátolja, a γ IFN fokozza - Boraschi et al.), a máj zsírsavszintézis (Grunfeld et al 1990, 1991, Grunfeld & Feingold) és a zsírsav-szaturáció (Apostolov) szabályozásán keresztül;
- a tápanyaghasznosítás fokozása beteg (Cummins et al.) és egészséges (Szabó D., Mécs I. és Tóth S., nem közölt adatok) borjakban.

A szisztémás hatások közül külön szólni kell egy egészen speciális esetről: egy IFN-ω-hoz hasonló -feltételesen tau interferonnak nevezett- molekula termelődik a trofoblaszt sejtjeiben a terhesség kezdetén amelynek a terhesség immunológiai felismerésében és a kialakuló immuntolerancia kiváltásában tulajdonítanak szerepet (Roberts, R. M. et al., Paulesu et al.). A terhesség későbbi szakaszaiban a placentában IFN-β képződése indul meg, amely viszont az embrionális szövetek differenciálódását szabályozza (Duc-Goiran et al., Jiang et al., Chany-Fournier et al.).

Az interferonok terápiás alkalmazása

Tumoros megbetegedések

Az első terápiás kísérlet után (Falcoff et al.), ami igen szerény részleges eredményt hozott, Cantell és munkatársai humán interferon termelési és tisztítási eredményei (Cantell & Hirvonen 1977, 1978, Cantell et al., Strander & Cantell) lehetővé tették, hogy nagy mennyiségű, emberi terápiára alkalmas tisztaságú interferonnal próbálkozzanak az emberi tumorok gyógyításában. Az első igazi áttörést Strander és munkacsoportja (1973a, 1973b) érte el az osteosarcoma műtét utáni adjuváns kezelésében. Bár ezek az eredmények -megfelelő kontroll hiján- nehezen interpretálhatóak és vitára ingerlőek voltak (Sikora), mégis hatalmas lendületet adtak az emberi tumorok interferonnal történő kezeléséhez.

A hetvenes években továbbra is Strander munkacsoportja járt elől (Ahstrom et al., Blomgren et al., Einhorn & Strander 1978, Mellstedt et al., Strander, Strander et al 1976), de az USA-ban (Dunnick & Galasso, Guttermann et al., Hill et al, Horoszewicz et al., Merigan et al.), Franciaországban (Gresser) és Jugoszláviában (Ikic et al. 1975a, 1975b) is komoly terápiás kísérletek kezdődtek.

Ez a tendencia erősödött a 80-as években (összefoglalóul: Goldstein & Laszlo, Jaffe & Sherwin, Martinelli & Cavalli, Sarosy et al., Schiller et al., Smyth et al., Spiegel), majd egyéb citokinekkel is kisérletekbe kezdtek (Balkwill et al., Bronchud et al., Creasey et al., Feinberg et al., Lotze et al. 1985, 1986, Mazmunder & Rosenberg, Mule et al., Nakata et al., Nishimura et al., Orr et al., Ottow et al., Paciucci et al., Phillips J. H. et al., Rosenberg et al., Sporn & Roberts, Talmadge et al., Theologides, Vadhan-Raj et al.) az egyre bíztatóbb interferon-eredmények nyomán.

Napjainkban a tumorok hatékony interferon-terápiáját eredményesség szempontjából három csoportra oszthatjuk: Az első csoportba tartoznak azok a tumorok, amelyeket interferonnal monoterápiában teljesen, vagy nagy százalékban gyógyíthatók. Ide tartoznak bizonyos hematológiai tumorok, mint a **hajas sejtes leukémia** (Bezwoda et al., Golomb et al., Mandelli et al., Quesada et al. 1984, 1986, 1987 1988a, Schwarzinger et al.), a **non-Hodgkin limfóma** (Bunn & Foon, Bunn et al., Canellos, Chisesi et al., Foon & Bunn, Ihde et al., Simoni et al., Urba & Longo, Wagstaff et al. 1985a, 1986), a **krónikus myeloid leukémia** (Alimena et al. 1988a, 1988b, Fujimiya et al., Kurzrock et al. 1987, Niederle et al. 1986, 1987, Talpaz et al.1986, 1987a), a **krónikus limfoid leukémia** (Cueno et al., Pangalis & Griva, Rozman et al., Talpaz et al. 1987b), a **krónikus granulocitás leukémia** (Bergsagel et al.) egyéb **myeloproliferatív** (Giles et al., Gisslinger et al. 1986, Gugliotta et al., Silver) és **limfoproliferatív** (Shapiro et al.) **kórképek**, továbbá a papovavírusok okozta szolid tumorok, mint a **laringeális papillóma** (Benjamin et al., Einhorn & Strander 1984, Gerein et al., Healy et al., Leventhal et al., Lusk et al.), a **cervix prekancerózus állapotai** (Davidovich et al., de Palo et al.), **verruciform epidermodiszplázia** (Arico et al.) vagy a **condyloma acuminata** (Friedman-Kien et al., Gall et al., Gross et al., Hohenleutner et al., Keay et al., Kirby et al., Petersen

& Kroon, Zachariae et al.). és az ***in situ*** **húgyhólyag-karcinóma** (Ackermann et al., Andriole, Glashan Grups et al., Torti et al.) Külön megjegyzésre érdemes tény, hogy Magyarországon először a természetes humán leukocita (α) interferont a hajas sejtes leukémia gyógyszereként törzskönyvezték 1989-ben.

A második csoportba azok a tumorok sorolhatók, amelyek interferon terápiára egyértelműen reagálnak, de teljes gyógyulást nem, vagy az eseteknek csak kis százalékában érhetünk el. Ide tartozik például a **multiplex myeloma** (Áhre et al., Einhorn & Strander, Giles, Ludwig et al., Penny et al., Quesada et al. 1988a), a **Hodgkin-kór** (Blomgren et al., Clark, R. et al., Leavitt et al., Rapson et al.), az **AIDS-sel kapcsolt Kaposi-szarkóma** (Krown 1989, Lane et al., Penny et al., Volberding & Mitsuyasu, de Wit et al.), a **vese-sejtes karcinóma** (Figlin et al., Krown 1985, Muss et al., Rinehart et al., Rudolf, Umeda & Niijima), a **malignus melanóma** (Creagan et al. 1987a, 1987b, Ernstoff et al., Kirkwood & Ernstoff, Legha et al., Maral et al., Steiner et al., von Wussow et al. 1988a). Ezeknél a tumoroknál gyakori az interferon **kombinációs terápiában** történő alkalmazása **citosztatikumokkal** (Croghan et al., Durie et al., Fosså & De Garis, McLeod et al., Pehamberger et al., Sarosy et al., Talpaz et al. 1986, Wadler et al., Weiner et al.), **és sugárkezeléssel** (Holsti et al., Sunami et al., Torrisi et al.). Teljesen új terápiás terület a biológiai regulátorok kombinált alkalmazása. A legfontosabb ilyen kombinációk a különböző interferon-tipusok együttes használata (Kurzrock et al. 1986, Quesada et al 1988b, Schiller et al.), interferon és interleukin-2 (Baars et al., Huberman et al., Kriegel et al., Margolin et al.), interferon és tumor-nekrózis faktor (Smith et al.) illetve interferon és retinoidok (Bollag, Bollag et al., Rustin et al., Thestrup-Pedersen et al.) kombinációja. A különleges kombinációk közül említést érdemel még az ígéretes, de nem eléggé bizonyított hatású interferon - aszpirin

kombináció (Creagan et al. 1988) illetve a zselatin-interferon konjugátum (Tabata et al.) alkalmazása.

A harmadik csoportban szereplő tumorok esetében a terápiás hatásra vonatkozó adatok ellentmondásosak, mint a **kolorektális tumorok** (Lillis et al., Öberg et al. versus Clark, P. I. et al., Furue, Krown et al., Niederle et al. 1984), az **emlőkarcinóma** (Fentiman et al., Gutterman et al., Jereb et al. 1987 versus Bruntsch et al., Nethersell et al., Sarna & Figlin), az **ovárium karcinóma** (Abdulhay et al., Berek et al., Hsu et al., Goldstein et al., Welander et al. versus d'Acquisto et al., Öberg et al.), a **nem-kis sejtes tüdőadenómák** (Ardizzoni et al., Rosso et al. versus Grunberg et al., Leavitt et al.) és a **csontszarkómák** (Edmonson et al., Strander et al. 1985) esetében. Ezeknél a terápiás sikertelenség oka lehet a helytelenül megválasztott interferon típus, hibás terápiás protokoll, vagy az alkalmazás nem megfelelő módja. Ide soroljuk azokat a tumorokat is, amelyeknél ígéretes, de kisszámú kísérleti adat áll rendelkezésre. Ilyenek például az **asztrocitómák** (Jereb et al. 1986),a **gliómák** (Mahaley et al.1985a, 1985b, Padovan et al.), **masztocitózis** (Kluin-Nelemans et al.), **szemészeti tumorok** (Ljustina et al.), **endokrin pankreász tumorok** (Eriksson et al.), a bőr különböző neopláziái - a **bazálsejtes karcinómák** (Grob et al., Padovan et al., Wickramasinghe et al.), **lapsejt-karcinómák** (Edwards et al.), **keratoakantó-mák, Bowenoid keratózis**, (Padovan et al., Wickramasinghe et al.), **epidermodysplasia verruciformis** (Blanchet-Bardon et al.)

Vírusfertőzések

Az interferont antivirális anyagként fedezték fel, és nem is késett sokáig az első ilyen jellegű humán terápiás próbálkozás. Maga Isaacs és munkatársai alkalmaztak először interferont **himlőoltás szövődményeinek megelőzésére** (Scientific Committee on Interferon 1962). Ez a munkacsoport még Isaacs halála után is folytatta munkáját az interferon terápiás antivirális alkalmazásainak lehetőségét kutatva (Scientific Committee on Interferon 1966, 1970). Különösen nagy lelkesedéssel próbálkoztak légúti fertőzések, **influenza** és **nátha** kezelésének és prevenciójának megoldásával (Scientific Committee on Interferon, 1965, 1970), de e területen mindmáig rendkívül ellentmondásos eredményekről számolnak be a kutatók (Douglas et al., Hayden et al. 1986, Monto et al., Treanor et al. vs. Foy et al., Hayden et al. 1987, Tyrell). A hetvenes évek kutatásai elsősorban az *in vitro* antivirális hatások elemzésében hoztak komoly előrehaladást. Emellett állatkísérletekben próbálkoztak meg olyan vírusfertőzések interferon terápiájával, amelyeket - mint például a **rabiest** - embereken nem lehetett tanulmányozni (Hilfenhaus et al., Majer et al., Weinmann et al., Wiktor et al.). A humán antivirális terápiában a nagy áttörést a **herpeszvírus** család által okozott ferőzések sikeres interferon-kezelése hozta meg (Arvin et al., De la Pena et al., Emödi & Rufli, Emödi et al., Galin et al., Jones et al., Kern & Glasgow, Merigan et al.). Ugyancsak ekkor kezdődtek a **papillómavírus** fertőzések (ld. a tumorterápiáknál), és a **hepatitis B** fertőzések interferon terápiás kísérletei is (Carter et al., Desmyter), amelyek később rendkívül sikeresnek bizonyultak (Alexander et al., Anderson et al., Eddleston & Dixon, Liaw et al., Mancini et al., Mazzella et al., Scully et al.,). Hasonlóan kiváló eredményeket értek el a **hepatitis C** (Eddleston & Dixon), a **delta hepatitis** (Hoofnagle et al., Mancini et al., Thomas et al.) és az **akut fulmináns hepatitis** (Levin et al.) kezelésében is.

Nem virális fertőző betegségek

Mivel számos bakteriális antigén és endotoxin képes interferon termelődést indukálni, nem meglepő, hogy modellkísérletekben vizsgálni kezdték, van-e vajon az interferonnak antibakteriális, esetleg egyéb kórokozókkal szembeni hatása is? Ezek a vizsgálatok sok esetben pozitív eredménnyel végződtek. Kitűnt, hogy az interferon gátolja az **Enterobacteriaceae** családba tartozó fajok **invazivitását** (Bukholm et al., Degré et al., Gober et al., Niesel et al.), akadályozza az intracelluláris paraziták -**Chlamydia, Toxoplasma**- *in vitro* (Byrne et al.) és a **Rickettsiák** *in vivo* szaporodását (Li et al.), valamint a kórokozók *in vivo* szaporodását kisérletes **leishmaniasis**ban (Hockertz et al., Murray), **listerosis**ban (Nakane et al.), **echinococcosis**ban (Pfister et al.), **eperythrozoon** fertőzésben (Suntharasamai & Rytel), **malária**ban (Poindron et al.) **aspergillosis**ban (Khan et al.) és néhány egyéb gombás fertőzésben (Perfect, Phillips P. et al.)

Terápiásan is sikeresen alkalmazták az interferont egyes humán nem virális fertőzésekben, bár itt az esetek többségében a jól kidolgozott, hatékony kezelési sémák miatt a hagyományoshoz képest költségesnek számító interferon terápiának kevés létjogosultsága van. Főként olyan esetekben jöhet szóba, ahol a kórokozó hagyományos antibiotikumokkal és kemoterápeutikumokkal nehezen érhető el (**leishmanniasis** - Badaro et al., Brandely et al., Harms et al.; **rickettsiasis** - Kazar et al. 1971a; **trachoma** - Kazar et al. 1971b), vagy azokra polirezisztens (**lepra** - Kaplan et al., Nathan et al., 1986; **TBC** - Gauci, Maziarz). További fontos szerepe van az interferonnak **immunhiányos és/vagy immunszuppresszált betegek szekunder fertőzéseinek megelőzésében**, különösen, ha magát az alapbetegséget is interferonnal kezelik (Ingimarsson et al., Murphy et al.).

Egyéb kórképek

Jó néhány autoimmun betegségben közvetve, vagy közvetlenül károsodik az interferon termelő rendszer. Ezek a betegek interferon deficiensek lesznek mint a Bechterew-kórban (Boromisza, Tóth S. 1984), rheumatoid arthritisben (Boromisza, Taran et al., Tóth S. 1984), vagy interferon túlprodukálók lesznek, mint inzulin-függő diabetes mellitusban (Tóth S. 1984), esetleg spontán interferon-termelők, mint psoriasisban (Borecky et al.), sclerosis multiplexben (Hertzog et al., Rudick & Ransohoff), vagy szisztémás lupus erythematosusban (Borecky et al.).

Úgy tűnik, ezeknek a betegségeknek egy részében interferon adására a tünetek enyhíthetők, esetleg teljes mértékben megszüntethetők. Legjobb eredményeket eddig a **rheumatoid arthritis** (Cannon et al., Coto et al., Lemmel & Obert, Lemmel et al., Pernice et al., Sosa et al., Veys et al.), a **Beçhet-kór** (Fierlbeck & Rassner, Hamuryudan et al., Stadler et al.) és a tisztázatlan etiológiájú **sclerosis multiplex** (AUSTIMS Research Group, Fierlbeck & Rassner, Ghezzi et al., Hirsch et al., IFNB MS Study Group, Johnson & Panitch, Kahan et al., Milanese et al., O'Malley et al.) gyógyításában értek el. Reményt keltő adatokról számolnak be azonban a **psoriasis** (Fierlbeck & Rassner, Harrison & Peat, Quesada & Gutterman), a **Langerhans-sejtes hystiocitózis** (Boccara et al.), sőt a **skizofrénia** (Cabrera et al.) kezelésében is. Az immunológiai eredetű **idiopátiás trombocitopéniás purpurában** is beszámoltak hatékony interferon-kezelésről (Proctor et al. 1988, 1989, Facon et al.), de eredménytelen próbálkozásokról is (Hudson et al., Matthey et al.).

Az interferon—kutatás történetének legfontosabb állomásai

A vírusinterferencia jelenségét -miszerint egyes vírusokkal történt fertőzés meggátolja, hogy ugyanazt a sejtet további fertőzés érhesse bármely más vírus által- már 1935 óta ismerik a mikrobiológusok (Hoskins), de a jelenségért felelős fehérjetermészetű szolubilis faktort Alick Isaacs írta le és azonosította munkatársaival 1957-ben. Ő adta neki az "interferon" nevet is. Két évvel később Ho és Enders kimutatták az emberi interferon létezését is. A felfedezés után nem sokat váratott magára a terápiás alkalmazás gondolata sem, és 1962-ben beszámolnak az első humán alkalmazásról (Scientific Committee on Interferon 1962). Hamarosan az is kiderült, hogy az interferon nem csak antivirális anyag, hanem egyéb értékes biológiai hatásokkal is rendelkezik. A priming jelenségét (az interferonnak saját képződésére gyakorolt potencírozó hatása) már 1958-ban leírta Burke és Isaacs. Paucker és mtsai 1962-ben először ismerték fel az IFN sejtosztódást gátló hatását, majd Svet-Moldavsky és Chernyakovskaya 1967-ben beszámoltak az első felismert immunmoduláns sajátságról: az NK sejtek aktivitásának potencírozásáról. 1966-ban Lockart meghatározta az interferon fogalmát és felállította azokat a (mindmáig folyamatosan módosuló) kritériumokat, amelyek alapján egy adott molekulát az interferonok közé lehet sorolni. Ugyanebben az évben Strander és Cantell *in vitro* termelő rendszert dolgoztak ki, amellyel nagy mennyiségű humán IFN előállítása vált lehetővé. 1967-ben Fournier és mtsai humán fibroblaszt tenyészetekben a leukocita IFN-től eltérő tulajdonságú, ún. "fibroblaszt-interferon"-t állítottak elő. Wheelock már 1965-ben beszámolt egy fitohemagglutininnel indukálható savlabil IFN-ről, de csak 1970-ben igazolta be Falcoff munkatársaival, hogy a leukocita IFN-től különálló, új IFN-típusról van szó, amelyet "immun interferon"-nak neveztek el.

1973-tól,amikor Strander és mtsai a humán interferon hatékonyságáról számoltak be humán csontszarkóma gyógyításában, a daganatterápiás alkalmazás

lehetősége óriási érdeklődést keltett az interferon iránt. Ettől kezdve megsokszorozódtak mind az alapkutatás erőfeszítései, mind a terápiás kísérletek. Új és új biológiai hatásokat és alkalmazási lehetőségeket fedeztek fel. Az interferon-kutatás "első aranykora" a hetvenes évek végéig tartott. Addigra már jónéhány terápiás kudarc jelezte, hogy az IFN nem az a rákellenes csodaszer, aminek Stranderék bejelentése nyomán remélték. A korábbi eufória szkepticizmusba (pl.: Waddell), itt-ott az IFN terápiás értékének teljes tagadásába csapott át (lásd: névtelen szerző -az irodalomjegyzékben "Anonymous" - szerkesztőségi véleményét a Br. Med. J. 1977. évi 1. számában). Még a legoptimistábbak (Strander, 1977, Scott & Tyrell) is úgy vélték: az interferon nem lehet igazi, széles körű gyógyszer, mert csak nagyon korlátozott mértékben hozzáférhető.

Új fellendülést hozott az IFN-kutatásban 1980, amikor Nagata és mtsai bejelentették, hogy géntechnológiai eljárással előállították a HuIFN-α egyik altípusát. Ezután hónapokon belül egymást követték az újabb rekombináns IFN-ok (Goeddell et al. 1980, 1981, Maeda et al., Mantei et al., Taniguchi et al.) és hamarosan elegendő mennyiség állt rendelkezésre a megfelelő pontosságú és esetszámú klinikai kipróbálásokhoz. Tovább fokozta az érdeklődést, hogy 1981-ben Merrifield és mtsai szintetikus úton is előállították az IFN-α1 és -α2 molekulákat. 1984-ben a kémiai Nobel-díjat B. Merrifield kapta, a hivatalos indoklás szerint "a szilárd fázisú peptidszintézis kidolgozásáért, és ezzel a módszerrel biológiailag aktív interferon előállításáért". A második "interferon boom" a 80-as évek közepéig tartott. Addigra felmérték a terápiás alkalmazások korlátait, és egy új jelenség is csökkentette a lelkesedést: kiderült, hogy a rekombináns IFN-ok nem teljesen egyeznek a natív molekulákkal, így a tartós kezelések jelentős számában anti-IFN megjelenésével lehet számolni (Brand, Inglada et al., Konrad et al., Öberg & Alm,

Steis et al., von Wussow & Jakschies). Valódi visszaesés mégsem következett be, mivel ekkorra már feljövőben volt az IFN alkalmazása a kombinációs tumorterápiák fontos elemeként, másrészt 1985-ben teljesen új alkalmazási területet is megnyitottak (Obert & Hofschneider, Wolfe et al., Zilly & Obert), amikor a rheumatoid artritisz gyógyításában drámai sikerrel vetették be az IFN-t. Napjainkban, úgy tünik, reálissá vált végre az IFN-ok terápiás szerepének megítélése: nincsenek messianisztikus elvárások vele szemben, de nem is becsülik alá a lehetőségeit.

Interferon—kutatások Magyarországon

Magyarországon is viszonylag korán, 1964-ben megkezdődtek az IFN-kutatások a SZOTE Mikrobiológiai Intézetében Dr Béládi Ilona és Dr Mécs Imre irányításával (Mécs 1964, Pusztai & Béládi 1964). Itteni munkacsoport igazolta a világon elsőként, hogy a humán patogén adenovírusok nonpermisszív csirkesejtekben képesek IFN-t indukálni (Béládi & Pusztai). Ezt a tényt később az onkogén 12-es típusra vonatkozóan is igazolták (Béládi et al. 1968, Mucsi et al., Pusztai et al. 1976), majd a vizsgált típusok *in vivo* IFN-indukciós képességét is bizonyították (Béládi, Pusztai et al. 1969). Ugyanez a csoport bizonyította először az adenovírus-csirkesejt rendszerben, hogy egyes esetekben az IFN-indukcióhoz virális struktúrfehérjék is elegendőek (Lengyel et al., Pusztai et al. 1969, 1974). Vizsgálták az IFN immunszuppressziós hatását *in vitro* (Bakay et al., Béládi et al. 1975) és *in vivo* (Béládi et al. 1976) körülmények között, továbbá az *in vitro* (Rosztóczy & Mécs) és *in vivo* (Rosztóczy 1982) priming effektust. Megállapították, hogy a priming és az antivirális hatás egymástól fizikokémiai módszerekkel elválasztható (Rosztóczy 1975). Később e jelenségnek valószínű magyarázatát is megtalálták az

egyes HuIFN-α altípusok eltérő mértékű biológiai aktivitásában (Mécs et al. 1988, Tóth S. és mtsai 1988c).

A SZOTE Mikrobiológiai Intézetében indult meg Magyarországon elsőként a HuIFN-α termelésével és hatásaival kapcsolatos kutatás is. Vizsgálták a termelődést befolyásoló anyagokat és tényezőket (Gál et al. 1981a, b, Kótai et al., Mécs & Béládi 1977a, b, Tóth S. és mtsai 1985), az egyes IFN típusok priming-hatását (Béládi et al. 1984, Endrész et al. 1983, 1984, 1985, Rosztóczy 1977 a, b, Tóth M. et al. 1985), valamint az IFN és egyéb limfokinek kölcsönhatásait a képződés során (Dinh et al. 1980a, b, c). Új termelési eljárásokat dolgoztak ki HuIFN-α (Béládi et al. 1980, Mécs et al. 1980, Tóth M. et al. 1984b, Tóth S.), HuIFN-γ (Béládi és mtsai. 1981), valamint a két típus együttes (Tóth M. és mtsai 1983, Tóth M. et al. 1984a) előállítására. Szabadalmuk (Mécs és mtsai 1980) alapján indult el a HuIFN-α nagyüzemi termelése az EGYT (később: EGIS Gyógyszeripari Rt.)-ben. E munkák kiegészítéseként gyors, megbízható módszert dolgoztak ki az inducerként használt Sendai vírus készítmények tesztelésére (Koltai & Mécs, Mécs et al. 1982).

Itt írták le először a HuIFN-α gyulladásgátló hatását (Koltai & Mécs, Koltai et al., Mécs & Koltai, Mécs et al. 1984b), és azonosították a natív HuIFN-α készítményekben az e hatásért felelős altípusokat (Mécs et al. 1985a, Mécs és mtsai 1986a). Elsőként alkalmazták a kromatofókuszálást az egyes altípusok szétválasztására (Mécs és Tóth S. 1985, Mécs et al. 1985b), és tanulmányozták a natív altípusok biológiai hatásait összevetve rekombináns és szintetikus homológjaikkal (Filipic et al. 1986a, b, Mécs et al. 1988). Natív HuIFN-α készítményből sikerült egy savlabil komponenst izolálniuk (Tóth S. és mtsai 1988a, b, Mécs et al. 1989a), melyet később az IFN-ω-val azonosítottak (Mécs et al. 1993).Egy szlovén munkacsoporttal közösen először írták le a világon az erős

elektromos impulzusok IFN-indukciós képességét (Pretnar et al., Kovács et al., Somogyvári et al.).

Szoros együttműködést alakítottak ki az IFN-kutatás nemzetközi élvonalába tartozó intézetekkel (Mécs et al. 1984a, c, Sonnabend et al. 1967, 1968, Taródi et al.). Kiterjed az együttműködés a Magyarországon, egyéb kutatóhelyeken folyó IFN-munkákra is (Béládi et al. 1982, 1984, 1991, 1994, Mécs és mtsai 1986, Mécs et al. 1988, 1989a, b, Tóth M. és mtsai 1986, Tóth S. és mtsa 1985, Tóth S. et al. 1988a, b).

Jelenleg a legfontosabb IFN-kutatások három intézetben folynak hazánkban: a SZAOTE Mikrobiológiai Intézetében (Béládi et al. 1991, 1994 Megyeri & Béládi, Pusztai et al. 1991), az Országos Közegészségügyi Intézetben (Bátkai & Stöger, Hung et al., Markovits et al., Premecz et al. 1986, 1994) és a JATE Biotechnológiai Tanszékén (Filipic et al. 1991, Kovács et al., Mécs et al. 1989a, Pretnar et al., Somogyvári et al.).

Távlatok az interferon—kutatásban

A kilencvenes évek elejére úgy tűnik, az interferonok elfoglalták az őket megillető helyet az alapkutatásban és a terápiában egyaránt. Az alapkutatásban elsősorban az immunrendszer regulátor hálózatának integráns részeként a többi citokinnel kölcsönhatásban vizsgálják őket. E területen főként az immun-mediált kórképekben játszott szerepük vizsgálata tűnik a klinikai alkalmazás szempontjából is ígéretesnek. A másik fő kutatási terület jelenleg az interferonok hatásmechanizmusának tanulmányozása a receptorokkal való kölcsönhatás és az ezt követő szignalizáció szintjén, valamint az úgynevezett interferon-reszponzív elemek (IRE), azaz az IFN hatásra aktiválódó gének és termékeik feltérképezése.

Az IFN-terápiás kutatások alapvető iránya -az új alkalmazási területek keresése mellett- a két legfontosabb probléma megoldását célozza:

- A rekombináns interferonok -nyilvánvalóan a prokarióták eltérő poszttranszlációs rendszere következtében- nem tökéletesen azonosak a natív altípusokkal, ezért tartós terápia esetén 30-60%-os gyakorisággal specifikus immunreakciót váltanak ki (Brand). A keletkező ellenanyagok között az esetek mintegy 10%-ában neutralizáló antitestek is megjelennek, ezért a terápia hatástalanná válik. Ugyanakkor még a nem neutralizáló ellenanyagok jelenléte is súlyos következményekkel járhat a keringő antigén-antitest komplexek generalizált vaszkulitiszt okozó hatása miatt. A probléma megoldására négy irányból történnek próbálkozások.

Natív IFN-t használni rekombináns helyett (von Wussow et al.1988b, von Wussow & Jakschies) - ez megfelelő válasznak tűnik, de a korlátozott hozzáférés és a humán vértermékek fertőzési kockázata (HBV, HCV, HIV) miatt nem jelent igazi megoldást.

Az immunválasz fellépésekor átváltani más, keresztimmunitással nem rendelkező altípusra, vagy típusra - átmeneti megoldást jelent, mivel nem kizárt az újabb immunreakció lehetősége, emellett a rendelkezésre álló terápiás alternatívák (IFN-γ, IFN-ω) száma erősen korlátozott.

Talán az eukarióta -lehetőleg állati sejttenyészetben termeltetett- rekombináns IFN-ok nyithatnak kiutat ebből a problémából, de ezen a területen még nem rendelkezünk elegendő tapasztalattal a biztos ítéletalkotáshoz.

Végül ígéretes *in vitro* (Ferrantini et al., Lauret et al., Pitha et al., Vieillard et al., Watanabe & Sakata) és állatmodell kísérletek (Cases et al., Maruguchi et al., Pitha et al.) folynak az IFN-ok génterápiás alkalmazása terén , de a módszer humán terápiában történő kipróbálásáig még nem jutottak el.

A másik terápiás problémát a nagy dózisok alkalmazása következtében fellépő mellékhatások jelentik. A HuIFN-α lázat, influenza-szerű tüneteket,

hajhullást, anorexiát és központi idegrendszeri tüneteket (opiát-szerű hatások) okozhat (Adams et al., Bocci 1980, 1988a, Mannering & Deloria, Scott), míg a HuIFN-γ alkamazás fő kockázata a kardiotoxicitás, valamint exacerbációk kiváltása autoimmun kórképekben (Graninger et al., Mannering & Deloria, O´Connell et al., Tolmayat et al.). Végezetül valamennyi terápiás IFN képes lehet nagy dózisokban autoimmun kórképek (Fattovich et al., Gisslinger et al. 1992, Juggla et al., Simmons & Willenborg) és toxikus sokk szindróma (Kotb, Ozmen et al.) előidézésére. A dózisok csökkentése -megtartott terápiás hatás mellett- tehát kulcsfeladat az IFN-terápiában.

Az egyik megközelítés a kombinált alkalmazás, ami egyes esetekben beválhat, máskor az alkalmazott szerek toxikus hatása is fokozódik, ami szinergista kölcsönhatás esetén végzetes is lehet.

A másik lehetőség kis dózisú IFN alkalmazása mellett a kívánt terápiás effektus specifikus felerősítése. A hipertermia például jelentősen képes fokozni az antiproliferatív hatást (Fleischmann 1986, Fleischmann et al 1986., Groveman et al., Yerushalmi et al.), míg az antivirális hatásra egyáltalán nincs befolyással (Hirai et al.). A makrofág kolónia-stimuláló faktor felfüggeszti az interferonok mieloszuppresszív hatását, ugyanakkor nem befolyásolja sem az antivirális, sem az antiproliferatív aktivitást (Koren et al.). Jelen dolgozat egy hasonló lehetőséget vet fel: az antivirális hatás szelektív potencírozását aminosavakkal, az egyéb biológiai aktivitások befolyásolása nélkül. Ezek a kölcsönhatások lehetővé teszik a kívánt terápiás effektus elérését a korábbinál lényegesen alacsonyabb IFN dózisokkal, csökkentve, vagy kiküszöbölve a káros mellékhatásokat.

Egy másik, rendkívül izgalmas és ígéretes megközelítése a problémának az IFN-ok orális alkalmazása. Meggyőző vizsgálatok igazolják, hogy -nagyon kis mennyiségű! -

orális IFN adagolásával a nagy dózisú szisztémás alkalmazással azonos biológiai hatásokat lehet elérni (Koren & Fleischmann), de úgy tűnik, a mechanizmus, amelyen keresztül ezek megvalósulnak, eltér az eddig ismertektől. Az orális IFN állatkísérletekben is hatásosnak bizonyult (Rush Moore et al., Toth T. et al.), sőt már hatásos humán HIV- (Babiuch & Musabbir, Koech & Obel 1990a, b, Obel & Koech, Roberts) és HBV-terápiáról is beszámoltak (Zielinska et al.). Ez utóbbi esetben 25 - 150 NE/nap orális interferon azonos értékűnek bizonyult heti 3 alkalommal adott 10 - 30 millió NE/dózis i.m. interferon injekcióval, annak mellékhatásai nélkül.

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Anyagok

Vírusok

Vesicularis stomatitis virus (VSV; Indiana strain):

A Rhabdoviridae családba tartozó, komplex szimmetriájú, nagy RNS-vírus (a SZOTE Mikrobiológiai Intézete saját állományából).

Encephalomyocarditis virus (EMC vírus): A Picornaviridae családba tartozó kicsi, egyszerű RNS vírus (a SZOTE Mikrobiológiai Intézete saját állományából).

Polyomyelitis virus: A Picornaviridae család tagja. Kísérleteimben egy vakcinaként használatos 2-es típusú törzset (LSC 2 ab) és egy laboratóriumi referencia-törzsként használatos vad izolátumot (Mahony) alkalmaztam. Mindkét törzzsel Dr. Szöllőssy Ervin (Csongrád Megyei ÁNTSZ) szívességéből dolgozhattam.

Herpes simplex 1 és 2 vírusok (HSV1, HSV2): A Herpesviridae család tagjai, peplonnal rendelkező közepes bonyolultságú DNS vírusok. A HSV1 "KOS" ellnevezésű egérpatogén laboratóriumi törzse és a klinikai anyagból izolált HSV2 törzs egyaránt a SZOTE Mikrobiológiai Intézete saját állományából származik.

Sendai vírus (Cantell strain; az α-interferonok indukciójához): RNS vírus, a Paramyxoviridae család tagja (a SZOTE Mikrobiológiai Intézete saját állományából).

Sejtek

Folyamatos sejtvonalak:

HEp2 - Humán gégekarcinóma eredetű epiteloid sejtvonal (a SZOTE Mikrobiológiai Intézete saját állományából)

Sejtek

Folyamatos sejtvonalak:

HEp2 - Humán gégekarcinóma eredetű epiteloid sejtvonal (a SZOTE Mikrobiológiai Intézete saját állományából)

K562 - Humán krónikus mieloid leukémia eredetű sejtvonal (az MTA Szegedi Biológiai Központ Genetikai Intézetéből, Dr. Andó István szívességéből)

WISH - Humán amnion eredetű epiteloid sejtvonal (a SZOTE Mikrobiológiai Intézete saját állományából)

L929 - Egér kötőszöveti eredetű fibroblaszt jellegű sejtvonal (a SZOTE Mikrobiológiai Intézete saját állományából)

MDBK - Borjú vese eredetű epiteloid sejtvonal (a New York-i Sloan Kettering Memorial Cancer Institute-ból, Dr M. Krim és Dr. Mécs Imre szívességéből)

PK - Sertés vese eredetű epiteloid sejtvonal (a New York-i Sloan Kettering Memorial Cancer Institute-ból, Dr M. Krim és Dr. Mécs Imre szívességéből)

CV1 - Afrikai zöldmajom vese eredetű epiteloid sejtvonal (a SZOTE Mikrobiológiai Intézete saját állományából)

Friss szövetek:

Primer csirke embrió fibroblaszt -

9 napos embrionált tyúktojásból mechanikus embrióaprítást követően szűréssel és tripszinezéssel előállított kultúra

Humán fehérvérsejt -

A SZOTE Vértranszfúziós Állomásáról, Dr Gál György szívességéből.

Állati (sertés, borjú) fehérvérsejt -

A szegedi Vágóhídról, Dr. Tószegi Levente szívességéből

Interferonok

A humán α-és γ , a sertés és szarvasmarha α- és az egér ß interferonokat laboratóriumunkban magunk állítottuk elő.

A humán ß interferont Dr. Rosztóczy István, a ConA-indukált csirke interferont pedig Dr. Pusztai Rozália volt szíves rendelkezésemre bocsátani.

Aminosavak

A kísérleteimben felhasznált aminosavak -ahol erről külön említés nem történik- Reanal gyártmányú, at. minőségű készítmények voltak. Néhány esetben Pharmacia gyártmányú, "analytical grade" minőségű aminosavakat (Asp, Gly, Opr, ß-Phe, Ser, Tyr), illetve a Dr. B. Merrifield (Rockefeller Center, N.Y., U.S.A.) által rendelkezésemre bocsátott, *in vitro* fehérjeszintézis céljára használt különleges tisztaságú aminosavakat (ß-Phe, Ser) használtam.

Timidin—analógok

Valamennyi, a kísérletek során felhasznált timidin-analóg drogot (5-brómvinyl-2´-desoxy-uridin=BVDU 5-ethyl-2´-desoxy-uridin=EDU, 5-isopropyl-2´-desoxy-uridin=iPDU, 5-jód-2´-desoxy-uridin=IDU) az MTA Központi Kémiai Kutató Intézetében állították elő, és homogenitásig tisztították.

Rádioaktív izotópok

A timidin-inkorporációs vizsgálatok Amersham gyártmányú ^{3}H-mal jelzett timidinnel történtek. Az NK-aktivitás mérésére Amersham gyártmányú ^{51}Cr izotópot használtam.

Egyéb vegyszerek

Concanavalin A - Calbiochem-Behring, USA

Controlled pore glass (CPG) - Electronucleonics, USA

6-hydroxydopamin (6-OHDA) -Fluka, Switzerland

2-thiobarbitursav - Reanal

komplett portáptalajok -Gibco, Scotland

fötális borjúszérum - Flow Laboratories Inc., USA; Gibco, Scotland

borjúszérum - Mezőhegyesi Állami Gazdaság

A házilag készített tápfolyadékokhoz "at" minőségű Merck (Germany), Serva (Germany) és Reanal gyártmányú vegyszereket használtunk fel.

Módszerek

Interferon előállítás

α—interferonok

Valamennyi α-interferont fehérvérsejt-szuszpenzióban Sendai vírussal indukáltuk. Teljes állati vérből illetve emberi buffy coatból indultunk ki. A vágóhídról, friss vágásból származó, ACD (citromsav, Na-citrát, dextróz) oldattal stabilizát teljes vért centrifugálással (10 perc, 4°C, 800 g) szeparáltuk, és leválasztottuk a fehérvérsejtekben dús réteget (buffy coat). A kész buffy coat-okat a vörösvértestektől kétszeri ammóniumkloridos hemolízissel (Előbb 4-szeres, majd 9-szeres térfogatú 0.83%-os NH_4Cl oldattal kezeltük a buffy coat-ot 0°C-on 10 percig, majd lecentrifugáltuk) tisztítottuk meg. A fehérvérsejteket 1% borjúszérumot tartalmazó pufferelt sókeverékben (Tóth M. et al. 1984) vettük fel 10^7 sejt/ml koncentrációban. 200 NE/ml humán α-interferonnal előkezeltük a sejtszuszpenziót (priming), majd 2 órai inkubáció után inducerként 200 HAE/ml (hemagglutinációs egység/ml) Sendai vírust adtunk hozzá. A priming és az indukció során a sejtszuszpenziót mágneses keverővel, 60-100 rpm frekvenciával folyamatosan kevertettük.

Az α-interferon tartalmú felülúszókat 16 óra után nyertük ki centrifugálással (4°C, 1500 g, 30 perc). Kísérleteimet ily módon nyert nyers (kb 10^5 *NE/mg protein* specifikus aktivitású), vagy CPG-n tisztított (kb 10^6 *NE/mg protein* specifikus aktivitású) interferonokkal végeztem.

Egér ß interferon

48 órás monolayer L929-sejtkultúrát 100 NE/ml MuIFN-ß-val előkezeltünk 16 óráig, majd 100 µg/ml polyI:polyC-vel indukáltuk 1 µg/ml Cycloheximide egyidejű hozzáadásával. 4 óra múlva az inducert mosással eltávolítottuk, és friss tápfolyadékkal folytattuk az inkubálást további 18-20 óráig.

Humán γ interferon

Az a) pontban leírt módon elkészített (de $2.5*10^7$ sejt/ml koncentrációjú) és 4 óráig 1500 NE/ml HuIFN-α-val primingolt humán fehérvérsejt-szuszpenziót 15 µg/ml Concanavalin A-val indukáltuk. A HuIFN-γ tartalmú felülúszókat 16-20 órás inkubáció után gyűjtöttük be.

Antivirális értékmérés

Microplate módszer

A leggyakrabban alkalmazott, egyszerű és megbízható eljárás az interferonok antivirális titerének meghatározására. Előnye, hogy gyors, anyagigénye kicsi és nagy mennyiségű minta egyidejű vizsgálatára alkalmas. Kísérleti munkám során ezt a módszert használtam alapmodellként az aminosavak modulációs hatásának értékelésére.

A máshol (Mécs & Béládi 1977a, b) részletesen ismertetett módszer röviden a következő: Az értékmérésre használt sejteket 96 lyukú lapos profilú mikrotitráló lemezekbe (Falcon; Cooke) mérjük a megfelelő tápfolyadék 100µl-ében olyan

koncentrációban, hogy 24 óra múlva valamennyi lyukban összefüggő monolayert kapjunk. Közvetlenül a titrálás előtt a lyukakból eltávolítjuk a felülúszót és 100-100µl-nyi friss tápfolyadékkal pótoljuk. Ezután a lemezek bal szélén az első lyukakba bemérjük a vizsgálandó interferon minták 100-100µl-ét (anyagonként legalább 2 párhuzamos minta) és balról jobbra kettes léptékű tovafutó hígítási sort készítünk a mintákból. Lemezenként legalább két sornyi ismert titerű nemzetközi (vagy nemzetközivel hitelesitett belső) standard referencia interferon mintát is felviszünk. Megfelelő inkubálási idő után (általában 18-24 óra) az interferon-tartalmú felülúszókat eltávolítjuk, és helyére 100-100µl-nyi challenge-vírus szuszpenziót mérünk. Challenge-vírusként a nemzetközi konvenciónak megfelelően vesiculáris stomatitis vírust alkalmazunk (de ezt a módszert használtam a poliovírusokra gyakorolt hatás vizsgálata során is) olyan koncentrációban, ami a kezeletlen kontroll szövetmintát 24 óra alatt 100%-ban elpusztítja. A vírusfertőzés után 24 órával értékeljük a lemezeket, vizuális úton, mikroszkóp alatt megállapítva az egyes interferon-hígításokkal kezelt lyukakban a citopátiás hatás mértékét az elpusztult sejtek százalékos arányában kifejezve. Konvenció szerint az adott interferon minta antivirális titerének tekintjük azt a hígítást, amely a tesztsejtek 50%-át védi meg a challenge-vírus citopátiás hatásától. A titert nemzetközi antivirális egységekben (NE) fejezzük ki, és a hígításból az alábbi képlet alapján számítjuk ki:

$$T=(2^A/2^B)*S*D$$

ahol: "***T***" - a kérdéses minta titere;
"***A***" - annak a lyuknak a sorszáma, ahol az 50%-os védelmet észleltük a szóban forgó minta esetén;
"***B***" - annak a lyuknak a sorszáma, ahol az 50%-os védelmet észleltük a referencia minta esetén;
"***S***" - a referencia minta titere nemzetközi antivirális egységekben;
"***D***" - a vizsgált minta kiindulási hígítása.

Hemagglutinációs módszer

A microplate módszernél lényegesen pontosabb, finomabb felbontású eljárás. Hátránya, hogy lassú, nagyon anyag- és munkaigényes. Kis számú minta nagyon pontos meghatározására alkalmas. A több lépcsős módszer igen kis vírushozam-különbségeket is képes mérhetővé tenni azáltal, hogy az eltéréseket amplifikálja. Kísérleteimben a csirke fibroblaszt interferon antivirális aktivitásának mérésére használtam.

Az eljárás első lépése megegyezik a microplate módszerrel. Tesztsejtként a csirke interferon méréséhez primer csirke embrió fibroblaszt tenyészetet használtam, a challenge-vírus LCM (limfocitás chorimeningitis) vírus volt.

Második lépésben a mikrotitráló lemez egyes lyukaiból a felülúszókat egyenként begyűjtve tizes léptékű hígítási sorozatot készítettem belőlük, és ismét csirke fibroblaszt tenyészetre vittem fel a hígításokat. 24 óra múlva ismét begyűjtöttem a felülúszókat. 96 lyukú, V profilú mikrotitrátor lemezbe 100-100µl-nyi pH:7.2-es fiziológiás NaCl tartalmú foszfátpuffert mértem, és 2-es léptékű hígítási sorozatokat készítettem a második lépésben nyert vírusmintákból. Ezután minden lyukba 100µl 0.5%-os humán 0-ás Rh+ vörösvértest-szuszpenziót mértem, és a lemezt egy óráig 4°C-on inkubáltam. A vírusminta titerének azt a legnagyobb hígítást tekintettem, amely még éppen mutatott agglutinációs aktivitást. E módszerrel néhány százaléknyi eltérés az interferonnal kezelt szövetminták vírushozamában jól mérhető hemagglutinációs titerkülönbséget eredményez. Ismert antivirális titerű referencia-minta párhuzamos alkalmazásával az egyes minták titere antivirális egységekbe átszámítható.

Yield módszer

Első lépésként ennél a módszernél is egy microplate-titrálást kell elvégezni. Az egyes lyukakból nyert felülúszókból ezután 10-es léptékű hígítási sorozatot kell

készíteni, s ezzel megfelelő érzékenységű monolayert fertőzni. 6 cm átmérőjű Petri-csészékben nevelt szövetkultúrához 0.5 ml vírushígítást adunk, majd egy órányi 37°C-on történő inkubálás után lágy (0.5-0.8%-os), tápfolyadék tartalmú agarréteggel fedjük a sejtréteget.

A kellő inkubációs idő eltelte után (HSV1 esetén pl. 72 óra) a szövetet 10%-os triklórecetsavval fixáljuk, majd terazóliumvörös vagy kristályibolya festéssel a plakkokat láthatóvá tesszük. Valamely jól számolható hígításban (plakkok száma 20 és 200 között legyen) megszámolva a keletkezett plakkokat, majd a hígítás értékével megszorozva a kapott számot, plakkformáló egységekben (PFU) kapjuk meg a vírushozamot, így az interferon (vagy egyéb antivirális anyag) gátló hatása közvetlenül, fertőző egységekben mérhető. Kísérleteim során a humán herpeszvírusokkkal végzett kísérletek során használtam ezt a módszert.

Sejtosztódást gátló hatás vizsgálata

Vizuális (sejtszámlálásos) módszer

A frissen tripszinezett, 60 mm átmérőjű Petri-csészékben azonos sejtszámmal indított sejtkultúrák tápfolyadékát a kiülepedés után (2-4 óra múlva) a megfelelő mennyiségű teszt-anyagot tartalmazó tápfolyadékkal cseréltem le. Az inkubálást a kezeletlen kontroll teljes monolayer állapotáig (72-96 óra) folytattam, majd az elpusztult sejtek eltávolítását célzó mosás után a tenyészeteket tripszineztem, és centrifugálás (10 perc, 4°C, 700 g) után ismert térfogatú fiziológiás pufferoldatban (PBS) szuszpendáltam fel, és Buerker-kamrában állapítottam meg a sejtszámokat. A módszer szubjektivitásából származó hibalehetőség csökkentésére egy- egy hatóanyag-koncentrációt legalább 5 párhuzamos mintában vizsgáltam.

Timidin inkorporációs módszer

Az előző pontban leírt módon indított tenyészeteket 24 órán keresztül inkubáltam. Ezután mintánként 10 μCi aktivitású ^{3}H-mal jelzett timidint adtam a tenyészetekhez majd egy órás jelölés után háromszori mosással eltávolítottam a nem inkorporálódott rádioaktivitást.

Természetes citotoxikus (NK) hatás vizsgálata

Heparinnal (1.5 E/ml) stabilizált teljes humán vért PBS-sel háromszorosára hígítottam, majd 1.075 g/cm^3 sűrűségű Ficoll-Uromiro grádiensre (Pharmacia) rétegeztem és szobahőmérsékleten 800 g-vel 20 percig centrifugáltam (Böyum). Az interfázisból nyert sejteket PBS-sel háromszor mostam, végül 10% borjúsavót tartalmazó RPMI 1640 tápfolyadékban vettem fel. Az effektorsejt-szuszpenzió életképességét tripánkék-festéssel állapítottam meg.

Célsejtként RPMI 1640-ben, szuszpenziós kultúrában fenntartott K562 sejteket használtam. A kísérletekhez 2*10^6 sejtet jelöltem 100μCi ^{51}Cr izotóppal 37°C-on 5% CO_2 atmoszférában 1 óráig. A nem inkorporálódott jelölést háromszori mosással (savómentes tápfolyadékban) távolítottam el, és a sejtszámot 1*10^5-re állítottam be.

Az effektor sejteket meghatározott mennyiségű interferonnal, aminosavval, vagy IFN-aminosav keverékkel inkubáltam 37°C-on 5% CO_2 atmoszférában 1-4 órán keresztül.

Az előkezelt effektor sejteket 50 : 1 arányban kevertem össze célsejtekkel 96 lyukú lapos profilú mikrotitrátor lemezekben 200 μl végtérfogatban, és 4 órán át inkubáltam 37°C-on 5% CO_2 atmoszférában. Centrifugálás után (szobahőn 20 perc, 800 g) a felülúszó 100 μl-ének radioaktivitását γ-számlálóban (Gamma Művek) mértem. Az effektor sejtek toxicitását citotoxicitási százalékban számítottam ki az alábbi képlet alapján:

$$T\%=[(x-s)/t]*100$$

ahol: ***T%*** - a citotoxicitási százalék;
x - a kérdéses minta felülúszójában mért radioaktivitás cpm-ben;
s - a célsejtek spontán pusztulásából származó radioaktivitás cpm-ben (az effektor sejtek nélküli célsejt-kontroll minta felülúszójának aktivitása);
t - a mintára eső célsejt-mennyiség által beépített teljes radioaktivitás cpm-ben.

Szuperoxid—diszmutáz (SOD) aktivitás mérése

A mérőmódszer azon alapszik, hogy a normális körülmények között rendkívül gyors auto-oxidációt mutató 6-hydroxydopamin (6-OHDA) kezdeti oxidációját (0-15 sec) a SOD hatékonyan gátolja (Heikkila & Cabbat). Az enzim aktivitása egyenesen arányos a vizsgálati rendszerben a kezeletlen kontroll 6-OHDA mintákhoz képest észlelt abszorpció-csökkenéshez 490 nm-nél.

10^8 sejtet 1 ml desztillált vízben ozmotikus sokkal feltártam. 10 perces (4°C, 700g) centrifugálás után 0.1 ml aliquotokat adtam a felülúszóból 0.89 ml pH:7.4-es 50mM-os foszfátpufferhez. Az így előkészített mintákat mérésig (de legalább 15 percig) 37°C-on inkubáltam. N_2-vel átbuborékoltatott desztillált vízben 10mM-os 6-OHDA törzsoldatot készítettem, melyet N_2-atmoszféra alatt 1 órán át lehet eltartani számottevő auto-oxidáció nélkül. Ebből a reagens-törzsolodatból 10µl-t mértem a mintákhoz, majd 15 másodperc múlva 490 nm-en mértem a minták abszorpcióját.

Lipidperoxidáz aktivitás mérése

A meghatározás a lipid peroxidáció egyik legfontosabb végtermékének a malondialdehidnek (MDA) a mennyiségi meghatározásán alapul (Placer et al.): a sejtben keletkezett MDA mennyisége egyenesen arányos az enzimaktivitással. Az

MDA savanyú közegben 2-thiobarbitursavval sárgásvörös színű stabil komplexet képez, melynek 532 nm-nél abszorpciós maximuma van.

A mérés az alábbi módon történt: Frissen tripszinezett sejtekből 10^8-t ozmotikus sokkal feltártam 1ml-nyi térfogatban, majd 0.1 ml-nyi lizátumhoz 0.9 ml reagens-elegyet adtam (1 rész thiobarbitursavval telített 10%-os perklórsav és 3 rész 20%-os triklórecetsav frissen készített elegye), és a mintákat 20 percig 100°C-on főztem. A kapott csapadékos oldatokat kihülés után 4°C-on 2000 g-vel centrifugáltam 10 percig, és a felülúszót 532 nm-en fotometráltam (Specord S500) a mintákkal azonos módon kezelt, de lizátum helyett 0.1 ml desztillált vizet tartalmazó "vak" mintával szemben. A minták MDA-egyenértékét a következő tapasztalati képlettel számítottam ki:

$$A_{532} * 32.54 = x \text{ nM MDA}/10^7 \text{ sejt.}$$

Kromatofókuszálás

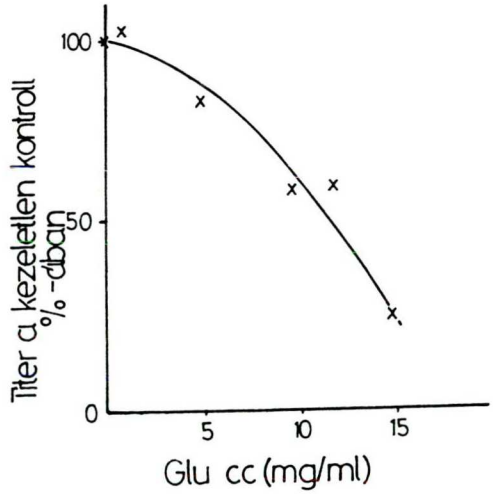
A natív humán α-interferon készítmények szétválasztását altipusaikra K16-os (Pharmacia) oszlopba töltött PBE 94 (Pharmacia) gélben végeztem. 3-5 $*10^6$ NE aktivitású mintát töltöttem fel a 25mM imidazollal pH:7.2-7.4-en ekvilibrált oszlopra, majd pH:3.6-3.8-as Polybuffer 74-gyel (Pharmacia) eluáltam.

EREDMÉNYEK

HuIFN-ok antivirális hatásának befolyásolása aminosavakkal: az alapjelenség

Irodalmi adatok (Adams et al., Bocci 1988a, Dafny & Georgiades, Rohatiner et al., Salazar et al., Scott) alapján ismeretes, hogy a HuIFN-α extrém magas terápiás dózisok esetén opiát-szerű hatásokat idéz elő a központi idegrendszerben. Munkahipotézisem a következő volt: Az IFN-α fenti mellékhatása valószínűleg az opiát-receptorokkal való kölcsönhatás útján valósul meg. Ha e kölcsönhatás alapja az IFN receptorok és az opiát-receptorok közötti hasonlóság, akkor a glutaminsav, amely képes az opiát-receptorokhoz kapcsolódni (Fuxe et al.), befolyásolhatja a HuIFN-α antivirális hatását is.

Az elgondolás igazolására az antivirális értékméréshez használt WISH sejteket különböző Glu koncentrációk jelenlétében inkubáltam azonos eredetű és mennyiségű HuIFN-α-val, majd értékeltem a minták antivirális hatását (1. ábra).



1.ábra: Glutaminsav hatása a HuIFN-α antivirális titerére a Glu koncentráció függvényében.

Az ábra alapján látható, hogy a legmagasabb Glu koncentrációk nem nagy mértékű, de szignifikáns titercsökkenést eredményeztek. Ezek az adatok igazolni látszottak a munkahipotézist, de úgy véltem, a HuIFN-α molekula receptorkötő helyének finomszerkezetét is tanulmányozhatom, ha más aminosavakkal is elvégzem ezeket a kísérleteket.

Humán interferonok és természetes aminosavak kölcsönhatásának screenelése

Húsz természetes aminosav hatását vizsgáltam meg. A kísérletek során arra a váratlan jelenségre figyeltem fel, hogy bizonyos aminosavak jelentős mértékben fokozzák a HuIFN-α antivirális hatását. Ezek az eredmények a szakirodalomban eddig ismeretlenek lévén, eredeti célkitűzésemet megváltoztatva ebben az irányban folytattam tovább vizsgálataimat. A kísérletsorozatot HuIFN-ß-val és HuIFN-γ-val is elvégeztem. A kapott eredmények minőségi összegzését az 1. táblázat tartalmazza.

Aminosav	Kölcsönhatás típusa		
	HuIFN-α-val	HuIFN-β-val	HuIFN-γ-val
L-α-Alanin (Ala)	Ø	Ø	–
L-β-Alanin (β-Ala)	Ø	+	–
L-Arginin (Arg)*	Ø	Ø	Ø
L-Aszparagin (Asn)	Ø	Ø	–
L-Aszparaginsav (Asp)	+	+	+
L-Cisztein (Cys)**	–	–	–
L-Glutamin (Gln)	Ø	–	–
L-Glutaminsav (Glu)	–	–	–
D-Glutaminsav (D-Glu)	Ø	+	+
L-Glicin (Gly)	+	Ø	Ø
L-Hisztidin (His)	–	–	–
L-Izoleucin (Ile)	Ø	–	–
L-Leucin (Leu)	Ø	–	–
L-Lizin (Lys)*	Ø	Ø	Ø
L-Metionin (Met)	–	–	–
L-β-Fenilalanin (Phe)	–	–	–
L-Oxiprolin (Opr)	+	–	–
L-Prolin (Pro)	Ø	Ø	Ø
L-Szerin (Ser)	+	+	+
L-Tirozin (Tyr)**	+	Ø	Ø
L-Treonin (Thr)	Ø	Ø	Ø
L-Triptofán (Try)*	Ø	Ø	Ø
L-Valin (Val)	Ø	–	–

1. Táblázat: Aminosavak kölcsönhatása humán interferonokkal: Minőségi áttekintés.
Az egyes aminosavakat 10 mg/ml koncentrációban alkalmaztam, kivéve a *-gal (citotoxikus) és **-gal (gyenge oldékonyság) jelölteket. Ezek koncentrációja 5 mg/ml volt.

Jelmagyarázat: "-": gátlás; "0": indifferens; "+": fokozás.

Aminosav	IFN-titer a kezeletlen kontroll %-ában (±SD)		
	HuIFN-α	HuIFN-β	HuIFN-γ
Asp	150,5 ± 24,9	225,0 ± 18,2	157,0 ± 7,1
Cys	82,0 ± 7,5	65,0 ± 8,4	52,5 ± 0,7
Glu	48,8 ± 10,6	N.A.	41,0 ± 5,7
Gly	211,2 ± 44,6	109,2 ± 14,4	99,3 ± 6,4
His	N.A.*	N.A.	N.A.
Met	31,7 ± 11,7	N.A.	N.A.
Opr	146,2 ± 25,5	73,5 ± 17,7	N.A.
β-Phe	N.A.	N.A.	N.A.
Ser	259,2 ± 72,7	425,5 ± 89,7	480,7 ± 165,7
Tyr	151,5 ± 36,1	97,5 ± 9,2	101,2 ± 9,9

2. Táblázat: A HuIFN-α-val aktivitást mutató aminosavak hatásának mennyiségi összefoglalása. Az alkamazott koncentrációk az 1. Táblázatban megadottal azonosak.
N.A.*: nincs antivirális aktivitás - teljes gátlás.

A 2. táblázatban a HuIFN-α antivirális aktivitását befolyásoló aminosavak (továbbiakban: α-aktív aminosavak) hatását mindhárom humán interferonra mennyiségileg is feltüntettem.

A két táblázatból megállapítható, hogy:

a/ nem a magas (10 mg/ml) aminosav koncentrációból származó aspecifikus hatással állunk szemben;

b/ a három alapvető hatástípus (fokozás, gátlás, közömbös) nem hozható kapcsolatba a hasonló hatású aminosavak közös fizikai-kémiai jellemzőivel (molekulasúly, lúgos/savas karakter, hidrofób jelleg, specifikus csoportok, stb.);

c/ az egyes aminosavak minőségileg és mennyiségileg eltérő hatást gyakorolhatnak az egyes HuIFN típusokra.

Ellenőrző vizsgálatok.

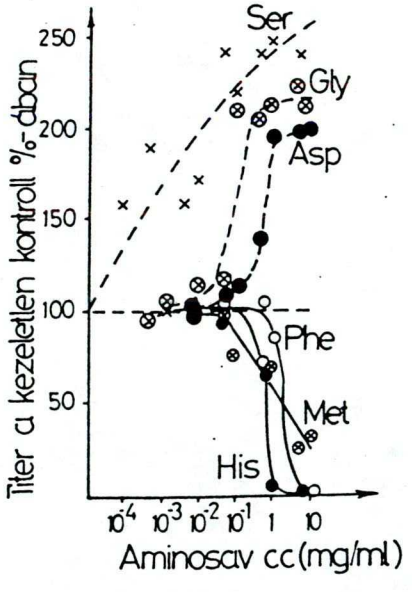
Bizonyítandó, hogy valódi IFN - aminosav kölcsönhatásról van szó, minden aminosav esetében külön megvizsgáltam, hogy az alkalmazott koncentrációban a tesztsejtekre nem toxikus, és önmagában antivirális hatással nem rendelkezik. Valamennyi kísérletben Reanal gyártmányú, a.t. minőségű aminosavakat használtam. Annak eldöntésére, hogy a megfigyelt jelenségeket nem okozhatja-e valamely, a készítményekben jelenlévő egyedi szennyeződés, külön kísérleteket állítottam be, amelyekben összehasonlítottam a Reanal készítmények és a Pharmacia által gyártott "analytical grade" minőségű aminosavak hatását (3. táblázat), két esetben pedig (Ser, Phe) a Dr. B. Merrifield (Rockefeller Institute, N.Y., USA) által rendelkezésemre bocsátott különleges tisztaságú, in vitro fehérjeszintézisre alkalmas aminosavakat is bevontam az összehasonlító vizsgálatokba.

Aminosavak	IFN titer a kezeletlen kontroll %-ában		
	Aminosav készítmények származása		
	Reanal	Pharmacia	Rockefeller Institute
Asp	152,0	170,9	
Gly	202,9	157,4	
Opr	132,0	132,0	
β-Phe	N.A.*	N.A.	N.A.
Ser	222,2	228,2	216,4
Tyr	121,3	132,0	

3. Táblázat: Különböző eredetű és minőségű aminosavaknak a HuIFN-α antivirális titerére gyakorolt befolyása. Összehasonlítás.
N.A.*: nincs antivirális aktivitás

Az aminosavak hatásának koncentrációfüggése

A 2. ábrán három gátló és három fokozó típusú α-aktív aminosavnak a HuIFN-α-ra gyakorolt hatását tüntettem fel az alkalmazott aminosav-koncentráció függvényében.



2. ábra: Aminosav - HuIFN-α antivirális kölcsönhatások koncentrációfüggése.

Látható, hogy (a Ser kivételével) csak viszonylag magas koncentrációk esetén kaptam értékelhető eltérést az eredeti antivirális titertől. A dózis-hatás görbék szigmoid típusúak, azaz minimummal vagy maximummal is rendelkeznek. Egyes esetekben (Met, Glu, Ser) ez a telítési érték nem állapítható meg, mivel ezeknél a kérdéses koncentrációk már a tesztsejtekre toxikus tartományba esnek.

Aminosavak hatása az α – γ szinergizmusra

Interferonnal foglalkozó szakemberek számára közismert jelenség, hogy IFN-α-t és IFN-γ-t összekeverve az elméletileg várható (szummációs) antivirális titernél nagyobb hatást kapunk (Czarniecki et al., Fleischmann, Fleischmann et al. 1979, 1984a, b). Ez a szinergista hatás az antivirális értékmérő rendszertől és az IFN komponensek keverési arányától függően 2,5 - 4-szeres lehet. Az "Anyagok és módszerek" fejezetben részletezett WISH/VSV értékmérő rendszerben 1:1 arányú HuIFN-α - HuIFN-γ keverékkel vizsgáltam, vajon ez a szinergizmus hogyan befolyásolható aminosavakkal.

Aminosavak	IFN titer a nominális titer %-ában	IFN titer a szinergista titer %-ában
Asp	339,0	126,0
β-Phe	N.A.*	N.A.
Met	N.A.	N.A.
Ser	859,3	270,7
Tyr	263,5	79,0

4. Táblázat: Aminosavak befolyása a HuIFN-α -HuIFN-γ szinergizmusra.
N.A.*: nincs antivirális aktivitás.

A 4. táblázat bizonysága szerint a szinergista titerek éppúgy fokozhatók vagy gátolhatók a megfelelő aminosavak alkalmazásával, mint az egyes IFN komponensek saját titerei. Érdemes megjegyezni, hogy a Tyr esetén (α titerét fokozza, a γ-ra közömbös) a fokozó hatás hiányzik.

Aminosav-párok hatása a humán interferonok antivirális titerére

Az alapjelenség vizsgálatával kapcsolatos fenti eredmények felvetették a kérdést: vajon azonos mechanizmus alapján hat-e valamennyi aminosav az IFN-ok antivirális képességére? A választ aminosav-párok szimultán alkalmazásával próbáltam megadni. E kísérleti rendszernek azonban van egy inherens hibája. Az értékelhető hatás eléréséhez szükséges aminosav-koncentrációk nem elhanyagolható mértékű ozmotikus nyomást hoznak létre az inkubációs közegben. A további ozmotikus nyomásfokozódást elkerülendő, az aminosavakat e kísérletekben felére csökkentett koncentrációban (5 mg/ml) használtam, úgy, hogy együttes töménységük felelt meg a korábbi kísérletekben használtnak. Az aminosav-párok által létrehozott eredő antivirális titerváltozást ugyanakkor -itt nem részletezhető meggondolások alapján- az egyedi aminosavak 10 mg/ml koncentrációban okozott hatásához, mint kontrollhoz viszonyítottam.

Az ezen kísérletekbe bevont aminosav-pároknak a HuIFN-α antivirális titerére gyakorolt hatását az 5. táblázatban foglaltam össze, a mérési eredmények alapján valószínűsíthető aminosav-kölcsönhatások típusának feltüntetésével.

Kombináció	IFN titer a kezeletlen kontroll %-ában			Feltételezhető kölcsönhatás
	1 AMINOSAV HATÁSA	2 AMINOSAV HATÁSA	EGYÜTTES HATÁS	
Asp + Gly	141,7	119,0	119,0	Gly dominancia
Asp + Met	141,7	N.A.	N.A.	Met "
Asp + Opr	141,7	109,0	154,7	addició (?)
Asp + β-Phe	141,7	N.A.	N.A.	β-Phe dominancia
Asp + Ser	141,7	274,0	468,3	szinergizmus
Asp + Tyr	141,7	146,5	117,2	extinkció (?)
Gly + Opr	119,0	109,0	150,0	addició
Gly + β-Phe	119,0	N.A.	133,3	Gly dominancia
Gly + Ser	119,0	274,0	168,3	kompetició
Gly + Tyr	119,0	146,5	124,0	kompetició (?)
Met + β-Phe	N.A*	N.A.	N.A.	?
Met + Ser	N.A.	274,0	124,0	kompetició
Met + Tyr	N.A.	146,5	114,0	kompetició
Opr + β-Phe	109,0	N.A	114,0	Opr dominancia
Opr + Ser	109,0	274,0	130,3	Opr " vagy kompetició
Opr + Tyr	109,0	146,5	129,0	kompetició (?)
β-Phe + Ser	N.A.	274,0	169,0	"
Phe + Tyr	N.A.	146,5	93,0	"
Ser + Tyr	274,0	146,5	584,0	szinergizmus

5. Táblázat: Aminosav-párkombinációk hatása a HuIFN-α antivirális titerére.
N.A.*: nincs antivirális aktivitás.

Kombináció	IFN titer a kezeletlen kontroll %-ában			Feltételezhető kölcsönhatás
	1 AMINOSAV HATÁSA	2 AMINOSAV HATÁSA	EGYÜTTES HATÁS	
Asp + Met	225,0	N.A.	N.A.	Met dominancia
Asp + β-Phe	225,0	N.A.	N.A.	β-Phe "
Asp + Ser	225,0	463,2	1467,3	szinergizmus
Asp + Tyr	225,0	100,0	207,0	Asp dominancia
Met + β-Phe	N.A.*	N.A.	N.A.	?
Met + Ser	N.A.	463,2	164,0	kompetíció
Met + Tyr	N.A.	100,0	28,4	"
β-Phe + Ser	N.A.	463,2	230,5	"
β-Phe + Tyr	N.A.	100,0	N.A.	β-Phe dominancia
Ser + Tyr	463,2	100,0	897,5	szinergizmus

6. Táblázat: Aminosav-párkombinációk hatása a HuIFN-γ antivirális titerére.
N.A.*: nincs antivirális aktivitás.

A 6. táblázat öt aminosav lehetséges párkombinációinak hatását tartalmazza HuIFN-γ-ra. Az itt feltüntetett lehetséges kölcsönhatásokat ugyancsak a mért adatokból állapítottam meg. Ezek nem feltétlenül egyeznek meg a megengedett kölcsönhatásokkal, melyek csak valamennyi párkísérlet összehasonlítása után határozhatók meg (ld. a "Megbeszélés" fejezetben).

Kombináció	IFN titer a szinergista kontroll %-ában			Feltételezhető kölcsönhatás
	1 AMINOSAV HATÁSA	2 AMINOSAV HATÁSA	EGYÜTTES HATÁS	
Asp+Met	121,3	N.A.	N.A.	Met dominancia
Asp+β-Phe	121,3	N.A.	N.A.	β-Phe "
Asp+Ser	121,3	331,0	667,0	szinergizmus
Asp+Tyr	121,3	75,7	104,3	kompetíció vagy Asp dominancia
Met+βPhe	N.A.*	N.A.	N.A.	?
Met+Ser	N.A.	331,0	232,9	kompetíció
Met+Tyr	N.A.	75,7	34,3	"
β-Phe+Ser	N.A.	331,0	106,2	"
β-Phe+Tyr	N.A.	75,7	N.A.	β-Phe dominancia
Ser+Tyr	331,0	75,7	1315,8	szinergizmus

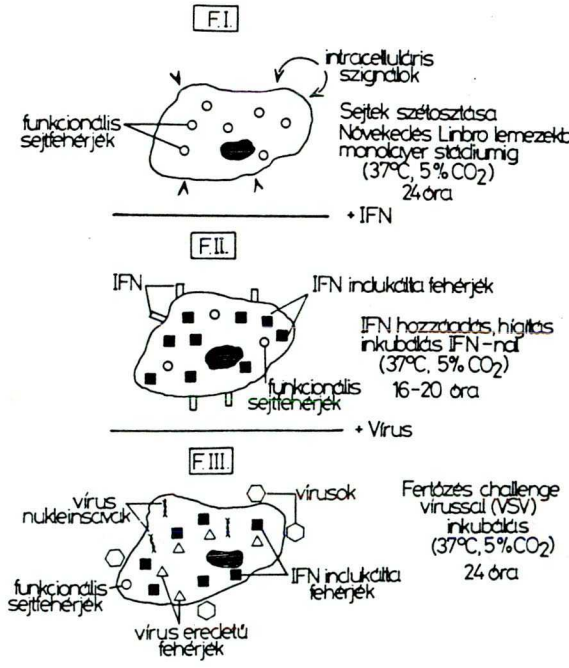
7. Táblázat: Aminosav-párkombinációk hatása a HuIFN-α – HuIFN-γ antivirális szinergizmusra.
N.A.*: nincs antivirális aktivitás.

Mint az a 7. táblázat adataiból kitűnik, az α - γ szinergizmus és az egyes aminosavpárok (Asp-Ser, Ser-Tyr) között fellépő szinergista kölcsönhatás egymástól független mechanizmusú, egymást erősítő jelenségek, melyeknek megfelelő alkalmazása az IFN-komponensek eredeti titeréhez képest 20-40-szeres antivirális hatásfokozódást is eredményezhet.

Az interferonok és az aminosavak kölcsönhatásának fázisfüggése

Az antivirális értékmérés fázisai.

Az antivirális értékmérés során (részletesen ld. az "Anyagok és módszerek" fejezetben) három, egymástól jól elkülöníthető fázist azonosíthatunk (3. ábra).



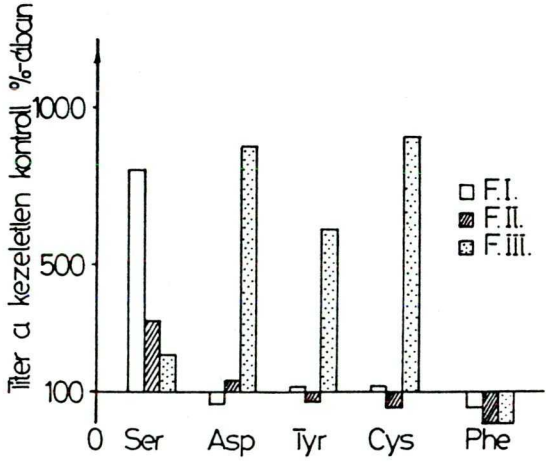
3. ábra: Az antivirális értékmérés fázisai.

Az első fázisban (F I.) a tesztsejtek a tenyésztőedényben tápfolyadék jelenlétében növekednek a monolayer stádium eléréséig. A következő fázis (F II.) az interferon hozzáadásával kezdődik, és a vírus hozzáadásáig (6-24 óra) tart. Ebben a stádiumban a sejtek fehérjeszintézise radikális változáson megy keresztül,

mintegy felkészülnek a vírus elleni védekezésre. A tesztsejt-interferon rendszer egy, az F I.-től eltérő biológiai egységet képez. A harmadik fázis (F III.) ismét új biológiai entitás: a tesztsejt-interferon-vírus komplex. A három fázis során egymástól eltérő biokémiai folyamatok zajlanak le, így logikus a feltételezés, hogy az egyes aminosavak fázisonként eltérő módon és mértékben befolyásolhatják az IFN-ok antivirális hatását.

Fázisdiagrammok

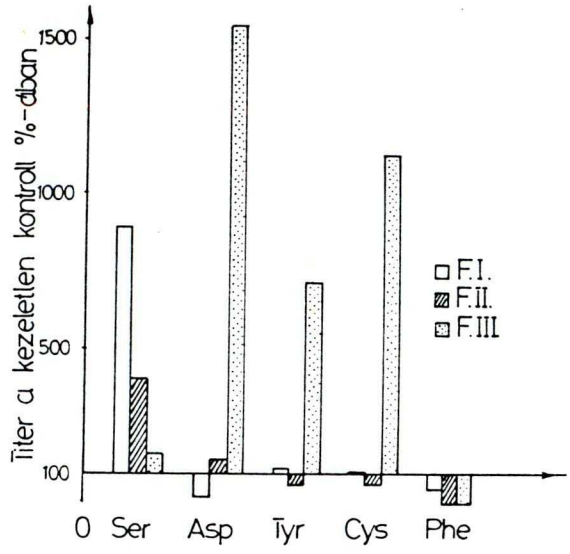
Valamennyi eddig ismertetett eredmény F II. típusú kísérletekből származott, azaz az aminosavakat mindig az IFN-nal együtt adtam a vizsgálati rendszerhez. Munkám következő szakaszában az egyes aminosavak hatását mindhárom fázisban megvizsgáltam. Az így kapott adatok segítségével az aminosavakról ún. fázisdiagrammokat készítettem, amelyek jól mutatják az antivirális titerre gyakorolt befolyásuk irányát és mértékét az egyes fázisokban. Öt ilyen fázisdiagrammot mutat be a 4. ábra a HuIFN-α-val kölcsönhatásban.



4. ábra: Aminosavak és HuIFN-α antivirális kölcsönhatásának fázisdiagrammjai.

Lényeges különbségek figyelhetők meg a korábbi kísérletek alapján egyaránt a fokozó csoportba sorolt Ser, Asp és Tyr között, ugyanígy az F II.-ben egyaránt gátló hatású Cys és Phe között. Ezek az eltérések egyes esetekben további segítséget nyújthatnak a kölcsönhatás mechanizmusának tisztázásához (ld. "Megbeszélés").

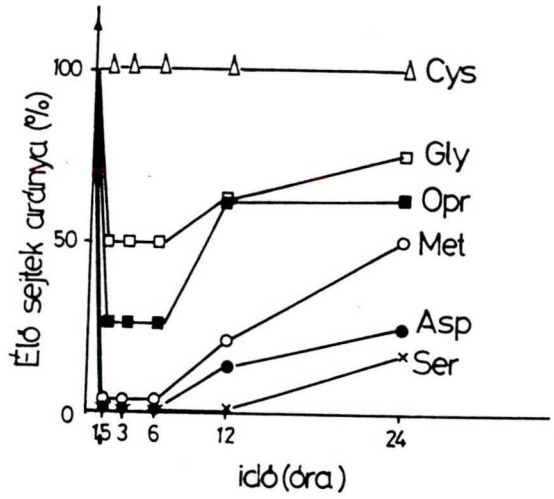
Hasonló trendeket láthatunk az α-γ szinergista komplex-szel kölcsönhatásban (5. ábra).



5. ábra: Aminosavak és HuIFN-α -γ keverék antivirális kölcsönhatásának fázisdiagrammjai.

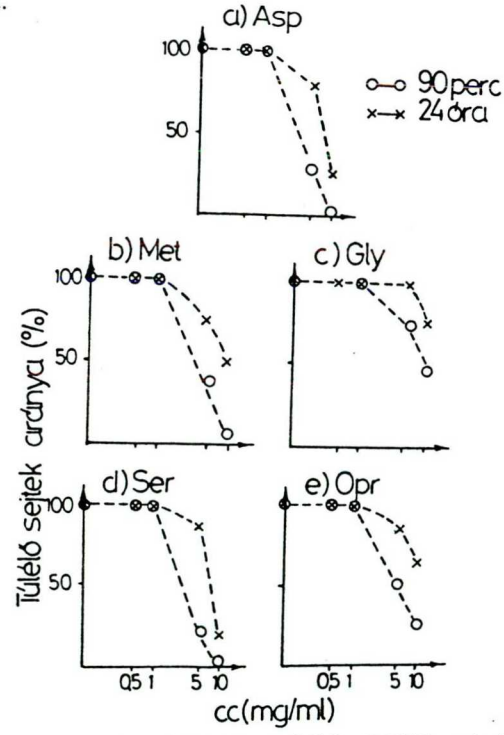
Aminosav - HuIFN-γ kölcsönhatások az első fázisban.

Nem volt módomban fázisdiagrammokon ábrázolni a HuIFN-γ és az aminosavak kölcsönhatásait, mivel a tesztsejtek előkezelése bizonyos aminosavakkal váratlan jelenséget eredményezett. A sejtek érzékennyé váltak a HuIFN-γ citotoxikus hatására: az aminosavak eltávolítása, majd a HuIFN-γ hozzáadása után 90 perccel az aminosav minőségétől és mennyiségétől függően különböző mértékű sejtpusztulást tapasztaltam. Megjegyzendő, hogy bár bizonyos aminosavak esetén (Ser, Asp) mind vitális festéssel, mind a timidin inkorporáció mérésével látszólag teljes sejtpusztulást tapasztaltam, mindig akadtak túlélő sejtek, amelyekből regeneráció indult meg. E regenerálódott sejtek azonban már teljes mértékben rezisztensnek mutatkoztak a HuIFN-γ antivirális hatására. Természetesen minden esetben ellenőriztem, hogy az aminosav előkezelés önmagában nem toxikus a tesztsejtekre.



6. ábra: Aminosavakkal potencírozott és HuIFN-γ direkt citotoxikus hatást túlélő WISH sejtek mennyisége a kezeléskezdetétől eltelt idő függvényében.

A 6. ábra hat, különböző aminosavval előkezelt sejttenyeszet élősejtszámának alakulását mutatja a HuIFN-γ hozzáadása után, az idő függvényében. Jól megfigyelhető az egyes aminosavak eltérő mértékű hatása, és a regenerációs folyamat.



7. ábra: HuIFN-γ direkt citotoxikus hatását túlélő WISH sejtek mennyisége a potencírozó aminosavak koncentrációjának függvényében a kezelés kezdetétől számított 90 perc és 24 óra múlva.

A 7. ábrán ugyancsak az élősejtszámot tüntettem fel az aminosav-koncentrációk függvényében, a HuIFN-γ hozzáadása után 90 perccel, illetve 24 órával. Úgy tűnik, a kezdeti sejtpusztulás az aminosav-koncentráció logaritmusával egyenesen arányos, míg a regenerációs képesség a növekvő koncentrációval lineárisan csökken (ez exponenciális redukciónak felel meg a szemilogaritmikus koordinátarendszerben).

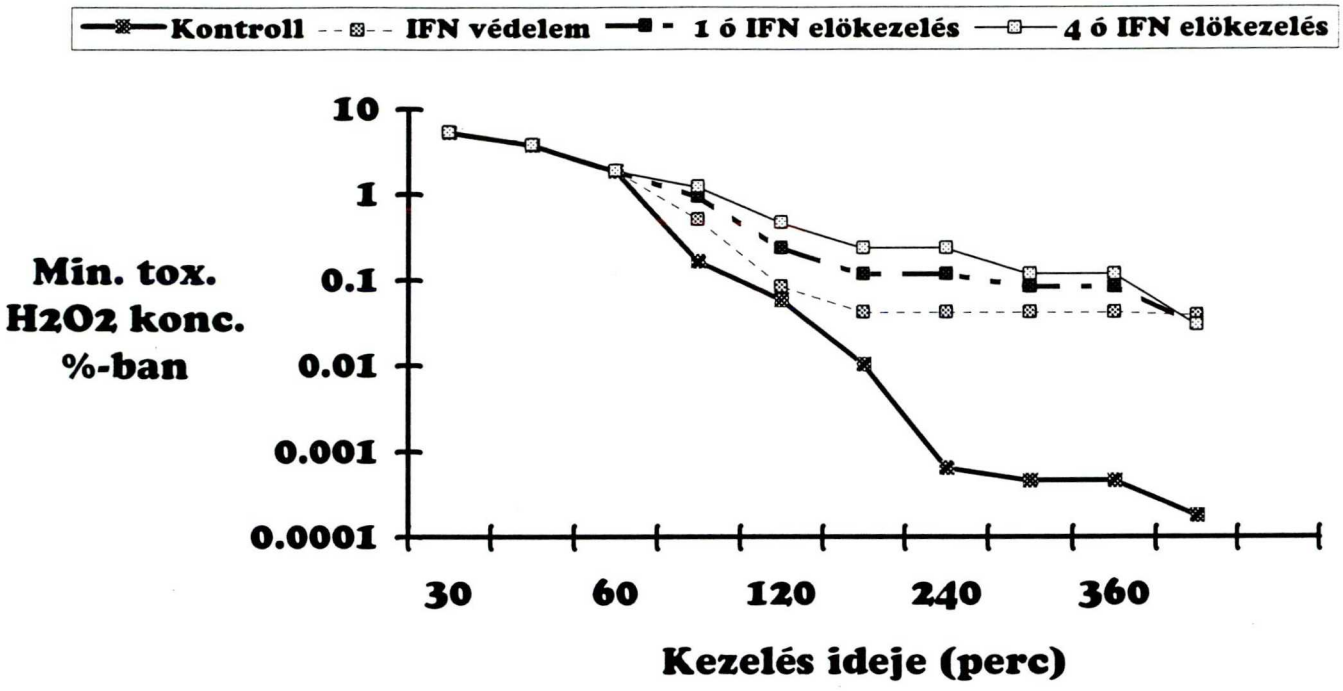
A fent leírt jelenség kapcsán további három tény érdemel figyelmet:

a/ Az aminosavaknak a HuIFN-γ citotoxicitására érzékenyítő képessége időigényes folyamat. Nem tapasztaltam citotoxicitást 1, 2, 3, 4 és 6 órás előkezelés után; a teljes hatás kifejlődéséhez legalább 24 órára volt szükség.

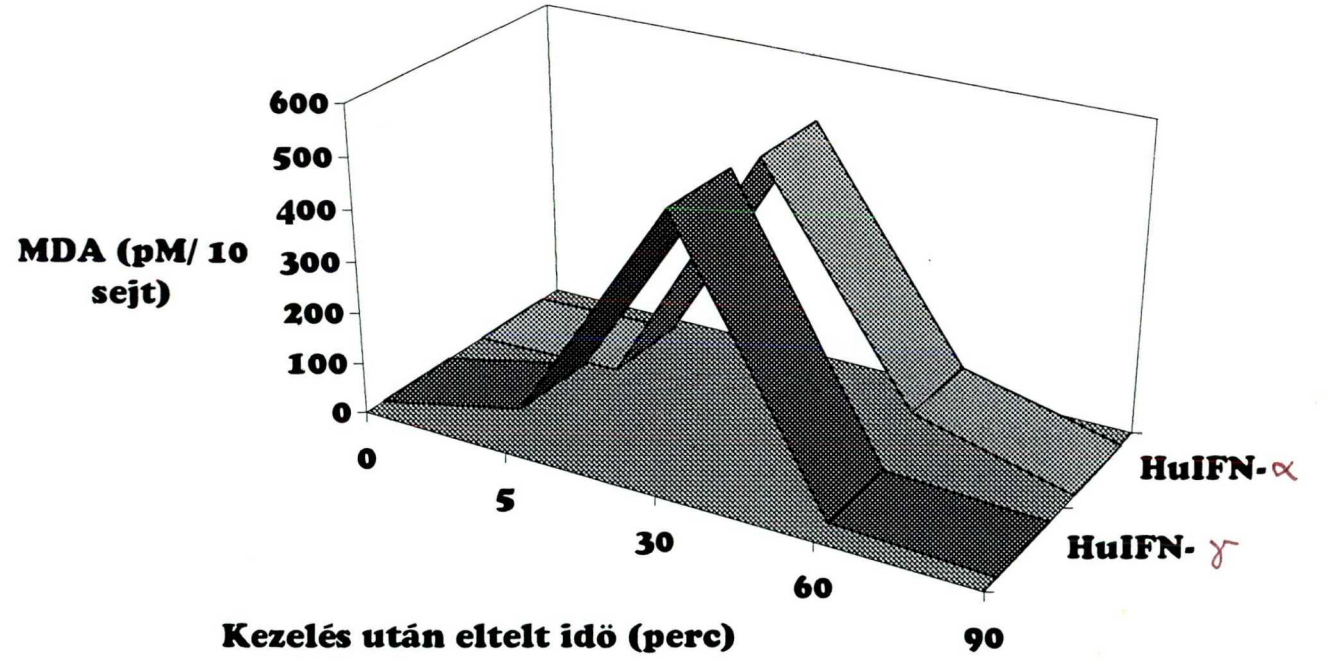
b/ A humán IFN-ok antivirális hatására rezisztens K562 sejteket nem lehetett aminosavas előkezeléssel érzékenyíteni a citotoxicitásra. Mivel a HuIFN-γ citotoxicitását túlélő sejtekből (ezeket joggal tekinthetjük "rezisztens"-nek) regenerálódott kónok szintén elvesztették valamennyi HuIFN antivirális hatásával szembeni érzékenységüket, ésszerűnek tűnik feltételezni, hogy az antivirális érzékenység és a HuIFN-γ citotoxicitására való érzékenység valamilyen módon kapcsolódó sajátságai egy adott sejtvonalnak.

c/ A HuIFN-γ citotoxikus hatása az aminosavakkal érzékenyített sejtekre teljes mértékben felfüggeszthető HuIFN-α hozzáadásával. Már az 1:5 arányú HuIFN- α : HuIFN-γ keverék sem rendelkezik toxikus hatással.

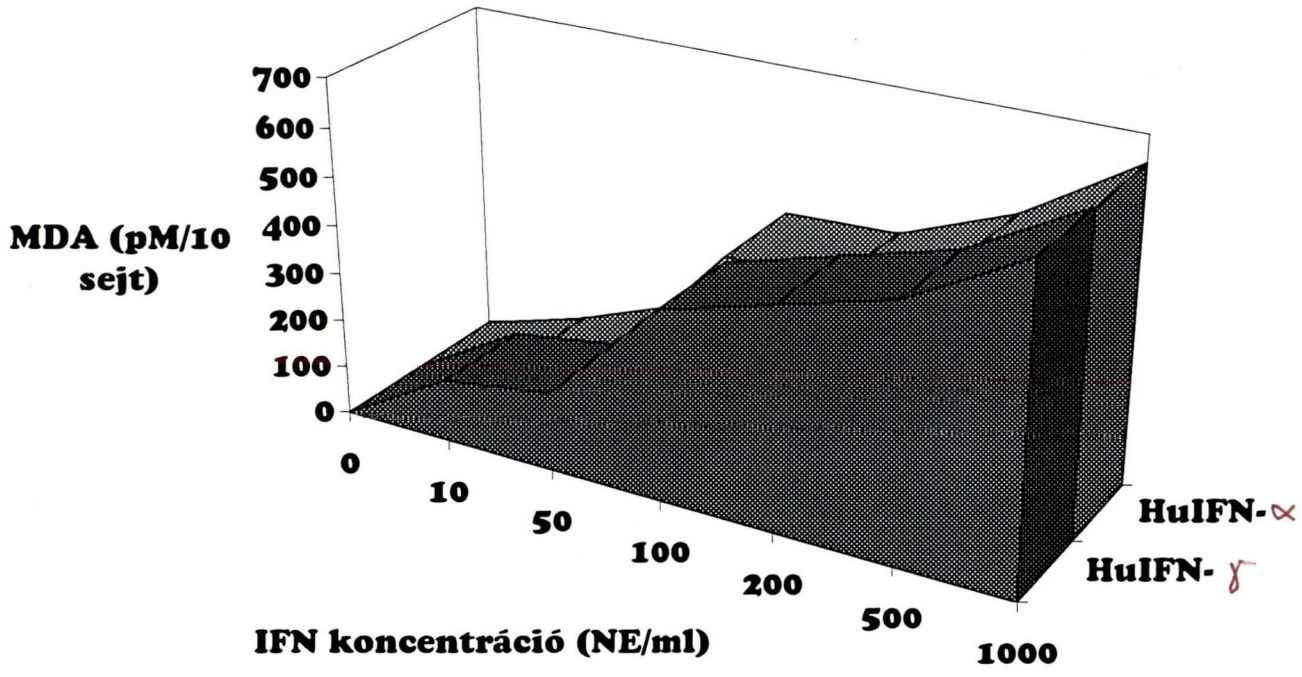
E tény magyarázata valószínűleg a két IFN-tipusnak a célsejtek scavenger enzimrendszerére gyakorolt eltérő hatásában rejlik. Irodalmi adatok szerint a HuIFN-γ fokozza a makrofágokban a hidrogén-peroxid termelődését (Nathan et al., 1985, Nathan & Tsunawaki), míg saját méréseim szerint a HuIFN-α közvetlen védelmet nyújt a H_2O_2 toxikus hatásával szemben (8. ábra).



8. ábra: HuIFN-α előkezelés és szimultán alkalmazás védő hatása Wish sejteken direkt H_2O_2 kezelés toxikus hatásával szemben.

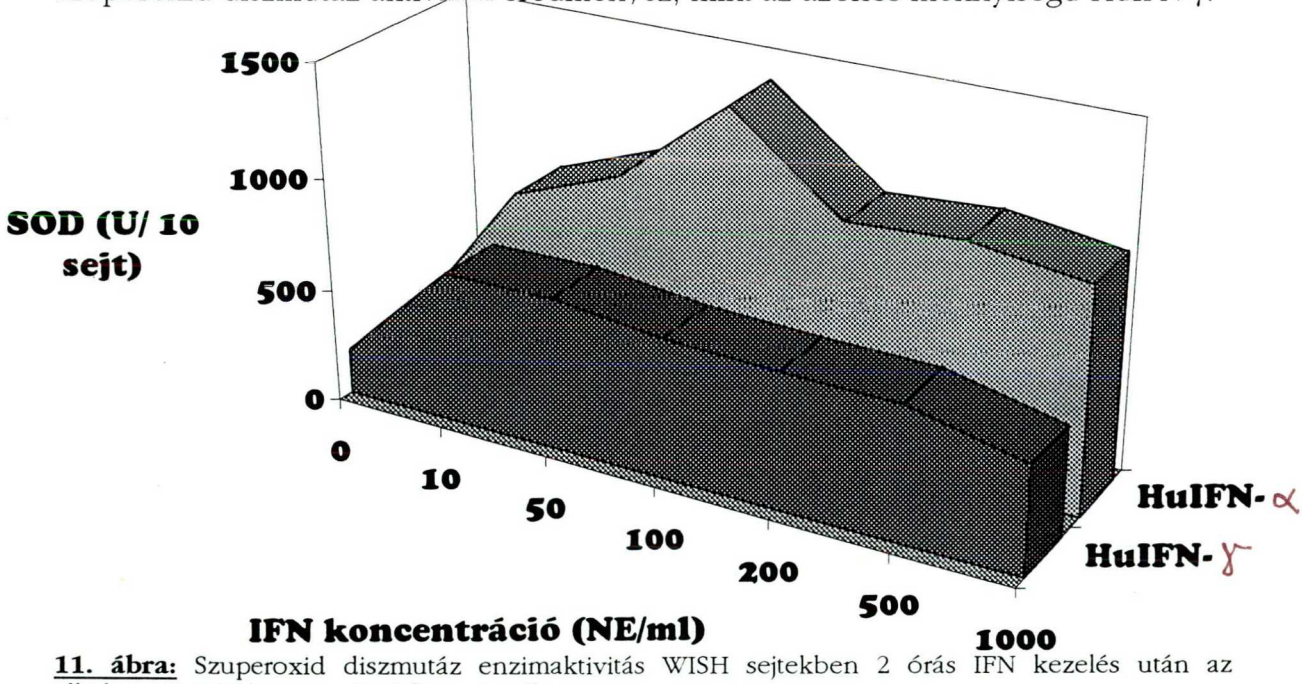


9. ábra: Membránhoz kötött lipid peroxidáz aktivitás alakulása WISH sejtekben 2 órás interferon kezelés után a kezeléstől eltelt idő függvényében. A kezelés 200 Ne/ml IFN-nal történt.

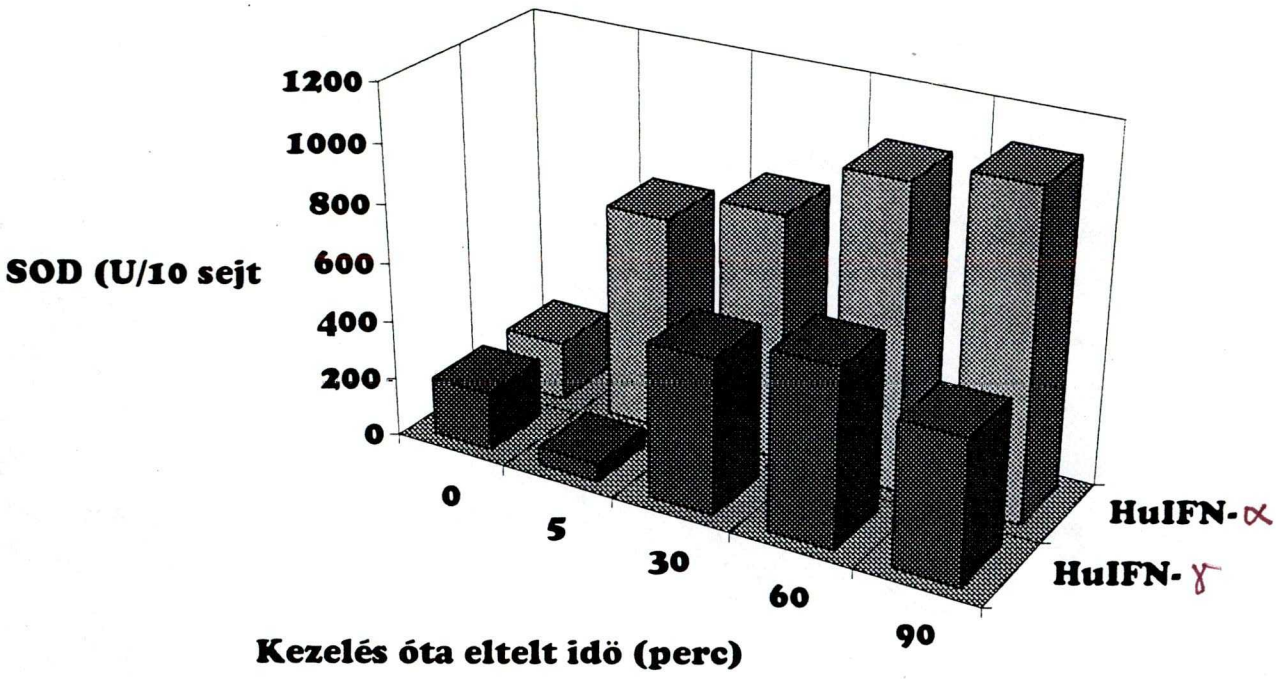


10. ábra: Membránhoz kötött lipid peroxidáz aktivitás alakulása WISH sejtekben 2 órás interferon kezelés után az alkalmazott IFN koncentráció függvényében.

A 9. és 10. ábra szerint ugyan nincs lényeges különbség a membránhoz kötött lipid peroxidázokra gyakorolt hatásukban, de a HuIFN-α kezelés szignifikánsan magasabb (11. ábra) és időben jobban elhúzódó (12. ábra) szuperoxid diszmutáz aktivitást eredményez, mint az azonos mennyiségű HuIFN-γ.



11. ábra: Szuperoxid diszmutáz enzimaktivitás WISH sejtekben 2 órás IFN kezelés után az alkalmazott IFN koncentráció függvényében.



12. ábra: Szuperoxid diszmutáz enzimaktivitás alakulása WISH sejtekben 2 órás IFN kezelés után a kezeléstől eltelt idő függvényében. . A kezelés 200 Ne/ml IFN-nal történt.

IFN - aminosav kölcsönhatások a harmadik fázisban

Az antivirális értékmérés folyamatában az F III. stádium közelíti meg leginkább az élő szervezetben a vírusfertőzés során előálló helyzetet: együtt van jelen a sejt az IFN és a vírus. Ezért az F III. típusú vizsgálatok bővebb információt nyújthatnak az IFN - aminosav kombinációk esetleges terápiás alkalmazásának lehetőségeiről.

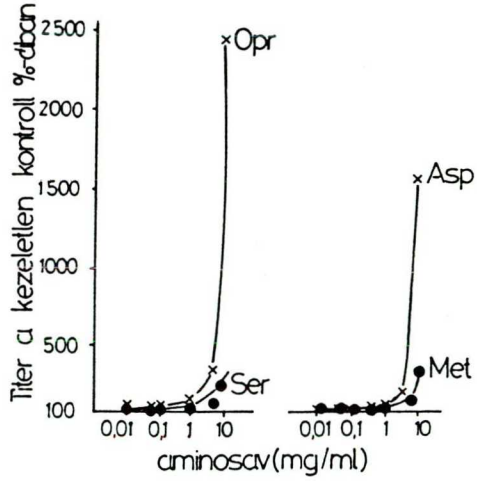
Mivel a HuIFN-γ esetén nem volt lehetőségem a fázisdiagrammok felvételére, az itt kapott F III. eredményeket a 8. táblázatban mutatom be.

Aminosavak	IFN titer a kezeletlen kontroll %-ában
Asp	2 263,0
Cys	1 381,5
Gly	184,2
Met	259,1
Opr	18 101,0
β-Phe	N.A.
Ser	598,2
Tyr	1695,1

8. Táblázat: F III. fázisban alkalmazott aminosavak hatása HuIFN-γ antivirális aktivitására.

Szükségesnek tartom felhívni a figyelmet az F II.-ben közömbösnek bizonyult Tyr, illetve gátló jellegü Cys és Opr (ld. 2. táblázat) kiemelkedően magas antivirális titer fokozó hatására.

A 13. ábra az F III. kölcsönhatások alakulását mutatja be az aminosavak koncentrációjának függvényében. Mint az ábráról megállapítható, itt is elengedhetetlen a magas koncentrációk alkalmazása számottevő változások eléréséhez.



13. ábra: Aminosavak antivirális aktivitást moduláló hatásának dózisfüggése az értékmérés III. fázisában alkalmazva.

F III.-ban is megvizsgáltam egyes aminosav-párok együttes hatását az e fejezet B. pontjában részletezett kísérleti összeállításban. A kapott eredményeket a 9. táblázatban foglaltam össze. Az adatokból kitünik, hogy a leghatásosabb

aminosavak antivirális titer növelő képessége - az F II. stádiummal ellentétben - F III.-ban már nem fokozható tovább párkombinációk alkalmazásával.

Aminosavak	IFN titer a kezeletlen kontroll %-ában						
	Asp	Cys	Gly	Met	Opr	Ser	Tyr
Asp	1722						
Cys	542	527					
Gly	161	192	143				
Met	221	362	313	283			
Opr	395	249	157	249	3424		
Ser	664	322	209	352	383	221	
Tyr	124	197	114	296	296	99	1568

9. Táblázat: F III. fázisban alkalmazott aminosav párkombinációk hatása a HuIFN-α antivirális aktivitására.

Fáziskombinációs vizsgálatok.

Az aminosav-párok azonos fázisban történő együttes tesztelése mellett kipróbáltam a különböző aminosavak egymás után, eltérő fázisban történő alkalmazását is.

F.III. / F.II.	IFN titer a kezeletlen kontroll %-ában							
	Asp	Cys	Gly	Met	Opr	Ser	Tyr	-
Asp	15395	226	174	147	538	8605	269	147
Cys	586	329	104	174	697	174	113	82
Gly	160	226	120	67	116	220	160	158
Met	190	190	120	116	123	160	147	42
Opr	349	293	104	123	349	349	147	122
Ser	1279	220	147	349	587	2790	190	276
Tyr	403	269	135	586	269	493	226	171
-	1228	527	143	283	3424	221	157	100

10. Táblázat: Aminosav-párok szukcedán , II. - III. fázisban történő alkalmazásának hatása HuIFN-α antivirális titerére.

A 10. táblázat hat aminosav F II. - F III. kombinációival kapott eredményeket mutat be. Kiemelkedő jelentőségüek az Asp-Asp, Asp-Ser és Ser-Ser kombinációk, melyek bármelyik egyfázisú, egykomponensü kontrollhoz

képest több mint egy nagyságrendnyi antivirális titernövekedést eredményeznek. A kezeletlen kontrollokhoz képest 80-150-szeres antivirális hatásfokozódás is elérhető.

A 11. táblázat tanúsága szerint az F I.-ben alkalmazott aminosav (Asp; F I.-ben gátol, a kapott titer a kezeletlen kontroll 45 %-a; ld. 5. ábra) hatása egyértelműen dominál az F II.-ben hozzáadottak felett. Ez a dominancia kevésbé érzékelhető az F I. - F III. kombinációkban, a mért értékek inkább az F II. - F III. adatok trendjére emlékeztetnek, bár a változások mértéke jóval kisebb. Nem kizárt, hogy itt inkább a sejtek által az F I.-ben felvett aminosavak F II. típusú hatása érvényesül.

Aminosav	Titerek a kezeletlen kontroll %-ában	
	F II.	F III.
Asp	32.0	734.4
Cys	27.3	518.1
Gly	39.1	130.2
Met	23.3	335.6
Opr	14.9	972.8
Ser	39.1	519.4

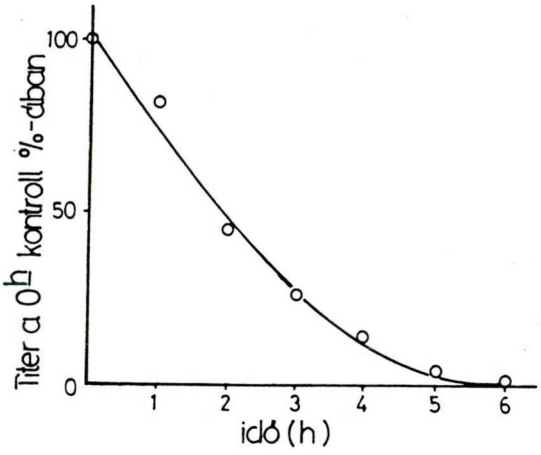
11. Táblázat: Aminosavak hatása II. illetve III. fázisban, I. fázisban alkalmazott aszparaginsavat követően.

Aminosavak befolyása a késleltetett antivirális hatásra.

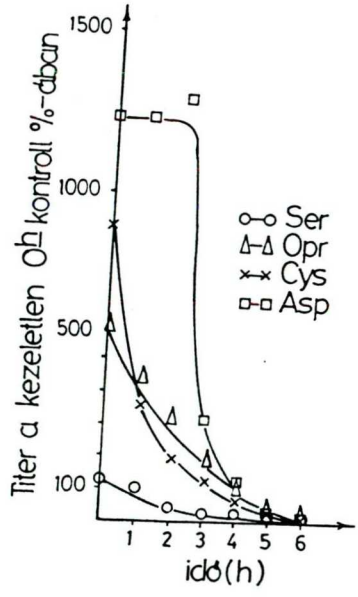
Bár nem tartozik szorosan az antivirális értékmérés fázisaihoz, mégis célszerű itt tárgyalni a titrálás egy speciális kivitelezési módját, amikor először vírussal fertőzik meg a tesztsejteket, majd ezután adják hozzá a rendszerhez az antivirális anyagot. Ez a módszer kiválóan alkalmazható olyan antivirális anyagok hatásmechanizmus meghatározására, amelyek a vírus szaporodását egy ponton gátolják, de a többszörös támadáspontú IFN-ok esetében nem használatos. Mégis hasznosnak tartottam ebben a kísérleti rendszerben is megvizsgálni az aminosavak befolyását annak kiderítésére, hogy az IFN

antivirális hatását általában (celluláris funkciókon keresztül), vagy egy meghatározott ponton (virális mechanizmus gátlásának fokozása) módosítják.

Az antivirális értékméréshez használt VS vírus teljes replikációs ciklusa 6 órát vesz igénybe. Ezen időtartam alatt a HuIFN-α antivirális aktivitása - a több támadáspontú hatásmechanizmusnak megfelelően - hiperboloid görbe mentén csökken (14.ábra).



14. ábra: HuIFN-α antivirális aktivitása a vírusfertőzés után alkalmazva a fertőzéstől eltelt idő függvényében.



15. ábra: Vírusfertőzéssel egyszerre adott aminosavak hatása a vírusfertőzés után különböző időpontokban adott HuIFN-α antivirális aktivitására a fertőzés és az IFN alkalmazás között eltelt idő függvényében.

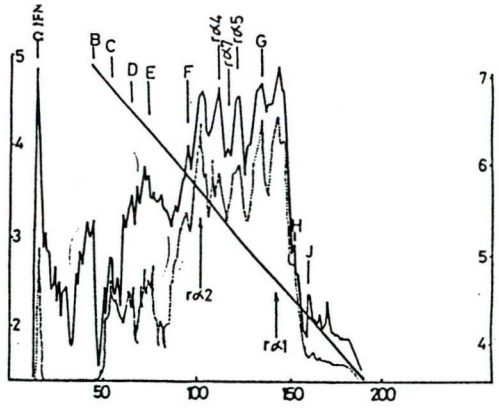
Hasonló kinetikát követnek a 15. ábra tanúsága szerint az aminosavakkal inkubált IFN minták is, kivéve az Asp tartalmú mintákat. Asp jelenlétében az antivirális titer az első két órában nem változik, ami - figyelembe véve a VSV replikációs ciklusát (Friedman et al.) - arra utal, hogy az Asp a HuIFN-alfának a vírus nukleinsav-szintézisét gátló hatását fokozza. Ez a feltételezett mechanizmus jó összhangban van az Asp fázisdiagrammjával is (ld. "Megbeszélés").

Az interferon - aminosav kölcsönhatások gyakorlati alkalmazásai.

Bár a fentebb ismertetett jelenségek jobbára az alapkutatás számára jelenthetnek új segédeszközt az IFN-ok antivirális hatásmechanizmusának jobb megértéséhez, néhány esetben jó gyakorlati módszernek bizonyultak más IFN-kutatási területen is.

HuIFN-α altípusok jellemzése aminosav-IFN kölcsönhatásokkal.

Munkacsoportunk témái közé tartozik a természetes HuIFN-α készítmények altípusainak szétválasztása kromatofókuszál, a készítmények jellemzése altípus-összetételük alapján, illetve az egyes altípusok jellemzése.



16. ábra: EGIFERON® natív HuIFN-α preparátum kromatofókuszálással meghatározott altípus-összetétele. Az x tengelyen a kromatofókuszáló oszlopról lejött frakció sorszámát ábrázoltam. A bal oldali függőleges tengelyen az aktuális frakció antivirális titerének logaritmusa, míg a jobb oldali tengelyen a pH értéke látható. A futtatás pH-meredekségét az ábrán a balról jobbra süllyedő egyenes mutatja.

A 16. ábrán egy kromatofókuszálás segítségével készült jellegzetes altípus-diagramm látható (EGIFERON®, magyar natív HuIFN-α készítmény). Egyes altípusokat izoelektromos pontjuk alapján a megfelelő rekombináns altípusok segítségével azonosítani tudtunk, a betűvel jelölt csúcsok azonosítását azonban egyenlőre még nem tudtuk megoldani. Ezekben az esetekben is el kell mindemellett dönteni, hogy az egyes azonosítatlan antivirális aktivitási csúcsok valóban önálló, fizikokémiailag és biológiai hatásaik alapján elkülöníthető altípusok-e? Számos egyéb vizsgálat mellett jól használható módszer e célra az antivirális aktivitások aminosav-érzékenységének összehasonlítása.

Ami-nosav	Antivirális titer az egyes altípusok önálló kontroll-titerének %-ában									
	ω IFN	"F" csúcs	α2	α4	α7	α5	"G" csúcs	α1	"H" csúcs	Natív
Asp	31.9	111.9	118.5	103.2	55.8	103.2	187.5	109.8	62.7	148.4
Cys	27.2	74.8	91.7	91.8	67.7	59.8	81.8	31.8	65.0	82.0
Gly	39.0	144.6	208.8	214.5	250.0	131.7	164.9	81.8	193.2	212.2
Met	22.8	153.0	148.7	161.4	227.1	67.7	109.3	44.6	130.0	31.7
Opr	15.4	123.5	152.9	172.3	249.4	98.6	130.2	44.0	173.9	146.2
Ser	39.0	185.3	156.4	119.4	154.6	178.5	260.4	138.8	163.1	243.0
Tyr	65.1	92.0	136.6	99.1	222.0	94.8	109.3	61.5	82.4	149.2

12. Táblázat: Aminosav-érzékenységbeli eltérések a natív HuIFN-α (EGIFERON) altípusai között. II. fázisú mérések.

Ami-nosav	Antivirális titer az egyes altípusok önálló kontroll-titerének %-ában									
	ω IFN	"F" csúcs	α2	α4	α7	α5	"G" csúcs	α1	"H" csúcs	Natí
Asp	734.1	1695.1	1795.9	2262.7	1467.2	1131.4	1131.4	457.7	582.3	1722.
Cys	519.0	238.6	231.3	309.8	213.8	282.8	341.4	248.3	218.9	527.
Gly	130.0	178.2	168.2	218.1	118.9	141.6	218.2	64.8	154.2	143.
Met	336.3	246.4	417.5	478.4	525.6	308.4	354.2	208.8	319.3	283.
Opr	6979.1	1031.0	1451.4	2382.2	1090.5	1754.2	1650.6	659.4	852.5	3425.
Ser	519.0	717.8	561.8	558.2	534.9	154.2	168.2	141.4	309.4	271.
Tyr	88.2	255.4	459.4	559.0	450.6	225.5	150.0	84.5	122.7	1568.

13. Táblázat: Aminosav-érzékenységbeli eltérések a natív HuIFN-α (EGIFERON) altípusai között. III. fázisú mérések.

A 16. ábrán látható készítmények nagy aktivitású, ún. "major" csúcsainak összehasonlítását mutatja be a 12. (F II.) és a 13. (F III.) táblázat. A mérési adatok egyértelműen bizonyítják, hogy az eddig még azonosítatlan antivirális aktivitási csúcsok (F, G) jellegzetes, egyéni aminosav-érzékenységi mintázattal rendelkeznek, ami eltér mind a többi altípustól, mind a természetes keveréktől, így önálló altípusoknak tekinthetők. Egyszersmind az is megállapítható, hogy az aminosav-érzékenységi mintázat vizsgálata az altípusok jellemzésére és a természetes keverékekből izolált altípusok azonosítására jól használható eljárás.

Kis mennyiségü IFN kimutatása aminosavas érzékenyitéssel.

Egy másik kutatási területünk kapcsán gyakran szükséges különböző betegségekben szenvedő (urémia, SLE, Sjögren-szindróma, rheumatoid arthritis, stb) páciensek IFN-termelő képességének vizsgálata, illetve a szérumukban esetleg jelen lévő spontán termelődött IFN kimutatása. Sok esetben olyan kis mennyiségű IFN-ról van szó, hogy az általunk alkalmazott értékmérő

módszerrel nem mutatható ki. Máskor a vizsgált szérum töményen toxikus a tesztsejtekre, kihígítva pedig IFN tartalma a kimutathatóság határa alá csökken. Ilyenkor is bizonyítani lehet azonban az IFN jelenlétét, ha megfelelő aminosavas érzékenyitést használunk.

Minta (beteg) kódja	Kontroll titer	titer 10 mg/ml Ser jelenlétében	Ser-kezelt / kontroll titer(%)
17/2α	<714(n.m)*	8076	-
17/5α	1698	22842	1345,2
17/7α	1009	22842	2263,8
17/8α	1009	25639	2541,0
17/9α	2855	25639	898,0
17/10α	2401	32303	1345,4
17/Iα	1428	6791	475,6
17/IIα	1698	16151	951,2
17/IIIα	< 714(n.m.)	1162	-
17/IVα	2544	22842	897,9
17/Vα	1200	16151	1345,9
17/VIIα	849	11421	1345,2
17/Xα	< 714(n.m.)	6410	-
23/6α	5070	34109	672,8
23/10α	4482	25352	565,6

14. Táblázat: Alacsony IFN-α termelőképességű urémiás betegek IFN-jának potencírozása szerinnel.
*n. m.: **nem mérhetõ** - a titer a mérés érzékenységi határa alatt marad.

A 14. táblázat alacsony, illetve ki nem mutatható HuIFN-α, a 15. táblázat pedig HuIFN-γ titerek amplifikálását mutatja be F. II.-ben alkalmazott Ser segítségével.

Minta (beteg) kódja	Kontroll titer	titer 10mg/ml Ser jelenlétében	Ser-kezelt / kontroll titer(%)
24/1γ	53	8113	15307,5
24/3γ	< 38(n.m)*	1705	-
24/6γ	90	8113	9014,4
24/7γ	58	6822	11762,0
24/9γ	106	8006	7552,8
24/10γ	< 38(n.m.)	2868	-
24/IIγ	73	2412	3304,1
24/IVγ	< 38(n.m)	1014	-
24/VIγ	53	3411	6435,8
24/VIIIγ	< 38(n.m.)	1434	-

15. Táblázat: Alacsony IFN-γ termelőképességű urémiás betegek IFN-jának potencírozása szerinnel.
*n. m.: **nem mérhetõ** - a titer a mérés érzékenységi határa alatt marad.

A korábbi adatokkal összevetve kitűnik, hogy alacsony titerek esetén sokkal nagyobb mértékű fokozás érhető el, de az is kiderül a két táblázatból, hogy a fokozás nagysága nem egységes, nem függ sem a minta típusától, sem a kiindulási titertől. Igy ez a módszer csak a kimutathatóság határa alatti titerű mintákban alkalmas az IFN jelenlétének bizonyítására, kvantitatív mérésekre nem használható. Ennek ellenére prognosztikai értékű eljárás lehet mind az autoimmun kórképekben a szérum IFN-tartalmának kimutatására (Borecky et al., Hooks et al., Preble et al., Sherertz, Waschke & Diezel), mind az urémiás betegek IFN-termelőképességének vizsgálatára (Gál et al. 1981,a b, Sanders et al., Tóth S. et al. 1985)

IFN - aminosav kölcsönhatások homológ és heterológ antivirális értékmérő rendszerekben.

Vizsgálatok nem humán homológ rendszerekben.

Eddigi eredményeim kizárólag homológ humán rendszerre vonatkoznak (emberi IFN humán sejtvonalon kifejtett hatása). Természetesen fontos volt tisztázni, hogy a fenti jelenség egyéb fajok IFN-jaira is érvényes-e? A kérdés eldöntésére az alábbi modelleket választottam ki: sertés (Po) IFN-α PK (sertés vese) sejtvonalon, egér (Mu) IFN-ß L929 sejtvonalon, valamint ConA indukált csirke interferon primer embrionális csirke fibroblaszt sejteken. Az első két rendszerben VSV-t, a harmadikban pedig encephalomyocarditis (EMC) virust használtam challenge-re. A 16. táblázatban összehasonlitottam a homológ humán és sertés rendszerben α IFN-nal kapott eredményeket 11 aminosavra vonatkozóan. Az adatok tanúsága szerint a homológ sertés rendszerben egyedül az Asp bizonyult fokozó hatásúnak.

Aminosav	HuIFN-α/WISH (titerek a kezeletlen kontroll %-ában)	PoIFN-α/PK (titerek a kezeletlen kontroll %-ában)
Asp	150.5	241.9
Cys	82.0	81.1
Gly	211.2	30.9
His	N. A.*	14.6
Opr	146.2	N. A.
Ser	259.2	12.5
Tyr	151.5	77.7
Val	98.3	88.2

16. Táblázat: Humán és sertés IFN-α érzékenysége aminosavak antivirális titert moduláló hatására homológ sejteken: összehasonlítás.
N.A.*: nincs antivirális aktivitás.

Aminosav	Hu-IFN-β/WISH (titerek a kezeletlen kontroll %-ában)	MuIFN-β/L929 (titerek a kezeletlen kontroll %-ában)
Asp	143.5	147.7
Gly	132.2	42.7
D-Glu	160.3	40.3
L-Glu	37.1	10.1
His	N. A.*	2.1
Met	N. A.	57.0
Opr	73.5	10.1
Ser	425.6	143.5
Tyr	97.8	47.9

17. Táblázat: Humán és egér IFN-β érzékenysége aminosavak antivirális titert moduláló hatására homológ sejteken: összehasonlítás.

A 17. táblázatban a humán és az egér IFN-ß már közel azonos módon viselkedik,bár a homológ egér rendszerben kisebb mértékű fokozásokat tapasztalunk. Homológ csirke rendszerben egyedül a Ser-t próbáltam ki. Itt ugyancsak szignifikáns fokozó hatást észleltem, ami mértékében a homológ humán rendszerben kapott HuIFN-α értékhez állt legközelebb (18. táblázat).

IFN	Sejttipus - aminosav							
	csirkeembrió fibroblaszt		PK		L929		WISH	
	Ser	Asp	Ser	Asp	Ser	Asp	Ser	Asp
Csirke-γ	200.0	N. t.	-	-	-	-	-	-
Po-α	-	-	12.5	241.9	-	-	-	-
Egér-β	-	-	-	-	147.7	143.5	-	-
Hu-α	-	-	-	-	-	-	243.0	148.2
Hu-β	-	-	-	-	-	-	425.6	143.5
Hu-γ	-	-	-	-	-	-	463.2	225.0

18. Táblázat: Aszparaginsav és szerin hatása különböző fajú és típusú IFN-okra homológ rendszerekben.

Aminosav	HuIFN-α/WISH (titerek a kezeletlen kontroll %-ában)	PoIFN-α/PK (titerek a kezeletlen kontroll %-ában)
Asp	1722.6	9870.1
Cys	527.0	66.9
Gly	143.2	8751.9
His	N. A.*	N. A.
Opr	3425.4	9865.0
Ser	271.6	259.4
Tyr	1568.3	137.7
Val	99.7	109.1

19. Táblázat: Humán és sertés IFN-α érzékenysége F III. fázisban alkalmazott aminosavak antivirális titert moduláló hatására homológ sejteken: összehasonlítás.
N.A.*: nincs antivirális aktivitás.

Valamennyi e pontban eddig ismertetett kísérletet F II. fázisban végeztem. A 19. táblázatban viszont a homológ sertés rendszerben kapott F III. fázisú adatokat hasonlítottam össze a humán eredményekkel. Itt már lényegesen több esetben találtam fokozó hatást a sertés rendszerben, mint az F II. kísérletekben. A humán mérésekkel összevetve feltűnik, hogy a PoIFN-α antivirális hatása sokkal erősebben fokozható. Fajspecifikus eltérések észlelhetők a Cys, Gly és Tyr hatásokban.

Vizsgálatok heterológ rendszerekben.

További lényeges információt nyújt a jelenség természetére vonatkozóan, hogy az aminosavak által előidézett antivirális hatás-moduláció milyen mértékben követi az egyes interferonok fajok közötti keresztreakcióit. Ezért a HuIFN-α-val és a PoIFN-α-val heterológ rendszerekben is megvizsgáltam F II. fázisban az igéretesebb aminosav-IFN kölcsönhatásokat.

Aminosav	Antivirális aktivitás a névleges titer %-ában		
	CV1	*MDBK*	*PK*
Asp	51.4	147.1	17.6
Cys	56.2	109.0	N. T.**
Glu	44.6	N. A.*	N. T.
His	56.2	citotoxikus	17.6
Met	48.5	126.0	54.0
Opr	63.0	N. A.	N. T.
β-Phe	N. A.	citotoxikus	N. A.
Ser	77.2	7.4	N. A.
Tyr	97.2	91.8	99.0

20. Táblázat: Aminosavak hatása HuIFn-α antivirális titerére heterológ sejteken: F II. fázisú kísérlet.
N.A.*: nincs antivirális aktivitás.
N. T.**: nem teszteltem

A 20. táblázatból kiderül, hogy a HuIFN-α hatását egyedül aszparaginsavval sikerült kis mértékben fokozni, ezt is csak bovin (MDBK) sejteken. A gátló hatásokról egyenlőre nem lehet eldönteni, hogy specifikus vagy aspecifikus jellegűek, de még igy is figyelmet érdemel a szerinnel MDBK-n és PK-n kapott feltűnően erős gátlás. Meglepően ellentétes hatásokat tapasztaltam viszont a PoIFN-α/MDBK rendszerben.

Aminosavak	Antivirális aktivitás a névleges titer %-ában	
	MDBK	***WISH***
Asp	314.6	309.9
Cys	81.1	34.0
Gly	N. A.*	9.0
His	10.7	N. A.
Opr	667.9	8.3
Ser	99.3	16.3
Tyr	250.7	55.9
Val	229.4	29.9

21. Táblázat: Aminosavak hatása sertés IFN-α antivirális titerére heterológ sejteken: F II. fázisú kísérlet.
N.A.*: nincs antivirális aktivitás.

Mint a 21. táblázat mutatja, a sertés α IFN antivirális hatása lényegesen több aminosavval és nagyobb mértékben fokozható bovin sejteken, mint a homológ rendszerben. Nem találtam ugyanakkor lényeges eltérést a homológ sertés és a PoIFN-α/WISH rendszerek között.

Aminosavak	Antivirális aktivitás a névleges titer %-ában		
	PK	***MDBK***	***WISH***
Asp	9870.1	27776.2	3833.0
Cys	66.	16480.1	5420.7
Gly	8751.9	4120.0	110.5
His	N. A*.	N. A.	N. A.
Opr	9870.1	12.8	145.0
Ser	259.4	27776.2	6536.3
Tyr	137.7	944.5	493.2
Val	109.1	458.8	219.7

22. Táblázat: Aminosavak hatása sertés IFN-α antivirális titerére homológ és heterológ sejteken: F III. fázisú kísérlet.
N.A.*: nincs antivirális aktivitás.

Az F II. adatokhoz hasonló erős keresztreakciót mutatnak MDBK-n az F III. fázisú PoIFN-α mérések(22. Táblázat), de ebben az esetben már a humán (WISH) sejteken is jelentősen fokozható a PoIFN-α antivirális hatása egyes aminosavakkal. Humán sejteken a fokozó aminosavak spektruma megegyezik a HuIFN-α méréseknél tapasztalttal, de a fokozás mértéke a PoIFN-ra lényegesen magasabb. Az MDBK sejtek reakciója egyes aminosavak esetében a humán sejtekhez áll közelebb (Asp, Cys, Ser, Tyr, Val), míg a Gly-re a PK sejtekhez hasonlóan reagál. Specifikus különbségekre utal az Opr-válasz jellege, valamint a Cys- és a Ser-reakció mértéke.

Aminosavak és a humán interferonok nem antivirális hatásai.

Az interferon - aminosav interakciók elemzése során nem szabad figyelmen kívül hagynunk az interferonok egyéb, nem antivirális hatásait sem. E hatások közül -a legerősebb antivirális modulációt mutató aminosavakat alkalmazva- a két legjellegzetesebbet vizsgáltam meg.

Aminosav	Sejtosztódás gátlása a kezeletlen kontroll %-ában.	
	Aminosav kontroll	*HuIFN-α + aminosav*
Asp	35.5	48.9
Met	35.5	48.2
β-Phe	48.6	53.3
Ser	47.1	33.6

23. Táblázat: Aminosavak befolyása a HuIFN-α antiproliferatív hatására.

A 23. táblázat bizonysága szerint az alkalmazott aminosavak 10 mg/ml koncentrációban aspecifikus gátlást fejtenek ki a célsejtek (HEp2) proliferációjára. Ez a hatás szignifikánsan magasabb, mint a 200 NE/ml HuIFN-α által okozott specifikus gátlás, és nem befolyásolható számottevően az együttes kezeléssel. Ha ennél alacsonyabb aminosav-koncentrációkat alkalmazunk, amelyek már nem okoznak önmagukban szignifikáns gátlást, akkor az együttes kezelés során az interferon eredetű specifikus gátlást az aminosavak nem képesek befolyásolni.

Az interferonok immunmoduláns hatásai közül a leginkább standardizált, legjobban vizsgálható NK (természetes ölősejt) stimuláló hatást választottam reprezentánsként.

Inkubációs közeg	**Citotoxicitási % 50 : 1 effektor : célsejt aránynál**		
	Asp	***β–Phe***	***Ser***
Tápfolyadék kontroll	22.58	22.58	26.53
Aminosav kontroll	21.38	24.66	22.79
HuIFN-α kontroll	57.51	57.51	51.48
HuIFN-α + aminosav	44.08	46.96	50.53

24. Táblázat: Aminosavak hatása a HuIFN-α NK-sejt aktivitást stimuláló képességére.

Mint azt a 24. táblázat adatai mutatják, a vizsgált aminosavak önmagukban nem rendelkeznek NK stimuláló képességgel. 200 NE/ml HuIFN-α-val együtt alkalmazva az aminosavak enyhén, nem szignifikáns mértékben gátolják az interferon NK aktivitást fokozó hatását.

A kérdés egyértelmű eldöntéséhez természetesen valamennyi aminosav kipróbálása szükséges lenne mind a két fenti kísérleti rendszerben, mind pedig egyéb nem antivirális interferon-hatások esetén, de az eddigi adatok alapján úgy tűnik, hogy az interferon - aminosav kölcsönhatások kevésbé, vagy egyáltalán nem érvényesülnek az interferonok nem antivirális hatásaiban.

Aminosav - interferon kölcsönhatások egyéb vírusok esetében.

Egyszerübb RNS-vírus modell: a poliovírus.

Eddig ismertetett antivirális vizsgálataimat olyan rendszerekben végeztem, ahol -egy kivétellel (E. 1. pont, homológ csirke rendszer, EMC vírus)- minden esetben VSV-t (vesicularis stomatitis virus) alkalmaztam teszt- vírusként. Nagyon lényeges dolog eldönteni, hogy a fentebb ismertetett jelenségek egyéb vírusok esetében is érvényesek, vagy kizárólag az interferonok VSV elleni hatására jellemzőek.

A VSV meglehetősen komplex, peplonnal és saját enzimekkel is rendelkező RNS-vírus. Ellenőrző kísérleteimben egy lényegesen egyszerűbb modellre tértem át, a Picornavírusok családjába tartozó poliovírust alkalmaztam. A poliovírus HuIFN-ra érzékeny (17 NE/ml 50% gátlást eredményez a vírushozamban), a tesztsejtként használt WISH sejtekben endogén interferont nem indukál, így a kísérleti rendszerben a vírussal szemben felmerülő követelményeknek kiválóan megfelel. Vizsgálataimban egy vad (Mahony) és egy attenuált (LSC 2 ab) vírustörzset használtam fel.

IFN +Aminosav	Antivirális titer az aminosav nélküli IFN-kontroll %-ában	
	Mahony	LSC2 ab
HuIFN-α + Asp	50.0	47.3
HuIFN-α + Cys	89.7	98.0
HuIFN-α + Met	43.2	50.0
HuIFN-α + Phe	N. A.*	N. A.
HuIFN-α + Ser	25.0	17.1
HuIFN-α + Tyr	100.0	89.7
HuIFN-γ + Asp	35.4	33.0
HuIFN-γ + Cys	96.6	104.1
HuIFN-γ + Met	58.8	68.4
HuIFN-γ + Phe	N. A.	N. A.
HuIFN-γ + Ser	100.0	89.7
HuIFN-γ + Tyr	100.0	93.5

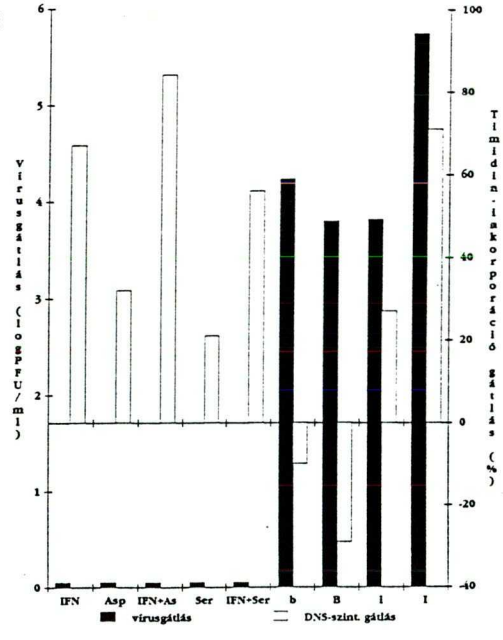
25. Táblázat: Aminosavak hatása HuIFN-α és -γ Poliovírus-ellenes aktivitására.
N.A.*: nincs antivirális aktivitás.

A 25. táblázat tanúsága szerint sem a HuIFN-α sem a HuIFN-γ poliovírus-ellenes hatása nem fokozható a kipróbált három (a VSV-ellenes hatást karakterisztikusan erősítő) aminosav egyikével sem, ha azokat F II. fázisban alkalmazzuk. A táblázatból látható szignifikáns gátlások (Ser - HuIFN-α, illetve Asp mindkét IFN-nal) azonban arra mutatnak, hogy e rendszerben is jelen vannak a vírusszaporodást befolyásoló aminosav-specifikus kölcsönhatások.

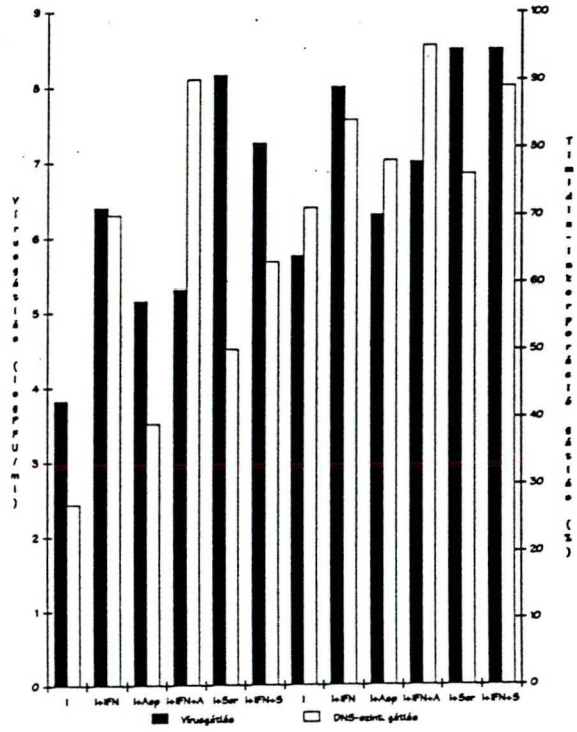
DNS-vírus modell: a HSV-1.

Lényegesen nehezebbnek bizonyult vizsgálataim további kiterjesztéséhez megfelelő DNS-vírust találni. Számos kompromisszum árán végül a Herpes

simplex vírus 1 tipusa mellett döntöttem. Az alkalmazott kísérleti rendszerben a vírus ugyan kevésbé volt érzékeny HuIFN-ra (TCID 50: 2000 NE/ml HuIFN-α ill. 500 NE/ml HuIFN-γ), de a HEp2 sejtekben nem indukálta endogén IFN keletkezését. Kísérleteimben szuboptimális IFN-koncentrációkat alkalmaztam (1000 NE/ml HuIFN-α ill. 250 NE/ml HuIFN-γ) azon meggondolásból, hogy a szignifikáns vírusgátlás megjelenése az adott aminosav szinergizáló hatását fogja jelezni. Az eredmények téves interpretációjának komoly kockázatát rejtette magában az a tény, hogy az aminosavak magas koncentrációban alkalmazva sejtosztódást gátló hatásúak a HEp2 sejteken (ld. 23. táblázat). Ezért az aminosavakat alcsonyabb (5 mg/ml) koncentrációban kellett használnom. További óvintézkedésként timidin-inkorporációs módszerrel megmértem az egyes anyagok és kombinációik DNS-szintézist gátló hatását is az esetlegesen jelentkezö aspecifikus vírusgátlás detektálása céljából. Amint ez az eredményekből (17. és 18. ábra) és a későbbi adatokból kitűnik, az adott kísérleti rendszerben nem találtam összefüggést a celluláris DNS-szintézis gátlás mértéke és a vírushozam között.

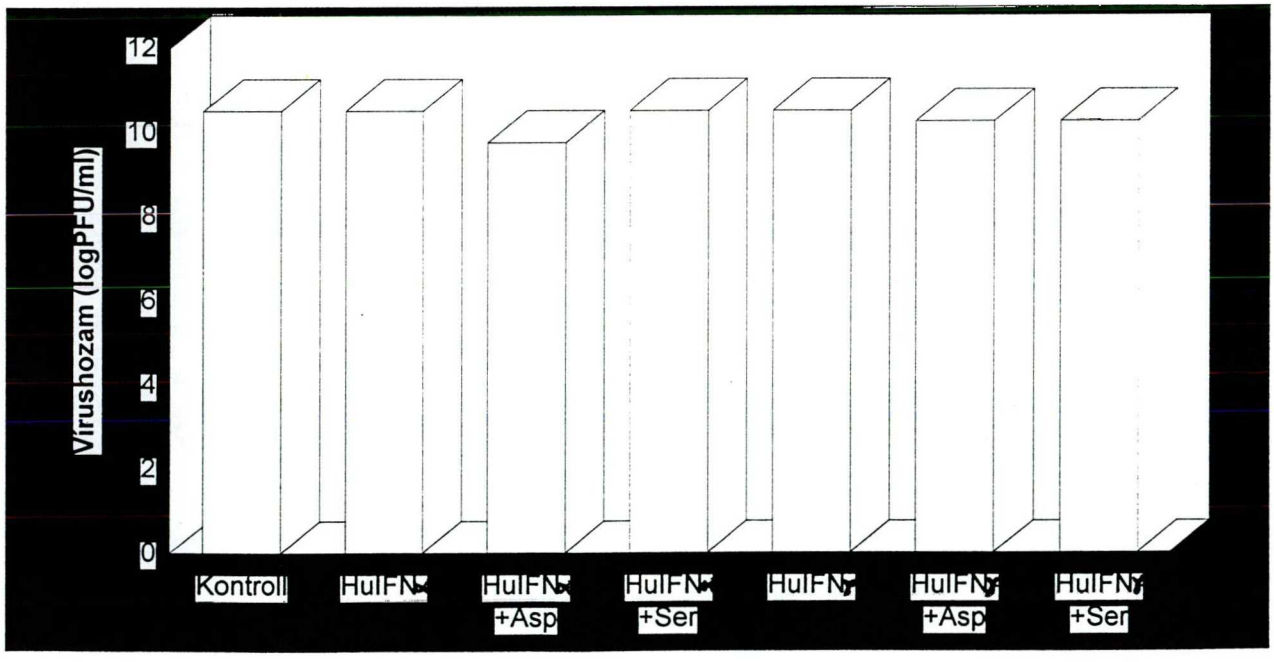


17. ábra: A celluláris DNS-szintézis gátlása és a HSV1 szaporodás gátlása közötti összefüggés Hep2 sejtekben. HuIFN-γ, Asp, Ser, IDU és BVDU hatásának vizsgálata.



18. ábra: A celluláris DNS-szintézis gátlása és a HSV-1 szaporodás gátlása közötti összefüggés Hep2 sejtekben. IDU, Asp, Ser és HuIFN-γ kombinációinak hatása.

A kísérletekben kipróbált két erősen szinergista aminosav egyikével sem sikerült szignifikáns gátló hatást elérni szuboptimális IFN- illetve aminosav-dózisok kombinációjával 19. ábra).



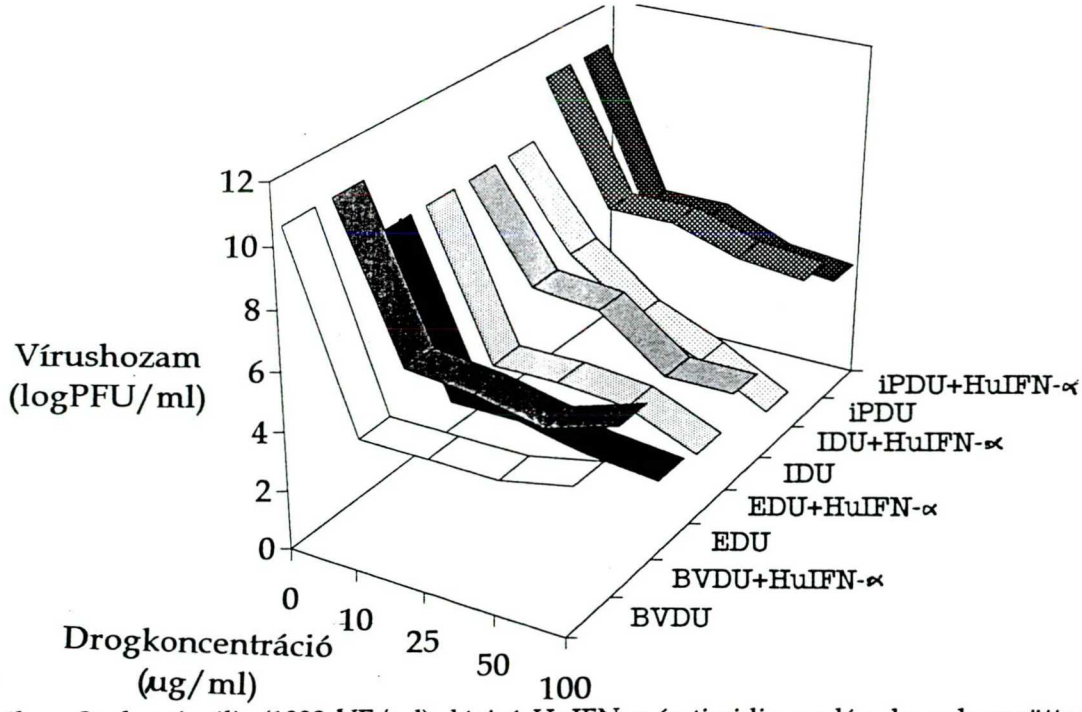
19. ábra: Szuboptimális HuIFN-α és -γ dózisok, Ser és Asp együttes hatása HSV-1 szaporodására.

Timidin-analóg kemoterapeutikumok HSV-1 elleni hatásának fokozása interferonnal és aminosavakkal.

Az előző pontban ismertetett negatív eredmények értelmezési nehézségei (a kényszerűen alacsony dózisok miatt) arra késztettek, hogy egy, a vizsgálandó jelenséget potenciálisan felerősítő kísérleti rendszert keressek. Korábbi munkám során vizsgáltam timidin-analóg drogok antivirális hatását a HSV-1/HEp2 rendszerben (Mécs & Tóth S. 1988, 1989a, b, c, Rozs et al., Tóth S. & Mécs 1989a, b), valamint e drogok és a HuIFN-α kölcsönhatását (Mécs et al. 1986b). Úgy véltem, hogy e drogoknak az IFN-okkal való kombinációja amplifikálhatja az aminosavak esetleges moduláló hatását. Természetesen a hármas kombinációkban kapott eredmények értékeléséhez elengedhetetlenül szükséges volt az egyes anyagpárok egymás közötti kölcsönhatásainak ismerete.

HuIFN-α és timidin-analógok együttes hatása.

HuIFN-α szuboptimális koncentrációit (10, 100 és 1000 NE/ml) kombináltam 5-jód-2'-deoxyuridin (IDU), 5-ethyl-2'-deoxyuridin (EDU), 5-izopropyl-2'-deoxyuridin (iPDU) és 5-bromovinil-2'-deoxyuridin (BVDU) koncentrációsorozat tagjaival. Mivel az alacsonyabb HuIFN-α koncentrációk esetén az 1000 NE/ml-nél kapottakkal azonos negatív eredményeket kaptam, itt csak a legmagasabb dózissal kapott adatokat ábrázolom.

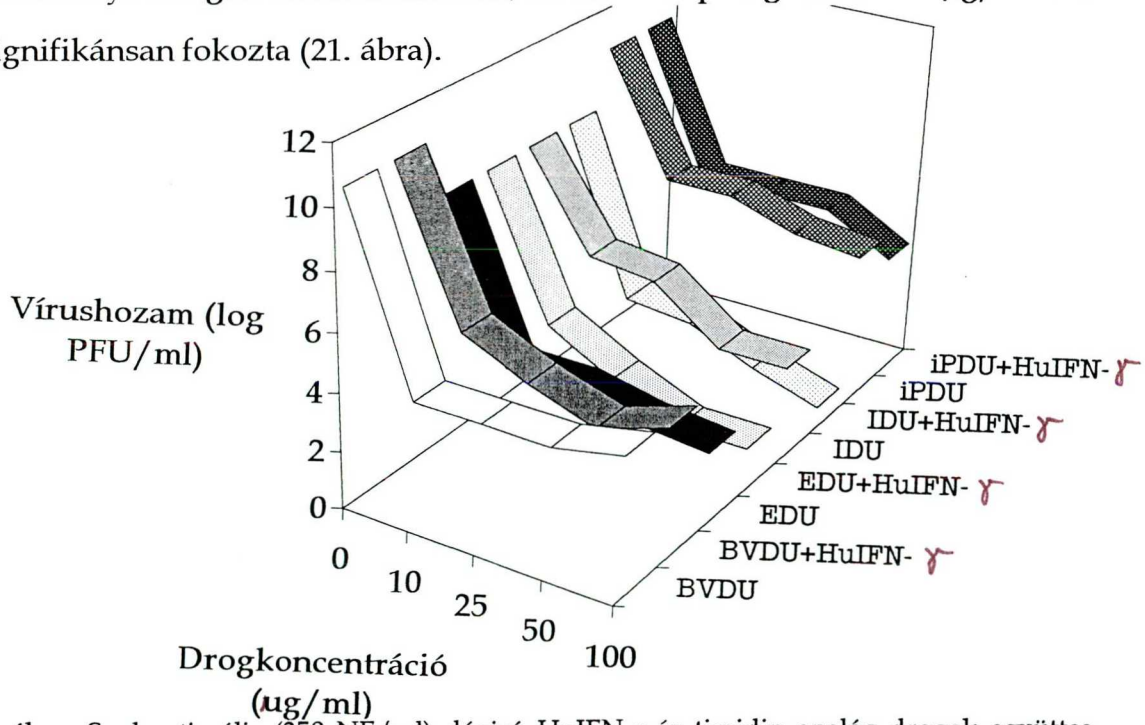


20. ábra: Szuboptimális (1000 NE/ml) dózisú HuIFN-α és timidin analóg drogok együttes antivirális hatása HSV-1-gyel szemben.

A 20. ábra tanúsága szerint szignifikáns (>1.5 log_{10}) gátlásfokozódást egyetlen esetben sikerült elérnem: a legmagasabb (100 μg/ml) IDU koncentrációnál. Érdekes megfigyelés, hogy a BVDU esetében a HuIFN-α közel szignifikáns mértékben (3-10-szeresére) csökkenti a drog antivirális hatását valamennyi koncentrációban. Nem ismert, vajon van-e összefüggés a BVDU antivirális aktivitása és timidin-inkorporációt fokozó hatása között (ld. 17. ábra), de a HuIFN-α valamennyi drogkoncentráció esetében csökkentette a BVDU által önmagában fokozott DNS-szintézis rátát (Tóth S., nem közölt adatok).

HuIFN-γ és timidin-analógok együttes hatása.

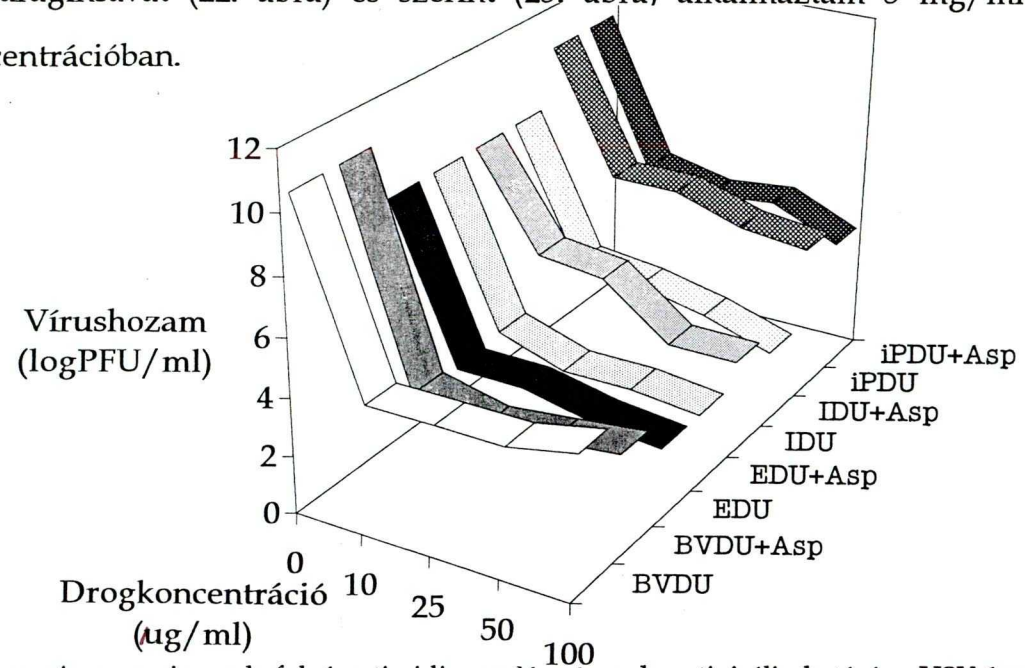
Az előző pontban felsorolt timidin-analóg antivirális drogok koncentrációsorozatát szuboptimális (5, 50 és 250 NE/ml) mennyiségű HuIFN-γ-val kombinálva a fentihez hasonló eredményeket kaptam, azzal az eltéréssel, hogy a legmagasabb dózissal a HuIFN-γ az IDU antivirális hatását valamennyi vizsgált koncentrációban, az EDU-ét pedig 50 és 100 μg/ml-nél szignifikánsan fokozta (21. ábra).



21. ábra: Szuboptimális (250 NE/ml) dózisú HuIFN-γ és timidin analóg drogok együttes antivirális hatása HSV-1-gyel szemben.

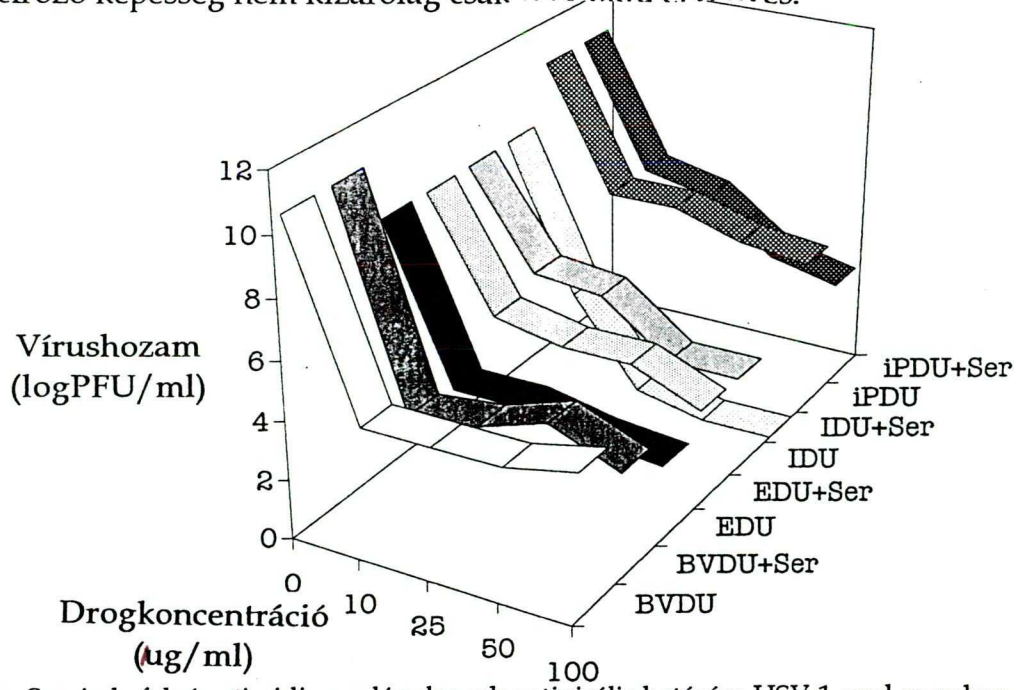
Aminosavak és timidin-analógok együttes hatása.

E kísérletsorozatban - korábbi meggondolások alapján - aszparaginsavat (22. ábra) és szerint (23. ábra) alkalmaztam 5 mg/ml-es koncentrációban.



22. ábra: Aszparaginsav befolyása timidin analóg drogok antivirális hatására HSV-1-gyel szemben.

Az ábra megmutatja, hogy az Asp képes szignifikánsan (6-18-szorosára) fokozni mind a BVDU, mind az IDU antivirális hatását valamennyi vizsgált drogkoncentrációban, vagyis az antivirális sajátságot potencírozó képesség nem kizárólag csak IFN-okra érvényes.



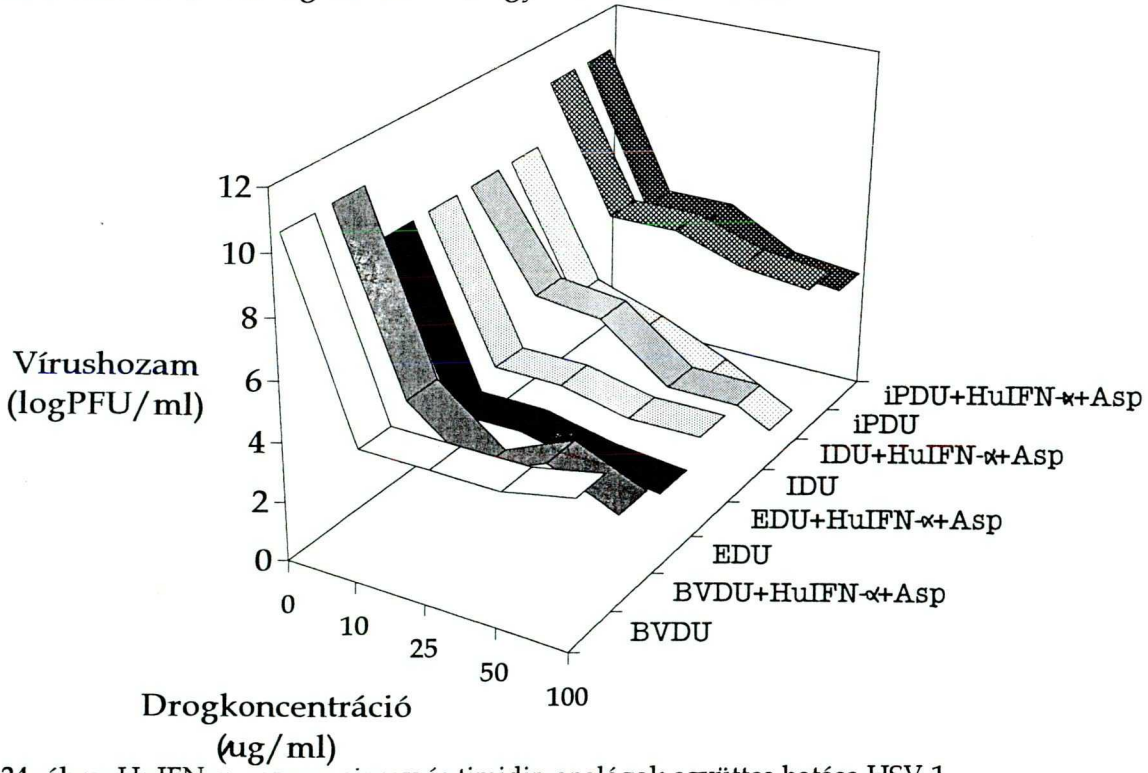
23. ábra: Szerin befolyása timidin analóg drogok antivirális hatására HSV-1-gyel szemben.

A Ser szignifikánsan fokozza mind a BVDU, mind az iPDU hatását a HSV-1 ellen. Különösen drámai azonban ez a fokozás az IDU esetében, ahol a gátlás 10000-szeresére nő meg, illetve a magasabb drogkoncentrációk (50-100 μg/ml) esetében nem állapítható meg, mivel a kombináció teljes vírusszaporodási blokkot idézett elő. Ugyanakkor a Ser -meglepő módon- szignifikánsan csökkenti az EDU antiherpesz aktivitását.

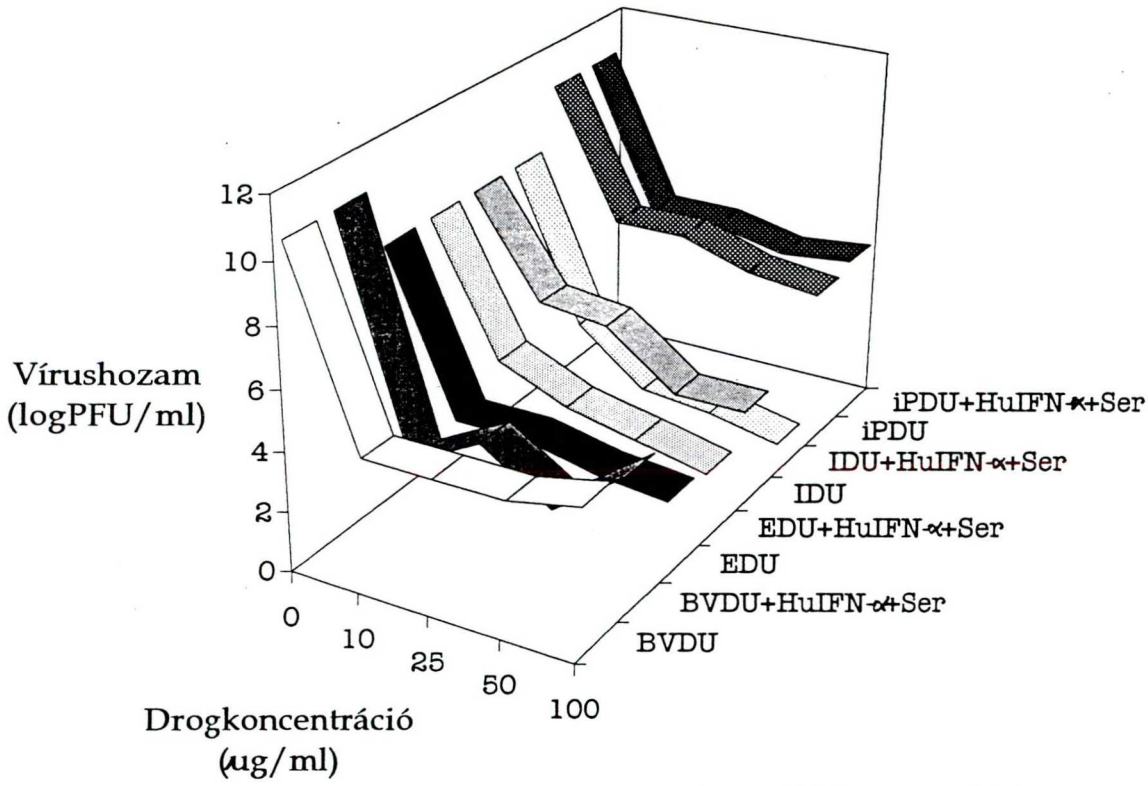
Legalább erre a két aminosavra tehát igaz az, hogy antivirális hatását moduláló tulajdonságuk nem az interferonon, mint target molekulán keresztül érvényesül, hanem annak valamely (feltehetően a nukleinsavszintézissel kapcsolatos) háttéreseményét amplifikálja.

HuIFN-α, timidin-analógok és aminosavak kombinációja.

A hármas drogkombinációk vizsgálata során 1000 NE/ml HuIFN-α-t alkalmazva azt tapasztaljuk, hogy az Asp - timidin-analóg kombinációkhoz képest számottevő antivirális aktivitás fokozódás nem történik (24. ábra). A magasabb (50 és 100 μg/ml) IDU koncentrációk esetében az Asp potencírozó, és a HuIFN-α szinergista hatása, úgy tűnik addícionál.



24. ábra: HuIFN-α, aszparaginsav és timidin-analógok együttes hatása HSV-1 szaporodására.

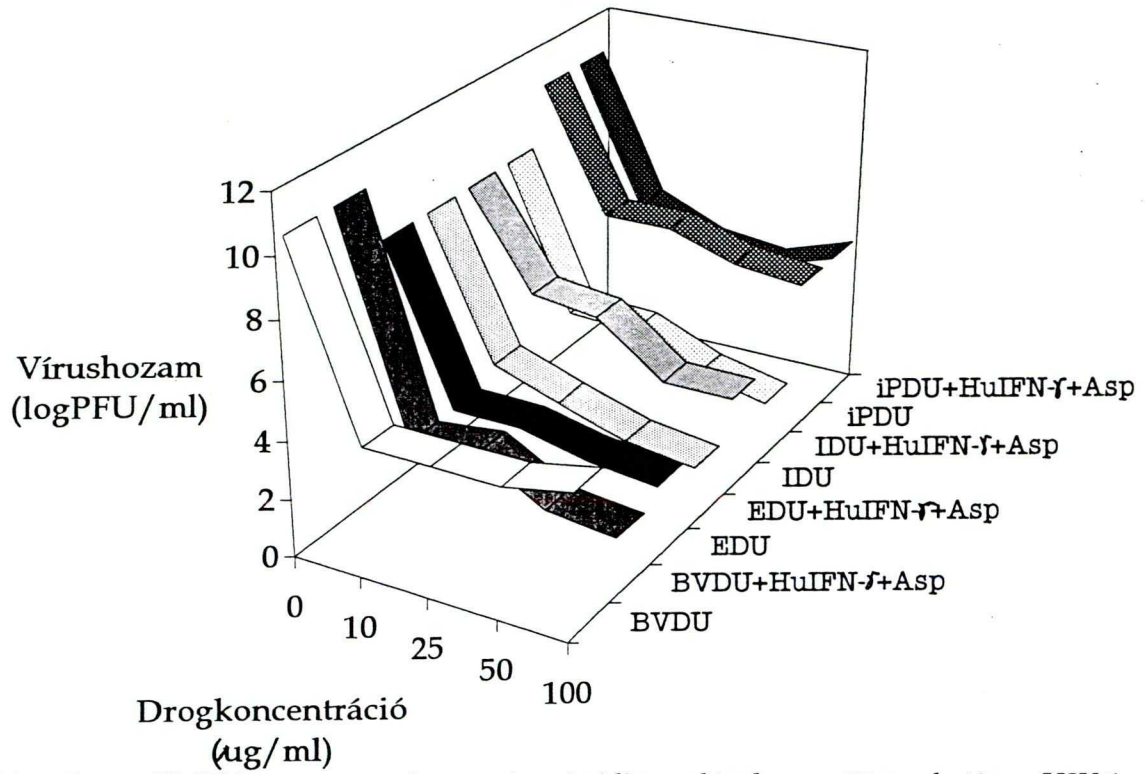


25. ábra: HuIFN-α, szerin és timidin-analógok együttes hatása HSV-1 szaporodására.

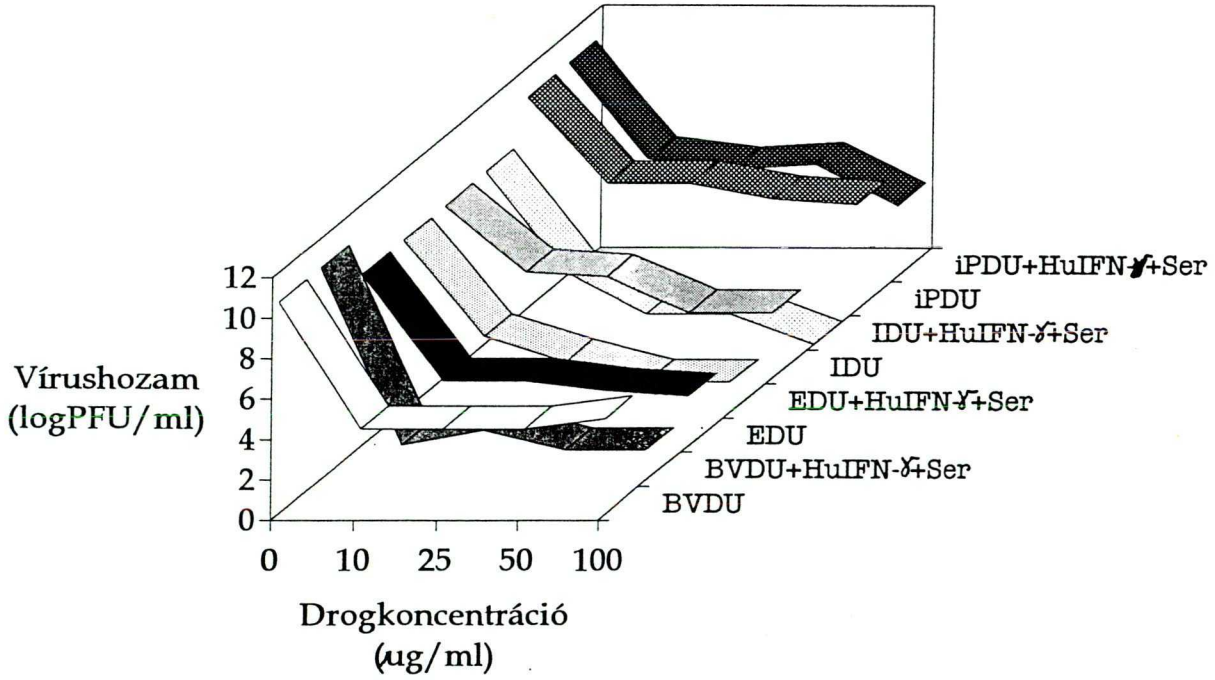
A Ser-nel kapott eredmények három új elemet tartalmaznak az eddigi tapasztalatokhoz képest: A HuIFN-α jelenléte ellensúlyozza a Ser gátló hatását az EDU-ra, ugyanakkor szignifikánsan csökkenti a Ser-nek az iPDU-ra és az IDU-ra kifejtett potencírozó hatását. Ez utóbbi annál is ellentmondásosabb, mivel a 100 μg/ml-es IDU koncentráció esetében maga a HuIFN-α is szinergizálónak tűnt.

HuIFN-γ, timidin-analógok és aminosavak kombinációja.

A korábbi kettős kombinációs kísérletek alapján a HuIFN-α-nál jóval ígéretesebbnek tűnt a HuIFN-γ-val alkotott hármas drogkombináció. Ennek ellenére az aszparaginsavval kapott eredmények a hármas kombinációban egyetlen esetben utaltak pozitív effektusra: A HuIFN-γ fokozta az Asp potencírozó hatását BVDU-ra (26. ábra).



26. ábra: HuIFN-γ, aszparaginsav és timidin-analógok együttes hatása HSV-1 szaporodására.



27. ábra: HuIFN-γ, szerin és timidin-analógok együttes hatása HSV-1 szaporodására.

Lényegesen jobb eredményeket kaptam szerinnel (27. ábra), ahol a hármas drogkombinációkban mind a drogkontrollhoz, mind az egyedi

párkombinációkhoz képest szignifikáns gátlásnövekedést tapasztaltam a BVDU és az EDU esetében. Az iPDU-nál nem történt jelentős hatásfokozás az iPDU - Ser kombinációhoz képest, míg az IDU - HuIFN-γ - Ser hármas hatása rosszabb mint az IDU - Ser párosé volt.

Összegezve, a hármas kombinációk az aminosav - timidin-analóg párokhoz képest nem ígérnek jelentős javulást, így esetleges terápiás alkalmazási lehetőségük erősen megkérdőjelezhető. Természetesen nem szabad figyelmen kívül hagyni, hogy éppen a herpeszvírusok esetében az IFN-ok *in vivo* sokkal hatékonyabbnak bizonyultak, mint *in vitro* rendszerekben, ezért indokolt lenne a fenti hármas kombinációk *in vivo* tesztelése is.

MEGBESZÉLÉS

Jelen dolgozat témája egy téves munkahipotézisre alapozott kísérlet során végzett megfigyelésre alapul. Az a feltételezés, hogy a HuIFN-α opiát-szerű hatását az endogén opiát receptorokhoz való kötődése útján fejti ki, nem bizonyult helytállónak: későbbi kísérleteink igazolták, hogy ehelyett a fenti receptorok expressziója fokozódik IFN-α hatására (12. o. 1. bek.). A hibás elképzelés ellenőrzésére tervezett kísérletek azonban egy eddig fel nem ismert jelenségre derítettek fényt: arra, hogy a természetes aminosavak jó része képes befolyásolni a humán interferonok antivirális aktivitásának mértékét. A húsz leggyakoribb L-aminosav és néhány módosulatuk (α-Ala, D-Glu, Opr) vizsgálata azt mutatta, hogy a HuIFN-α hatását 10, a β-ét 14, a γ-ét 17 aminosavval lehet módosítani (1. Táblázat). A módosító hatás lehet fokozó vagy gátló, amely a kontroll antivirális effektust akár többszörösére fokozhatja, vagy teljesen megszüntetheti. A megfigyelt hatások IFN típustól és az adott aminosavtól függnek, nem tudhatók be a magas aminosav koncentrációkból adódó aspecifikus (ozmózisnyomás-fokozódás, pH-eltolódás, stb.) effektusoknak. A pH- változásokat minden esetben korrigáltam, így valamennyi aminosav-tartalmú tápfolyadékot pH:7.2-re állítottam be. Bármely egyéb aspecifikus hatás esetén az várható, hogy a hatás az alkalmazott IFN minőségétől függetlenül minden esetben azonos irányú és hasonló mértékű lesz. Ezzel szemben az L-Tyr például csak az IFN-α aktivitását fokozza, a másik két IFN esetében hatástalan. Az L-β-Ala mindhárom IFN-re különböző hatást fejt ki: serkenti a HuIFN-β-t, gátolja a

HuIFN-γ-t és közömbös a HUIFN-α-ra. Az azonos karakterű aminosavak eltérő hatásúak: az L-Asp mindhárom IFN típus antivirális aktivitását fokozza, míg a szintén savas karakterű L-Glu mindhármat gátolja. A lúgos jellegű His mindhárom esetben gátló hatású, ugyanakkor a rokon karakterű Arg és Lys nem befolyásolják egyik IFN antivirális aktivitását sem. Ezek az adatok mind arra mutatnak, hogy az extrém magas aminosav koncentrációk ellenére az észlelt jelenség specifikus hatásokat tükröz.

Mivel egy -később tárgyalandó- kivételtől eltekintve ezek a módosító hatások csak a fiziológiás koncentrációknál nagyságrendekkel nagyobb aminosav mennyiségek esetén érvényesülnek (2. ábra), nyilvánvalónak tűnik, hogy nem közvetlenül az antivirális kaszkád valamely elemére hatnak. Valószínűbb, hogy a kaszkád megvalósulása során fellépő biokémiai szintézis-reakciók egyensúlyát tolják el olyan irányban, ami potencírozza, vagy éppen akadályozza a kaszkád egyes lépéseinek végbemenetelét. E feltételezés mellett szól az a tény is, hogy a dózisfüggés telítési típusú görbéket ad, vagyis egy adott koncentráció felett már hiába fokozzuk az aminosav-mennyiséget, a biokémiai egyensúly már oly mértékben eltolódott, hogy a kérdéses komponens mennyiségének növelése már nem jár további mérhető változással.

Az IFN-ok terápiás alkalmazása szempontjából természetesen az antivirális hatás fokozásának lehetősége számít ígéretesnek. Erre korábban is történtek -más mechanizmusok felhasználásával- próbálkozások (Fleischmann 1984, 1986, Fleischmann et al. 1979, 1984, 1986). Egyik ilyen

lehetőség az I. típusú (α vagy β) és a II. típusú (γ) IFN-ok együttes alkalmazása. Ilyenkor a két IFN szinergista módon fokozza egymás antivirális aktivitását. Vizsgálataim azt mutatják, hogy azon aminosavak hatása, amelyek mindkét alkalmazott IFN típusra azonos módon hatnak (pl. Asp, Cys, His, β-Phe, Ser, stb.), ezt a szinergizmust is az egyedi IFN-okhoz hasonló módon és mértékben modulálják. Az antivirális hatás fokozásának gyakorlati értéke mellett ebből arra is következtethetünk, hogy az aminosavak potencírozó hatása és az IFN típusok szinergizmusa eltérő, egymással nem interferáló mechanizmusokat vesz igénybe.

Legalább ilyen fontos kérdés azonban, hogy az egyes aminosavak azonos, vagy eltérő anyagcsere-lépések befolyásolásával fejtik ki moduláló hatásukat. Részben a megfigyelt jelenség biokémiai alapjait lehet e kérdésre válaszolva jobban megközelíteni, részben több eltérő mechanizmus esetén további additív vagy szinergista hatások gyakorlati alkalmazására nyílhat lehetőség. A rendelkezésemre álló metodikai eszközök nem tették lehetővé, hogy az egyes aminosavak által befolyásolt biokémiai folyamatok jellegét közvetlenül próbáljam felderíteni. Ezért arra kellett szorítkoznom, hogy azt vizsgáljam, egy, vagy több mechanizmus játszik szerepet a módosító hatásokban. Aminosav-párok kombinált alkalmazásával sikerült kideritenem, hogy legalább három -de valószínűleg még több- különböző olyan pont létezik az antivirális kaszkád kiegészítő anyagcserefolyamataiban, amelyek aminosavakkal modulálhatók. Ezeket a kísérleteket 5 mg/ml/aminosav koncentrációban végeztem. Ilymódon nem az egyedi aminosavak

koncentrációja, hanem a végső ozmotikus nyomás értéke volt azonos a korábbi kísérletekben alkalmazottal. Nem kívántam ugyanis az egyébként is komplex eredmények interpretálásakor még egy új faktor hatásával számolni. Ugyanakkor a dózisgörbék alapján ez az aminosav koncentráció ha nem is a telítési értéknek megfelelő hatást eredményezi, de befolyása még szignifikánsnak tekinthető. Az 5., 6. és 7. táblázatokban feltüntetett lehetséges kölcsönhatások elemzése az alábbi következtetésekhez vezet:

1. Az egymás hatását szinergista módon erősítő biokémiai entitások eltérő mechanizmus szerint (pl penicillin és klavulánsav), vagy ugyanazon biokémiai folyamat eltérő pontjain (pl. szulfonamidok és trimetoprim) hatnak. Mivel a Ser valamennyi esetben szinergista volt az Asp-val és a Tyr-nal, feltételezhető, hogy a Ser egyedi, a többiektől eltérő módon hat. Ezt támasztja alá az a tény is, hogy a Ser-nek eltér a dózisgörbéje a többi aminosavtól, és már fiziológiás értékekhez közeli tartományban is hatásos. Az sem kizárt, hogy a Ser eltérő módon hat alacsony és magas koncentrációkban, de dózisgörbéjét (2. ábra) tekintve ez kevésbé alátámasztott.

2. Bizonyos dominanciasor látszik érvényesülni egyes (mind serkentő, mind gátló hatású) aminosavak között. A sor alján a Tyr található, felette az Asp, majd a Met és a β-Phe (ezek sorrendje nem dönthető el), és legfelül a Gly. Különleges helyzetet foglal el a fenti aminosavakkal mutatott kölcsönhatásában az Opr, amely vagy addicionál az Asp-val, vagy Asp dominancia érvényesül felette, ugyanakkor az egyetlen aminosav, amely a β-

Phe teljes antivirális blokkját képes felfüggeszteni. A biokémiai folyamatokban a dominancia-szuppresszió viszony általában közös receptor- vagy enzimkötő helyre utal. Ebben az esetben azonban a helyzet összetettebb kell, legyen. Az Opr valószínűleg azonos ponton fejti ki hatását mint a β-Phe, de affinitása szignifikánsan nagyobb. Ugyanakkor hatásmechanizmusa eltérő lehet az Asp-étól (amit további adatok -ld. 14. ábra- is alátámasztanak). A β-Phe és a Met dominanciája az Asp fölött így feltehetően abból ered, hogy az Asp által befolyásolt reakció valamely korábbi lépését, pl. valamely prekurzor képződését gátolják. Ez a gondolatmenet magyarázatot képes adni az Asp-nak a Tyr fölötti látszólagos dominanciájára is: a reakciólánc egy korábbi pontján (amely lehet azonos a β-Phe és a Met támadáspontjával is) bekövetkező kisebb erősítés hatását egy később bekövetkező nagyobb mérvű erősítés könnyen elfedheti.

3. A β-Phe és a Ser közötti kölcsönhatás első pillantásra azonos kötőhelyért való kompetíciónak tűnik. Ez azonban nem lehetséges,tekintve, hogy a Ser a Tyr-tól eltérő mechanizmus alapján, míg a β-Phe és a Tyr feltételezhetően azonos módon hat. Így inkább egy serkentő és egy gátló regulátor egyszerű hatásaddíciójáról lehet szó. Tekintve azonban a β-Phe rendkívül erős gátló aktivitását, két magyarázat kínálkozik arra, miért nem következik be teljes antivirális gátlás. Az egyik szerint a Ser és a β-Phe azonos reakciólánc egymást követő lépéseiben hatnak. Ez esetben a Ser által amplifikált prekurzor mennyiségileg meghaladja a β-Phe gátlási kapacitását, vagy a β-Phe gátlás következtében nagy mértékben lecsökkent valamely komponens

egyébként már nem mérhető hatását erősíti fel annyira, hogy "visszatér"az antivirális hatás. A másik elképzelés szerint a Ser valóban két komponensű hatást fejt ki az IFN-ok antivirális aktivitására, amelyek közül az egyik blokkolható β-Phe-nal, míg a másik továbbra is megnyilvánul.

Az egyes aminosav-párok IFN-típustól függő eltérő viselkedését magyarázhatja, hogy az I. illetve II. típusú IFN-ok biológiai hatásspektruma csak részben fedi egymást, ezért a biokémiai háttérmechanizmusok azonos modifikációja eltérő végeredményhez vezethet.

Az elméleti következtetések mellett e kombinációs kísérleteknek további fontos eredménye, hogy az IFN-α -IFN-γ szinergista hatást szinergista aminosav-párokkal potencírozva a névleges antivirális titer 20-40-szeresét is el tudtam érni.

Az egyes aminosavak hatásmechanizmusainak különbségéről további információkat lehetett beszerezni az antivirális teszt különböző fázisaiban történő alkalmazással. A fázisdiagrammok (4. és 5. ábra) azt mutatják, hogy két alapvető diagrammtípus fordul elő: az I.-III. irányban csökkenő hatású, vagy Ser-típusú, és a növekvő hatású (a többi vizsgált aminosav). Így ezek az adatok is megerősítik, hogy a Ser a többiektől eltérő mechanizmus alapján hat.

Különös figyelmet érdemel az eddig nem tárgyalt Cys, amely az első fázisban alkalmazva teljesen hatástalan marad, a második fázisban szignifikánsan gátolja az IFN-ok antivirális hatását, míg a harmadik fázisban igen erősen serkenti. Ez a furcsának tűnő viselkedés egy igen egyszerű feltételezéssel

könnyen magyarázható: A Cys valószínűleg aspecifikus módon hat. Ilyen extrém magas koncentrációban könnyen léphet kölcsönhatásba a *de novo* keletkező fehérjék Cys elemeinek -SH csoportjával, és külső diszulfid kötések létesítésével megakadályozza a funkcióképes térszerkezetű fehérjék kialakulását. Ez az effektus minden fehérjére egyaránt érvényes. Ezért a II. fázisban az antivirális fehérjék képződését akadályozva gátolja az IFN-hatást, a III. fázisban pedig a vírusfehérjék kialakulását blokkolva potencírozza az antivirális hatást. AZ I. fázisban alkalmazva természetesen hatástalan, mivel ebben a fázisban sem pro- sem antivirális események nem fordulnak elő. Ez az elképzelés egyszerűsége miatt igen vonzó, de van egy súlyos hiányossága: nem ad választ arra, hogy ilyen körülmények között miért nem antivirális önmagában is a cisztein. További vizsgálatokkal talán tisztázható lesz, milyen szerepe van az IFN-nak a Cys ilyen jellegű aktiválódásában.

Mivel az F III. fázis jó közelítéssel modellezi az *in vivo* vírusfertőzés állapotát, indokoltnak tartottam az F II.-ben elvégzett dózisvizsgálatokat és párkombinációs kísérleteket ebben a fázisban is végrehajtani.

A dózisgörbék (12. ábra) az F II.-höz hasonló szigmoid alakot mutatnak, bár ez esetben a telítési szakasz nem látható (matematikailag persze az itt látható görbék lehetnének exponenciálisak is, de ennek nincs biológiai értelmezési lehetősége). Fontos eltérés az F II. görbékhez képest, hogy itt a Ser is a többiekhez hasonló, "szabályos" dózisfüggést mutat. Ez tovább erősíti azt a feltételezést, hogy a Ser potencírozó hatása összetett jellegű, és más mechanizmus érvényesül F II. fázisban, mint F III.-ban.

Másik lényegi különbség a két fázis között (9. Táblázat), hogy F III.-ban nincs jelen az F II.-ben megfigyelt szinergista együttműködés (Ser-Asp ill. Ser-Tyr között), ami ismét arra utal, hogy a Ser e fázisban az F II.-ben érvényesülőtől eltérő módon hat. Rendkívül érdekes következménye látható ennek a 10. táblázatban: F II. és F III. fázisban alkalmazva egymás után a Ser egyik majd másik hatásmódja szukcedán érvényesül, és a két mechanizmus képes egymást erősíteni -azaz a Ser itt **önmagát is képes potencírozni.**

Hasonló autopotencírozást az Asp esetében is megfigyelhetünk (10. Táblázat), sőt Asp(II)-Ser(III) és Ser(II)-Asp(III) szinergizmus is jelentkezik. Mivel F III.-ban **nincs** Asp-Ser szinergizmus, ezek az adatok arra utalnak, hogy feltehetően az Asp is eltérő hatásmechanizmussal rendelkezik a különböző fázisokban.

Az Asp-nak az IFN-ok antivirális aktivitását potencírozó hatásának - vagy egyik ilyen hatásának- tisztázásához újabb lényeges támpontot szolgáltatott a vírusfertőzés után hozzáadott IFN aminosavas potencírozásának vizsgálata. Az IFN, mint többszörös támadáspontú anyag, antivirális hatásából hiperboloid görbe mentén veszít a fertőzéstől eltelt idő függvényében (13. ábra). A teljes hatásvesztés a vírus replikációs ciklusának befejezésekor, a 6. órára következik be, ami azt mutatja, hogy az IFN egyaránt gátló hatással bír a korai és a késői replikációs eseményekre. Az aminosavak potencírozó hatása -az Asp kivételével- ugyanilyen görbe mentén csökken (14. ábra). Ez arra utal, hogy bármi is legyen e potencírozás biokémiai alapja, valamennyi antivirális mechanizmust közel azonos hatásfokkal befolyásolja.

Ismét újabb adat, ami közvetett módon igazolja, hogy inkább az antivirális kaszkád biokémiai háttéreseményeinek (valószínüleg bizonyos szintézisfolyamatoknak) a módosításáról lehet szó, mintsem az antivirális kaszkád valamely eseményének vagy eseményeinek direkt befolyásolásáról. Az Asp kivételes viselkedése azonban azt sugallja, hogy ez esetben egy konkrét gátlási mechanizmus potencírozában játszik szerepet. A fokozó hatás gyakorlatilag változatlanul -és igen magas szinten- áll fenn a vírusreplikáció harmadik órájáig. Olyan antivirális hatásról van tehát itt szó, amely a replikációs ciklus 3. és 4. órája között zajló eseményeket érinti. Ez alaposan leszűkíti a szóba jöhető hatások körét. A VSV replikációja során ekkorra már lezajlott a korai fehérjék szintézise, megtörtént a sejt szintetizáló apparátusának a vírusreguláció alá vonása, egyáltalán nem folyik viszont még a vírusrészecskék összeépülése vagy kiszabadulása. Ebben a szakaszban két lényegi folyamat zajlik: a struktúrfehérjék mRNS-ének szintézise, és a teljes vírusgenom replikációja. Egyértelmű tehát, hogy az Asp valamilyen módon az IFN-oknak a gazdasejt RNS-szintézisére gyakorolt gátló hatását potencírozza rendkívül hatékony módon. Arra vonatkozóan egyenlőre nincsenek ismereteink, hogy a potencírozó hatás szelektíven a virális RNS-re érvényesül, vagy ugyanígy érinti a gazdaseejt-eredetű RNS-eket is, de néhány jelenleg folyó vizsgálatunk részeredményei a szelektív jelleget látszanak alátámasztani (Eszes és Tóth S., nem közölt adatok).

A fázisvizsgálatok a hatásmechanizmussal kapcsolatos információk mellett két további lényeges eredménnyel jártak.

Kiderült, hogy a szukcedán fáziskombinációk során az Asp-Ser szinergizmussal illetve az autoszinergista Asp alkalmazásával az IFN-α antivirális titere 80-150-szeresére (10. Táblázat), míg az IFN-γ-é Opr-nal 180-szorosára is fokozható.

Ennél is meglepőbb volt az a felismerés, hogy az aminosavak nem csak az antivirális hatást képesek modulálni, hanem felerősítik a HuIFN-γ citotoxikus hatását is, amennyiben a célsejteket előkezeljük -mintegy érzékenyítjük-velük (6. és 7. ábra). Ez a hatás ugyancsak specifikus volt egyes aminosavakra nézve. Leghatékonyabbnak az Asp, a Met és a Ser bizonyultak. A jelenséget csak olyan sejteken lehetett megfigyelni, amelyek érzékenyek voltak az IFN-ok antivirális hatására. Ez olyannyira jellemző volt, hogy a túlélő sejtekből regenerálódott sejtklónok el is veszítették antivirális érzékenységüket. Ez valószínűleg azt jelenti, hogy a kezelt szövetekben eleve jelen voltak olyan mutáns sejtek, amelyek nem rendelkeztek antivirális érzékenységgel, és ezek élték túl a citotoxikus hatást. A két sajátság szorosan kapcsolt jellege miatt ésszerű feltételezni, hogy IFN-γ-kötő képességüket elveszített receptor-mutánsokról lehet szó. Így -bár az aminosavak ez esetben az antivirális képességtől biológiailag eltérő sajátságot befolyásolnak-, a két jelenség nem választható el egymástól. Erre utal az a megfigyelés is, hogy itt is az antivirális hatás befolyásolásában legmarkánsabb aminosavak bizonyultak a leghatékonyabbnak.

A HuIFN-γ-ról ismert, hogy makrofágokban fokozza a H_2O_2 képződését. Mivel az adott rendszerben nincsenek jelen külön effektor- és célsejtek,

lehetségesnek tartottam, hogy az IFN-érzékeny sejtekben ugyanez a fokozó hatás érvényesül. Közönséges körülmények között persze ez a hatás nem manifesztálódik, mivel a keletkező H_2O_2 nem extrém mennyiségű, és lizoszómákban elzárva fordul elő. Az aminosavak valamilyen módon a HuIFN-γ-nak ezt a képességét potencírozzák oly mértékben, hogy a termelő sejtek ezt a H_2O_2 mennyiséget már nem képesek kezelni, vagy meggátolják a H_2O_2 lizoszómákba való bezáródását, így mintegy "öngyilkosságra késztetik" a célsejteket.

Bármi is legyen a potencírozás hatásmechanizmusa, az aminosavakkal "előhívott" HuIFN-γ citotoxicitás HuIFN-α-val kivédhető. Ha ez a védelem a H_2O_2 eliminálásán alapul, akkor a HuIFN-α-nak képesnek kell lennie, hogy a célsejteket a közvetlen H_2O_2-toxicitástól is védje. Mint az 8. ábrából kiderül, a HuIFN-α valóban képes az ilyen védelemre, és ez a védőhatás feltehetően a SOD aktivitás tartós és nagy mértékű fokozásának képességén alapul (11. és 12. ábra). Közvetett módon tehát igazolható, hogy az aminosavak valóban a H_2O_2-közvetített citotoxicitást befolyásolják. Még egyértelműbb bizonyíték lehetne erre nézve, ha aminosavas előkezeléssel makrofágokat is sikerülne autolízisre késztetni.

További nem antivirális IFN-hatásokról eddig nem sikerült igazolnom, hogy aminosavakkal modulálhatók lennének, de egyrészt vizsgálataim egyenlőre csak a két leginkább tanulmányozott nem antivirális aktivitásra korlátozódtak, másrészt csak néhány -az antivirális rendszerben legaktívabb- aminosavval végeztem el őket. Korántsem biztos, hogy egyéb aminosavak

további nem antivirális sajátságok befolyásolására nem képesek. Jelen dolgozat korlátai között azonban elegendőnek véltem megnyugtatóan tisztázni, hogy az antivirális rendszerben aktív aminosavak -elsősorban a Ser és az Asp, amelyek esetleges terápiás alkalmazás szempontjából is szóba kerülhetnek- nem rendelkeznek a legfontosabb IFN-aktivitások területén számottevő mellékhatásokkal.

Egy újonnan felismert jelenségnek meg kell kísérelni feltérképezni az érvényességi határait. Azt már tudjuk, hogy a fontosabb nem-antivirális IFN-hatások területén nem észleltük az aminosavak specifikus hatásait. Kérdéses volt azonban, hogy nem csak egy kizárólag a humán IFN-okra jellemző, erősen korlátozott érvényességű kölcsönhatásról van-e szó? Ennek felmérésére kipróbáltam a humán rendszerben aktívnak bizonyult aminosavakat más fajokból származó IFN-okra is. Bár lényegesen szűkebb spektrumban, de a más fajú homológ IFN - célsejt rendszerekben is meg tudtam figyelni az aminosavak potencírozó hatását. Gátló hatást sokkal több esetben tapasztaltam, de annak eldöntésére, hogy ezek specifikus jellegűek, vagy sem, nem tudtam vállalkozni, így főleg a potencírozó hatásra összpontosítottam. Fokozó hatásúnak találtam az aszparaginsavat PoIFN-α - PK homológ sertés rendszerben (16. Táblázat), a Ser-t és az Asp-t MuIFN-β - L929 homológ egér rendszerben (17. Táblázat) és a Ser-t ConA-indukált csirke IFN - csirkeembrió fibroblaszt mérőrendszerben (18. Táblázat).

A humán mérőrendszerhez hasonlóan lényegesen több és nagyobb hatású potencírozó effektust találtam a homológ sertés rendszerben a harmadik

fázisú vizsgálatok során (19. Táblázat). Az itt mért adatok azonban a humán eredményekkel egybevetve csak részbeni egyezéseket mutattak. Azonos jellegű és mértékű hatást észleltem a Ser esetében, és az egyetlen -a humán rendszerben közömbösnek talált- "semleges" aminosav, a Val is egyaránt hatástalannak bizonyult. Erős potencírozó hatása volt mindkét rendszerben az Asp-nak és az Opr-nak, de mindkettő sokkal aktívabbnak mutatkozott a sertés IFN esetében. Az emberi modellben erős aktivitású Tyr csak nagyon mérsékelt hatást fejtett ki a PoIFN-ra, míg a Gly-nél éppen fordított volt a helyzet. Végezetül a Cys, ami a HuIFN-t F III.-ban jól potencírozza, a PoIFN-ra gátló hatású volt, ami újabb kételyeket vet fel a Cys korábban tárgyalt feltételezett hatásmechanizmusával kapcsolatban.

A fajspecifikus eltérések egy másik aspektusát vizsgálják a heterológ rendszerekben végzett mérések, ahol a célsejtek más fajból származnak, mint az antivirális hatást kifejtő IFN. Ilyen heterológ rendszerben a HuIFN-α rendkívül csekély potencírozhatóságot mutatott (20. Táblázat). Mind majom (CV1), mind sertés (PK) szöveten csak gátló aminosav-hatást, vagy semmilyet sem tapasztaltam. Egyetlen esetben észleltem enyhe, de szignifikáns potencírozást: az Asp serkentette a HuIFN-α antivirális hatását bovin (MDBK) sejteken.

A homológ rendszerben meglehetősen rosszul potencírozható PoIFN-α ugyanakkor sokkal aktívabb kölcsönhatásokat mutatott MDBK szöveten. Az egyes aminosavak homológ (16. Táblázat) és heterológ (20. és 21. Táblázat) rendszerben látott eltérő viselkedése azt sugallja, hogy:

a) fajspecifikus különbségek léteznek az egyes aminosavakra való érzékenységben, továbbá, hogy

b) a heterológ rendszerekben a fajspecifikus reakciók bizonyos "faji hierarchiát" mutatnak (pl. az Opr esetében a bovin "típusú" válasz dominál a porcin felett, míg ez utóbbi a humán felett).

A fent említett fajspecifikus eltéréseket tükrözik a PoIFN-α-val F III. fázisban heterológ sejteken végzett kísérletek eredményei is (22. Táblázat). E kísérletek legszembeötlőbb eredménye az Opr-nal és Ser-nel MDBK-n elérhető extrém mértékű, több mint 275-szörös aktivitás-fokozódás.

A fenti kiterjesztett fajkörű vizsgálatok eredményeiből készíthető komplex elemzések lehetőségeit a szerin példáján szeretném bemutatni: Láthatjuk, hogy a Ser, ami a humán, a murin és a csirke homológ rendszerekben egyaránt fokozó, míg a homológ sertés rendszerben gátló hatású (18. Táblázat), nagyon erősen gátolta a HuIFN-α aktivitását mind PK, mind MDBK sejteken 20. Táblázat). A Ser F II.-ben nem csak a humán IFN-t gátolta sertés sejteken, hanem a PoIFN-t is humán sejteken (21. Táblázat) - azaz az első esetben szövetspecifikusnak, a másodikban pedig IFN-specifikusnak látszik a gátlás. Ez az ellentmondás úgy oldható fel, ha a hatást fajspecifikusnak fogjuk fel -azaz a Ser F II.-ben serkentő a humán rendszerben, de gátló a sertésben. Kevert elemű heterológ rendszerekben pedig a jelek szerint a sertés-specifikus hatás érvényesül. Arra nézve, hogy a Ser eltérő mechanizmus alapján hat F II. és F III. fázisban, újabb közvetett bizonyítékul szolgál, hogy F III.-ban nem csak a homológ sertés rendszerben,

hanem PoIFN-α-val végzett heterológ vizsgálatokban is potencírozó hatású (22. Táblázat), - vagyis az F II.-ben észlelt sertés-specifikus gátlás F III.-ban nem nyilvánul meg.

Talán az aminosavak potencírozó hatásának fajfüggésénél is lényegesebb kérdés, hogy az IFN-ok antivirális aktivitása vajon több vírussal szemben is fokozható-e aminosavakkal, vagy kizárólag a vesicularis stomatitis vírusával szemben érvényesül? Az eddig ismertetett kísérletek során ugyan volt egyetlen eset, amelyben más challenge-vírust alkalmaztam (a csirkeembrió fibroblaszt sejteket encephalomyocarditis vírussal ferőztem a csirke IFN tesztelésekor), de szerettem volna megfelelően tervezett és kontrollált módon is megvizsgálni, van-e más, esetleg gyakorlati szempontból is számba jöhető lehetőség az antivirális aktivitást fokozó hatás hasznosítására. A vizsgálatokhoz két modellvírust választottam.

Mivel a VSV viszonylag nagy, saját enzimeket is kódoló RNS vírus, elméletileg fennáll a lehetősége, hogy az aminosavak potencírozó hatása valamilyen módon e saját enzimek gátlásával áll kapcsolatban. Ezért az RNS vírusok reprezentánsaként a legkisebbek, a Picornaviridae család tagjai közül választottam a poliovírust. A vírus a modellrendszer követelményrendszerének megfelel (ld.: az "EREDMÉNYEK" fejezet "Egyszerűbb RNS-vírus modell: a poliovírus" c. részét), és gyakorlati jelentőséggel is bír. Sajnos a vizsgálat során nem tapasztaltam potencírozó hatást (25. Táblázat). Ez magyarázható a tesztrendszer szabta korlátokkal is: a vírusokat primer majomvese szövethez adaptálták, így szaporodásuk a WISH

sejteken eléggé korlátozott volt (4-5 nagyságrenddel csökkent mértékű). A vírusszaporodást gátló folyamatok egy eleve csökkent szaporodási rátára kevésbé érzékelhetően, esetleg egyáltalán nem hatnak. Természetesen létezik ennél egyszerűbb magyarázat is: a tesztelt aminosavak nem képesek potencírozni a HuIFN-α és -γ poliovírus ellenes hatását.

Ennek ellenére az adatokból egyértelműen kitűnik, hogy specifikus aminosav-hatások jelentkeznek ebben a rendszerben is, de ezek gátló jellegűek. Hogy nem aspecifikus effektusokról van szó, azt a Ser példája bizonyítja. Ha a hatás nem specifikus, akkor függetlennek kell lennie a rendszerben jelen lévő IFN típusától, és ugyanolyan irányú és mértékű lesz mindkét IFN jelenlétében. A Ser viszont szignifikánsan gátolja a HuIFN-α antivirális hatását mindkét vírustörzsre, miközben a HuIFN-γ antipolio hatását egyáltalán nem befolyásolja.

A DNS vírusok reprezentánsaként a HSV-1-et választottam. IFN-érzékenység szempontjából ugyan jobb megoldás lett volna kanin parvovírussal dolgozni (Papp, Mécs és Tóth S. valamint Hevesi, Mécs és Tóth S., nem közölt adatok), de ez újabb faj, újabb vonatkoztatási rendszer bevezetését igényelte volna. Másrészt a gyakorlati alkalmazás lehetősége szempontjából is a Herpes simplex vírus tűnt ígéretesebbnek, mivel jelenleg folynak a HuIFN-α tartalmú kenőcs hazai törzskönyvezés előtti klinikai vizsgálatai HSV ellenes alkalmazásra, így esetleges klinikai referenciaadatok már rendelkezésre állnak.

A HSV-1 - Hep2 tesztrendszer alkalmazása bizonyos kompromisszumos megoldásokra kényszerített amelyeket az "EREDMÉNYEK" fejezet "DNS-vírus modell: a HSV-1" c. részében már ismertettem.

Mivel az IFN-aminosav kombinációk a HSV-1-re hatástalannak bizonyultak a korábban ismertetett feltételek között, ki kellett bővítenem a modellt egyéb herpeszellenes drogok bevonásával.

Bizonyos meglepő eredményekkel már az előkísérletek során is szembesültem. Nem várt információ volt, hogy a rokon szerkezetű és feltételezetten azonos hatásmódú timidin-analóg drogok eltérően befolyásolják a celluláris DNS-szintézist (17. ábra). Ez egyszersmind azt is felveti, hogy az IDU és a BVDU nem azonos mechanizmus alapján fejtik ki herpeszellenes hatásukat. Ilyen körülmények között az is várható, hogy az egyes timidin-analógok eltérően viselkednek majd a hármas kombinációkban.

Még váratlanabb eredményeket hozott a kettős drogkombinációk tesztelése. Kiderült, hogy az aminosavak antivirális hatást potencírozó képessége nem korlátozódik az IFN-okra. Az Asp egyaránt képes volt fokozni az IDU és a BVDU herpeszellenes aktivitását (22. ábra), míg a Ser a BVDU-ét, az IDU-ét és az iPDU-ét (23. ábra). Ugyanakkor a Ser gátolta az EDU aktivitását.

Ezeket az adatokat egybevetve a DNS-szintézis vizsgálatából levont következtetésekkel azt kell feltételeznünk, hogy a négy timidin-analóg hatásmechanizmusa legalább némely lépéseiben teljesen egyedi, az összes többitől eltérő kell legyen. Azt már láttuk, hogy a BVDU fokozza a timidin-

inkorporációt, és ez a képessége elkülöníti a másik három rokon drogtól. Az Asp fokozza a BVDU és az IDU aktivitását, de nem hat az EDU-ra és az iPDU-ra, azaz az IDU antivirális akciója során legalább egy olyan lépésnek kell lennie, ami nem közös az EDU és az iPDU hatásmechanizmusával. (Lehet viszont közös ez az elem a BVDU akciója során lezajló valamely egyedi történéssel anélkül, hogy teljesen azonos mechanizmust kellene feltételeznünk.) A Ser BVDU-t, IDU-t és iPDU-t potencírozó képessége azt jelzi, hogy e három drog hatásában előfordul legalább egy olyan elem, amely mindhárom esetben közös. Ez a lépés vagy hiányzik az EDU hatásmechanizmusából, vagy abban van egy olyan egyedi -a másik három timidin-analógnál hiányzó- elem, amelynek az érvényesülését a Ser gátolja, és ez a gátlás elfedi a másik három esetben megnyilvánuló potencírozó effektust.

E vizsgálatok során amellett, hogy kiderült, az aminosavak antivirális hatást fokozó képessége sokkal tágabb lehetőségeket rejt magában, mint azt korábban hittem, fény derült arra is, hogy a timidin-analóg herpeszellenes drogok hatásmechanizmusa az eddig feltételezettnél sokkal összetettebb, és egyénibb. Annak ellenére, hogy az e drogok bármelyike ellen kialakuló rezisztencia a vírust a többi hatásával szemben is ellenállóvá teszi (Mécs & Tóth S. 1988, 1989a, c, Rozs et al., Tóth S. & Mécs 1989a, b), a fenti kísérletekből származó eredmények azt sugallják, a drogok alkalmazási körülményeinek finom szabályozásával a keresztrezisztencia esetleg meggátolható (ebben az irányban jelenleg is folynak bíztató eredményű

kísérleteink). Ha ez bebizonyosodik, megsokszorozhatjuk a herpeszellenes terápia lehetőségeit, amelyek a virális timidinkináz magas mutációs rátája mellett éppen a keresztrezisztencia következtében szűkülnek be.

A hármas drogkombinációk az eddigiekhez képest már kevés új információt szolgáltattak. Említésre méltó, hogy a HuIFN-α (a BVDU kivételével valamennyi esetben antagonizálni látszik a Ser hatásait - akár a fokozót, akár a gátlót (v. ö. a 23. és 25. ábrákat), de további kísérletek nélkül ennek a jelentőségét egyenlőre nem tudom meghatározni.

A HuIFN-γ és a Ser (27. ábra) valódi kooperációt mutat a BVDU hatásának fokozásában. Különösen érdekesnek tartom, hogy a HuIFN-γ nem csak ellensúlyozni látszik a Ser-nek az EDU-ra kifejtett gátló hatását, hanem gyakorlatilag mintegy megfordítja ezt az effektust: a közös fokozó hatás szignifikánsan magasabb annál, amit a HuIFN-γ magában képes kiváltani.

Az egyenlőre nem interpretálható, de érdekes effektusokra utaló eredmények, és a Herpesvírusok fokozott *in vivo* IFN-érzékenysége egyaránt indokolja a hármas drogkombinációk vizsgálatának folytatását és kiterjesztését alkalmas in vivo modellre (a modellről bővebben ld.: Mécs & Tóth S. 1989a, b, Rozs et al.).

Jelen tanulmány eredményei nem csak az antivirális mechanizmusok tanulmányozásához nyújtanak egy újabb segédeszközt a meglévők mellé, amely komplexitása révén ugyan nagyon munkaigényes, de ugyanezen okból a vizsgált mechanizmusok finomanalízisét is lehetővé teszi, de van néhány konkrét gyakorlati alkalmazási lehetőségük is.

Az egyes IFN típusok és altípusok biológiai hatásai között mennyiségi és minőségi eltérések vannak (Brand, Mécs et al. 1985a, 1988). Egyebek között eltérő az egyes altípusok egységnyi fehérjemennyiségre vonatkoztatott antivirális aktivitása (NE/mg protein) is (Rubinstein 1987). Ez utóbbi eltérések az egyes IFN-molekuláknak az antivirális kaszkád különböző lépéseiben meglévő affinitás- és turnover- különbségeire vezethetők vissza. Miután a különböző aminosavak más-más módon, helyen vagy mértékben avatkoznak be ezekbe a folyamatokba, több aminosavat alkalmazva olyan komplex, egyéni érzékenységi mintázatot kaphatunk az egyedi IFN típusokra és altípusokra, amely mintegy "ujjlenyomatként" azonosíthatja őket. A 12. és 13. táblázatok egy ilyen mintaelemzést illusztrálnak: egy natív HuIFN-α készítmény altípusainak összehasonlító vizsgálatát. E módszer alkalmas lehet az eltérő eljárással termeltetett vagy tisztított natív készítmények összetételének összevetésére, a tisztítás során alkalmazott lépések valorizálására altípus-szelektivitás ill. összetétel-módosító hatás szempontjából, továbbá új IFN típusok és altípusok azonosítására, eltérő karakterük igazolására.

Az aminosav-potencírozó hatás egy másik gyakorlati alkalmazási lehetőségét mutatom be a 14. és 15. táblázatok segítségével. Ez a módszer a kimutathatóság határa alatti IFN-mennyiségek jelenlétét képes igazolni. Használható szérumok endogén IFN-tartalmának kimutatására, a kívülről bevitt IFN teljes inaktiválódási idejének meghatározására, esetleg IFN kimutatására liquorból és egyéb "védett" kompartmentekből, stb. Különösen

izgalmas lehetőségnek tűnik megkísérelni IFN jelenlétének kimutatását a különböző szövetekből és testnedvekből extrém alacsony dózisú IFN orális alkalmazása (Babiuch & Musabbir, Koech & Obel 1990a, b, Koren & Fleischmann, Obel & Koech, Roberts, Rush Moore et al., Toth T. et al., Zielinska et al.) után. Ez ugyanis olyan új, IFN hatástartomány -a 0.5-0.1 NE/ml alatti koncentrációk hatásai- létezését igazolhatná, amelyneg meglétét ma még csak gyanítjuk, direkt bizonyítékaink nincsenek rá.

Végül a gyakorlati alkalmazási területek közül a legfontosabb: a terápiás felhasználás lehetősége. Az IFN-terápia egyik alpvető korlátját jelentik a magas terápiás dózisok alkalmazásának szükségessége, és az ebből adódó terápiás mellékhatások. Ezek néha a kezelés felfüggesztését is szükségessé teszik, továbbá a magas dózisok nagy mértékben fokozzák a rekombináns IFN-okkal szemben kialakuló immunválasz kockázatát. Az aminosavas potencírozás ennek a problémának egy részmegoldása lehet. Antivirális terápiában sokkal alacsonyabb effektív dózisokkal érhető el a kívánt terápiás hatás, a mellékhatások eközben nem jelentkeznek, mivel a potencírozó effektus specifikus az antivirális aktivitásra. Mellesleg az antivirális terápia költségeit is nagyságrendekkel csökkentheti, ha lényegesen kevesebb IFN-t kell felhasználni. Sajnos a szükséges magas aminosav-koncentrációk technikai és biokémiai okokból egyaránt limitálják a jelenség ilyen irányú felhasználását. Ilyen magas ozmózisnyomást ugyanis szérumban sem nem szabad létrehozni, sem a fenntartása nem biztosítható. Két megoldás kínálkozik ennek a problémának a kiküszöbölésére: a lokális alkalmazás

(kenőcsben, olajokban, cseppekben herpesz- és papillómavírusok ellen), vagy szerintartalmú készítmények kifejlesztése. A Ser ugyanis 10^{-4} mg/ml-es koncentrációban is aktív, így akár már 0.5 ml térfogatú, 10 mg/ml szerintartalmú injekcióval hatékony koncentrációt lehet elérni a teljes keringési térfogatban. Munkacsoportunk jelenleg az első változattal foglalkozik: kifejlesztés alatt áll egy alacsony IFN-tartalmú, aminosav-kombinációval potencírozott kenőcs, amelyet herpesz- és papillómavírusok terápiájában szeretnénk hasznosítani.

KÖSZÖNETNYILVÁNíTÁS

Szeretném megköszönni Dr Béládi Ilonának, a SZAOTE Mikrobiológiai Intézete emeritus professzorának mindazt az anyagi és erkölcsi támogatást, amit munkám során nyújtott. Köszönöm továbbá azt a lehetőséget, hogy a fenti kísérletek döntő többségét az általa vezetett intézetben végezhettem.

Kiemelkedő köszönettel tartozom Dr Mécs Imrének, a JATE Biotechnológiai Tanszék tanszékvezetőjének mindazért a szakmai irányításért, baráti segítségért és támogatásért, amely nélkül ez a munka nem készülhetett volna el.

Hálásan köszönöm valamennyi kedves kollégám és munkatársam segítségét, akik kisebb-nagyobb mértékben hozzájárultak a fenti eredmények megszületéséhez. Közülük is ki kell emelnem Dr Mándi Yvettet és Endrész Valériát, akik a legtöbb szakmai támogatást és kísérleti segítséget nyújtották számomra. Köszönet illeti Dr Szűcs Viktóriát a SOD és peroxidáz-vizsgálatok elvégzéséhez nyújtott értékes szakmai segítségéért, valamint különleges köszönettel tartozom Dobrovichné Ágoston Évának felbecsülhetetlen értékű technikai közreműködéséért.

Hálával tartozom Dr Gál György professzor úrnak, a SZAOTE Vértranszfúziós Állomása igazgatójának a munkámhoz biztosított humán fehérvérsejtekért, valamint Dr. Tószegi Leventének, a Pick Rt. Vágóhídja főállatorvosának a sertés és szarvasmarha vérmintákért.

SAJÁT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

CIKKEK JEGYZÉKE

1. Gál, G., Tóth, M. & *Tóth, S.* (1981): Interferon Production of Chronic Uraemic Dialysed Patients.
in: Proc. European Dialysis and Transplantation Association (EDTA), 18, pp 188-192
ed.:Pittman Medical, London

2. Gál, G., Petri, I., Tóth, M. & *Tóth, S.* (1981): Immunreaktivitätsuntersuchung der Leukozyten Chronisch-Urämischer Dialysierter Pazienten. [Immune Reactivity Studies on Leukocytes of Chronic Uraemic Dialysed Patients. /in German/]
in: 5. Donausymposium für Nephrologie, Linz,12-14 sept. 1980., pp 48-53
ed.: Schendl Verlag, Wien

3. Béládi I., Tóth M., Rosztóczy I., *Tóth S.* és Endrész V. (1981): Eljárás humán gamma interferon előállítására.
Szabadalom.

4. Béládi, I., Tóth, M., Mécs, I., *Tóth, S.*, Taródi, B., Pusztai, R. & Koltai, M. (1982): Production and Purification of Human Leukocyte Interferon.
in: The Clinical Potential of Interferons, pp 31-38
ed.: R. Kono and I. Vilcek; Univ. of Tokyo Press

5. Pályi, I., Mécs, I., *Tóth, S.*, Béládi, I., Fleischmann, T., & Szollár, J. (1982): Interferon Production and Sensitivity of Human Lymphoma (BHL-89 and BHL-91) and Leukemia (K562) Lines to Interferon and Cytostatic Drugs.
Period. biol., 84, pp 357-362

6. Tóth, M., Bakay, M., Taródi, B., *Tóth, S.*, Pusztai, R. & Béládi, I. (1983): Different Interferon Inducing Ability of Human Adenovirus Types in Chick Cells.
Acta Virol., 27, pp 337-345

7. Tóth M., Endrész V., Béládi I. és *Tóth S.* (1983): Komplex eljárás humán leukocita és humán gamma interferon egymást követő előállítására.
Szabadalom.

8. Tóth, M., Mécs, I., *Tóth, S.*, Endrész, V. & Béládi, I. (1984): Semi-crude Human Leukocyte Interferon Production in a Simple Medium.
Acta Microbiol. Hung., 31(1), pp 61-67

9. Mándi Y., *Tóth S.*, Endrész V., Tóth M. és Béládi I. (1984): A humán leukocyta és immuninterferon sejtosztódást gátló és immunmoduláns hatása.
Kisérletes Orvostudomány, 36, pp. 326-330

10. Mécs, I., Koltai, M., *Tóth, S.* & Ágoston, É. (1984): The Anti-Inflammatory Effect of Human Interferons in Mice.
Contr. Oncol., vol. 20, pp 221-223

11. Tóth, M., Endrész, V., Béládi, I. und *Tóth, S.* (1984): Verfahren zur nacheinanderfolgenden Herstellung von humanen Leukozyteninterferon und humanen Gamma-Interferon.
European Patent No. 84115123.6

12. *Tóth S.* (1984): Eljárás humán leukocita interferon (HuIFN-alpha) termelésére és tisztítására.
Egyetemi doktori értekezés.

13. Tóth, M., Endrész, V., *Tóth, S.* & Béládi, I. (1985): Human Interferons Alpha and Beta Have More Potent Priming Activities than Interferon Gamma.
J. gen. Virol., 66, pp 893-896

14. *Tóth S.*, Endrész V., Tóth M. és Gál Gy. (1985): Krónikus urémiás dializált betegek fehérvérsejtjeinek in vitro interferon termelése.
Orv. Hetil. 126(44), pp 2713-2717

15. *Tóth, S.* & Mécs, I. (1985): Effect of Amino Acids on the Expression of Antiviral Activity of Different Types of Human Interferon: I. Effect of Single Amino Acids.
Acta Microbiol. Hung., 32(4), pp 363-368

16. *Tóth, S.* & Mécs, I. (1985): Effect of Amino Acids on the Expression of Antiviral Activity of Different Types of Human Interferon: II. Effects of Various Amino Acid Pairs.
Acta Microbiol. Hung., 32(4), pp 369-372

17. Endrész, V., *Tóth, S.* & Tóth, M. (1985): Production of High Titre Human Interferon Gamma in Primed Leukocyte Cultures.
Acta Microbiol. Hung., 32(4), pp 395-398

18. *Tóth, S.* & Mécs, I. (1986): Effects of Amino Acids on Antiviral Action of Interferons.
in: Yugoslave Colloquium on Interferon, pp 29-34
ed.: Filipic, B., Plesko, Ljubljana

19. *Tóth, S.* & Mécs, I. (1986): Separation of Human Interferon Alpha Subtypes by Chromatofocusing and Comparison of Their Sensitivities to Amino Acid Effects.
in: Yugoslave Colloquium on Interferon, pp 35-39
ed.: Filipic, B., Plesko, Ljubljana

20. Filipic, B., Rodé, B., Lackovic, G., *Tóth, S.*, Mécs, I. & Soos, E. (1986): Immunocytochemical Demonstration of Human Interferon Alpha and Its Subunits in Cultured Cells.
in: Yugoslave Colloquium on Interferon, pp 47-54
ed.: Filipic, B., Plesko, Ljubljana

21. Mécs, I., *Tóth, S.* & Sirokmán, F. (1989): Effect of Storage and Co-60 Irradiation on the Antiviral Activity and Subtype Pattern of Native Human Interferon Alpha Preparations.
Acta Virol., 33, pp 177-182

22. Tóth S., Barna M., Horváth G., Marsi I., Mécs I. és Kószó P. (1990): Eljárás toxikus hulladékok ártalmatlanítására.
Szabadalom. (Iktatószáma: 31271/90.; NSZO jelzete: CO2F 11/00)

23. Filipic, B., Golob, A., *Tóth, S.*, Mécs, I., Béládi, I. & M. Likar (1991): Interactions Between Human and Porcine Interferons.
Acta Virol., 35, pp 19-26

24. Pretnar, G., Filipic, B., Golob, A., Skodic, A., *Tóth, S.*, Mécs, I. & Suhar, A. (1991): Electroinduction of Interferon Like Proteins.
Bioelectrochem. Bioenerg., 25, pp 183-193

25. Filipic, B. in Tóth, S. (1992): Virusi in evolucija
Quark, *1*, pp 36-37

26. Kovács, K., *Tóth, S.*, Somogyvári, F., Wittmann, G. & Mécs, I. (1995): A Preformed Antiviral Substance Present in Porcine Leukocytes Obtained from Electrocuted Slaughterhouse Animals
ISCR-News, *2*, accepted for publication

27. Somogyvári, F., Kovács, K., Tóth, S., Wittmann, G. & Mécs, I. (1995): Construction of an Electroinductor and Induction of IFN-Like Proteins in Human and Porcine Leukocytes
ISCR-News, *2*, accepted for publication

ÖSSZEFOGLALÓK JEGYZÉKE

1. Mécs, I., Tóth, M., Taródi, B., *Tóth, S.*, Pusztai, R. & Béládi, I. (1980): Experiences in Production of Human Leukocyte Interferon.
in: Abstracts of Fourth International Symposium of Socialist Countries on Antiviral Substances, Szeged
p. 56.

2. Béládi, I., Tóth, M., Mécs, I., *Tóth, S.*, Taródi, B., Pusztai, R. & Koltai, M. (1980): Production and Purification of Human Leukocyte Interferon.
in: Abstracts of the International Conference on Clinical Potentials of Interferons in Viral Diseases and Malignant Tumors, held 2.-4. Dec. 1980, Tokyo, Japan
Japan Medical Research Foundation publications No. 15, p. 13.

3. Béládi, I., Tóth, M., Mécs, I., *Tóth, S.*, Endrész, V. & Pusztai, R. (1982): Large Scale Production of HuIFN-α by Leukocytes.
in: Abstracts of Seventh Regional Symposium of the Socialist Countries on Interferon, Varna, Bulgaria, 8.-12. November, 1982.
p. 22.

4. Mécs, I., Koltai, M., Tóth, M., *Tóth, S.*, Zsedényi, S., Szeverényi, I. & Béládi, I. (1982): A Rapid Method for Estimation of HuIFN- Inducing Capacity of Sendai Virus Preparations.
in: Abstracts of Seventh Regional Symposium of the Socialist Countries on Interferon, Varna, Bulgaria, 8.-12. November, 1982.
p. 24.

5. *Tóth, S.*, Mándi, Y., Endrész, V., Rosztóczy, I., Pusztai, R. & Béládi, I. (1982): Comparison of Some Biological Activities of Different Human Interferons.
in: Abstracts of Seventh Regional Symposium of the Socialist Countries on Interferon, Varna, Bulgaria, 8.-12. November, 1982.
p. 28.

6. Endrész, V., Tóth, M., *Tóth, S.*, Mándi, Y. & Béládi, I. (1983): Priming Activity of Human Interferon Types in Comparison with Their Other Biological Effects.
in: Summaries of the 9th Congress of the Hungarian Society for Microbiology, Budapest, 23.-25. August, 1983.
p. 60.

7. Endrész, V., Tóth, M., *Tóth, S.*, Mándi, Y. & Béládi, I. (1984): Priming Activity of Human Interferon Types in Comparison with Their Other Biological Effects. Acta Microbiol. Hung. 31(3), p. 261.

8. Béládi, I., Tóth, M., Endrész, V. & *Tóth, S.* (1984): Human Interferons Alpha and Beta Have More Potent Priming Activities Than Gamma. Antiviral Res. ABSTR 1/3, p. 132.

9. Endrész, V., Tóth, M., *Tóth, S.* & Béládi, I. (1985): The Priming Activities of Human Interferons Alpha, Beta and Gamma.
in: Abstracts of International Congress on Immunobiologics and Their Application, Budapest, Hungary, 21.-27. April, 1985.
p. 50.

10. Mécs, I., *Tóth, S.* & Ágoston, É. (1985): Characterization of Human Interferon α Preparations by Chromatofocusing.
in: Abstracts of International Congress on Immunobiologics and Their Application, Budapest, Hungary, 21.-27. April, 1985.
p. 54.

11. Mécs, I. , Koltai, M., *Tóth, S.* & Ágoston, É. (1985): Anti-Inflammatory Effect of Human Leukocyte Interferon Alpha Subtypes in Rats
in: Abstracts of the ARES Serono Symposium on the Interferon System, 8-11 May 1985, Rome, Italy
p. 122.

12. *Tóth S.* és Mécs I. (1985): Humán interferonok antivirális hatásának befolyásolása aminosavakkal *in vitro*.
in: A MMT 1985. évi Naggyűlésének összefoglalói, Kecskemét, 1985. augusztus 21.-24.
68. o.

13. *Tóth S.* (1985): Az interferonok antivirális hatását moduláló aminosavak befolyásának fázisfüggése.
in: A MMT 1985. évi Naggyűlésének összefoglalói, Kecskemét, 1985. augusztus 21.-24.
69. o.

14. Mécs I. és *Tóth S.* (1985): Humán leukocyta alfa interferon készítmények jellemzése kromatofókuszálással.
in: A MMT 1985. évi Naggyűlésének összefoglalói, Kecskemét, 1985. augusztus 21.-24.
71. o.

15. Mécs I., *Tóth S.*, Kátai A., Szénási Zs. és Szöllősy E. (1985): Neurovirulens és attenuált poliovírusok érzékenysége humán leukocyta interferon altípusokkal szemben homológ és heterológ rendszerben.
in: A MMT 1985. évi Naggyűlésének összefoglalói, Kecskemét, 1985. augusztus 21.-24.
73. o.

16. *Tóth, S.* & Mécs, I. (1985): Effects of Amino Acids on the Antiviral Action of Interferons.
in: Abstract Book of the 1985 TNO-ISIR Meeting on the Interferon System, Clearwater Beach, Florida, USA, 13.-18. October, 1985.
p. 124.

17. Gál, G., Tóth, M., *Tóth, S.* & Kiss, É. (1985): Alpha and Gamma Interferon Production of Dialysed Chronic Uraemic and Kidney Transplant Patients.
in: Abstracts EDTA, Brussels, Belgium, VI. 25.-29. 1985.
p. 49.

18. Béládi, I., Tóth, M., Taródi, B., Endrész, V. y *Tóth, S.* (1986): Producción consecutiva de interferones alfa y gamma en leucocitos humanos.
in: Resumenes del II. Seminario Cubano Sobre Interferon, Habana, Cuba, 20.-22. febr. 1986.
vol. 02, p. 165.

19. Béládi, I., Tóth, M., Mécs, I., Taródi, B., Endrész, V. & *Tóth, S.* (1986): Consecutive Production of Alpha and Gamma Interferons in Human Leukocytes
in: Resumenes del II. Seminario Cubano Sobre Interferon, Habana, Cuba, 20.-22. febr. 1986.
vol. 02, p. 166.

20. *Tóth, S.* & Mécs, I. (1986): Effects of Amino Acids on Antiviral Action of Interferons.
in: Abstracts of Yugoslave Colloquium on Interferon, Ljubljana, 18.-20. 05. 1986.
p. 6.

21. *Tóth, S.* & Mécs, I. (1986): Separation of Human Interferon Alpha Subtypes by Chromatofocusing and Comparison of Their Sensitivities to Amino Acid Effects.
in: Abstracts of Yugoslave Colloquium on Interferon, Ljubljana, 18.-20. 05. 1986.
p. 7.

22. Filipic, B., Rodé, B., Lackovic, G., *Tóth, S.*, Mécs, I. & Soos, E. (1986): Immunocytochemical Demonstration of Human Interferon Alpha and Its Subunits in Cultured Cells.
in: Abstracts of Yugoslave Colloquium on Interferon, Ljubljana, 18.-20. 05. 1986.
p. 9.

23. Mécs I., *Tóth S.*, Endrész V. és Zsedényi S. (1986): Humán és sertés leukocita alfa interferon készítmények altípusainak összehasonlító vizsgálata kromatofókuszálással.
in: A MMT 1986. évi Naggyűlésének összefoglalói, Gödöllő, 1986. szeptember 1.-3.
109. o.

24. Mécs I., Koltai M. és *Tóth S.* (1986): Natív, rekombináns és szintetikus humán alfa interferon altípusok gyulladásgátló hatása.
in: MMT 1986. évi Naggyűlésének összefoglalói, Gödöllő, 1986. szeptember 1.-3.
110. o.

25. Mécs I., Zsedényi S., *Tóth S.*, Endrész V. és Béládi I. (1986): Humán és sertés interferon készítmények nukleozid analógokkal kombinált antivirális hatása Aujeszky vírus ellen.
in: MMT 1986. évi Naggyűlésének összefoglalói, Gödöllő, 1986. szeptember 1.-3.
113. o.

26. *Tóth S.* (1986): Szerin és aszparaginsav befolyása humán interferonok és nukleozid analógok kombinált antivirális hatására a Herpes simplex 1 típusával szemben.
in: MMT 1986. évi Naggyűlésének összefoglalói, Gödöllő, 1986. szeptember 1.-3. 114. o.

27. Mécs I., Endrész V., *Tóth S.*, Zsedényi S. és Sirokmán F. (1986): A humán alfa interferon altípusok érzékenysége fizikai behatásokkal szemben.
in: MMT 1986. évi Naggyűlésének összefoglalói, Gödöllő, 1986. szeptember 1.-3. 159. o.

28. Endrész, V., Tóth, M., Mécs, I., Taródi, B., *Tóth, S.* & Béládi, I. (1986): Consecutive Production of Alpha and Gamma Interferons in Human Leukocytes.
in: Abstracts of 9th Regional Conference of Socialist Countries on Interferon, Jena, GDR, 13.-18. October, 1986.
p. 8.

29. Filipic, B., Rodé, B., Lackovic, G., *Tóth, S.*, Mécs, I. & Soos, E. (1986): The Influence of Human Interferon Alpha and Its Subunits on Some Specific Esterases in Cultured Cells.
in: Abstracts of 9th Regional Conference of Socialist Countries on Interferon, Jena, GDR, 13.-18. October, 1986.
p. 11.

30. Mécs, I., Zsedényi, S., *Tóth, S.*, Endrész, V. & Béládi, I. (1986): Combined Antiviral Effect of Human or Porcine Interferon Alpha with Nucleoside Analogues and Acyclovir Against Herpesvirus suis.
in: Abstracts of 9th Regional Conference of Socialist Countries on Interferon, Jena, GDR, 13.-18. October, 1986.
p. 27.

31. Mécs, I., *Tóth, S.*, Endrész, V. & Zsedényi, S. (1986): Subtypes in Human and Porcine Leukocyte Interferon Alpha Preparations Analyzed by Chromatofocusing.
in: Abstarcts of 9th Regional Conference of Socialist Countries on Interferon, Jena, GDR, 13.-18. October, 1986.
p. 28.

32. *Tóth, S.*, Mándi, Y., Mécs, I. & Endrész, V. (1986): Specificity of Antiviral Activity Enhancing Effects of Amino Acids on Interferon.
in: Abstracts of 9th Regional Conference of Socialist Countries on Interferon, Jena, GDR, 13.-18. October, 1986.
p. 44.

33. *Tóth, S.*, Mécs, I. & Béládi, I. (1986): Antiviral Effects of Nucleoside Analogues Against Herpes simplex Type 1 Virus in Combination with Human Interferon Alpha or Gamma and/or Aspartic Acid and Serine.
in: Abstracts of 9th Regional Sonference of Socialist Countries on Interferon, Jena, GDR, 13.-18. October, 1986.
p. 45.

34. Mécs, I., *Tóth, S.*, Endrész, V. & Zsedényi, S. (1986): Characterization of Some Human Interferon Alpha Preparations by Chromatofocusing.
J. Interferon Res. 6/1 Suppl., p. S78.

35. *Tóth, S.* & Mécs, I. (1986): Combined Antiviral Effects of Human Interferons and Nucleoside Analogues Against Herpes simplex Type 1 in Presence and Absence of Aspartic Acid and Serine.
J. Interferon Res. 6/1 Suppl., p. S86.

36. Filipic, B., Rode, B., Lackovic, G., Tóth, S., Mécs, I., Likar, M. & Soos, E. (1987): Human Interferon Alpha and Its Subunits Affects Some Specific Esterases in Cultured Cells
In: Abstracts of 18th FEBS Meeting, Ljubljana, Yugoslavia, 28. June - 3. July, 1987. p. 97.

37. Filipic, B., *Tóth, S.*, Golob, A. & Mécs, I. (1987): Effect of Human and Porcine Interferons on Human Transformed and Nontransformed Cells,
in: Abstracts of the 10th Congress of the Hungarian Society for Microbiology, Szeged, Hungary, 26.-29. August, 1987.
p. 56.

38. Mécs, I., *Tóth, S.*, Endrész, V. & Zsedényi, S. (1987): Large Scale Purification of Human, Bovine and Porcine Interferon Alpha and Gamma Preparations on Controlled Pore Glass Beads.
in: Abstracts of the 10th Congress of the Hungarian Society for Microbiology, Szeged, Hungary, 26.-29. August, 1987.
p. 70.

39. Mécs, I. & *Tóth, S.* (1988): Drug Resistance Among Subclones of Herpesvirus hominis Type 1 (KOS) Occuring in Normal and IFN-pretreated VERO Cells.
in: Mednarodno Posvetovanje o Virusnih Boleznih Cloveka, Ljubljana, Yugoslavia, 27.-28. maja 1988.
p. 11.

40. *Tóth, S.*, Mécs, I., Seprényi, G., Garssadi, S. I. & Papos, I. (1988): Characterization of an Acid Labile Antiviral Substance Isolated from Native Human IFN Alpha Preparations.
in: Mednarodno Posvetovanje o Virusnih Boleznih Cloveka, Ljubljana, Yugoslavia, 27.-28. maja 1988.
p. 11.

41. *Tóth S.*, Mécs I., Garssadi, S. I., Seprényi Gy., Endrész V. és Zsedényi S. (1988): Humán leukocita interferon natív és rekombináns altípusainak összehasonlító vizsgálata.
in: A MMT 1988. évi Naggyűlésének összefoglalói, Kaposvár, 1988. augusztus 25.-27.
38. o.

42. *Tóth S.*, Mécs I., Seprényi Gy., Garssadi, S. I., Papos I. és Béládi I. (1988): Humán leukocita interferonból izolált savlabil komponens fiziko-kémiai és biológiai jellemzése
in: A MMT 1988. évi Naggyűlésének összefoglalói, Kaposvár, 1988. augusztus 25.-27.
39. o.

43. Mécs, I., *Tóth, S.*, Seprényi, G., Garssadi, S. I., Papos, I. & Béládi, I. (1988): 2-5A Synthetase and NK Cell Activating Effects of Subtypes from Natural and Recombinant Human Leukocyte Interferon Alpha
In: Abstracts of The 1988 ISIR-JSIR Meeting on Interferon and Cytokines, November 14-18, 1988, Kyoto, Japan
p. 167.

44. Mécs, I., *Tóth, S.*, Seprényi, G., Garssadi, S. I., Papos, I. & Béládi, I. (1988): 2-5A Synthetase and NK Cell Activating Effects of Subtypes from Natural and Recombinant Human Leukocyte Interferon Alpha
J. Interferon Res., 8/1 Suppl. p. S168.

45. Mécs, I., Tóth, S. i Endrész, V. (1988): Razgyilenyie hromatofokuszirovanyijem I harakterisztyika fiziologicseszkih effektov podtipov, proizhodjasih iz nativnogo, rekombinantnogo i szintetyicseszkogo cselovjecseszkogo interferona-α
in: Tyeziszü, 10. Szimpozium Szocialisztyicseszkih Sztran po Intyerferonu, Riga, USSR, 6.-9. Szentyabrja 1988.
135. szt.

46. Mécs, I. i Tóth, S. (1988): Szuscsesztvovanyije lekarsztvennoj rezisztentnosztyi pri szerijnüh passzazsah szubklonov tipa 1 virusza gerpesza cselovjeka (KOS) v kletkah VERO v priszuvsztviji ili otszuvsztviji intyerferona alfa
in: Tyeziszü, 10. Szimpozium Szocialisztyicseszkih Sztran po Intyerferonu, Riga, USSR, 6.-9. Szentyabrja 1988.
136. szt.

47. Mécs I. és *Tóth S.* (1989): Drogrezisztencia és virulencia vizsgálatok a Herpesvirus hominis KOS törzsével
in: Magyar Kemoterápiai Társaság Kemoterápiai Konferenciája előadásainak és posztereinek összefoglalója, Hajduszoboszló, 1989. május 10.-13.
28. o.

48. *Tóth, S.* & Mécs, I. (1989): Drug Resistance and Virulence Studies with Herpes simplex Viruses: I. *In Vitro* Results.
in: Abstracts of Eighth Symposium of Socialist Countries on Antiviral Substances, Szeged, Hungary, 20.-22. August, 1989.
p. 25.

49. Mécs, I. & *Tóth, S.* (1989): Drug Resistance and Virulence Studies with Herpes simplex Viruses: II. *In Vivo* Results.
in: Abstracts of Eighth Symposium of Socialist Countries on Antiviral Substances, Szeged, Hungary, 20.-22. August, 1989.
p. 26.

50. Mécs, I., *Tóth, S.*, Seprényi, G., Garssadi, S. I., Endrész, V., Papos, I. & Béládi, I. (1989): Physiological and Biochemical Properties of an Acid Labile Substance (Subtype) from Native Human Leukocyte Interferon Alpha.
in: Abstracts of Eighth Symposium of Socialist Countries on Antiviral Substances, Szeged, Hungary, 20.-22. August, 1989.
p. 53.

51. *Tóth S.* és Mécs I. (1989): Csökkent virulenciájú HSV-1 (KOS) vonal előállítása drogrezisztenciára történt szelektálással.
in: A MMT 1989. évi Naggyűlésének összefoglalói, Eger, 1989. augusztus 24.-26. 108. o.

52. *Tóth S.* (1989): A humán gamma interferon direkt citotoxicitása aminosavakkal előkezelt WISH sejteken
in: A MMT 1989. évi Naggyűlésének összefoglalói, Eger, 1989. augusztus 24.-26. 109. o.

53. *Tóth, S.* & Mécs, I. (1989): Drug Resistance of Human HSV-1 and HSV-2 Strains.
in: Abstracts of Annual Congress of Yugoslave Society for Microbiology, 11.-15. September, 1989., Maribor, Yugoslavia
p. 146.

54. Mécs, I. & *Tóth, S.* (1989): *In Vivo* Characterization of an EDU-resistant HSV-1 (KOS) Strain.
in: Abstracts of Annual Congress of Yugoslave Society for Microbiology, 11.-15. September, 1989., Maribor, Yugoslavia
p. 146.

55. *Tóth, S.* (1989): Effect of Amino Acids on Antiviral Activity of IFN-s in Homologous and Heterologous Test Systems.
in: Abstracts of Annual Congress of Yugoslave Society for Microbiology, 11.-15. September, 1989., Maribor, Yugoslavia
p. 147.

56. *Tóth, S.* (1989): Cytotoxicity of HuIFN-gamma on Amino Acid Pretreated Target Cells.
in: Abstracts of Annual Congress of Yugoslave Society for Microbiology, 11.-15. September, 1989., Maribor, Yugoslavia
p. 147.

57. Filipic, B., Golob, A., Pretnar, G., Tóth, S., Mécs, I. & Soos, E. (1989): Human Interferon Alpha and Its Subtypes Affects Fatty Acid Peroxidation and Superoxid-Dismutase Activity
in: Abstracts of Annual Congress of Yugoslave Society for Microbiology, 11.-15. September, 1989., Maribor, Yugoslavia
p. 137.

58. Filipic, B. & Tóth, S. (1989): Methodological aspects of Microbiological Lectures
in: Abstracts of Annual Congress of Yugoslave Society for Microbiology, 11.-15. September, 1989., Maribor, Yugoslavia
p. 206.

59. Mécs, I. & *Tóth, S.* (1989): Drug Resistance and Virulence Studies with Herpes simplex Viruses.
J. Interferon Res. 9/2 Suppl., p. S271.

60. *Tóth, S.* & Mécs, I. (1989): Direct Cytotoxicity of HuIFN-gamma on Amino-acid Pretreated WISH Cells.
J. Interferon Res. 9/2 Suppl., p. S286.

61. Julesz, J., Gálfi, M., László, F. A., *Tóth, S.* & Petri, I. (1990): Hormonal Background of Impaired Cellular Immunity in 45, X0 Turner's Syndrome. J. Endocrinol. Invest. 13(Suppl. 2.), p. 192.

62. Mécs, I., *Tóth, S.*, Wittmann, G. & Tábith, K. (1993): Omega Interferon (ΩIFN): A Subtype Newly Isolated from EGIFERON
in: Book of Abstractsof the 1st Slovene Microbiological Congress with International Participation, 24-27 October 1993, Bled, Slovenia
SP8-03.

63. *Tóth, S.*, Mécs, I., Tábith, K. & Wittmann, G. (1993): Enhancement of Antiherpetic Effects of Interferons and Nucleoside Analogues by Amino Acids
in: Book of Abstracts of the 1st Slovene Microbiological Congress with International Participation, 24-27 October 1993, Bled, Slovenia
P8-06.

64. Mécs, I., Tóth, S., Wittmann, G., Pallai, Zs., Bali, L. & Onódi, K. (1994): Human Interferon Subtypes Present in EGIFERON
in: Abstracts of the International Meeting on Growth Control and Therapy of Cancer, 21-24 August 1994, Budapest
75.

65. Rozs, M., *Tóth, S.*, Wittmann, G. & Mécs, I. (1994): Effect of Interferon on the Development of Drug Resistance of Herpesviruses "In Vitro"
in: Abstracts of the International Meeting on Growth Control and Therapy of Cancer, 21-24 August 1994, Budapest
76.

IRODALOMJEGYZÉK

Abbas, A. K., Lichtman, A. H. & Pober, J. S. (1994): Cellular and Molecular Immunology ed.: W. B. Saunders Co., Philadelphia

Abdulhay, G., DiSaia, P. J., Blessing, J. A. & Creasman, W. T. (1984): Human Lymphoblastoid Intreferon (HLyIFN) in the Treatment of Advanced Epithelial Ovarian Malignancies: A Gynecologic Oncology Group Study
Amer. J. Obstet. Gynecol., *152*, p 418-423.

Ackermann, D., Biedermann, C., Bailly, G. & Studer, U. E. (1988): Treatment of Superficial Bladder Tumors with Intravesical Recombinant Interferon Alpha-2a
Urology International, *43*, pp 85-88.

d'Acquisto, R., Markman, M., Hakes, T., Rubin, S., Hoskins, W. & Lewis, J. L. (1988): A Phase I Trial of Intraperitoneal Recombinant Gamma-Interferon in Advanced Ovarian Carcinoma
J. Clin. Oncol., *6*, pp 1406-1411.

Adams, F., Ouesada, J. R. & Gutterman, J. U. (1984): Neuropsychiatric Manifestations of Human Leukocyte Interferon Therapy in Patients with Cancer
JAMA, *252*, pp 938-941.

Ahstrom, L., Dehlwitz, A., Strander, H., Carlstrom, G. & Cantell, K. (1974): Interferon in Acute Leukemia in Children
Lancet, *1*, pp 166-167.

Alexander, G. J. M., Brahm, J., Fagan, E. A., Smith, H.-M., Daniels, H. M. & Eddleston, A. L. W. F. (1887): Loss of HBsAg with Interferon Therapy in Chronic Hepatitis B Virus Infection
Lancet, *ii*, pp 66-69.

Alimena, G., Morra, E., Lazzarino, M., Liberati, A. M., Montefusco, E., Inverardi, D. Bernasconi, P., Mancini, M., Donti, E., Grignani, F., Bernasconi, C., Dianzani, F. & Mandelli, F. (1988a): Treatment of Ph^1-Positive Chronic Myelogenous Leukemia with Recombinant Interferon Alfa-2b
Cancer Treatment Rev., *15(Suppl. A)*, pp 21-26.

Alimena, G., Morra, E., Lazzarino, M., Liberati, A. M., Montefusco, E., Inverardi, D., Bernasconi, P., Mancini, M., Donti, E., Grignani, F., Bernasconi, C., Dianzani, F. & Mandelli, F. (1988b): Interferon Alfa-2b As Therapy for Ph^1-Positive Chronic Myelogenous Leukemia: A Study of 82 Patients Treated with Intermittent or Daily Administration
Blood, *72*, pp 642-647.

Anderson, M. G., Harrison, T. J., Alexander, G., Zuckerman, A. J. & Murray-Lyon, I. M. (1978): Randomised Controlled Trial of Lymphoblastoid Interferon for Chronic Active Hepatitis B
Gut, *28*, pp 619-622.

Andriole, G. L. (1992): Intravesical Therapy for Superficial Bladder Cancer
Current Opinion Urol., *2*, pp 37-379.

Anonymous (1977): Interferon Options
Br. Med. J. *1*, p 64.

Apostolov, K. (1989):Interferon and Fatty Acid Desaturation
Interferons and Cytokines, *10*, pp 39-41.

Ardizzoni, A., Gallo Curcio, C., Rosso, R., Salvati, F., Soresi, E., Scagliotti, G., Pozzi, E., Ferrara, G., Rinaldi, M., De Marinis, F., Crippa, M., Antilli, A., Bonsignore, G., Penucci, C. & Baldini, E. (1989): Recombinant Alpha Interferon and Polychemotherapy in the Treatment of Advanced Non Small Cell Lung Cancer (NSCLC)
J. Interferon Res., *9(Suppl. 2)*, p S117.

Aricó, M., Noto, G. & Pravatá, G. (1992): Combined Treatment of Epidermodysplasia Verruciformis with Etretinate and α-Interferon
J. Eur. Acad. Dermatol. Venerol., *1*, pp 630-636.

Arvin, A. M., Yeager, A. S. & Merigan, T. C. (1976): Effect of Leukocyte Interferon on Urinary Excretion of Cytomegalovirus in Infants
J. Infect. Dis., *133 (Suppl.)*, pp A205-A210.

AUSTIMS Research Group (1989): Interferon-α and Transfer Factor in the Treatment of Multiple Sclerosis: A Double-Blind Placebo-Controlled Trial
J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry, *52*, pp 566-574.

Åhre, A., Björkholm, M., Österborg, A., Brenning, G., Gahrton, G., Gyllenhammar, H. Holm, G., Johansson, B., Juliusson, G., Järnmark, M. et al. (1988): High Doses of Natural α-Interferon (α-IFN) in the Treatment of Multiple Myeloma - A Pilot Study from the Myeloma Group of Central Sweden
Eur. J. Hematol., *41*, pp 123-130.

Baars, J. W., Wagstaff, J., Boven, E., Vermoken, J. B., Vangroeningen, C. J., Scheper, R. J., Fonk, J. C. M., Nijman, H. W., Franks, C. R., Damsma, O. & Pinedo, H. M. (1991): Phase-I Study on the Sequential Administration of Recombinant Human Interferon-Gamma and Recombinant Human Interleukin-2 in Patients with Metastatic Solid Tumors
J. Natl. Cancer Inst., *83*, pp 1408-1410.

Babiuch, L. & Musabbir, M. (1994): Oral Mucosal Administration of Natural Human Alpha-Interferon in HIV-1 Seropositive Patients
J. Interferon Res., *14(Suppl.1)*, p S140.

Badaro, R., Falcoff, R.,Brandely, M., Barral-Netto, M., Carvalho, E. & Falcoff, E. (1989): Treatment of Visceral and Diffuse Leishmaniasis by Interferon Gamma
J. Interferon Res., *9(Suppl. 2)*, p S134.

Balázs Cs. (1990): Inzulindependens diabetes mellitus és egyéb autoimmun endocrinopathiák
in: Klinikai immunológia. II. Klinikum, 193.-198. o.
Szerk.: Szegedi Gy., Gergely P., Sipka S. és Szemere P.
Medicina, Budapest

Balkwill, F. R. (1989): Cytokines in Cancer Therapy
ed.: Oxford University Press, Oxford - New York - Tokio

Balkwill, F. R. & Burke, F. (1989): The Cytokine Network
Immunol. Today, *10*, pp 299-304.

Balkwill, F. R., Ward, B. G., Moodie, E. & Fiers, W. (1987): Therapeutic Potential of Tumor Necrosis Factor α and γ Interferon in Human Ovarian Cancer
Cancer Res., *47*, 4755-4758.

Bartholomew, C. & Windass, J. D. (1989): Identification of a Functional Allele of a Human Interferon-α Gene Previously Characterized as a Pseudogene
J. Interferon Res., *9*, pp 407-417.

Bátkai, L. & Stöger, I. (1987): Radioprotective Effect of Beta Interferon in Mice
in: Abstracts of the 10th Congress of the Hungarian Society for Microbiology, Szeged, Hungary, 26.-29. August, 1987.
p. 59.

Becker, S. (1985): IFN-γ Accelerates Immune Proliferation Via Its Effect on Monocyte HLA-DR Expression
Cellular Immunol., *91*, pp 301-307.

Béládi, I. (1969): In Vivo Interferon Induction By Human Adenovirus
Colloques de l'Inst. Natl. de la Sanité et Res. Med., *6*, pp 77-80.

Béládi, I., Pusztai, R., Mucsi, I. és Bakay, M. (1968): Interferon indukciója adenovírusokkal in vivo
Magy. Onkol., *12*, pp 143-144.

Béládi, I. & Pusztai, R. (1967): Interferon-Like Substance Produced in Chick Fibroblast Cells Inoculated with Human Adenoviruses
Z. Naturforschung, *22b*, pp 165-169.

Béládi, I., Pusztai, R., Bakay, M. & Berencsi, K. (1975): Interferon Induction and Immunosuppression by Viruses
in: Effects of Interferon on Cells, Viruses and the System
ed.: A. Geraldes, Academic Press, NY, USA
pp 417-422.

Béládi, I., Bakay, M. , Berencsi, K. , Pusztai, R., & Taródi, B. (1975): In Vivo Study on Interferon Inductive and Immunosuppressive Effects of Viruses
in: Interferon and Interferon Inducers
eds.: I. Földes & M. Tálas; Res. Group Hung. Acad. Sci., Budapest,
pp 218-228.

Béládi I., Tóth M., Rosztóczy I., Tóth S. és Endrész V. (1981): Eljárás humán gamma interferon előállítására.
Szabadalom.

Béládi, I., Tóth, M., Mécs, I., Tóth, S., Taródi, B., Pusztai, R. & Koltai, M. (1982): Production and Purification of Human Leukocyte Interferon.
in: The Clinical Potential of Interferons,
ed.: R. Kono and I. Vilcek; Univ. of Tokyo Press
pp 31-38.

Béládi, I., Tóth, M., Endrész, V. & Tóth, S. (1984): Human Interferons Alpha and Beta Have More Potent Priming Activities Than Gamma.
Antiviral Res. *ABSTR 1/3*, p. 157.

Béládi, I., Seprényi, Gy., Endrész, V., Mándi, Y. & Megyeri, K. (1991): A comparative Study of the Biological Activities of Chicken Interferons
J. Interferon Res., *11(Suppl.1.)*, p S84.

Béládi, I., Bálint, E., Ocsovszky, I., Pusztai, R. & Mándi, Y. (1994): Interferon-Alpha Inhibits the Serotonin 2 Receptor-Mediated Depolarization of Human Lymphocytes
J. Interferon Res., *14(Suppl.1.)*, p S121.

Benjamin, B. N., Gatenby, P. A., Kitchen, R., Harrison, H., Cameron, K. & Basten, A. (1988): Alpha Interferon as an Adjunct to Standard Surgical Therapy in the Management of Recurrent Respiratory Papillomatosis
Ann. Otol. Rhinol. Laryngol., *97*, pp 376-380.

Benczúr M. (1988): A sejtközvetítette celluláris immunválasz
in: Klinikai immunológia: I. Elmélet, 191.-203. o.
szerk.: Petrányi Gy., Benczúr M. és Falus A., Medicina, Bp.

Berek, J. S., Hacker, N. F., Lichtenstein, A., Jung, T., Spina, C., Knox, R. M., Brady, J., Greene, T., Ettinger, L. M., Lagasse, L. D., Bonnem, E. M., Spiegel, R. J. & Zighelboim, J. (1985): Intraperitoneal Recombinant α_2-Interferon for "Salvage" Immunotherapy in Persistent Epithelial Ovarian Cancer
Cancer Res., *45*, pp 4447-4453.

Bergerat, J.-P., Herbrecht, R., Dufour, P., Jacqmin, D., Bollack, C., Prevot, G., Bailly, G., de Garis, S., Juraschek, F. & Oberling, F. (1988): Combination of Recombinant Interferon Alpha-2A and Vinblastine in Advanced Renal Cell Cancer
Cancer, *62*, pp 2320-2324.

Bezwoda, W. R., Hesdorffer, C. S., Dansey, R. D. & Lewis, D. (1987): Treatment of Hairy Cell Leukemia with Recombinant Alpha-Interferon
South Afr. Med. J., *72*, pp 661-662.

Billiau, A. (1987): Interferon $ß_2$ as a Promoter of Growth and Differentiation of B Cells
Immunology Today, *8*, pp 84-87.

Blanchet-Bardon, C., Puissant, A., Lutzner, M., Orth, G., Nutini, M. T. & Guesry, P. (1981): Interferon Treatmennt of Skin Cancer Patients with Epidermodysplasia Verruciformis
Lancet, *i*, p. 274.

Blomgren, H., Cantell, K., Johansson, B., Lagergren, C., Ringborg, U. & Strander, H. (1976): Interferon Therapy in Hodgkin's Disease
Acta Med. Scand., *199*, pp 527-532.

Boccara, J. F., Badoual, J., Monfort, M. & Lebon, P. (1991): Treatment of a Severe Case of Langerhans Cell Histiocytosis with Interferon Alpha
J. Interferon Res., *11(Suppl. 1)*, p S242.

Bocci, V. (1980): Possible Causes of Fever after Interferon administration
Biomedicine, *32*, pp 159-162.

Bocci, V. (1988a): Central Nervous System Toxicity of Interferons and Other Cytokines
J. Biol. Regul. Homeostatic Agents, *2(3)*, pp 107-118.

Bocci, V. (1988b): Roles of Interferon Produced in Physiological Conditions. A Speculative Review
Immunol., *64*, pp 1-9.

Bollag, W. (1991): Retinoids and Interferon: A New Promising Combination
Br. J. Haematol., *79(Suppl. 1.)*, pp 87-91.

Bollag, W., Peck, R. & Frey, J. R. (1992): Inhibition of Proliferation by Retinoids, Cytokines and Their Combination in Four Human Transformed Epithelial Cell Lines
Cancer Lett., *62*, pp 167-172.

Boraschi, D., Censini, S., Bartalini, M., Ghiara, P. & Tagliabue, A. (1985): Regulation of Arachidonic Acid Metabolism in Macrophages By Interferons
in: Abstract Book of the 1985 TNO-ISIR Meeting on the Interferon System, Clearwater Beach, Florida, USA, 13.-18. October, 1985.
p. 52.

Borecky, L. (1984): Interferon: The Lesson Learned from Endocrine and Immunotherapy
Contr. Oncol., *20*, pp 318-332.

Borecky, L., Lackovic, V., Marcinka, K. & Rovensky, J. (1986): The Interferon System in SLE and Psoriatic Patients
in: Yugoslave Colloquium on IFN, pp 73-79.
ed.: Filipic, B.; Plesko, Ljubljana

Borecky, L., Kontsek, P. & Lackovic, V. (1989): Is the Acid- and Thermolabile IFN Alpha a Subtype?
J. Interferon Res., *9(Suppl.2)*, p. S80.

Boromisza Cs. (1986): Az alfa- és gamma-interferon *in vitro* indukálhatóságának és a koagulációnak kinetikus vizsgálata az autoimmun krónikus betegségekben
Egyetemi doktori értekezés
Kecskemét, 1986.

Brand, C. M. (1994): Relative Immunogenicities of Natural IFN-α Subtypes
J. Interferon Res., *14(Suppl.1)*, p S117.

Brandely, M., Falcoff, R. & Falcoff, E. (1991): Interferon Gamma (IFNγ) and Glucantime^{R} in the Treatment of Visceral Leishmaniasis (Preliminary Data and Perspectives)
J. Interferon Res. *11 (Suppl. 1)*, p S126.

Bronchud, M. H., Potter, M. R., Morgenstern, G., Blasco, M. J., Scarffe, J. H., Thatcher, N., Crowther, D., Souza, L. M., Alton, N. K., Testa, N. G. & Dexter, T. M. (1987): Phase I/II Study of Recombinant Human Colony Stimulating Factor in Patients Receiving Intensive Chemotherapy for Small Cell Lung Cancer
Br. J. Cancer, *56*, pp 809-813.

Bruntsch, U., Groos, G., Tigges, F. J., Hofschneider, P. H. & Gallmeier, W. M. (1984): Lack of Response in Nine Patients with Breast Cancer Treated with Fibroblast Interferon
Cancer Chemother. Pharmacol., *13*, pp 39-42.

Bukholm, G., Berdal, B. P., Haug, C., Modalsli, K. & Degré, M. (1984): Effect of Interferons on Invasive Properties of Entheropathogenic Bacteria
Antivir. Res., *1984 Abstr. 1(3)*, p. 70.

Bunn, P. A: Jr. & Foon, K. A. (1985): Therapeutic Options in Advanced Cutaneous T Cell Lymphomas: A Role for Interferon Alfa-2a (Roferon^{R}-A)
Seminars in Oncology, *12(4-Suppl. 5)*, pp 18-24.

Bunn, P. A. Jr., Ihde, D. C. & Foon, K. A. (1987): Recombinant Interferon Alfa-2a, an Active Agent in Advanced Cutaneous T-Cell Lymphomas
Intern. J. Cancer, *1987 (Suppl. 1)*, pp 9-13.

Burke, D. C. & Isaacs, A. (1958): Some Factors Affecting the Production of Interferon
Brit. J. Exp. Path., *39*, pp 452-458.

Byrne, G. I., Schobert, C. S. & Carlin, J. M. (1989): The Interferon System and Growth Restriction of Nonviral Intracellular Pathogens
J. Interferon Res., *9(Suppl. 2)*, p S132.

Cabrera, J. A., Cordero, J. R., Fernández, O., Reyes, F., Feas, R., Romero, K., Simón, J. M., López-Saura, P., Bello, I., Gonzalez-Quevedo, A., Alfaro, I. & Williams, S. (1991): Treatment of Schizophrenia with Intramuscular Alpha IFN
J. Interferon Res., *11(Suppl. 1)*, p S250.

Canellos, G. P. (1985): Interferon in the Treatment of Malignant Lymphoma
Seminars in Oncology, *12(4-Suppl. 5)*, pp 25-29.

Cannon, G. W., Pincus, S. H., Emkey, R. D., Denes, A., Cohen, S. A., Wolfe, F., Saway, P. A., Jaffer, A. M., Weaver, A. L., Cogen, L. & Schindler, J. D. (1989): Double Blind Trial of Recombinant γ-Interferon Versus Placebo in the Treatment of Rheumatoid Arthritis
Arthritis and Rheumatism, *32*, pp 964-973.

Cantell, K. & Hirvonen, S. (1977): Preparation of Human Leukocyte Interferon for Clinical Use
Tex. Rep. Biol. Med., *35*, pp 138-144.

Cantell, K. & Hirvonen, S. (1978): Large-Scale Production of Human Leukocyte Interferon Containing 10^8 Units per ml
J. Gen. Virol., *39*, pp 541-543.

Cantell, K., Hirvonen, S., Mogensen, K. E. & Pyhälä, L. (1974): Human Leukocyte Interferon: Production, Purification, Stability and Animal Experiments. The Production and Use of Interferon for the Treatment of Human Virus Infections
in: In Vitro. Monograph, *3*, pp 35-38.

Capobianchi, M. R., Castilletti, C., Fais, S., Abbate, I., Ameglio, F., Cordiali Fei, P., Mercuri, F., Ficociello, B. & Dianzani, F. (1994): IFN-Gamma Induced Alterations of Adhesion Molecules Expressed By HIV-1 Infected U937 Cells Is Reflected in the Virus Progeny. Possible Implications in Altered Host Cell Range
J. Interferon Res., *14(Suppl. 1)*, p S212.

Carrington, D. (1987): The Endogenous Interferons
Interferons Today & Tomorrow, *3*, pp 26-28.

Carter, W. A., Dolen, J. G., Leong, S. S., Horoszewicz, J. S., Vladutiu, A. O., Leibowitz, A. I. & Nolan, J. P. (1979): Interferon and Hepatitis Infection: Current Results and Possible Amplification of the Therapeutic Response
in: Interferon: Properties and Clinical Uses, pp 693-699.
eds.: Khan, A., Hill, N. O. & Dorn, G. L.; Leland Fikes Foundation Press, Dallas

Cases, O., Seif, I., Babinet, C. & de Maeyer, E. (1994): Transgenic Mice Carrying the Interferon-Beta Gene Placed Under the Control of a Constitutive Promoter
J. Interferon Res., *14(Suppl.1)*, p S206.

Chadha, K. C. (1985): Acid Labile Human Leukocyte Interferon
in: Abstracts of the Serono-Ares Symposium on the Interferon System, May 8-11, 1985, Rome, Italy; p 48.

Chany-Fournier, F., Jiang, P. H. & Chany, C. (1990): Sarcolectin and Interferon in the Regulation of Cell Growth
J. Cell. Pysiol., *145*, pp 173-180.

Chisesi, T., Capnist, G., Vespignani, M. & Dini, E. (1988): The Role of Interferon Alfa-2b and Chlorambucil in the Treatment of Non-Hodgkin's Lymphoma
Cancer Treatment Rev., *15(Suppl. A)*, pp 27-33.

Clark, P. I., Slevin, M. L., Reznek, R. H., Niederle, N., Kurschel, E., Lundell, G., Cedermark, B., Fallenius, A., Blomgren, H., Ohman, U., Silfersward, C., Theve, N. O. & Wrigley, P. F. M. (1987): Two Randomised Phase II Trials of Intermittent Intravenous Versus Subcutaneous Alpha-2 Interferon Alone (Trial 1) and in Combination with 5-Fluorouracil (Trial 2) in Advanced Colorectal Cancer
Intern. J. Colorectal Dis., *2*, pp 26-29.

Clark, R. H., Dimitrov, N. V., Axelson, J A. & Charamella, L. J. (1984): Leukocyte Alpha-Interferon as a Biological Modifier in Hodgkin's and Non-Hodgkin's Lymphomas Resistant to Standard Therapy
Proc. Amer. Soc. Clin. Oncol., *3*, p. 66.

Clemens, M. J. & McNurlan, M. A. (1985): Regulation of Cell Proliferation and Differentiation By Interferons
J. Biochem., *226*, pp 345-360.

Coffman, R. L. & Carty, J. (1986): A T Cell Activity That Enhances Polyclonal IgE Production and Its Inhibition By Interferon-Gamma
J. Immunol., *136*, pp 949-954.

Coto, C., Varela, G., López-Saura, P., Hernández, V. & Valle, J. (1991): Use of Recombinant Gamma Interferon in Two Pediatric Patients with Juvenile Rheumatoid Arthritis (JRA)
J. Interferon Res., *11(Suppl. 1)*, p S243.

Creagan, E. T., Ahmann, D. L., Frytak, S., Long, H. J., Chang, M. N. & Itri, L. M. (1987a): Three Consecutive Phase II Studies of Recombinant Interferon Alfa-2a in Advanced Malignant Melanoma: Updated Analyses
Cancer, *59*, pp 638-646.

Creagan, E. T., Ahmann, D. L., Long, H. J., Frytak, S., Sherwin, S. A. & Chang, M. N. (1987b): Phase II Study of Recombinant Interferon-Gamma in Patients with Disseminated Malignant Melanoma
Cancer Treatment Rep., *71*, pp 843-844.

Creagan, E. T., Buckner, J. C., Hahn, R. G., Richardson, R. R., Schaid, D. J. & Kovach, J. S. (1988): An Evaluation of Recombinant Leukocyte A Interferon with Aspirin in Patients with Metastatic Renal Cell Cancer
Cancer, *61*, pp 1787-1791.

Creasey, A., Reynolds, M. T. & Laird, W. (1986): Cures and Partial Regression of Murine and Human Tumours by Recombinant Human Tumour Necrosis Factor
Cancer Res., *46*, pp 5687-5690.

Croghan, M. K., Booth, A. & Meyskens, F. L. (1988): A Phase I Trial of Recombinant Interferon-α and α-Difluoromethylornithine in Metastatic Melanoma
J. Biol. Response Modifiers, *7*, pp 409-415.

Cummins, J., Hutcheson, D, Tripp, M. & Georgiades, J. (1985): Human Interferon Improves Feed Efficiency of Morbid Calves
in: Abstract Book of the 1985 TNO-ISIR Meeting on the Interferon System, Clearwater Beach, Florida, USA, 13.-18. October, 1985.
p. 98.

Cuneo, A., Lanza, F., Spanedda, R., Tomasi, P., Ferrari, L. & Castoldi, G. L. (1988): Alpha Interferon in T Helper Phenotype Chronic Lymphocytic Leukemia: A Report of Three Cases
J. Biol. Regul. Homeostatic Agents, *2*, pp 31-34.

Czarniecki, C. W., Fennie, C. W., Powers, D. B. & Estell, D. A. (1984): Synergistic Antiviral and Antiproliferative Activities of *Escherichia coli*-Derived Human Alpha, Beta and Gamma Interferons
J. Virol., *49*, pp 490-496.

Dafny, N. & Georgiades, J. A. (1985): Human Interferon Alpha (HuIFN-Â) Modulates Opiate Abstinence Syndrome
in: Abstract Book of The 1985 TNO-ISIR Meeting on the Interferon System; Clearwater Beach, Florida, USA; 13-18 October, 1985
p. 99.

Davidovich, C. R., Guglielmineti, A., Zorzópulos, J., Criscuolo, M. & Díaz, A. (1989): Disappearance of Dysplastic Cervical Lesions Treated with Leukocyte Interferon
J. Interferon Res., *9(Suppl. 2)*, p S119.

Degré, M., Bukholm, G., Haug, C., Berdal, B. P. & Bergh, M. (1985): Mechanism of Interferon Effect on Resistance of Cells to Bacterial Invasiveness
in: Abstract Book of The 1985 TNO-ISIR Meeting on the Interferon System; Clearwater Beach, Florida, USA; 13-18 October, 1985
p 58.

De la Pena, N. C., Diaz, A., Damel, A.,Bal, E., Puricelli, E., Ejden, J. & de Lustig, E. S. (1978): Combined Therapy of Human Interferon (HI) and Secretory Immunglobulin (S-IgA) in the Treatment of Human Herpetic Keratitis
Biomedicine, *28*, pp 104-108.

DeSena, J. & Rio, G. J. (1975): Partial Purification and Characterization of RTG-2 Fish Cell Interferon
Infect. Immunol., *11*, pp 815-822.

Desmyter, J. (1977): The Use of Interferon in Viral Hepatitis B
Texas Rep. Biol. Med., *35*, pp 516-522.

Dinarello, C. A. & Mier, J. W. (1987): Current Concepts: Lymphokines
N. Engl. J. Med., *163*, pp 940-945.

Dinh, Ph. N., Béládi, I., Rosztóczy, I. & Tóth, M. (1980a): Modulation of Lymphokine Production By Interferon
J. Interferon Res., *1*, pp 23-30.

Dinh, Ph. N., Béládi, I., Rosztóczy, I. & Tóth, M. (1980b): Interferon Modulation of Lymphokine Production By ConcanavalinA Stimulated Human Leukocytes
in: Abstracts of the Fourth International Symposium of Socialist Countries on "Antiviral Substances", Szeged
p 68.

Dinh, Ph. N., Rosztóczy, I., Béládi, I. & Tóth, M. (1980c): Differential Effect of Interferon on the Production of Virus- and Mitogen-Induced Leukocyte Inhibitory Factors in Human Leukocyte Cultures
Acta Virol., *24*, pp 427-432.

Dolei, A., Serra, C., Tilocca, F., Marongiu, P., Curelli, S., Modesti, A., Toniolo, A. & Ameglio, F. 1994): Membrane Molecules and HIV-1 Infection of Normal Human Fibroblasts: Influence of Cytokines
J. Interferon Res., *14(Suppl. 1)*, p S200.

Douglas, R. M., Moore, B. W., Miles, H. B., Davis, L. M., Graham, N. M. H., Ryan, P., Worswick, D. A. & Albrecht, J. K. (1986): Prophylactic Efficacy of Intranasal Alpha$_2$-Interferon Against Rhinovirus Infections in the Family Setting
New Engl. J. Med., *314*, pp 65-70.

Duc-Gorian, P., Robert-Galliot, B., Lopez, J. & Chany, C. (1985): Unusual Apparently Constitutive Interferons and Antagonists in Human Placental Blood
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, *82*, pp 5010-5014.

Dunnick, J. K. & Galasso, G. J. (1979): Clinical Trials with Exogenous Interferon: Summary of a Meeting
J. Infect. Dis., *139*, pp 109-123.

Durie, B. G. M., Clouse, L., Braich, T., Grimm, M. & Robertone, A. (1986): Interferon Alfa-2b-Cyclophosphamide Combination Studies: *In Vitro* and Phase I-II Clinical Results
Seminars in Oncology, *13(3, Suppl. 2)*, pp 84-88.

Eddleston, A. L. W. F. & Dixon, B. (eds.) (1990): Interferons in the Treatment of Chronic Virus Infection of the Liver
Pennine Press, Macclesfield

Edmonson, J. H., Long, H. J., Frytak, S., Smithson, W. A. & Itri, L. M. (1987): Phase II Study of Recombinant Alfa-2a Interferon in Patients with Advanced Bone Sarcomas
Cancer Treatment Rep., *71*, pp 747-748.

Edwards,L., Berman, B., Rapini, R. P., Whiting, D. A., Tyring, S., Greenway, H. T., Eyre, S. P., Tanner, D. J., Taylor, E. L., Peets, E. & Smiles, K. A. (19992): Treatment of Cutaneous Squamous Cell Carcinomas by Intralesional Interferon Alfa-2b Therapy
Arch. Dermatol., *128*, pp 1486-1489.

Einat, M., Resnitzky, D. & Kimchi, A. (1985): Inhibitory Effects of Interferon on the Expression of Genes Regulated Py Platelet-Derived Growth Factor
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, *82*, pp 7608-7612.

Einhorn, S. & Strander, H.: (1978): Interferon Therapy for Neoplastic Diseases in Man. In Vitro and In Vivo Studies
Adv. Exp. Med. Biol., *110*, pp 159-174.

Einhorn, S. & Strander, H. (1984): Studies with Interferon-Alpha in Human Tumours
Med. Oncol. Tumour Pharmacother., *1*, pp 97-99.

Emödi, G. & Rufli, T. (1977): Antiviral Action of Interferon in Man: Use of Interferon in Varicella-Zoster Infections in Man
Texas Rep. Biol. Med., *35*, pp 511-515.

Emödi, G., O'Reilly, R., Muller, A., Everson, L. K., Binswanger, U. & Just, M. (1976): Effect of Human Exogenous Leukocyte Interferon on Cytomegalovirus Infections
J. Infect. Dis., *133 (Suppl.)*, pp A199-A204.

Endrész, V., Tóth, M., Tóth, S., Mándi, Y. & Béládi, I. (1983): Priming Activity of Human Interferon Types in Comparison with Their Other Biological Effects.
in: Summaries of the 9th Congress of the Hungarian Society for Microbiology, Budapest, 23.-25. August, 1983.
p. 60.

Endrész, V., Tóth, M., Tóth, S., Mándi, Y. & Béládi, I. (1984): Priming Activity of Human Interferon Types in Comparison with Theit Other Biological Effects.
Acta Microbiol. Hung., *31(1)*, pp 67-71.

Endrész, V., Tóth, M., Tóth, S. & Béládi, I. (1985): The Priming Activities of Human Interferons Alpha, Beta and Gamma.
in: Abstracts of International Congress on Immunobiologics and Their Application, Budapest, Hungary, 21.-27. April, 1985.
p. 42.

Eriksson, B., Alm, G. V., Lundqvist, G., Wilander, E., Öberg, K., Karlsson, A., Andersson, T. & Wide, L. (1986): Treatment of Malignant Endocrine Pancreatic Tumours with Human Leukocyte Interferon
Lancet, *ii*, pp 1307-1309.

Ernst, P., Olesen, B. K., Nissen, M. H., Plesner, T. & Larsson, J. K. (1984): *In Vivo* Effect of Recombinant Interferon Alpha (IFN) in Patients with Lung Cancer
Proc. Amer. Soc. Clin. Oncol., *3*, p 66.

Facon, T., Caulier, M. T., Fenaux, P., Wibaut, B., Cappelaere, A., Quiquandon, I.& Bauters, F. (1991): Interferon Alpha-2b Therapy in Refractory Adult Chronic Thrombocytopenic Purpura
Br. J. Haematol., *82*, p. 464.

Falcoff, E., Falcoff, R., Fournier, F. & Chany, C. (1966): Production en masse, purification partielle et characterisation d'un interferon destine a des essais therapeutiques humans
Ann. d'Institut Pasteur,*3*, pp 562-569.

Falcoff, E., Falcoff, R., Eyquem, A., Sanceau, J., Catinot, L. & Vomecourt, A. (1970): Induction d´interferon humain par le sérum antilymphocitaire
C. R. Acad. Sci. (Paris), *271D*, pp 545-549.

Fattovich, G., Betterle, C., Brollo, L., Pedini, B., Giustina, G., Reddi, G., Alberti, A. & Ruol, A. (1991): Autoantibodies During Alpha-Interferon Therapy for Chronic Hepatitis-B
J. Med. Virol., *34(2)*, pp132-135.

Feinberg, B., Kurzrock, R., Blick, M., Talpaz, M., Saks, S. & Gutterman, J. (1987): Phase I Study of Recombinant Tumor Necrosis Factor in Pastients with Disseminated Cancer
Proceedings of ASCO, *6*, p. 238.

Fentiman, I. S., Balkwill, F. R., Cuzik, J., Hayward, J. L. & Rubens, R. D. (1987): A Trial of Human Alpha Interferon as an Adjuvant Agent in Breast Cancer After Loco-Regional Recurrence
Eur. J. Surg. Oncol., *13*, pp 425-428.

Ferrantini, M., Giovarelli, M., Modesti, A., Musiani, P., Modica, A., Venditti, M., Peretti, E., Lollini, P. L., Nanni, P., Forni, G. & Belardelli, F. (1994): IFN-α1 Gene Expression into a Metastatic Murine Adenocarcinoma (TS/A) Results in CD8+ T Cell-Mediated Tumor Rejection and Development of Antitumor Immunity. Comparative Studies with IFN-Gamma Producing TS/A Cells
J. Interferon Res., *14(Suppl.1)*, p S205.

Fierlbeck, G & Rassner, G. (1989): Phase II and III Trials of Interferon Gamma in Patients with M. Behçet, Psoriatic Arthritis and Systemic Sclerosis
J. Interferon Res., *9(Suppl. 2)*, p S221.

Figlin, R. A., de Kernion, J. B., Mukamel, E., Palleroni, A. V., Itri, M. & Sarna, G. P. (1988): Recombinant Interferon Alfa-2a in Metastatic Renal Cell Carcinoma: Assessment of Antitumour Activity and Anti-Interferon Antibody Formation
J. Clin. Oncol., *6*, pp 1604-1610.

Filipic, B., Rodé, B., Lackovic, G., Tóth, S., Mécs I. & Soos, E. (1986a): Immunocytochemical Demonstration of Human Interferon Alpha and Its Subunits in Cultured Cells.
in: Yugoslave Colloquium on Interferon, pp 47-54
ed.: Filipic, B., Plesko, Ljubljana

Filipic, B., Rodé, B., Lackovic, G., Tóth, S., Mécs, I. & Soos, E. (1986b): The Influence of Human Interferon Alpha and Its Subunits on Some Specific Esterases in Cultured Cells.
in: Abstracts of 9th Regional Conference of Socialist Countries on Interferon, Jena, GDR, 13.-18. October, 1986.
p. 11.

Filipic, B., Golob, A., Tóth, S., Mécs, I., Béládi, I. & M. Likar (1991): Interactions Between Human and Porcine Interferons.
Acta Virol., 34, pp 1-15.

Fleischmann, W. R. Jr. (1984): Potentiating Effect of Murine Interferon-Gamma-Containing Lymphokine Preparations on the Antiviral and Antiproliferative Effects of Murine Interferon-Alpha/Beta: Identification of the Potentiation Factor as Murine Interferon-Gamma Itself
Antiviral Res., *4*, pp 221-228.

Fleischmann, W. R. Jr. (1986): Mechanisms for Enhancement of Interferon Activity
in: Yugoslave Colloquium on Interferon, pp 1-7.
ed.: Filipic, B., Plesko, Ljubljana

Fleischmann, W. R. Jr, Georgiades, J. A., Osborne, L. C. & Johnson, H. M. (1979): Potentiation of Interferon Action by Mixed Preparations of Fibroblast and Immune Interferon
Infect. Immun., *26*, pp 248-253.

Fleischmann, W. R. Jr, Fleischmann, C. M. & Gindhart, T. B. (1986): Effect of Hyperthermia on the Antiproliferative Activities of Murine Alpha, Beta and Gamma Interferons
Cancer Res., *46*, pp 8-13.

Fleischmann, W. R. Jr, Schwartz, L. A. & Fleischmann, C. M. (1984): Requirement for IFN-Gamma in Potentiation of Interferon's Antiviral and Anticellular Activities: Identity of Mouse and Human Systems
J. Interferon Res., *4*, pp 265-274.

Foon, K. A. & Bunn, P. A. Jr. (1986): α-Interferon Treatment of Cutaneous T Cell Lymphoma and Chronic Lymphocytic Leukemia
Seminars in Oncology, *13(4-Suppl. 5)*, pp 35-39.

Fosså, S. D. & De Garis, S. T. (1987): Further Experience with Recombinant Interferon Alfa-2a with Vinblastine in Metastatic Renal Cell Carcinoma: A Progress Report
Intern. J. Cancer, *Suppl. 1*, pp 36-40.

Fournier, F., Falcoff, E. & Chany, C. (1967): Demonstration, Mass Production and Characterization of a Heavy Molecular Weight Human Interferon
J. Immunol., *99*, pp 1036-1041.

Foy, H. M., Fox, J. P. & Cooney, M. K. (1986): Efficacy of Alpha$_2$-Interferon Against the Common Cold
New Engl. J. Med., *315*, pp 513-514.

Friedlander, J., Fischer, D. G. & Rubinstein, M. (1984): Isolation of Two Discrete Human Interferon -γ (Immune) Subtypes by High Performance Liquid Chromatography
Anal. Biochem., *137*, pp 115-119.

Friedman, R. M., Czarniecki, C. W., Epstein, D. A., Jay, F.T., Maheshwari, R. K., Sreevalsan, T. & Panet, A. (1982): Mechanism of Interferon Action on Cell Growth and on Murine Leukemia, Vesicular Stomatitis and Encephalomyocarditis Viruses
Contr. Oncol., *11*, pp 1-10.

Friedman-Kien, A. E., Eron, L. J., Conant, M., Growdon, W., Badiak, H., Bradstreet, P. W., Fedorczyk, D., Trout, J. R. & Plasse, T. F. (1988): Natural Interferon Alpha for Treatment of Condyloma Acuminata
J. Amer. Med. Assoc., *259(4)*, pp 533-538.

Fujimiya, Y., Bakke, A., Cheng Chang, W., Linker-Israeli, M., Udis, B., Horwitz, D. & Pattengale, P. K. (1986): Natural Killer-Cell Immunodeficiency in Patients with Chronic Myelogenous Leukaemia. Analysis of the Defect Using the Monoclonal Antibodies HNK-1 (LEU-7) and B73.1
Intern. J. Cancer, *37*, pp 639-649.

Furue, H. (1985): Phase II Studies of INterferon Alpha-2 (Sch 30500) in Advanced Gastrointestinal Carcinoma
Gan To Kagaku Ryoho, *12*, 1625-1629.

Fuxe, K., Celani, M. F., Martire, M., Zini, I., Zoli, M. & Agnati, L. F. (1984): L-glutamate Reduces the Affinity of [^{3}H]-N-propylnorapomorphine Binding Sites in Striatal Membranes
Eur. J. Pharmacol., *100*, pp 127-130.

Gál, G., Tóth, M. & Tóth, S. (1981a): Interferon Production of Chronic Uraemic Dialysed Patients.
in: Proc. European Dialysis and Transplantation Association (EDTA), 18, pp 188-192
ed.:Pittman Medical, London

Gál,G., Petri I., Tóth, M. & Tóth, S. (1981b): Immunreaktivitätsuntersuchung der Leukozyten Chronisch-Urämischer Dialysierter Pazienten
in: 5. Donausymposium für Nephrologie, Linz,12-14 sept. 1980., pp 48-53
ed.: Schendl Verlag, Wien

Galin, M. A., Chowchuvech, E. & Kronenberg, B. (1976): Therapeutic Use of Interferon on *Herpes simplex* Keratitis in Humans
Ann. Ophtalmol., *8*, pp 72-76.

Gall, S. A., Hughes, C. E., Mounts, P., Segriti, A., Weck, P. K. & Whisnant, J. K. (1986): Efficacy of Human Lymphoblastoid Interferon in the Therapy of Resistant Condyloma Acuminata
Obstetr. Gynecol., *67(5)*, pp 643-651.

Gauci, L. (1988): Disseminated *Mycobacterium avium* Resistant to First and Second Line Chemotherapy which Responded to Interferon Alfa-2a Therapy
Interferons Today & Tomorrow, *8*, pp 37-38.

Gerein, V., Lodemann, E., Bell, G., von Ilberg, Ch. & Kornhuber, B. (1987): Results of Individualised Long Term Treatment with Leukocyte Interferon (α-IFN) in Recurrent Juvenile Laryngeal Papillomatosis
Klinische Pädiatrie, *199*, pp 224-229.

Germain, R. N. (1986): The Ins and Outs of Antigen Processing and Presentation
Nature, *322*, pp 687-689.

Ghezzi, A., Zaffaroni, M., Di Falco, M. & Cazzullo, C. L. (1989): Preliminary Results of Parenteral ß-Interferon in Multiple Sclerosis
J. Interferon Res., *9(Suppl. 2)*, p S222.

Giles, F. J. (1989): Multiple Myeloma
Interferons and Cytokines, *10*, pp 34-36.

Giles, F. J., Gray, A. G., Brozovic, M., Grant, I. R., Machin, S. J., Richards, J. D. M., Venutas, S., Singer, C. R. J., Yong, K. L., Hoffbrand, A. V., Mehta, A. B., Thomas, M. J. G. & Goldstone, A. H. (1988): Alpha-Interferon Therapy for Essential Thrombocythaemia
Lancet, *ii*, pp 70-72.

Gisslinger, H., Ludwig, H., Fritz, E., Linkesch, H.& Flener, R. (1986): Treatment of Excessive Thrombocytosis in Myeloproliferative Diseases with Interferon Alfa-2c
in: The Biology of Interferon System 1985, pp 447-450.
eds.: Stewart, W. E. & Schellekens, H., Elsevier, Amsterdam, Netherlands

Gisslinger, H., Gilly, B., Woloszczuk, W., Mayr, W. R., Havelec, L., Linkesch, H.& Weissel, M. (1992): Thyroid Autoimmunity and Hypothyroidism during Long-Term Treatmaent with Recombinant Interferon-Alpha
Clin. Exp. Immunol., *90(3)*, pp 363-367.

Glashan, W. (1990): Randomized Controlled Study of Intravesical Alpha 2b Interferon and Carcinoma *in situ* of the Bladder
J. Urol., *144*, pp 658-661.

Goeddel, D. V., Yelverton, E., Ullrich, A., Heyneker, H. L., Miozzari, E., Holmes, W., Seeburg, P. H., Dull, T. J., May, L., Stebbing, N., Crea, R., Maeda, S., McCandliss, R., Sloma, A., Tabor, J. M., Gross, M., Familletti, P. C. & Pestka, S. (1980): Human Leukocyte Interferon Produced By *E. coli* Is Biologically Active
Nature, *287*, pp 411-416.

Goeddel, D. V., Leung, D. W., Dull, T. J., Gross, M., Lawn, R. M., McCandliss, R., Seeburg, P. H., Ullrich, A., Yelverton, E. & Gray, P. W. (1981): The Structure of Eight Distinct Cloned Human Leukocyte Interferon cDNAs
Nature, *290*, pp 20-26.

Goldstein, D. & Laszlo, J. (1986): Interferon Therapy in Cancer: From Imagination to Interferon
Cancer Res., *46*, pp 4315-4329.

Goldstein, D., Guadagni, F., Greiner, J., Wagner, R., Borcherding, W., Hong, R., Borden, E., Buchler, D., Schlom, J. & Smalley, R. (1989): Clinical and Biological Effects of Intraperitoneal Interferon Gamma *In Vivo* in a Phase IA/B Trial in Ovarian Carcinoma
J. Interferon Res., *9(Suppl. 2)*, p S115.

Golomb, H. M., Fefer, A., Golde, D. W., Ozer, H., Portlock, C., Silber, R., Rappeport, J., Ratain, M. J., Thompson, J., Bonnem, E. M., Spiegel, R. J., Tensen, L., Burke, J. S. & Vardiman, J. W. (1987): Sequential Evaluation of Alpha-2b-Interferon Treatment in 128 Patients with Hairy Cell Leukemia
Seminars in Oncology, *14*, pp 13-17.

Goren, T., Fischer, D. G. & Rubinstein, M. (1986): Human Monocytes and Lymphocytes Produce Different Mixtures of α-Interferon Subtypes
J. Interferon Res., *6*, pp 323-329.

Graninger,W. B., Hassfeld, W., Pesau, B. B., Machold, K. P., Zielinski, C. C. & Smolen, J. S. (1991): Induction of Systemic Lupus Erythematosus By Interferon-γ in a Patient with Rheumatoid Arthritis
J. Rheumatol., *18*, pp 1621-1622.

Gresser, I. (1977): Antitumor Effects of Interferon
in: Cancer - A Comprehensive Treatise, 5., pp 521-571.
ed.: Becker, F., Plenum Press, New York

Grob, J. J., Collet, A. M., Munoz, M. H. & Bonerandi, J. J. (1988): Treatment of Large Basal-cell Carcinomas with Intralesional Interferon-Alfa-2a
Lancet, *i*, pp 878-879.

Gross, G., Roussaki, A., Schopf, E., de Villiers, E.-M. & Papendick, U. (1986): Successful Treatment of Condyloma Acuminata and Bowenoid Papulosis with Subcutaneous Injections of Low-Dose Recombinant Interferon-α
Arch. Dermatol., *122*, pp 749-750.

Grossberg, S. & Taylor, J. (1984): Interferon Effects on Cell Differentiation
in: Interferon: Mechanism of Production and Action, pp 299-317.
ed.: Friedman, R. M., Elsevier Science Publishers, NY

Groveman, D. S., Borden, E. C., Merritt, J. A., Robins, H. I., Steeves, R. & Bryan, G. T. (1984): Augmented Antiproliferative Effects of Interferons at Elevated Temperature Against Human Bladder Carcinoma Cell Lines
Cancer Res., *44*, pp 5517-5522.

Grunfeld, C. & Feingold, K. R. (1990): Tumor Necrosis Factor Interleukin and Interferon Induced Changes in Lipid Metabolism As Part of Host Defense
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., *200*, pp 224-227.

Grunfeld, C., Soued, M., Adi, S., Moser, A. H., Dinarello, C. A. & Feingold, K. R. (1990): Evidence for Two Classes of Cytokines That Stimulate Hepatic Lipogenesis: Relationships Among Tumor Necrosis Factor, Interleukin-1 and Interferon-Alpha
Endocrinology, *127*, pp 46-54.

Grunfeld, C., Soued, M., Adi, S., Moser, A. H., Fiers, W., Dinarello, C. A. & Feingold, K. R. (1991): Interleukin-4 Inhibits Stimulation of Hepatic Lipogenesis By Tumor Necrosis Factor, Interleukin-1 and Interleukin-6 But Not By Interferon-Alpha
Cancer Res., *51*, pp 2803-2807.

Grups, J. W., Frohmüller, H. G. W. & Ackermann, R. (1987): Can Recombinant Human α-2 Interferon Prevent Recurrence of High-Grade Supetficial Bladder Tumors?
Cancer Detection and Prevention, *10*, pp 405-409.

Gugliotta, L., Macchi, S., Catani, L., Chetti, L., Belmonte, M. M., Guarini, A., Criscuolo, D. & Tura, S. (1987): Recombinant α-2a Interferon (Â-IFN) in the Treatment of Essential Thrombocythaemia. Preliminary Report.
Haematologica, *72*, pp 277-279.

Gutterman, J., Yip, Y., Buzdar, A., Alexanian, R., Hersh, E., Cabanillas, F. & Greenberg, S. (1979): Leukocyte Interferon (IF) Induced Tumor Regression in Patients (PTS) with Breast Cancer and B Cell Neoplasms
Proc. Am. Assoc. Cancer, *20*, p 167.

Hamuryudan, V., Yurdakul, S., Serdaroglu, S., Rosenkaimer, F. & Yazici, H. (1989): Topical Alpha Interferon in the Treatment of Oral Ulcers in Behçet's Syndrome
J. Interferon Res., *9(Suppl. 2)*, p S222.

Harms, G., Zwingenberger, K., Chéhadé, A. K., Racz, P., Douba, M., Rosenkaimer, F. & Bienzle, U. (1989): Effects of Intradermal Application of rIFN-γ in Cutaneous Leishmaniasis Caused by *L. tropica*
J. Interferon Res., *9(Suppl. 2)*, p S133.

Harrison, P. V. & Peat, M. J. (1986): Effect of Interferon on Psoriasis
Lancet, *ii*, pp 457-458.

Hayden, F. G., Albrecht, J. K., Kaiser, D. L. & Gwaltney, J. M: (1986): Prevention of Natural Colds by Contact Prophylaxis with Intranasal $Alpha_2$-Interferon
New Engl. J. Med., *314*, pp 71-75.

Hayden, F. G., Winther, B., Donowitz, G. R., Mills, S. E. & Innes, D. J. (1987): Human Nasal Mucosal Responses to Topically Applied Recombinant Leukocyte A Interferon
J. Infect. Dis., *156*, pp 64-72.

Healy, G. B., Gelber, R. D., Trowbridge, A. L., Grundfast, K. M., Ruben, R. J. & Price, K. N. (1988): Treatment of Recurrent Respiratory Papillomatosis with Human Leukocyte Interferon: Results of a Multicentre Randomised Clinical Trial
New Engl. J. Med., *319*, pp 401-407.

Heikkila, R. E. & Cabbat, F. (1976): A Sensitive Assay for Superoxide Dismutase Based on the Autoxidation of 6-Hydroxydopamine
Analyt. Biochem., *75*, pp 356-362.

Henco, K., Brosius, J., Fujisawa, A., Fujisawa, J.-I., Haynes, J. R., Hochstadt, J., Kovacic, T., Pasek, M., Schamböck, A., Schmid, J., Todokoro, K., Wälchli, M., Nagata, S. & Weissmann, C. (1985): Structural Relationship of Human Interferon Alpha Genes and Pseudogenes
J. Mol. Biol., *185*, pp 227-260.

Herberman, R. (1984): IFN and Cytotoxic Effector Cells
in: Interferon 2.: Interferons and the Immune System, pp 61-84.
eds.: Vilcek, J. & De Maeyer, E., Elsevier Science Publishers, Amsterdam

Heron, I., Berg, K. & Cantell, K. (1976): Regulation Effect of Interferon on T-Cells *In Vitro*
J. Immunol., *117*, pp 1370-1377.

Hertzog, P. J., Linnane, A. W. & Mackay, I. R. (1989): Intermittent Interferonemia and Associated Abnormalities of Interferon Responses in Multiple Sclerosis
J. Interferon Res., *9(Suppl. 2)*, p S221.

Hilfenhaus, J., Weinman, E., Majer, M., Barth, R. & Jaeger, O. (1977): Administration of Human Interferon to Rabies Virus-Infected Monkeys After Exposure
J. Infect. Dis., *135*, pp 846-849.

Hill, N. O., Loeb, E., Pardue, A. S., Dorn, G. L., Khan, A. & Hill, J. M. (1979): Human Leukocyte Interferon Responsiveness of Acute Leukemia
J. Clin. Hematol. Oncol., *9*, pp 137-149.

Hirai, N., Hill, N. O. & Osther, K. (1984): Temperature Influences on Different Human Alpha Interferon Activities
J. Interferon Res., *4*, pp 507-516.

Hirsch, R. L., Johnson, K. P. & Camenga, D. L. (1988): The Placebo Effect During a Double Blind Trial of Recombinant $Alpha_2$ Interferon in Multiple Sclerosis Patients: Immunological and Clinical Findings
Int. J. Neurosci., *39*, pp 189-196.

Ho, M. & Enders, J. F. (1959): An Inhibitor of Viral Activity Appearing in Infected Cell Cultures
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, *45*, pp 385-389.

Hockertz, S., Franke, G. & Lohmann-Matthes, M.-L. (1989): Interferon Gamma in Multilamellar Vesicles as Therapeutic Drug in Experimental Visceral Leishmaniasis
J. Interferon Res., *9(Suppl. 2)*, p S133.

Hohenleutner, H., Landthaler, M., Braun-Falco, O., Schmoekel, C. & Haina, D. (1988): Condyloma Acuminata Gigantea (Buschke-Lowenstein-Tumor) Behandlung mit dem CO_2-Laser und Interferon
Deutsche Med. Wochenschrift, *19*, pp 286-289.

Holsti, L. R., Mattson, K., Niiranen, A., Standertskiöld-Nordenstam, C.-G., Stenman, S., Sovijärvi, A. & Cantell, K. (1987): Enhancement of Radiation Effects by Alpha Interferon in the Treatment of Small Cell Carcinoma of the Lung
Intern. J. Radiation Oncol. Biol. Phys., *13*, pp 1161-1166.

Hooks, J. J., Moutsopulos, H. M. & Notkins, A. L. (1981): Circulating Interferon in Human Autoimmune Diseases
Tex. Rep. Biol. Med., *41*, 146-168.

Hoofnagle, J., Mullen, K., Peters, M., Avigan, M., Park, Y. & Waggoner, J. (1987): Treatment of Chronic Delta Hepatitis with Recombinant Human Alpha Interferon
in: The Hepatitis Delta Virus and Its Infection, pp 291-298.
ed.: Alan R. Liss Inc., N.Y., USA

Horoszewicz, J. S., Leong, S. S., Ito, M., Buffett, R., Karakousis, C., Holyoke, E., Job, I., Dolan, J. & Carter, W. A. (1978): Human Fibroblast Interferon in Human Neoplasia: Clinical and Laboratory Study
Cancer Treat Rep., *11*, pp 1899-1906.

Hoskins, M. (1935): A Protective Action of Neurotropic Against Viscerotropic Yellow Fever Virus in *Macacus rhesus*
J. Trop. Med. Hyg., *15*, pp 675-680.

Hsu, C., Choo, Y.-C., Seto, W.-H., Pang, S.-W., Tan, C.-Y., Merigan, T. C. & Ng, M. H. (1984): Exfoliative Cytology in the Evaluation of Interferon Treatment of Cervical Intraepithelial Neoplasia
Acta Cytol., *28*, pp 111-117.

Huberman, M., Bering, H., Fallon, B., Tessitore, J., Sonnenborn, H., Paul, S., Zeffren, J., Levitt, D. & Groopman, J. (1991): A Phase-I Study of an Outpatient Regimen of Recombinant Human Interleukin-2 and Alpha-2a-Interferon in Patients with Solid Tumors
Cancer, *68*, pp 1708-1713.

Hudson, J. G., Yates, P. & Scott, G. L. (1992): Further Concern Over Use of Alpha Interferon in Immune Thrombocytopenic Purpura
Br. J: Haematol., *82*, p. 630.

Hung, P. L., Stöger, I., Karczag, E., Minarovits, J. & Földes, I. (1987): Depression of Poly I:C Induced Interferon Production During Progression of Transplantable Murine Tumors
in: Abstracts of the 10th Congress of the Hungarian Society for Microbiology, Szeged, Hungary, 26.-29. August, 1987.
p. 55.

Huygen, K., Mascart-Lemone, F., Cran, S., Van de Perre, P., Henrivaux, P., de Ley, M. & Clumeck, N. (1985): Analysis of the Interferon System in African Patients With Acquired Immunodeficiency Syndrome
in: Abstract Book of The 1985 TNO-ISIR Meeting on the Interferon System; Clearwater Beach, Florida, USA; 13-18 October, 1985
p. 142.

IFNB MS Study Group (1993): Interferon Beta-1b Is Effective in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis. I. Clinical Results of a Multicentre, Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial
Neurology, *43*, pp 655-661.

Ihde, D. C., Steis, R., Sausville, E. A., Veach, S. R., Eddy, J. & Bunn, P. A. Jr. (1987): Phase II Trial of Intermittent High Dose Recombinant Interferon Alfa-2a in Mycosis Fungoides or Sezary Syndrome
Proc. Amer. Assoc. Cancer Res., *28*, p 208.

Ikic, D, Bosnic, N., Smerdel, S., Jusic, D., Soos, E. & Delimar, N. (1975a): Double Blind Clinical Study with Human Leukocyte Interferon in the Therapy of Condyloma Acuminata
in: Proceedings of The Symposium on Clinical Use of Interferon, Yugoslav Academy of Sciences and Arts, Zagreb, pp 229-233.

Ikic, D., Brnobic, A., Jurkovic-Vukelic, V., Smerdel, S., Jusic, D. & Soos, E. (1975b): Therapeutical Effect of Human Leukocyte Interferon Incorporated into Ointment and Cream on Condyloma Acuminata
in: Proceedings of The Symposium on Clinical Use of Interferon, Yugoslav Academy of Sciences and Arts, Zagreb, pp 235-238.

Ingimarsson, S., Cantell, K. & Strander, H. (1979): Acute Infections in Patients Receiving Interferon
in: Interferon: Properties and Clinical Uses, pp 633-644.
eds.: Khan, A., Hill, N. O. & Dorn, G. L.; Leland Fikes Foundation Press, Dallas

Inglada, L., Porres, J. C., La Banda, F., Mora, I. & Carrcuo, V. (1987): Anti-IFN Titers During Interferon Therapy
Lancet, *ii*, p 1521.

Inglot, A. D. (1984): Interferons in the Light of the New Theory of Hormones
Contr. Oncol., *20*, pp 72-85.

Isaacs, A. & Lindenmann, J. (1957): Virus Interference. I. The Interferon
Proc. Royal Soc., *B 147*, pp 258-267.

Isaacs, A., Lindenmann, J. & Valentine, R. C. (1957): Virus Interference. II. Some Properties of Interferon
Proc. Royal Soc., *B 147*, pp 268-273.

Jaffe, H. S. & Sherwin, S. A. (1986): Early Clinical Trials of Recombinant Interferon γ
in: Interferons as Cell Growth Inhibitors and Anti-Tumor Factors, pp 509-522.
eds.: Friedman, R. M., Merigan, T. & Sreevalsan, T., Alan R. Liss, New York

Jereb, B., Petric, G., Tekavcic, I., Skrbec, M & Bilban-Jakopin, C. (1986): Intratumor Application of Human Leukocyte Interferon (HLI) in Patients with Malignant Brain Tumors
in: Yugoslave Colloquium on Interferon, pp 121-125.
ed.: Filipic, B., Plesko, Ljubljana

Jereb, B., Us-Krasovec, M., Cervek, J. & Soos, E. (1987): Intrapleural Application in Breast Cancer Patients with Ipsilateral Pleural Carcinomatosis
J. Interferon Res., *7*, pp 357-363.

Jiang, P. H., Chany-Fournier, F., Galabru, J., Robert, N., Hovanessian, A. G. & Chany, C. (1988): Interferon- and Sarcolectin-Dependent Cellular Regulatory Interactions
J. Biol. Chem., *263*, pp 19154-19158.

Johnson, K. P. & Panitch, H. S. (1992): Interferon Therapy for Multiple Sclerosis
MD Med. J., *41*, pp 601-603.

Jones, B. R., Coster, D. J., Falcon, M. G. & Cantell, K. (1976): Topical Therapy of Ulcerative Herpetic Keratitis with Human Interferon
Lancet, *i*, p 128.

Kahan, A., Amor, B., Menkes, C. J. & Strauch, G. (1989): Recombinant Interferon-γ in the Treatment of Systemic Sclerosis
Amer. J. Med., *87*, pp 273-277.

Kaplan, G., Mathur, N. K., Job, C. K., Nath, I. & Cohn, Z. A. (1989): The Effect of IFN-γ Injection on the Disposal of *M. leprae*
J. Interferon Res., *9(Suppl. 2)*, p S133.

Kawade, Y. (1991): Cytokine Network in Analogy to Language - A General View of Interferon Research from a Distance
J. Interferon Res., Special Issue (January 1991), pp 177-183.

Kazar, J., Krautwurst, P. A. & Gordon, F. B. (1971a): Effect of Interferon and Interferon Inducers on Infections with a Nonviral Intracellular Microorganism, *Rickettsia akari*
Infect. Immunol., *3*, pp 819-824.

Kazar, J., Gillmore, J. D. & Gordon, F. B. (1971b): Effect of Interferon and Interferon Inducers on Infections with a Nonviral Intracellular Microorganism, *Chlamidia trachomatis*
Infect. Immunol., *3*, pp 824-829.

Keay, S., Teng, N., Eisenberg, M., Story, B., Sellers, P. W. & Merigan, T. C. (1989): Topical Interferon for Treating Condyloma Acuminata in Women
J. Infect. Dis., *158*, pp 934-987.

Kern, E. R. & Glasgow, L. A. (1977): Effect of Interferon on Systemic Herpesvirus Infections
Texas Rep. Biol. Med., *35*, pp 472-477.

Khan, Z. K., Shukla, P. K., Mathur, K. B., Maheshwari, R. K. & Dhawan, B. N. (1991): Role of Recombinant Human Interferon Gamma (rHuIFN-γ) Against Bronchopulmonary Aspergillosis in Rhesus monkey
J. Interferon Res., *11(Suppl. 1)*, p S258.

Kikuta, H., Mizuno, F., Yano, S. & Osato, T. (1984): Interferon Production by Epstein-Barr Virus in Human Mononuclear Leukocytes
J. Gen. Virol., *65*, pp 837-841.

Kirby, P., Wells, D., Kiviat, N. & Corey, L. (1986): A Phase I Trial of Intramuscular Recombinant Human Gamma Interferon for Refractory Genital Warts
J. Invest. Dermatol., *86(4)*, pp 485.

Kirkwood, J. M. & Ernstoff, M. (1985): Melanoma: Therapeutic Options with Recombinant Interferons
Seminars in Oncology, *12(Suppl. 5)*, pp 7-12.

Klagsbrun, M. & D´Amore, P. A. (1991): Regulators of Angiogenesis
Ann. Rev. Physiol., *53*, pp 217-239.

Klieman, R. L., Braaten, B. A., Clegg, D. O., Kelsey, D. K. & Green, J. A. (1985): Induction of Acid Labile Intertferon Alpha (AL-IFN α) by Sera from Patients with Connective Tissue Diseases or AIDS
in: The Abstract Book of The 1985 TNO-ISIR Meeting on the Interferon System; Clearwater Beach, Florida, USA; 13-18 October, 1985
p. 143.

Kluin-Neelemans, H. C., Jansen, J. H., Breukelman, H., Wolthers, B. G., Kluin, P. M., Kroon, H. M. & Willemze, R. (1992): Response to Interferon Alfa-2b in a Patient with Systemic Mastocytosis
New Engl. J. Med., *326*, pp 619-623.

Koech, D. K. & Obel, A. (1990a): Efficacy of Kemron (Low Dose Oral Natural Human Interferon Alpha) in the Management of HIV-1 Infection and Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS)
East. Afr. Med. J., *67(7, Suppl.2.)*, pp S64-S70.

Koech, D. K. & Obel, A. (1990b): Treatment of HIV Infections and AIDS: New Horizons
East. Afr. Med. J., *67(7, Suppl.2.)*, pp S77-S81.

Koltai, M. & Mécs, I. (1973): Inhibition of the Acute Inflammatory Response By Interferon Inducers
Nature, *242*, pp 525-526.

Koltai, M., Mécs, I. & Kása, M. (1981): On the Anti-Inflammatory Effect of Sendai Virus Inoculation
Arch. Virol., *67*, pp 91-95.

Konrad, M. V., Childs, A. L., Merrigan, T. C. & Borden, E. C. (1987): Assessment of the Antigenic Response in Humans to a Recombinant Mutant Interferon
J. Clin. immunol., *7*, pp 365-375.

Koren, S., Klimpel, G. R. & Fleischmann, W. R. Jr. (1986): Macrophage Colony Stimulating Factor (CSF-1) Blocks the Myeloid Suppressive But Not Antiviral or Antiproliferative Activities of Murine Alph, Beta and Gamma Interferons In Vitro
J. Biol. Resp. Modifiers, *5*, pp 4471-480.

Koren, S. & Fleischmann, W. R. Jr. (1994): Modulation of Peripherial Leukocyte Counts and Bone Marrow Function in Mice By Oral Administration of Interleukin-2
J. Interferon Res., *14(Suppl.1)*, p S173.

Kótai, A., Gánti, T. & Mécs, I. (1975): Polycationic Modified Polypeptides Enhancing Interferon Induction
Experientia, *31*, p 1165.

Kotb, M. (1992): Role of Superantigens in the Pathogenesis of Infectious Diseases and Their Sequalae
Current Opinion Infect. Dis., *5(3)*, pp 364-374.

Kovács, K., Tóth, S., Somogyvári, F., Wittmann, G. & Mécs, I. (1995): A Preformed Antiviral Substance Present in Porcine Leukocytes Obtained from Electrocuted Slaughterhouse Animals
ISCR-News, *2*, accepted for publication

Krigel, R. L., Padavic-Shaller, K. A., Rudolph, A. R., Litwin, S., Konrad, M., Bradley, E. C. & Comis, R. L. (1988): A Phase I Study of Recombinant Interleukin 2 Plus Recombinant ß-Interferon
Cancer Res., *48*, pp 3875-3881.

Krim, M. (1982a): Interferons and Their Applications: Past, Present and Future
in: Handbook of Experimental Pharmacology: Interferons and Their Applications, pp 1-37.
eds.: Came, P. E. & Carter, W. A.; Springer Verlag, Berlin - New York

Krim, M. (1982b): Prospects in Interferon Research
Texas Rep. Biol. Med., *41*, pp 681-692.

Krown, S. E. (1985): Therapeutic Options in Renal-Cell Carcinoma
Seminars in Oncology, *12(Suppl. 5)*, pp 13-17.

Krown, S. E. (1989): Interferons in the Treatment and Pathogenesis of AIDS and Kaposi's Sarcoma
Progress in Oncology: Update on Cytokines, *10*, pp 13-21.

Krown, S. E., Mintzer, D., Cunningham-Rundles, S., Niedzwiecki, D., Krim, M., Einzig, A. I., Gabrilove, J. L., Shurgot, B. & Gessula, J. (1987): High Dose Human Lymphoblastoid Interferon in Metastatic Colorectal Cancer: Clinical Results and Modification of Biological Responses
Cancer Treatment Rep., *71*, pp 39-45.

Kruzel, M. L., Seman, G. & Georgiades, J. A. (1989): Molecular Species Occurring in Naturally Produced Interferons
J. Interferon Res., *9(Suppl.2)*, p. S189.

Kurzrock, R., Rosenblum, M. G., Quesada, J. R., Sherwin, S. A., Itri, L. M. & Gutterman, J. U. (1986): Phase I Study of a Combination of Interferon Alpha and Recombinant Interferon Gamma in Cancer Patients
J. Clin. Oncol., *4*, pp 1677-1683.

Kurzrock, R., Talpaz, M., Kantarijan, H. M., Walters, R., Saks, S., Trujillo, J. M. & Gutterman, J. U. (1987): Therapy of Chronic Myelogenous Leukemia with Recombinant Interferon-γ
Blood, *70*, pp 943-947.

Lane, H. C., Feinberg, J., Davey, V., Deyton, L, Baseler, M., Manischewitz, J., Masur, H., Kovacs, J. A., Herpin, B., Walker, R., Metcalf, J. A., Salzman, N., Quinnan, G. & Fauci, A. (1988): Anti-Retroviral Effects of Interferon-α in AIDS-Associated Kaposi's Sarcoma
Lancet, *ii*, pp 1218-1222.

Lauret, E., Rousseau, V., Vieillard, V., Cremer., I. & de Maeyer, E. (1994): Gene Transfer of the Human Interferon-Beta Coding Sequence into Human Hematopoietic Progenitor Cells: Effects on Proliferation and Differentiation
J. Interferon Res., *14(Suppl.1)*, p S204.

Leavitt, R. D., Duffey, P. & Aisner, J. (1984): A Phase II Study of Recombinant Leukocyte-A Interferon in Non-Small Cell Carcinoma of the Lung
Proc. Amer. Soc. Clin. Oncol., *3*, p 52.

Leavitt, R. D., Ratanatharathorn, V., Ozer, H., Ultmann, J. E., Portlock, C., Myers, J. V., Kisner, D., Norred, S., Spiegel, R. J. & Bonnem, E. M. (1987): Alfa-2b Interferon in the Treatment of Hodgkin's Disease and Non-Hodgkin's Lymphoma
Seminars in Oncology, *14*, pp 18-23.

Lebon, P., Daffos, F., Checoury, A., Grangeot-Keros, L.., Forestier, F. & Toublanc, J. (1985): Presence of an Acid-Labile Alpha-Interferon in Sera from Fetuses and Children with Congenital Rubella
in: The Abstract Book of The 1985 TNO-ISIR Meeting on the Interferon System; Clearwater Beach, Florida, USA; 13-18 October, 1985
p. 144.

Legha, S. S., Papadopoulos, N. E. J., Plager, C., Ring, S., Chawla, S. P., Evans, L. M. & Benjamin, R. S. (1987): Clinical Evaluation of Recombinant Interferon Alfa-2a (Roferon-A) in Metastatic Melanoma Using Two Different Schedules
J. Clin. Oncol., *5*, pp 1240-1246.

Lemmel, E. M. & Obert, H. J. (1991): Multicenter, Placebo Controlled, Double-Blind Trial of Interferon-Gamma (IFN-Gamma) in Advanced Rheumatoid Arthritis
J. Interferon Res., *11(Suppl. 1)*, p S76.

Lemmel, E. M., Franke, M., Gaus, W., Hartl, P. W., Hofschneider, P. H., Miehlke, K., Machalke, K. & Obert, H. J. (1987): Results of a Phase II Clinical Trial on Treatment of Rheumatoid Arthritis with Recombinant Interferon Gamma
Rheumatology, *7*, pp 127-132.

Lengyel, A., Béládi, I., Nász, I. & Pusztai, R. (1969): Adenovirus Type 8 Antigens and Interferon Induction
Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig., *210*, pp 423-424.

Leventhal, B. G., Kashima, H. K., Weck, P. W., Mounts, P., Whisnant, J. K., Clark, K. L., Cohen, S., Dedo, H. H., Donovan, D. J., Fearon, B. W., Gardiner, L. J., Lusk, R. P., Muntz, H. R., Richardson, M. A., Singleton, G. T., Yonkers, A. J. & Wold, D. (1988): Randomised Surgical Adjuvant Trial of Interferon Alfa-n1 in Recurrent Papillomatosis
Archives of Otolaringology: Head and Neck Surgery, *114*, pp 1163-1169.

Levin, S., Leibowitz, E., Torten, J. & Hahn, T. (1989): Interferon Treatment in Acute Progressive and Fulminant Hepatitis
Israel J. Med. sci., *25*, pp 364-372.

Liaw, Y.-F., Lin, Sh.-M., Sheen, I-Sh., Chen, T.-J. & Chu, Ch.-M. (1988): Treatment of Chronic Type B Hepatitis in Southeast Asia
Amer. J. Med., *85(Suppl.2A)*, pp 147-149.

Li, H., Jerrels, T. R., Spitalny, G. L. & Walker, D. H. (1987): Gamma Interferon as a Crucial Host Defense Against *Rickettsia connori in vivo*
Infect. Immun., *55*, pp 1252-1255.

Lillis, P. K., Brown, T. D., Beougher, K., Koeller, J., Marcus, S. G. & Von Hoff, D. D. (1987): Phase II Trial of Recombinant Beta Interferon in Advanced Colorectal Cancer
Cancer Treatment Rep., *71*, pp 965-967.

Ljustina, D., Keserovic, N., Risovic, D. & Ignjajcev, M. (1986): Clinical Application of Interferon in Ophtalmology
in: Yugoslave Colloquium on Interferon, pp 113-119.
ed.: Filipic, B., Plesko, Ljubljana

Lockart, R. Z. Jr. (1966): Biological Properties of Interferons: Criteria for Acceptance of a Viral Inhibition As an Interferon
in: Interferons, p 1.
ed.: Finter, N. B., North Holland Publ. Co., Amsterdam

Lotze, M. T., Matory, Y. L., Ettinghausen, S. E., Rayner, A. A., Sharrow, S. O., Seipp, C. A., Custer, M. C. & Rosenberg, S. A. (1985): *In Vivo* Administration of Purified Human Interleukin 2
J. Immunol., *135*, pp 2865-2875.

Lotze, M. T., Matory, Y. L., Rayner, A. A., Ettinghausen, S. E., Vetto, J. T., Seipp, C. A. & Rosenberg, S. A. (1986): Clinical Effects and Toxicity of Interleukin-2 in Patients with Cancer
Cancer, *58*, pp 2764-2772.

Ludwig, H., Cortelezzi, A., Scheithauer, W., van Camp, B. G. K., Kuzmits, R., Fillet, G., Peetermans, M., Polli, E. & Flener, R. (1986): Recombinant Interferon Alfa-2c Versus Polychemotherapy (VMCP) for Treatment of Multiple Myeloma: A Prospective, Randomised Trial
Eur. J. Cancer Clin. Oncol., *22*, pp 1111-1116.

Lusk, R. P., McCabe, B. F. & Mixon, J. H. (1987): Three Year Experience of Treating Recurrent Respiratory Papilloma with Interferon
Ann. Otol. Rhinol. Laryngol., *96*, pp 158-162.

Maeda, S., McCandliss, R., Gross, M., Sloma, A., Familletti, P. C., Tabor, J. M., Eviger, M., Levy, W. P. & Pestka, S. (1980): Construction and Identification of Bacterial Plasmids Containing Nucleotide Sequence for Human Leukocyte Interferon
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, *77*, pp 7010-7013.

Mahaley, M. S. Jr., Urso, M. B., Whaley, R. A., Blue, M., Williams, T. E., Guaspari, A. & Selker, R. G. (1985a): Immunobiology of Primary Intracranial Tumours. 10. Therapeutic Efficacy of Interferon in the Treatment of Recurrent Gliomas
J. Neurosurg., *63*, pp 719-725.

Mahaley, M. S. Jr., Urso, M., Whaley, R., Williams, T. E., Guaspari, A. & Selker, R. G. (1985b): Survival of Malignant Glioma Patients Treated with Human Lymphoblastoid Interferon (HLBI)
Proc. Amer. Soc. Clin. Oncol., *4*, p 229.

Mancini, C., Gaeta, A., Lorino, G., Filadoro, F., Marinucci, G., Bachetoni, A., Prestagostini, R., Renna Molajoni, E., Alfani, D. & Cortesini, R. (1989):Alpha Interferon Therapy in Patients with Hepatitis Infection Undergoing Organ Transplantation
Transplantation Proc., *21*, pp 2429-2430.

Mandelli, F., Cafolla, A., Annino, L., Amadori, S., Gentile, A., Bianco, P. & Dianzani, F. (1987): The α_2 (r) Interferon in the Treatment of Hairy Cell Leukemia: Progressive Report of 25 Cases
J. Biol. Regul. Homeostatic Agents, *1(4)*, pp 177-182.

Mannering, G. J. & Deloria, L. B. (1986): The Pharmacology and Toxicology of the Interferons: An Overview
Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., *26* pp 455-515.

Mantei, N., Schwarzstein, M., Streuli, M., Panem, S., Nagata, S. & Weissmann, C. (1980): The Nucleotide Sequence of a Cloned Human Leukocyte Interferon cDNA
Gene, *10*, pp 1-10.

Maral, J., Steinberg, M., Weil, M., Chleq, Cl., Khayat, D., Banzet, P. & Jacquillat, Cl. (1987): Human Recombinant Leukocyte Interferon Alpha-2-A in Twenty-Two Cases of Metastatic Malignant Melanoma
Presse Médicale, *16*, pp 1031-1034.

Margolin, K. A., Doroshow, J. H., Akman, S. A., Leong, L. A., Morgan, R. J., Raschko, J., Sombo, G., Mills, B., Goldberg, D. & Sniecinski, I. (1992): Phase-I Trial of Interleukin-2 Plus Gamma-Interferon
J. Immunother., *11*, pp 50-55.

Martinelli, G. & Cavalli, F. (1987): α-Interferon Alone or in Combination with Chemotherapy in the Treatment of Malignant Melanoma, Renal Cell Carcinoma and Other Solid Tumours in: Interferons in Oncology, Current Status and Future Directions, pp 33-38.
ed.: Veronesi, U., Springer-Verlag, Berlin

Maruguchi, Y., Toda, K. I., Fujii, K., Imamura, S. & Watanabe, Y. (1991): Survival Period of Tumor Bearing Mice Is Prolonged After the Interferon-Gamma-Producing Gene Transfer
Cancer Lett., *60(1)*, pp 41-49.

Matthey, F., Ardeman, S., Jones, L. & Newland, A. (1990): Bleding in Immune Thrombocytopenic Purpura After Alpha-Interferon
Lancet, *i*, pp 471-472.

Maudsley, D. J., Morris, A. G. & Tomkins, P. T. (1989): Regulation by Interferon of the Immune Response to Viruses Via the Major Histocompatibility Complex Antigens in:Immune Responses, Virus Infections and Disease, pp 15-33.
eds.: Dimmock, N. J. & Minor, P. D., IRL Press, Oxford

Maziarz, R. T. (1988): Reversal of Infection with *Mycobacterium avium intracellulare* by Treatment with Alpha-Interferon in a Patient with Hairy Cell Leukaemia
Annals Int. Med., *109*, pp 292-297.

Mazmunder, A. & Rosenberg, S. A. (1984): Successful Immunoterapy of Natural Killer Resistant Established Pulmonary Melanoma Metastases by the Intravenous Adoptive Transfer of Syngeneic Lymphocytes Activated *In Vitro* by Interleukin 2
J. Exper. Med., *159*, pp 495-507.

Mazzella, G., Roda, E., Barbara, L., Amed, M. A., González Quintela, A., Saracco, G., Rizzetto, M. & Rosina, F. (1988): Human Lymphoblastoid Interferon for the Treatment of Chronic Hepatitis B: A Randomized Controlled Trial
Amer. J. Med., *85(Suppl.2A)*, pp 141-142.

McLeod, G. R. C., Thomson, D. B. & Hersey, P. (1987): Recombinant Interferon Alfa-2a in Advanced Malignant Melanoma: A Phase I-II Study in Combination with DTIC
Intern. J. Cancer, *Suppl. 1*, pp 31-35.

Mécs, I. (1964): Inhibition of Interferon Action and Production By Adenine
Acta Virol., *8*, p 475.

Mécs, I. & Béládi, I. (1977a): Factors Influencing Interferon Production by Human Leukocytes
In: Proceedings of the Symposium on Preparation and Clinical Use of Interferon, Zagreb, 1977; pp. 23-26.
Ed.: D. Ikic

Mécs I. és Béládi I. (1977b): Humán interferon preparátumok előállítása.
in: A sejtosztódás farmakológiája VI.
Szerk.: Hernádi F., Papp S. és Szabó G., Debrecen
317-322.

Mécs I., Béládi I. és Tóth M. (1980): Eljárás humán leukocyta interferon előállítására.
Szabadalom: Msz 2435/80.

Mécs, I., Tóth, M., Taródi, B., Tóth, S., Pusztai, R. & Béládi, I. (1980): Experiences in Production of Human Leukocyte Interferon.
in: Abstracts of Fourth International Symposium of Socialist Countries on Antiviral Substances, Szeged
p. 56.

Mécs, I., Koltai, M., Tóth, M., Tóth, S., Zsedényi, S., Szeverényi, I. & Béládi, I. (1982): A Rapid Method for Estimation of HuIFN- Inducing Capacity of Sendai Virus Preparations.
in: Abstracts of Seventh Regional Symposium of the Socialist Countries on Interferon, Varna, Bulgaria, 8.-12. November, 1982.
p. 24.

Mécs, I. & Koltai, M. (1982): In Vivo Hyporesponsiveness Induced By Sendai Virus in CFLP Mice
Acta Virol., *26*, pp 346-352.

Mécs, I., Fox, F., Chin, D: & Krim, M. (1984a): Purification of Human Leukocyte Interferon By Carboxymethyl Controlled Pore Glass Bead Chromatography
Arch. Virol., *81*, pp 303-311.

Mécs, I., Koltai, M., Tóth, S. & Ágoston, É. (1984b): The Anti-Inflammatory Effect of Human Interferons in Mice.
Contr. Oncol., *20*, pp 221-223.

Mécs, I., Merrifield, E. L., Fox, F., Sarin, V., Merrifield, R. B. & Krim, M. (1984c): Synthetic Human Leukocyte Interferons: Some Biological and Physicochemical Characteristics
in: The Abstracts of Sixth International Congress of Virology, Sendai, Japan
p 150.

Mécs, I. , Koltai, M., Tóth, S. & Ágoston, É. (1985a): Anti-Inflammatory Effect of Human Leukocyte Interferon Alpha Subtypes in Rats
in: Abstracts of the ARES Serono Symposium on the Interferon System, 8-11 May 1985, Rome, Italy
p. 122.

Mécs, I., Tóth, S. & Ágoston, É. (1985b): Characterization of Human Interferon- Preparations by Chromatofocusing.
in: Abstracts of International Congress on Immunobiologics and Their Application, Budapest, Hungary, 21.-27. April, 1985.
p. 46.

Mécs I. és Tóth S. (1985): Humán leukocyta alfa interferon készítmények jellemzése kromatofókuszálással.
in: A MMT 1985. évi Naggyűlésének összefoglalói, Kecskemét, 1985. augusztus 21.-24.
71. o.

Mécs I., Koltai M. és Tóth S. (1986a): Natív, rekombináns és szintetikus humán alfa interferon altípusok gyulladásgátló hatása
in: MMT 1986. évi Naggyűlésének összefoglalói, Gödöllő, 1986. szeptember 1.-3.
110. o.

Mécs, I., Zsedényi, S., Tóth, S., Endrész, V. & Béládi, I. (1986b): Combined Antiviral Effect of Human or Porcine Interferon Alpha with Nucleoside Analogues and Acyclovir Against Herpesvirus suis.
in: Abstracts of 9th Regional Conference of Socialist Countries on Interferon, Jena, GDR, 13.-18. October, 1986.
p. 27.

Mécs, I. & Tóth, S. (1988): Drug Resistance Among Subclones of Herpesvirus hominis Type 1 (KOS) Occuring in Normal and IFN-pretreated VERO Cells.
in: Mednarodno Posvetovanje o Virusnih Boleznih Cloveka, Ljubljana, Yugoslavia, 27.-28. maja 1988.
p. 11.

Mécs, I., Tóth, S., Seprényi, G., Garssadi, S. I., Papos, I. & Béládi I. (1988): 2-5A Synthetase and NK Cell Activating Effects of Subtypes from Natural and Recombinant Human Leukocyte Interferon Alpha
J. Interferon Res., *8/1 Suppl.*, p. S168.

Mécs, I. & Tóth, S. (1989a): Drug Resistance and Virulence Studies with Herpes simplex Viruses: II. *In Vivo* Results.
in: Abstracts of Eighth Symposium of Socialist Countries on Antiviral Substances, Szeged, Hungary, 20.-22. August, 1989.
p. 26.

Mécs, I. & Tóth, S. (1989b): *In Vivo* Chatacterization of an EDU-resistant HSV-1 (KOS) Strain.
in: Abstracts of Annual Congress of Yugoslave Society for Microbiology, 11.-15. September, 1989., Maribor, Yugoslavia
p. 29.

Mécs, I. & Tóth, S. (1989c): Drug Resistance and Virulence Studies with Herpes simplex Viruses.
J. Interferon Res. 9/2 Suppl., p. S271.

Mécs, I., Tóth, S. & Sirokmán, F. (1989a): Effect of Storage and Co-60 Irradiation on the Antiviral Activity and Subtype Pattern of Native Human Interferon Alpha Preparations.
Acta Virol., *33*, pp 177-182

Mécs, I., Tóth, S., Seprényi, G., Garssadi, S. I., Endrész, V., Papos, I. & Béládi, I. (1989b): Physiological and Biochemical Properties of an Acid Labile Substance (Subtype) from Native Human Leukocyte Interferon Alpha.
in: Abstracts of Eighth Symposium of Socialist Countries on Antiviral Substances, Szeged, Hungary, 20.-22. August, 1989.
p. 53.

Mécs, I., Tóth, S., Wittmann, G. & Tábith, K. (1993): Omega Interferon (ΩIFN): A Subtype Newly Isolated from EGIFERON
in: Book of Abstractsof the 1st Slovene Microbiological Congress with International Participation, 24-27 October 1993, Bled, Slovenia
SP8-03.

Megyeri, K. & Béládi, I. (1991): Effects of Interferon on Interleukin-2 Production in Chicken Leukocytes
J. Interferon Res., *11(Suppl.1.)*, p S221.

Mellstedt, H., Bjorkholm, M., Johansson, B., Ahre, A., Holm, G. & Strander, H. (1979): Interferon Therapy in Myelomatosis
Lancet, *1*, 245-247.

Merigan, T. C., Rand, K. H., Pollard, R. B., Abdallah, P. S., Jordan, G. W. & Fried, R. P. (1978): Human Leukocyte Interferon for the Treatment of *Herpes zoster* in Patients with Cancer
New Engl. J. Med., *298*, pp 981-987.

Merigan, T. C., Sikora, K., Breeden, J. H., Levy, R. & Rosenberg, S. A. (1979): Preliminary Observations on the Effect of Human Leukocyte Interferon in Non-Hodgkin's Lymphoma
N. Engl. J. Med., *299*, 1449-1453.

Milanese, C., Salmaggi, A., La Mantia, L., Corridori, F. & Nespolo, A. (1988): Intrathecal Beta-Interferon in Multiple Sclerosis
Lancet, *ii*, pp 563-564.

Monto, A. S., Shope, T. C. & Schwartz, S. A. (1984): Controlled Trials of Intranasal IFN-Alpha 2 in Prevention of Naturally Acquired Respiratory Infections
Antiviral Res., *ABSTR 1(3)*, p 27.

Moritz, T. & Kirchner, H. (1986): The Effect of Interferon on Cellular Differentiation
Blut, *53*, pp 361-370.

Mule, J. J., Shu, S. & Rosenberg, S. A. (1985): The Anti-Tumor Efficacy of Lymphokine-Activated Killer Cells and Recombinant Interleukin 2 *In Vivo*
J. Immunol., *135*, pp 642-646.

Murphy, P. M., Lane, H. C., Gallin, J. I. & Fauci, A. S. (1988): Marked Disparity in Incidence of Bacterial Infections in Patients with the Acquired Immunodeficiency Syndrome Receiving Interleukin-2 or Interferon-γ
Ann. Intern. Med., *108*, pp 36-41.

Murray, H. W. (1989): Role and Effect of Interferon-γ in Experimental Visceral Leishmaniasis
J. Interferon Res., *9(Suppl. 2)*, p S134.

Muss, H. B., Costanzi, J. J., Leavitt, R., Williams, R. D., Kempf, R. A., Pollard, R., Ozer, H., Zekan, P. J., Grunberg, S. M., Mitchell, M. S., Caponera, M., Gavigan, M., Ernest, M. L., Venturi, C., Greiner, J. & Spiegel, R. J. (1987): Recombinant Alfa Interferon in Renal Cell Carcinoma: A Randomized Trial of Two Routes of Administration
J. Clin. Oncol., *5*, pp 286-291.

Nagata, S., Taira, H., Hall, A., Johnsrud, L., Streuli, M., Ecsodi, J., Boll, W., Cantell, K. & Weissmann, C. (1980): Synthesis in *E. coli* of a Polypeptide with Human Leukocyte Interferon Activity
Nature, *284*, pp 316-320.

Nakane, A., Minagawa, T., Kohanawa, M. & Chen, Y. (1989): Roles of Gamma Interferon and Tumor Necrosis Factor in Host Resistance Against *Listeria monocytogenes* Infection
J. Interferon Res., *9(Suppl. 2)*, p S135.

Nakata, K., Kashimoto, S., Yoshida, H., Oku, T. & Nakamura, S. (1988): Augmented Antitumor Effect of Recombinant Human Interleukin 1α by Indomethacin
Cancer Res., *48*, pp 584-588.

Nathan, C. F., Horowitz, C. R., de la Harpe, J., Vadhan-Raj, S., Sherwin, S. A., Oettgen, H. F. & Krown, S. E. (1985): Administration of Recombinant Interferon Gamma to Cancer Patients Enhances Monocyte Secretion of Hydrogen Peroxide
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, *82*, pp 8686-8690.

Nathan, C. F. & Tsunawaki, S. (1986): Secretion of Toxic Oxygen Products by Macrophages: Regulatory Cytokines and Their Effects on the Oxydase
Ciba Found. Symp., *118*, pp 211-230.

Nathan, C. F., Kaplan, G., Lewis, W. R., Nusrat, A., Witmer, M. D., Sherwin, S. A., Job, C. K., Horowitz, C. R., Steinman, R. M. & Cohn, Z. A. (1986): Local and Systemic Effects of Intradermal Recombinant Interferon Gamma in Patients with Lepromatous Leprosy
New Engl. J. Med., *315*, pp 6.-

Nethersell, A., Smedley, H., Katrak, M., Wheeler, T. & Sikora, K. (1984): Recombinant Interferon in Advanced Breast Cancer
Br. J. Cancer, *49(5)*, pp 615-620.

Niederle, N., Kurschel, E. & Schmidt, C. G. (1984): Biological Effects of Recombinant Leukocyte Alpha-2 Interferon in Metastatic Colorectal Cancers
Deutsche Med. Woch., *109*, pp 779-782.

Niederle, N., Kloke, O., Doberauer, C., Becher, R., Beelen, D. W. & Schmidt, C. G. (1986): α-Interferon: Preliminary Results in the Treatment of Chronic Myeloid Leukemia
Deutsche Med. Woch., *111(20)*, pp 767-772.

Niederle, N., Kloke, O., Osieka, R., Wandl, U., Opalka, B. & Schmidt, C. G. (1987): Interferon Alfa-2b in the Treatment of Chronic Myelogenous Leukemia
Seminars in Oncology, *14*, pp 29-35.

Niederle, N. und von Wussow, P. (Herstellung) (1990): Intreferone. Präklinische und klinische Befunde
Springer-Verlag, Berlin

Niesel, D., Hess, C., Wennerås, C., Holmgren, J. & Klimpel, G. (1989): IFN and Cellular Invasion by *Shigella flexneri*
J. Interferon Res., *9 (Suppl. 2)*, p S223.

Nishimura, J., Uchiyama, Y., Yagi, H. & Hashimoto, Y. (1986): Administration of Slowly Released Recombinant Interleukin 2
J. Immunol. Methods, *91*, pp 21-27.

Obel, A. & Koech, D. K: (1990): Outcome of Intervention With or Without Low Dose Oral Interferon Alpha in Thirty-Two HIV-1 Seropositive Patients in a Referral Hospital
East. Afr. Med. J., *67(7, Suppl.2.)*, pp S71-S76.

Obert, H. J. & Hofschneider, P. H. (1985): Interferon in Chronic Polyarthritis. Positive Effect in Clinical Evaluation
Deutsch. Med. Wochenschr., *11*, p 1766.

O´Connell, P. G., Gerber, L. H., Digiovanna, J. J. & Peck, G. L. (1992): Arthritis in Patients with Psoriasis Treated with Gamma-Interferon
J. Rheumatol., *20*, pp 83-85.

O'Malley, J. A., Jacobs, L. D., Freeman, A., Dawidzik, J., Vastola, K., Ekes, R. Reese, P. (1985): Beta Interferon Treatment of Multiple Sclerosis: Clinical Response and *In Vitro* Gamma Interferon Response
in: Abstracts of the Serono-Ares Symposium on the Interferon System, May 8-11, 1985, Rome, Italy; p 72.

Orr, D., Yanelli, J., Sharp, E., Lewis, M. & Oldham, R. (1987): Eosinophilia During Interleukin-2 (IL-2) Activated Killer (AK) Therapy
Amer. Soc. Clin. Oncol., *6*, p. 247.

Ottow, R. T., Eggermont, A. M. M., Steller, E. P. & Sugarbaker, P. H. (1987): The Requirements for Successful Immunotherapy of Intraperitoneal Cancer Using Interleukin-2 and Lymphokine Activated Killer Cells
Cancer, *60*, pp 1465-1473.

Owerbach, D., Rutter, W. J., Shows, T. B., Gray, P., Goeddel, D. V. & Lawn, R. M. (1981): Leukocyte and Fibroblast Interferon Genes Are Located on Human Chromosome 9
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, *78*, pp 3123-3127.

Ozmen, L., Pericin, M., Hakimi, J., Chizzonite,, R. A., Gately, M. K. & Garrotta, G. (1994): IL12, IFNγ and TNFα Are the Key Cytokines in the Pathogenesis of the Generalized Schwartzman Shock Reaction
J. Interferon Res., *14(Suppl.1)*, p S166.

Öberg, K., Norheim, I., Lind, E., Alm, G. V., Lundqvist, G., Wide, L., Jonsdottir, B., Magnusson, A. & Wilander, E. (1986): Treatment of Malignant Carcinoid Tumours with Human Leukocyte Interferon: Long Term Results
Cancer Treatnent Rep., *70*, pp 1297-1304.

Öberg, K. & Alm, G. V. (1989): Development of Neutralizing Antibodies After Treatment with rIFN-α_{2b} in Patients with Malignant Carcinoid Tumors
J. Interferon Res., *9(Suppl.1)*, pp S45-S51.

Paciucci, P. A., Konefal, R., Ryder, J., Odchimar, R. & Holland, J. F. (1987): Phase I-II Study of Adoptive Immunotherapy with RIL-2 Activated Cells and Escalating Continuous Infusion RIL-2 in Patients with Disseminated Cancer
Proceedings of ASCO, *6*, p 248.

Padovan, I., Broderec, I., Ikic, D., Knezevic, M. & Soos, E. (1981): Effect of Interferon Therapy of Skin and Head and Neck Tumors
J. Cancer Res. Clin. Oncol., *100*, pp 295-310.

de Palo, G., Stefanon, B., Rilke, F., Pilotti, S. & Ghione, M. (1985): Interferon Beta in Papillomavirus Associated Cervical or Vulvar Intraepithelial Neoplasia
in: Abstracts of the Serono-Ares Symposium on the Interferon System, May 8-11, 1985, Rome, Italy; p 43.

Pangalis, G. A. & Griva, E. (1988): Recombinant Alfa-2b-Interferon Therapy in Untreated, Stages A and B Chronic Lymphocytic Leukemia: A Preliminary Report
Cancer, *61*, pp 869-872.

Paucker, K., Cantell, K. & Henle, W. (1962): Quantitative Studies on Viral Interference in Suspended L-Cells. III. Effect of Interfering Viruses and Interferon on the Growth Rate of Cells
Virology *17*, pp 324-334.

Paulesu, L., King, A., Loke, Y. W. & Bocci, V. (1988): Immunoreactive Interferons in Normal Human Placenta
in: Abstract Book of the 1988 ISIR-JSIR Meeting on Interferon and Cytokines, Kyoto, Japan, 14.-18. November, 1988.
p. 28.

Pehamberger, H., Steiner, A. & Wolff, K. (1986): Recombinant Leucocyte A Interferon and Cimetidine Treatment in Disseminated Melanoma
Eur. J. Cancer Clin. Oncol., *22*, pp 1407-1411.

Penny, R., Cooper, D. A. & McGinnes, K. (1987): Roferon-A in Kaposi's Sarcoma and Multiple Myeloma
Progress Antimicrob. Anticancer Ther., *3*, pp 594-596.

Perfect, J. R. (1992): Fungal Infections
Current Opinion Infect. Dis., *5(6)*, pp 433-436.

Pernice, W., Schuchmann, L., Dippell, J., Suschke, J., Vogel, P., Truckenbrodt, H., Schindera, F., Humburg, Ch. & Brzoska, J. (1989): Therapy for Systemic Juvenile Rheumatoid Arthritis with γ-Interferon: A Pilot Study of Nine Patients
Arthritis and Rheumatism, *32*, pp 643-646.

Petersen, C. S. & Kroon, S. (1987): Intralesional Interferon Alfa-2b in Treating Refractory Meatal and Anal Warts
Genitourinary Medicine, *63*, pp 217.

Pfister, T., Schad, V. & Frank, W. (1989): Interferon Gamma in Experimental Echinococcosis
J. Interferon Res., *9(Suppl. 2)*, p S136.

Phillips, J. H., Gemlo, B. T., Myers, W. W., Rayner, A. A. & Lanier, L. L. (1987): *In Vivo* and *In Vitro* Activation of Natural Killer Cells in Advanced Cancer Patients Undergoing Combined Recombinant Interleukin 2 and LAK Cell Therapy
J. Clin. Oncol., *5*, pp 1933-1941.

Phillips, P., Forbes, J. C. & Speert, D. P. (1991): Disseminated Infection with Pseudoallescheria boydii in a Patient with Chronic Granulomatous Disease: Response to Gamma-Interferon Plus Antifungal Chemotherapy
Pediatr. Infect. Dis., *10*, pp 536-539.

Pieler, C. & Hauptmann, R. (1989): Study on the Expression of Human Interferons α2 and ω1
J. Interferon Res., *9(Suppl.2)*, p. S181.

Pitha, P. M., Popik, W., Su, Y., Mester, J. C. & Glorioso, J. C. (1994): Targeted Expression of the Transduced IFNA Gene: Application for Gene Therapy
J. Interferon Res., *14(Suppl.1)*, p S208.

Placer, Z. A., Cushman, L. & Johnson, B. C. (1966): Estimation of Product of Lipid Peroxidation (malonyl dialdehyde) in Biochemical Systems
Analyt. Biochem., *16*, pp 359-364.

Poindron, P., Gobert, J. G., Savel, J. et German, A. (1973): Interferon et protection de la souris contre l'infestation experimentiale transmise par les formes sanguines de *Plasmodium berghei* injectées à doses massives. II. Effets de quelques immunosuppresseurs sur les modalités de protection par un inducteur viral de l'interferon
Ann. Pharmac. Franc., *31*, pp 81-90.

Preble, O. T., Rothko, K. & Klippel, J. H. (1983): Interferon Induced 2'-5' Adenylate Synthetase *in vivo* and Interferon Production *in vitro* by Lymphocytes from Systemic Lupus Erythematosus Patients with and without Circulating Interferon
J. Exp. Med., *157(6)*, pp 2140-2146.

Premecz, G., Farkas, T., Markovits, A. & Földes, I. (1986): A Possible Role of Elevated Phosphatidylinositol Turnover in IFN-Induced Transmembrane Processes
in: Abstracts of 9th Regional Conference of Socialist Countries on Interferon, Jena, GDR, 13.-18. October, 1986.
p. 32.

Markovits, A., Kovács, É., Bagi, G., Farkas, T. & Premecz, G. (1987): Synergistic Antiviral Effect of Interferon (IFN) and Retinoic Acid (RA)
in: Abstracts of the 10th Congress of the Hungarian Society for Microbiology, Szeged, Hungary, 26.-29. August, 1987.
p. 51.

Premecz, G., Markovits, A., Nagy, J., Bagi, G. & Földes, I. (1994): IFN-α Stimulates a Biphasic Intracellular Calcium Response in Human Amnion Cells
J. Interferon Res., *14(Suppl.1)*, p S83.

Pretnar, G., Filipic, B., Golob, A., Skodic, A., Tóth, S., Mécs, I. & Suhar, A. (1991): Electroinduction of Interferon Like Proteins.
Bioelectrochem. Bioenerg., 25, pp 183-193.

Proctor, S., Jackson, G., Carey, P. & Stork, A. (1988): Short Course Alpha-Interferon Therapy in Severe Unresponsive Immune Thrombocytopenic Purpura
Lancet, *i*, p 94.

Proctor, S., Jackson, G., Carey, P., Stork, A., Finney, R., Saunders, P., Summerfield, G., Maharaj, D. & Youart, A. (1989): Improvement of Platelet Counts in Steroid-Unresponsive Idiopathic Thrombocytopenic Purpura After Short -Course Therapy with Recombinant Alpha 2b Interferon
Blood, *74*, pp 1894-1897.

Pusztai, R. & Béládi, I. (1964): Interferon Production Induced in Cultured Chick-Embryo Fibroblast Cells By Parainfluenza Virus and Adenovirus Infection
In: Proc. Fourth Congr. Hung. Ass. Microbiologists,
Akadémiai Kiadó, Budapest
pp 199-200.

Pusztai, R., Bakay, M., Mucsi, I. & Béládi, I. (1969): Interferon Induction By Human Adenovirus In Vivo
Acta Virol., *13*, pp 71-73.

Pusztai, R., Berencsi, K., Béládi, I. & Szabó, É. (1976): Relationship Between Interferon Production and Transformation of Chick Cells Infected with Human Adenovirus Type 12
in: Interferon and Interferon Inducers
eds.: I. Földes & M. Tálas; Res. Group Hung. Acad. Sci., Budapest,
pp 100-108.

Pusztai, R., Taródi, B., Sólymosi, T. & Béládi, I. (1991): Study on the Glycoprotein Nature of Chicken IFNs By Chemical Cleavage and Inhibition of Glycosylation
J. Interferon Res., *11(Suppl.1.)*, p S219.

Quesada, J. R., Reuben, J., Manning, J. T., Hersh, E. M. & Gutterman, J. U. (1984): α-Interferon for Induction of Remission in Hairy-Cell Leukemia
New Engl. J. Med., *310*, pp 15-18.

Quesada, J. R. & Gutterman, J. U. (1986): Psoriasis and α-Interferon
Lancet, *i*, pp 1466-1468.Quesada, J. R., Hersh, E. M., Manning, J. T., Reuben, J., Keating, M., Schnipper, E., Itri, L. & Gutterman, J. U. (1986): Treatment of Hairy Cell Leukemia with Recombinant α-Interferon
Blood, *68*, pp 493-497.

Quesada, J. R., Lepe-Zuniga, J. L. & Gutterman, J. U. (1987): Mid-Term Observations of the Efficacy of α-Interferon in Hairy Cell Leukemia and Status of the Interferon System of Patients in Remission
Leukemia, *1*, pp 317-319.

Quesada, J. R., Alexanian, R., Kurzrock, R., Barlogie, B., Saks, S. R. & Gutterman, J. U. (1988a): Recombinant Interferon Gamma in Hairy Cell Leukemia, Multiple Myeloma and Waldenstrom's Macroglobulinemia
Amer. J. Hematol., *29*, pp 1-4.

Quesada, J. R., Evans, L., Saks, S. R. & Gutterman, J. U. (1988b): Recombinant Interferon Alpha and Gamma in Combination as Treatment for Metastatic Renal Cell Carcinoma
J. Biol. Response Modifiers, *7*, pp 234-239.

Rapson, C., Scholnik, A., Stoutenborough, K. et al. (1984): Treatment of Patients with Lymphoma and Myeloma with Human Leukocyte Interferon
Proc. Amer. Soc. Clin. Oncol., *3*, p. 252.

Rinderknecht, E., O'Connor, B. H. & Rodrigues, H. (1984): Natural Human Interferon-γ: Complete Amino Acid Sequence and Determination of Sites of Glycosylation
J. Biol. Chem., *259*, pp 6790-6797.

Rinehart, J. J., Young, D., Laforge, J., Colborn, D. & Neidhart, J. A. (1987): Phase I/II Trial of Interferon-ß-Serine in Patients with Renal Cell Carcinoma: Immunological and Biological Effects
Cancer Res., *47*, pp 2481-2487.

Roberts, J. (1992): About Turn in US on Interferon Alfa
Br. Med. J., *305*, pp 1243-1244.

Roberts, N. J. Jr., Douglas, R. G. Jr., Simons, R. M. & Diamond, E. E. (1979): Virus Induced Interferon Production by Human Macrophages
J. Immunol., *123*, pp 365-369.

Roberts, R. M., Leaman, D. W. & Cross, J. C. (1992): Role of Interferons in Maternal Recognition of Pregnancy in Ruminants
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., *200*, pp 7-18.

Rohatiner, A. Z. S., Prior, P. F., Burton, A. C., Smith, A. T., Balkwill, F. R. & Lister, T. A. (1983): Central Nervous System Toxicity of Interferon
Br. J. Cancer, *47*, pp 419-422.

Rosenberg, S. A., Mule, J. J., Spiess, J., Reichert, C. M. & Schwarz, S. L. (1985): Regression of Established Pulmonary Metastases and Subcutaneous Tumor Mediated by Systemic Administration of High-Dose Recombinant Interleukin
J. Exper. Med., *161*, pp 1169-1188.

Rosso, R., Rimoldi, R., Salvati, F., de Palma, M., Cinquegrana, A., Nicolo, G., Ardizzoni, A., Fusco, U., Capaccio, A., Centofanti, R., Neri, M., Cruciani, A. R. & Maisto, L. (1988): Intrapleural Natural Beta Interferon in the Treatment of Malignant Pleural Effusions
Oncology, *45*, pp 253-256.

Rosztóczy, I (1975): Separation of the Antiviral and Priming Effects of Interferon in L Cells
Acta Microbiol. Acad. Sci. Hung., *22*, pp 347-351.

Rosztóczy, I (1977a): Az interferon priming hatása.
Kandidátusi értekezés

Rosztóczy, I (1977b): Az interferon priming hatásának vizsgálata.
in: A sejtosztódás farmakológiája VI.
Szerk.: Hernádi F., Papp S. és Szabó G., Debrecen
305-315.

Rosztóczy, I. (1982): Attempts to Demonstrate the Priming Effect of Interferon In Vivo in Mice
in: Abstracts of Seventh Regional Symposium of the Socialist Countries on Interferon, Varna, Bulgaria, 8.-12. November, 1982.
p. 26.

Rosztóczy, I & Mécs, I. (1970): Enhancement of Interferon Synthesis By PolyI : PolyC in L Cells Pretreated with Interferon
Acta Virol., *14*, pp 398-400.

Rozman, C., Montserrat, E., Viñolas, N., Urbano-Ispizua, A., Ribero, J. M:, Gallart, T. & Compernolle, C. (1988): Recombinant α_2-Interferon in the Treatment of B Chronic Lymphocytic Leukemia in Early Stages
Blood, *71*, pp 1295-1298.

Rozs, M., Tóth, S., Wittmann, G. & Mécs, I. (1994): Effect of Interferon on the Development of Drug Resistance of Herpesviruses "In Vitro"
in: Abstracts of the International Meeting on Growth Control and Therapy of Cancer, 21-24 August 1994, Budapest
76.

Rubinstein, M. (1982): The Structure of Human Interferons
Biochem. Biophys. Acta, *695*, pp 5-16.

Rubinstein, M. (1987): Multiple Interferon Subtypes:The Phenomenon and Its Relevance
J. Interferon Res., *7*, pp 545-551.

Rudick, R. A. & Ranshoff, R. M. (1992): Cytokine Secretion By Multiple Sclerosis Monocytes
Arch. Neurol., *49*, pp 265-270.

Rudolf, Z. (1986):Treatment of Malignant Melanoma with Human Leukocyte Interferon - Preliminary Results of Randomized Trial
in: Yugoslave Colloquium on Interferon, pp 129-133.
ed.: Filipic, B., Slovenian Microbiological Society, Ljubljana, Yugoslavia

Rush Moore, B., Krakowka, S., Cummins, J. M. & Robertson, J. T. (1994): Oral Administration of Interferon-Alpha for Treatment of Inflammatory Airway Disease in Standardbred Racehorses
J. Interferon Res., *14(Suppl.1)*, p S142.

Rustin, G. J. S., Dische, S., de Garis, S. T. & Nelstrop, A. (1988): Treatment of Advanced Malignant Melanoma with Interferon Alpha and Etretinate
Eur. J. Cancer Clin. Oncol., *24*, pp 783-784.

Saksela, E., Virtanen, I., Hovi, T., Secher, D. S. & Cantell, K. (1984): Monocyte Is the Main Producer of Human Leukocyte α-Interferons Following Sendai Virus Induction
Prog. Med. Virol., *30*, pp 78-86.

Salazar, A. M., Gibbs, C. J., Gajdusek, D. C. & Smith, R. A. (1984): Clinical Usage of Interferons: Central Nervous System Disorders
in: Interferons and Their Applications, pp 471-497.
eds.: Came, P. S. & Carter, W. A.; Springer Verlag, Berlin

Samid, D. (1989): Suppression of Oncogene Activity By Interferons
Interferons and Cytokines, *11*, pp 38-40.

Sanders, C. V. Jr., Luby, J. P., Sanford, J. P. & Hull, A. R. (1971): Suppression of Interferon Response in Lymphocytes from Patients with Uremia
J. Lab. Clin. Med., *77*, pp 768-774.

Sanders, F. K. (1980): A Possible Approach to the Therapy of Cancer: Interferon
in: The Role of Viruses in Human Cancer, vol. 1., pp 257-274.
eds.: Giraldo, R. J. & Beth, F. J.; Elsevier N. H. Inc., New York

Sarna, G. P. & Figlin, R. A. (1985): Phase II Trial of Alpha-Lymphoblastoid Interferon Given Weekly as a Treatment of Advanced Breast Cancer
Cancer Treat REp., *69*, pp 547-549.

Sarosy, G. A., Brown, T. D., von Hoff, D. D., Spiegel, R. J., Golando, J. P., Beougher, K. L., Kuhn, J. G. & Kisner, D. L. (1986): Phase I Study of α_2-Interferon Plus Doxorubicin in Patients with Solid Tumours
Cancer Res., *46*, pp 5368-5371.

Scheglovitova, O. N., Kulieva, A. M., Konovitskaya, A. I. & Mamontova, T. V. (1989): Characterization of α-Acid Labile Human Interferon
J. Interferon Res., *9(Suppl.2)*, p.S188.

Schiller, J. H., Storer, B., Willson, J. K. V. & Borden, E. C. (1987): Phase I Trial of Combinations of Recombinant Interferons $ß_{ser}$ and γ in Patients with Advanced Malignancy
Cancer Treatment Reports, *71*, pp 945-952.

Schwarzinger, I., Bettelheim, P., Chott, A., Herold, Ch., Hinterberger, W., Köller, U., Kos, M., Neumann, E., Radaszkiewicz, Th. & Lechner, K. (1988): Recombinant Alpha-Interferon (α-IFN) for Progressive Hairy Cell Leukemia (HCL): A Study in Previously Untreated Nonsplenectomized Patients
Wiener Kl. Wochenschrift, *100*, pp 47-51.

Scientific Committee on Interferon (Isaacs, A., Andrews, R. D. & Beale, A. J.) (1962): Effect of Interferon on Vaccination in Volunteers
Lancet, *i*, pp 873-875.

Scientific Committee on Interferon (1966): Experiments with Interferon in Man
Lancet, *i*, pp 505-510.

Scientific Committee on Interferon (1970): Progress Towards Trials of Human Interferon in Man
Ann. N. Y. Acad. Sci., *173*, pp 770-774.

Scott, G. M. (1984): The Toxic Effects of Interferon in Man
in: Interferon, pp 85-114.
ed.: Gresser, I.; Plenum Press, New York

Scully, L. J., Shein, R., Karayiannis, P., McDonald, J. A. & Thomas, H. C. (1987): Lymphoblastoid Interferon Therapy of Chronic HBV Infection: A Comparison of 12 vs 24 Weeks of Thrice Weekly Treatment
J. Hepatol., *5*, pp 51-58.

Seghal, P. B. & Sagar, A. D. (1980): Heterogeneity of Poly(I).Poly(C)-Induced Human Fibroblast Interferon mRNA Species
Nature, *288*, pp 95-97.

Shapiro, R. S., Chauvenet, A., McGuire, W., Pearson, A., Craft, A. W., McGlave, P. & Filipovich, A. (1988): Treatment of B-Cell Lymphoproliferative Disorders with Interferon Alfa and Intravenous Gamma Globulin
New Engl. J. Med., *318*, pp 1334-1336.

Sherertz, R. J. (1985): Acquired Immune Deficiency Syndrome: A Perspective for the Medical Practicioner
Med. Clin. North Amer., *69(4)*, pp 637-655.

Sidkey, Y. A. & Borden, E. C. (1989): Inhibition of Angiogenesis By Interferons: Effects on Tumor and Lymphocyte Induced Vascular Responses
Cancer Res., *47*, pp 5155-5161.

Sikora, K. (1880): Does Interferon Cure Cancer?
Br. Med. J., *281*, pp 855-858.

Silver, R. T. (1988): Recombinant Interferon-Alpha for Treatment of Polycythaemia Vera
Lancet, *ii*, pp 403-404.

Simmons, R. D. & Willenborg, D. O. (1990): Direct Injection of Cytokines into the Spinal Cord Causes Autoimmune Encephalitis-Like Inflammation
J. Neurol. Sci., *100(1)*, pp 37-41.

Simoni, R., Cavalier, R., Coppola, G., Ricciotti, L., de Pità, O., Criscuolo, D., Covelli, A., Papa, G. & Mandelli, F. (1987): Recombinant Leukocyte Interferon Alfa-2a in the Treatment of Mycosis Fungoides
J. Biol. Regul. Homeostatic Agents, *1*, pp 93-99.

Smith, J. W., Urba, W. J., Clark, J. W., Longo, D. L., Farrell, M., Creekmore, S. P., Conlon, K. C., Jaffe, H. & Stein, R. G. (1991): Phase I evaluation of Recombinant Tumor Necrosis Factor Given in Combination with Recombinant Interferon Gamma
J. Immunother., *10*, pp 355-362.

Smyth, J. F., Balkwill, F. R. & Fergusson, R. J. (1987): Interferons Combined with Other Anticancer Agents: Studies in Experimental Systems
in: Interferons in Oncology, Current Status and Future Directions, pp 39-42.
ed.: Veronesi, U., Springer-Verlag, Berlin

Somogyvári, F., Kovács, K., Tóth, S., Wittmann, G. & Mécs, I. (1995): Construction of an Electroinductor and Induction of IFN-Like Proteins in Human and Porcine Leukocytes
ISCR-News, *2*, accepted for publication

Sonnabend, J. A., Martin, E. M., Mécs, I. & Fantes, K. (1967): The Effect of Interferon on the Synthesis of an RNA Polymerase Isolated from Cick Cells Infected with Semliki Forest Virus
J. Gen. Virol., *1*, pp 41-48.

Sonnabend, J. A., Martin, E. M. & Mécs, I. (1968): Studies on Interferon Action
in: Interferon
eds.: Woltensholme, G. E. W. & O´Connor, M., Churchill, London
pp 143-151.

Soos, J. M. & Johnson, H. M. (1995): Type I Interferon Inhibition of Superantigen Stimulation: Implications for Treatment of Superantigen-Associated Disease
J. Interferon and Cytokine Res., *15*, pp 39-45.

Sosa, M., López, G., Torres, R., Hernández,M. V., Torres, A. M. & López-Saura, P. (1991): Treatment with Recombinant Gamma Interferon in Patients with Rheumatoid Arthritis (RA)
J. Interferon Res., *11(Suppl. 1)*, p S244

Spiegel, R. J. (1987): Clinical Overview of α-Interferon
Cancer, *59*, pp 626-631.

Sporn, M. B. & Roberts, A. B. (1987): Peptide Growth Factors: Current Status and Therapeutic Opportunities
in: Important Advances in Oncology,
eds.: Devita, V. T., Hellman, S. & Rosenberg, S. A., Lippincott, Philadelphia
pp 75-86.

Stanton, G. J., Weigent, D. A., Fleischmann, W. R., Dianzani, F. & Baron, S. (1987): Interferon Review
Invest. Radiol., *22*, pp 259-273.

Steiner, A., Wolf, Ch. & Pehamberger, H. (1987): Comparison of the Effects of Three Different Treatment Regimens of Recombinant Interferons (r-IFNα, r-IFNγ, and r-IFNα + Cimetidine) in Disseminated Malignant Melanoma
J. Cancer Res. Clin. Oncol., *113*, pp 459-465.

Stewart II., W. E. (1979): The Interferon System
ed.: Springer Verlag, Wien - New York

Stewart II., W. E., Blalock, J. E., Burke, D. C., Chany, C., Dunnick, J. D., Falcoff, E., Friedman, R. M., Galasso, G. J., Joklik, W. K., Vilcek, J., Youngner, J. S. & Zoon, K. C. (1980): Interferon Nomenclature
Nature, *286*, p 110.

Stinson, W. G., Miller, J. W., Puliafito, C. A. & Folkman, J. (1991): Alpha-Interferon Treatment of Experimental Iris Neovascularization
Invest. Ophtalmol. Visual Sci., *32*, p 1046.

Strander, H. & Cantell, K. (1966): Production of Interferon by Human Leukocytes *in vitro*
Ann. Med. Exp. Biol. Fenn., *44*, pp 265-273.

Strander, H., Jakobson, P. A., Carlstroem, C. & Cantell, K. (1973a): Administration of Potent Interferon to Patients with Malignant Diseases
Cancer Cytol., *13*, pp 1-16.

Strander, H., Cantell, K., Carlstroem, C. & Jakobson, P. A. (1973b): Clinical and Laboratory Investigations on Man: Systemic Administration of Potent Interferon to Man
J. Natl. Cancer Inst., *51*, pp 733-742.

Strander, H. (1977): Interferons: Anti-Neoplastic Drugs?
Blut, *35*, 277-288.

Strander, H., Aparisi, T., Brosjö, O., Broström, L.-Å., Einhorn, S., Nilsson, O., Nilsonne, U. & Söderberg, G. (1985): Interferon Treatment of Human Osteosarcoma
in: Abstracts of the ARES Serono Symposium on the Interferon System, 8-11 May 1985, Rome, Italy; p 106.

Sunami, K., Uozumi, A., Semba, A., Yamaura, A., Makino, H. & Miyoshi, T. (1987): Evaluation of Treatment for Childhood Medulloblastoma with Special Reference to Combination Therapy with Interferon and Radiation
Neurologica Medico-Chirurgica (Tokyo), *27*, pp 623-627.

Suntharasamai, P & Rytel, M. W. (1973): Interferon Response and Interferon Action in *Eperythrozoon coccoides* Infection of Mice
J. Proc. Soc. Exp. Biol. (N. Y.), *149*, pp 837-840.

Svet-Moldavsky, G. J. & Chernyakovskaya, I. Yu. (1967): Interferon and the Interaction of Allogeneic Normal and Immune Lymphocytes with L-Cells
Nature, *215*, pp 1299-1300.

Szabó J (1990): A pajzsmirígy autoimmun betegségei
in: Klinikai immunológia. II. Klinikum, 187.-192. o.
Szerk.: Szegedi Gy., Gergely P., Sipka S. és Szemere P.
Medicina, Budapest

Szegedi Gy. (1990): A terhesség immunológiai vonatkozásai
in: Klinikai immunológia. II. Klinikum, 97.-102. o.
Szerk.: Szegedi Gy., Gergely P., Sipka S. és Szemere P.
Medicina, Budapest

Szeri I. (1990): Antibakteriális immunitás
in: Klinikai immunológia. II. Klinikum, 25.-30. o.
Szerk.: Szegedi Gy., Gergely P., Sipka S. és Szemere P.
Medicina, Budapest

Tabata, Y., Uno, K., Yamaoka, T., Ikada, Y. & Muramatsu, S. (1991): Effects of Recombinant Alpha-Interferon Gelatin Conjugate on *In vivo* Murine Tumor Cell Growth
Cancer Res., *51*, pp 5532-5538.

Takeuchi, M., Dao, T., Fukuda, S. & Kurimoto, M. (1994): Natural Human Interferon-α Enhances Expression of Adhesion Molecules ICAM-1, Integrin-β1 (CD29) and α2 (CD49wb) on Human Oral Mucosa Epithelial Cells
J. Interferon Res., *14(Suppl. 1)*, p S178.

Talmadge, J. E., Phillips, H., Schindler, J., Tribble, H. R. & Pennington, R. W. (1987): Systematic Preclinical Study on the Therapeutic Properties of Recombinant Human Interleukin 2 for the Treatment of Metastatic Disease
Cancer Res., *47*, pp 5725-5732.

Talpaz, M., Plager, C., Quesada, J. R., Benjamin, R., Kantarijan, H. M. & Gutterman, J. (1986): Difluoromethylornithine and Leukocyte Interferon: A Phase I Study in Cancer Patients
Eur. J. Cancer Clin. Oncol., *22*, pp 685-689.

Talpaz, M., Kantarijan, H. M., McCredie, K. B., Keating, M. J., Trujillo, J. & Gutterman, J. (1987a): Clinical Investigation of Human Alpha Interferon in Chronic Myelogenous Leukemia
Blood, *69*, pp 1280-1285.

Talpaz, M., Rosenblum, M., Kurzrock, R., Reuben, J., Kantarijan, H. M. & Gutterman, J. (1987b): Clinical and Laboratory Changes Induced by Alpha Interferon in Chronic Lymphocytic Leukemia: A Pilot Study
Amer. J. Hematol., *24*, pp 341-350.

Taniguchi, T., Ohno, S., Fujii-Kuriyama, Y. & Muramatsu, M. (1980): The Nucleotide Sequence of Human Fibroblast Interferon cDNA
Gene, *10*, pp 11-15.

Taran, A. I., Krivokhatskaya, L. D. & Zolotkovskaya, O. Z. (1987): Interferon System in Arthritis
in: Abstracts of the 10th Congress of the Hungarian Society of Microbiology, 26-29 August, Szeged, Hungary; p. 77.

Taródi, B., Metz, D. H., Douglas, A. & Russell, W. C. (1977): A Study of Events in Chick Cells Infected with Human Adenovirus Type 5 and Their Relationship to the Induction of Interferon
J. Gen. Virol., *36*, pp 425-436.

Taylor-Papadimitriou, J. (1984): Effects of Interferons on Cell Growth and Function
in: Interferon: General and Applied Effects, pp 139-165.
ed.: Billiau, A., Elsevier Science Publishers, Amsterdam

Theologides, A. (1986): Anoreins, Asthenins and Cahectins in Cancer
Amer. J. Med., *81*, pp 696-698.

Thestrup-Pedersen, K., Nammer, R., Kaltoft, K., Sogaard, H. & Zacharie, H. (1988): Treatment of Mycosis Fungoides with Recombinant Interferon-α2a Alone and in Combination with Etretinate
Br. J. Dermatol., *188*, pp 811-818.

Thomas, H. C., Farci, P., Shein, R., Karayiannis, P., Smedile, A., Caruso, L. & Gerin, J. (1987): Inhibition of Hepatitis Delta Virus (HDV) Replication By Lymphoblastoid Human Alpha Interferon
in: The Hepatitis Delta Virus and Its Infection, pp 277-290.
ed.: Alan R. Liss Inc., N.Y., USA

Tolaymat, A., Leventhal, B., Sakarcan, A., Koshima, H. & Monteiro, C. (1992): Systemic Lupus Erythematosus in a Child Receiving Long-Therm Interferon Therapy
J. Pediatr., *120(3)* pp 429-431.

Torrisi, J., Berg, C., Bonnem, E. & Dritschilo, A. (1986): The Combined Use of Interferon and Radiotherapy in Cancer Management
Seminars in Oncology, *13(3, Suppl. 2)*, pp 78-83.

Torti, F. M., Shortliffe, L. D., Williams, R. D., Pitts, W. C., Kempson, R. L., Ross, J. C., Palmer, J., Meyers, F., Ferrari, M., Hanningan, J., Spiegel, R., McWhirter, K. & Freiha, F. (1988): Alpha-Interferon in Superficial Bladder Cancer: A Northern California Oncology Group Study
J. Clin. Oncol., *6*, pp 476-483.

Tóth M., Endrész V., Béládi I. és *Tóth S.* (1983): Komplex eljárás humán leukocita és humán gamma interferon egymást követő előállítására.
Szabadalom.

Tóth, M., Endrész, V., Béládi, I. und *Tóth, S.* (1984a): Verfahren zur nacheinanderfolgenden Herstellung von humanen Leukozyteninterferon und humanen Gamma-Interferon.
European Patent No. 84115123.6

Tóth, M., Mécs, I., Tóth, S., Endrész, V. & Béládi, I. (1984b): Semi-crude Human Leukocyte Interferon Production in a Simple Medium.
Acta Microbiol. Hung., *31(1)*, pp 61-67

Tóth, M., Endrész, V., Tóth, S. & Béládi, I. (1985): Human Interferons Alpha and Beta Have More Potent Priming Activities than Interferon Gamma.
J. gen. Virol., *66*, pp 893-896.

Tóth M., Arya, B., Ojunsuren, C., Shiroki, K., Endrész V., Pusztai R., Duda E. és Béládi I. (1986): Interferon indukció mechanizmusa, az interferon gén szabályozása
in: MMT 1986. évi Naggyűlésének összefoglalói, Gödöllő, 1986. szeptember 1.-3.
106. o.

Tóth S. (1984): Eljárás humán leukocita interferon (HuIFN-alpha) termelésére és tisztítására.
Egyetemi doktori értekezés.

Tóth S., Endrész V., Tóth M. és Gál Gy. (1985): Krónikus urémiás dializált betegek fehérvérsejtjeinek in vitro interferon termelése
Orv. Hetil. *126(44)*, pp 2713-2717.

Tóth, S. & Mécs, I. (1986): Separation of Human Interferon Alpha Subtypes by Chromatofocusing and Comparison of Their Sensitivities to Amino Acid Effects.
in: Yugoslave Colloquium on Interferon, pp 35-39.
ed.: Filipic, B., Plesko, Ljubljana

Tóth, S., Mécs, I., Seprényi, G., Garssadi, S. I. & Papos, I. (1988a): Characterization of an Acid Labile Antiviral Substance Isolated from Native Human IFN Alpha Preparations.
in: Mednarodno Posvetovanje o Virusnih Boleznih Cloveka, Ljubljana, Yugoslavia, 27.-28. maja 1988.
p. 11.

Tóth S., Mécs I., Seprényi Gy., Garssadi, S. I., Papos I. és Béládi I. (1988b): Humán leukocita interferonból izolált savlabil komponens fiziko-kémiai és biológiai jellemzése
in: A MMT 1988. évi Naggyűlésének összefoglalói, Kaposvár, 1988. augusztus 25.-27.
39. o.

Tóth, S. & Mécs, I. (1989a): Drug Resistance and Virulence Studies with Herpes simplex Viruses: I. *In Vitro* Results.
in: Abstracts of Eighth Symposium of Socialist Countries on Antiviral Substances, Szeged, Hungary, 20.-22. August, 1989.
p. 25.

Tóth, S. & Mécs, I. (1989b): Drug Resistance of Human HSV-1 and HSV-2 Strains.
in: Abstracts of Annual Congress of Yugoslave Society for Microbiology, 11.-15. September, 1989., Maribor, Yugoslavia
p. 28.

Toth, T., Cummins, J. & Moore, D. (1994): Effects of Very-Low-Dose Oral Cytokine Treatment on Hematological Values in Feline Leukemia Positive Cats
J. Interferon Res., *14(Suppl.1)*, p S187.

Tovey, M. G. (1988): The Expression of Cytokines in the Organs of Normal Individuals: Role in Homeostasis
J. Biol. Regul. Homeostatic Agents, *2(2)*, pp 87-92.

Treanor, J. J., Betts, R. F., Erb, S. M., Roth, F. K. & Dolin, R. (1987): Intranasally Administered Interferon As Prophylaxis Against Experimentally Induced Influenza A Virus Infection in Humans
J. Infect. Dis., *156*, pp 379-383.

Trent, J. M., Olson, S. & Lawn, R. M. (1982): Chromosomal Localization of Human Leukocyte, Fibroblast and Immune Interferon Genes By Means of In Situ Hybridization
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, *79*, pp 7809-7813.

Tyrrell, A. J. (1985): Some Experiments on the Use of Interferons in the Prevention and Treatment of Respiratory Virus Infections
in: Abstracts of the ARES-SERONO International Symposium on the Interferon System, May 8-11, 1985, Rome, Italy
p 42.

Uher F. (1988): Sejtkölcsönhatások a humorális immunválaszban és a humorális immunválasz effektor ága
in: Klinikai immunológia: I. Elmélet, 179.-189. o.
szerk.: Petrányi Gy., Benczúr M. és Falus A., Medicina, Bp.

Ullrich, A., Gray, A., Goeddel, D. V. & Dull, T. J. (1982): Nucleotide Sequence of a Portion of Human Chromosome 9 Containing a Leukocyte Interferon Gene Cluster
J. Mol. Biol., *156*, pp 467-486.

Umeda, T. & Niijima, T. (1986): Phase II study of Alfa Interferon on Renal Cell Carcinoma: Summary of Three Collaborative Trials
Cancer, *58(6)*, pp 1231-1235.

Urba, W. J. & Longo, D. L. (1986): α-Interferon Treatment of Nodular Lymphomas
Seminars in Oncology, *13(4-Suppl. 5)*, pp 40-47.

Vadhan-Raj, S., Nathan, C. F., Sherwin, S. A., Oettgen, H. F. & Krown, S. E. (1987): Effects of Recombinant Human Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor in Patients with Myelodysplastic Syndromes
N. Engl. J. Med., *317*, pp 1545-1552.

Veys, E. M., Mielants, H., Verbruggen, G., Grosclaude, J.-P., Meyer, W., Galazka, A. & Schindler, J. (1988): Interferon Gamma in Rheumatoid Arthritis - A Double Blind Study Comparing Human Recombinant Interferon Gamma with Placebo
J. Rheumatol., *15*, pp 570-574.

Vieillard, V., Lauret, E., Gazzolo, L., Rousseau, V., Cremer, I. & de Maeyer, E. (1994): Enhanced Resistance Against HIV-1 Infection in Cell Populations Transformed to Constitutively Express Interferon-Beta
J. Interferon Res., *14(Suppl.1)*, p S209.

Vilcek, J. & De Maeyer, E. (eds.) (1984): Interferon 2.: Interferons and the Immune System
Elsevier Science Publishers, Amsterdam

Virelizer, J.-L. (1989): The Immune System: An Update for Virologists
in:Immune Responses, Virus Infections and Disease, pp 1-14.
eds.: Dimmock, N. J. & Minor, P. D., IRL Press, Oxford

Volberding, P. A. & Mitsuyasu, R. (1985)> Recombinant Interferon Alpha in the bTreatment of Acquired Immunodeficiency Syndrome-Related Kaposi's Sarcoma
Seminars in Oncology, *12(Suppl. 5)*, pp 2-12.

Waddell, G. (1977): Hazards of Human Leukocyte Interferon Therapy
N. Engl. J. Med., *296*, pp 1295-1311.

Wadler, S., Einzig, A. I., Dutcher, J. P., Ciobanu, N., Landau, L. & Wiernik, P.H. (1988): Phase II Trial of Recombinant Alpha-2b-Interferon and Low-Dose Cyclophosphamide in Advanced Melanoma and Renal Cell Carcinoma
Amer. J. Clin. Oncol., *11*, pp 51-59.

Wagstaff, J., Scarffe, J. H. & Crowther, D. (1985a): Interferon in the Treatment of Multiple Myeloma and the Non-Hodgkin's Lymphomas
Cancer Treatment Rev., *12(Suppl. B)*, pp 39-44.

Wagstaff, J., Smith, D. B. & Crowther, D. (1985b): A Phase I Toxicity Study of Human rDNA Gamma Interferon (Schering Plough) in Patients with Solid Tumours
in: Abstract Book of the 1985 TNO-ISIR Meeting on the Interferon System, Clearwater Beach, Florida, USA, 13.-18. October, 1985.
p. 157.

Wagstaff, J., Loynds, P & Crowther, D. (1986): A Phase II Study of rDNA Alpha-2 Interferon in Patients with Previously Treated and Untreated Non-Hodgkin's Lymphoma of Low Histological Grade
in: The Biology of Interferon System 1985, pp 455-458.
eds.: Stewart, W. E. & Schellekens, H., Elsevier, Amsterdam, Netherlands

Waschke, S. R. & Diezel, W. (1984): Interferon in Patients with Psoriasis
Contr. Oncol., *20*, pp 298-303.

Watanabe, Y. & Sakata, T. (1994): Expression of Rat Interferon-γ Gene in a Rat Hepatoma Cell Line and Its Effects
J. Interferon Res., *14(Suppl.1)*, p S205.

Weiner, R. S., Reich, S. D., Youngblood, M. W. & Witman, P. A. (1987): Phase I/II Study of Recombinant Interferon Gamma and BCNU in Metastatic Melanoma
Proc. Amer. Assoc. Cancer Res., *28*, p 377.

Weissenbach, J., Chernajowsky, Y., Zeevi, M., Shulman, L., Soreg, H., Nir, U., Wallach, D., Perricaydet, M., Thiollais, P. & Revel, M. (1980): Two Interferon mRNAs in Human Fibroblasts: In Vitro Translation and E. coli Cloning Studies
Proc. Natl. Acad Sci. USA, *77*, pp 7152-7156.

Welander, C. E., Homesley, H. D., Reich, S. D. & Levin, E. A. (1988): A Phase II Study of the Efficacy of Recombinant Interferon Gamma in Relapsing Ovarian Adenocarcinoma
Amer. J. Clin. Oncol., *11*, pp 465-469.

Wheelock, E. F. (1965): Interferon-Like Virus-Inhibitor Induced Human Leukocytes By Phytohemagglutinin
Science, *149*, pp 310-311.

Wiktor, T. J., Koprowski, H., Mitchell, J. R. & Merigan, T. C. (1976): Role of Interferon in Prophylaxis of Rabies After Exposure
J. Infect. Dis., *133*, pp 260-265.

de Wit, R., Boucher, C. A. B., Veenhof, K. H. N., Schattenkerk, J. K. M. E., Bakker, P. J. M. & Danner, S. A. (1988): Clinical and Virological Effects of High-Dose Recombinant Interferon-α in Disseminated AIDS-Related Kaposi's Sarcoma
Lancet, *ii*, pp 1214-1217.

Wolfe, F., Cathey, M. A., Hawley, D. J., Balser, J. P. & Schindler, J. D. (1985): Clinical Trial with Recombinant Interferon-γ in Rheumatoid Arthritis
in: Biologically Based Immunomodulators in the Therapy of Rheumatic Diseases
eds.: Pincus, P. H., Pisetsky, D. S. & Rosenwasser, L. J.; Elsevier, North Holland
pp 379-395.

von Wussow, P., Block, B., Hartman, F. & Deicher, H. (1988a): Intralesional Interferon-Alpha Therapy in Advanced Malignant Melanoma
Cancer, *61*, pp 1071-1074.

von Wussow, P., Hartman, F., Freund, M., Poliwoda, H. & Deicher, H. (1988b): Successful Treatment of rIFN-α_{2b}-Antibody-Positive Patients with Natural IFNα
Lancet, *i*, pp 882-883.

von Wussow, P. & Jakschies, D. (1990): Interferon Antikörper - Phantasie oder Faktum?
in: Intreferone. Präklinische und klinische Befunde.
Hrsg.: Niederle, N. und von Wussow, P., Springer-Verlag, Berlin
pp 79-91.

Yerushalmi, A., Tovey, M. G. & Gresser, I. (1982): Antitumor Effect of Combined Interferon and Hyperthermia in Mice
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., *169*, pp 413-415.

Yip, Y. K., Barrowclough, B. S. Urban, C. & Vilcek, J. (1982): Purification of Two Subspecies of Human γ (Immune) Interferon
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, *79*, pp 1820-1824.

Zachariae, H., Larsen, P. M. & Sogaard, H. (1988): Recombinant Interferon Alpha-2a (Roferon-A) in a Case of Buschke-Lowenstein Giant Condyloma
Dermatologica, *177*, pp 175-179.

Zielinska, W., Paszkiewicz, J., Korczak-Rogon, A., Wlasiuk, M., Cummins, J. M. & Georgiades, J. A. (1994): Long-Term Follow-Up of 30 Chronic Active Hepatitis B Patients Treated with Low Dose Natural Human Interferon Alpha Administered Orally
J. Interferon Res., *14(Suppl.1)*, p S146.

Zilly, A. & Obert, H. J. (1986): Therapie der chronischen Polyarthritis
Münch. Med. Wochenschr., *128*, pp 87-89.